

DÎNERS BOTANIQUES

Jeudi 26 mars 2015

12h20 – 13h15

Local 3408

Pavillon Paul-Comtois

Université Laval

C'est pour tous !

C'est gratuit !!!



***La platanthère à gorge frangée
et la connectivité des tourbières . "***

par Laurent DeVriendt



Étude de la connectivité des tourbières via les variations
génétiques et phénotypiques entre les populations de
l'orchidée *Platanthera blephariglottis*.



Laurent De Vriendt

Direction:

Monique Poulin
Stéphanie Pellerin
Simon Joly
François Belzile

Université Laval

Accueil > Environnement > Espèces en danger > Les pesticides, une menace pour la biodiversité

Publié le 24 j

Les p
biodiv



prks.com...

quarters of its sp
540 million years
given the known
differences betw
palaeontological
results confirm that current
record, highlighting the nec

impute aux

L'Union internatio
publication de sa

ECOLOGY LETTERS

Ecology Letters, (2010) 13: 597–605

doi: 10.1111/j.1461-0248.2010.01457.x

LETTER

Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels

Jochen Krauss,^{1*} Riccardo Bommarco,² Moisès Guardiola,³ Risto K. Heikkinen,⁴ Aveliina Helm,⁵ Mikko Kuussaari,⁴ Regina Lindborg,⁶ Erik Öckinger,² Meelis Pärtel,⁵ Joan Pino,³ Juha Pöyry,⁴ Katja M. Raatikainen,⁴ Anu Sang,⁵ Constanti Stefanescu,⁷ Tiit Teder,⁵ Martin Zobel⁵ and Ingolf Steffan-Dewenter¹

Abstract

Intensification or abandonment of agricultural land use has led to a severe decline of semi-natural habitats across Europe. This can cause immediate loss of species but also time-delayed extinctions, known as the extinction debt. In a pan-European study of 147 fragmented grassland remnants, we found differences in the extinction debt of species from different trophic levels. Present-day species richness of long-lived vascular plant specialists was better explained by past than current landscape patterns, indicating an extinction debt. In contrast, short-lived butterfly specialists showed no evidence for an extinction debt at a time scale of c. 40 years. **Our results indicate that management strategies maintaining the status quo of fragmented habitats are insufficient, as time-delayed extinctions and associated co-extinctions will lead to further biodiversity loss in the future.**

monitored popi
will cascade on
about this "Ant
to predict and
pervasive comp
global ecologic

suggested a mean extinction probability of 10% across taxa and regions, whereas empirical evidence gave a mean probability of 14%. As well as mean overall extinction probability, observations also supported predictions in terms of variability in extinction risk and the relative risk associated with broad taxonomic groups and geographic regions. **These results suggest that predictions are robust to methodological assumptions and provide strong empirical support for the assertion that anthropogenic climate change is now a major threat to global biodiversity.**

responses gave unbiased estimates of mean extinction risk. To determine whether there was publication bias, we investigated whether extinction risk was related to the journal in which the study was published and also, created a funnel plot of extinction risk against sample size (Fig. S2). The presence of asymmetry in a funnel plot signifies bias to the publication of significant results (15). To account for biases in the type of impact studied, we incorporated impact type as a factor into models and compared the results of averaging across impact types with those results obtained by averaging across studies. To account for 3 months

the Anthropocene

(2014);
nce.1251817

style

Enter Search Terms

ALERTS ACCESS RIGHTS

mail

Table of Contents | Next >

ing support

for review November 18, 2010)

and 188 predicted ecological a robust review of 10 leading 2009 (Methods). The responses extinction risk, population size, taxa from all major groups of ion of the global terrestrial and climate change responses were sk using IUCN Red List crite-hreshold values used to assign opulation decline are linearly hreshold extinction risk values xtinction risk for taxa and the ces of extinction risk were deralized linear model with an git link function (Methods).

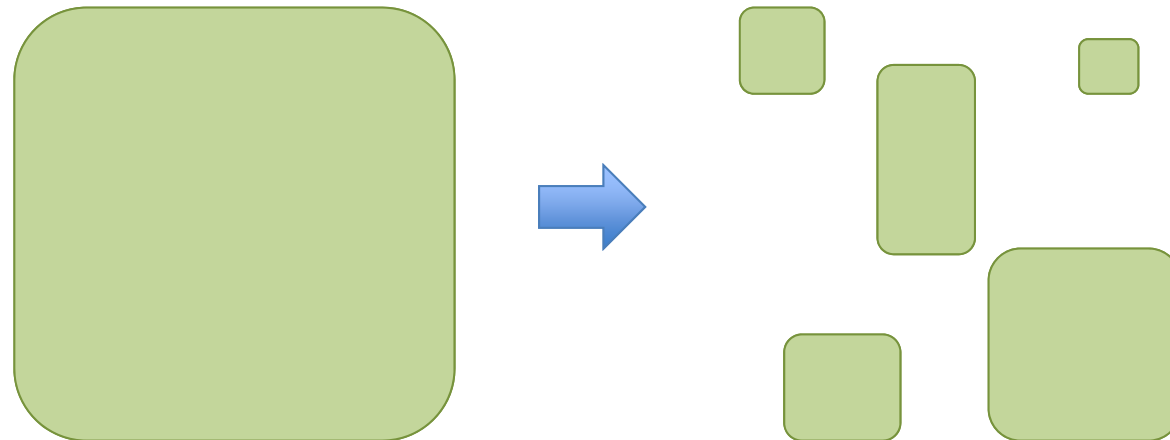
the selection of study systems (egion) and the publication of the sampled climate change responses gave unbiased estimates of mean extinction risk. To determine whether there was publication bias, we investigated whether extinction risk was related to the journal in which the study was published and also, created a funnel plot of extinction risk against sample size (Fig. S2). The presence of asymmetry in a funnel plot signifies bias to the publication of significant results (15). To account for biases in the type of impact studied, we incorporated impact type as a factor into models and compared the results of averaging across impact types with those results obtained by averaging across studies. To account for 3 months



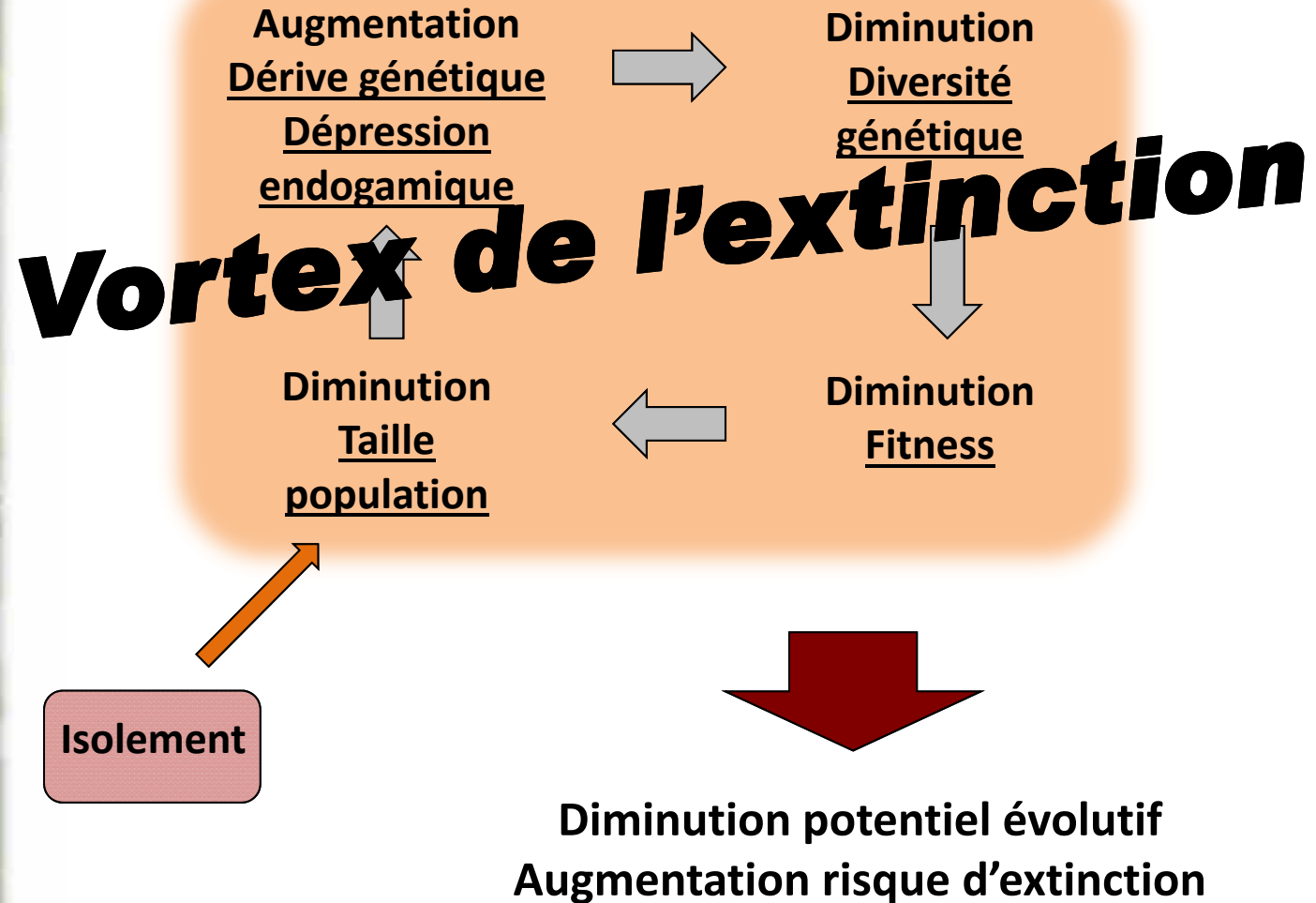
Destruction de l'habitat

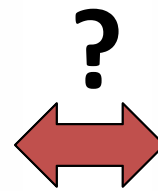
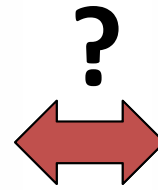


Fragmentation



- ↓ Taille des populations
- ↑ Isolement des populations

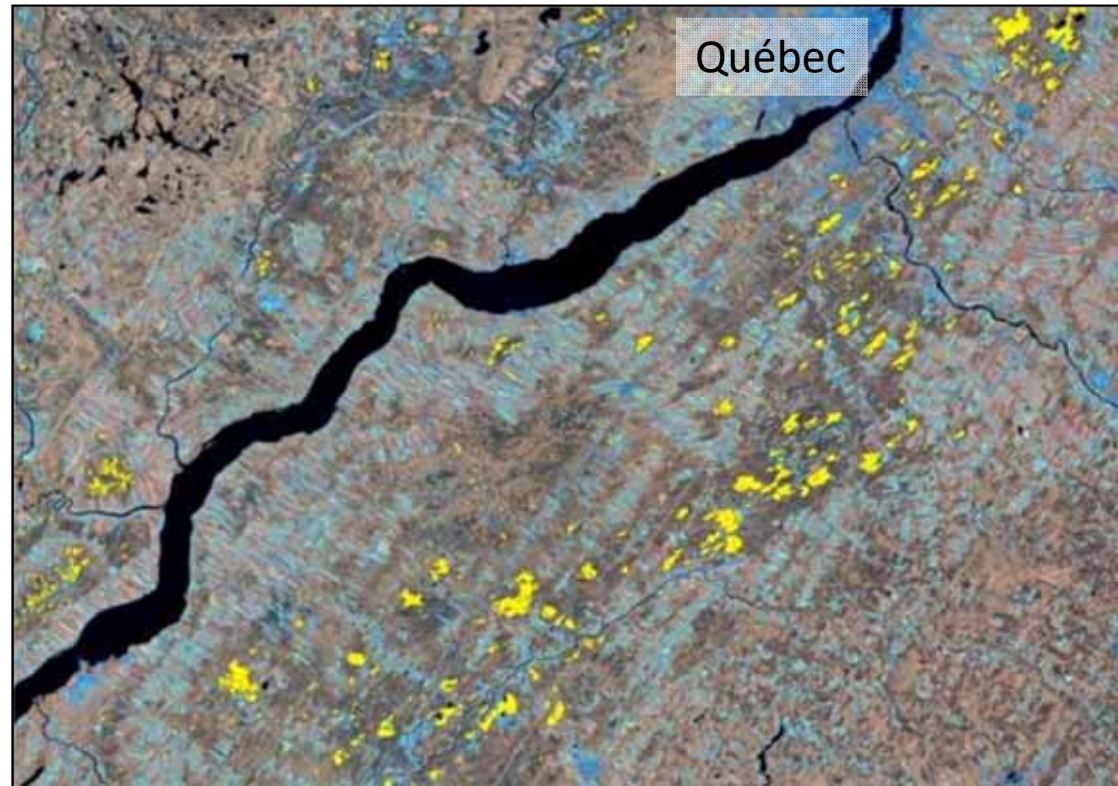




Platanthera blephariglottis var. *blepharigottis* (Willd.) Lindl.



Écosystèmes naturellement fragmentés: Tourbières



























Services des tourbières:

Biodiversité

Séquestration carbone

Atténuation des inondations

...







Services des tourbières:

Biodiversité

Séquestration carbone

Atténuation des inondations

...



Pressions sur les tourbières:

Étalement agricole

Urbanisation

Exploitation de la tourbe

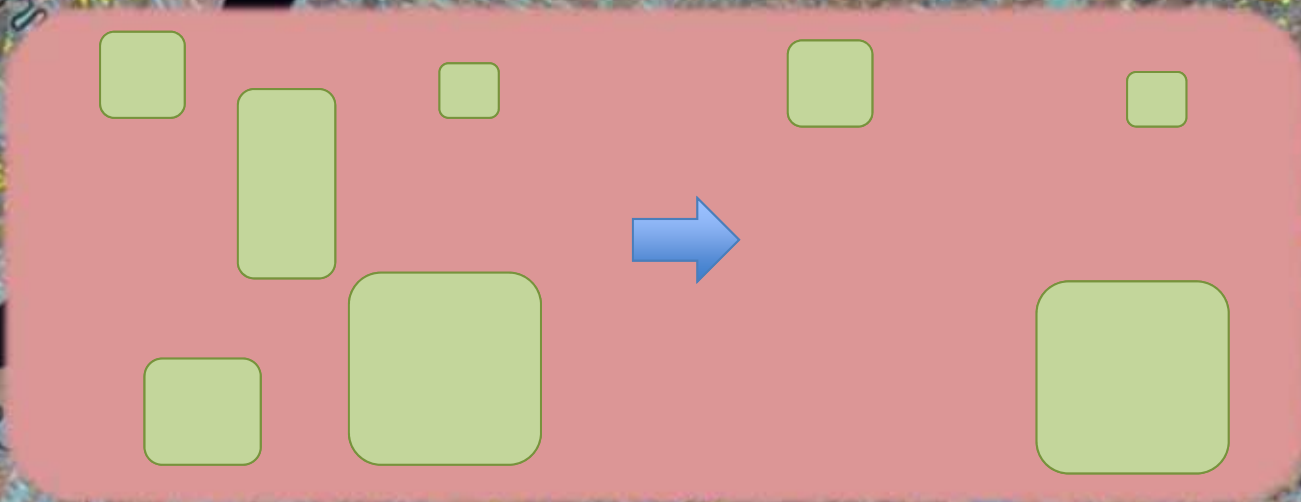
...

Donc,

Milieux naturellement fragmentés

susceptibles de devenir

encore plus fragmentés





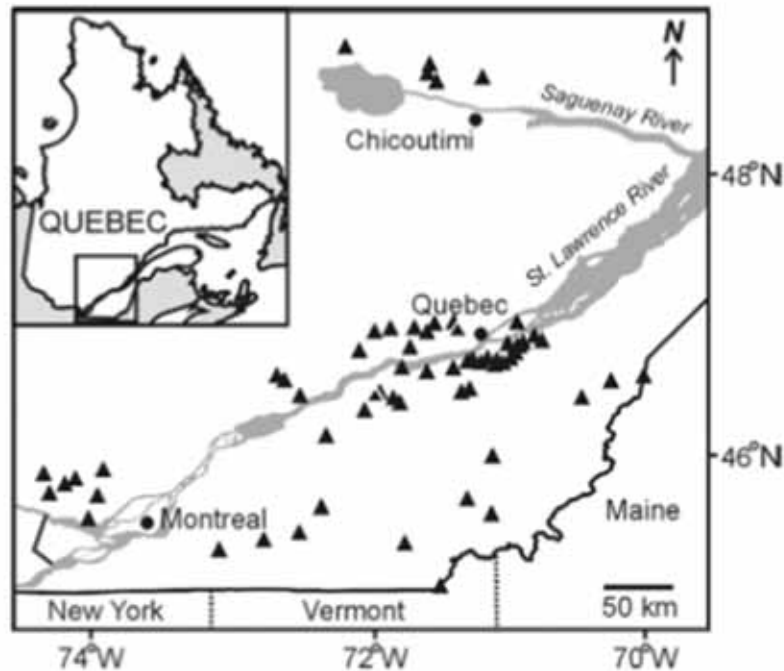


Espèce modèle:

Platanthera blephariglottis var. *blepharigottis* (Willd.) Lindl.

OU

Platanthère à gorge frangée





Espèce modèle:

***Platanthera blephariglottis* var. *blepharigottis* (Willd.) Lindl.**

Pourquoi?

- Données de localisation récentes (2012)
- Données sur communautés végétales
- Indicateur de l'intégrité écologique

- Facile à repérer
- Diploïde
- Variations morphologiques
- Plusieurs pollinisateurs
- Obligée des milieux humides
(bogs et fens pauvres)



P. Blephariglottis → plusieurs pollinisateurs



Genre Hemaris



Google Image

Epargyreus clarus

Peu d'informations sur leurs déplacements...

Objectif:

Évaluer la connectivité entre les tourbières dans les régions de Chaudière-Appalaches et Centre-du-Québec.

Hypothèses:

- A) Il y a des **différences phénotypiques** et **génétiques** entre les populations et celles-ci peuvent être expliquées au moins en partie par l'**isolement**.
- B) Certaines variations **phénotypiques** sont liées aux variations **génétiques**.



Matériels et Méthode

Mesures:

- de l'Isolement
- de Traits Phénotypiques
- de Taux de Germination
- de Génétique

Matériels et Méthode

Nombre de populations étudiées:

- Traits Phénotypiques: **20** (celles de V.Laroche dans la zone d'étude)
- Taux de Germination: **20** (mêmes que Phénotype)
- Génétique: **26** (mêmes que Phénotype(20) + 4 CDPNQ + 2 éloignées)
- Isolement: **24** (même que Phénotype(20) + 4 CDPNQ)

Communautés végétales...

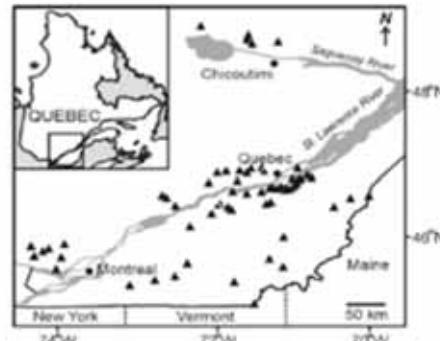




Matériels et Méthode

Mesure de l'isolement

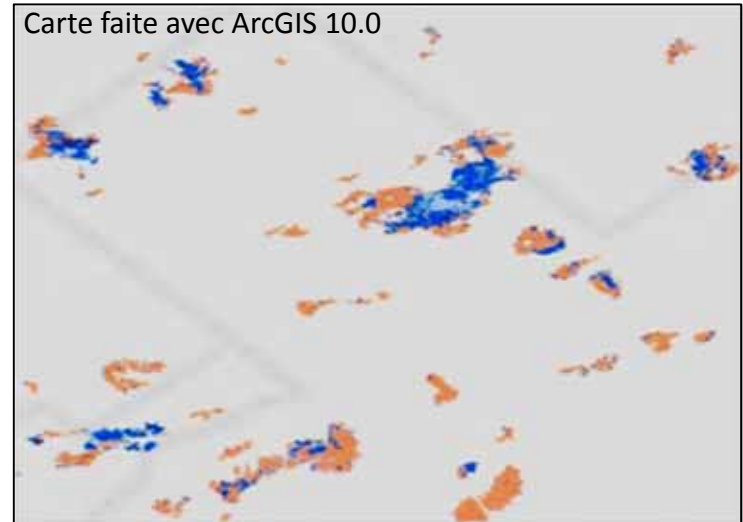
Mesure de l'isolement : Fausses absences?



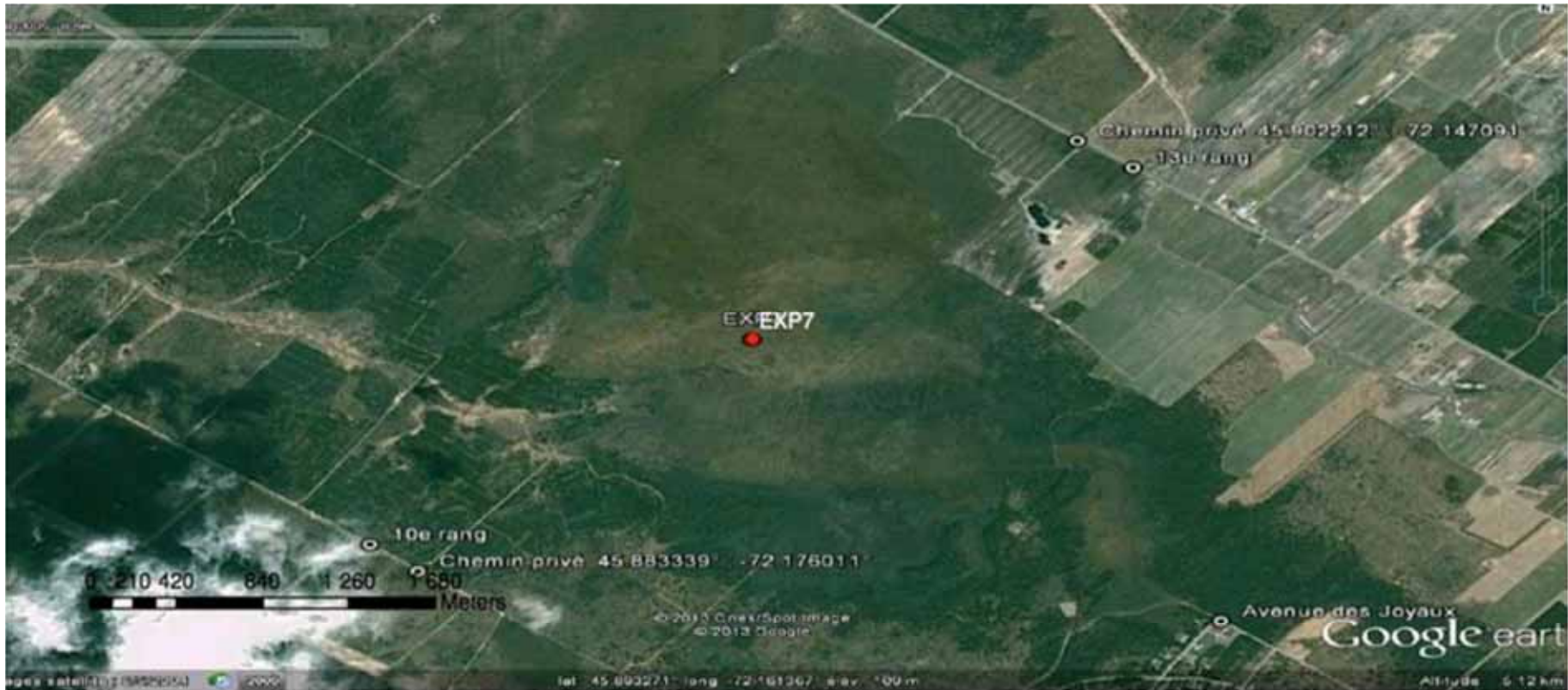
Comm. vég. des populations
de Laroche et al. 2013



Comm. vég. des tourbières de
Poulin et al. 2006

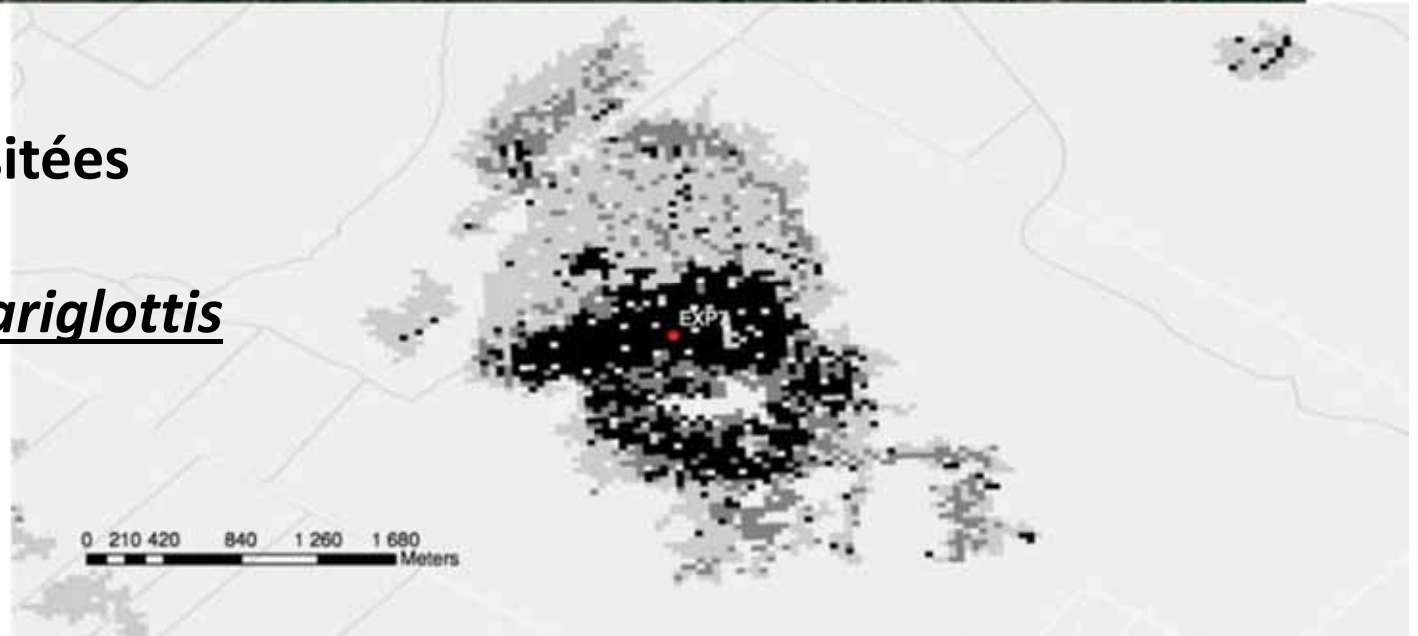


- Végétation très propice
- Végétation propice
- Végétation non propice



57 tourbières visitées

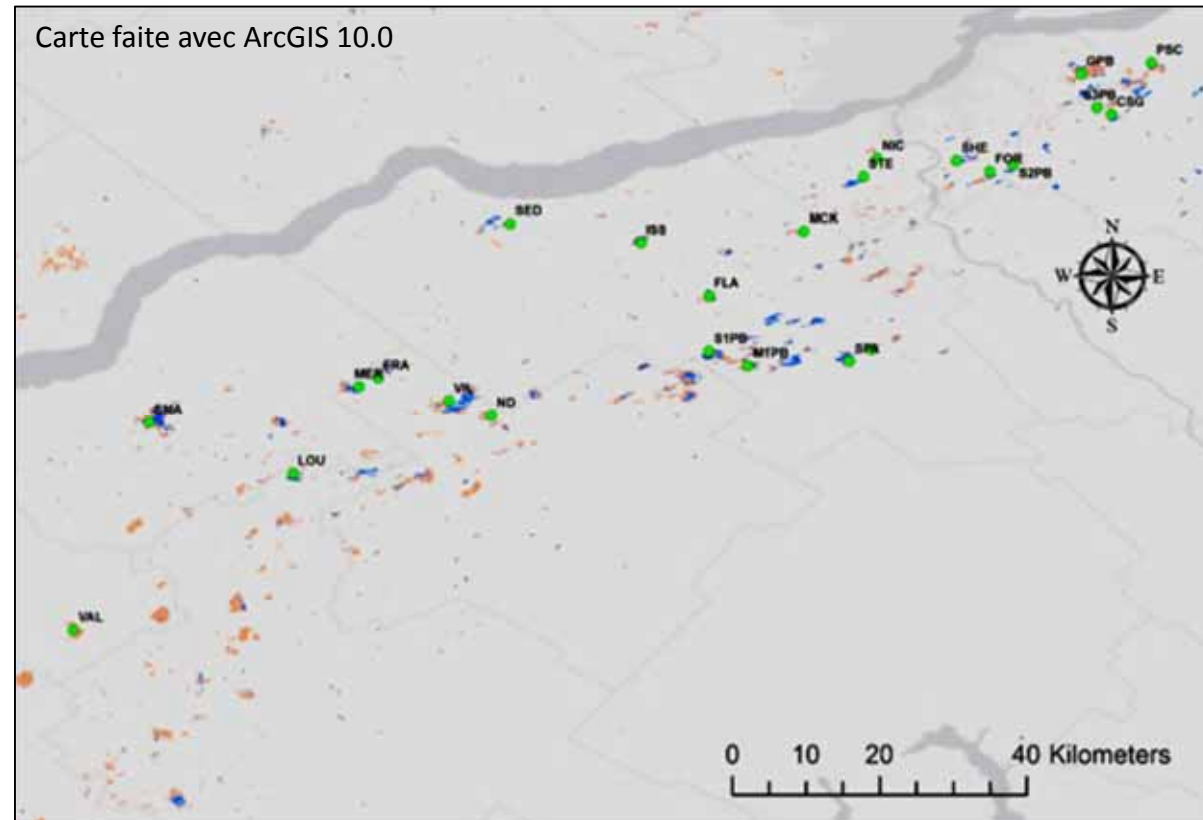
46 avec *P. blephariglottis*





Zone d'étude:

Chaudière-Appalaches et Centre-du-Québec

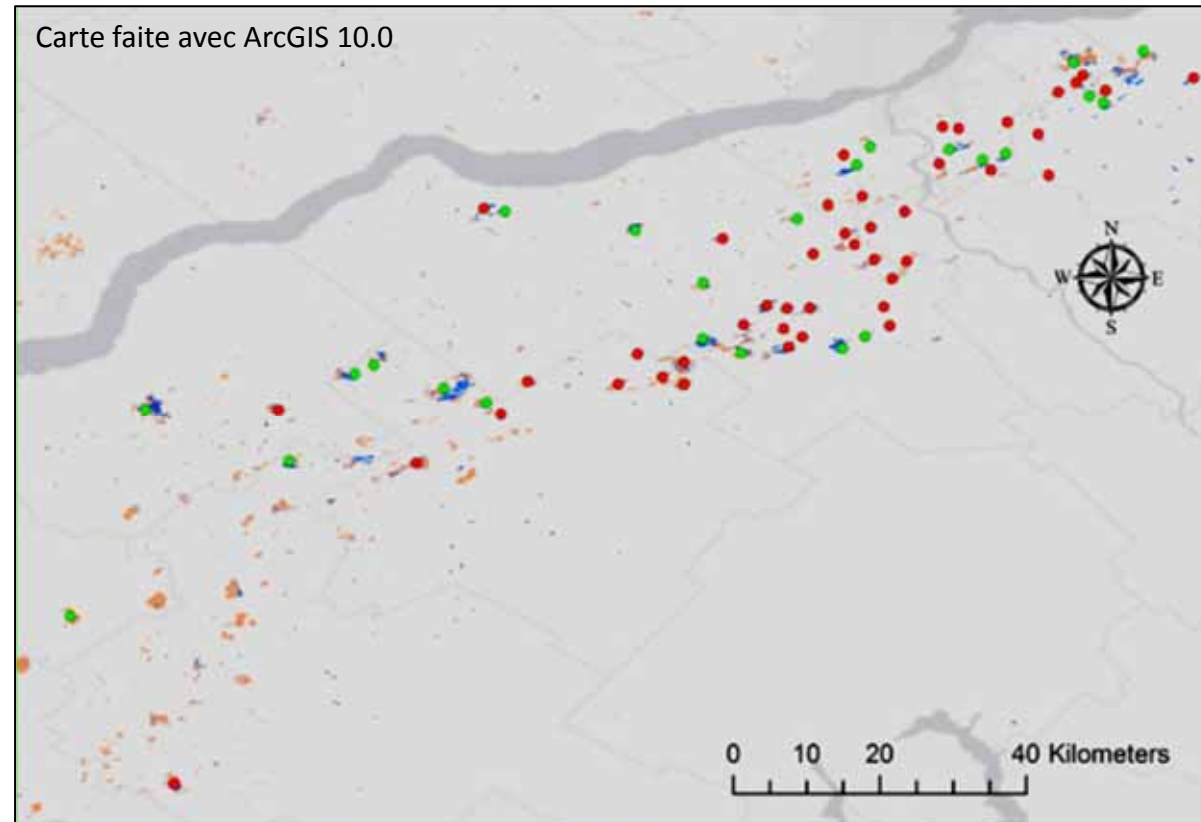


● Populations étudiées



Zone d'étude:

Chaudière-Appalaches et Centre-du-Québec



● Populations étudiées

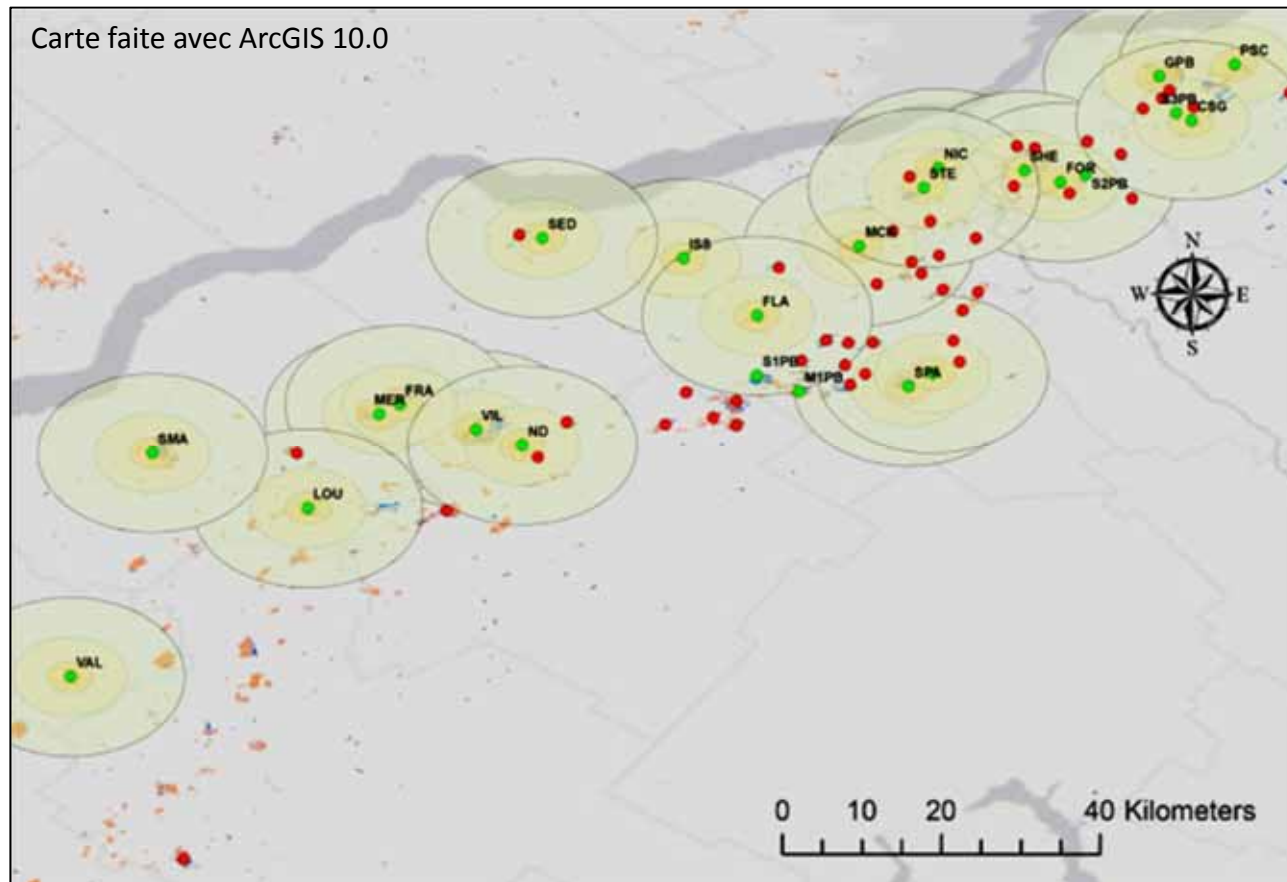
● Populations découvertes



Mesure de l'isolement

Population la plus proche, *Nearest Neighbour* (NN)

Quantité de populations dans rayons de 2, 5, 10 km (buffer)





Analyse des communautés végétales

(10 populations sur 20)

Méthode: **Pinpoints** (Laroche et al. 2012)

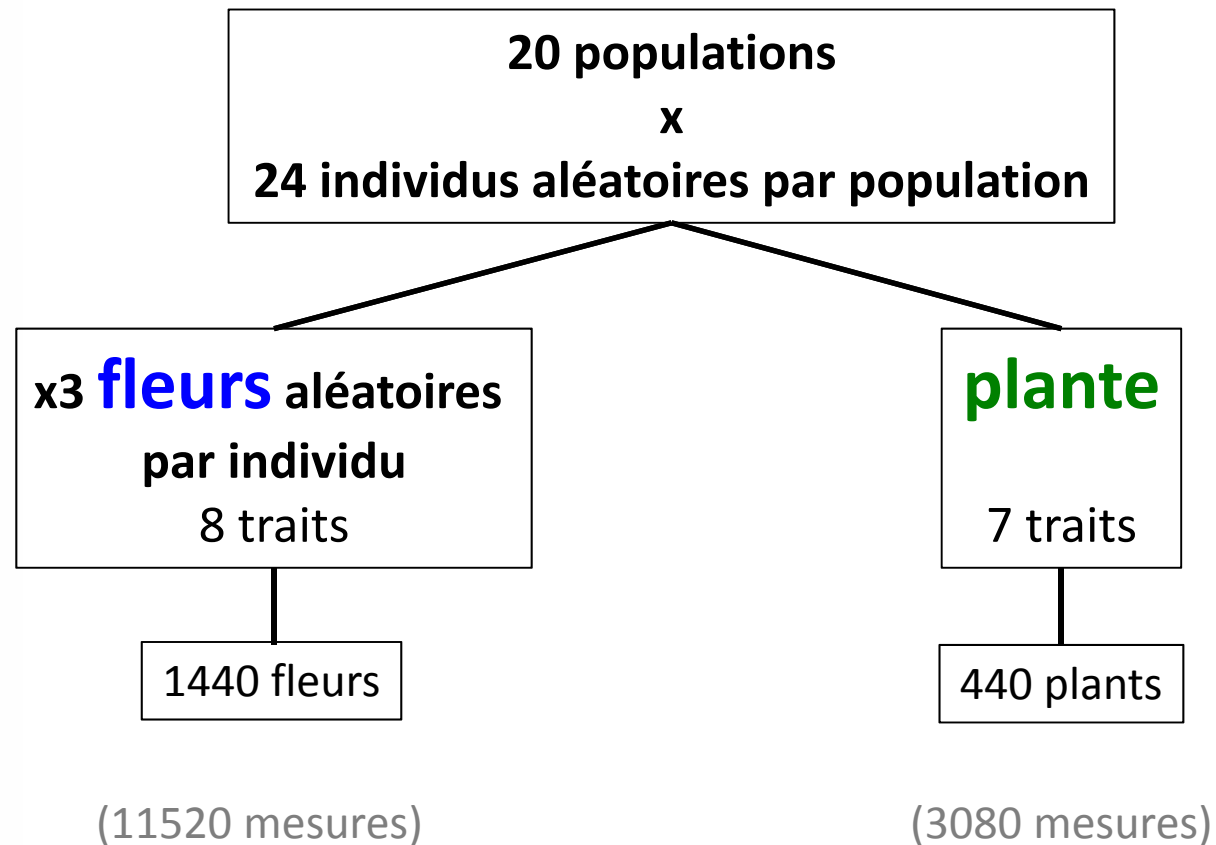




Matériels et Méthode

Mesures phénotypiques
+
Germination

Mesures phénotypiques



Mesures phénotypiques

Fleurs: 8 traits

Longueur sépale central
Largeur sépale central
Longueur pétale latéral
Largeur pétale latéral
Longueur labelle
Largeur labelle
Longueur gynostème
Longueur éperon

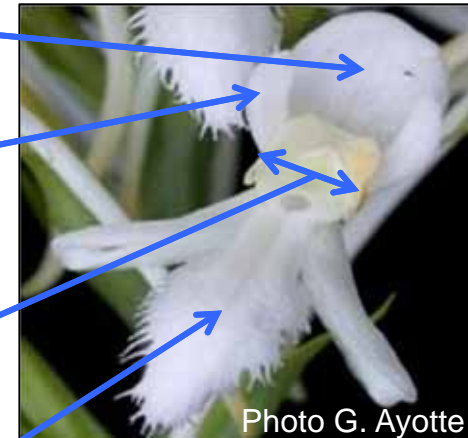
Sépale central

Pétale latéral

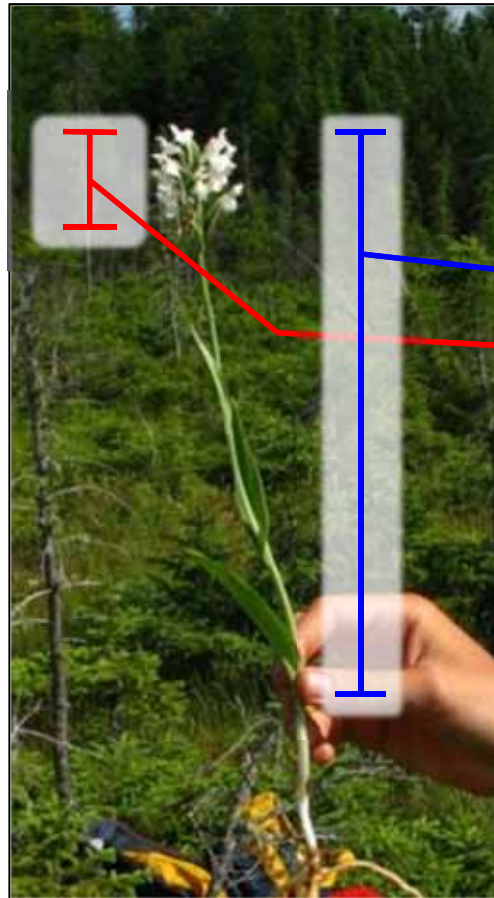
Gynostème

Labelle

Éperon



Mesures phénotypiques



Plante: 7 traits

Hauteur inflorescence

Taille inflorescence

Nombre de fleurs

Nombre de feuilles

Longueur feuille la +longue

Largeur feuille la +longue

Diamètre tige



Collecte de **graines** pour évaluation du « fitness »

20 populations (mêmes que Phénotype)

10 individus/population
4 capsules/individu

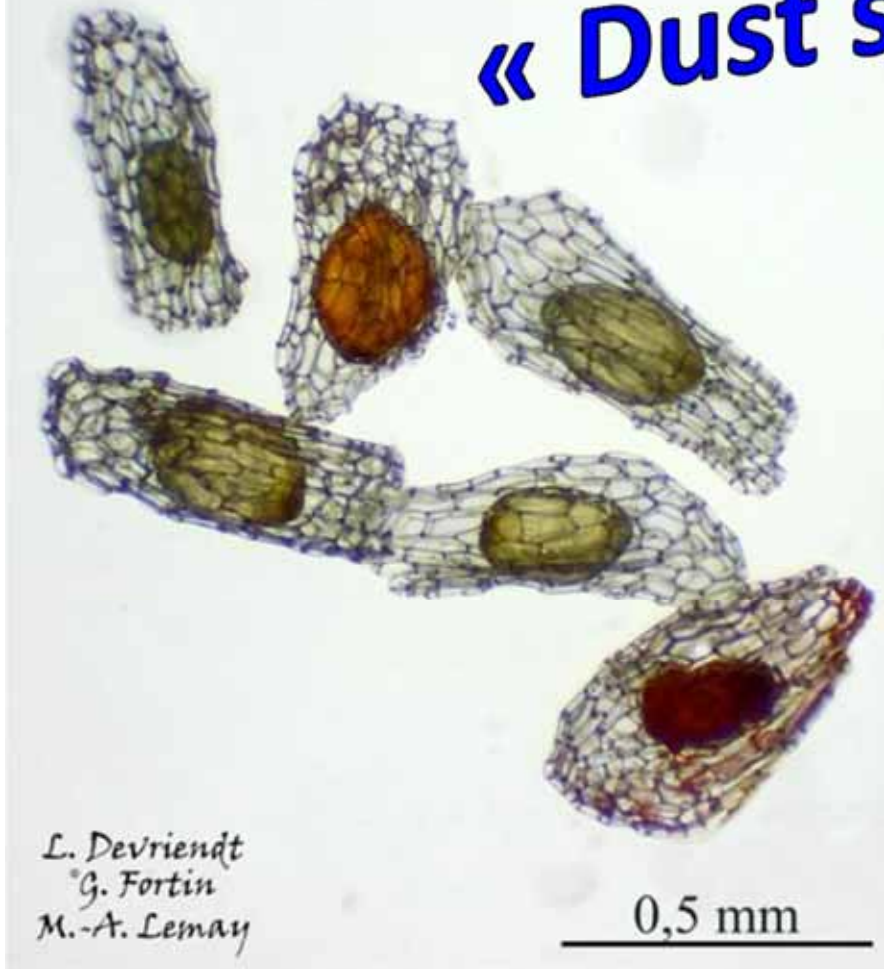
2 litres de tourbe/population

→ mélange de l'ensemble



Tests germination sur sphaigne
(par Marc-André Lemay)

Graines de *Platanthera blephariglottis*



Graines de *Platanthera blephariglottis*





User Name

Password
 LOG-IN

Search for Keyword: Go
Advanced Search



CURRENT ISSUE | MARCH 2015 »

HIGHLIGHTS

- **All in good time: Understanding annual and perennial strategies in plants**
In the latest AJB essay feature "On the Nature of Things," Jennica Friedman and Matthew J. Rubin explore how botanists, in order to understand the evolution of different life history strategies, need to integrate knowledge across molecular, evolutionary, ecological and theoretical perspectives.
- **Highlights from the March 2015 issue**
Invasive plants, heavy metals in flowers, leaf size effects & more!
- **Parasitism disruption a likely consequence of belowground war waged by exotic plant invader**
In the latest AJB essay feature "On the Nature of Things," Chris Martine and Alison Hale describe how the indirect and previously unidentified impact of exotic plant invasion could contribute to further

- || CURRENT ISSUE
- || ABOUT THE JOURNAL
- || RECOMMEND THE JOURNAL
- || INSTRUCTIONS FOR AUTHORS
- || SUBMIT MANUSCRIPT ONLINE
- || EDITORIAL BOARD
- || PUBLICATION INFORMATION FOR LIBRARIANS
- || GUIDELINES FOR INSTITUTIONAL ACCESS
- || SUBSCRIPTIONS
- || PERMISSIONS TO USE CONTENT

Read the Introduction
Speaking of food: C
ph



User Name

Password
 LOG-IN

Search for Keyword: Go
Advanced Search

Ex situ germination as a method for seed viability assessment in a peatland orchid, *Platanthera blephariglottis*

Marc-André Lemay^{2,4}, Laurent De Vriendt^{2,4}, Stéphanie Pellerin^{3,4} and Monique Poulin^{2,4,5}

« Previous | Next Article »
Table of Contents

This Article

Published online before print
1 March 2015, doi:
10.3732/ajb.1400441
Am. J. Bot. March 2015 vol.
102 no. 3 390-395

» Abstract
Figures Only

Current Issue



March 2015,
102 (3)

Alert me to new issues of Am. J. Bot.



Matériels et Méthode

Génétique



Collecte matériel génétique

20 populations phéno
4 populations CDPNQ
2 populations distantes
Coaticook
Lac St-Jean

26 populations (total)

24 individus/population

Entreposage

Dessicant (Drierite CaSO_4)
Température pièce

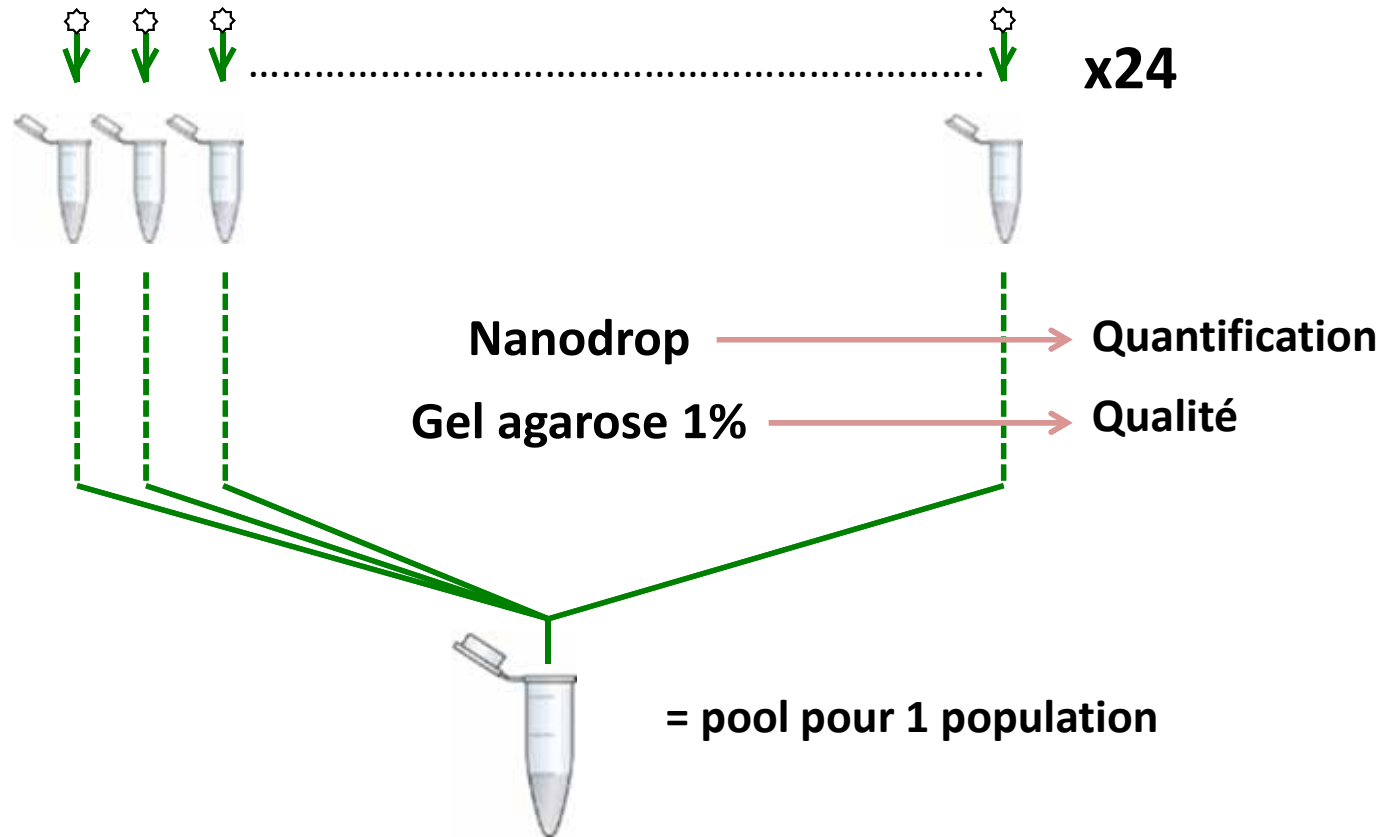




Extraction ADN

Qiagen DNeasy 96 plant kit

Pools Génétiques





= pool pour 1 population



x26 populations



+1 réplica pour 4 populations



30 pools au séquençage (total)



Multiplexage
« 30plex »

1 ligne de « flowcell » pour GBS



GBS

(Genotyping-By-Sequencing)

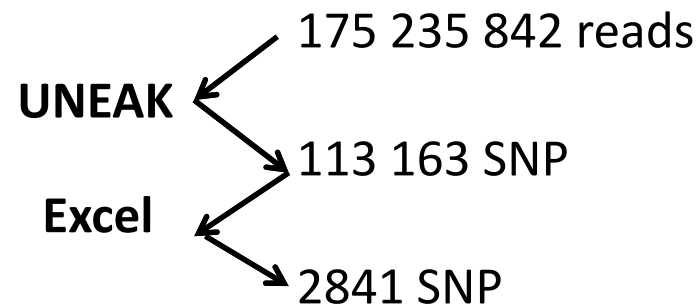
- ➔ Technologie de pointe
- ➔ Type de marqueur:
SNP (Single Nucleotide Polymorphism)
- ➔ Avantages:
 - Quantité élevée de marqueurs
 - Séquençage rapide
 - Pas besoin de génome de référence
 - ...



Résultats du GBS = fichier de 12 GB

↳ Filtration des données génétiques (UNEAK + Excel)

↳ Fréquences alléliques



2841 marqueurs
génétiques!

- 0,05% données manquantes
- Profondeur moyenne de couverture de 105,9 reads/scored

Fréquences alléliques



Matrice de distance de *Nei*



Phenogram (UPGMA)



Network (SplitsTree4)



Evolutionary distinctiveness (ED)



Shapley value (SH)





Résultats

Résultats Phénotypes

ACP (Analyse en Composantes Principales)



**Regrouper les données selon des vecteurs
à valeurs biologiques.**





Fleurs (n=1440)

Taille fleur 41%

Effet de taille
 valeur élevée = grande taille
 valeur faible = petite taille

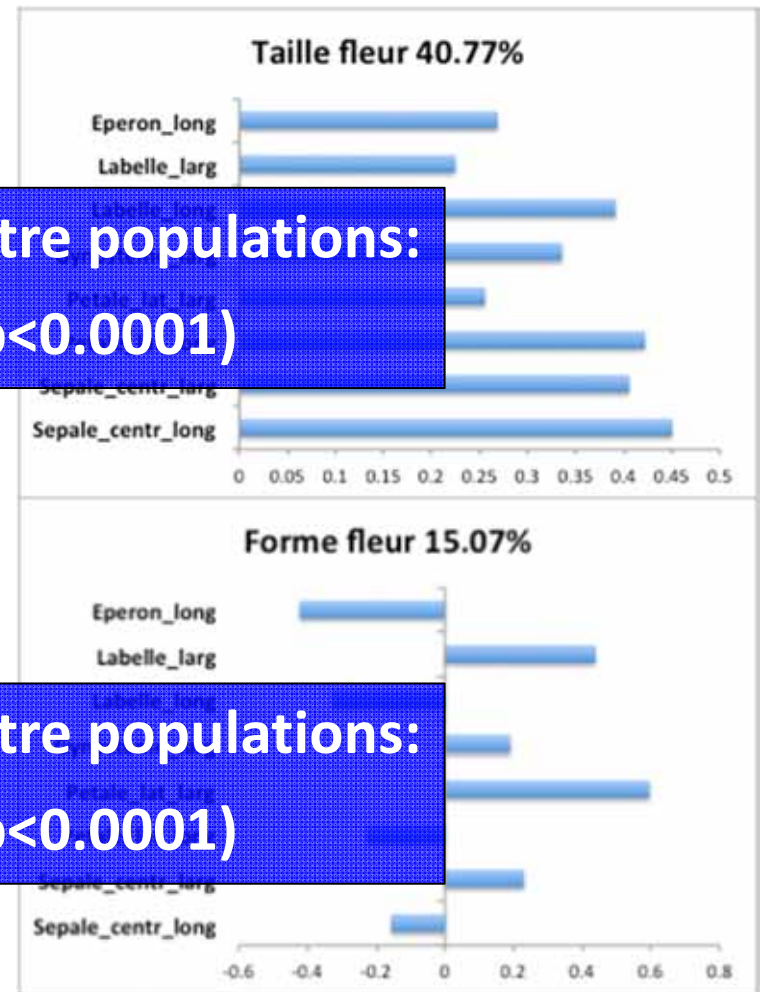
Forme fleur 15%

Effet de forme
 valeur élevée = fleur trapue
 valeur faible = fleur élancée

Différences entre populations:
OUI (p<0.0001)

Différences entre populations:
OUI (p<0.0001)

ACP (Analyse en Composantes Principales)





Plante (n=480)

Taille plante 51%

Effet de taille

valeur élevée = grande taille
valeur faible = petite taille

Différences entre populations:
OUI (p<0.0001)

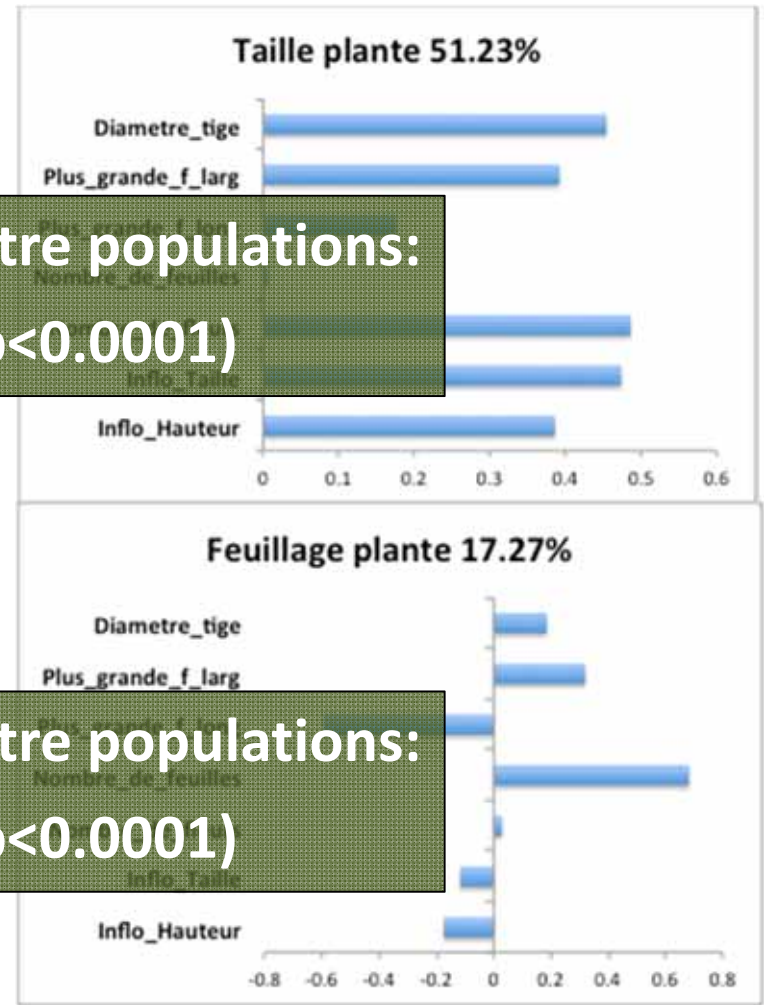
Feuillage plante 17%

Type de feuillage

valeur élevée = + touffue
valeur faible = - touffue

Différences entre populations:
OUI (p<0.0001)

ACP (Analyse en Composantes Principales)





Germination (n=200)

Taux de germination de 36.9% à 82.6%

**Différences entre populations:
OUI (p<0.0001)**

site	Estimate	StdErr	MSGROUP
EMB	82.60	4.79	A
SFA	76.24	5.04	ABC
PSC	75.11	2.51	AB
STE	75.05	4.79	ABC
NIC	73.48	4.87	ABC
FLA	70.31	4.8	ABC
ND	70.21	5.16	ABC
GPB	69.58	3.61	BC
SED	67.57	6.7	ABCD
MCK	66.00	5.80	BCD
MER	65.81	5.67	BCD
FOR	63.70	6.69	BCD
ISS	63.27	5.5	BCD
VIL	62.72	6.77	BCDE
SHE	59.59	6.60	CDE
VAL	55.81	9.01	BCDEF
FRA	49.86	6.8	DEF
SMA	45.02	5.04	EF
LOU	36.90	6.12	F



RDA (1000 permutations):
Aucun effet des communautés végétales
sur les variations phénotypiques...





Modèles MIXTE pour relations **ACP** et l'isolement (**NN** et buffers 2, 5, 10km)

	n	NN		Buffer 2km		Buffer 5km		Buffer 10km	
		r	p-value	r	p-value	r	p-value	r	p-value
Taille fleur	1440	0.103	0.225	-0.013	0.877	-0.018	0.8295	0.109	0.1979
Forme fleur	1440	-0.156	0.0594	0.241	0.0006*	0.278	<.0001*	0.192	0.0146*
Taille plante	480	0.153	0.1375	-0.255	0.0052*	-0.222	0.0211*	-0.113	0.2867
Feuillage plante	480	-0.362	0.0001*	0.201	0.0883	0.186	0.1185	0.214	0.0664
Germination	200	-0.249	0.0279*	0.218	0.0606	0.304	0.0039*	0.324	0.0016*

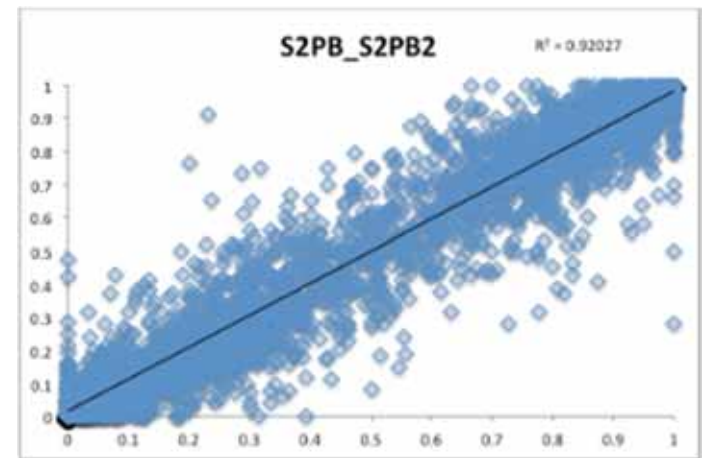
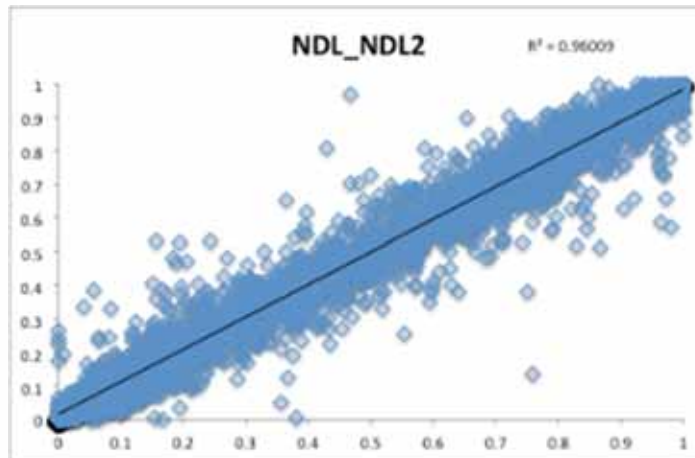
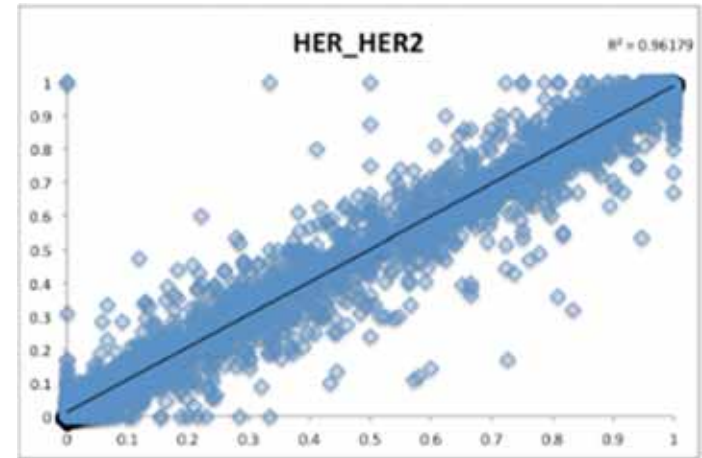
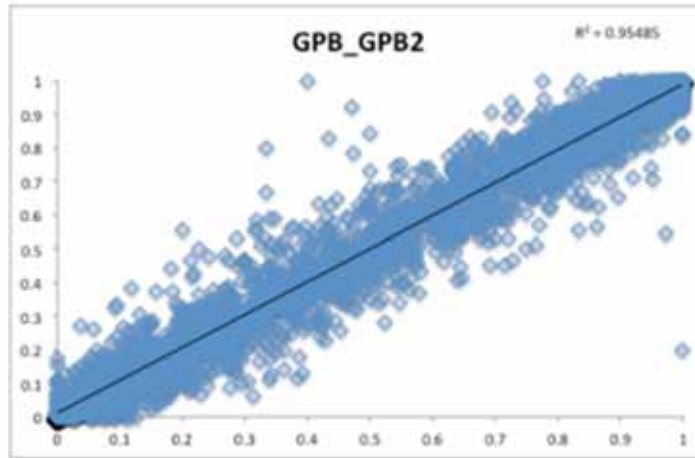


Plusieurs corrélations significatives entre l'isolement et le phénotype/germination

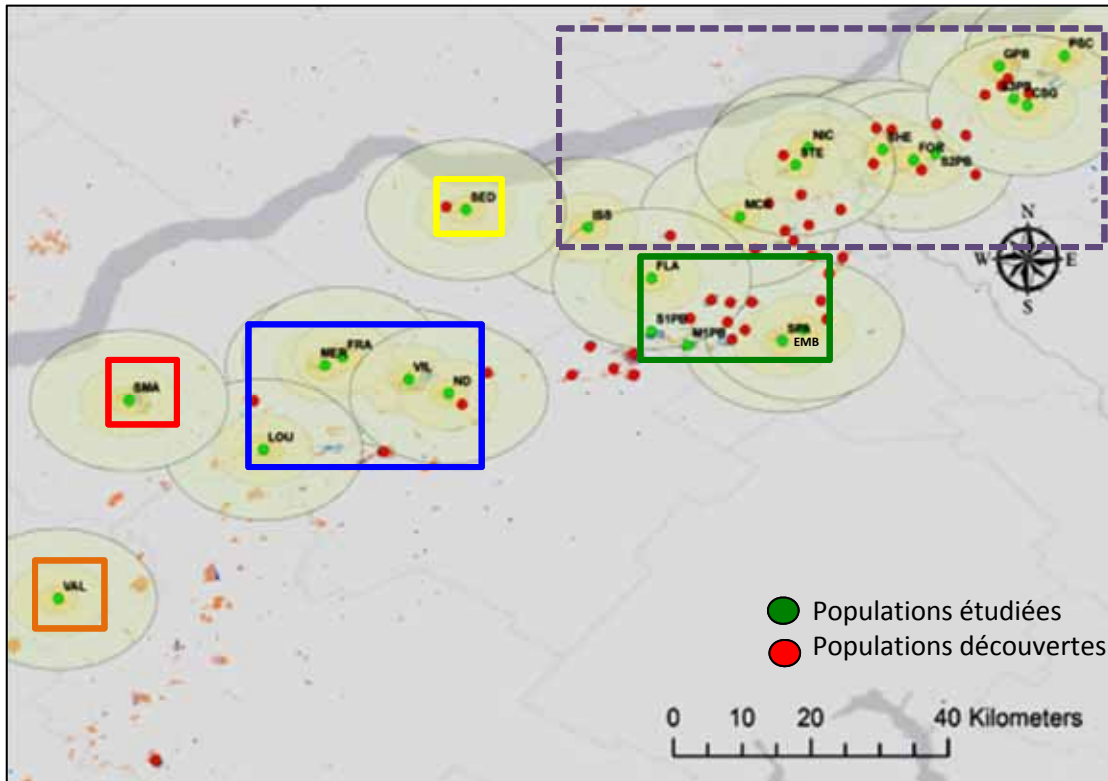


Résultats Génétiques

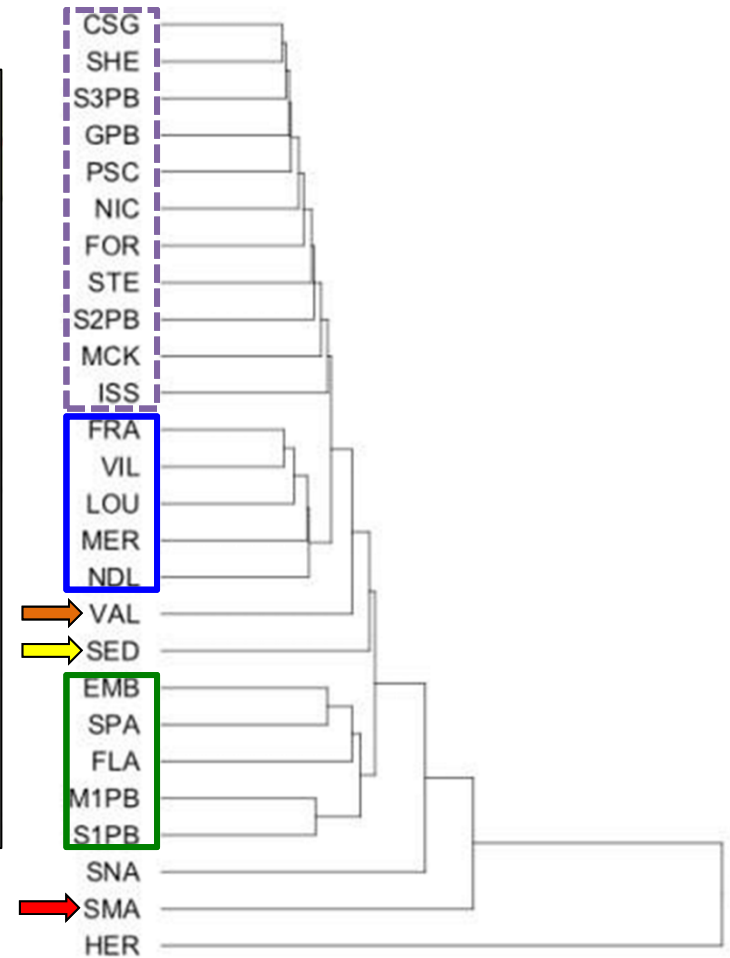
Fréquences alléliques: Réplica vs Pop Semblable ($R^2 > 0.92$)

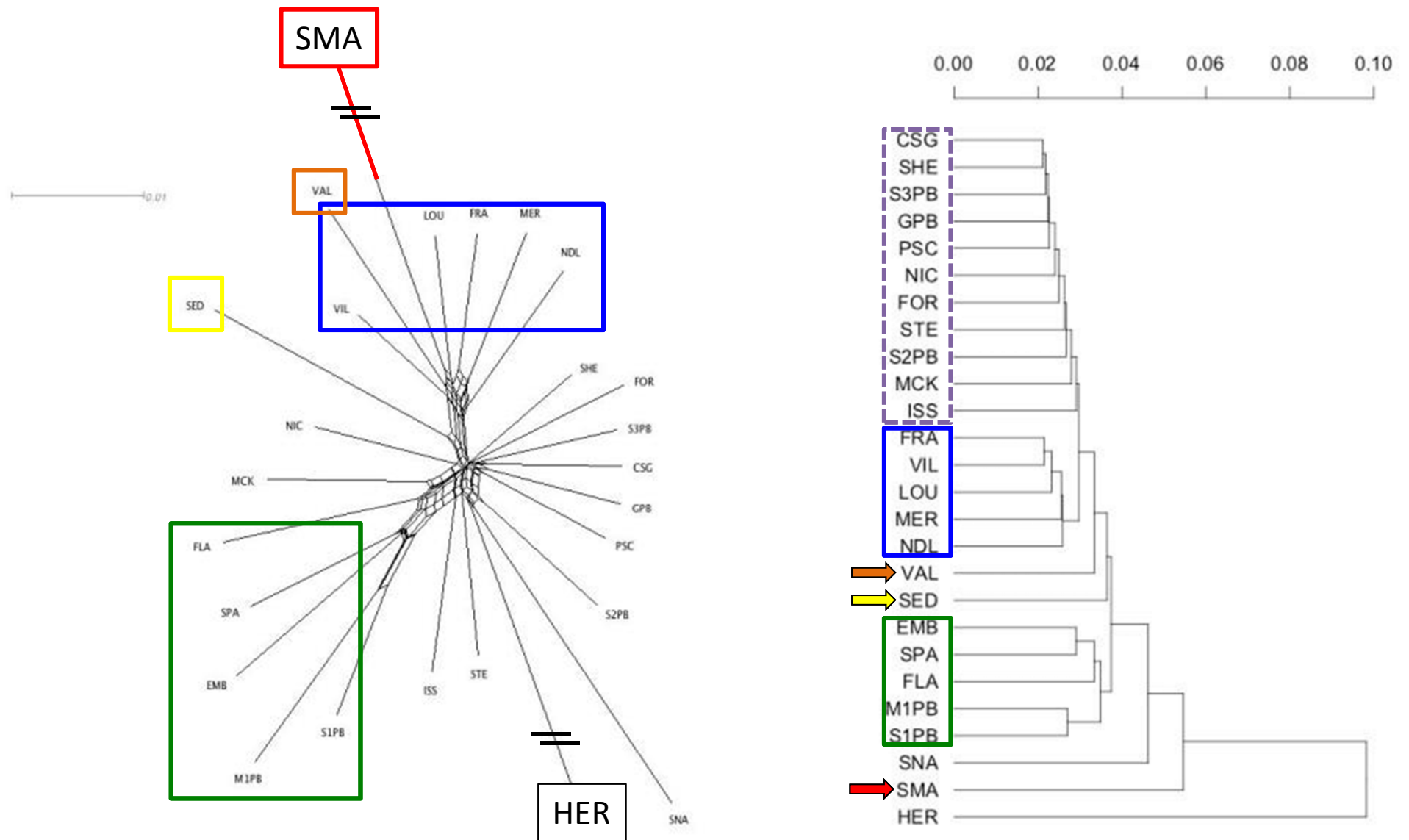


Regroupements génétiques vs Carte géographique



0.00 0.02 0.04 0.06 0.08 0.10







Modèles MIXTE
relations **ED/SH** et isolement (**NN** et buffers 2, 5, 10km)

	NN		Buffer 2km		Buffer 5km		Buffer 10km	
	r	p-value	r	p-value	r	p-value	r	p-value
ED	0.457	0.0425*	-0.458	0.0424*	-0.523	0.0179*	-0.396	0.084
SH	0.373	0.1053	-0.315	0.1768	-0.435	0.0552	-0.387	0.0922

➔ 3 corrélations significatives avec ED
0 corrélation avec SH

Observations des « r »:

➔ Tous dans la même direction!

➔ « Tendance » pour les populations isolées à être plus « distinctes » génétiquement.

Tests de Mantel

Qu'est-ce que c'est?



- Comparaison entre 2 matrices de distances 2à2
- Résultat = une corrélation (significative ou non)



km	CSG	EMB	FLA	FOR	FRA	GPB	ISL	LOU	MIPP	MCK	MER	ND	NIC	PSC	SIPB	SIPR	SIPR	SED	SHI	SMA	SPA	STE	VAL		
EMB	37.921																								
FLA	43.461	15.387																							
FOR	12.987	23.478	27.554																						
FRA	74.754	44.321	29.869	59.046																					
GPB	5.282	40.322	43.521	14.354	73.940																				
ISL	45.537	25.136	9.296	30.382	27.669	44.211																			
LOU	89.744	55.593	44.186	75.828	15.148	89.599	44.157																		
MIPP	46.180	9.979	8.745	30.640	32.180	47.641	18.926	43.320																	
MCK	31.470	16.598	10.267	15.811	40.998	31.161	12.647	56.238	17.416																
MER	78.820	47.715	33.752	43.078	1.866	78.055	31.803	11.835	35.454	45.059															
ND	70.118	36.041	24.649	54.188	9.957	70.262	26.308	18.361	23.889	36.912	11.672														
NIC	21.461	25.399	23.419	8.794	53.188	19.830	23.476	69.011	29.535	11.128	57.306	49.899													
PSC	2.575	42.008	47.065	16.853	77.959	1.913	48.395	95.323	50.281	34.859	82.057	71.800	24.010												
SIPB	47.742	12.655	8.170	31.943	28.732	48.716	15.647	40.739	1.316	16.842	32.350	20.941	29.688	51.699											
SIPR	10.473	26.735	31.545	1.080	43.018	12.216	34.226	77.814	34.399	19.755	47.055	58.164	11.489	14.423	35.826										
SIPR	1.308	38.549	43.396	13.111	74.477	3.399	45.075	89.672	46.538	31.261	78.561	70.118	20.809	2.619	47.959	10.674									
SED	57.128	37.052	20.171	42.627	21.088	54.999	11.259	38.692	28.751	25.418	25.165	24.983	34.764	59.485	24.951	46.321	56.455								
SHI	12.477	25.761	27.901	2.084	58.845	12.440	29.579	74.116	32.112	15.648	42.827	54.056	6.214	15.740	33.038	2.904	12.132	41.983							
SMA	96.621	65.843	51.997	81.028	18.996	95.487	49.062	12.523	53.508	62.933	16.148	28.734	74.753	99.653	50.345	84.983	96.264	40.120	80.665						
SPA	39.236	8.828	13.401	34.629	41.351	41.544	23.440	52.396	6.844	16.405	44.883	32.883	26.105	43.829	9.679	27.965	39.855	35.043	28.818	62.757					
STE	23.534	21.424	18.451	9.127	48.541	22.574	19.134	64.192	34.824	6.172	52.644	44.995	2.451	26.509	24.795	12.556	23.091	31.014	7.603	70.278	21.928				
VAL	118.589	82.907	73.112	102.659	43.919	118.674	73.378	27.989	71.839	85.298	40.174	47.049	98.163	122.277	48.953	106.429	118.597	67.220	103.114	27.618	79.492	93.312			
VAL	89.447	36.610	23.915	53.556	5.430	69.161	23.991	15.275	24.266	35.824	6.581	1.320	48.559	72.939	21.185	57.546	49.520	21.955	53.728	24.051	33.515	43.742	44.425		



Tests de Mantel

-Distance génétique *Nei* / distance géographique

**Isolation-by-Distance
« IBD »**

	distance Géographique	
	r	p-value
distance de Nei	0.3126489	0.0233

-Distance génétique *Nei* / **ACP** phéno + germination

	distance de Nei	
	r	p-value
Taille fleur	0.0730035	0.2759
Forme fleur	0.06357217	0.2478
Taille plante	0.4036887	0.0311
Feuillage plante	0.09122998	0.2191
Germination	0.3551479	0.0534

-Populations génétiquement différentes ont également des tailles de plantes différentes

Discussion/Conclusion





Récapitulatif

Phénotype

Différences entre populations
pour **TOUS** les traits

Plusieurs corrélations significatives entre
isolement et phénotype/germination





Récapitulatif

Génétique

Phénogrammes et Networks

- Regroupements génétiques correspondant aux regroupements géographiques

ED / SH

- tendance **pops isolées = plus « distinctes »** génétiquement

Tests de Mantel

- Distance génétique corrélée à la Distance géographique
 ➡ **patron d'« Isolation-By-Distance » (IBD)**
- Distance génétique corrélée à la taille des plantes







Conséquemment, l'isolement pourrait

Augmenter

- Consanguinité
- Accumulation de gènes récessifs
- Dérive génétique

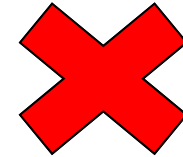
Diminuer

- « Fitness »
- Potentiel d'adaptation

➔ Augmenter les Risques d'Extinction



Rappel:



Ne veut pas dire que:

~~1 tourbière dans 10km = OK~~

Il faut faire attention!

- ➔ il ne s'agit que d'une seule espèce végétale...
- ➔ dans la vallée du St-Laurent...
- ➔ corrélations \neq causalité...

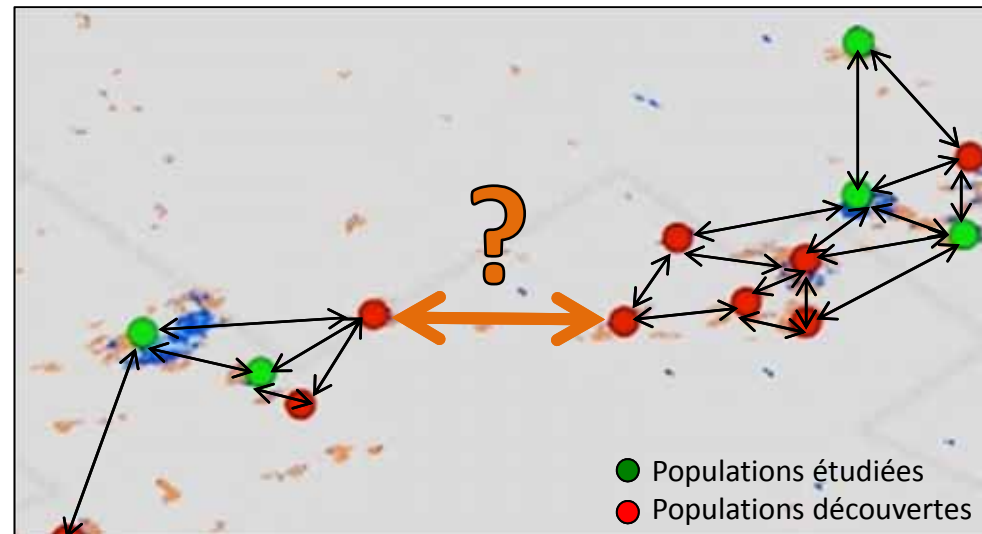




À quoi/qui sont dus les échanges entre populations?

- ➔ Dispersion des graines
ou
- ➔ Pollinisateurs

peut-être les 2 ?





Néanmoins

Un des premiers exemples:

de l'impact de l'isolement sur une espèce obligée des tourbières

Un des premiers exemples:

« poolage » génétique → étude en écologie

↳ La génétique de + en + abordable pour l'écologie!

\$\$\$ → \$ 😊

Remerciements

Direction

Monique Poulin
Stéphanie Pellerin
Simon Joly
François Belzile

Labo Poulin

Labo Belzile
Martine Jean
Sébastien Bélanger

Aide Statistique

Hélène Crépeau

Partenaires

Jardin Botanique de Montréal
FQRNT, CRSNG, CSBQ



Merci Marc!!!

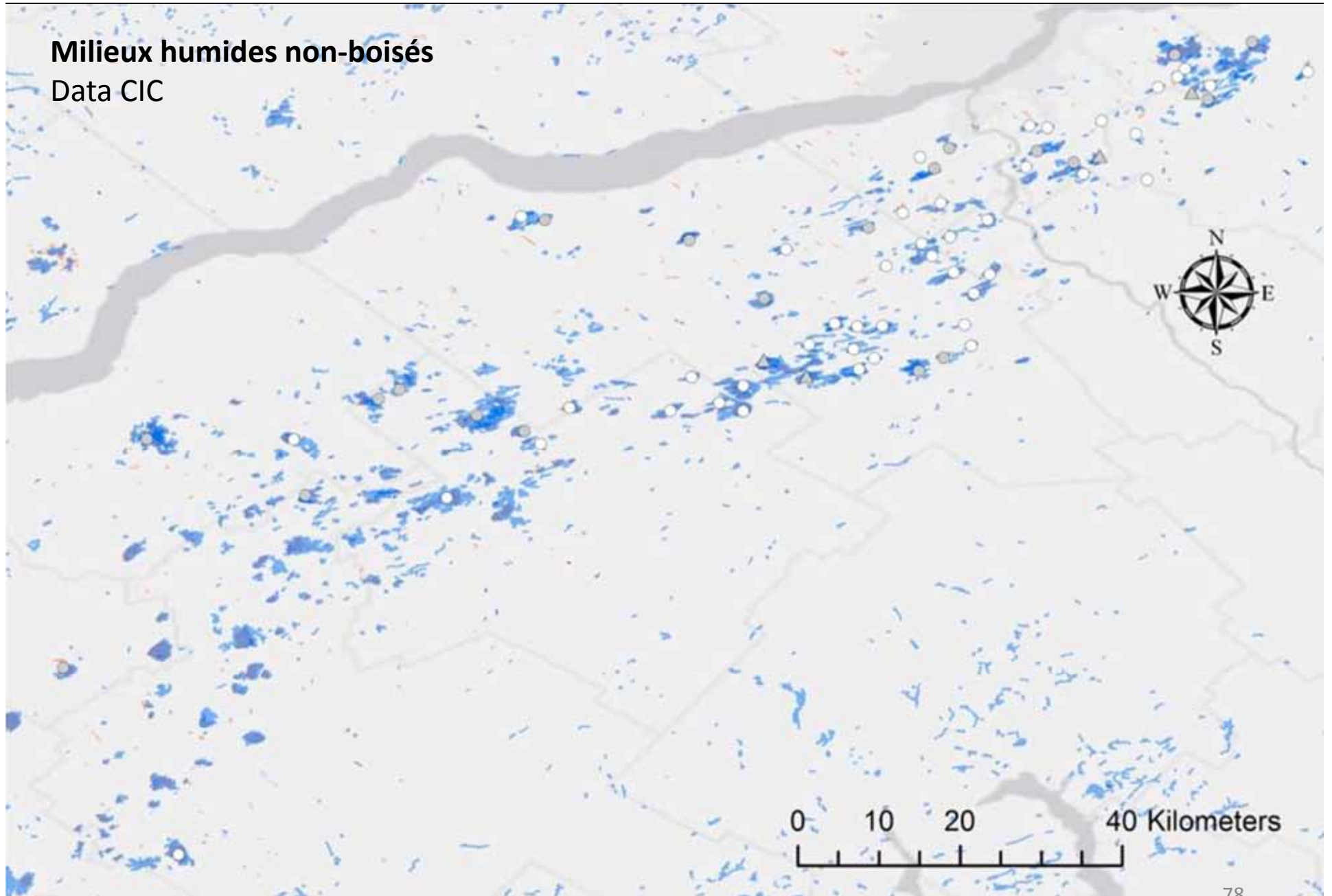


A photograph of white flowers with yellow centers, likely a species of orchid, set against a bright blue sky with scattered white clouds. The flowers are in the foreground, and the background shows a blurred line of green trees.

Questions?

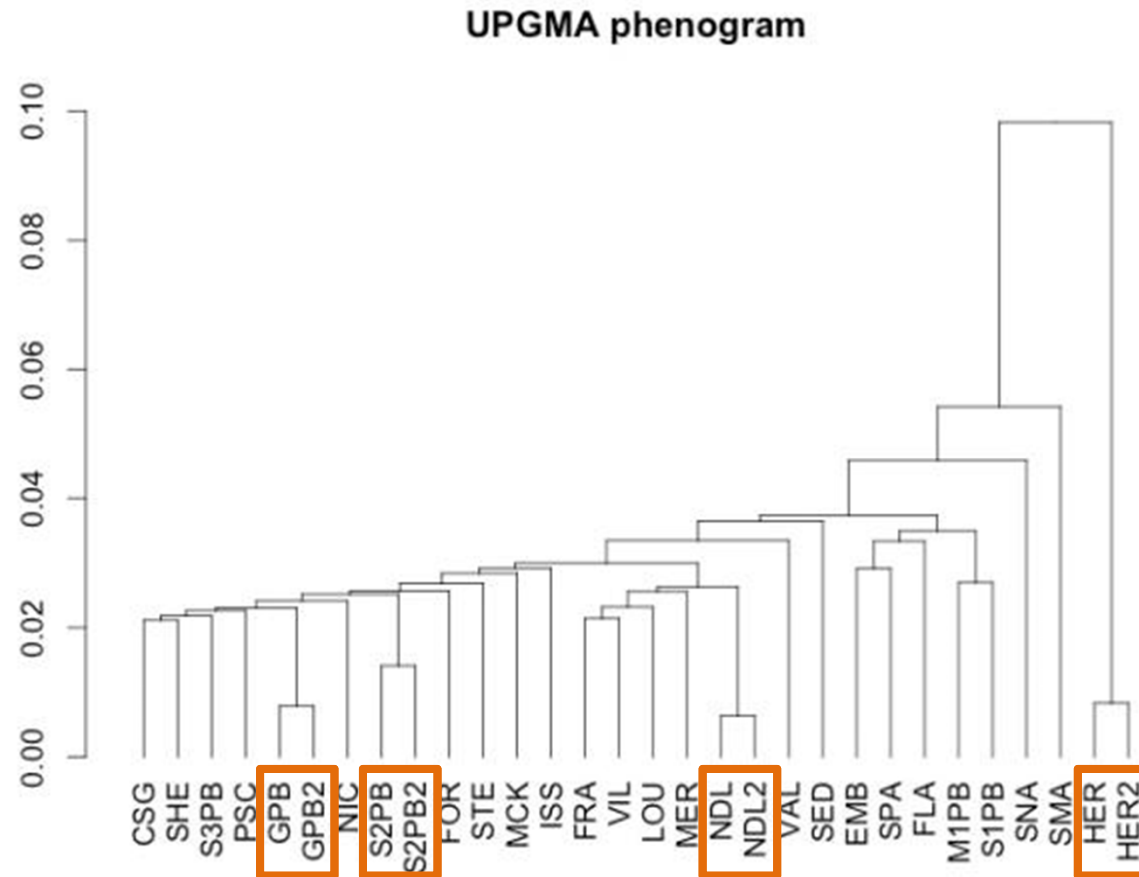
Milieux humides non-boisés

Data CIC





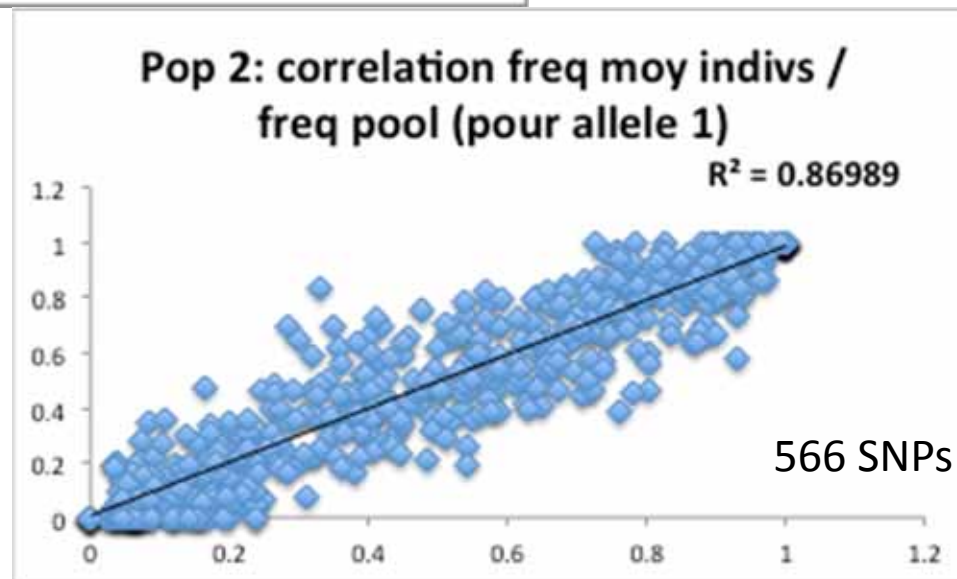
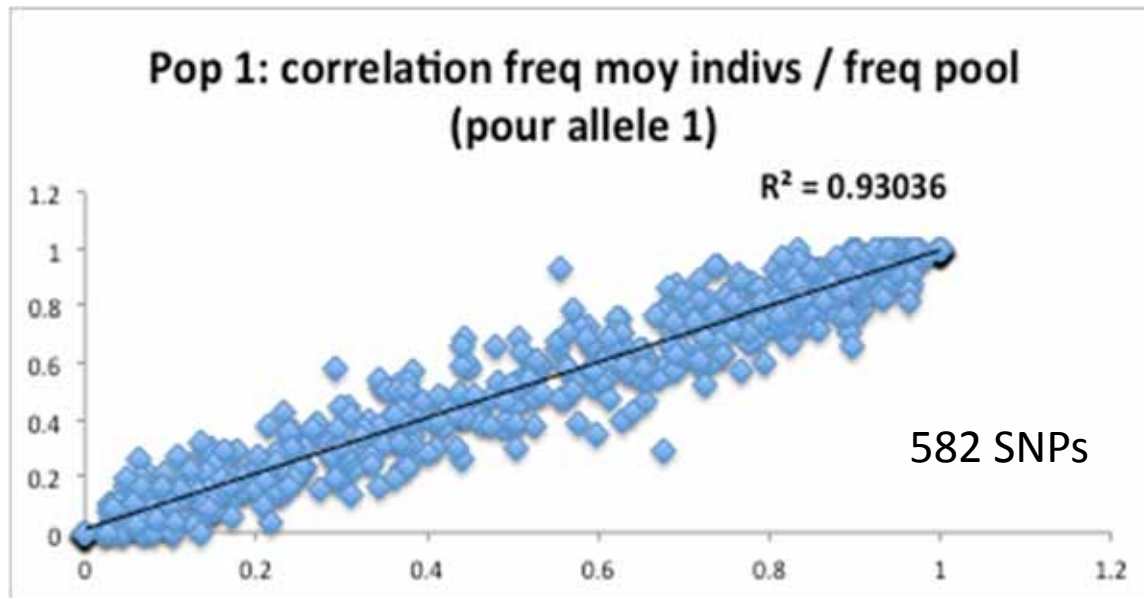
Les répliquas... sont regroupés!



Comparaison:

Moyenne des fréquences alléliques pour 15 individus

vs fréquences alléliques d'un pool fait à partir de ces 15 individus



Séquençage GBS (Genotyping-By-Sequencing)

GBS: step by step

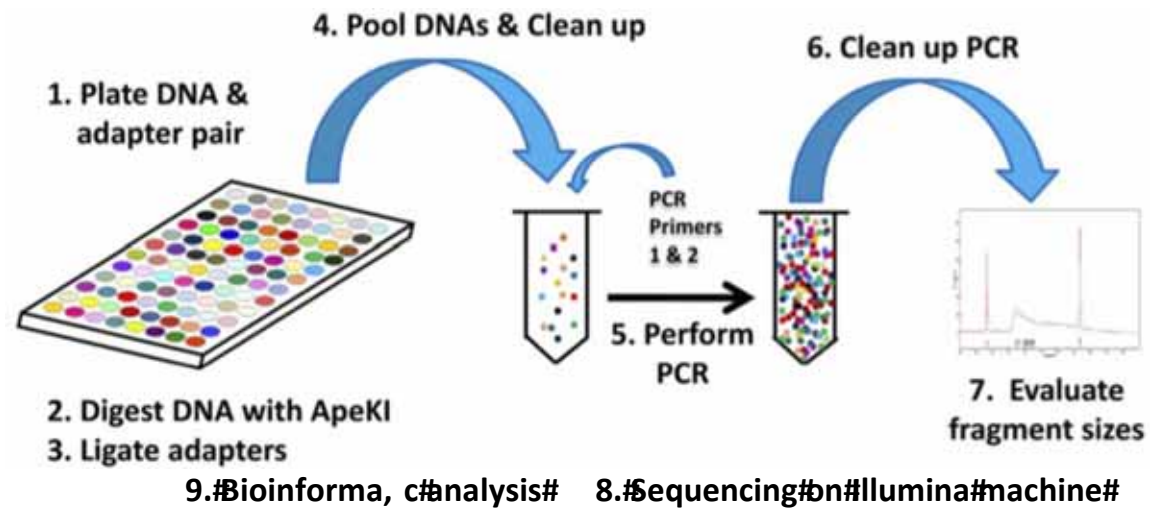


Plate forme illumina/Solexa

Principe général:

Tout comme 454: Réaliser une réaction PCR à partir de séquences d'ADN simple brin provenant du génome d'intérêt préalablement fragmenté ou amplifié.

Résultat = brin modèle

si on s'intéresse à un gène particulier
si on s'intéresse au génome

o Intégration de plusieurs techniques:

- Biopuces à ADN
- Nanotechnologies
- Variante de la technique de Sanger appelé CRT (cyclic reversible termination)
- Traitement informatique de pointe



Support : flow cell

- 8 lignes
- Un pool d'échantillons séquencé par ligne
- 100 000 bases séquencées / seconde
- Plus de 100 millions de séquences (reads) par ligne

Etapes de séquençage Illumina

Etape 1. Préparation des bibliothèques d'ADN ou de cDNA

Fragmentation de l'ADN ou du cDNA et/ou sélection des molécules à séquencer (petits ARN, ADN immuno-précipité, ...)

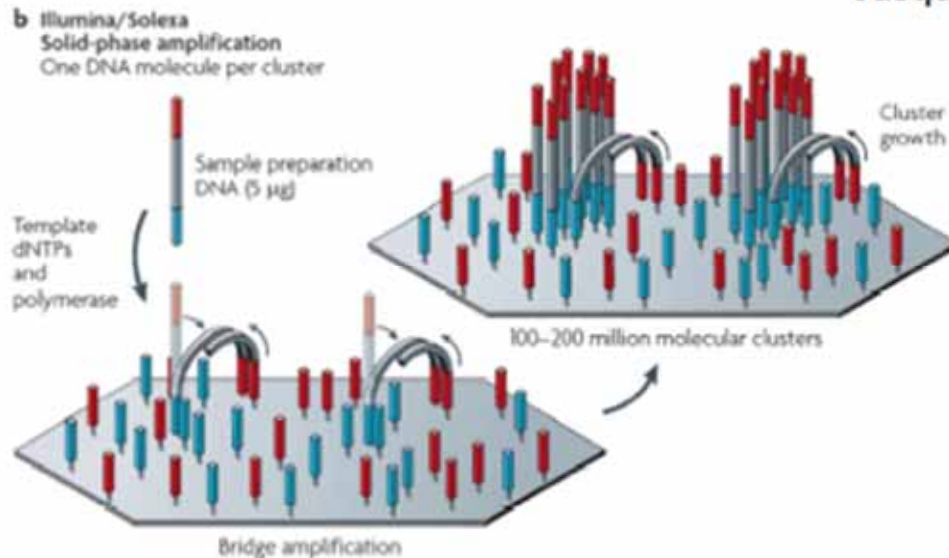
Ligation d'adaptateurs et PCR

Etape 2. Dépôt sur lame (flow cell)

Etape 3. Amplification des acides nucléiques

Jusqu'à 1000 copies identiques de chaque molécule => clusters

Jusqu'à 10 millions de clusters/cm²



*Emprunté du cours *Écologie Moléculaire* BIO-7010 (H-2013) du professeur **Louis Bertnachez**

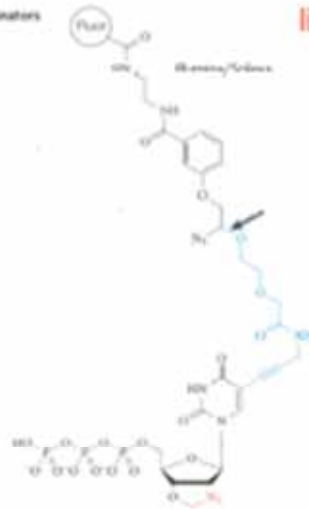
Etape 4. Séquençage

Incorporation de nucléotides fluorescents:

- Fluorochromes différents par base (A,C,G,T)
- 1 base incorporée par cycle :

Utilisation d'un **terminateur Réversible** (F) avec groupement de protection qui est photoclivé par la lumière ultraviolette (> 300nm)

• 3'-blocked reversible terminators

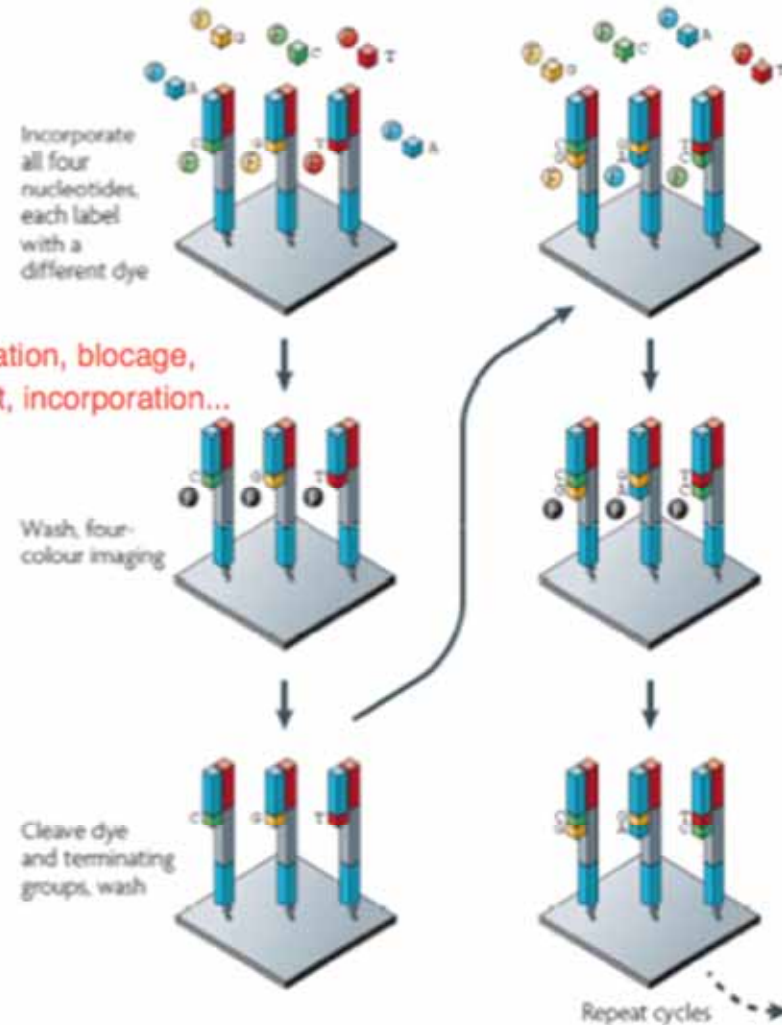


cycle où il y a incorporation, blocage, libération par ultraviolet, incorporation...

De 36 à 100 cycles

Ex : 60 cycles = séquences de 60 nucléotides

a Illumina/Solexa — Reversible terminators

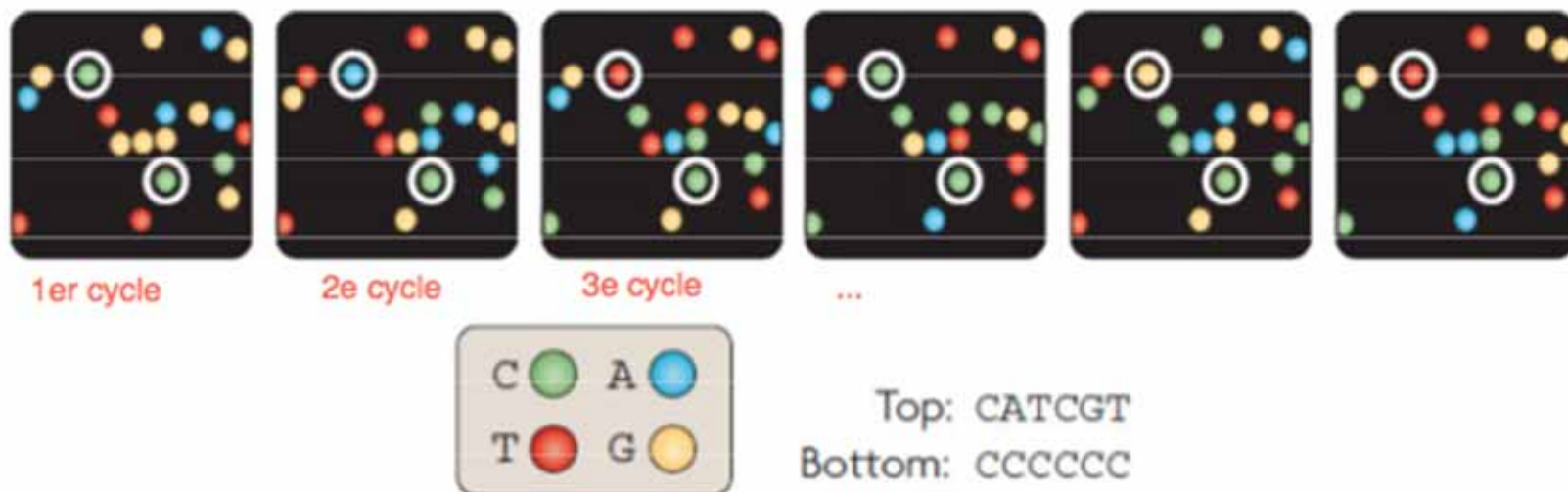


Etape 5. Acquisition des images

En temps réel à chaque cycle pour chaque couleur

Etape 6. Analyse d'images : base calling

On déduit la séquence à partir des fluorochromes détectés à chaque cycle



Etape 7. Collecte des données et analyse

Traitement Bioinformatique: assignation des tags individuels, éliminations des séquences de faibles qualités, création des contigs,...



10 individus/population

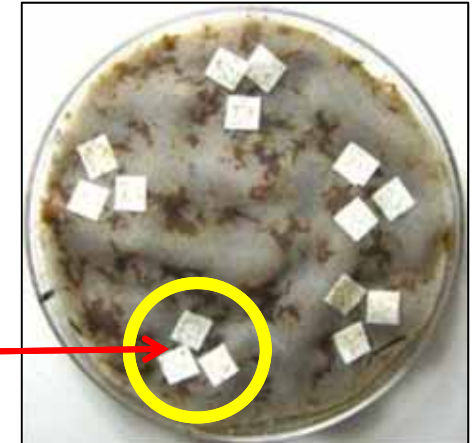
4 capsules/individu

1 « pool » / individu

~100 graines/pool



1 individu



Bris de dormance

4°C à l'ombre pendant 11 semaines

Incubation 9 semaines

20°C

Tests germination sur sphaigne
(par Marc-André Lemay)



Fleurs (n=1440)

ACP (Analyse en Composantes Principales)

Différences entre populations: **OUI** (p<0.0001)

Taille fleur

Forme fleur

site	Estimate	StdErr	MSGROUP
EMB	1.4794	0.2054	A
VAL	1.0993	0.1755	AB
FOR	0.9778	0.2485	ABC
FRA	0.6819	0.2027	BC
FLA	0.5383	0.2296	BCD
NIC	0.4331	0.2112	CDE
SHE	0.3512	0.2409	CDEF
SPA	0.1571	0.1633	DEFG
SMA	-0.08019	0.1699	EFGH
MCK	-0.1991	0.2338	FGHI
STE	-0.2742	0.1846	GHI
ISS	-0.2973	0.205	GHI
VIL	-0.3563	0.2123	GHI
MER	-0.3815	0.1757	HI
PSC	-0.4365	0.156	HI
CSG	-0.4946	0.1674	HI
SED	-0.5236	0.177	HI
GPB	-0.7406	0.1749	IJ
LOU	-0.7828	0.2246	IJ
ND	-1.1565	0.1818	J

site	Estimate	StdErr	MSGROUP
PSC	0.9577	0.1275	A
CSG	0.5072	0.1014	B
EMB	0.4857	0.1482	BC
SHE	0.4763	0.119	BC
FOR	0.4229	0.1316	BC
GPB	0.2903	0.1393	BCD
SED	0.2298	0.1211	BCD
STE	0.185	0.1074	CD
ISS	0.08629	0.106	DE
MCK	-0.05124	0.1338	DEF
FLA	-0.1434	0.104	EFG
FRA	-0.1831	0.1202	EFGH
VIL	-0.1956	0.1173	EFGH
NIC	-0.219	0.1319	EFGHI
SPA	-0.3504	0.1087	FGHI
ND	-0.3804	0.1209	FGHIJ
VAL	-0.4221	0.1314	GHIJ
SMA	-0.4856	0.1002	HIJ
LOU	-0.5561	0.1297	IJ
MER	-0.6493	0.09273	J



Plante (n=480)

ACP (Analyse en Composantes Principales)

Différences entre populations: **OUI** (p<0.0001)

Taille plante

Feuillage plante

Site	Estimate	StdErr	MSGROUP
SMA	2.1605	0.4048	A
FLA	1.7899	0.3983	A
ND	1.2094	0.3851	AB
VAL	0.308	0.342	BC
STE	0.2921	0.3404	BC
CSG	0.2873	0.3399	BC
VIL	0.08386	0.3048	C
MCK	0.07863	0.3031	C
NIC	0.06809	0.2992	C
LOU	0.01511	0.2611	C
SPA	-0.08436	0.305	C
FRA	-0.1741	0.3252	CD
MER	-0.2381	0.3343	CDE
SED	-0.4388	0.3527	CDEF
PSC	-0.541	0.3592	CDEF
ISS	-0.5737	0.3611	CDEF
EMB	-0.5943	0.3622	CDEF
FOR	-1.0781	0.3813	DEF
SHE	-1.1736	0.3841	EF
GPB	-1.3967	0.3899	F

NIC	0.6454	0.1875	A
ISS	0.5054	0.1875	AB
ND	0.4927	0.1875	AB
MCK	0.4811	0.1875	AB
GPB	0.4571	0.1875	ABC
FOR	0.4563	0.1875	ABC
SHE	0.4249	0.1875	ABC
SED	0.3282	0.1875	ABCD
PSC	0.2335	0.1875	ABCD
STE	0.1965	0.1875	ABCD
FRA	0.1506	0.1875	ABCD
MER	0.06654	0.1875	BCDE
FLA	0.02822	0.1875	BCDE
CSG	-0.04807	0.1875	CDE
EMB	-0.1595	0.1875	DE
SPA	-0.402	0.1875	EF
SMA	-0.4245	0.1875	EF
VIL	-0.6871	0.1875	FG
LOU	-1.1888	0.1875	GH
VAL	-1.5566	0.1875	H



-Analyse composante Variances **ACP** et germination
avec test de Chi-deux

Différence significative inter-populations

Taille fleur $p < 0.001$

Forme fleur $p = 0.001$

-Corrélation (CORR procedure) pour lien entre Variances
et l'isolement (**NN** et buffers 2, 5, 10km)

Aucune corrélation significative



Evolutionary distinctiveness (ED) et Shapley value (SH)

-Modèles MIXTE pour relations entre **ED/SH** et **ACP** phéno

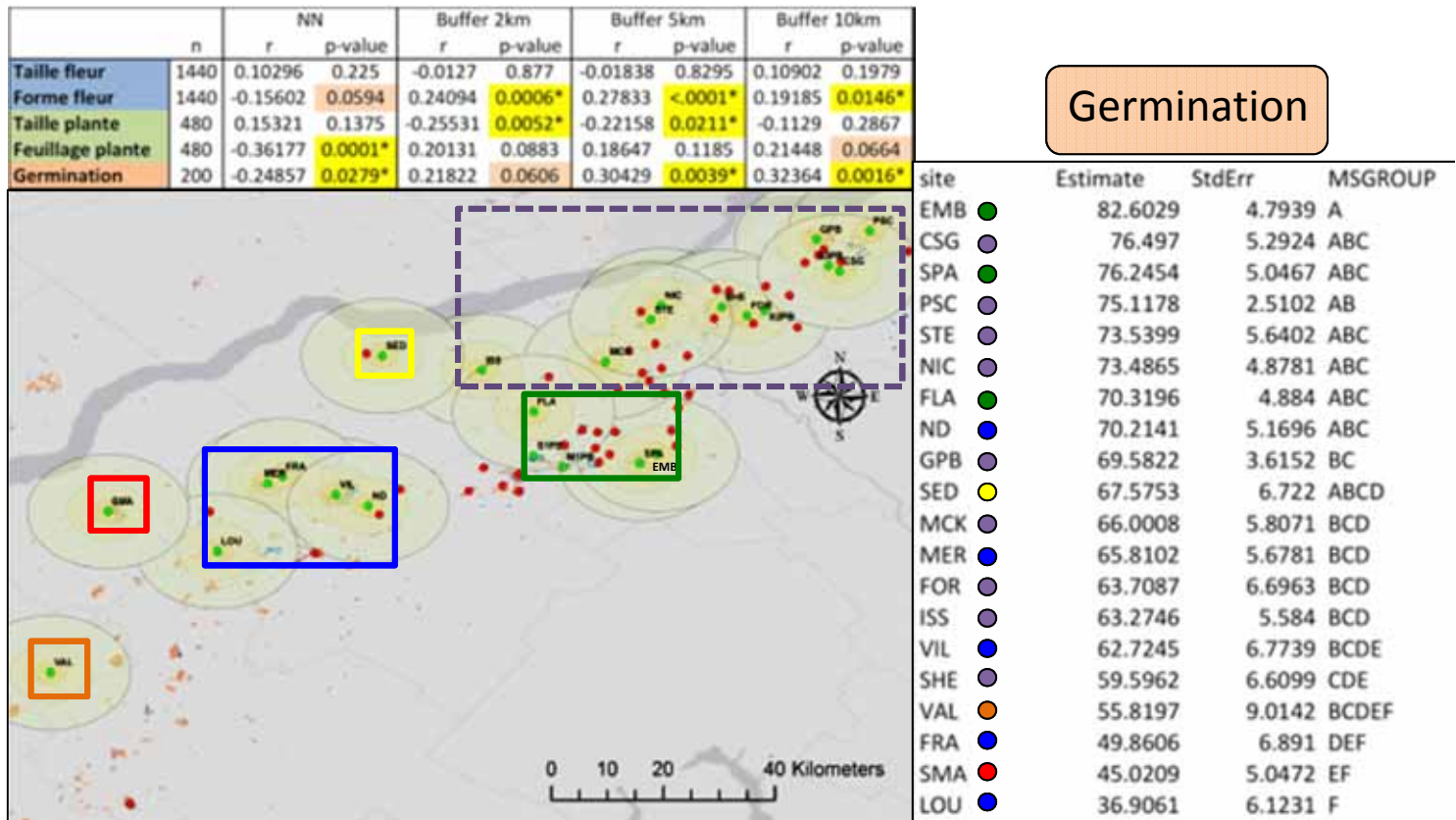
	ED		SH	
	r	p-value	r	p-value
Taille fleur		0.8149		0.5507
Forme fleur		0.4679		0.3464
Taille plante		0.3987		0.9091
Feuillage plante		0.3864		0.3818
Germination	-0.11314	0.0367		0.0824

Résultat significatif pour ED / Germination
 ... mais pas avec SH
 ... et r très faible



Quoi retenir?

- Il y a des échanges entre les populations rapprochées. (IBD)
- L'isolement des populations est lié à des différences au niveau du phénotype et de la germination.



Germination

Définition:

« The **Shapley value** is the biodiversity contribution a taxon is expected to make if all taxa are equally likely to become extinct. » (Hartmann 2013)