



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Institut National Polytechnique de Toulouse
Spécialité : Biologie des populations et Ecologie

Présentée et soutenue par
Héloïse Gonzalo-Turpin
Le 13 Novembre 2008

Produire des connaissances pertinentes pour l'action en
sciences de la conservation :
cas de la gestion de la diversité génétique
intraspécifique en restauration écologique

JURY

Isabelle Olivieri	<i>Professeur Université Montpellier II</i>	<i>Rapporteur</i>
Bernard Hubert	<i>Directeur de recherche INRA Avignon</i>	<i>Rapporteur</i>
Eric Chauvet	<i>Directeur de recherche CNRS Toulouse</i>	<i>Président</i>
Alain Bédécarrats	<i>Ingénieur de recherche CEMAGREF Grenoble</i>	<i>Examineur</i>
Hervé Gryta	<i>Maitre de conférences Université Toulouse III</i>	<i>Examineur</i>
Nathalie Couix	<i>Chargé de recherche INRA Toulouse</i>	<i>Membre invité</i>
Laurent Hazard	<i>Chargé de recherche INRA Toulouse</i>	<i>Directeur de thèse</i>

Ecole doctorale SEVAB
Unité de recherche : UMR INRA/INP-ENSAT 1248 AGIR
Directeur de Thèse : Laurent Hazard
Co-encadrant : Nathalie Couix



Remerciements

Je souhaite ici témoigner ma reconnaissance aux nombreuses personnes qui ont participé à ce travail de recherche au cours de ces trois années de thèse.

Je souhaite tout d'abord adresser un très chaleureux merci à Laurent Hazard et Nathalie Couix pour avoir encadré mon travail de manière complémentaire, stimulante et plus que sympathique. Merci pour votre investissement, votre patience, votre présence, votre soutien. Notre collaboration a été pour moi riche d'apprentissages non seulement professionnels mais aussi personnels. Grace à vous, ces trois années resteront pour moi un souvenir inoubliable et sont en train de devenir un tremplin. J'espère sincèrement que nous aurons l'occasion de retravailler ensemble.

Merci Laurent pour avoir dirigé ce travail, m'avoir guidée et accompagnée tout au long de mon parcours de thèse. Je tiens à te remercier non seulement pour tes qualités d'encadrant mais aussi pour toutes les discussions enrichissantes et chaleureuses qu'on a pu avoir.

Merci Nathalie pour m'avoir guidée et avoir su me faire découvrir des sciences que je ne connaissais pas. Je tiens à te remercier tout particulièrement pour ta façon d'expliquer les choses en employant toujours les mots justes et aussi pour nos échanges toujours si chaleureux.

Je tiens à remercier Paul Laurent pour son investissement sans hésitation et sans faille dans la mise en place des expérimentations de cette thèse. Merci Paul pour ta motivation et ton engagement : ils ont largement contribué à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à Anaïs Gibert pour tous les bons moments passés ensemble, nos discussions sur l'écologie ou toute autre chose, nos rires, nos pauses thé, tes conseils, ton aide, ton soutien, ton amitié.

Je tiens aussi à remercier les personnes qui ont participé à la mise en place des transplantations réciproques et aux mesures de traits en particulier Benoit Gleizes, Eric Lecloux, Nathalie Seguin, Pierre Perrin, Denis Vialan et Laurent Bernal. Vous avez mis beaucoup d'énergie dans cette aventure, et je vous en suis très reconnaissante.

Je tiens à remercier Philippe Barre, Céline Talon et Chrystel Gibelin de l'INRA de Lusignan pour m'avoir accueillie si chaleureusement dans leur labo et m'avoir accompagnée dans mon apprentissage des méthodes d'analyse génétique.

Je veux aussi exprimer toute ma reconnaissance aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer cette thèse : Isabelle Olivieri, Bernard Hubert, Eric Chauvet, Alain Bédécarrats et Hervé Gryta.

Merci aux membres de mon comité de thèse pour leurs regards pertinents sur mon travail : François Lefèvre, Arnaud Martin, André Pornon, Alain Bédécarrats, Philippe Barre, Sandra Malaval-Cassan et Jocelyne Cambécédes.

Merci à tous ceux qui m'ont reçue et se sont rendus disponibles pour me parler de leur point de vue sur la restauration lors des entretiens.

Merci à tous les doctorants de l'UMR AGIR et en particulier à Estelle Chambon, Pauline Ansquer, Guillaume Martin, Vahid Poozesh, Pierre Casadebaig, Anne Lauvie et Julie Labatut avec qui j'ai pu avoir des discussions toujours sympathiques et enrichissantes.

Un grand merci à Aurore Grisard et Annabelle Pons pour leur travail de stage qui a nourri cette thèse mais aussi pour leur sympathie et les bons moments passés ensemble.

Merci à tous les membres de l'équipe Orphée et en particulier Michel Duru, Pablo Cruz et Danièle Magda pour leur soutien. Merci aussi à tous les membres de l'UMR AGIR sur qui j'ai pu compter quand c'était nécessaire et en particulier, Geneviève Santoro, Françoise Roux, Christel Moder, Maryse Perreux et Arezki Zerourou. Un grand merci à Denis Baudet pour m'avoir initiée au bad.

Enfin, merci à tous les proches qui m'ont soutenue durant ce parcours.

Merci à Hélios et Michèle Gonzalo pour leur sympathie et leur soutien permanent. Merci à Viviane et Alfredo Caudevilla pour leur gentillesse et toutes les discussions qu'on a pu avoir. Merci à Mathieu et Thomas Caudevilla pour leur joie de vivre, leurs bons mots, les parties de chasse-taupes et de mémo entre autres.

Merci à toute ma famille et en particulier à mes grands-mères et à Michel pour leurs encouragements et leur soutien.

Merci à mes amies de longue date pour leur soutien : Gaëlle, Camille, Claire et Valérie.

Merci à mon frère Thom pour sa joie de vivre, son énergie et son soutien sans faille. Même à distance tu es toujours présent.

Merci à mes parents pour leurs encouragements, pour leur soutien sans faille et pour tous les bons moments passés ensemble. Cette thèse est aussi le fruit de ce que vous m'avez transmis : vos valeurs, le goût d'apprendre sans cesse, la volonté de comprendre et d'aller plus loin, le goût des sciences (de toutes les sciences), de l'écriture, des arts... Un merci tout particulier à Maman pour nos discussions et à Papa pour avoir illustré admirablement ce manuscrit.

Enfin, un très grand et tout spécial merci à Lau pour tout ce qu'on partage, qui me rend heureuse et me donne confiance. Merci pour tes encouragements et ton soutien infaillible. Tu es toujours là quand il faut et comme il faut. Merci aussi pour tous les bons moments partagés, pour nos longues discussions sur tous les sujets imaginables et inimaginables. Il y a encore tellement de choses qu'on doit construire ensemble...

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	3
CHAPITRE 1.....	15
Correspondance entre les patrons d'endophytisme et de structure génétique neutre chez <i>Festuca eskia</i> ..	15
Contexte et insertion dans la thèse	15
Résumé de l'article 1	17
Article 1.....	19
CHAPITRE 2.....	41
Le potentiel adaptatif des plantes alpines : remise en cause d'hypothèses communément admises	41
Contexte et insertion dans la thèse	41
Résumé de l'article 2.....	45
Article 2.....	47
CHAPITRE 3.....	69
Vers une intégration de la restauration à une gestion globale du territoire : prendre en compte la diversité des parties-prenantes	69
Contexte et insertion dans la thèse	69
Résumé de l'article 3.....	73
Article 3.....	75
CHAPITRE 4.....	97
Repenser le partenariat afin de produire des connaissances pertinentes pour l'action : analyse d'une expérience dans le domaine de la restauration écologique	97
Contexte et insertion dans la thèse	97
Résumé de l'article 4.....	99
Article 4.....	101
DISCUSSION GÉNÉRALE	119
BIBLIOGRAPHIE.....	137

TABLE DES ENCADRÉS

Encadré 1 : Présentation du projet Ecovars	4
Encadré 2 : Caractéristiques de <i>Festuca eskia</i>	6
Encadré 3 : Démarche mise en œuvre au cours de la thèse	8
Encadré 4 : Caractéristiques des champignons endophytes des graminées	10
Encadré 5 : Schéma représentant ma progression au sein des sciences de la conservation depuis une approche classique en biologie évolutive et écologie vers une approche qui vise à produire des connaissances pertinentes pour l'action.	118



Un cheminement (G. Turpin)

INTRODUCTION GENERALE



Rivière des Pyrénées. (G. Turpin)

INTRODUCTION GENERALE

La gestion de la biodiversité est officiellement devenue une préoccupation collective et mondiale lors de l'adoption de la Convention sur la Diversité Biologique¹ par plus de 150 états en 1992. Depuis une dizaine d'années, cette préoccupation se traduit par l'émergence de nombreux projets relatifs à la conservation et à la restauration de la biodiversité, conjointement à l'essor des sciences de la conservation.

Les sciences de la conservation ont pour objet l'évaluation des dégradations causées à la biodiversité et la conception de solutions pour la conserver et la restaurer, autrement dit, la gérer (Soulé 1985; Meffe & Carroll 1997). Elles concernent les trois niveaux de la biodiversité : la diversité génétique intraspécifique, la diversité spécifique (diversité des espèces) et la diversité écosystémique (diversité des écosystèmes). Parmi les sciences de la conservation, on distingue généralement la biologie de la conservation² et l'écologie de la restauration³, associées respectivement aux pratiques de conservation de la diversité biologique et de restauration écologique (Higgs 2005). Les sciences de la conservation s'appuient largement sur les paradigmes de la biologie évolutive et de l'écologie. Néanmoins, même si elles sont historiquement ancrées dans des disciplines académiques, elles s'en différencient dans la mesure où elles sont explicitement destinées à l'action (Soulé 1985; Meffe & Carroll 1997).

Malgré l'existence d'une préoccupation collective pour la biodiversité et le développement de sciences destinées à sa gestion, les projets de conservation ou de restauration suscitent souvent de vives critiques voire échouent dans leur mise en œuvre (Jacobson & Mcduff 1998; Geist & Glatowitsch 1999; Gobster & Hull 2000; Pfadenhauer 2001). De nombreux auteurs en sciences de la conservation expliquent ces difficultés par le fait que ce sont essentiellement des sciences biologiques qui sont mobilisées pour gérer la biodiversité, alors qu'en général, sa gestion relève

¹ La Convention sur la Diversité Biologique est un traité international qui fut adopté lors du Sommet de la Terre à Rio de Janeiro en 1992. Son objectif est de développer des stratégies nationales pour la conservation et l'utilisation durable de la diversité biologique. La Convention a été signée en décembre 1993 par 168 états.

² La biologie de la conservation est une discipline qui vise à identifier les populations et les espèces en déclin voire menacées d'extinction, à déterminer les causes de ce déclin, et à proposer des moyens d'y remédier.

³ L'écologie de la restauration est une discipline qui vise à assister la réparation d'un écosystème qui a été dégradé, endommagé ou détruit

Encadré 1 : Présentation du projet Ecovars

Ecovars est un projet qui a été porté par le Conservatoire Botanique Pyrénéen (CBP) de 2005 à 2007 en partenariat avec l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) et le Service d'Utilité Inter-chambres d'Agriculture des Pyrénées (SUAIA-P).

L'objectif du projet Ecovars était de promouvoir l'utilisation de graines de plantes autochtones « sauvages » pour la restauration de zones sub-alpines et alpines dégradées dans les Pyrénées. L'enjeu du projet était de conserver et valoriser simultanément la flore locale dans les projets de restauration. Autrement dit, il s'agissait d'utiliser la flore locale à des fins de restauration sans dégrader la diversité génétique intraspécifique des espèces sauvages mobilisées.

L'idée d'utiliser des semences locales pour la restauration des zones alpines dégradées dans les Pyrénées avait été développée dans les années 90 afin de restaurer des zones du Parc National des Pyrénées. En 1998, le CBP a recommandé de généraliser l'utilisation de semences locales sur l'ensemble du massif, en particulier pour restaurer le couvert herbacé après des travaux liés aux aménagements touristiques (*e.g.*, des pistes de ski, des talus, voir Figures 1 et 2).



Figure 1 : destruction du couvert végétal suite à l'aménagement d'une piste de ski



Figure 2 : restauration d'un talus par semis hydropropulsé (hydroseeding)

L'utilisation de semences locales devait permettre :

- d'une part de limiter les échecs techniques du fait de l'adaptation des plantes locales au milieu à restaurer, et,
- d'autre part de limiter les risques génétiques liés à l'introduction de génotypes étrangers.

Cependant, passer de l'échelle du parc à celle du massif pyrénéen nécessitait une quantité importante de semences et impliquait donc la production de graines de plantes locales.

Le projet était organisé en différents lots de tâches *i.e.* différentes missions correspondant aux compétences de chaque partenaire :

- le CBP était en charge de la mission « transfert et expertise » du projet et avait pour tâches : le consulting en restauration, l'information et la sensibilisation relativement au projet, la mise en place d'un réseau d'acteurs locaux concernés par la restauration, la mise en place d'un centre de ressources ainsi que l'élaboration et la réalisation de sessions de formation ;
- le SUAIA-P était en charge de la mission « production de graines » et avait pour tâches de réaliser une étude prospective de la filière de production de semences à développer, de mettre en place un premier réseau d'agriculteurs producteurs de semences pyrénéennes ;
- l'INRA était en charge de la mission « recherche » et avait pour tâches d'établir des zones de transfert de graines, d'accompagner la mise en place d'un réseau d'acteurs locaux concernés par la restauration et d'étudier les processus d'apprentissage collectifs au sein du dispositif.

Dans le cadre de ce projet, huit espèces alpines herbacées avaient été choisies par le CBP pour constituer les mélanges destinés à la restauration. Le choix de ces espèces reposait sur leur caractère pionnier, leur présence sur l'ensemble du massif pyrénéen et leur enracinement puissant.

aussi des domaines du social, du politique, ou encore du culturel (*e.g.*, Gobster & Hull 2000; Higgs 2005; Naveh 2005; Chan *et al.* 2007). En d'autres termes, les problèmes de gestion de la biodiversité sont des problèmes complexes. Ainsi, les appels à une prise en compte des dimensions sociales, politiques et culturelles dans les projets relatifs à la gestion de la biodiversité, ainsi qu'en sciences de la conservation, sont de plus en plus nombreux (*e.g.*, Higgs 1997; Jacobson & McDuff 1998; Robertson & Hull 2001; Naveh 2005; Chan *et al.* 2007). Les solutions à apporter nécessitent en effet de prendre en compte ce que les acteurs pensent, comment ils agissent et interagissent avec leur environnement. Elles supposent d'une part la conception de projets associant des acteurs de terrain à des chercheurs en sciences de la conservation, et, d'autre part, la mise en œuvre d'une certaine interdisciplinarité entre sciences biologiques et sciences sociales.

Cependant, très peu d'auteurs relatent explicitement les implications de ces propositions concernant la mise en œuvre des projets de gestion de la biodiversité et la recherche en sciences de la conservation. L'enjeu principal de ma thèse est de mettre en œuvre concrètement ces deux propositions, afin de produire des connaissances plus pertinentes pour l'action dans un projet relatif à la gestion de la biodiversité, et, ce faisant, de donner à voir le cheminement que suppose, pour un biologiste, de s'inscrire dans une telle perspective.

Mon travail de thèse a pris naissance et s'est ancré dans le projet Ecovars (encadré 1). L'enjeu du projet était de concilier conservation et valorisation de la flore locale sur le massif pyrénéen lors de la restauration des couverts végétaux alpins et sub-alpins dégradés (par exemple, des terrains mis à nu lors de terrassements pour la construction de pistes de ski). L'utilisation de plantes locales pour restaurer plutôt que de mélanges de semences commerciaux devait permettre :

- de limiter les échecs techniques lors des opérations de restauration grâce à l'adaptation particulière des plantes autochtones au milieu « local » à restaurer, et,
- de limiter les risques de dégradation de la diversité génétique des espèces autochtones induits par l'hybridation interspécifique avec des espèces allochtones ou même l'hybridation intraspécifique entre populations locales et populations exogènes d'une même espèce.

Encadré 2 : Caractéristiques de *Festuca eskia*

Le gispet (*Festuca eskia* Ramond ex DC.) est une graminée (*Poaceae*) emblématique et commune des Pyrénées. Elle est endémique des Pyrénées et des Monts Cantabriques et se développe dans des pelouses ou des éboulis au dessus de 1400 m d'altitude.

C'est Ramond de Carbonnières qui en 1793 nomme cette graminée selon le nom utilisé par les habitants de la vallée de Barèges « Esquia » (de l'occitan « esquina », qui signifie l'échine) et qu'il orthographie « Eskia ». *Festuca eskia* pourrait ainsi vouloir dire « la fétuque courbée » (S. Malaval, comm. pers.).

Eléments taxonomiques

F. eskia forme généralement des touffes de feuilles serrées, hautes de 20 à 50 cm (Figure 3). Le limbe des feuilles est vert à glaucescent, coriace, lisse, courbé, enroulé et son apex est piquant. Les racines sont longues, dures et rampantes. Les hampes florales sont plus longues que les feuilles et portent une panicule lâche et inclinée panachée de vert, de jaune et de violet (Figure 4). *F. eskia* est une espèce allogame et diploïde ($2n=14$).

Eléments de phylogénie

F. eskia appartient dans le genre *Festuca* au clade des fétuques à feuilles fines (Torrecilla & Catalan 2002). On distingue généralement deux variétés de *F. eskia* : la variété *eskia* et la variété *orientalis*. L'établissement de ces variétés est basé sur la variabilité morphologique et l'habitat (Baudière *et al.* 1973).

Eléments d'écologie

F. eskia affectionne les sols siliceux. C'est une plante héliophile (qui apprécie l'exposition au soleil) et mesoxérophile (qui apprécie les conditions relativement sèches).

F. eskia est caractéristique de deux grands types de pelouses acidophiles (Baudière *et al.* 1973). Dans le premier cas, il s'agit d'associations végétales ouvertes qui se développent sur de fortes pentes exposées au Sud. Ces peuplements sont caractérisés par des formations en gradins (Figure 5). Dans le second cas, il s'agit de pelouses fermées (Figure 6) qui se développent notamment dans les zones longuement enneigées.

Intérêt communautaire

La pelouse à *F. eskia* en gradins figure sur la liste des habitats d'intérêt communautaire européen.

Les pelouses à fort recouvrement par *F. eskia* sont généralement considérées comme des estives à faible valeur pastorale, notamment du fait de la faible appétence du gispet. Cependant, d'une part ces pelouses abritent des espèces à bonne valeur fourragère comme *Trifolium alpinum*, et d'autre part, elles occupent souvent de grandes superficies qui représentent malgré tout une ressource fourragère non négligeable.



Figure 3 : Touffe de *Festuca eskia*



Figure 4 : Panicules de *Festuca eskia*



Figure 5 : Pelouse à *Festuca eskia* en gradins

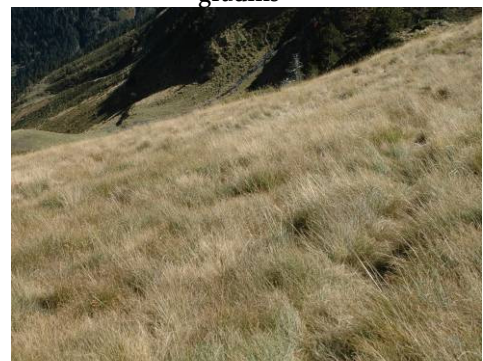


Figure 6 : Pelouse fermée à *Festuca eskia*

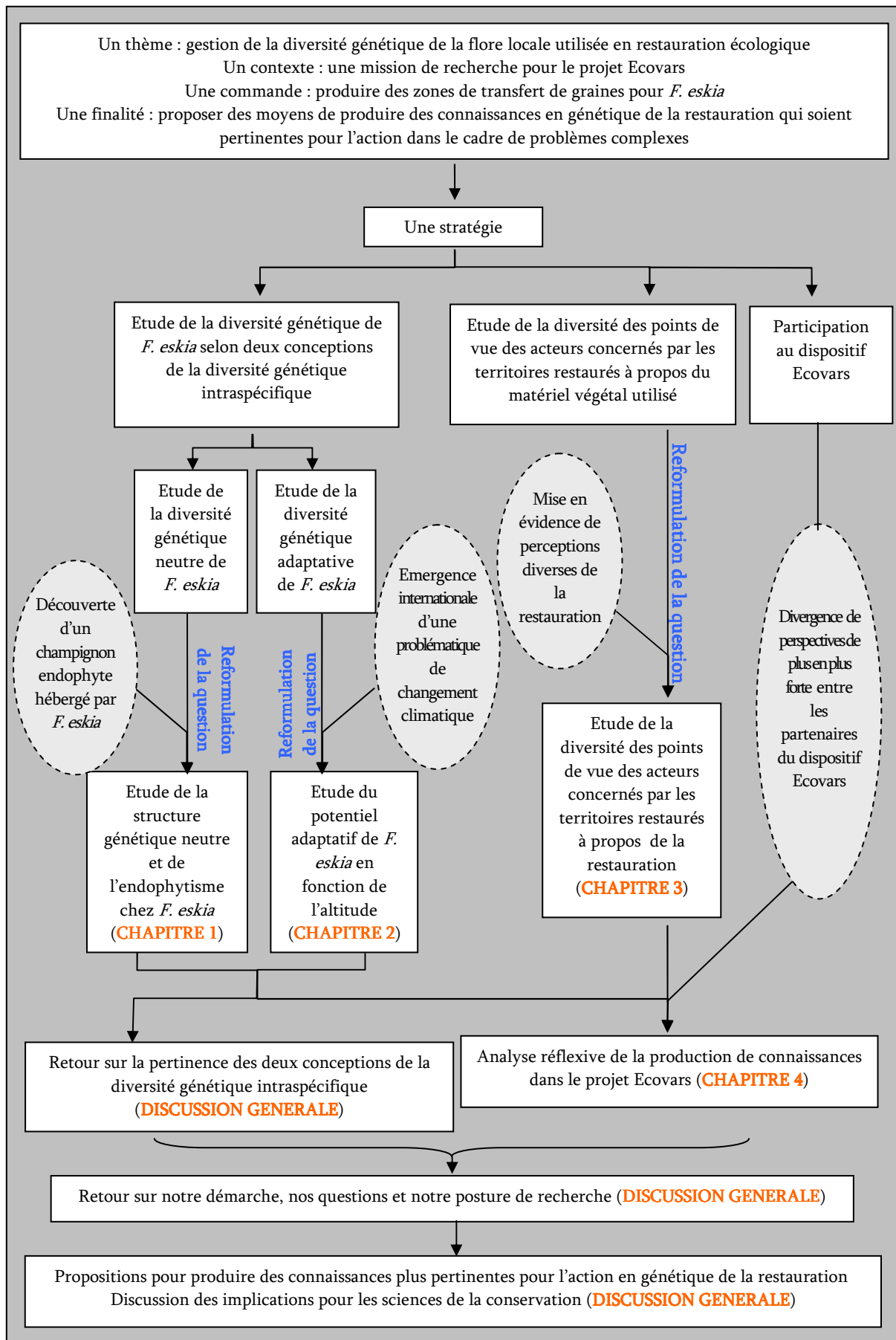
Ecovars prévoyait l'établissement de « zones de transfert de graines » pour les espèces mobilisées dans le projet afin de définir plus précisément ce que l'on pouvait considérer comme étant une flore « locale ». Une zone de transfert de graines est une région géographique au sein de laquelle le transfert de graines d'une population à une autre et l'hybridation intraspécifique qui peut en résulter n'ont pas d'effet délétère sur « l'intégrité » génétique de l'espèce (Hufford & Mazer 2003). Ainsi, définir des zones de transfert de graines pour une espèce revient à délimiter des zones au sein desquelles on peut récolter, multiplier et utiliser les graines des plantes autochtones sans dénaturer leur caractère « local ».

Ce type de zonage est un outil largement utilisé en écologie de la restauration et est issu de deux enjeux distincts, présents conjointement dans le projet Ecovars.

- Le premier enjeu est de conserver les grandes lignées généalogiques qui composent l'espèce. La finalité des zones de transfert est alors de ne pas mélanger les différentes lignées généalogiques pour ne pas modifier la distribution spatiale naturelle des lignées qui composent l'espèce. Dans ce cas, les zones de transfert sont établies au moyen de marqueurs moléculaires neutres. Elles permettent de gérer la diversité génétique neutre résultant de l'isolement prolongé des populations (Godelle *et al.* 1998; Moritz 2002).
- Le second enjeu est de ne pas dégrader le potentiel adaptatif de l'espèce, *i.e.* sa capacité à évoluer, à s'adapter aux conditions environnementales locales. La finalité des zones de transfert est alors de ne pas mélanger des populations qui présentent une différenciation génétique adaptative. Dans ce cas, les zones de transfert sont établies au moyen de mesures quantitatives sur des caractères phénotypiques. Elles permettent de gérer la diversité génétique adaptative résultant de l'adaptation locale des populations (Godelle *et al.* 1998; Moritz 2002).

Par ailleurs, le projet Ecovars prévoyait la mise en culture de huit espèces de la flore locale afin d'avoir à disposition une quantité de graines suffisante pour pouvoir restaurer les 150 ha de pelouses alpines dégradés annuellement dans les Pyrénées. Parmi les espèces mobilisées, *Festuca eskia*, une graminée alpine endémique des Pyrénées et des Monts Cantabriques (encadré 2) avait été choisie comme base des mélanges destinés à la restauration.

Encadré 3 : Démarche mise en œuvre au cours de la thèse



Enfin, Ecovars prévoyait aussi la mise en réseau d'acteurs concernés par les territoires restaurés afin de susciter leur adhésion aux enjeux du projet. En effet, au-delà du maintien de la diversité génétique des espèces mobilisées, pour que les graines de plantes locales proposées soient utilisées, il était nécessaire que les caractéristiques techniques et biologiques du matériel végétal qui en résulte conviennent aux utilisateurs des territoires restaurés. La création du réseau d'acteurs devait donc être initiée par la mise en place d'un groupe de discussion avec des acteurs locaux concernant les caractéristiques du matériel végétal à utiliser en restauration.

C'est dans ce contexte que j'ai construit la problématique de ma thèse qui correspondait pour partie à la mission « recherche » du projet Ecovars. Mon travail avait initialement pour objectif d'établir des zones de transfert de graines qui intégreraient les points de vue des acteurs utilisant les espaces à restaurer sur le matériel végétal utilisé. Pour y parvenir, ma stratégie initiale a consisté à orienter mon travail simultanément dans deux directions (encadré 3).

- Premièrement, je devais étudier la diversité génétique de *F. eskia* afin de pouvoir établir des zones de transfert de graines. Je me trouvais alors confrontée à la coexistence, parmi les partenaires du projet Ecovars, des deux enjeux évoqués précédemment qui sous-tendent l'établissement de zones de transfert. Ainsi, certains partenaires du projet étaient partisans d'une gestion de la diversité génétique neutre alors que les autres étaient partisans d'une gestion de la diversité génétique adaptative. Par ailleurs, l'étude des diversités génétiques neutre et adaptative est au cœur des enjeux scientifiques de la biologie des populations. Leur étude simultanée permet en effet de déterminer quelle est l'importance relative de la dérive génétique aléatoire et de la sélection naturelle directionnelle dans la différenciation des populations pour les traits quantitatifs. Ces deux éléments m'ont amenée à étudier en parallèle les diversités génétiques neutre et adaptative de *F. eskia* (encadré 3).
- Deuxièmement, je devais étudier la diversité des points de vue des acteurs concernés par les territoires restaurés à propos du matériel végétal utilisé. Cela devait permettre de préparer la mise en place d'un groupe de discussion avec les acteurs locaux concernés par des opérations de restauration pour que le choix du matériel végétal à utiliser soit fait collectivement. A l'issue des discussions, je devais « traduire » en termes génétiques les caractéristiques du matériel végétal considérées collectivement comme les plus importantes à prendre en compte, afin de les intégrer aux zones de transfert de graines.

Encadré 4 : Caractéristiques des champignons endophytes des graminées

Les champignons endophytes sont des champignons caractérisés par un cycle biologique qui se déroule dans les tissus d'une plante hôte (Figure 7).

L'association endophyte-graminée est très fréquente dans les prairies naturelles des zones tempérées, en particulier chez les graminées des genres *Festuca* et *Lolium*. On estime que 30% des 3000 espèces de graminées existantes peuvent être infectées par ce type de champignon (Leuchtmann 1992).

Les champignons endophytes des graminées appartiennent aux genres *Epichloë* ou *Neotyphodium* et à la famille des Clavicipitaceae (Schardl *et al.* 2004). Chez *Festuca eskia* c'est une forme asexuée d'*Epichloë festucae* que nous avons mise en évidence. Ce champignon se transmet héréditairement du plant mère aux graines.

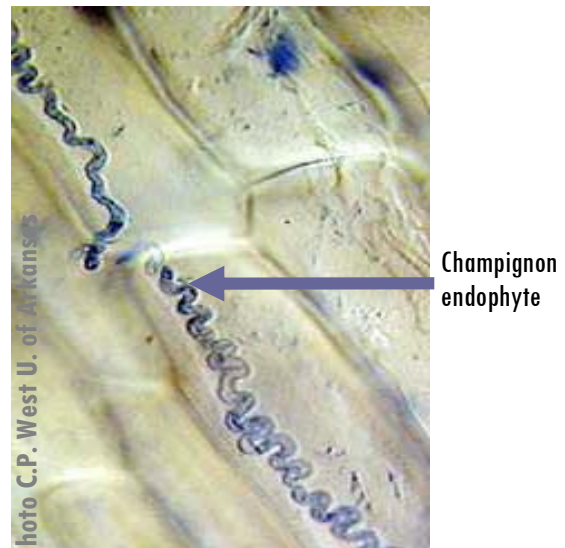


Figure 7 : Filament mycélien d'un champignon endophyte dans un tissu végétal

Caractéristiques de l'association endophyte-graminée

En général, on considère que les associations endophyte – graminée sont des associations mutualistes :

- les bénéfices pour le champignon incluent la nutrition, la protection et l'amélioration de la dissémination (*via* les graines) (Spyreas *et al.* 2001).
- les bénéfices pour l'hôte incluent l'augmentation de la résistance aux herbivores, notamment *via* la production d'alcaloïdes toxiques, de la tolérance à la sécheresse, et de la vigueur (production de talles, biomasse, germination et nombre de graines) (West *et al.* 1993; Faeth *et al.* 2004; Schardl *et al.* 2004; Malinowski *et al.* 2005; Hesse *et al.* 2005; Malinowski & Belesky 2006; Zabalgoatzea *et al.* 2006).

Des études réalisées *in situ* ont cependant mis en évidence que l'association endophyte – graminée pourrait plutôt être un continuum allant du parasitisme au mutualisme, les effets du champignon sur la valeur adaptative de la plante variant selon les conditions environnementales et les génotypes de la plante hôte et de l'endophyte (Morse *et al.* 2002; Hesse *et al.* 2003; Malinowski *et al.* 2005; Hesse *et al.* 2005).

Valorisation des endophytes

Dans les années 40, aux Etats Unis et en Australie, un cultivar endophyté de *Festuca arundinacea* a été largement utilisé comme fourrage du fait de sa résistance particulière aux stress environnementaux. Malgré ses qualités, les performances des bovins consommant cette plante étaient médiocres et des cas de toxicose chez le bétail ont commencé à être recensés. Plus tard, ces difficultés ont été attribuées à la présence de toxines induites par un champignon endophyte présent dans les feuilles et les tiges de la fétuque.

Depuis, la sélection variétale a permis de développer certains couples endophytes-graminée non toxiques. Les endophytes des graminées sont à l'heure actuelle valorisés dans la création de variétés fourragères et à gazon.

Au-delà de cette stratégie construite *a priori*, ma démarche et mon projet de recherche se sont construits, transformés et enrichis chemin faisant (encadré 3). L'étude de *F. eskia* nous a amenés à découvrir qu'elle hébergeait un champignon endophyte correspondant à une forme asexuée d'*Epichoë festucae* (encadré 4). Ce champignon ne se transmet que de manière héréditaire et peut à ce titre constituer une autre forme de diversité génétique au sein des populations de plantes hôtes. Cela nous a conduits à nous poser la question du patron de répartition de ce champignon dans les populations de *F. eskia* et, plus largement, de la prise en compte de cette forme d'hérédité lors des opérations de restauration. Par ailleurs, l'évidence d'un réchauffement climatique rapide dans les Pyrénées (Lopez-Moreno *et al.* sous presse), devenue tangible au cours de la thèse, nous a amenés à examiner le potentiel adaptatif de *F. eskia* en fonction de l'altitude. En effet, on peut considérer que le gradient altitudinal permet de mimer le changement climatique dans les zones alpines (Theurillat & Guisan 2001; Beniston 2003). Enfin, l'analyse des premiers entretiens portant sur le matériel végétal utilisé en restauration nous a conduits à constater que ce thème était trop restrictif face aux considérations plus globales sur les opérations de restauration soulevées par les acteurs rencontrés. Ce constat nous a conduits à nous intéresser plus largement aux opérations de restauration en tant que telles. Par ailleurs, l'insertion de ce travail dans un projet en partenariat au sein duquel certaines divergences de perspective entre partenaires sont apparues nous a amené à analyser la production de connaissances dans ce projet.

Je livre dans ce document une perspective sur mon projet de recherche qui présente puis discute le cheminement que j'ai suivi. Il est organisé en quatre chapitres suivis d'une discussion générale. Le chapitre 1 correspond à l'étude de la diversité génétique neutre existant chez *F. eskia* et de sa correspondance avec la fréquence d'infection par l'endophyte *E. festucae*. Le chapitre 2 correspond à l'étude du potentiel adaptatif de *F. eskia*. Le chapitre 3 correspond à l'étude de la diversité de points de vue existant parmi les acteurs concernés par les opérations de restauration. Le chapitre 4 analyse les modes de production de connaissances utilisés en lien avec le dispositif mis en place dans Ecovars et plus généralement en restauration. La discussion générale retrace et analyse le cheminement de mon raisonnement au cours de ce travail afin d'illustrer le parcours effectué par un biologiste pour traiter de problèmes complexes en sciences de la conservation.

CHAPITRES



Berger dans la brume. (G. Turpin)

La partie de la thèse qui suit est organisée en quatre chapitres correspondant à quatre articles portant chacun sur un thème différent.

Chaque article est précédé :

- d'une introduction rédigée en français expliquant brièvement le contexte scientifique dans lequel se situe l'article et comment il s'insère dans la thèse
- d'un résumé rédigé en français.

L'article qui est rédigé en anglais constitue le corps du chapitre. Il est à noter que les titres et les numéros de figures à l'intérieur des articles leur sont propres et ne sont pas dans la continuité du manuscrit.

La bibliographie de chaque article a été incluse dans la bibliographie générale du manuscrit.

CHAPITRE 1

Correspondance entre les patrons d'endophytisme et de structure génétique neutre chez *Festuca eskia*

Contexte et insertion dans la thèse

Dans le cadre du projet Ecovars, un des objectifs assignés aux chercheurs était d'établir des zones de transfert de graines pour *F. eskia* en adoptant une approche phylogéographique⁴ basée sur l'utilisation de marqueurs génétiques neutres. L'utilisation des marqueurs génétiques neutres permet d'estimer le niveau de diversité génétique dans les populations et les liens généalogiques entre populations. C'est sur la base de ces liens de parenté entre populations que peuvent être établies des zones de transfert de graines au sein desquelles sont groupées les populations généalogiquement proches.

Dans de nombreux cas, les populations de plantes les plus rapprochées géographiquement sont aussi les plus proches génétiquement car elles échangent facilement des gènes grâce aux flux de pollen et de graines. C'est l'inverse pour les populations les plus éloignées : on parle d'isolement par la distance. Cependant, certains obstacles comme des reliefs très élevés ou certains événements comme une séparation momentanée (par un glacier par exemple) peuvent faire barrière aux flux de gènes entre des populations géographiquement proches qui vont alors poursuivre indépendamment leur histoire. Malgré leur relative proximité géographique, ces populations vont ainsi subir au fil de leur histoire respective des modifications génétiques aléatoires, comme des mutations génétiques, qui vont les conduire à se différencier génétiquement.

⁴La phylogéographie est l'étude des principes et processus qui gouvernent la distribution spatiale des lignées généalogiques.

Concernant la diversité génétique neutre de *F. eskia*, et, plus généralement, de l'ensemble des espèces végétales alpines pyrénéennes, l'hypothèse émise par nos partenaires au sein d'Ecovars était la séparation de la flore en une entité orientale et une entité occidentale. Cette hypothèse est communément admise par les botanistes spécialistes de la flore pyrénéenne mais n'a jamais été démontrée par des méthodes génétiques. Cette démonstration faisait partie des attentes de nos partenaires. En effet, elle devait aboutir à l'établissement de zones de transfert de graines pour *F. eskia* qui permettraient de définir avec fiabilité les grandes lignées généalogiques à ne pas mélanger lors des transferts de graines destinées à la restauration.

Initialement, cette partie de la mission « recherche » du projet Ecovars devait se limiter à l'étude phylogéographique de *F. eskia*. Notre connaissance des graminées nous a cependant amenés à tester la présence d'un champignon endophyte (encadré 4) chez cette espèce. En effet, on estime généralement que 30% des 3000 espèces de graminées existantes peuvent être infectées par ce type de champignon (Leuchtmann 1992). Ce champignon se transmet de manière héréditaire de la plante mère aux graines et interagit avec la plante. Des études montrent que cette interaction peut aller du parasitisme au mutualisme (Saikkonen *et al.* 1998; Ahlholm *et al.* 2002; Saikkonen *et al.* 2006). Le champignon est donc susceptible de jouer un rôle important dans l'histoire démographique et évolutive de la plante hôte. Il semble donc nécessaire de prendre en compte le taux d'infection des populations de graminées dans l'établissement des zones de transfert de graines.

Résumé de l'article 1

Dans de nombreuses études, l'établissement de zones de transfert de graines repose uniquement sur l'analyse de la structure et de la diversité génétique basée sur des marqueurs génétiques neutres. Ces études négligent cependant l'influence que peuvent avoir les organismes associés à la plante comme les champignons endophytes chez les graminées. Toutefois, les symbiontes héréditaires comme les endophytes sont susceptibles de jouer un rôle important dans l'histoire démographique et évolutive de leur plante hôte. Il est donc nécessaire de les prendre en compte lorsque l'on établit des zones de transfert de graines pour deux raisons principales. D'une part, introduire des plantes non-endophytées dans une population de plantes endophytées conduit à des flux de gènes entre ces deux catégories qui peuvent conduire dans les générations suivantes à une discordance génétique entre les couples de génotypes plante-endophyte. Cela peut diminuer la valeur adaptative de la plante puisque l'infection par un endophyte affecte la capacité compétitrice ou reproductrice des graminées. D'autre part, la présence d'endophyte dans une population de graminées peut être à l'origine d'une diversité génétique faible des plantes hôtes induite par le champignon pour favoriser le maintien des combinaisons de génotypes plante-champignon co-adaptés.

Pour établir des zones de transfert de graines chez *F. eskia*, nous avons étudié son patron de différenciation génétique, son patron de diversité génétique et le taux d'endophytisme suivant l'altitude et la longitude sur l'ensemble du massif pyrénéen. Vingt trois populations ont été analysées. Des marqueurs génétiques neutres STS (sequence-tagged site) et SSR (simple sequence repeat) ont été mis au point pour *F. eskia* à partir de marqueurs généralement utilisés pour les genres *Festuca* et *Lolium*. Chacun des 463 individus de l'échantillonnage a été génotypé pour quatre loci (trois STS et un SSR). L'estimation de la différenciation génétique et des distances génétiques entre populations s'est faite au moyen de logiciels d'analyse de génétique des populations. Pour détecter la présence d'un champignon endophyte parmi les génotypes de *F. eskia* échantillonnés, des tests immunologiques sous forme de kit (Phytoscreen ®, Agrinostics Ltd, USA) nous ont permis de décrire le patron d'infection.

L'analyse issue des marqueurs génétiques neutres indique que *F.eskia* est séparée en deux groupes génétiques sur le massif des Pyrénées. Ces deux groupes sont géographiquement distincts et diffèrent aussi par leur taux d'infection par l'endophyte : les populations de l'Est forment un groupe qui est fortement infecté (*ca.* 100% de plantes infectées) alors que le groupe des populations de l'Ouest est plus modérément infecté (< 25% de plantes infectées). Au sein d'une même vallée (composée de deux ou trois populations) suivant l'altitude, on observe peu de différenciation génétique et peu de variabilité du taux d'endophytisme entre populations. La diversité génétique intra-population varie très peu quelles que soient l'altitude, la vallée ou le taux d'endophytisme.

Les deux groupes régionaux de *F.eskia* pourraient résulter d'une re-colonisation du massif pyrénéen à partir de deux populations résiduelles qui auraient respectivement trouvé refuge sur les côtes atlantique et méditerranéenne des Pyrénées lors d'un épisode de glaciation. Ces patrons pourraient avoir été renforcés par une divergence écotypique entre populations. En effet, les populations orientales subissent un climat plus sec que les populations occidentales et les endophytes peuvent jouer un rôle dans l'adaptation des plantes à la sécheresse. En conclusion, ces deux groupes de *F.eskia* devraient être considérés comme deux zones de transfert de graines.

Article 1

Co-occurring patterns of endophyte infection and genetic structure in an alpine grass, *Festuca eskia*: implications for sourcing seed for ecological restoration

Gonzalo-Turpin H.¹, Barre P.², Gibert A.¹, Grisard A.¹, West C.P.³, Hazard L.¹

¹INRA, UMR 1248 AGIR, BP 52627, F-31326 Castanet-Tolosan cedex, France

²INRA, UR GAPF, Route de Saintes, BP 6, F-86600 Lusignan, France

³University of Arkansas, 1366 W. Altheimer Drive, Fayetteville, AR, 72704-6898 USA

Running title: Co-occurring patterns of endophyte and genetic structure

Keywords: *Epichloë*, endophyte, *Festuca eskia*, population genetic structure, gene flow, STS, SSR, restoration, seed sourcing

Article accepté sous condition de modifications dans la revue *Conservation Genetics*

Introduction

Management of genetic resources in ecological restoration entails the delineation of source populations among native plant species before translocating seeds (Hufford and Mazer 2003; Lesica and Allendorf 1999; Montalvo et al. 1997). The choice of source populations impacts restoration success both in terms of establishment of the restored plant community and of integration into the local environment (Hufford and Mazer 2003; Iwata et al. 2006). First, introduced germplasm may fail to persist in the environment if poorly adapted. Second, gene flow from translocated plants to local plants is likely to reduce the fitness of the remaining local populations. Seed translocation should be designed to minimize the risk of fitness reduction in offspring due to i) the founder effect in introduced populations when their genetic diversity is low, ii) the genetic swamping of residual local genotypes by the introduction of genotypes that reduce the genetic contribution of local populations and overwhelm local selection for adaptive variants, iii) outbreeding depression that breaks apart co-adapted gene complexes when mating among different populations occurs (Hufford and Mazer 2003).

When sourcing seeds, a common alternative to a direct examination of local adaptation is assessment of genetic structure and diversity based on molecular markers to predict potential risks and select the best population (*e.g.*, Iwata et al. 2006; Knapp and Rice 1996). These analyses focus on the heredity of the target species in isolation, and neglect the heredity of associated organisms.. Seed-borne symbionts, as a seat of associated heredity, are likely to play a significant role in the evolutionary and demographic history of host plants (Nieberding and Olivieri 2007; Saikkonen et al. 2004). They influence their host's fitness modifying plant competitiveness or reproduction and, as a result, are likely to impact the host population's genetic patterns. When sourcing seeds, taking account of genetic variation in symbiotic organisms associated with plant populations may enhance knowledge of the risks related to plant translocation. For instance, genetic mismatch between hereditary symbiont and host plant genomes may decrease the progeny fitness and be interpreted as outbreeding depression.

Hereditary symbiosis is common in temperate grasses. More than 30% of the 3000 pooid grasses are estimated to harbour asexual maternally transmitted fungal endophytes (Leuchtman 1992). *Neotyphodium* and asexual forms of *Epichloë* (Ascomycota) species are the most studied of these endophytes (Schardl et al. 2004). Their hyphae grow throughout the above-ground tissues of host plants, including seeds, so that the fungus is directly transmitted

from mother to offspring. The fitness of the endophyte is closely linked to the fitness of the host plant because the systemic fungus relies entirely on resources extracted from the host. Benefits of endophyte infection for grasses have been observed under plant competition (*e.g.*, Clay and Holah 1999), conditions of herbivory (*e.g.*, Koh and Hik 2007) and drought stress (*e.g.*, Malinowski and Belesky 2000). Nevertheless, benefits from endophytes are achieved only with associated costs *e.g.*, protection against herbivory may result from alkaloid production by the endophyte using its host resources. The endophyte-plant interaction seems to range from antagonistic to mutualistic depending on whether benefits to the host plant exceed the associated costs (Malinowski and Belesky 2006). Variable infection levels are observed in native populations and suggest that asexual endophytes may be neutral, or may interact antagonistically in some circumstances (Faeth 2002; Saikkonen et al. 1998; Saikkonen et al. 2006).

Regardless of the nature of the interaction, endophyte may affect the genetic diversity of the host plant. To maintain its compatibility with their co-evolving grass, fungus genotypes might develop mechanisms to decrease genetic diversity within populations of the host plant by increasing self-pollination (Meijer and Leuchtmann 2001; Saikkonen et al. 2004). Endophyte infection may reduce the genetic diversity of source populations for translocation and thus may increase the risk of a founder effect. Moreover, translocating plants regardless of their infection status may change the fitness of the association between endophyte and its host plant by increasing the risk of genetic mismatch between endophyte and host genomes and may initiate a symbiosis breakdown (Sachs and Simms 2006) or by creating the opportunity for development of new associations of superior fitness.

In the Pyrenees Mountains, seeds of native species are needed for ecological restoration of degraded alpine areas. Alpine habitats are characterized by strong barriers preventing genetic exchange between plant populations (*e.g.*, topographic, climatic barriers) (Körner, 2007). In such a potentially fragmented landscape, delineation of seed transfer zones (Hufford and Mazer 2003) is of crucial concern. *Festuca eskia* (Poaceae) is a candidate species to be the major component of seed mixtures sown to restore degraded Pyrenean alpine areas. *F.eskia* an endemic species of the Pyrenees Mountains and is the dominant alpine species through-out the 300km Pyrenean massif. Like other fescue species, *F.eskia* is likely to harbour a vertically transmitted endophyte.

The purpose of this study was to investigate the population structure of *F.eskia* across its Pyrenean range in terms of genetic structure and endophyte status, in order to draw preliminary recommendations for the delineation of seed transfer zones in the ecological restoration program Ecovars2 (www.ecovars2.fr). Twenty three wild populations were sampled throughout the Pyrenees. We addressed questions related to endophyte status and to genetic diversity and differentiation of host populations in an alpine environment: i) what is the altitudinal and longitudinal distribution of endophyte in *F.eskia* populations; ii) is there a significant genetic differentiation among populations and what are the genetic relationships between populations; iii) how is the genetic structure of populations, especially within populations, partitioned among populations within valleys and among valleys; iv) what are the levels of genetic diversity within populations and is endophyte infection likely to decrease *F.eskia* genetic diversity? We discuss the implications of our findings for sourcing seeds.

Table 1: Characteristics of the sampling sites: abbreviation of population and valley names, geographical coordinates and altitude of populations. Valleys grouping populations of different altitudes are in bold.

<i>Site</i>	<i>Abbreviation</i>	<i>Latitude (°N)</i>	<i>Longitude (°E)</i>	<i>Altitude (m a.s.l.)</i>
Low Ansabère	LA	42.90	-0.72	1585
Middle Ansabère	MA	42.89	-0.71	1782
High Ansabère	HA	42.88	-0.71	2045
<i>Ansabère</i>	<i>A</i>			
Low Cauterets	LL	42.89	-0.14	1720
Middle Cauterets	ML	42.89	-0.15	2000
High Cauterets	HL	42.90	-0.16	2335
<i>Cauterets</i>	<i>L</i>			
Middle Moudang	MM	42.73	0.24	1730
High Moudang	HM	42.72	0.24	2048
<i>Moudang</i>	<i>M</i>			
Low Rioumajou	LR	42.71	0.29	1698
Middle Rioumajou	MR	42.70	0.28	2007
High Rioumajou	HR	42.71	0.27	2324
<i>Rioumajou</i>	<i>R</i>			
Aneto	AN	42.56	0.70	1692
Crabère	CR	42.82	0.90	1925
Aula	AU	42.77	1.13	1925
Low Coumebière	LC	42.78	1.40	1522
Middle Coumebière	MC	42.78	1.40	1800
High Coumebière	HC	42.77	1.41	2045
<i>Coumebière</i>	<i>C</i>			
Lercoul	LE	42.75	1.53	1526
Low Puymorens	LP	42.55	1.82	1795
Middle Puymorens	MP	42.58	1.83	2159
High Puymorens	HP	42.58	1.85	2604
<i>Puymorens</i>	<i>P</i>			
Err	ER	42.38	2.09	2243
La Roquette	RO	42.29	2.40	2185

Material and methods

Study species

Festuca eskia Ram. (Poaceae) is an endemic grass of the Pyrenees. This perennial grass is a dominant species of the sub-alpine and alpine Pyrenees belts (> 1500m). It is present in large areas forming dense swards, often oriented to the south. *F.eskia* (2n=14 chromosomes) is described as outcrossing and wind-pollinated (Baudière et al. 1973).

Sites and population sampling

Twenty three populations of *F.eskia* were chosen through-out the Pyrenees on 11 different sites (Figure 1). Six of the sites were sampled at two or three different altitudes. Each altitude sampled is considered as a population, and populations of the same site are grouped in a valley. Characteristics of each place sampled are presented in Table 1.

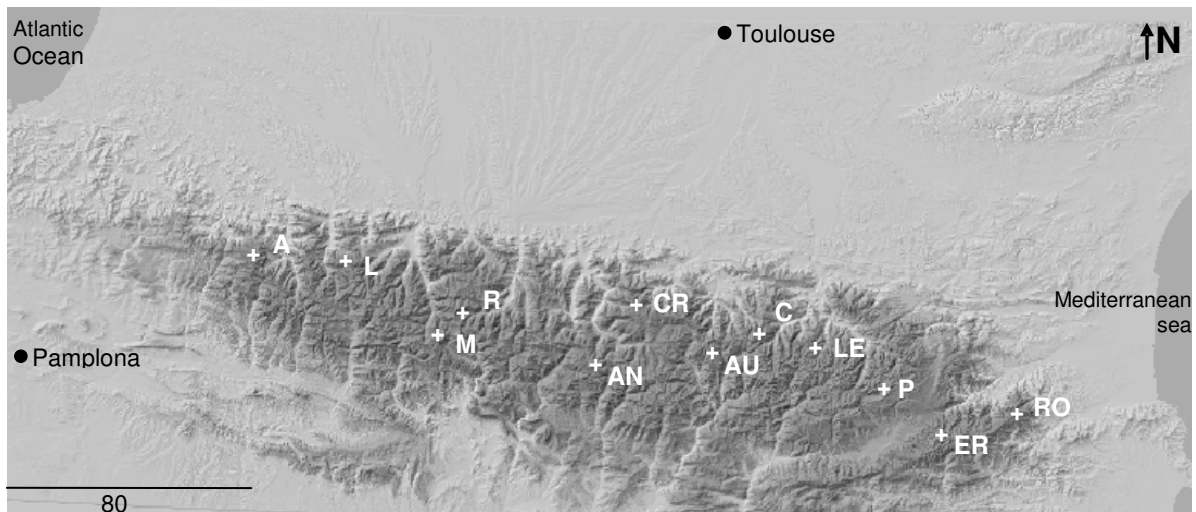


Figure 1: Map of the Pyrenees indicating the location of sampling sites. Site abbreviations are in Table 1. At sites A, L, R, C and P, sampling was conducted at low, middle and high altitudes. At site M sampling was conducted at middle and high altitude.

Table 2: Summary of endophyte infection frequency and genetic diversity estimates obtained with three STS and one microsatellite markers for *Festuca eskia*. Results presented for each population and each valley (in bold). Populations and valleys abbreviations are in Table 1.

Site	N ^x	E+	A	R	H _E	H _O	F _{IS}	HWE
LA	29	0.14	3	2.32	0.43	0.41	0.03	ns
MA	30	0.17	3.5	2.31	0.35	0.28	0.18	ns
HA	28	0.25	2.5	2.12	0.34	0.32	0.06	ns
A	87	0.18	3.75	2.32	0.38	0.34	0.24	**
LL	8	0.13	2.5	2.43	0.50	0.54	-0.08	ns
ML	9	0.22	3	2.7	0.42	0.41	0.03	ns
HL	10	0.20	2.5	2.33	0.38	0.23	0.41	ns
L	27	0.19	3.25	2.68	0.47	0.38	0.18	ns
MM	10	0.10	3	2.68	0.45	0.41	0.11	ns
HM	10	0.10	2.75	2.34	0.38	0.30	0.22	ns
M	20	0.10	3.5	2.55	0.42	0.35	0.13	ns
LR	28	0.18	3	2.52	0.42	0.42	0.01	ns
MR	29	0.07	3.5	2.86	0.50	0.53	-0.06	ns
HR	30	0.13	3.5	2.61	0.38	0.39	-0.03	ns
R	87	0.13	4	2.73	0.45	0.45	0.01	ns
AN	7	0.14	2.75	2.75	0.53	0.66	-0.27	ns
CR	23	0.22	3	2.47	0.41	0.37	0.1	ns
AU	21	0.14	3	2.43	0.42	0.44	-0.05	ns
LC	10	1.00	3	2.58	0.43	0.40	0.09	ns
MC	10	1.00	2	1.99	0.36	0.30	0.18	ns
HC	8	1.00	2.25	2.18	0.37	0.32	0.13	ns
C	28	1.00	3.5	2.43	0.42	0.34	0.17	**
LE	20	1.00	2.25	2.07	0.33	0.37	-0.14	ns
LP	29	1.00	2.75	2.33	0.40	0.30	0.26	**
MP	30	1.00	2.75	2.23	0.40	0.34	0.17	ns
HP	29	1.00	3.5	2.31	0.40	0.37	0.07	*
P	88	1.00	4	2.31	0.41	0.33	0.14	***
ER	23	1.00	2.5	2.27	0.38	0.40	-0.04	ns
RO	32	1.00	2.5	2.23	0.38	0.31	0.18	ns
Overall	463	0.50	4.75	2.94			0.07	***

^xN, number of individuals; E+, frequency of endophyte infection; A, number of alleles per locus; R, corrected allelic richness; H_O, observed heterozygosity; H_E, expected heterozygosity (Ney, 1978); F_{IS}, multi-locus inbreeding coefficient, HWE, p-value of the Hardy-Weinberg exact test; P values: ns, P>0.05; *, P< 0.05; **, P<0.01; ***, P< 0.001 (P values were adjusted using Bonferroni procedure)

Plants were sampled at random from every study site. As *F. eskia* forms dense swards and as each genotype produces numerous tillers, to avoid repeated collection of the same genetic individuals, we sampled at intervals of at least 5 m. For each plant sampled, we collected vegetative tillers and stored them in sealed bags at 2°C until processing. Tillers were collected between September 2005 and November 2007. The number of individuals analysed per population is presented in Table 2.

Endophyte screening

For endophyte screening, we used three tillers per sampled plant. Each tiller was assayed for endophyte presence with a Phytoscreen® tissue-print immunoblot kit (Agrinostics Ltd, Inc., Watkinsville, GA, USA). This method was previously checked for sensitivity to endophytic fungi in *F. eskia* with histological staining followed by microscopic analysis (Hiatt et al. 1999).

DNA extraction

For DNA extraction, we used the young leaves of one tiller per plant. Approximately 50 mg of leaf tissue was cut to fine fragments, then frozen in liquid nitrogen and ground into fine powder. The ground tissue was incubated at 60°C for 60 min in 500µL of extraction buffer (2.2 M NaCl, 0.2 M Tris-HCl, 0.7 M EDTA, pH 8.0, 1% N-Lauroylsarcosine sodium, 10µg/mL RNase, sodium bisulfite). The samples were centrifuged at 4000 rpm for 30 min and then the supernatant was collected in clean tubes and mixed by inversion with 90 µL ammonium acetate (10 M) and 200 µL isopropanol. The mixture was placed for 15 min at -20°C to precipitate DNA. DNA was pelleted by centrifugation at 4000 rpm for 30 min, then was twice washed with 100µL of 70% ethanol and centrifuged at 4000 rpm. DNA was dried for 20 min at 60°C and then re-suspended in 50 µL of 10-1 TE buffer (pH 8.0).

Table 3: Molecular markers used for amplification and polymorphism tests, respectively on one and nine *F.vesicaria* genotypes. Multi: more than two bands. Mono: monomorphic. Poly: polymorphic. The markers used for genotyping *F.vesicaria* populations are in bold.

<i>Marker type</i>	<i>Name*</i>	<i>Origin</i>	<i>Amplification test</i>	<i>Polymorphism test</i>
SSR	DLF020	Jensen et al. 2005	no	
SSR	DLF025	Jensen et al. 2005	yes	mono
SSR	LpSSR006	Jensen et al. 2005	multi	
SSR	LpSSR011	Jensen et al. 2005	yes	multi
SSR	LpSSR021	Jensen et al. 2005	multi	
SSR	LpSSR058	Jensen et al. 2005	weak	
SSR	LpSSR059	Jensen et al. 2005	yes	multi
SSR	LpSSR100	Jensen et al. 2005	yes	mono
SSR	LpSSR112	Jensen et al. 2005	multi	
SSR	uni001	Jensen et al. 2005	multi	
SSR	LPSSRH01A10	Jones et al. 2001	multi	
SSR	LPSSRH01H06	Jones et al. 2001	yes	mono
SSR	PRG	kubick et al. 2001	no	
SSR	B1A10	Lauvergeat et al. 2005	no	
SSR	B1A8	Lauvergeat et al. 2005	no	
SSR	B1B3	Lauvergeat et al. 2005	no	
SSR	B1B6	Lauvergeat et al. 2005	yes	poly
SSR	B1C9	Lauvergeat et al. 2005	yes	mono
SSR	B4D3	Lauvergeat et al. 2005	yes	no amplification
SSR	B4D9	Lauvergeat et al. 2005	multi	
STS	ADH	Lem and Lallemand 2003		multi
STS	ADP	Lem and Lallemand 2003		mono
STS	ASP	Lem and Lallemand 2003		weak
STS	CAT	Lem and Lallemand 2003		poly
STS	CCR	Lem and Lallemand 2003		poly
STS	GLU	Lem and Lallemand 2003		mono
STS	LHAB	Lem and Lallemand 2003		mono
STS	MADS2	Lem and Lallemand 2003		multi
STS	OSE	Lem and Lallemand 2003		multi
STS	PAL	Lem and Lallemand 2003		mono
STS	PCR	Lem and Lallemand 2003		mono
STS	PGK	Lem and Lallemand 2003		mono
STS	PHOS	Lem and Lallemand 2003		no amplification
STS	PHY	Lem and Lallemand 2003		weak
STS	PROFIL	Lem and Lallemand 2003		weak
STS	RIT	Lem and Lallemand 2003		weak
STS	SER	Lem and Lallemand 2003		mono
STS	TRX	Lem and Lallemand 2003		poly
STS	VP1	Lem and Lallemand 2003		multi

*B1B6: linkage group 1 (Jensen et al 2005); CAT: linkage group 7 (Turner et al 2006); CCR: not mapped; TRX: linkage group 1 (P.Barre pers. comm.)

PCR amplification

Initially, we took advantage of the development of SSR and STS markers recommended for *Festuca* species to screen 20 SSR markers and 19 STS markers on *F.eskia* (Table 3). The amplification of SSR was tested on one plant of *F.eskia*. SSRs showing a clear amplification with a maximum of two bands were evaluated for their polymorphism on nine individuals of different geographic origins. The 19 STS markers were tested for their polymorphism on nine individuals of different geographic origins.

PCR amplification and separation by electrophoresis were carried out following Lauvergeat et al. (2005) protocol for SSR and Lem and Lallemand (2003) protocol for STS markers. For eight of the tested SSR markers, a clear amplification with a maximum of two bands was obtained (Table 3). One SSR (B1B6: reference GenBank AJ812215) and three STS (CAT: CCR; TRX reference GenBank AF290448) were polymorphic with high-quality amplification (Table 3).

Analysis of genetic diversity and departure from random mating

Observed number of alleles per locus (A), observed heterozygosity (H_O) and expected heterozygosity (H_E) (Nei 1978) per population were computed with GENETIX 4.05.2 (Belkhir et al. 2001). Similarly, we compared endophyte-infected plant groups and endophyte-free plant groups. FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 1995) was used to calculate allelic richness (R) per population taking into account the dependence on sample size using the “rarefaction” method outlined in El Mousadik and Petit (1996) averaged across loci within each population. GENEPOP 4.0 was utilized to estimate deviations from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) within populations and within loci using the probability test. Inbreeding coefficient (F_{IS}) was also estimated for each population using GENEPOP 4.0 (Raymond and Rousset 1995). Sequential Bonferroni corrections were performed for all simultaneous multiple tests (Rice 1989).

Analysis of population differentiation

Genetic differentiation among all populations and population pairs was tested using Fischer exact tests using GENEPOP. Wright’s F -statistics F_{ST} (Wright 1951) were also estimated for all populations and all population pairs (Weir and Cockerham 1984) using GENEPOP. Sequential Bonferroni corrections were performed for simultaneous multiple tests (Rice 1989).

To investigate the genetic structure of populations, we ran an AMOVA on valleys (sites where different altitudes were sampled) using ARLEQUIN 3.1 (Excoffier et al. 2005) with 1023 permutations.

Genetic distances between pairs of populations were computed using Cavalli-Sforza's chord measure (Cavalli-Sforza and Edwards 1967) using the GENDIST program (PHYLIP 3.65, Felsenstein 1993). A neighbour-joining (NJ) dendrogram (Saitou and Nei 1987) was constructed using the NEIGHBOR program (PHYLIP). The robustness of each node was estimated by bootstrapping data over loci for 5000 replicates using the SEQBOOT program (PHYLIP). The consensus tree obtained by the CONSENSE program (PHYLIP) was displayed with TREEVIEW 1.6.6 (Page 1996).

To test for isolation-by-distance we ran a Mantel test (Mantel 1967) implemented in GENEPOP. The procedure assesses the significance of the correlation between pairwise genetic differences (assessed as $F_{st}/(1-F_{st})$ (Rousset 1997)) and pairwise geographical distances.

Results

Endophyte distribution in F. eskia populations

F. eskia harboured a fungal endophyte of an asexual form of *Epichloë* as determined by genomic sequencing of the α -tubulin gene by A. Leuchtmann (2006, pers. comm.). We detected the endophyte in 50% of the 463 collected plants (E+ plants). Endophyte presence occurred in each of the 23 populations sampled throughout the 300 km Pyrenean mountain range. The levels of endophyte infection within these populations showed significant variation: the proportion of E+ plants ranged from 7% in population MR to 100% in eastern populations from the Coumebière valley to the La Roquette population (Table 2). A marked geographical limit occurred in infection frequency between the Coumebière valley and the Aula population. Eastern populations exhibited a 100% infection rate whereas western populations exhibited lower infection rates ranging from 7% to 25% (Table 2). No effect of elevation was detected on infection (Table 2).

Within population genetic diversity and departure from random mating

The number of alleles per locus ranged from 4 for B1B6 to 6 for CCR. The mean number of alleles per locus across the 4 loci (A) ranged from 2 to 3.5 within populations and ranged from 3.25 to 4 within valleys; allelic richness (R) was smaller, ranging from 1.99 to 2.92 within populations and from 2.31 to 2.68 within valleys (Table 2).

Observed heterozygosity (H_O) values ranged from 0.23 to 0.66 and expected gene diversity (H_E) varied from 0.32 to 0.53 (Table 2). Departures from Hardy-Weinberg equilibrium within populations and valleys are reported in Table 2. Within valleys significant heterozygote deficit (F_{IS}) varied from 0.14 to 0.24. Within populations, significant F_{IS} varied from 0.14 to 0.26. Genotypic linkage equilibrium tests across populations suggested no significant linkage between loci, after Bonferroni correction.

Genetic diversity of E+ vs E- plant groups

We found no significant difference in genetic diversity between groups of E+ and E- plants. The mean number of alleles per locus across the 4 loci for both E+ plants and E- plants is 4.5. Observed heterozygosity (H_O) value and expected gene diversity (H_E) value are respectively, 0.35 and 0.40 for E+ plant group, and 0.40 and 0.46 for E- plant group.

Table 4: Pairwise F_{ST} values between population pairs. All F_{ST} values not significant following Bonferroni correction are in bold. Sampling site abbreviations are as in Table 1.

	<i>LA</i>	<i>MA</i>	<i>HA</i>	<i>LL</i>	<i>ML</i>	<i>HL</i>	<i>MM</i>	<i>HM</i>	<i>LR</i>	<i>MR</i>	<i>HR</i>	<i>AN</i>	<i>CR</i>	<i>AU</i>	<i>LC</i>	<i>MC</i>	<i>HC</i>	<i>LE</i>	<i>LP</i>	<i>MP</i>	<i>HP</i>	<i>ER</i>
<i>MA</i>	0.058																					
<i>HA</i>	0.042	0.027																				
<i>LL</i>	0.093	0.234	0.248																			
<i>ML</i>	0.084	0.192	0.125	0.087																		
<i>HL</i>	0.224	0.405	0.394	0.036	0.205																	
<i>MM</i>	0.065	0.078	0.158	0.058	0.152	0.261																
<i>HM</i>	0.037	-0.006	0.071	0.173	0.203	0.367	0.008															
<i>LR</i>	0.090	0.109	0.183	0.103	0.199	0.306	-0.026	0.026														
<i>MR</i>	0.070	0.116	0.165	0.068	0.142	0.235	-0.002	0.045	0.011													
<i>HR</i>	0.141	0.097	0.171	0.156	0.177	0.351	0.015	0.094	0.071	0.088												
<i>AN</i>	0.065	0.096	0.124	0.096	0.103	0.277	0.027	0.054	0.066	0.021	0.082											
<i>CR</i>	0.014	0.121	0.098	0.134	0.159	0.267	0.112	0.067	0.123	0.096	0.221	0.070										
<i>AU</i>	0.092	0.187	0.211	0.107	0.216	0.291	0.066	0.096	0.074	0.064	0.192	0.049	0.045									
<i>LC</i>	0.361	0.482	0.444	0.264	0.319	0.350	0.380	0.444	0.410	0.359	0.442	0.295	0.332	0.308								
<i>MC</i>	0.341	0.470	0.433	0.256	0.315	0.376	0.372	0.437	0.391	0.336	0.434	0.275	0.301	0.252	0.007							
<i>HC</i>	0.359	0.479	0.466	0.241	0.361	0.386	0.342	0.425	0.363	0.315	0.424	0.265	0.315	0.219	0.046	-0.027						
<i>LE</i>	0.477	0.572	0.545	0.410	0.465	0.486	0.508	0.560	0.511	0.466	0.539	0.441	0.454	0.421	0.038	0.078	0.104					
<i>LP</i>	0.407	0.502	0.463	0.347	0.387	0.418	0.448	0.476	0.464	0.422	0.494	0.371	0.377	0.373	0.008	0.093	0.130	0.062				
<i>MP</i>	0.355	0.464	0.405	0.341	0.345	0.404	0.429	0.441	0.441	0.398	0.480	0.348	0.316	0.341	0.037	0.109	0.173	0.133	0.015			
<i>HP</i>	0.366	0.465	0.415	0.303	0.312	0.386	0.414	0.451	0.435	0.389	0.448	0.314	0.343	0.335	0.002	0.018	0.083	0.052	0.031	0.059		
<i>ER</i>	0.359	0.470	0.402	0.381	0.368	0.433	0.459	0.453	0.464	0.418	0.509	0.386	0.324	0.382	0.136	0.224	0.292	0.244	0.077	0.012	0.143	
<i>RO</i>	0.405	0.497	0.454	0.348	0.379	0.420	0.452	0.477	0.464	0.426	0.493	0.368	0.372	0.366	0.009	0.066	0.113	0.037	-0.010	0.028	0.015	0.015

Population differentiation

Highly significant genetic differentiation (Fischer exact test $p < 0.0001$) was observed between the populations and consequently, the null hypothesis of random mating between all sampling sites could be rejected. In addition, random mating could be rejected for 182 of the 253 possible population pairs, after correcting for multiple tests (Table 4). The level of genetic differentiation between populations, estimated by significant F_{ST} , ranged from 0.052 to 0.572 (Table 4), the global F_{ST} being 0.33 among all populations. Between valleys, the F_{ST} was 0.32. Table 5 shows the partitioning of the genetic variation between three levels.

The NJ dendrogram revealed two large distinct groups of populations with a high bootstrap support, separating eastern populations from western ones (Figure 2).

Table 5: Results of AMOVA testing the genetic structure among valleys (1023 permutations).

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	P-value	F_{ST}
Among valleys	5	188.6	0.337	29.25	<0.001	0.32***
Among populations within valleys	11	26.3	0.040	3.50	<0.001	
Within populations	657	508.7	0.77	67.25	<0.001	
Total	673	723.6	1.15			

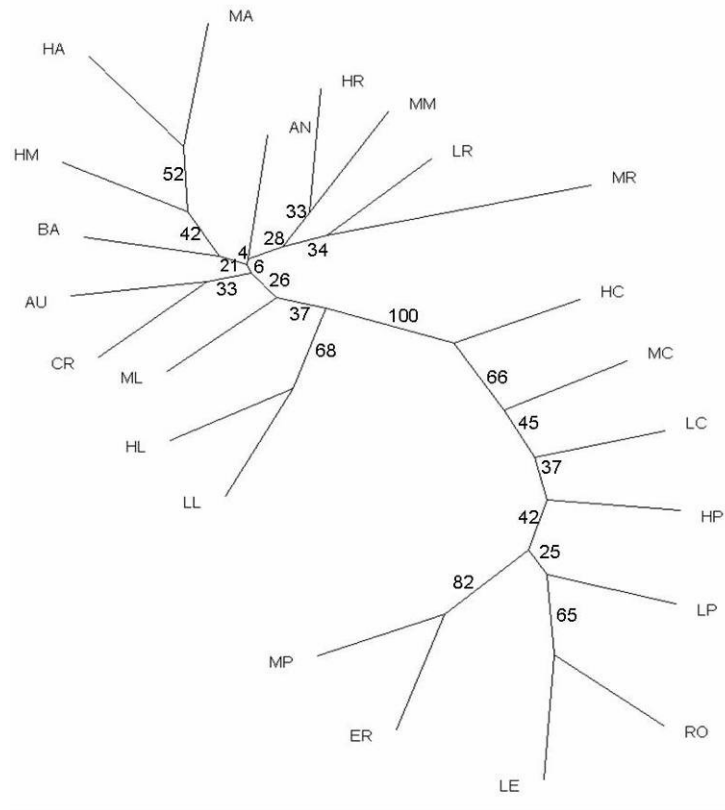


Figure 2: Neighbour-joining phylogram based on the Cavalli-Sforza chord method for *Festuca eskia*. Numbers beside the nodes of the tree represent the percentage of significant bootstrap support based on 5000 replicates. Sampling site abbreviations are as in Table 1.

The Mantel test revealed a significant correlation between geographical and genetic distances among all the populations ($r = 0.67$, $P < 0.0001$) (Figure 3). Mantel tests did not reveal a significant correlation when considering either eastern (from RO to C) or western (from AU to A) groups of populations ($P > 0.05$ in both cases).

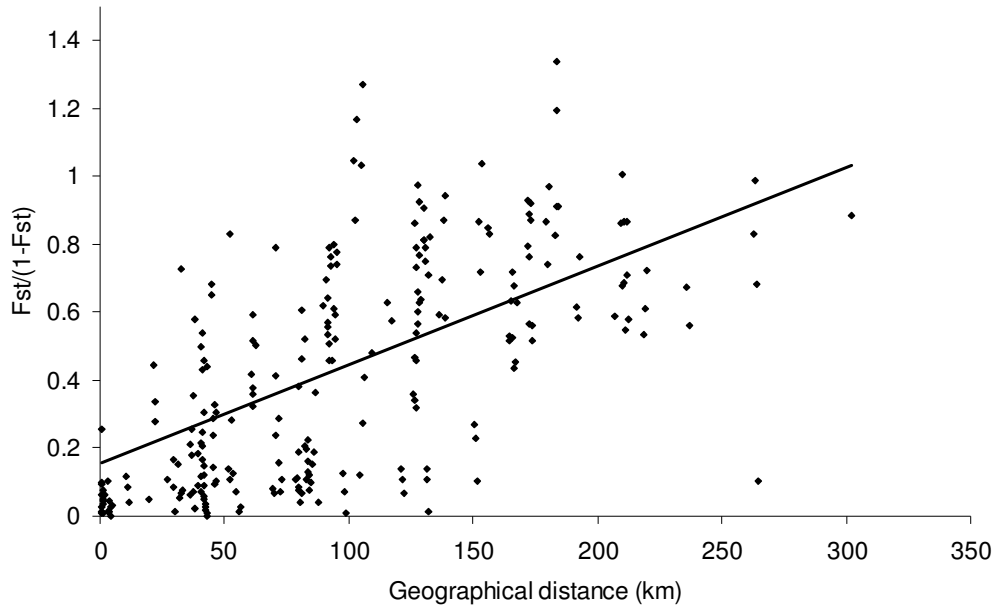


Figure 3: Relationship between pairwise geographical distances and pairwise genetic differences [$F_{st}/(1-F_{st})$]. Mantel test shows significant ($p < 0.001$) isolation by distance.

Discussion

Patterns of endophyte symbiosis and genetic differentiation across the Pyrenean massif: consequences for the choice of source populations

Significant infection of *F. eskia* populations with asexual *Epichloë* endophyte was established for the first time, with some populations 100% infected. However, our most significant finding is that at the scale of the whole massif (300km) the pattern of genetic relationships among *F. eskia* populations matches the pattern of endophyte infection. The consensual tree representing genetic distances between populations and the endophyte infection geographic pattern show the emergence of two distinct groups: an eastern population group, from La Roquette to the Coumebière valley, and a western population group. Eastern populations are different from western populations both genetically, and in frequency of endophyte infection (100% versus 7-25%). This combination of endophyte infection and genetic structure of the host plant appears to be a valuable ground to detect reasons and coevolutionary processes of this biotic interaction, as we know relatively little on the infection rates of the endophytes in natural populations, and even less on patterns and relations of the endophyte with their host plants.

The existence of two regional pools seems to validate the hypothesis of the existence of two refuges for the Pyrenean flora at the respective coastal edges of the Pyrenean region during glacial events (Segarra-Moragues et al. 2007; Vargas 2003). *F. eskia* genetic pattern may result from re-colonisation of the Pyrenean massif initiated from two residual populations localised in these refuges. These patterns might have been reinforced by an ecotypic divergence between populations because eastern populations experience a dryer climate than western populations, and since endophytes may play a role in plant adaptation to drought (see the review in Schardl et al. 2004). Low infection rates through-out the western region are unlikely to be the result of dispersal by seeds from the 100% infected eastern group: infection rate decreases drastically over a short distance between C and AU. Moreover, significant population differentiation suggests that gene flow is quite limited among host populations. The higher water balance on the western part of the massif may explain lower infection frequencies because in western populations, endophytes may not provide selective benefits.

Highly significant genetic differentiation (F_{ST}) among *F. eskia* populations suggests that genetic relationships among populations need to be considered carefully when sourcing seed, even within the two delineated groups of populations. The degree of genetic differentiation

among populations is influenced both by gene flow, which reduces differentiation, and genetic drift, which increases it. High F_{ST} are expected in alpine systems where topographical barriers can drastically limit gene flow between valleys. Contrary to the situation in the Alps where a number of plant studies (reviewed in Schonswetter et al. 2005) have provided data to delineate general gene flow barriers, the Pyrenean massif has never been extensively studied (but see Segarra-Moragues et al. 2007). To our knowledge, there has not been any study of wind-pollinated grass species across the Pyrenees. *F. eskia* populations are differentiated by a process of isolation by distance along the whole massif.

In terms of seed sourcing, these two regional pools should be considered as distinct management units: seed of *F. eskia* should be collected and used within these two units. Within this two units, our results seems to validate the recommendation by which a source population should be selected on the basis of geographical proximity. However, when this policy is applied to populations near the boundary between the two major groups (between Coumebière and Aula), it may lead to a mismatch of populations of the two groups. At a more local scale, this recommendation of selecting a seed source on the basis of geographical proximity is not accurate since no isolation by distance was detected within the two groups of populations. Predicting patterns of genetic differentiation only by geographical proximity should be used with caution.

Importance of genetic differentiation along altitude for seed sourcing

The AMOVA conducted on six valleys shows a small (but significant) differentiation of populations across altitude (among populations within valleys: 3% of the total variance) compared to the larger differentiation between valleys ($F_{ST} = 0.32^{***}$, 29% of the total variance). To reinforce this result, most of the F_{ST} between populations of a same valley were not significant suggesting a weak genetic structure according to altitude in the same valley.

The AMOVA showed that most of the variation is kept within population (67% of the total variance), a pattern often described for alpine plants (*e.g.*, Iwata et al. 2006; Wesche et al. 2006; Zhao et al. 2006). This being said, an assessment based on neutral molecular markers may be insufficient, especially in alpine plants, to determine importance of genetic differentiation along altitude. In alpine species, altitude largely determined adaptive differentiation between populations and is an essential determinant of local adaptation (Byars et al. 2007; Korner 2007). Reciprocal transplants to test for local adaptation along an altitude

range are necessary to identify adaptive patterns that could be taken into account when sourcing seeds for ecological restoration.

Importance of determining endophyte distribution before seed translocation

To limit effects of translocation on the fitness and coevolution process of endophyte-host plant complexes, requires investigation of endophyte distribution in grass populations before sourcing seeds for restoration. Restoration failure is likely when endophyte-free plants are brought into an environment where the endophyte is advantageous. Moreover, introducing non-infected seeds among 100% infected populations may result in a genetic mismatch between fungus and grass seedlings. This genetic mismatch may considerably decrease local grass fitness and may initiate a symbiosis breakdown (Sachs and Simms 2006) in the neighbouring 100% infected populations. The immunoblot method allows a rapid detection of endophytes (Koh et al. 2006). This investigation is the first step toward a thorough analysis of the degree of local adaptation provided by endophyte to host.

Consequences of genetic diversity within populations and according to infection status for sourcing seeds

Seeds collected for revegetation should present genetic variation because low genetic diversity within a founder population may result in a severe inbreeding depression, and a decrease in the adaptive evolutionary potential (Hufford and Mazer 2003; Iwata et al. 2006; Montalvo et al. 1997). This risk appears to be limited in the case of *F. eskia* since its genetic diversity within populations is high relative to allele frequencies ($H_E=0.33 - 0.53$) and to the number of alleles per locus ($A=2-3.5$; $R=1.99 - 2.86$). Diversity parameters for *F. eskia* were comparable to those of other outcrossing grass species analysed with microsatellites. For example, they were comparable to those of wild alpine rice *Oryza officinalis* ($A=1.7-2.3$; $H_E=0.14-0.26$) (Gao 2005) and to those of perennial ryegrass *Lolium perenne* analysed with B1B6 ($A=2-6$; $H_E=0.2-0.6$) (P. Barre pers. comm.). The within population diversity varied very little between populations whatever their altitude of provenance, their site of provenance or their frequency of infection by endophyte. This similarity in genetic diversity across populations based on neutral markers suggests that this factor need not be a major consideration when choosing a source population.

Contrary to the hypothesis of Saikkonen et al (2004), the maternally transmitted fungus did not appear to decrease genetic diversity of the host, since endophyte free plants did not show a greater genetic diversity than endophyte infected plants. The data show no evidence of

endophyte infection being associated with reduced host genetic variation, as might be expected if host-symbiont genetic matching was vulnerable to disruption. This suggests that this interaction may not depend on an epistatic complex of host genes but rather on a few genes controlling host adaptation to endophyte infection. Further study is needed of the host genetics of this interaction.

Heterozygote deficit and sourcing seeds in alpine environments

Our study revealed a heterozygote deficit in half of the valleys, and in 4 out of the 23 populations surveyed. Several explanations may account for these deficits. The first is the presence of null alleles (alleles that are never amplified because of mutations in the flanking primer sequences). However, in the present study, amplification failures that would reflect null-null homozygotes were rare (maximum of 4.1% for locus CAT). The null alleles would have little effect on the present results and cannot explain the observed heterozygote deficit. A second explanation is inbreeding. However, there is very little evidence of heterozygote deficit within populations, which would be expected if there was inbreeding. Nevertheless, under harsh environmental conditions that favour clonal propagation, mating events may occur within the same clones of this clonal plant, or between sibling seedlings, and create departure from Hardy-Weinberg equilibrium. A third explanation is the temporal Wahlund effect that may explain the heterozygote deficit within valleys. Consistent differences in anthesis periods between populations can largely contribute to the creation of a Wahlund effect (*e.g.*, Morand et al. 2002, Bottin et al. 2005). Allele exchange within a valley is restricted to individuals flowering at the same time. Difference in elevation between populations of the same valley can cause a phenological discrepancy. Caution should be employed when practising translocation of plants from high elevations to low ones: if phenology is genetically differentiated among populations, introducing early-flowering genotypes in a late-flowering population may induce a founder effect in the introduced population. A reciprocal transplant experiment is ongoing to test for genotypic differentiation *versus* phenotypic plasticity in phenology.

Acknowledgments

We would like to thank I. Till-Bottraud for helpful comments on the manuscript, P. Laurent who collected samples and conducted endophyte laboratory work, P. Cormenier, C. Gibelin and C. Talon for the genetic laboratory work, A. Leuchtmann for examining *F. eskia* endophyte, A. Ashworth for improving the English text. These results are part of H.G.-T. PhD

thesis. This research was funded by Ecovars2 project and INRA-SAD. Ecovars2 is funded by The European Union, the French state and Régions Midi-Pyrénées, Aquitaine and Languedoc-Roussillon.

CHAPITRE 2

Le potentiel adaptatif des plantes alpines : remise en cause d'hypothèses communément admises

Contexte et insertion dans la thèse

Dans le cadre du projet Ecovars, parallèlement à l'étude de la diversité génétique neutre de *F. eskia*, un des objectifs initiaux de la mission « recherche » était de mettre en évidence l'existence d'une diversité génétique adaptative chez *F. eskia* afin de pouvoir en tenir compte lors de l'établissement de zones de transfert de graines.

La diversité génétique adaptative résulte de la différenciation génétique adaptative et se traduit par des différences phénotypiques. La diversité génétique adaptative est considérée comme un déterminant majeur de la capacité d'adaptation des espèces et conditionne à ce titre leur pérennité. L'enjeu de connaître la diversité génétique adaptative relativement à l'établissement de zones de transfert est double, il s'agit :

- de pouvoir maintenir cette diversité malgré les transferts de graines d'une population à l'autre en choisissant des populations introduites présentant des adaptations similaires aux populations à restaurer,
- de pouvoir utiliser cette diversité pour choisir les populations introduites qui seront les mieux adaptées aux conditions environnementales du site à restaurer ou aux conditions futures.

La diversité génétique adaptative, contrairement à la diversité génétique neutre, est difficilement mesurable à l'aide de marqueurs moléculaires. L'étude de la diversité génétique adaptative repose sur la mesure de la variabilité de caractères phénotypiques supposés être en relation avec l'adaptation des individus à leur milieu (*e.g.*, taille, vitesse de croissance, capacité de reproduction...). L'étude de la diversité génétique adaptative est relativement complexe car

l'observation *in situ* de la variabilité phénotypique des populations naturelles ne donne pas directement accès à la diversité génétique adaptative.

La variabilité phénotypique que l'on peut observer au sein d'une espèce résulte de l'effet de différents mécanismes qu'il est nécessaire de démêler afin d'accéder à la diversité génétique adaptative : l'adaptation locale par différenciation génétique, les flux de gènes entre populations, la dérive génétique au sein des populations et enfin la plasticité phénotypique.

C'est l'adaptation locale qui est le mécanisme supposé être responsable de la majeure partie de la variabilité phénotypique observée dans une espèce (Kawecki & Ebert 2004). L'adaptation locale résulte de l'hétérogénéité spatiale des pressions de sélection s'exerçant sur des caractères héréditaires. En effet, les environnements différents dans lesquels se trouvent les populations génèrent des pressions de sélection différentes entre ces dernières qui se traduisent par une différenciation génétique entre populations pour les caractères phénotypiques procurant un avantage dans les conditions environnementales locales. Ce mécanisme et le patron de diversité génétique adaptative qui en résulte constituent l'adaptation locale (Kawecki & Ebert 2004).

Cependant, l'adaptation locale n'est pas le seul mécanisme à l'œuvre pour façonner la variabilité phénotypique d'une espèce. Les flux de gènes entre populations et la dérive génétique au sein des populations contribuent aussi à la variabilité phénotypique de l'espèce mais de manière aléatoire. Ainsi, ces mécanismes s'ils peuvent induire une variation phénotypique, celle-ci ne sera probablement pas adaptative et ne traduira donc pas une diversité génétique adaptative. En outre, ils sont susceptibles d'estomper les effets de la sélection divergente. Toutefois, chez les organismes sessiles comme les plantes, en cas de déplacement global des conditions environnementales (par exemple un déplacement en altitude lié au réchauffement), les flux de gènes entre populations permettent la « diffusion » spatiale des adaptations entre populations : ils permettent à la sélection naturelle de s'exercer dans chaque population pour maintenir une adaptation au fil des générations malgré les changements environnementaux.

La plasticité phénotypique contribue aussi à la variabilité phénotypique de l'espèce. La plasticité phénotypique est définie comme la capacité d'un génotype à produire différents phénotypes lorsqu'il est exposé à différents environnements (Pigliucci 2005). Ainsi, ce mécanisme est une des composantes de la variabilité phénotypique. Cependant, la variabilité phénotypique qu'il

entraîne peut être adaptative ou non et n'est pas uniquement le résultat d'une différenciation génétique. Toutefois, en cas de changement environnemental, l'existence d'une plasticité phénotypique qui permette l'expression d'un phénotype mieux adapté aux nouvelles conditions permettrait aux plantes en place de s'accommoder à un tel changement.

Ce sont ces mécanismes qu'il est nécessaire d'étudier pour accéder à la diversité génétique adaptative, et, au-delà, au potentiel adaptatif des espèces.

Initialement, cette partie de la mission « recherche » du projet Ecovars devait se limiter à mettre en évidence la diversité génétique adaptative de *F. eskia* par l'étude des mécanismes cités ci-dessus. Cependant, l'émergence internationale et spectaculaire d'une problématique de changement climatique pendant ma thèse (IPCC 2007) et les hypothèses d'une vulnérabilité particulière de la flore alpine face à ces changements (Till-Bottraud & Gaudeul 2002) a contribué à recentrer la problématique de ce travail sur le potentiel adaptatif des plantes alpines et les hypothèses s'y rapportant. En effet, dans l'optique d'un réchauffement rapide des Pyrénées (Lopez-Moreno *et al.* sous presse), il paraissait pertinent de s'intéresser au potentiel adaptatif de *F. eskia* pour pouvoir ensuite raisonner la restauration dans cette perspective.

Résumé de l'article 2

Face aux changements environnementaux globaux et plus spécifiquement aux changements climatiques en cours et à venir, il est indispensable d'estimer le potentiel adaptatif des espèces sessiles comme les plantes. Cela est particulièrement important pour les plantes alpines qui sont considérées comme très vulnérables aux changements climatiques. L'hypothèse dominante concernant le potentiel adaptatif des plantes alpines est qu'il est faible et diminue avec l'altitude (Till-Bottraud & Gaudeul 2002) du fait d'une sélection directionnelle forte et d'intensité croissante avec l'altitude, qui s'exerce sur les plantes dans ces milieux extrêmes. Dans cet article, nous relatons le test de cette hypothèse au travers de l'examen du potentiel adaptatif de *F. eskia*. Ainsi, nous testons tout d'abord l'existence d'une diversité génétique intraspécifique associée à des flux de gènes qui permettrait à la sélection naturelle de s'exercer pour maintenir une adaptation au fil des générations malgré les changements environnementaux. Ensuite, nous testons l'existence d'une plasticité phénotypique adaptative, qui permettrait aux plantes en place de s'accommoder aux changements environnementaux.

Nous avons mis en place des transplantations réciproques pour 180 génotypes de *F. eskia* entre trois gradients altitudinaux (trois vallées x trois altitudes). Le suivi consistait à mesurer pour chaque plant la survie ainsi que des traits relatifs à la stature (hauteur et diamètre des plants), des traits fonctionnels (surface spécifique foliaire et taux de matière sèche) et des traits relatifs à la reproduction (poids de graines produit par plant, nombre d'épis produit par plant, allocation à la reproduction). Nous avons aussi conduit une analyse de la variation moléculaire sur ces 180 génotypes au moyen de quatre marqueurs génétiques neutres.

Pour tous les traits étudiés nous mettons en évidence une différenciation génétique entre populations attribuable à la sélection le long des gradients altitudinaux malgré les flux de gènes. Concernant les traits en lien direct avec la fitness (survie et traits relatifs à la reproduction), nous mettons clairement en évidence une adaptation locale à l'altitude. Les critères de sélection sont différents entre altitudes : la sélection semble se faire sur la survie aux altitudes hautes et sur la capacité de reproduction aux altitudes basses. La diversité génétique intrapopulation ne décroît pas lorsque l'altitude augmente. Par ailleurs, *F. eskia* ne semble pas exprimer un syndrome de

résistance au stress aux altitudes les plus hautes alors qu'un tel syndrome y est généralement attendu. Un syndrome de résistance au stress est un ensemble de traits caractérisant des plantes soumises à des milieux stressants qui regroupe des caractéristiques comme une petite stature, une faible capacité de reproduction, une stratégie de conservation des ressources et une faible plasticité. Pour *F. eskia*, si les plantes des altitudes les plus hautes semblent avoir été sélectionnées pour une petite stature et une faible capacité de reproduction, en revanche, elles ont aussi été sélectionnées pour une stratégie d'acquisition rapide des ressources et une plasticité importante. Ce résultat suggère de re-penser le concept de syndrome de résistance au stress qui a été établi essentiellement sur des gradients de fertilité. En outre, nous mettons en évidence pour tous les traits et toutes les populations un phénomène de plasticité phénotypique. Nous démontrons que cette plasticité est adaptative pour la grande majorité des traits étudiés.

Pour conclure, nos résultats sur *F. eskia* nous permettent de rejeter l'hypothèse selon laquelle les plantes alpines ont systématiquement un potentiel adaptatif faible et qui diminue avec l'altitude. Ces résultats indiquent que le potentiel adaptatif de *F. eskia* devrait pouvoir lui permettre de faire face au changement climatique.

Article 2

Adaptive potential in alpine plants: common hypotheses challenged in *Festuca eskia*

Gonzalo-Turpin H. and Hazard L.

INRA, UMR 1248 AGIR, BP 52627, F-31326 Castanet-Tolosan cedex, France

Running title: Adaptive potential in alpine plants

Keywords: climate change, local adaptation, gene flow, phenotypic plasticity, co-gradient variation, stress-resistance syndrome, reciprocal transplants, Pyrenees.

Article en révision pour *Journal of Ecology*

Introduction

Alpine plant communities are considered particularly vulnerable to climate change (Theurillat & Guisan 2001; Till-Bottraud & Gaudeul 2002; Byars *et al.* 2007). Climate change is quickly and drastically changing the local environment of alpine plants such as length and depth of snow cover that are key factors governing plant life at high elevation (Körner 1999). A first-order approximation of the consequences of climate change in alpine areas is the upslope shifting of climatic conditions (Beniston 2003). To face this shift, plants populations will have to adapt or to migrate. Because of the rapidity of this shift, and because plant are sessile and their dispersal often limited, plant populations are likely to be unable to rapidly move upslope and will have to adapt to new conditions (Jump & Penuelas 2005). Consequently, estimating their adaptive potential becomes a major issue to estimate their vulnerability to climate change (Till-Bottraud & Gaudeul 2002; Byars *et al.* 2007).

The inter-generational component of the adaptive potential of plant species relies on genetic diversity for the trait under selection. Genetic diversity provides material on which selection can act. Genetic differentiation between populations maintains the genetic diversity of the species as long as gene flows between these populations exist to supply the selection process with new alleles. Thus, adaptive potential is high when strong selection maintains locally adapted populations under a high gene flow among populations. Even if this situation had been demonstrated several times, genetically differentiated plants populations are commonly described as resulting from selection by local environment coupled with low gene flow (see reviews in McKay & Latta 2002; Kawecki & Ebert 2004).

The intra-generational component of adaptive potential depends on the existence of phenotypic plasticity for the traits under selection and of a co-gradient variation (CoGV) between genetic and environmental influences in phenotypic traits. Phenotypic plasticity is especially important in adaptive potential of sessile organisms like plants since it allows living organisms to accommodate change in local environmental conditions (Schlichting & Pigliucci 1998; Sultan 2000). However, to be considered as adaptive, phenotypic plasticity may follow a pattern of CoGV (Conover & Schultz 1995; Eckhart *et al.* 2004). CoGV occurs when positive covariance exists between environmental and genetic sources of phenotypic variation (Conover & Schultz 1995). CoGV is expected to increase adaptive potential by facilitating adaptation to a novel environment since it represents a phenotypic variation in the direction the trait had been selected (Eckhart *et al.* 2004; Byars *et al.* 2007).

Examining adaptive potential of alpine plant species supposes, at first, to determine which traits are under selection along altitudinal gradients. Characterization of spatial patterns in

selection along altitudinal gradients will help to clarify how selection will be altered by climate change (Etterson 2004). It is commonly recognized that phenotypic variation along altitudinal gradients is largely attributable to climatic conditions becoming harsher with altitude (Körner 2007). These substantial phenotypic variations occur in a set of growth-form, reproductive and functional traits within species: at higher altitudes, plants are generally smaller with shorter leaves (*e.g.*, Clausen *et al.* 1941), in general their investment in reproductive function is lower (*e.g.*, Pluess & Stocklin 2005) and their investment in denser leaf tissue is considered to be higher to increase storage or structural defence (Körner 1989). Thus, it has long been claimed that plants growing at higher altitudes show an adaptive stress-resistance syndrome (Grime 1977; Chapin *et al.* 1993; Körner 1999). Nevertheless, even if it is commonly accepted, few studies clearly established that all these phenotypic variations result from selected genetic differentiations. Recent studies showed that a genetic differentiation occurs in growth-form and reproductive traits of alpine plants along an altitudinal gradient (Hovenden & Vander Schoor 2004; Hassel *et al.* 2005; Byars *et al.* 2007). However, there is little information on genetic variation in functional traits that are widely used to describe the different adaptive strategies of plant species (*e.g.*, leaf dry matter content, specific leaf area). Moreover, little is known on the relative importance of divergent selection and random genetic drift in generating genetic differentiation of traits in alpine plants. If genetic differentiation is coupled with weak gene flow, then the differentiation in traits could have been obtained by genetic drift. If genetic differentiation occurs in some traits despite high rates of gene flow, it is likely to result from strong divergent selection. For traits directly related to fitness, demonstrating local adaptation (*i.e.* fitness advantage of plants in their local environment) also suggests the existence of divergent selection.

Examining adaptive potential of alpine plant species along altitudinal gradient put to the test two commonly accepted hypothesis that remained largely unverified: (1) genetic diversity of traits under selection is expected to decrease with altitude as a result of harsher environmental conditions at higher elevations inducing a stronger directional selection that retains only the plants that fit the best (Till-Bottraud & Gaudeul 2002), (2) plant phenotypic plasticity is also assumed to decrease with altitude since the stress resistance specialisation of plants at high elevation is supposed to favour non-plastic genotypes (Grime 1977; Emery *et al.* 1994).

In this study, we carried out a reciprocal transplant experiment across three altitudinal transects to examine phenotypic variation and adaptive potential in *Festuca eskia* Ramond. *F. eskia* is an alpine grass endemic of the 300km long Pyrenees Mountain massif. We chose to study this species because it is a common and dominant species that shelters numerous

herbaceous species and thus plays an important role in the structuring of Pyrenean alpine plant communities. According to the EEC regulation (92/43/EEC habitat directive, 1992), “siliceous Pyrenean *F. eskia* grasslands” must be preserved because of their high ecological and patrimonial value. This species and its habitat are directly threatened by the global warming since during the XXI century, temperature is expected to increase between 2,8° and 4°C in the Pyrenees while precipitations would decrease by 20% (Lopez-Moreno *et al.* in press). Considering the adaptive potential of *F. eskia* raises the following questions: (1) What are the contributions of genetic differentiation and phenotypic plasticity to its altitudinal phenotypic variation in growth-form, reproductive and functional traits? (2) What are the putative roles of genetic drift and selection in traits genetic differentiation between populations? (3) What are the patterns of local adaptation along altitudinal gradients? (4) Does altitudinal variation in its traits show an adaptive stress-resistance syndrome? (5) Do patterns of phenotypic plasticity reflect co-gradient variation? (6) Does intra-population genetic diversity and phenotypic plasticity decrease with altitude increasing? (7) What does these patterns means for its adaptive potential?

Table 1. Characteristics of the three sampled transects: abbreviation, geographical coordinates, altitude of sampling, number of days of snow cover per year, aspect, percentage of plant cover and soil pH.

<i>Site</i>	<i>Accronym</i>	<i>Latitude (°N)</i>	<i>Longitude (°E)</i>	<i>Altitude (m a.s.l.)</i>	<i>Number of days of snowcover per year</i>	<i>Aspect</i>	<i>Plant cover (%)</i>	<i>Soil pH</i>
Ansabère								
Low Ansabère	LA	42.90	-0.72	1585	136	NE	70	4.6
Middle Ansabère	MA	42.89	-0.71	1782	165	N	90	4.9
High Ansabère	HA	42.88	-0.71	2045	159	NW	90	4.9
Rioumajou								
Low Rioumajou	LR	42.71	0.29	1698	151	NE	85	4.8
Middle Rioumajou	MR	42.70	0.28	2007	200	N	85	5.5
High Rioumajou	HR	42.71	0.27	2324	209	NE	90	4.5
Puymorens								
Low Puymorens	LP	42.55	1.82	1795	148	E	90	5.1
Middle Puymorens	MP	42.58	1.83	2159	197	S	95	5.1
High Puymorens	HP	42.58	1.85	2604	190	SW	90	4.3

Materials and methods

SPECIES AND SITES

F. eskia (Poaceae) is a perennial grass of the alpine Pyrenees belts (altitude > 1500m a.s.l.). *F. eskia* is present upon large areas forming dense grasslands. This grass is an outcrossing species pollinated by wind that flowers once a year (Baudière *et al.* 1973). It also reproduces by tillering and forms tussocks.

In June 2005, plants of *F. eskia* were sampled at nine sites: three altitudes were sampled (Low, Medium, High) on three altitudinal transects over the Pyrenees (Ansabère, Rioumajou, Puymorens: see Fig. 1). Each site corresponded to a population. Twenty genotypes were collected randomly at each of the nine sites within 500m² areas. As *F. eskia* forms dense grasslands where it can be difficult to distinguish between different genotypes, we choose plants that grew more than 5m apart.

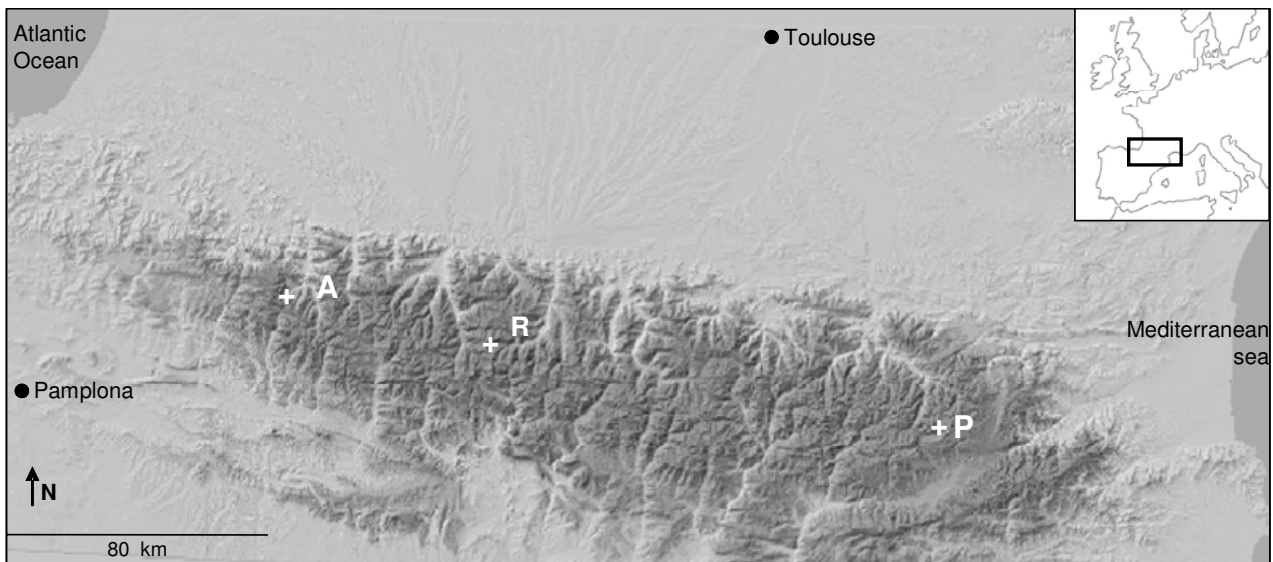


Fig. 1. Map of the Pyrenees Mountains indicating the location of the three altitudinal transects. Sampling was conducted at low, middle and high altitudes on each transect between 1500m and 2600m. A: Ansabère transect; R: Rioumajou transect; P: Puymorens transect.

Sites characteristics are summarized in Table 1. To estimate the mean number of days of snow cover per year, we placed a calibrated recorder on each site to monitor soil temperature. We estimated mean number of days of snow cover per year for each site considering that recorder was under snow when soil temperature was under 4°C and did not fluctuate more than 0.25°C per day. On each site percentage of total plant cover was independently estimated by two experienced observers following the method proposed by Murphy & Lodge (2002). pH was measured with a glass electrode in a water saturated soil sample.

MOLECULAR ANALYSIS

To investigate the molecular variation within and among populations, we genotyped each of the 180 collected individuals using four neutral genetic markers. DNA was extracted from approximately 50mg of leaf tissue. The tissue was cut to fine fragments, then frozen in liquid nitrogen and ground into fine powder. The ground tissue was incubated at 60°C for 60min in 500µL of extraction buffer (2.2M NaCl, 0.2M Tris-HCl, 0.7M EDTA, pH 8.0, 1% N-Lauroylsarcosine sodium, 10µg/mL RNase, sodium bisulfite). The samples were centrifuged at 4000rpm for 30min and then the supernatant was collected in clean tubes and mixed by inversion with 90µL ammonium acetate (10M) and 200µL isopropanol. The mixture was placed for 15min at -20°C to precipitate DNA. DNA was pelleted by centrifugation at 4000rpm for 30min. Then DNA was washed twice with 100µL of 70% ethanol and centrifuged twice at 4000rpm. DNA was dried for 20min at 60°C and then re-suspended in 50µL of 10-1 TE buffer (pH 8.0). One SSR marker (B1B6 reference GenBank AJ812215) and three STS markers (CAT, CCR and TRX reference GenBank AF290448) recommended for *Festuca* species were used to genotype individuals (Lem & Lallemand 2003; Lauvergeat *et al.* 2005). PCR amplification and separation by electrophoresis were carried out following Lauvergeat *et al.* (2005) protocol for SSR and Lem & Lallemand (2003) protocol for STS markers.

RECIPROCAL TRANSPLANT EXPERIMENT

Each of the 180 genotypes was divided into 9 clumps with a diameter of 2-3cm. Clumps were transplanted into pots containing a mixture of sand, compost and topsoil (1:1:1). To promote rooting, clumps were kept in a glasshouse during one month and were watered every two days. In July 2005, clumps were transplanted and grown for three months in an experimental station located 1500m a.s.l.. Because we collected the studied plants from different locations, we cannot exclude that maternal environmental effects may have contributed to the observed differentiations between different plant provenances (Rossiter 1996). We tried to avoid such maternal effect by growing initial clumps in a common garden until they produce new tillers and new roots. In October 2005, when the clumps diameter was 5-6cm, a clump of each genotype was planted on each site. Thus, 180 clumps were planted on each of the nine sites. On each site, clumps were planted 15cm apart into a 6m² coconut-fibbers matting used to prevent erosion. Clumps were watered once just after transplantation. The matting was removed in 2006.

Plant survival was scored on June 2006 after complete snow melting and on September 2007. We considered that plants dead in June 2006 (23 plants out of 1620) did not resist to transplantation and we removed them from the analysis. Survival rate of the analysis correspond to survival in September 2007. We measured two growth-form traits on July 2007: plant diameter and vegetative plant height (maximum height of the tussock). We measured two functional traits for each plant on October 2006 (autumn), at the end of the growing season: leaf dry matter content (LDMC) and specific leaf area (SLA). LDMC is the oven-dry mass of the last adult leaf of a tiller divided by its water-saturated fresh mass. SLA is the area of a fresh leaf divided by its oven-dry mass. LDMC and SLA were measured according to Cornelissen et al (2003) protocol. In September 2007, all flowering tillers were collected, stored and measured. The reproductive traits considered are number of spikes, total seeds weight per plant and reproductive allocation (RA). RA is the number of spikes per unit of plant diameter.

DATA ANALYSIS

Molecular variation analysis

For the molecular analysis, linkage disequilibrium was determined within each population with Fischer exact tests using GENEPOP 4.0 (Raymond & Rousset 1995). Observed number of alleles per locus (A), observed heterozygosity (H_O), expected heterozygosity (H_E) (Nei 1978), proportion of polymorphic loci ($P_{0.95}$) and inbreeding coefficient (F_{IS}) per population were computed with GENETIX 4.05.2 (Belkhir *et al.* 2001). GENEPOP was utilized to estimate deviations from Hardy-Weinberg equilibrium within populations using the probability test. To investigate the molecular genetic variance partition among transects of origin, among altitudes of origin within transects, among genotypes within altitude and within genotypes, we ran an analysis of molecular variance (AMOVA) with 1000 permutations. Fixation indexes were computed and tested by permutations for each level of the genetic structure: F_{CT} for variation among transects, F_{SC} for variation among populations within transect, F_{IS} for variation among genotypes within populations. Genetic structure and fixation indexes were both computed using ARLEQUIN 3.1 (Excoffier *et al.* 2005).

Phenotypic differences and survival analysis

For the reciprocal transplant experiment, phenotypic differences in growth-form, functional and reproductive traits were analysed with four-way ANOVAs using SPLUS (Lucent

Technology, 2001). The model considered four factors: the altitude of origin (genetic effect of altitude: G_{altitude}), the transect of origin (genetic effect of transect: G_{transect}), the altitude of transplantation (environmental effect of altitude: E_{altitude}) and the transect of transplantation (environmental effect of transect: E_{transect}). Altitude was treated as fixed rather than random effects since Low altitude sites correspond to the lower limit of *F. eskia* range. Transect was treated as fixed effects because we selected them on accessibility and altitudinal range (they covered an altitudinal range of approximately 2000m) rather than randomly. The model also considered two-way interactions. As other interactions were negligible, we pooled them into the residual. To meet normality and homoscedasticity assumptions, plant height, SLA, number of spikes, total seed weight and RA were log-transformed. Post hoc Tukey tests were performed to compare which means differed significantly.

Transplants survival, being a binary variable, was analysed by a generalized linear model assuming binomial error distribution and using a logit link function. The model structure was the same as that described previously. The significance of effects was determined by analysis of deviance using a χ^2 test. Analysis was conducted using SPLUS.

Local adaptation was analysed using the “local *versus* foreign” criterion (Kawecki & Ebert 2004) on the fitness-related traits *i.e.* reproductive traits and survival. Local adaptation is considered to occur if (i) the interaction $G_{\text{altitude}} \times G_{\text{transect}}$ is significant (ii) the local population outperforms the foreign populations in its home site. To test the significance of ranking among the trait values of plants from different population on each transect we used independent contrasts. Analysis was conducted using SPLUS.

Phenotypic plasticity of a given trait at the population level may take the form of co-gradient variation (CoGV) or counter-gradient variation (CnGV) (Eckhart *et al.* 2004). CoGV (CnGV) occurs when positive (negative) covariance is detected between genetic and environmental sources of phenotypic variation. To interpret the pattern of phenotypic plasticity as CoGV across the altitudinal gradient, we evaluate if plasticity of each traits is congruent with genetic differentiation. Evidence of CoGV in a trait along the altitudinal gradient is established when (i) genetic differentiation occurs for this trait between altitudes, and, (ii) the genotypic influence is in the same direction as the environmental influence and amplifies the environment’s effect on the phenotype (Conover & Schultz 1995).

Results

MOLECULAR VARIATION

Out of 36 pairwise comparisons among all loci in each of *F. eskia* populations, only three pairs significantly departed from linkage equilibrium: we therefore assumed that loci were independent. No population departed from Hardy-Weinberg equilibrium excepted Low Puymorens (Table 2) with an estimated heterozygote deficit (F_{IS}) significantly different from zero. Neutral genetic diversity within population relatively to allele frequencies (H_E) is 0.32 – 0.51 and relatively to the number of alleles per locus (A) is 2.25-3.5 (Table 2).

Table 2. Expected heterozygosity (H_E), observed heterozygosity (H_O), mean number of alleles per locus (A), proportion of polymorphic loci with the frequency of the more frequent allele < 0.95 ($P_{0.95}$) and heterozygote deficiency (F_{IS}) within *F. eskia* populations. Transects : A: Ansabère; R: Rioumajou; P: Puymorens. Altitudes : L: low; M: medium; H: high.

Site	H_E	H_O	A	$P_{0.95}$	F_{IS}
LA	0.4081	0.3829	2.75	0.75	0.063
MA	0.3251	0.2592	2.75	1.00	0.207
HA	0.3516	0.3158	2.25	1.00	0.104
LR	0.4013	0.3750	3.00	1.00	0.067
MR	0.5122	0.5375	3.50	1.00	-0.051
HR	0.3851	0.4053	3.50	0.75	-0.054
LP	0.4153	0.3178	2.50	1.00	0.240*
MP	0.4147	0.4139	2.75	0.75	0.002
HP	0.3669	0.3582	2.25	0.75	0.025

Significance of Fischer exact tests of departure from Hardy-Weinberg proportions: * $P < 0.05$

The AMOVA over all loci (Table 3) showed that F_{CT} was high (0.34) and significantly different from zero indicating very limited gene flow between transects. This high F_{CT} value suggests that potential genetic differences in quantitative traits observed between transects may be partly due to genetic drift. The low F_{SC} value (0.04), even if significantly different from zero, suggested gene flow along the altitudinal gradient. The difference among individuals within populations accounted for 2.6% of the total variance and the corresponding index F_{IS} was not significantly different from zero. This suggested gene flow within populations and absence of inbreeding.

Table 3. Analysis of molecular variance (AMOVA) results for genetic differentiation of *Festuca eskia* among transects of origin, populations and individuals.

Source of variation	df	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	Fixation indexes
Among transects	2	104.71	0.422	34.43	$F_{CT}=0.34^{**}$
Among populations within transects	6	13.83	0.038	3.11	$F_{SC}=0.04^{***}$
Among individuals within populations	169	134.73	0.032	2.61	$F_{IS}=0.06$
Within individuals	178	130.50	0.733	59.84	
Total	355	383.77	1.225		

Significance levels: ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

PHENOTYPIC VARIATION

Survival, growth-form traits and reproductive traits of *F. eskia* were more variable with regard to altitude than to the geographical situation of the altitudinal transects (see mean squares values of G_{altitude} and E_{altitude} versus G_{transect} and E_{transect} on Tables 4 and 5). By contrast, the geographical situation of transects constituted the principal sources of variation for LDMC and SLA (Table 6).

Table 4. Statistical analysis on survival and growth-form traits (plant diameter and plant height) of *Festuca eskia* in the reciprocal transplant experiment. The table shows degrees of freedom (df), χ^2 statistics for survival, means squares (MS) and F-ratios (fixed effects) for growth-form traits.

Source of variation	Survival			Plant diameter				Plant height			
	df	Deviance		df	MS	F		df	MS	F	
Altitude of origin (G_{altitude})	2	14.04	***	2	79	8.4	***	2	0.65	38.7	***
Altitude of transplantation (E_{altitude})	2	16.91	***	2	1196	128.0	***	2	7.29	434.1	***
Transect of origin (G_{transect})	2	4.33		2	17	1.8		2	0.94	56.3	***
Transect of transplantation (E_{transect})	2	2.37		2	182	19.6	***	2	1.52	91.0	***
$G_{\text{altitude}} \times E_{\text{altitude}}$	4	9.60	*	4	11	1.2		4	0.02	1.5	
$G_{\text{transect}} \times E_{\text{transect}}$	4	7.07		4	8	0.9		4	0.10	6.3	***
$G_{\text{altitude}} \times G_{\text{transect}}$	4	5.84		4	90	9.6	***	4	0.12	7.4	***
$G_{\text{altitude}} \times E_{\text{transect}}$	4	12.93	*	4	12	1.3		4	0.02	1.2	
$E_{\text{altitude}} \times E_{\text{transect}}$	4	20.37	***	4	523	56.0	***	4	5.04	300.0	***
$E_{\text{altitude}} \times G_{\text{transect}}$	4	5.57		4	1	0.1		4	0.02	1.3	
Residuals				1476	9			1474	0.01		

Significance levels: * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$

Table 5. Statistical analysis on reproductive traits (Number of spikes, Total seed weight and Reproductive allocation) of *Festuca eskia* in the reciprocal transplant experiment. The table shows degrees of freedom (df), means squares (MS) and F-ratios (fixed effects).

Source of variation	Number of spikes				Total seed weight			Reproductive allocation (RA)				
	df	MS	F		df	MS	F		df	MS	F	
Altitude of origin (G_{altitude})	2	2.08	8.10	***	2	8.39	21.40	***	2	1.52	6.81	**
Altitude of transplantation (E_{altitude})	2	19.14	74.49	***	2	20.53	52.40	***	2	11.51	51.55	***
Transect of origin (G_{transect})	2	2.23	8.66	***	2	9.17	23.43	***	2	1.92	8.6	***
Transect of transplantation (E_{transect})	2	2.21	8.59	***	2	2.58	6.60	***	2	1.67	7.5	***
$G_{\text{altitude}} \times E_{\text{altitude}}$	4	0.50	1.94		4	1.27	3.25	**	4	0.45	2.03	
$G_{\text{transect}} \times E_{\text{transect}}$	4	1.07	4.16	**	4	1.62	4.15	*	4	0.75	3.37	**
$G_{\text{altitude}} \times G_{\text{transect}}$	4	1.08	4.20	**	4	1.35	3.45	**	4	0.62	2.81	*
$G_{\text{altitude}} \times E_{\text{transect}}$	4	0.36	1.39		4	0.41	1.05		4	0.32	1.45	
$E_{\text{altitude}} \times E_{\text{transect}}$	4	0.98	3.82	**	4	0.41	1.07		4	1.82	8.15	***
$E_{\text{altitude}} \times G_{\text{transect}}$	4	0.09	0.35		4	0.88	2.27		4	0.15	0.68	
Residuals	872	0.26			872	0.39			872	0.22		

Significance levels: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

Table 6. Statistical analysis on functional traits (leaf dry matter content and specific leaf area) of *Festuca eskia* in the reciprocal transplant experiment. The table shows degrees of freedom (df), means squares (MS) and F-ratios (fixed effects).

Source of variation	Leaf dry matter content (LDMC)			Specific leaf area (SLA)		
	df	MS	F	df	MS	F
Altitude of origin (G_{altitude})	2	0.009	4.1 *	2	0.192	10.7 ***
Altitude of transplantation (E_{altitude})	2	0.208	89.7 ***	2	0.905	50.4 ***
Transect of origin (G_{transect})	2	0.186	80.6 ***	2	4.100	228.2 ***
Transect of transplantation (E_{transect})	2	1.052	454.2 ***	2	2.139	119.1 ***
$G_{\text{altitude}} \times E_{\text{altitude}}$	4	0.002	1.0	4	0.001	0.1
$G_{\text{transect}} \times E_{\text{transect}}$	4	0.001	0.6	4	0.027	1.5
$G_{\text{altitude}} \times G_{\text{transect}}$	4	0.041	17.9 ***	4	0.316	17.6 ***
$G_{\text{altitude}} \times E_{\text{transect}}$	4	0.008	3.7 **	4	0.037	2.0
$E_{\text{altitude}} \times E_{\text{transect}}$	4	0.180	77.9 ***	4	0.364	20.2 ***
$E_{\text{altitude}} \times G_{\text{transect}}$	4	0.002	1.2	4	0.004	0.2
Residuals	1527	0.002		1538	0.017	

Significance levels: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

Survival

Altitude of origin (G_{altitude}) affected significantly survival rate (Table 4). Plants from low altitude presented a lower survival rate than plants from medium and high altitude (Fig. 2). Altitude of transplantation (E_{altitude}) affected significantly survival (Table 4). This partly resulted from a higher survival of populations from medium and high altitudes when respectively transplanted at medium and high altitude (Fig. 2). This suggested local adaptation of medium and high altitude to their home altitude according to the “local *versus* foreign” criterion. By contrast, plants from low altitudes did not survive better than other when planted at low altitude (Fig. 2).

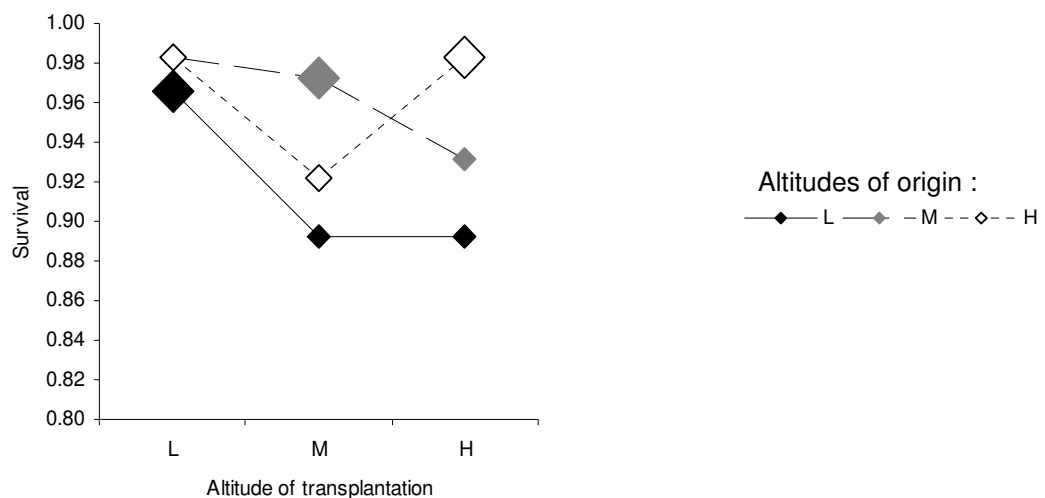


Fig. 2. Effect of altitude of transplantation on survival in *Festuca eskia* from three different altitudes. Large symbols represent survival of plants transplanted at their home altitude. L, low altitude; M, medium altitude; H, high altitude.

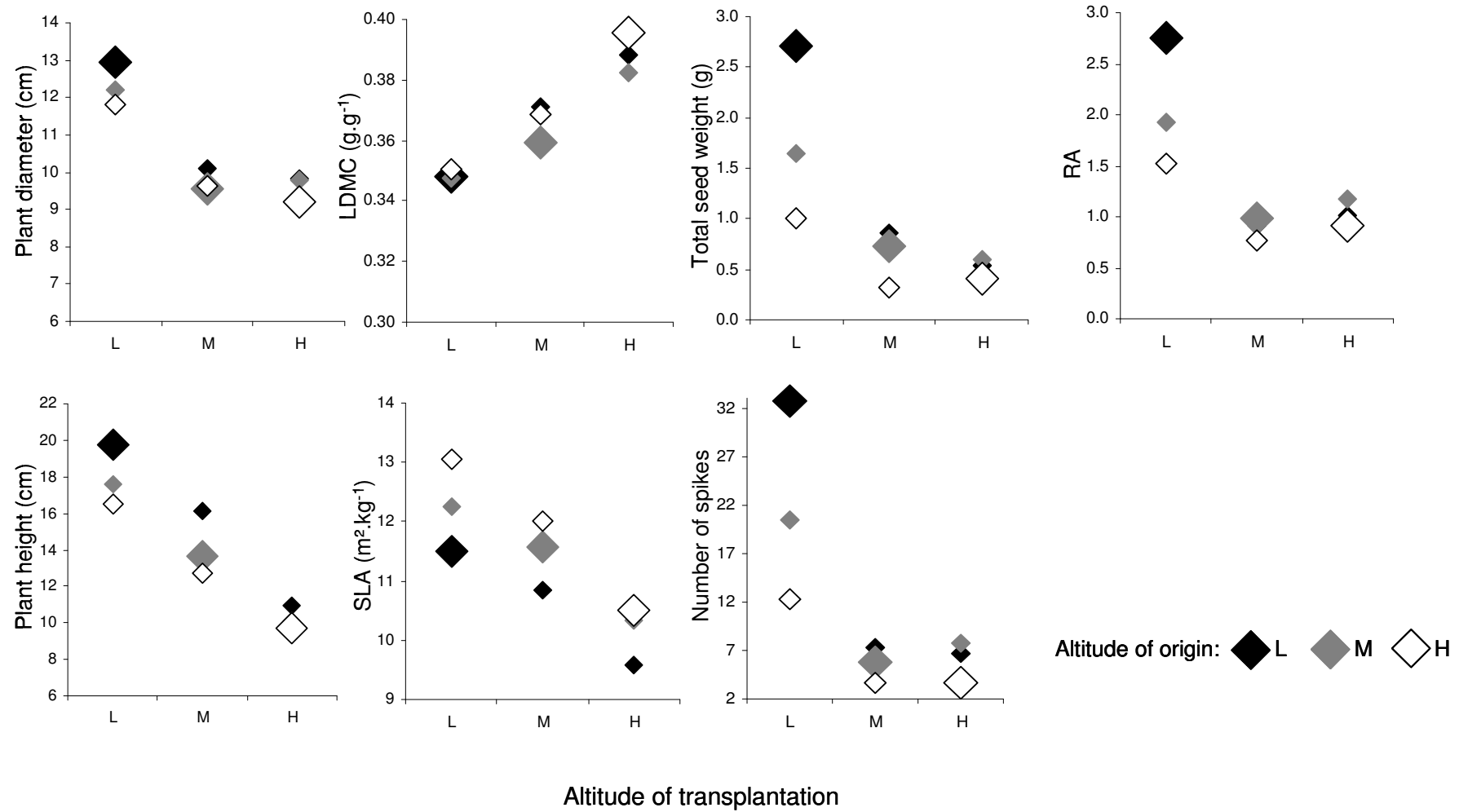


Fig. 3. Effect of altitude of transplantation on quantitative traits means on *Festuca eskia* from three different altitudes. Large symbols represent survival of plants transplanted at their home altitude. L, low altitude; M, medium altitude; H, High altitude. LDMC : leaf dry matter content; SLA: specific leaf area; RA: reproductive allocation

Growth-form traits

Genetic differentiation in response to altitude occurred for plant diameter and plant height (Table 4). These growth-form traits decreased with increasing altitude of origin (G_{altitude}) (Table 7). Altitude of transplantation had a significant effect on growth-form traits (E_{altitude} , Table 4) reflecting phenotypic plasticity. At low altitudes, transplants had a larger stature (Table 7). No $G_{\text{altitude}} \times E_{\text{altitude}}$ interaction was found for growth-form traits (Table 4): plants from Low populations remained the biggest, and plants from High populations remained the smallest, regardless of the altitude of transplantation (Fig. 3).

Reproductive traits

Genetic differentiation in response to altitude occurred for the three reproductive traits (Table 5). Reproduction output and reproductive allocation (RA) decreased with increasing altitude of origin: total seeds weight, number of spikes and RA were higher for plants from low altitude than for plants from at medium and high altitudes (Table 7). Altitude of transplantation had a significant effect on reproductive traits (E_{altitude} , Table 5) reflecting phenotypic plasticity for these traits. Transplants planted at low altitude produced more spikes, more seed weight and had a larger RA than plants from medium and high altitudes (Table 7). The $G_{\text{altitude}} \times E_{\text{altitude}}$ interaction was significant for total seed weight (Table 5). According to independent contrasts, transplants from low altitude had significantly better total seed weight than other transplants when planted at their home altitude (see an illustration in Fig. 3). This revealed local adaptation of plants from low altitude to their home altitude. By contrast, plants from medium and high altitudes did not produce more seed weight than other when planted at their home altitude

Functional traits

Genetic differentiation in response to altitude occurred for the functional traits (Table 6). Plants from low altitudes had smaller mean SLA than plants from medium and high altitudes (Table 7). Altitude of transplantation (E_{altitude}) had a significant effect on functional traits (Table 6) reflecting phenotypic plasticity for these traits. Transplants planted at low altitude had lower LDMC and larger SLA (Table 7). No $G_{\text{altitude}} \times E_{\text{altitude}}$ interaction was found for LDMC or SLA.

Table 7. Means of values for phenotypic traits grouped by altitude of origin (G_{altitude}), altitude of transplantation (E_{altitude}), transect of origin (G_{transect}) and transect of transplantation (E_{transect}) for *Festuca eskia* in the reciprocal transplant experiment. Different letters represent significantly different means according to Tukey test. A: Ansabère transect; R: Rioumajou transect; P: Puymorens transect. L: low altitude; M: medium altitude; H: high altitude. LDMC: leaf dry matter content; SLA: specific leaf area; RA: reproductive allocation.

	G_{altitude}			E_{altitude}			G_{transect}			E_{transect}		
	Altitude	Mean		Altitude	Mean		Transect	Mean		Transect	Mean	
<i>Growth-form traits</i>												
Plant diameter (cm)	L	11.03	^a	L	12.33	^a	A	10.71		A	10.14	^a
	M	10.52	^{ab}	M	9.77	^b	R	10.34		R	10.35	^a
	H	10.24	^b	H	9.58	^b	P	10.69		P	11.25	^b
Plant height (cm)	L	15.69	^a	L	17.93	^a	A	13.79	^a	A	15.90	^a
	M	13.87	^b	M	14.14	^b	R	12.78	^b	R	13.75	^b
	H	13.02	^c	H	10.24	^c	P	15.85	^c	P	12.89	^c
<i>Functional traits</i>												
LDMC (g.g^{-1})	L	0.369	^{ab}	L	0.349	^a	A	0.363	^a	A	0.333	^a
	M	0.363	^a	M	0.366	^b	R	0.352	^b	R	0.352	^b
	H	0.371	^b	H	0.389	^c	P	0.389	^c	P	0.419	^c
SLA ($\text{m}^2.\text{kg}^{-1}$)	L	10.6	^a	L	12.3	^a	A	11.1	^a	A	12.7	^a
	M	11.4	^b	M	11.5	^b	R	13.8	^b	R	11.8	^b
	H	11.9	^b	H	10.1	^c	P	9.0	^c	P	9.4	^c
<i>Reproductive traits</i>												
Number of spikes	L	16.20	^a	L	21.65	^a	A	12.13	^a	A	8.62	^a
	M	11.61	^a	M	5.54	^b	R	7.60	^b	R	11.58	^b
	H	6.66	^b	H	6.00	^b	P	14.22	^a	P	14.00	^b
Total seed weight (g)	L	1.55	^a	L	1.84	^a	A	1.16	^a	A	1.28	^a
	M	1.08	^a	M	0.66	^b	R	0.60	^b	R	1.11	^b
	H	0.65	^b	H	0.52	^b	P	1.54	^a	P	1.06	^c
RA	L	1.73	^a	L	2.11	^a	A	1.57	^a	A	1.52	^a
	M	1.45	^a	M	0.90	^b	R	1.12	^b	R	1.46	^b
	H	1.14	^b	H	1.05	^b	P	1.64	^a	P	1.43	^b

Effects of transects

Transect of origin (G_{transect}) affected significantly plant height (Table 4), reproductive traits (Table 5) and functional traits (Table 6). There were significant $G_{\text{transect}} \times E_{\text{transect}}$ interactions for growth-form traits (Table 4) but no local adaptation to transect was detected. There were significant $E_{\text{altitude}} \times E_{\text{transect}}$ interactions for growth-form traits, functional traits and for number of spikes suggesting that environmental effect of altitude depended on transect involved. There were significant $G_{\text{altitude}} \times G_{\text{transect}}$ interactions for growth-form traits, functional traits and reproductive traits suggesting that genetic effect of altitude depended on the transect of origin.

Co-gradient and counter-gradient variations

Co-gradient variation between genetic and environmental sources of phenotypic variation along altitudes occurred for all traits but SLA (Fig. 3).

Discussion

GENETIC DIFFERENTIATION BETWEEN POPULATIONS CONNECTED BY GENE FLOWS ALONG ALTITUDINAL GRADIENTS IS ATTRIBUTABLE TO STRONG SELECTION

Genetic differentiation in *F. eskia* occurred for all traits along altitudinal gradients (Tables 4, 5, 6). These results are consistent with other studies showing genetic differentiation in growth-form and reproductive traits along altitudinal gradients in alpine plants (e.g., Gauthier *et al.* 1998; Stinson 2004; Byars *et al.* 2007). Genetic differentiation occurred for functional traits which were little studied in such a micro-evolutionary perspective. In parallel, homogenizing gene flow occurred between populations of different altitudes on the same transect since neutral genetic differentiation among altitudes was low ($F_{SC} = 0.04$, Table 3). Hirao & Kudo (2004) found similar neutral genetic patterns in alpine herbs along a snowmelt gradient.

These two results suggest that the selection is strong enough to maintain genetic differentiated populations for quantitative traits despite high gene flow among populations. An important part of genetic variation observed in quantitative traits between genotypes from different altitudes of the same transect is likely to be attributable to selection rather than drift.

Nevertheless, F_{SC} was significantly different from zero suggesting some restrictions in gene flow between altitudes. Restriction in gene flow due to phenological separation along the snowmelt gradient may produce such slight difference. Clinal changes in allele frequencies may occur due to partial overlap of flowering periods creating local patterns of gene flow (Hirao & Kudo 2004).

GENETIC DIVERSITY WITHIN POPULATIONS IS HIGH FOR NEUTRAL MARKERS BUT LOW FOR QUANTITATIVE TRAITS AND DOES NOT DECREASE WITH ELEVATION

Neutral genetic diversity within population is high relative to allele frequencies ($H_E = 0.32 - 0.51$, Table 2) and to the number of alleles per locus ($A = 2.25 - 3.5$, Table 2). Diversity parameters for *F. eskia* were comparable to those of other outcrossing grass species analysed with microsatellites. For example, they were comparable to those of wild alpine rice *Oryza officinalis* ($A = 1.7 - 2.3$; $H_E = 0.14 - 0.26$) (Gao 2005) and to those of perennial ryegrass *Lolium perenne* analysed with B1B6 ($A = 2 - 6$; $H_E = 0.2 - 0.6$) (P. Barre pers. comm.). By contrast, genetic diversity estimate based on quantitative traits was globally low. This contrast may be interpreted as a result of a strong selection process for studied traits within populations.

No decrease in genetic diversity with elevation was found within population for neutral (Table 2).

PATTERN OF LOCAL ADAPTATION IS DRIVEN BY DIFFERENT FITNESS COMPONENTS ALONG ALTITUDINAL GRADIENTS

Local adaptation to altitude was clearly demonstrated in *F. eskia* (survival: Fig. 2; reproductive traits: Fig. 3) while we detected no local adaptation to the transect locations. Plants had a fitness advantage in their altitude of origin characterized by either higher seed production for local plants or better survival of local plants. This result matches other studies suggesting local adaptation of plants in alpine or sub-alpine environments (Gauthier *et al.* 1998; Stinson 2004; Byars *et al.* 2007).

However, in our study, local adaptation appeared to be driven by different fitness components depending on the altitude. Transplants from medium and high altitudes had the best survival probability at their home altitudes (respectively M and H) (Fig. 2). By contrast, transplants from low altitudes did not survive better than other transplants at low altitude (Fig. 2). However, transplants from low altitudes had the best total seeds production when planted at low altitude and transplants from medium and high altitude did not perform better than foreign transplants at their home altitude as regards seeds production (Fig. 3). These results contrast with Byars *et al.* results (2007) on an alpine perennial grass (*Poa hiemata*) showing that in a reciprocal transplant experiment between two altitudes, local transplants always tended to have higher survival. Our conclusions are comparable with Sambatti & Rice results (2006) demonstrating different patterns of selection in *Helianthus exilis* between riparian and serpentine sites. Local adaptation of *H. exilis* was driven by differential survivorship at serpentine sites whereas selection mainly acted on reproduction at riparian sites.

At low altitude, mortality was globally lower and, transplants from low altitudes did not survive better than other transplants while at high altitude, mortality probably occurred quickly for “maladapted” plants as a direct effect of the harsh conditions. At low altitude, competition with other species is likely to be the major cause of mortality for *F. eskia*. During our experiment, competition with the resident vegetation at low altitudes was not high enough to result in plant mortality.

INTRASPECIFIC VARIATION IN *F. ESKIA* DEPARTS FROM EXPECTATIONS DRAWN FROM THE CONCEPT OF STRESS-RESISTANCE SYNDROME APPLIED TO ALPINE PLANTS

It is commonly accepted that stress *sensu* Grime (1977) *i.e.* conditions that restrict matter production, increases with altitude in alpine habitats (Grime 1977; Körner 1999). These conditions of limitation are thought to favour adaptations for endurance of conditions of

limited productivity (Grime 1977; Chapin *et al.* 1993). In accordance with a stress-resistance syndrome (Chapin *et al.* 1993), plants from high altitudes were selected for lower statures, less reproductive structures and lower reproductive allocation (Table 7). However, genotypes from high altitudes were selected for relatively high SLA values contrasting with the expected stress-resistance syndrome (Table 7). High SLA indicates that production of new tissue consists in increasing leaf production to intercept more light rather than make denser leaf tissue to increase storage or defence. Higher SLA may be interpreted as an investment in resources acquisition function. A stress-resistance syndrome involves a strategy of resource conservation rather than resource acquisition (Grime 1977; Chapin *et al.* 1993). The resource acquisition strategy may permit plants from late melting sites (high altitudes in our case) to optimize carbon gain by producing low-cost leave and thus overcome the constraint of a short growing season. The concept of stress-resistance syndrome may be irrelevant for plant intraspecific adaptation to altitude. This might be due to the fact that stress-resistance syndrome had been essentially theorized from observations done along fertility gradients and had been extrapolated to other sources of stress that are different like alpine habitats. Nutrient deficiency generally causes limitation in matter production. Low resource environment thus favour plants able to reduce resource loss by developing storage and defence adaptation (resource conservation strategy). These plants typically show a stress-resistance syndrome. However, major source of stress in alpine habitat may be a short growing season that may favour investment in rapid resource acquisition. As Körner has already raised it (1999, 2003) there is a need to clarify the concepts of stress and limitation and thus the notion of stress-resistance syndrome especially for alpine plants. Nevertheless a high SLA may also result from indirect selection due to a genetic correlation with other selected characters. It may also be explained by shorter leave which need less supporting tissues and are consequently less dense. However, LDMC, a good estimate of tissue density (Vile *et al.* 2005), is not significantly higher in populations from high altitude.

ALL THE STUDIED QUANTITATIVE TRAITS BUT SLA EXHIBIT PHENOTYPIC PLASTICITY THAT IS ADAPTIVE AT THE POPULATION LEVEL

All studied traits exhibited phenotypic plasticity at the population level (Tables 4, 5, 6). Evidence of CoGV along the altitudinal gradient was found for all vegetative and reproductive traits except for SLA (Fig. 3). Their plastic response could be interpreted as adaptive. CoGV represents phenotypic modification in the direction of trait optima. CoGV pattern for phenotypic plasticity along altitudes in these traits is expected to facilitate

adaptation of each population beyond its altitudinal range. Such cases of CoGV were already described in transplant experiment across altitudinal transects for *Achillea sp* (Clausen *et al.* 1941) or *Poa hiemata* (Byars *et al.* 2007). The only CnGV was found for SLA that occurs because selection and plasticity act in opposition (review in Conover and Schultz, 1995). CnGV for SLA may arise because of trade-offs with other components of plant adaptation negatively correlated with SLA. CnGV might also arise in the absence of such trade-offs if selection act on different directions on SLA at opposite ends of the altitudinal gradient (Conover & Schultz 1995).

ADAPTIVE POTENTIAL MAY ENABLE *F. ESKIA* TO FACE CLIMATE CHANGE

This study indicates that *F. eskia* is likely to have the potential to respond to climate change with inter and intra-generational processes. As climate become drier and warmer in the Pyrenees, selection is likely to favour different phenotypes. The existence of genetic differentiation for ecological important traits in *F. eskia* along altitudinal gradient coupled with gene flow constitutes the insurance for future selection to occur in response to climate change. Even if there is no difference in adaptive potential along the altitudinal gradient, the fact that selection on reproductive output seems to predominate over selection on survival in plants from low altitudes indicates that plant from low altitude will have an important potential to disperse up to their range. In the shorter term, ubiquitous CoGV patterns in plastic responses of *F. eskia* may allow adaptive phenotypic variation of established individuals in response to rapid and relatively intense climate change. The only limit our study has revealed is the CnGV pattern for SLA likely to reduce *F. eskia* intra-generational adaptive potential.

Acknowledgements

We thank A. Pons, P. Laurent, A. Gibert, L. Bernal and the technical team of UMR AGIR for fieldwork and useful discussions, P. Barre, P. Cormenier, C. Gibelin and C. Talon for the genetic laboratory work and M. Goulard for statistical advices. These results are part of H.G.-T. PhD thesis. This research was funded by Ecovars2 project and INRA-SAD. Ecovars2 is funded by The European Union, the French State and Régions Midi-Pyrénées, Aquitaine and Languedoc-Roussillon.

CHAPITRE 3

Vers une intégration de la restauration à une gestion globale du territoire : prendre en compte la diversité des parties-prenantes

Contexte et insertion dans la thèse

Initialement, mon travail de thèse devait permettre d'établir des zones de transfert de graines qui intégreraient les points de vue des acteurs utilisant les espaces à restaurer sur le matériel végétal utilisé. La volonté d'intégrer les points de vue des acteurs sur le matériel végétal utilisé en restauration trouve son origine dans le raisonnement suivant : pour que les considérations génétiques puissent effectivement être mises en application dans l'objectif d'une restauration durable, il est indispensable de prendre en compte la complexité du système à restaurer et, notamment, les interactions entre les activités humaines et le système écologique. Par exemple, ne pas tenir compte de l'adaptation des plantes au pâturage comme critère d'établissement des zones de transfert peut conduire à un échec pour la restauration d'un couvert où s'exerce une forte pression de pâturage. Pour bien comprendre la complexité du système à restaurer, il est donc indispensable de connaître, entre autres, les activités humaines qui s'y exercent.

L'approche initiale imaginée par les biologistes d'Ecovars pour intégrer les points de vue des acteurs sur le matériel végétal devait consister à recueillir ces points de vue, les « traduire » en traits permettant de qualifier la diversité génétique et produire les patrons de diversité s'y rapportant. Le but était en fait de produire une sorte de « solution optimale » relative au matériel végétal à utiliser. Par exemple, cela aurait pu amener à constater que certains acteurs soucieux de la stabilité du manteau neigeux préféraient les plantes à feuilles courtes, ce qui aurait permis

de préconiser la production de mélanges de graines respectant les zones de récolte-utilisation établies et favorisant les plantes aux feuilles les plus courtes.

Afin de les aider dans le travail de recueil des points de vue des acteurs locaux, les biologistes ont fait appel à un chercheur en sciences de gestion. Cette collaboration a conduit à la construction d'une approche différente dans la perspective de rechercher une solution satisfaisante pour l'ensemble des parties prenantes et non plus une forme « d'optimum biologique ». En effet, on pouvait assez facilement imaginer que les critères de choix retenus par les seuls biologistes puissent ne pas être unanimement partagés par les acteurs locaux. L'idée générale était alors de mettre en place un groupe de discussion avec les acteurs locaux concernés par des opérations de restauration pour que le choix du matériel végétal à utiliser soit fait collectivement. Un travail préliminaire à la mise en place de ce groupe était de conduire des entretiens. Il visait tout d'abord à s'assurer de l'existence d'une diversité de points de vue sur le matériel végétal. Il s'agissait ensuite de donner à voir cette diversité à nos partenaires ainsi qu'à l'ensemble des parties prenantes des opérations de restauration, afin de mettre en évidence le besoin d'une discussion et d'un choix collectif de ce matériel végétal. Le choix du matériel végétal reposait ensuite sur l'idée de traduire en termes « génétiques » les caractéristiques du matériel végétal considérées collectivement comme les plus importantes à prendre en compte, et de définir des zones de transfert de graines qui puissent y correspondre.

Pour recueillir les points de vue des différents acteurs utilisant les espaces à restaurer, j'ai conduit des entretiens de type compréhensif (Kaufmann 1996). J'utilise le terme point de vue non pas au sens commun d'opinion mais au sens de Darré et al. (2004). Le point de vue dont il s'agit ici est objectivement situé et défini par une position sociale, comprenant en particulier les activités, le travail, de l'individu qui l'exprime. Ce point de vue se traduit dans la façon dont l'individu parle des choses, les raisonne, les conçoit suivant un raisonnement tenu depuis le point duquel il les perçoit. La conduite d'un entretien compréhensif vise à instaurer progressivement une dynamique de conversation entre l'enquêteur et son interlocuteur, plus

riche que de simples réponses à des questions, afin d'encourager ce dernier à exprimer sa propre façon de concevoir les choses autour du sujet abordé.

Les premiers entretiens nous ont conduits à constater que la question du matériel végétal utilisé pour restaurer ne semblait pas être au cœur des préoccupations de tous les acteurs et, dans tous les cas, ne semblait pas se poser indépendamment de la question plus générale de la restauration. En outre, les acteurs locaux avaient des points de vue très diversifiés sur les opérations de restauration. Intégrer les points de vue des acteurs concernant le matériel végétal utilisé en restauration nous est alors apparu comme trop restrictif et peu pertinent face aux considérations plus globales sur les opérations de restauration soulevées par les acteurs rencontrés. Ce constat nous a conduits à élargir le thème des entretiens aux opérations de restauration en tant que telles et ainsi à reconstruire l'objet de notre étude.

A la suite de ce travail, le groupe de discussion n'a pas pu être mis en place. En effet, la proposition des chercheurs selon laquelle le groupe pouvait constituer une manière de faire participer les acteurs au projet Ecovars, ne convenait pas au CBP. Le CBP considérait le groupe de travail plutôt comme un moyen de transfert d'informations et de sensibilisation. Le CBP percevait dans la proposition des chercheurs un risque de remise en cause des objectifs du projet Ecovars, ce qui ne leur semblait pas acceptable, de leur point de vue comme de celui des financeurs du projet.

Les entretiens ont donc constitué l'essentiel de notre matériau pour la suite. L'analyse que nous en avons faite nous a permis de tirer de ces entretiens, par un processus inductif, des éléments plus génériques quant à la diversité des points de vue des acteurs ainsi que des propositions pour la conduite des opérations de restauration. Contrairement au processus déductif suivant lequel on vérifie des hypothèses au travers d'un cas d'étude, l'induction est un processus progressif d'abstraction qui permet de proposer des éléments relativement génériques à partir de l'analyse de cas particuliers. Le cas n'est pas un lieu de validation d'une théorie préétablie, ou d'une hypothèse, mais le point de départ de la problématisation. Le cas permet de faire émerger une

« théorie intermédiaire, ou ‘à moyenne portée’, c’est-à-dire en apparence, locale et contextuelle, et en filigrane, porteuse d’un questionnement plus large » à partir d’une situation locale particulière, c’est-à-dire de produire des « connaissances intermédiaires entre contextualisation et abstraction » (David 2004). Notre démarche est ainsi caractérisée par des allers-retours entre des faits (nos observations de terrain), plus ou moins mis en forme, et des « théories intermédiaires » sur la base desquelles nous avons élaboré des propositions d’une portée qui se veut plus générale.

Résumé de l'article 3

De plus en plus de biologistes de la conservation et de la restauration appellent à une prise en compte des acteurs locaux dans les projets de conservation ou de restauration. Malgré cette prise de conscience, de nombreux projets échouent du fait d'obstacles humains. Ces échecs sont attribuables notamment à la méconnaissance de la diversité des points de vue existant parmi les acteurs locaux qui sont considérés comme une catégorie monolithique, une nébuleuse. Ainsi, les recommandations concernant l'intégration des acteurs locaux sont largement basées sur des approches théoriques. Dans cette étude, notre objectif était de montrer l'existence d'une diversité de points de vue et d'en tirer des propositions concernant l'intégration des acteurs locaux dans les opérations de restauration.

Nous avons étudiés trois cas de restauration de pelouses alpines pyrénéennes. Nous avons conduit 20 entretiens compréhensifs au total sur les trois cas. Les personnes interviewées travaillent ou vivent sur le site restauré et, pour toutes ces personnes, la restauration du site peut avoir des conséquences. Il peut s'agir des gestionnaires du site, d'élus locaux, d'éleveurs, d'agents de développement...

L'étude de ces trois cas révèle une diversité de perceptions du territoire concerné par la restauration, du temps associé à la restauration, et du succès des opérations. Au-delà de ces aspects pratiques, certains acteurs portent une attention particulière à la façon dont s'est passée l'opération de restauration, au processus qui s'est déroulé *i.e.* à la succession des événements.

Les résultats de notre étude nous conduisent à proposer d'intégrer la restauration écologique à une gestion globale du territoire. Concrètement, nous proposons d'articuler plus explicitement la restauration aux autres usages du territoire, de considérer les situations de restauration comme des situations construites par les différents acteurs en présence, et, de considérer la restauration comme processus organisationnel autant que comme processus biotechnique.

Article 3

Toward a land management approach to ecological restoration: unpacking the stakeholder category

Gonzalo-Turpin H. and Couix N.

INRA, UMR 1248 AGIR, BP 52627, F-31326 Castanet-Tolosan cedex, France

Running title: Land management approach in restoration

Key-words: ecological restoration, land management, approach, stakeholders, interview, inductive approach, Pyrenees

Article soumis à la revue *Conservation Biology* (in review)

Introduction

Since the 1990s, an increasing number of conservation biologists and restoration ecologists have been calling for stakeholders to be involved in conservation (Hull & Robertson 2000; Chan et al. 2007) and restoration operations (Cairns 1995; Higgs 1997; Higgs 2005). According to Stringer et al. (2006), participation of stakeholders is essential and enables:

- a better understanding of the situation through the understanding of the diversity of the viewpoints,
- the integration of local, ‘profane’ knowledge to provide a contextualisation that scientific knowledge alone does not,
- the preservation of the democratic ideal by avoiding top-down approaches, thus empowering local stakeholders,
- a social learning that is favourable to new modes of collective work.

However, the involvement of stakeholders supposes that historical, cultural, social, political, aesthetic and moral considerations be taken into account when conservation and restoration operations are set up (Higgs 1997; Lundquist & Granek 2005). This also supposes that the operations are evaluated according to criteria that incorporate these new considerations. Some authors go further and advocate the adoption of a wider conception of conservation and restoration. Western et al. (1994) defend ‘*community-based conservation*’ in which local parties take charge of conservation operations. Higgs (1997), in his ‘*expanded conception of good restoration*’, recommends the development of an inclusive decision-making process, i.e. the inclusion of the long-term stakeholders concerned. He suggests developing the idea of a ‘*process-oriented view of restoration*’.

Despite this new awareness, human obstacles remain one of the important causes of the failure of operations (Geist & Glatowitsch 1999; Gobster & Hull 1999; Pfadenhauer 2001). Chan et al. (2007) attributes these failures in particular to the fact that stakeholders are generally considered to be a monolithic category. In the corresponding scientific literature, stakeholders constitute a category that can have different names: the public, locals, native people, the people... These terms are *a priori* unambiguous for the scientists and experts who use them. Nevertheless, the lack of knowledge concerning the existing diversity of viewpoints means that generally it is unclear who or what is the subject of discussion. The result is that there is no real contextualisation of the problem, which diminishes the chances of solving it (Higgs 1997; Chan et al. 2007).

Recommendations concerning a better integration of stakeholders remain largely founded on theoretical considerations. There are rare concrete case studies but these endeavour to present and analyse the use of a certain type of participative approach (*e.g.*, Curtin 2002). The presentation and analysis of the diversity of stakeholders' viewpoints are very rare (but see Finlayson 2001; Hagen et al. 2002). Situations involving the restoration of human dominated territories constitute an excellent framework to study these viewpoints. Indeed, the causes of degradation are generally related to Man's use of Nature. Moreover, the very act of restoration is a human activity. Thus, the issue of stakeholders is exacerbated: restoration situations bring together different conceptions of Territory and Nature and this could lead to user conflict. These situations therefore lead spontaneously to the emergence of questions about the involvement of stakeholders.

Based on these observations, we interviewed stakeholders involved in three restoration operations in order to collect their viewpoints on restoration. Our aim was to show that there was a large diversity of viewpoints and to provide an indication of how to take into account this diversity during both the operation and its evaluation.

Table 1: Characteristics of three case studies

<i>Characteristics</i>	<i>Case</i>	<i>Restoration of Pla Guillem</i>	<i>Restoration in Peyragudes</i>	<i>Creation of the Braca zone</i>
Territory		High altitude plateau used as pasture situated in a nature reserve and in the middle of a recognised heritage site	Ski slopes of Peyragudes – Summer pasture	Ski slopes of Arette-La Pierre Saint-Martin – Summer pasture
Localisation (Commune)		Py	Germ	Arette
Origin of the degradation		Initially, the frequent passage of ATVs that damaged a path for traffic, then the early grazing throughout the pasture land prevented re-colonisation and made the degradation worse	Construction and improvement of ski slopes	Creation of a cross-country ski area on what used to be a wild karst zone
Year of the first operations		1998	2001	2005
Surface restored		5000 m ²	10000m ² /an	10000m ²
Protection Status		Nature Reserve of Py : utilisation of local species obligatory for restoration	No particular protection	No particular protection
Activities		Extensive livestock farming, tourism, place where there is lots of coming and going	Preparation of ski slopes, extensive livestock farming, tourism	Preparation of ski slopes, extensive livestock farming, tourism
Manager, farmers		Canigou Joint Association (Regional Council of the Pyrénées orientales, association of communes, French Forest Commission)	Semi-public company for the development of the Peyragudes resort	Public company for mountain resorts (lease)
Project manager for restoration operations		Canigou Joint Association (Regional Council of the Pyrénées orientales, association of communes, French Forest Commission)	Association of Agudes and the commune of Peyressourde	Regional Council of the Pyrénées atlantiques
Project manager for restoration operations		Conservatory for natural zones of the Languedoc-Roussillon (non profit-making association) and French Forest Commission	Semi-public company for the development of the Peyragudes resort	French Forest Commission
Land owner		State (private estate)	Association of Agudes and the commune of Peyressourde	Regional Council of the Pyrénées atlantiques

Materials and Methods

The choice of an inductive approach

We studied three cases of restoration using an inductive approach involving the collection and analysis of data (Mitchell 1983; David 2004) which is widely used in the social sciences. Induction is a progressive process of abstraction in which relatively generic elements are extracted from an analysis of specific cases. A case is not used to validate a pre-existing theory, nor is it a simple study material; it is the starting point for the formulation of the research question. A case can be used to produce an “intermediate theory” that lies between contextualisation and abstraction, based on a specific local situation (David, 2004). Successive comparisons of the explanatory models (the theories) and the facts (our observations in the field) enable a step by step construction of a form of objectivisation.

We chose this approach in order to take into account the contextual and the singular nature of the situations studied while at the same time looking for more generic elements. Moreover, this approach enables to stand back from the conceptual frameworks with which we generally examine cases of restoration as biologists.

Characterisation of the three cases studied

There is a project in the Pyrenean Mountains (South West France) whose aim is to generalise the use of local plants for the restoration of damaged alpine grasslands. The reason for doing this was to move from revegetation to true ecological restoration, including in areas where human activities are omnipresent (*e.g.*, ski resorts). So, we examined cases of damaged plant cover that was being restored in a Pyrenean alpine environment. This environment is especially interesting in that numerous human activities, both recent and ancestral, are represented (*e.g.*, ski, driving ATVs, livestock farming) and this diversity of activities can lead to diverse ways of considering a territory.

With an inductive approach, it is important that the choice of cases attempts to represent the diversity of situations (Mitchell 1983; Darré et al. 2004). To do this, we chose three case studies (Figure 1) that correspond to a variety of situations (Table 1), particularly in relation to:

- the intensity of use of the site for skiing,
- the organisation to which the manager of the site belongs,

- the legal context,
- the respect of recommendations concerning the use of local plants.

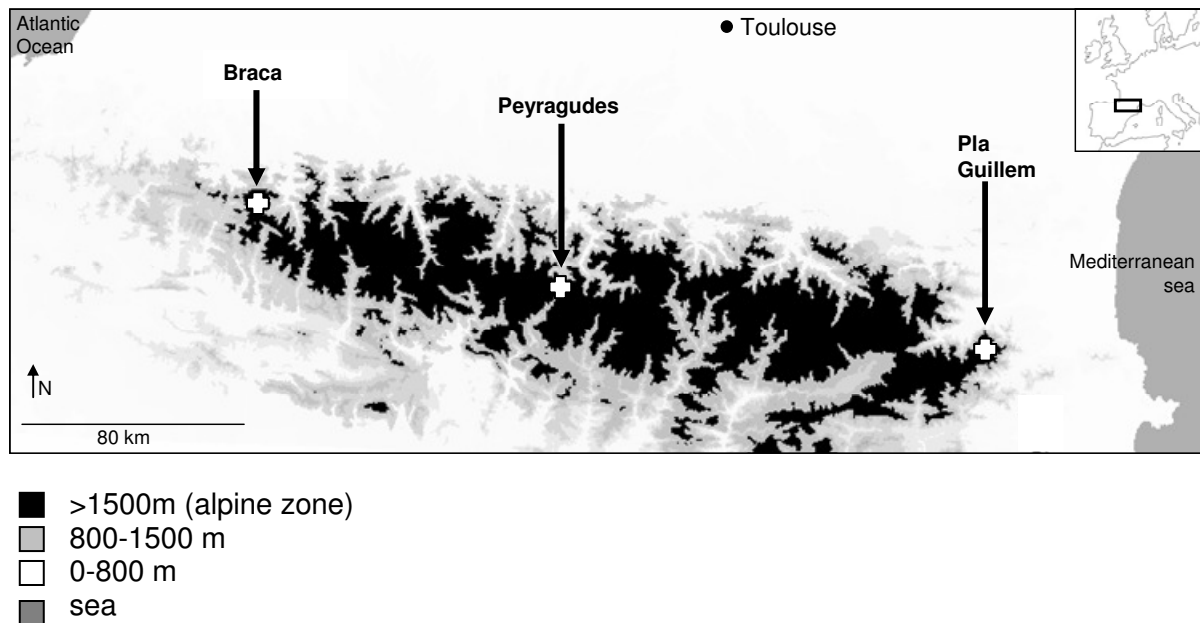


Figure 1: map showing the localisation of the three sites of the study on the Pyrenean massif

The choice of the stakeholders to be questioned

Based on previous work (unpublished data) and our own knowledge of the Pyrenean Mountains, we identified ‘resource’ people *i.e.* people capable of helping us identify local stakeholders that we should meet. We conducted 20 interviews of people present and living on the three sites and for whom restoration could have some consequences : site managers, project managers, locally elected officials, potential users of the territory such as livestock farmers, experts, representatives of the State or, if need be, development agents involved locally (Table 2). The interviews were completed by a compendium of written documents produced during the restoration operations and informal conversations not included in the strict context of the interviews indicated in Table 2.

Table 2: Characteristics of the interviewees, duration of the interviews and documents produced for the three cases studied

<i>Duties/Job</i>	<i>Organisation</i>	<i>Further details</i>	<i>Category</i>	<i>Documents produced</i>	<i>Duration of the interview</i>
<i>Restoration of Pla Guillem</i>					
Project manager	Forests National Office (ONF, French organization in charge of the management of the State Forests)	Restoration technician	Natural environment manager	None	85 min
Project manager	Regional conservatory of natural zones	Botanist	Expert	Report of the meetings	125 min
Cattle farmer and President of a livestock farmers association	Pastoral organisation	His animals graze on the zone	Livestock farmer	None	75 min
Mayor	Commune	President of the environment commission of the communes association	Locally elected official	None	75 min
Sheep farmer	None	His animals graze on the zone	Livestock farmer	None	25 min
Representative of the farmers	Pasture Land Association		Facilitator	Letter concerning the grazing management of the zone	75 min
Rambler – guide	French Ramblers Federation		Tourist	None	50 min

Table 2 continued
→

Table 2 continued

<i>Duties/Job</i>	<i>Organisation</i>	<i>Further details</i>	<i>Category</i>	<i>Documents produced</i>	<i>Duration of the interview</i>
<i>Restoration in Peyragudes</i>					
Project manager	Resort	Head of environment quality	Station manager	Expertise in possible restorations at the resort and file on a development project	75 min
Sheep farmer	None	His animals graze on the zone	Livestock farmer	None	40 min
Engineer	Environmental Services of the French State	Monitors the compliance of the facilities	Expert	None	55 min
Expert for the local authorities	Research and Advice Consultancy	Carry out impact studies and give restoration advice	Expert	Documents on the restoration training course aimed at the ski resorts	60 min
Mayor	Commune		Locally elected official	None	
Project manager	Resort	Restoration technician	Technician	None	Informal discussion
<i>Creation of the Braca zone</i>					
Resort manager	Public company for mountain resorts		Station manager	None	50 min
Sheep farmer	None		Livestock farmer	None	30 min
Mayor	Commune		Locally elected official	None	85 min
Project manager	Territorial administration	Agronomist	Project manager	None	50 min
Project manager	Forests National Office (ONF)	Restoration technician	Natural environment manager	Register of special technical clauses	35 min

Table 2 continued
→

Table 2 continued

<i>Duties/Job</i>	<i>Organisation</i>	<i>Further details</i>	<i>Category</i>	<i>Documents produced</i>	<i>Duration of the interview</i>
<i>People involved in the whole Pyrenean Mountain massif</i>					
Expert in restoration on the massif	Botanical Conservatory of the Pyrenees	Botanist	Expert	Reports of meetings	120 min
Environmental technical agent for the Region Midi-Pyrénées	Regional Association for Environment (ARPE)	Agronomist	Facilitator	None	75 min
Technician for the production of seeds of local plants for restoration	Chamber of agriculture	Agronomist	Expert	Reports of meetings	75 min

The methodology used for the interviews and their subsequent analysis

The ‘*comprehensive interview*’ method was used (Kaufmann 1996). Interview guidelines were established for each person interviewed. Their aim was to help the investigator to initiate a conversation with the interviewee in order to encourage the latter to express his viewpoint concerning the damaged site and its restoration. They were all recorded and transcribed.

Analysis of the interviews

The discourse analysis of each interview was carried out in order to determine the viewpoint of the interviewee concerning the restoration operations and to bring out the ‘relevant features’ that they used to characterise these operations. The notion of viewpoint that we used was based on that developed by Darré et al. (2004): a viewpoint is necessarily related to the activities of the individual, activities that, according to the author, are themselves related to the social position of the individual. For a given viewpoint, certain ‘*features*’ of the subject in question are ‘*relevant*’ and others are not (Darré et al. 2004). For example, it can be supposed that the degree of soil cover is a ‘*relevant feature*’ for someone who wants to limit soil erosion whereas the colour of the cover is not. The analysis consists in revealing the relationship between the ideas expressed within each site, then between sites, in order to achieve a more advanced degree of generalisation.

Results

Different perceptions of the territory concerned by restoration

Our analysis shows that each stakeholder has a particular perception of the territory concerned by restoration. These different perceptions relate to a territory that extends far beyond the restored site in itself. The term territory is used here to refer to an area that has been appropriated by an individual or a social group through the uses made of it.

This is particularly clear in the case of Pla Guillem, where the damage appears to be the result of the frequent passage of 4x4 vehicles that destroyed the plant cover. This site belongs to a natural reserve, so the use of local species in restoration is mandatory, which in turn means that it is necessary to obtain seeds of the local species. However, the early grazing of herds on the grasslands means that there is no spontaneous seed production on the site, impeding seed collect. This early grazing has since been deemed by experts and the manager of the site to be a source of damage to the land. Thus, the initial problem of restoration '*revealed another problem, [...] the problem of grazing*' one of the interviewees told us. Following from this observation, a study of the history of farming practices and ways of using the land was carried out. The study showed a change in farming practices related to the progressive closure of '*jasses*', intermediate zones between the bottom of the valleys and the high pastures. In the past the jasses were used in the springtime before summering. These jasses revert to scrub due to land abandonment and the farmers take their herds to the higher grasslands earlier. However, in order to allow the grasslands regeneration, the site managers then obliged farmers to take their herds up later. To compensate for the lack of grass in the spring and faced with the hostile reaction of the farmers and their representative, who contested a decision that was taken unilaterally, work was begun by the manager to reopen the jasses. So, for the experts, the site manager and the farmers' representative, this progressively became a problem concerning the comprehensive land management: '*So a little problem of restoration lead directly to land management issues*' summarised one of the site managers.

Similar results were found for the ski resorts of Peyragudes and la Pierre Saint-Martin, in that the definition of a territory that was meaningful for each of the people interviewed was often much larger than the restored site. However, in contrast to Pla Guillem, this did not lead the stakeholders involved to express themselves and think in terms of a global land management

strategy. Our analysis for these sites reveals a series of different territories that overlap. The views of the technicians who carried out the restoration work were essentially centred on the restored parcel(s) and the traffic circuits. This is the scale at which they identify the techniques to be used and they do not take into account the environment of the parcel. The resort managers talked about the ski slopes on the resort and the developed sites. The resort managers of Peyragudes, for example, have set up a Geographic Information System to enable the facilities to be monitored, together with a decision tool for a possible intervention: the date and nature of the work carried out, the state of the plant cover (% cover...) are registered. Only the developed sites were the subject of an information compendium (the slopes in particular). Nevertheless, for both the resort managers and the locally elected officials, one of the explicit issues of the restoration work was how to blend the facilities into the landscape. It is therefore from a landscape point of view, in terms of colour or even of substrate (mineral *versus* plant) that the slopes and other facilities were reincorporated into a wider territory. As for the farmers, they referred to grazing circuits or more generally to the movement of their herds as a function of the quality of the grass and the seasons. Finally, the locally elected officials had a much wider vision of the territory concerned: they evoked the different uses of the land, which went beyond the mere technical and aesthetic questions posed by the restoration work.

The analysis of these viewpoints thus showed that territories mean different things to each of the interviewees. They reflect spatial scales and different entities whose pertinence is related to the very activities of the interviewees and to what extent they take into account the many uses of these areas.

Different perceptions of the duration of the restoration

Depending on the stakeholder, the consequences of restoration are not perceived according to the same time scale. A local development agent expressed this difference in time scale: *‘this restoration is also to prepare the future, to put a stop to the degradation [...] but we’re confronted with people [the livestock farmers] who have their daily share of worries and who maybe don’t have enough time or hindsight to take into account these considerations’*. This difference in perception leads to a divergence in viewpoint, in particular between livestock farmers and managers. In general, the farmers’ standpoint is anchored in the current year, events that are close at hand (e.g., going up to summer pasture, following the *‘fleur de*

l'herbe’ i.e. the flowering of grass) and they don’t really think much about the years ahead. Conversely, the project managers and experts often mentioned an inter-annual change, particularly concerning the regeneration of plant cover. In contrast, farmers never spoke about the inter-annual change of the parcels and instead explained that they determine the upward migration of their livestock by observing the seasonal changes in plant cover.

What farmers consider to be a constraint, i.e. restricted access to the restored parcel for their herds during the first year after the cover is installed, is often seen as a favourable factor by other stakeholders, i.e. in the end the cover will provide more grass for grazing. For example, according to the site manager of Pla Guillem, the early arrival of herds on the site means that farmers don’t have ‘*a good food resource*’ for their livestock. In contrast, a farmer from the site explained that it is excellent pasture but the constraint lies in the fact that they cannot take their animals up early enough due to an agreement with the manager.

Different perceptions of the success of a restoration

The stakeholders invoked different success criteria for restoration operations. These criteria could be ecological, practical, technical and aesthetic and very often a combination of these for each person. Indeed, several clearly expressed the idea that their criteria of success depended on the aims that they had defined. However, these aims can change depending on what is being restored. To summarise, we identified four main categories of criteria shared and evoked by different stakeholders.

On the whole, the experts and environmental managers considered that a restoration operation was first and foremost an operation to recover the initial state of an ecosystem. While recognising that it is impossible to return to an identical state, not least because the substrate is damaged, their ‘*target*’ is the initial flora. The target is defined by the vegetation in place directly ‘*around the site*’: their aim is that the new plant community resembles as closely as possible the initial community, that it be self-sustaining, and that the uses of the plant cover are taken into account. These are typical considerations that can be found in restoration ecology.

For the majority of livestock farmers, the main criteria for a successful restoration are the good fodder quality of the restored plant cover. For example, for one of the farmers, a

restoration is successful when a field '*remains under grass*' with an palatable and nourishing grass for the animals.

The technical criteria concerning the fixation of the soil and snow are primordial, particularly for the resort managers. The capacity of the new cover to limit erosion or to fix snow is essential for them. One of the project managers in a ski resort summarised this by explaining that a successful restoration entailed '*a [plant] cover that can fix the soil [...] and is not a hindrance to the fixation of the snow blanket*'. The capacity of the plant cover to limit erosion is a criterion of success that is also mentioned by experts and environmental managers. In fact, they consider that the fixation of a substrate is an indispensable condition for a lasting plant colonisation.

Finally, the locally elected officials and the resort managers also take into consideration the blending of restored parcels into the landscape. One of the project managers said that restoration should enable a restored parcel '*to blend in completely with the landscape*'. Blending into the landscape therefore requires a visual resemblance between the existing cover and the new one: the same '*tone*'. A resort manager summarised this as follows: '*the aim is that visually there is no black spot [...] there are slopes with a plant cover [...] that resembles the natural environment*'.

These results show that the stakeholders essentially define the problems in practical terms: it is very concrete elements that can be used to judge if a restoration is successful or not. Thus, the success of a restoration is in essence evaluated via its end product, *i.e.* the quality of the restored parcel. Thus restoration seems in general to be considered as a technical act that produces a material result. The cost of the operations, even if it is not identified as a criterion of success, was a concern for most of the stakeholders. Finally, only the experts and the environmental managers had a genuine interest in how the restored ecosystem worked and had some interrogations concerning the why's and wherefore's of an 'ecological' restoration. It was they and they alone who conveyed this ecological dimension, the other stakeholders in fact more often talked about a '*revegetation*' or '*re-grassing*' operation.

Differences in the attention paid to the actual process of restoration

As mentioned above, the stakeholders we met evaluated restoration operations with particular attention to the material result. They qualified a restoration operation as a success essentially as a function of what it produced concretely. The analysis of the viewpoints demonstrates that, depending on the site, more or less thought was given to questions pertaining to the course of events during the restoration: what approach was used, what kind of interactions between stakeholders were involved, what kind of conflicts, negotiations ? In this perspective, restoration is no longer considered solely through the prism of its concrete production but also as a complex process. In other words, the viewpoints of some stakeholders contained a certain consideration for the social, historical and cultural dimensions of the '*expanded-view of restoration*' proposed by Higgs (1997).

In Pla Guillem, the historical and cultural dimensions are taken into consideration through studies of ancient practices, the desire of the users to seek a certain harmony between restoration and management... Similarly, the site managers looked at the best way to communicate with the farmers: through awareness campaigns, finding solutions acceptable to the different parties and discussions. The farmers' representative was very aware of the approach used: '*what we contest [...] is the unilateral way in which the decision was made, with nothing in writing and no discussion [...] as a result, we wrote a letter which gives a good summary of the history [of the problem]*'. So, this shows that some factors taken into consideration were related to the course of events during the operation.

In contrast, in the ski resorts of Peyragudes and la Pierre Saint-Martin, the stakeholders had little consideration for the approach used in the restoration. For example, whereas all of the resort managers and the restoration technicians refer to grazing as the means to achieve a satisfactory plant cover to hold back the snow (short plant canopy), none of them wondered or even mentioned a more efficient way of working with the farmers from a restoration viewpoint.

Nevertheless, on all the sites studied, certain people had daily activities that brought them into contact with the users of these restored areas, including the farmers. This was especially the case of the restoration technicians and the managers, like those of the Forests National Office (ONF, French organization in charge of the management of the State Forests). Although they

stop short of thinking about other ways of doing things, they do mention the existence of relational aspects that should not be ignored in restoration operations. In the field, they are often the ones involved in the communication or even mediation with the users that are overlooked by resort managers. Finally, the people who are most attentive to the way in which the operations are carried out are clearly those who have project management skills in areas such as project approach, facilitation... This is especially the case of the facilitator of the Pasture Land Association and of the agent of the Regional Association for Environment (ARPE) whose functions are clearly to provide help in setting up environmental projects and to accompany these projects (Table 2).

Discussion: for the integration of restoration in a comprehensive land management

Based on the results of this study, we propose that ecological restoration be integrated within a comprehensive land management. In this sense, our proposition is similar to that of Hagen et al. (2002) for whom restoration must be considered as the management strategy of a site that depends on the '*desired states*' expressed by the stakeholders. It is also in agreement with the proposition of Higgs (1997) to set up participative approaches as part of a '*process-oriented view of good restoration*'. Nevertheless, our proposition goes further in that it proposes:

- to link more explicitly restoration to the other uses of land,
- to consider restoration situations as situations socially constructed by the different stakeholders present,
- to consider restoration as an organisational process as much as a biotechnical process.

Linking restoration to the other uses of land

Some authors underline the need for an assessment of technical operations required in restoration over a much wider scale than the restored parcel. Pfadenhauer (2001), who examined a case concerning the Scheyern experimental farm (Munich), noted the importance of looking at a wider context than the parcel, particularly so that gene flow between parcels could be taken into account. Higgs (1997) proposed '*the original landscape*' or '*the indigenous landscape*' as a reference landscape in order to include a historical and cultural dimension with the ecological considerations. Our proposition is to go beyond merely considering the surrounding ecosystem and the human activities that have contributed to shape it. We propose to link, both spatially and temporally, the restoration operations of a site to the different uses of the land in which the restoration will be conducted.

In ski resorts, the technical operations carried out for the restoration are assessed and chosen in relation to the parcel to be restored and the nearby plant cover. Nevertheless, the change in plant cover, its flora and its capacity to meet the needs of restoration workers and resort managers are highly dependant on whether the parcels in question are used as pasture during the summer. This in turn conditions the 'short plant canopy' required to fix the snow, the change in flora (phenomena of selection by animals, re-colonisation by local species favoured

by the passage of animals...) and the blending into the landscape of the restored land. However, the use of land for pasture in the areas concerned is only one element of the annual grazing calendar of a herd: the case of Pla Guillem is a good illustration of how the modification of one of the elements of this calendar can result in the reorganisation of all or a part of it. An enclosure of large grazing areas, for example, may force a farmer to transform his summer grazing circuits. Cases like this are in fact seen in numerous situations where human activities are not excluded from the restored site. In these situations, it is not just a question of taking into account the surrounding environment or even the activities that contributed to producing it but to closely link the restoration to the other uses of the land. However, this approach supposes the recognition of the emerging nature of the situations in which the restoration operations take place, and their consequences for the land.

Recognising the ‘emerging’ nature of restoration situations

The interviews show that the understanding of the situation in which the restoration operations took place, together with the definition of the problem to be solved, varied among the stakeholders and with their own activities. They also show that, for a given stakeholder, they varied over time. According to Dewey (1938), a pragmatic philosopher, knowledge is built through action and through experience. It is through a process of ‘productive enquiry’, during which an individual will make use of the different resources available in a given situation (documents, objects, individuals...) that he will elaborate knowledge about the situation, progressively define it and give it a certain coherence. It is with reference to this definition that he will operate and this definition will itself contribute to a modification of the situation. In this approach, the situation is therefore in essence under construction: it emerges from this process of enquiry and is never stabilised (Journé & Raulet, 2007). Depending on who is ‘convened’, the resources used, the events that bring into play new stakeholders, etc. the definition of the situation, in reference to which the operation was developed, can thus vary considerably (Journé & Raulet, 2007).

At Pla Guillem, different resources were progressively mobilized (historical studies, field observations, discussions or other forms of interaction between the stakeholders...). This helped transform the definition of the initial problem, elaborated by the experts and managers of the site: from a problem of restoration, the question became one of farming practices leading to the involvement of new stakeholders in the situation. A shared meaning was

progressively built up and lead to a reformulation in land management terms. In the ski resorts, it would appear that the almost complete lack of interaction between the stakeholders concerning questions of restoration, the fact that the users were not invited to participate, to give their opinion or even to share their knowledge of the environment, meant that the resort managers and the restoration technicians never really transformed their definitions of the situation.

In our outlook, the territory to be restored is not a given but is defined progressively with the stakeholders present. This is one of the points by which our approach differs from current thought. Even when authors underline the importance of inviting the different stakeholders to participate in the approach, the land is considered to be a given. In the work of Hagen et al. (2002), for example, different stakeholders were involved in the definition of the aims and modalities of the restoration: the objective was to reach a consensus on the operations to be carried out on a predefined territory. In the approach proposed here, the objective is to define a territory to be managed which has a shared meaning for all of the stakeholders concerned *i.e.* that can be used as a basis for imagining an effective link between the restoration and the other uses of this territory. For the people in charge of the restoration, these considerations are highly important. Depending on whether or not they form part of a certain logic of the situation, *i.e.* they recognise the need to pursue or otherwise the process of defining the situation, of deciding whether to involve new stakeholders for example, they can orient the operation toward a more innovative approach or conversely favour a certain routine (Journé & Raulet 2007).

This is consistent with the conclusions we have reached based on the results of this study: the importance of considering restoration as much as an organisational process as a technical process or even as the only result of this technical process.

Restoration should also be considered as an organisational process

Our study revealed that some stakeholders place importance on the approach used for restoration. By approach we mean the way in which the decisions are taken, the events and the reorientations occur. Thus, they also talk about restoration as an organisational process. This vision of the process dimension of restoration emerges very distinctly on the Pla Guillem site. For this site, the attention paid by some to the approach used allowed exchanges to take place between stakeholders and the construction of shared and efficient solutions. In more

general terms, this vision of restoration as a process can be compared with the concept of procedural rationality proposed by Simon (1976, 1978) in the context of studies on the cognitive processes of decision-making in organisations. The procedural rationality perspective encourages not just the development of ‘adapting as you go’ procedures but also the evaluation of the quality of the reasoning developed during the implementation of these procedures. This perspective thus goes beyond placing restoration in an adaptive management approach advocated by some authors (*e.g.*, Murray & Marmorek 2003). Here, the evaluation implemented attaches as much importance to the relevance of the approach as to the result obtained.

The stakeholders present don’t all have the same interest in this process dimension of restoration. It is the facilitators or the development agents who mention it the most and, to a lesser extent, the environmental managers. In contrast, the restoration experts (who make recommendations without necessarily being present every day in the field) don’t have this vision of things. They advocate, in a knowledge transfer perspective, holding training courses to heighten the awareness of the stakeholders about restoration and to explain the objectives of the restoration. These remarks bring us to two elements of discussion. First, specific skills would appear to be necessary in order to make this process vision a reality. These skills are those of the facilitators, like capacity to listen, to favour the expression of participants, to analyse, to favour synergies and manage conflicts... (Campbell 1998; Couix 2002). These skills favour the initiation of strong interactions between the stakeholders, the exchange of knowledge and the elaboration of relevant solutions for complex problems of restoration. The aim is to evolve from a unidirectional transfer of knowledge to a real exchange of knowledge (Roux et al. 2006). Secondly, although the experts give indispensable technical advice, the use of their skills doesn’t always provide solutions to the problems that arise in complex situations: problems getting the backing of stakeholders, relational problems, etc. Thus, the professionalization of restoration, understood as an ever increasing expertise, would not appear to be a good way to favour the success of the operations. After studying a controversy that followed a restoration operation, Light (2000) arrived at the conclusion that its professionalization was liable to destroy its democratic potential. Some studies, particularly in the agro-environmental field or in regional development, show that it is preferable to clearly distinguish the roles of facilitation and expertise in the projects (Couix 2002). The neutrality of facilitators vis-à-vis the operations carried out is one of the keys to a successful operation.

Acknowledgements

We thank L. Hazard and A. Bédécarrats for helpful comments on the manuscript and F. Healy for translating the text. These results are part of H.G.-T. PhD thesis. This research was funded by Ecovars2 project and INRA-SAD. Ecovars2 is funded by The European Union, the French State and Régions Midi-Pyrénées, Aquitaine and Languedoc-Roussillon.

Repenser le partenariat afin de produire des connaissances pertinentes pour l'action : analyse d'une expérience dans le domaine de la restauration écologique

Contexte et insertion dans la thèse

Mon travail en partenariat avec le CBP et le SUAIA-P devait me permettre de produire des connaissances en génétique qui soient pertinentes et opérationnelles dans le contexte particulier du projet Ecovars. En effet, si les biologistes produisent généralement des connaissances pour comprendre et expliquer comment fonctionne un système naturel, en revanche, ils ne produisent que rarement des connaissances explicitement destinées à être mises en application dans les actions de restauration (Robertson & Hull 2001; Cabin 2007).

Ce souci de produire des connaissances pour l'action tient entre autres au contexte scientifique de ma thèse. D'une part, j'ai réalisé ce travail de recherche au sein du département scientifique Sciences pour l'Action et le Développement (SAD) de l'INRA dont un des objectifs est la production de connaissances pour l'action (*cf.* Schéma Stratégique du Département SAD 2004-2007). D'autre part, ma thèse s'inscrit en génétique de la restauration et, plus largement, en écologie de la restauration et dans le domaine des sciences de la conservation qui se veulent être des sciences d'action (Soulé 1985, Meffe & Carroll 1999, Barbault 1999).

Au-delà de mon travail, produire des connaissances pertinentes pour l'action était aussi un des enjeux de l'ensemble des partenaires d'Ecovars. Pour y parvenir, il semblait tout d'abord nécessaire de mettre en place un dispositif collectif qui, sous forme d'un groupe de discussion permettrait d'associer étroitement les différents acteurs de terrain (gestionnaires de station de ski, éleveurs, élus locaux...) à la production de connaissances dans le projet Ecovars.

Les connaissances ainsi produites à l'interface entre la génétique de la restauration et son terrain d'application devaient être plus pertinentes et mieux adaptées pour l'action. Par ailleurs, il était nécessaire que les différents partenaires du projet Ecovars trouvent un mode de fonctionnement qui leur permette de combiner effectivement leur point de vue et de se coordonner concrètement. Par exemple, la mission « production de semences » devait notamment veiller à ce que la mise en production permette de conserver, dans les semences produites, la diversité génétique initiale des populations sources mise en évidence.

Cependant, l'organisation et les dispositifs nécessaires à la mise en œuvre de ces deux points n'ont jamais vraiment vu le jour suite au refus de nos partenaires et malgré l'intérêt commun que cela avait pu initialement éveiller. De ce relatif échec de la collaboration nous avons voulu, en tant que chercheurs, tirer un certain nombre d'enseignements concernant la recherche en partenariat et la production de connaissances pour l'action dans le cadre de projets comme Ecovars. C'est ce que présente l'article 4 sous la forme d'un essai.

Résumé de l'article 4

Un des défis auxquels sont confrontés les biologistes de la conservation et de la restauration est de parvenir à produire des connaissances qui soient pertinentes et puissent être utilisées lors des opérations de conservation ou de restauration. Les recherches conduites selon un mode académique de production de connaissances, dans un strict cadre disciplinaire, ne permettent généralement pas de produire des connaissances pertinentes pour l'action. La recherche conduite en partenariat avec des acteurs de terrain peut par contre constituer un moyen d'y parvenir. Dans cette perspective, comment travailler en partenariat entre chercheurs et praticiens pour produire des connaissances pertinentes pour l'action ? Dans cet article, nous analysons les faiblesses de notre mode de collaboration entre partenaires au sein du projet Ecovars, quant à ses conséquences vis-à-vis de la mise en application sur le terrain des connaissances produites dans le projet.

Nous montrons que changer de mode de production de connaissances pour un mode qui permette de produire des connaissances pertinentes pour l'action suppose l'implication d'une diversité de partenaires et une certaine réflexivité de l'ensemble de ces partenaires. Nous recommandons le développement d'approches participatives dans les projets de conservation et de restauration afin de favoriser les processus collectifs de *problem-finding* et *problem-solving*. Mettre en pratique de telles démarches constitue un défi à la fois pour les chercheurs mais aussi pour leurs partenaires et suppose une profonde transformation de leurs rôles respectifs.

Article 4

Rethinking partnerships with the aim of producing practically relevant knowledge: an experience in the field of ecological restoration

Gonzalo-Turpin H., Couix N. and Hazard L.

INRA, UMR 1248 AGIR, BP 52627, F-31326 Castanet-Tolosan cedex, France

Running title: Rethinking partnerships for producing practically relevant knowledge

Keywords: mode of knowledge production, stakeholders, problem-finding, seed transfer zones, conservation biology, genetic resources, local seeds, native species, Pyrenees

Article accepté dans la revue *Ecology and Society*

INTRODUCTION

The conservation and restoration of threatened biological systems has emerged as a major scientific and societal issue during the last decade. The challenge for conservation biologists and restoration ecologists is to produce knowledge that can be effectively implemented when dealing with this issue (Robinson 2006, Higgs 2005). Although the use of an academic mode of knowledge production in research is essential for a better understanding of biological systems, it often fails to produce practically relevant frameworks and methodologies that can be used in conservation and restoration programs (Cabin 2007, Robinson 2006, Gobster & Hull 1999, Geist & Galatowitsch 1999). Using Rhoades' (1989) example, a majority of scientists may know how potatoes grow but they fail to earn their living growing them as a farmer does. Even when research programs are designed to guide conservation or restoration actions, real-world complexities often limit the operational relevance of the academic mode of knowledge production (Cabin 2007; Robinson 2006, Gobster & Hull 1999). To increase the practical relevance of their research, more and more conservation biologists and restoration ecologists are collaborating with local players who know the field. Without this partnership, scientists often fail to grasp the complexity and the specificity of a problem occurring at a given site (Higgs 1997, 2005, Chan 2007). By collaborating with local partners, they can first collectively identify the local problems and then look for pertinent solutions for this given context. Paraphrasing Rhoades (1989), the research questions shift from the academic type "how do potatoes grow?" to more complex and transdisciplinary types "how do we grow potatoes?". Conservation biology (CB) and restoration ecology (RE) paradigms acknowledge this real world complexity (for CB: Robinson, 2006; for ER: Temperton 2007, Choi 2007), in which human factors must be explicitly considered (Robertson and Hull 2001).

Several authors have proposed different theoretical frameworks concerning the form of knowledge production that emerges in partnership research (see review by Hessels and Van Lente 2008). Gibbons et al. (1994) and Nowotny et al. (2001) proposed a synthetic theory in which they identified two modes of knowledge production, Mode-1 and Mode-2. Mode-1 is carried out in a scientific, discipline-based framework. It favours academic research, partially disconnected from its potential context of application. In the short term, Mode-1 is often irrelevant to the production of operational and socially relevant knowledge (Nowotny et al. 2001). By contrast, Mode-2 starts from the problems posed in their context of application, by the different stakeholders, and necessitates partnership research. Nevertheless, very few

authors have reported their concrete experience of partnership research associated with their attempt to change their mode of knowledge production.

In this paper, we report our experience of partnership research in an ecological restoration project called Ecovars (www.ecovars2.fr). We became involved in this partnership to increase the practical relevance of the knowledge we produce by contextualizing our scientific research. However, we show that achieving a change in our mode of knowledge production (from Mode-1 to Mode-2) requires a particular configuration of the partnership and partners who are pro-active. Putting Mode-2 into practice is not only a challenge for researchers but also for their partners.

A CASE OF PARTNERSHIP RESEARCH IN ECOLOGICAL RESTORATION: THE ECOVARS PROJECT

We were involved as researchers in the Ecovars project. This project was carried out as a partnership between experts in plant conservation, experts in seed production and researchers in genetics and social sciences. The aim of Ecovars was to promote the use of local seeds for alpine grassland restoration in the Pyrenees mountains (Fig.1).

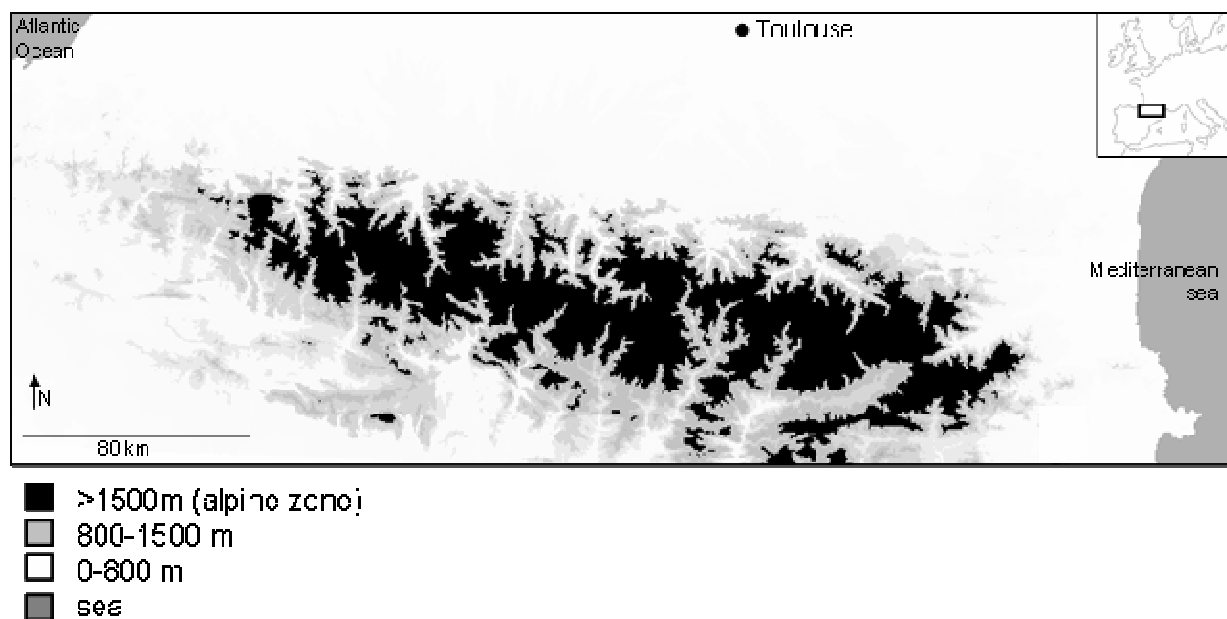


Figure 1: Map of the Pyrenees massif showing the alpine zone area

Context and partnership of the Ecovars project

The idea of using local seeds for the restoration of alpine grasslands in the Pyrenees was first developed in the 90s to restore small areas in the Pyrenean National Park (Fig.2). In 1998 the Pyrenean Botanical Conservatory (PBC) recommended a generalised use of local seeds throughout the Pyrenees mountain range, in particular to restore plant cover after the construction of ski resorts. The use of non-local species for restoration may (i) increase the risk of a poor adaptation that leads to technical failure, and (ii) provide a threat for local plant populations: mating between local and non-local genotypes can reduce the fitness of local plant progenies through gene swamping or outbreeding depression (Hufford and Mazer 2003). The use of local seeds appeared to be a good solution to avoid these problems. However,

scaling up from the Park to the Pyrenean massif increased the amount of seeds needed and required the production of seeds of native species. The objective was threefold: (i) choose and collect pioneer species whose ranges cover the massif, (ii) clarify what “local” entails by taking into account the genetic differentiation of the targeted species along the massif and (iii) produce the seeds. To complete these tasks, the PBC and a geneticist of the French national institute of agronomy (INRA) set up the Ecovars project (2005-2008) (Fig.2). This project was run by the PBC in partnership with INRA and the authority that coordinates agricultural development in the Pyrenees (SUAIA-P).

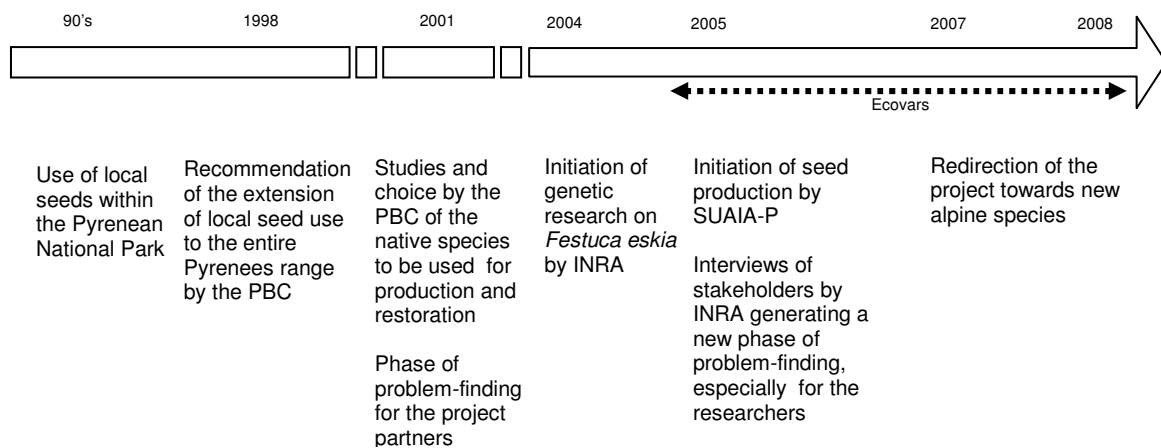


Figure 2: Chronology representing the preceding events and events of the Ecovars project

The project was organized in three work packages that corresponded to the expertise of each partner: consulting in restoration, information and coordination (PBC), seed production (SUAIA-P), research and development (INRA) (Table 1). It was planned as a set of tasks to be accomplished by each partner (Table 1). The PBC managed the project and also provided expertise and technical support to seed users and to the French governmental authority that controls the type of seed mixture sown in restoration projects. The PBC was also responsible for communication on the project and for training seed users. The SUAIA-P was in charge of all aspects related to seed collection and production. Its task was based on the creation and management of a network of seed producers. They tested different cultural practices for native plants and applied the chosen practice for seed production. The INRA was in charge of genetic research into neutral and adaptive genetic structures of plant species to design seed transfer zones. Seed transfer zones are geographical regions within which the translocation of

seeds of native species is supposed to have no detrimental effects on the restored population. Designing these seed transfer zones was planned by social researchers from the INRA as a collaborative work with the main stakeholders. The INRA was also in charge of studying the dynamics of partnerships and the learning processes operating among the partners.

Table 1: Organization of the Ecovars project in three work packages

Name of the organization	Pyrenean botanical conservatory	Office that coordinates different departments for agricultural development in the Pyrenean massif	French institute of agronomical research
Abbreviation	PBC	SUAIA-P	INRA
Skills	experts in plant conservation	experts in seed production	genetic and social sciences researchers
Work package in Ecovars	expertise, information and coordination	seed production	research and development
Tasks	leadership of the Ecovars project technical expertise for the restoration of alpine degraded sites technical expertise for the restoration of alpine degraded sites information and communication about the Ecovars project stakeholders network management (from seed prescribers to seed users)	seed collection of local species at high altitude development of methods for the seed production of local species development of a network of seed multiplying farmers	determination of genetic structure of local plant populations study of factors that could influence population structure coordination for the design of consensual seed transfer zones examination of the partnership

The three work packages were coordinated by an “operational group” consisting of a representative of each organization (Fig.3). Each representative informed the other partners of the progress made by its organization. The operational group met monthly. An “executive group” was in charge of reviewing the progress of the project (Fig.3) and was composed of

the operational group together with the heads of the three organizations; they met once every trimester. Finally, a “supervising group” composed of the executive group, financial sponsors and some stakeholders met yearly (Fig.3).

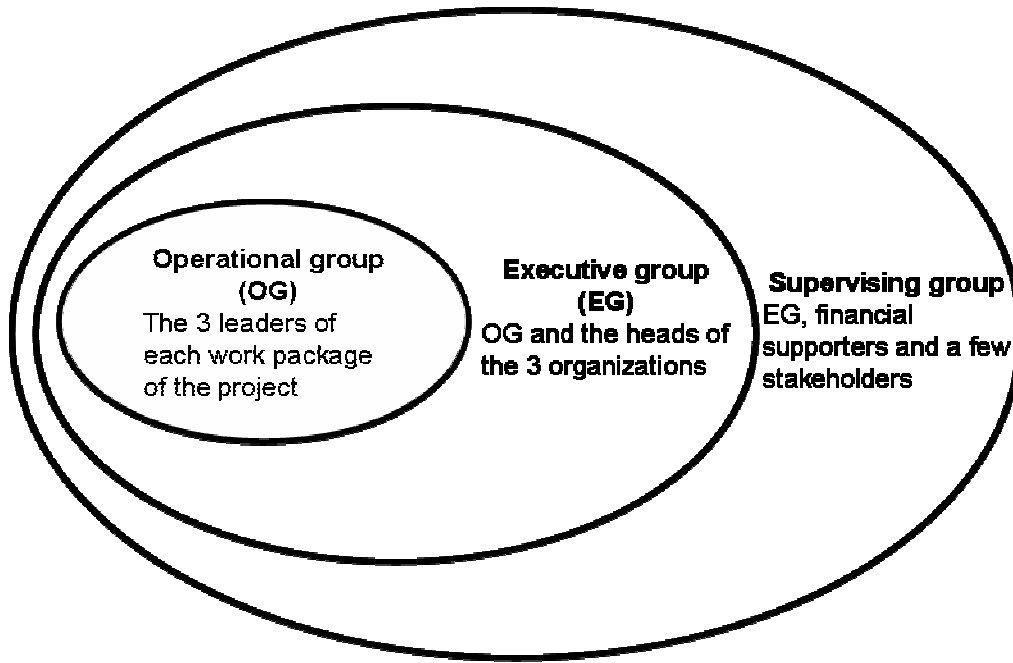


Figure 3: Coordination within the Ecovars project

Focusing on the relevance of *Festuca eskia* seed transfer zones in the Ecovars project

In 2004, INRA geneticists initiated studies that would lead to the design of seed transfer zones. They worked on a fescue, *Festuca eskia*, which had been chosen to be the main component (80%) of the future seed mixtures used in revegetation (Fig.2). The choice of the native species to be produced and used in grassland revegetation was made by the PBC in 2001 (Fig.2). The PBC chose pioneer species whose ranges cover the massif, like *F. eskia*. The aim of designating seed transfer zones for *F. eskia* was to determine zones within which seeds could be both collected for production and used in restoration with no genetic risk for the local populations. As a matter of fact, translocating seeds and plants from one place to another could alter the existing genetic differentiation between populations, swamp locally adapted genes and/or break-up co-adapted gene complexes in populations residing beside translocation sites. This is a population genetic concern applied to restoration (see review in

Hufford and Mazer 2003). The study involved (i) testing numbers of *F. eskia* populations over the Pyrenees with neutral genetic markers, and (ii) reciprocal transplant experiments to test for altitudinal adaptive differentiation between populations. However, the relevance of the *F. eskia* seed transfer zones as they were designed is questionable firstly because these zones did not take into account unintentional selection occurring during seed production process, and secondly because they failed to incorporate stakeholders input.

The seed transfer zones lacked relevance since the unintentional selection which occurs during seed production was not taken into account. In 2005, the SUAIA-P initiated seed production of *F. eskia* and some other native species. During tests for different growing practices, the SUAIA-P experts noticed that the survival rate of *F. eskia* under cultivation conditions was not 100%. As a consequence, these plants were not included in the seed production process while surviving plants were unintentionally selected. The project manager was informed but since this was not considered as a crucial problem for establishing the growing practices for seed production, this issue was not discussed by the operational group. Later, in 2007, the researchers noticed that in their experimental fields the survival rate as well as the seed production of *F. eskia* under cultivation conditions depended on the origin of the plants: some *F. eskia* populations had a low survival rate or produced few seeds under cultivation conditions. At that time, the researchers saw that this constituted a critical constraint in the use of seed transfer zones: a seed transfer zone, to be of practical use, must include at least one source population which can be multiplied under cultivation conditions. As this variability of response to cultivation conditions had not been discussed previously by the partners, seed transfer zones were designed without taking into account this constraint. In the end, the seed transfer zone designed for *F. eskia* based on the results of population genetics turned out to be of little use.

The *F. eskia* seed transfer zones also lacked relevance with regard to the points of view of the stakeholders. In 2005, INRA social scientists initiated a study involving a large diversity of stakeholders who restore degraded areas or who use restored places in the Pyrenees (Fig.2). The objective was to integrate parameters such as the patrimonial value or the local use of alpine plant genetic resources in the design of seed transfer zones. Stakeholders (*e.g.*, technicians who restore ski runs, livestock farmers) were interviewed to explain their use of the area to be restored and their opinion on the use of local plant species in its restoration. To their astonishment, the scientists learned from the stakeholders that *F. eskia* was “weeded

from the ski slopes because it doesn't hold back the snow", it "triggers avalanches because it makes the snow slide", it creates slippery canopies that are dangerous for hikers, who called it the "killer grass", and "it is left by the sheep because they bleed from the muzzle when they graze on it". Consequently, in 2007, an enforced change in alpine species was made for the rest of the Ecovars project. However, the genetic research on *F. eskia* that had been initiated in 2004 could not now be switched to another species in 2007 because of the heavy workload involved. The research on *Festuca eskia* was pursued but as a fundamental population genetics study.

FINDINGS: WHAT WAS WRONG?

Despite a well designed organisational structure for the partnership in the Ecovars project (Table 1, Fig.2, Fig.3), the coordination between the partners was insufficient to produce relevant knowledge with regard to the shared objectives of the project. This resulted, for example, in designing seed transfer zones without taking into account the unintentional selection that occurs during seed production. Three conditions could have facilitated the production of more relevant knowledge:

- setting up a reflexive discussion forum *i.e.* a debating committee where each partner can expose and discuss his point of view and practices integrating feedback from the other partners. In the Ecovars project, there was no structure which could serve as a forum for discussing our ideas, values and our different work practices: when results or problems were tackled by the operational group, they were transmitted as information rather than for group discussion. As a consequence, there was no co-production of knowledge by the Ecovars partners and this was a limiting factor in the relevance of the knowledge produced. Establishing a reflexive discussion forum requires a form of organisation where there is less partitioning of tasks between work packages;
- interfacing the work packages. Even if the work packages in the Ecovars project were complementary, the fact that the each partner's tasks were partitioned in each work package reduced interactions;
- developing a “coordination” management style. The coordinator, while managing the partners and playing the role of decision maker, should also favor exchanges between partners and ensure that different points of view can be expressed for each question.

Moreover, despite collaborations with partners who know the field, the geneticists failed to produce knowledge that could be used to deal with a complex problem because the end users were not directly involved in the problem-finding process. However, the project partners found what appeared *a priori* to be a clear research problem: what is the genetic differentiation of targeted species along the massif and which seed transfer zones can be used to preserve these differentiations? So, the geneticists worked in partnership with the PBC and the SUAIA-P which were, more or less explicitly, the mouthpiece for the end users (seed users and seed producers). However, when considering the point of view of the end users on

F. eskia, it became obvious that the definition of the problem was too restrictive, which led to an inappropriate initial choice of species by the PBC. If seed users such as the technicians who restore ski runs had been involved in the problem finding process, they would have indicated their reluctance to sow *F. eskia* since it does not hold back the snow on the ski slopes. Furthermore, a discussion with stakeholders who use the restored area would also have revealed their reluctance vis-à-vis *F. eskia*. For example, the involvement of livestock farmers in problem finding might have given rise to a discussion on the palatability of different grass species that could be used to restore alpine areas maintained by grazing herds. The change in the chosen species in mid-project could probably have been avoided if a discussion of the partners of the project with these other stakeholders had taken place early enough. The project partners could thus have taken into account the unavoidable constraints of the end users to identify the problem and its complexity. Thus, despite being involved in a real partnership, the project partners fell into the trap of a reductionist vision of a real, complex problem. The geneticists and experts of PBC and SUAIA-P alike, in limiting the problem to the conventional questions of academic disciplines (*e.g.*, questions pertaining to population genetics) failed to contextualise. The consequence with regard to the research questions was that experiments led to results which were of little practical relevance.

DISCUSSION: RE-EXAMINING PARTNERSHIPS IN RESTORATION PROJECTS

Partner diversity for a relevant plan of action in restoration projects

It is essential to have a diversity of stakeholders involved in problem-finding and problem-solving to grasp the full complexity of a problem. This is also essential to enable the implementation of a relevant plan of action. In the Ecovars project, partner diversity was too restricted to allow a real contextualisation especially of the scientific knowledge and consequently hindered the production of knowledge relevant for the field work. Several research and development actions were launched but with a poor understanding of end-user expectations and of the social acceptability of the proposed solutions. This was the case when choosing *F. eskia* as the main species to be produced. Our experience reinforces and gives substance to the idea that Mode-2 knowledge production should start with a dialogue among a large number of different players to identify the problems (Nowotny et al. 2001). This early phase also gives the partners the opportunity to state their values and ethical motives and build the “common world” of the project. This is particularly important in ecological restoration since every time an ecosystem is restored a particular view of nature is expressed (Higgs 2005).

As a consequence, depending on who participates, the problem-finding and problem-solving process may result in very different plans of action. The Ecovars project was initially aimed at large scale seed production by the leading partner (PBC). This choice was not then discussed by the two other partners. A more comprehensive involvement of different stakeholders could have led to the problem being posed in completely different terms. The initial problem is that the construction of ski resorts destroys the plant cover. Re-thinking construction techniques, saving top-soil and plant cover which can later be returned to the degraded area, or favouring plant colonisation from the neighbouring regions are other alternatives that could have been explored.

In return, the type of problem determines the identification of the participants invited to take part in the process. There is thus a recursiveness between the definition of the questions and the participants involved. The problems, and the contexts in which they emerge, are never permanently fixed. Therefore, participants have to accept a form of inadequacy in the project formulations. This variability in context and problem requires a flexible and loose

organisational structure of projects that is in contrast with the strict and partitioned tasks defined in projects like Ecovars. For this reason, it is not possible to formulate precise recommendations for setting up restoration projects.

Nevertheless, general principles can be defined for setting up appropriate partnerships. However, putting them into action requires a genuine effort of contextualisation for each particular case (van Aken 2005).

Adopting participatory approaches to partnerships that favor collective learning

Developing participatory approaches is likely to favour collective processes of problem-finding and problem-solving, which are the core processes of Mode-2. For several years now, researchers have been setting up participatory research structures to tackle complex problems of the real world. Although participatory research has been used in the fields of agriculture and natural resource management (*e.g.*, Pretty 1995, Bawden 1997), it has a fertile ground for development in ecological restoration (Hagen et al. 2002, Light and Higgs 1996, Light 2000). Although participatory approaches have in common the participation of different stakeholders, there are many interpretations of the term “participation” (Pretty 1995). Participation can be seen as a means to achieve the adoption of certain measures or orientations decided by those who are leading the project: this is manipulative participation. Conversely, self-mobilization is the extreme form of empowerment in which local players coordinate their actions to solve a problem (Pretty 1995). Between these two extremes there is a gradient of approaches tending toward the setting up of “*systems of learning and action*” (Pretty 1995). Among these participatory approaches, we think that the ones focused on collective learning processes are more likely to facilitate the processes of problem-finding and problem-solving (*e.g.*, Röling and Wagemakers 1998, LEARN-Group 2000, Couix 2002). The strategy of the project coordinator is then to involve all stakeholders (local players, researchers, etc.) in a collective learning situation aimed at finding and solving problems. Our experience with the Ecovars project showed that the traditional management style and project structure failed to commit the three partners to a collective process of problem-finding and problem-solving.

These approaches require a conception of knowledge and learning different from the dominant approach (LEARN-Group 2000, Blackmore 2007). Simply put, this conception, acknowledges:

- that knowledge no longer results exclusively from the academic production of researchers: all stakeholders have a knowledge production activity that may contribute to the formulation and resolution of problems. The aim of these approaches is to combine scientific and layman knowledge, or indeed to allow the co-production of hybrid knowledge.
- the situational and highly contextual character of knowledge. Knowledge, in the theoretical framework of action or situated cognition (*e.g.*, Suchman 1987, Cook and Brown 1999, Gherardi 2006, Orlikowsky 2002), is no longer considered as something stable that is presumably contained in the mind, but as a specific production in action tied to a specific context. Cook and Brown (1999), for example, propose to move from “*the epistemology of possession [...] towards an epistemology of practices*”. Thus, knowledge is always rebuilt in action, through daily practices: “*knowing is practicing*” (Gherardi 2006).

Moving from knowledge transfer to knowledge co-production in restoration projects

The above perspective on participative systems of learning and action challenges the notion of knowledge transfer. Knowledge is usually considered as something that can be transferred from scientists to practitioners provided that a good communication technique is used. However, according to many authors, knowledge is not passed down from scientists to practitioners; practitioners reconstruct knowledge in their daily activities. Cook and Brown (1999) consider “*knowledge as a tool of knowing*” which can be mobilised in the action during which “*we are seeking what we need in order to do what we want to do*”. Orlikowsky (2002) makes the more radical claim that no form of knowledge is transferable. At best, information or data can be transferred. According to this author, “*sharing ‘knowing how’ can be seen as a process of enabling others to learn the practice that entails the ‘knowing how’*. *It is a process of helping others develop the ability to enact -in a variety of contexts and conditions- the knowing in practice*”.

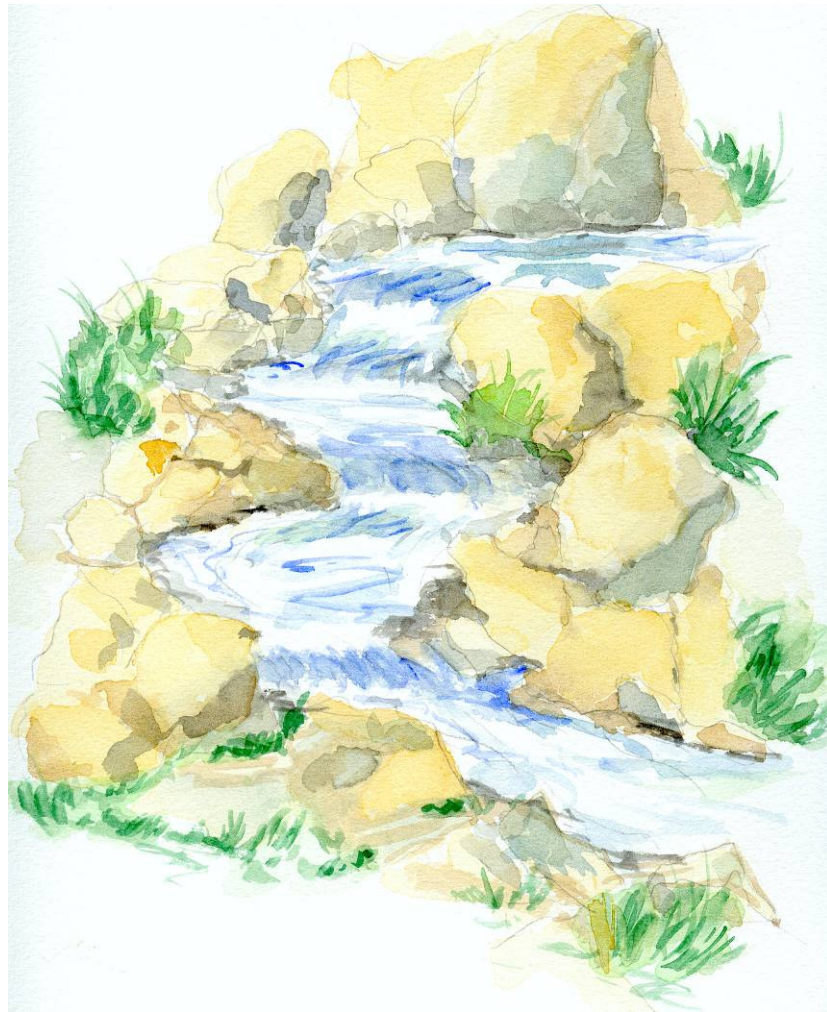
As a consequence, it is important to reconsider the role of researchers within participatory approaches, particularly in terms of knowledge production. It is no longer a question of

knowledge transfer from the researchers to the other participants but a question of knowledge co-production. For example, the lack of relevance of the seed transfer zones designed in the Ecovars project is partly attributable to the fact that they were not co-constructed. The seed transfer zones should not have been designed “in the lab” to be applied or even adapted to the field, but directly co-designed in a process involving at the very least the other participants of the project and at best several other stakeholders. The role of researchers in participatory approaches should not only be to help find and solve technical problems but also to facilitate learning processes among the participants (LEARN-Group 2000).

In return, participatory approaches imply a real involvement of the other participants too. They should abandon the conventional and passive posture that consists in submitting a problem and waiting for a “good to go” solution. So, participatory approaches suppose a profound transformation of the role developed by the organizations dedicated to the transfer of knowledge. The project manager, whether a researcher or not, has to become a coordinator and a facilitator, and go beyond the standard role of leader or boss, encouraging new ways of thinking about problems and collective learning. These transformations are not straightforward and may involve a real collective learning process (LEARN-Group 2000, Steyaert and Ollivier 2007).

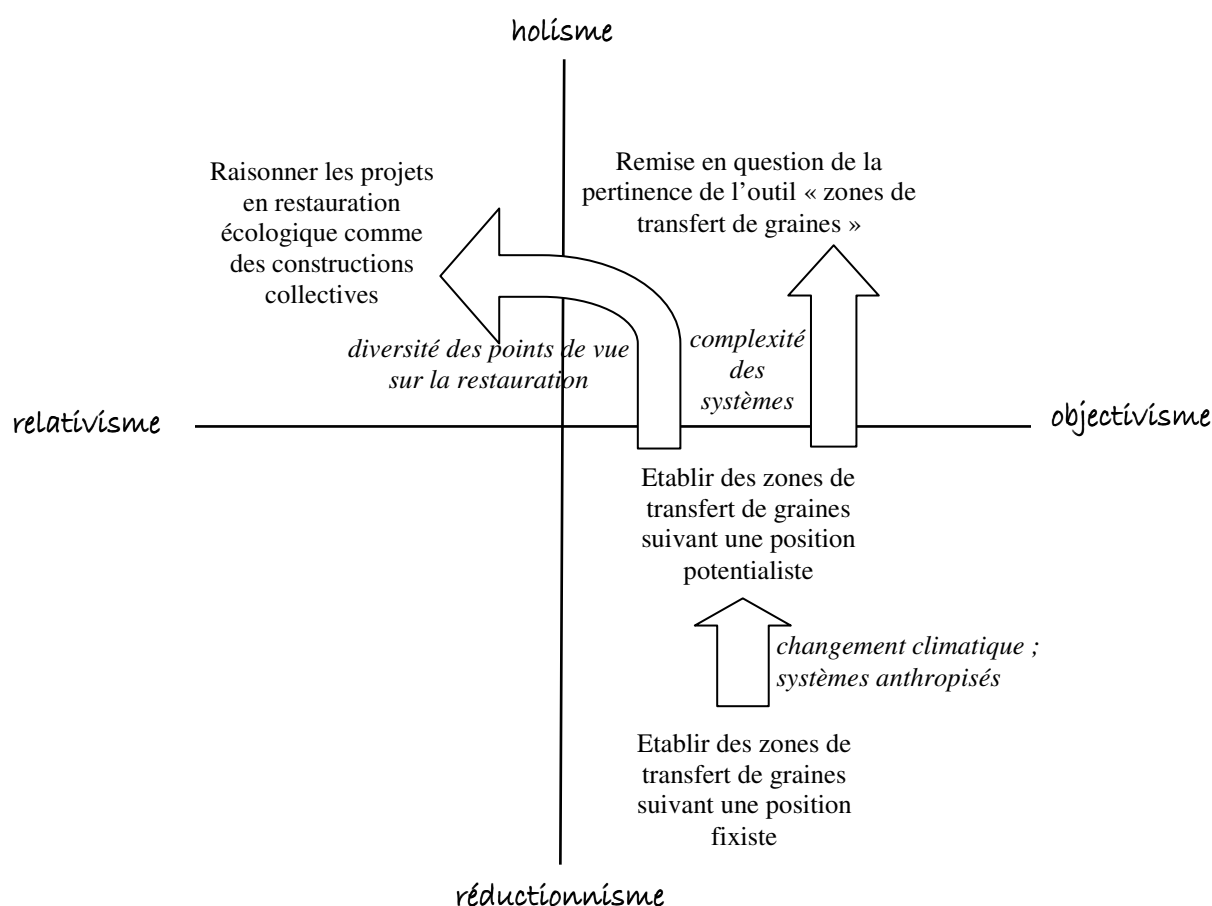
As a conclusion, we would say that if the need for participatory approaches that favour collective and reflexive processes of problem-finding and problem-solving is becoming widely acknowledged in conservation and restoration projects, putting such processes into practice is not only a challenge for the researchers but also for the researchers’ partners. In other words, changing the knowledge production from Mode-1 to Mode-2 (Gibbons et al. 1994), does not only rely on researchers that have to change their research practices but also on the other actors that should enter the participatory process. It supposes a profound transformation of the role of each partner in such projects.

DISCUSSION GENERALE



Torrent de montagne. (G. Turpin)

Encadré 5 : Schéma représentant ma progression au sein des sciences de la conservation depuis une approche classique en biologie évolutive et écologie vers une approche qui vise à produire des connaissances pertinentes pour l'action.



Ce cheminement est situé par rapport à un axe représentant la dimension ontologique (holisme – réductionnisme) et à un axe représentant la dimension épistémologique (objectivisme – relativisme) de mon approche (inspiré de Bawden 1997).

L'axe représentant la dimension ontologique va d'une vision du monde qui reconnaît et prend en compte le caractère irréductible et complexe des choses et des systèmes (holisme) à une vision où la complexité peut être réduite par des décompositions successives des choses ou phénomènes (réductionnisme).

L'axe représentant la dimension épistémologique va d'une vision où les choses ont une réalité permanente et intrinsèque indépendante de leur observateur (objectivisme) à une vision où les choses sont perçues par des sujets interprétants, en fonction de leur expérience personnelle du monde (relativisme).

DISCUSSION GENERALE

L'originalité de cette thèse tient pour partie à sa dimension illustrative. Ma thèse constitue en effet un exemple du cheminement effectué par un biologiste pour traiter de problèmes complexes en sciences de la conservation. Au-delà des résultats scientifiques produits lors de cette étude et présentés dans les chapitres précédents, la démarche que j'ai mise en œuvre est en soi une production originale de mon travail. Si ce type de cheminement a largement été décrit de manière théorique (*e.g.*, Bawden 1997; Hubert 2005), il n'existe toutefois que peu d'exemples pouvant illustrer concrètement ce que suppose une telle démarche dans le domaine des sciences de la conservation. La volonté de produire des connaissances pertinentes pour l'action, mon insertion au cœur du projet Ecovars, la réflexivité que cela a suscité et le choix de mobiliser des méthodes différentes de celles des sciences biologiques sont les quatre composantes qui m'ont progressivement amenée à glisser d'une logique basée sur des référentiels disciplinaires (dans mon cas la biologie évolutive et l'écologie) à une logique plus « holiste » et plus « relativiste » des sciences de la conservation (Encadré 5). Ma discussion est organisée suivant cette progression et en développe différents aspects. Dans un premier temps, je discuterai des limites des zones de transfert de graines établies selon les positions « fixiste » et « potentialiste » existant dans les disciplines biologiques. Ensuite j'examinerai la capacité et la pertinence d'un tel outil pour gérer la diversité génétique dans les projets de restauration. Cela m'amènera à présenter une proposition quant à la manière de raisonner les projets de restauration.

Adopter une position potentialiste pour repenser l'utilisation des zones de transfert de graines dans les milieux anthropisés

Ma thèse devait initialement répondre à un objectif finalisé : établir des zones de transfert de graines permettant de conserver la diversité génétique de *F. eskia* lors de son utilisation pour restaurer les zones alpines pyrénéennes dégradées. Les résultats de ma thèse dans le domaine de l'écologie génétique (articles 1 et 2) suggèrent que l'établissement de ces zones mérite d'être repensé à plusieurs titres.

Nécessité d'arbitrer entre les diversités génétiques neutre et adaptative pour établir des zones de transfert de graines

Contrairement aux hypothèses souvent admises dans les projets de restauration, les patrons des diversités génétiques neutre et adaptative ne concordent pas chez l'espèce que nous avons étudiée dans le cadre du projet Ecovars : *F. eskia*. Comme nous l'avons vu, la structuration génétique neutre sépare *F. eskia* en deux entités bien définies (Est *versus* Ouest) sur le massif Pyrénéen (article 1) alors que l'étude de la structuration génétique adaptative aboutit plutôt à un zonage altitudinal (article 2). Si l'on peut imaginer établir des zones de transfert issues du croisement de ces deux types de structururations (Est *versus* Ouest $\times$ Altitudes), cela suppose un investissement logistique important. En effet, établir des zones de transfert de graines impose en toute rigueur d'avoir un site de production de graines par zone. Si cette solution d'une multiplicité de zones de transfert est possible en théorie, elle reste inaccessible de manière pratique pour des raisons de coûts économiques et d'organisation d'un tel dispositif. En effet, il est difficilement concevable de parvenir à gérer les différences de productivité semencière, de précocité, la traçabilité de la distribution, *etc.* sur de multiples sites de production de graines.

Il n'est donc pas envisageable de maintenir deux positions distinctes quant à la diversité génétique considérée au sein d'un projet comme Ecovars. Il devient nécessaire d'arbitrer entre la position « fixiste » des partisans d'une conservation de la diversité génétique neutre et la position « potentialiste » des partisans d'une prise en compte de la diversité génétique adaptative.

Vers une position potentialiste en restauration écologique

La coexistence de ces deux positions au sein du projet Ecovars et la nécessité d'un choix m'ont amenée à conduire une réflexion sur leur pertinence respective dont il ressort qu'il est préférable d'adopter une position « potentialiste ». Au sens large, adopter une position « fixiste » dans un projet de restauration écologique consiste à considérer les conditions historiques naturelles antérieures à la dégradation comme l'objectif de cette restauration. Cette position traduit une vision statique des systèmes écologiques et une vision linnéenne de la biodiversité selon laquelle les espèces, et, par extension, les populations, sont des catégories constantes de la Nature. Dans cette vision des choses, l'Homme est hors de la Nature. En génétique, ce point de vue se concrétise par une volonté de conserver les grandes lignées généalogiques sans les

mélanger lors des transferts d'organismes destinés à restaurer des populations dégradées. Cela implique l'utilisation de marqueurs génétiques neutres. Ce point de vue est très ancré dans notre civilisation occidentale. Il est issu de la séparation intellectuelle forte que les référentiels occidentaux ont posée entre le naturel et le culturel d'une part, et le rural et l'urbain d'autre part (Milian 2004). Longtemps adoptée par les ONG « environnementalistes » comme l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN), cette conception a fortement influencé les politiques de protection de la nature (Gouyon 2001; Milian 2004). Actuellement, l'évidence d'un changement climatique en cours (IPCC 2007) remet en question cette position pour les projets de restauration (Harris *et al.* 2006). Par exemple, restaurer une forêt dans une zone susceptible d'être inondée par la montée du niveau de la mer n'a pas de sens. La rapidité des changements climatiques a rendu encore plus perceptible le fait que restaurer les systèmes selon une référence historique risque de conduire à des échecs. Malgré ce constat, certains auteurs défendent la conservation des lignées généalogiques existantes en argumentant qu'un panel de populations isolées génétiquement est un réservoir de variabilité génétique qui constitue une assurance face aux changements environnementaux (*e.g.*, Moritz 2002). Cependant, différentes études montrent que le potentiel pour le succès évolutif des espèces est maximisé par le maintien de la diversité génétique adaptative et non par celui de la diversité génétique neutre (Lande & Shannon 1996; Lynch & Ritland 1999; Lynch *et al.* 1999).

Ces différents constats, en particulier l'intensification et l'accélération des changements climatiques, ont récemment renforcé la position « potentialiste » en restauration écologique (*e.g.*, Harris *et al.* 2006; Gregory *et al.* 2006) et, plus largement, en sciences de la conservation. L'objectif de la restauration selon ce point de vue est de construire un système qui puisse s'adapter face à un nouvel environnement. Cette vision des choses s'appuie sur l'étude du potentiel adaptatif qui repose en toute rigueur sur des mesures de traits phénotypiques quantitatifs. Cette position se traduit par une vision darwinienne de la biodiversité où les espèces et les populations sont intrinsèquement diverses, ce qui donne en permanence prise à la sélection naturelle dans une dynamique évolutive. Adopter une position potentialiste va au-delà d'une volonté d'anticiper les changements climatiques, et conduit aussi à reconnaître que les populations évoluent en fonction des conditions, qu'elles n'ont pas de trajectoire évolutive

déterminée. En conséquence, intervenir dans ces populations constitue un élément de leur trajectoire évolutive. Cette position amène donc à assumer une vision plus constructiviste du concept de « nature ». Selon cette vision constructiviste, la « naturalité » est un construit social et n'est pas une réalité en soi. Ainsi, opter pour une position potentialiste suppose de considérer les activités humaines comme des composantes du fonctionnement des écosystèmes à part entière qui doivent, pour pouvoir perdurer, respecter ce fonctionnement.

Dans les zones où s'exercent des activités humaines (comme c'est le cas des zones alpines et subalpines pyrénéennes) et qui n'ont pas comme vocation la seule protection de la Nature, la position potentialiste semble être la seule position tenable par les porteurs de projet de restauration écologique. En effet, s'inscrire dans une position fixiste et vouloir recréer durablement un milieu historique naturel lorsque celui-ci est soumis en permanence à des pressions anthropiques susceptibles de le remanier n'est pas réaliste. Cette remarque prend tout son sens dans la mesure où la restauration écologique est pratiquée la plupart du temps dans des zones qui sont utilisées voire façonnées par l'homme. Inscire Ecovars dans une position « fixiste » n'était donc pas soutenable en dehors des espaces protégés des Pyrénées. Il est probable que le succès d'une restauration écologique dans des zones dominées par les activités humaines dépende de l'adoption d'une position potentialiste.

Certains auteurs distinguent les situations de restauration non pas par le biais du type de zone sur lequel elles sont menées mais suivant leur objectif. Plus précisément, ils distinguent la restauration écologique *sensu stricto* dont l'objectif est de reconstituer un écosystème historique de la « réaffectation » (Le Floc'h & Aronson 1995) lors de laquelle on crée un nouvel écosystème. Ma proposition va au-delà et amène à raisonner la restauration écologique non pas en fonction de son objectif mais en fonction de la zone dans laquelle elle est conduite et du mode de gestion de cette zone. Selon cette proposition la restauration écologique *sensu stricto* n'est clairement pas envisageable dans les écosystèmes qui n'ont pas comme vocation la seule protection de la Nature.

Adopter une position potentialiste pour résoudre le paradoxe du « hands-off » en restauration écologique

L'adoption sans équivoque d'une position potentialiste permettrait de résoudre le paradoxe du « hands-off » propre à la conception fixiste de la restauration écologique (Gobster & Hull 2000). Le « hands-off » est le fait de ne pas reconnaître qu'une opération de restauration écologique est une intervention humaine dans un écosystème qui, même si elle est raisonnée en fonction de préceptes écologiques ou évolutifs, a de grandes chances de ne pas aboutir au milieu « historique » et « naturel » souhaité. Par exemple, la collecte de graines sur une zone pour restaurer une zone voisine peut *a priori* sembler être une solution permettant de reconstituer le milieu naturel historique. Cependant, un avantage involontaire et uniquement lié à l'intervention humaine peut être, par exemple, donné aux plantes dont les graines sont mûres au moment de la récolte. Ces plantes sont involontairement sélectionnées ce qui peut réduire la diversité génétique de la population restaurée au regard de celle de la population source. Le « hands-off » constitue le paradoxe de la conception fixiste de la restauration dans la mesure où la restauration est par définition une pratique interventionniste. Comme adopter une position potentialiste revient à reconnaître qu'intervenir dans une population constitue aussi un élément de sa trajectoire évolutive, cette position résout le paradoxe du « hands-off ».

Nécessité de lever l'ambiguïté liée à l'utilisation de marqueurs neutres pour établir des zones de transfert de graines selon une position potentialiste

Si la position « potentialiste » semble aujourd'hui être assez répandue parmi les chercheurs en génétique de la restauration voire en sciences de la conservation (*e.g.*, Rice & Emery 2003; Harris *et al.* 2006; Gregory *et al.* 2006), l'utilisation préférentielle de marqueurs génétiques neutres pour estimer le potentiel adaptatif maintient une ambiguïté quant à la position adoptée. L'utilisation de marqueurs neutres pour estimer le potentiel adaptatif se base sur un présupposé selon lequel les patrons de diversité génétique neutre et adaptative sont souvent congruents (notamment lorsque l'isolement des populations et l'adaptation différentielle qui peut en résulter sont simultanés). De nombreuses études se réclamant d'une position potentialiste s'appuient sur ce présupposé pour établir des zones de transfert de graines. Cependant, si ce présupposé est souvent vérifié pour des espèces composées de petites populations isolées, il est

loin de l'être systématiquement pour les espèces plus abondantes comme dans le cas de *F. eskia* (Merila & Crnokrak 2001; Leinonen *et al.* 2008). La préférence pour les méthodes de génétique neutre vient certainement du fait qu'elles permettent des tests rapides et sur un grand nombre d'individus simultanément, contrairement aux méthodes de génétique adaptative (Crandall *et al.* 2000; McKay & Latta 2002). Par conséquent, l'utilisation inadéquate de marqueurs génétiques neutres pour estimer un potentiel adaptatif engendre généralement un amalgame des positions « fixiste » et « potentialiste ».

Nécessité de politiques publiques plus transparentes quant à la position qu'elles soutiennent

Malgré les éléments en faveur de la position potentialiste, les milieux militant pour la conservation de la nature semblent maintenir une position fixiste (Gregory *et al.* 2006). On retrouve aussi cette position fixiste dans les politiques publiques de conservation et de restauration (Gregory *et al.* 2006). Les politiques qui soutiennent des projets ayant pour objectif de restaurer le milieu historique naturel y compris sur des zones dominées par les activités humaines sont très répandues. Cette remarque soulève le problème du cadrage des politiques publiques par des paradigmes écologiques dans des conditions où les acteurs de la sphère politique n'ayant pas toujours entièrement connaissance des valeurs sous-jacentes et des alternatives existantes n'ont pu arbitrer délibérément entre différents courants de pensée en écologie (Milian 2004 ; Steyaert & Ollivier 2007).

Remise en question de l'outil zone de transfert de graines pour gérer la diversité génétique

A l'issue de ces considérations, il semble préférable de choisir la diversité génétique adaptative pour établir des zones de transfert de graines. Toutefois, notre travail remet en question la pertinence même de l'outil « zone de transfert de graines » pour gérer la diversité génétique en restauration, et ceci à double titre.

D'une part, l'adoption de la position potentialiste conduit à prendre en compte les interactions des facteurs écologiques et anthropiques avec la diversité génétique adaptative dans une

approche plus « holiste » (Encadré 5). Elle invite donc à intégrer la complexité des systèmes que l'on souhaite restaurer dans l'établissement des zones de transfert de graines. Toutefois, cette complexité rend le dessin des contours des zones de transfert impossible. En effet, les interactions des nombreux facteurs qui entrent en jeu de manière complexe avec la diversité génétique adaptative semblent inextricables. L'exemple de l'endophyte présent chez *F. eskia* dans le cas d'Ecovars illustre bien cette complexité. Tout d'abord, initialement nous n'imaginions pas découvrir un tel patron d'endophytisme sur le massif pyrénéen, or, cet endophyte pourrait avoir des effets sur l'adaptation des plantes à la sécheresse et au pâturage et doit à ce titre être pris en compte pour gérer la diversité génétique adaptative de *F. eskia*. La complexité croissante des connaissances concernant la composition et le fonctionnement des systèmes écologiques sont une première limite à l'établissement de zones de transfert intégrant la complexité du système. Ensuite, l'infection d'une plante hôte par un endophyte peut dans certaines conditions accroître sa production de graines. Cela pourrait involontairement favoriser les génotypes infectés lors des étapes de collecte ou de production de semences. Cette sélection involontaire peut, par contre, compromettre la réussite de la restauration de zones très pâturées dans la mesure où l'endophyte s'est parfois révélé être toxique pour le bétail (encadré 4). Dans ces conditions, il ne semble pas réaliste de vouloir établir des zones de transfert de graines qui puissent concilier exhaustivement l'ensemble de ces éléments.

D'autre part, dans le cas de *F. eskia*, l'établissement de zones de transfert est d'autant plus remis en cause que, comme nous l'avons vu dans l'article 2, la sélection naturelle maintient une diversité génétique adaptative malgré des flux de gènes importants entre altitudes. Cela laisse penser que les transferts de graines (qui correspondent à un flux de gènes) ont peu de risques de diminuer la diversité génétique adaptative de *F. eskia* et donc son potentiel adaptatif. Pour en juger réellement, nous pourrions tester si l'introduction de génotypes génétiquement éloignés dans une population donnée se traduit par une dépression outbreeding⁵. Néanmoins, à la lumière de nos résultats, l'établissement de zones de transfert me semble, dans notre cas précis, peu pertinent. Plus largement, la définition de zones de transfert de graines destinées à la

⁵ La dépression outbreeding ou dépression d'hybridation correspond aux cas où les descendants d'un croisement entre individus de deux populations différentes ont une fitness inférieure à la descendance issue du croisement entre des individus d'une même population.

restauration est à mon sens une transposition pour la restauration d'un outil initialement destiné à la conservation d'espèces rares et menacées aux populations isolées : les ESU (evolutionary significant units) (Moritz 1994; Crandall *et al.* 2000; Moritz 2002). Cependant, les caractéristiques génétiques des populations d'espèces communes comme *F. eskia* ne sont pas comparables aux caractéristiques d'espèces dont les populations sont petites et isolées.

Si l'établissement de zones de transfert de graines paraît *a posteriori* être un outil peu pertinent dans notre cas pour gérer la diversité génétique, cela ne remet pas en cause la nécessité de gérer la diversité génétique adaptative. En effet, dans l'objectif d'une restauration durable, il peut être indispensable de mobiliser la diversité génétique adaptative. Par exemple, restaurer durablement les zones alpines et sub-alpines pâturées suppose d'utiliser parmi des génotypes adaptés aux conditions abiotiques locales des génotypes montrant des adaptations au pâturage. Cela permettrait à la fois de limiter les risques génétiques, les risques d'échec technique de l'opération de restauration et le maintien des usages anthropiques habituels. C'est la mise en évidence et le maintien d'une diversité de pressions de sélection, y compris anthropiques, qui peuvent permettre de maintenir et gérer la diversité génétique adaptative. Par exemple, le maintien de zones soumises à des usages différents (*e.g.*, pâturées *versus* non pâturées) peut permettre de maintenir une diversité génétique adaptative.

Nécessité d'une approche plus « relativiste » des projets en restauration écologique

Prendre en compte une diversité de points de vue dans les projets de restauration

Se focaliser uniquement sur le matériel végétal et sa diversité génétique, comme c'est souvent le cas dans les projets de restauration écologique, peut compromettre la durabilité de la restauration et même sa réalisation. C'est ce que j'ai découvert au cours des entretiens que j'ai réalisés à propos du matériel végétal utilisé en restauration écologique. L'exemple de la restauration qui a eu lieu sur le site du pla Guillem (article 3) illustre tout à fait ce constat : si une attention particulière est portée initialement à la gestion de la diversité génétique (on n'utilise que des écotypes locaux), il apparaît au fil des opérations de restauration que le problème est

beaucoup plus général qu'un problème de matériel végétal utilisé pour restaurer. Il s'agit d'un problème plus global de gestion de l'espace. Par conséquent, sur le Pla Guillem, les gestionnaires du site ont du trouver un accord avec les utilisateurs du site (notamment les éleveurs) pour pouvoir réaliser une restauration durable. Ainsi, la question de la gestion de la diversité génétique ne peut pas se poser indépendamment de la question plus générale de la réalisation d'opérations de restauration, tout au moins pour des espaces qui ne sont pas destinés à la seule conservation de la nature.

Plus généralement, comme nous l'avons vu (*cf* article 4), concevoir les projets de restauration écologique en s'appuyant uniquement sur un point de vue semble induire le risque d'un échec lié à une formulation trop réductionniste du problème. Au-delà de l'adoption d'une position potentialiste se traduisant généralement dans le point de vue d'un biologiste, il semble nécessaire de prendre en compte une diversité de points de vue dans les projets de restauration écologique *i.e.* d'adopter une approche plus « relativiste » (Encadré 5). Cette remarque prend tout son sens quand on sait qu'une grande majorité des projets de restauration sont basés sur des objectifs issus des sciences écologiques comme le maintien de la diversité génétique intraspécifique dans le cas d'Ecovars. Dans une approche plus « relativiste », le projet Ecovars aurait pu se développer autour d'une volonté d'intégrer la restauration dans une gestion plus globale du territoire (article 3) plutôt qu'autour de la seule volonté de préserver la flore locale utilisée. Cette perspective n'aurait pas écarté la question de la gestion de la diversité génétique en restauration mais aurait permis de la repositionner parmi d'autres questions comme celle du pâturage dans les zones restaurées, par exemple.

Raisonner les projets en restauration écologique comme des constructions collectives

Ces considérations m'amènent à proposer de raisonner les projets de restauration comme des constructions collectives et locales, c'est-à-dire de définir de manière concertée et située le problème de restauration et les solutions pour le résoudre. Cela signifie concrètement la nécessité d'une discussion entre les différents points de vue existants (par exemple au sein de groupes de travail) et la recherche collective de solutions satisfaisantes pour les différentes parties prenantes (ce sont elles, qui après discussion, font collectivement des choix).

L'intégration de la restauration à une gestion plus globale du territoire, dans la mesure où cette gestion est concertée, constitue la traduction concrète de cette proposition (article 3).

Cette proposition a des implications à différents niveaux.

Tout d'abord, comme nous l'avons vu (article 3), une telle intégration suppose d'articuler la restauration aux autres usages du territoire, de considérer les situations de restauration comme des situations construites par les différents acteurs en présence, et, de considérer la restauration autant comme un processus organisationnel que comme un processus biotechnique. Dans cette perspective, le territoire concerné par une opération de restauration n'est pas donné par les porteurs des projets de restauration, mais il se définit progressivement en fonction des acteurs en présence. Cette façon d'aborder le territoire concerné par la restauration est innovante en restauration : celui-ci est en effet généralement prédéfini par les « restaurationnistes », en fonction de leurs seules préoccupations, même lorsque les acteurs locaux participent à la démarche (*e.g.*, Hagen *et al.* 2002).

Par ailleurs, comme évoqué dans l'article 3, cette proposition remet en cause l'idée d'une restauration comme un processus technique réservé à des d'experts de la manipulation des processus écologiques. L'idée d'une telle professionnalisation de la restauration est pourtant souvent présentée comme un moyen de limiter les échecs en restauration écologique (voir Helford 2000; Light 2000). Si savoir manipuler des systèmes écologiques est indispensable pour instruire les questions de restauration, cela ne suffit pas, de mon point de vue, au succès d'une opération de restauration. Ceci rejoint le propos de Light and Higgs (1996) sur l'importance qu'il y a à prendre en compte « *the social and political context into which restoration is moving* » : comme ils le montrent dans leurs travaux, la restauration ne peut pas se contenter d'être un processus technique uniquement mené par des experts. En revanche, on peut imaginer des professionnels de la restauration qui auraient à la fois des compétences en ingénierie écologique associées à des compétences en animation et conduite de projet. Au-delà de leurs connaissances des processus écologiques ou biotechniques, ils pourraient aussi mobiliser des savoir-faire leur permettant d'initier des interactions entre acteurs, de favoriser l'échange de connaissances et l'élaboration de solutions pertinentes face aux problèmes complexes de la restauration. Assumer

un rôle d'expert et d'animateur d'une opération n'est cependant pas aisé et peut induire un biais dans les interventions de la personne en charge de ces fonctions (Couix 1993). Les professionnels de la restauration peuvent alors avoir intérêt à mobiliser les agents de développement (agents des collectivités locales, agents de Parcs Naturels Régionaux, chargés de mission d'une Agence Régionale Pour l'Environnement, *etc.*) intervenant localement, lorsqu'il y en a.

Enfin, suivant cette proposition, sur des territoires qui n'ont pas comme seule vocation la protection de la Nature, la position fixiste, par le fait même qu'elle sépare l'Homme de la Nature, paraît très difficilement tenable dans un processus de concertation. En effet, de manière purement rationnelle, l'idée même d'une concertation concernant la gestion d'un objet « naturel » n'est pas envisageable suivant la position fixiste.

Cette proposition présente cependant aussi certaines limites.

Tout d'abord, la prise en compte de points de vue différents de celui des « environnementalistes » pourrait aboutir à des solutions qui privilégient, par exemple, un développement économique « sauvage » au détriment de la protection de l'environnement (voir Peterson *et al.* 2005). De mon point de vue, une telle issue, s'il elle résulte d'une recherche collective de solutions satisfaisantes pour tous, est avant tout une prise de responsabilité collective plutôt qu'une légitimation de dégradations environnementales. Cela est d'autant plus vrai qu'on peut considérer que chercher des solutions « écologiques » en aval des dégradations, comme, par exemple, produire des graines de plantes locales pour restaurer les terrains dégradés par des aménagements touristiques comme dans le cas du projet Ecovars, légitime de telles dégradations.

Par ailleurs, la formulation collective d'un problème et l'élaboration d'une solution partagée ne sont pas évidentes. Partager des connaissances, élaborer collectivement des solutions, trouver des compromis au-delà d'une convergence temporaire d'intérêts dans le cadre d'un partenariat, n'est pas forcément simple. De nombreux travaux de recherche en sciences des organisations ou encore en sciences cognitives, notamment sur les situations de conception collective mais pas seulement, traitent de ces questions et pourraient être mobilisés en sciences de la conservation

en dehors de certaines situations d'urgence (*e.g.*, la disparition d'une espèce clef). La mise en œuvre d'une telle démarche concertée peut parfois être limitée par des blocages liés au contexte social, politique ou encore administratif ou par la difficulté que représente l'apprentissage d'une nouvelle pratique (*e.g.*, Albaladejo & Veiga 1997; Billé *et al.* 2006; Méral *et al.* 2008). Toutefois, de nombreuses expériences ayant fait appel à des démarches participatives dans des domaines comme le développement rural ou la gestion des ressources naturelles ont montré que la co-construction de connaissances grâce à des démarches participatives était une piste d'investigation prometteuse (*e.g.*, Pretty 1995 ; LEARN-group 2000; Méral *et al.* 2008).

Changer la façon de produire de connaissances en restauration écologique

Cette proposition, nous l'avons vu, impose une transformation dans la façon de poser et de résoudre les problèmes de restauration. Cette transformation implique un changement de démarche et d'organisation au sein de projets de restauration comme Ecovars, ainsi qu'un changement de posture des différents acteurs concernés, y compris des chercheurs.

Au sein du projet Ecovars, nous ne sommes pas parvenus collectivement à mettre en place une démarche qui nous permette de réagir de manière acceptable pour tous les partenaires face aux transformations du problème (par exemple l'inadéquation des espèces initialement choisies, *cf* article 4). L'adoption d'une démarche suivant laquelle la formulation du problème et l'établissement des solutions se font collectivement nous aurait permis de réajuster le projet au fur et à mesure des difficultés. C'est probablement parce qu'une telle démarche supposait de redéfinir l'ensemble du projet et de ses objectifs que nos partenaires ont refusé de l'adopter, notamment parce que cela aurait été mal compris par les financeurs. En effet, le mode de financement linéaire d'un projet comme Ecovars, défini tâche par tâche, n'autorisait que très peu d'écarts vis-à-vis de ce qui était initialement prévu. C'est cependant ce type de démarche que j'ai mis en œuvre pour parvenir à réaliser mon projet de recherche, en m'attachant à intégrer au fil de mon travail des éléments qui initialement apparaissaient comme des éléments de contexte et qui se sont révélés être des éléments essentiels (encadré 3). Par exemple, la recherche d'un champignon endophyte (chapitre 1) ou encore les entretiens auprès des acteurs (chapitre 3), s'ils peuvent *a priori* paraître hors des objectifs fixés initialement pour la mission « recherche » du projet (établir des zones de transfert de graines) se révèlent *in fine* constituer

des éléments essentiels pour appréhender la complexité des situations rencontrées et redéfinir les problèmes. Cette démarche aurait pu être transposée à l'ensemble du projet Ecovars et aurait probablement permis de réorienter ce projet chemin faisant. Par exemple, les résultats des entretiens (article 3) auraient pu être mobilisés (ce qui n'a pas été le cas) pour composer le groupe de discussion initialement prévu (*cf* chapitre 3) et aborder les situations de restauration autrement que par le strict biais de problématiques écologiques. Cela aurait probablement permis d'élaborer, avec quelques unes des autres parties prenantes, des solutions plus adaptées localement. De la même façon, comme nous l'avons vu dans l'article 4, repenser collectivement le choix des espèces destinées à la restauration aurait permis d'établir des critères de choix pertinents au regard de la production de graines (*e.g.*, Krautzer *et al.* 2007) ou encore du pâturage. Au-delà, une interaction plus effective entre les différents acteurs concernés par la restauration de sites dégradés tels des pistes de ski aurait éventuellement permis de reposer complètement le problème (*cf* article 4). A l'origine de ce problème se trouvent en effet les stations de ski dont les aménagements sont particulièrement dégradants d'un point de vue écologique et paysager. Dans une perspective de durabilité, la solution aux problèmes de restauration ne peut-elle pas être de repenser l'aménagement et la gestion des pistes de ski pour qu'ils soient plus compatibles avec leur restauration ? En d'autres termes, il s'agirait de parvenir à une réelle réflexivité collective qui semble indispensable pour accéder à une restauration durable.

Comme nous l'avons vu dans l'article 4, inscrire un projet dans une telle démarche suppose que le mode de collaboration entre les différents acteurs concernés favorise l'élaboration d'une formulation partagée d'un problème et la conception collective de solutions pour le résoudre. Ce mode de collaboration suppose de reconnaître que tous les acteurs concernés ont une activité de production de connaissances et peuvent contribuer à la formulation et à la résolution du problème : la production de connaissances pour formuler et résoudre le problème n'est plus réservée à l'activité scientifique mais est issue d'un dialogue entre connaissances « scientifiques » et « profanes » afin de les combiner ou encore de permettre une co-production de connaissances (*cf* article 4). Ainsi, mettre en œuvre ce type de démarche collective implique que les différentes parties prenantes changent de posture. Concernant le projet Ecovars, il n'aurait plus été question

pour les membres du projet d'établir des normes et de prescrire des recommandations concernant l'utilisation de semences pour restaurer (comme les zones de transfert de graines) en se basant uniquement sur des résultats en écologie, mais d'apprendre à être plus réflexif et à associer d'autres points de vue pour reconstruire le problème et ses solutions.

Ce changement de posture en ce qui concerne plus précisément les biologistes chercheurs en sciences de la conservation suppose très concrètement de définir des questions et protocoles de recherche en cohérence avec le problème formulé collectivement. Dans le cas des recherches menées au sein du projet Ecovars, il faudrait par exemple intégrer la nécessité de prendre en considération les activités d'élevage dans la façon de raisonner les opérations de restauration menées sur les stations de ski. En effet, nous avons vu que prendre en compte les circuits de pâturage dans un territoire donné en associant étroitement les éleveurs permettrait à court terme de limiter les échecs techniques liés à la présence d'un troupeau sur les espaces récemment restaurés et à long terme d'entretenir un couvert ras permettant de maintenir la neige comme le souhaite les gérants de stations de ski. Ainsi, l'étude de l'adaptation au pâturage des plantes utilisées pourraient permettre d'utiliser des plantes plus appétantes dans les zones restaurées où l'on souhaite un couvert ras (donc pâturé). Par ailleurs, une étude du rôle de l'endophyte dans l'adaptation de *F. eskia* au pâturage serait à envisager puisque la présence d'un endophyte est souvent associée à la production d'alcaloïdes dans la plante potentiellement toxiques pour les herbivores. Au-delà, il pourrait aussi s'agir de proposer des solutions qui ne nécessitent pas forcément l'utilisation d'espèces locales. Une telle solution par exemple pourrait consister à semer un couvert transitoire composé d'écotypes exogènes non pérennes qui permettrait dans certaines conditions le maintien du sol dans l'attente d'une recolonisation par la flore locale (*e.g.*, Dinger 2002).

L'ensemble de ce travail donne ainsi à voir ce qu'une pratique des sciences de la conservation avec pour enjeu de produire des connaissances pertinentes pour l'action suppose comme cheminement. Celui-ci se traduit par une progression depuis une conception des sciences de la conservation basée sur les disciplines biologiques jusqu'à une conception plus holiste et plus relativiste qui intègre d'autres façons de voir les choses.

De mon point de vue, cette progression est loin d'être évidente pour les chercheurs en biologie car elle demande d'abandonner certains repères et induit un certain inconfort intellectuel. En effet, parvenir à développer une démarche de type *problem-finding* suppose de remettre en question les hypothèses, les objectifs et même les objets de recherche établis initialement. Il s'agit en quelque sorte d'avancer en tâtonnant. En débutant ce travail de thèse, changer d'objectif, de question de recherche, d'objet de recherche en cours de route du fait d'éléments que je considérais comme contextuels était pour moi difficilement concevable et relevait plutôt d'un constat d'échec. Ma formation en sciences biologiques ne m'avait pas préparée à ce type de démarche dans lequel on construit plus ou moins conjointement le problème et les solutions *i.e.* on choisi des directions sans totalement maîtriser la destination ! Cependant, l'appropriation, toute relative, de concepts et de méthodes des sciences de gestion, associée à l'apprentissage d'une attitude « compréhensive » lors des entretiens avec des acteurs de terrain m'a conduite à progressivement redessiner les contours de mon objet de recherche. Au-delà, c'est grâce à la collaboration scientifique interdisciplinaire dans laquelle s'est déroulée ma thèse que j'ai pu construire ce cheminement. Au-delà d'un changement de démarche, la nécessité d'explicitier au sein de cette collaboration les raisons du choix de tel ou tel objet ou question de recherche m'a amenée à prendre du recul vis-à-vis de mon système de valeurs initialement très ancré dans des conceptions « environnementalistes ». Ce recul vis-à-vis de mes valeurs et de la forme que leur prisme donne au problème (et aux questions de recherche) m'a permis de reconsidérer ce problème au point même d'envisager que tel qu'il était initialement posé, il n'avait peut-être plus lieu d'être et pouvait être déplacé vers d'autres questions comme nous l'avons vu dans cette discussion. C'est de mon point de vue cette prise de recul qui fait essentiellement défaut aux biologistes pour faire des sciences de la conservation de vraies sciences pour l'action. Cela ne s'improvise pas et nécessite un apprentissage qui pourrait être une des finalités de l'enseignement et de la pratique des sciences de la conservation.

BIBLIOGRAPHIE



Brebis basco-béarnaise. (G. Turpin)

BIBLIOGRAPHIE

- Ahlholm, J.U., Helander, M., Lehtimäki, S., Wali, P. & Saikkonen, K. (2002) Vertically transmitted fungal endophytes: different responses of host-parasite systems to environmental conditions. *Oikos*, 99, p.173-183.
- Albaladejo, C., Veiga, I. (1997) La gestion concertée des ressources au niveau local en Amazonie Orientale : une utopie nécessaire ? Seminario Internacional « Aconstrução local do terrotorio na Amazônia Oriental » 19-21 mars 1997. Marabá, PA, Brasil.
- Barbault, R. (2000) Recherche fondamentale et pratiques de conservation: un dialogue indispensable. *Revue d'Ecologie, Supp.* 7, p.11-17.
- Baudière, A., Geslot, A., Chiglione, C. & Negre, R. (1973) La pelouse à *Festuca eskia* en Pyrénées centrales et orientales: esquisse taxinomique et écologique. *Acta Botanica Academia Scientiarum Hungarica*, 19, p.23-35.
- Bawden, R. (1997) Learning to persist. A systemic view of development. Pages 1-5 in F.A. Stowell, J. Holloway, and R.I. Ison, editors. *Systems for sustainability*. Plenum Publishing Corporation, New York, NY, USA.
- Bawden, R. (1997) The community challenge: the learning response. Invited plenary paper: 29th Annual international meeting of the community development society. 27-7-1997. Athens, Georgia, USA.
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N. & Bonhomme, F. (2001) GENETIX 4.03, logiciel sous WindowsTM pour la génétique des populations. Montpellier, France, Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université Montpellier II.
- Beniston, M. (2003) Climatic change in mountain regions: A review of possible impacts. *Climatic change*, 59, p.5-31.
- Billé, R., Mermet, L., Berlan-Darqué, M., Berny, N. & Emerit, A. (2006) Concertation, décision et environnement. Regards croisés. Volume IV. La Documentation Française, collection "L'environnement en débat".
- Blackmore, C. (2007). What kinds of knowledge, knowing and learning are required for addressing resource dilemmas: a theoretical overview. *Environmental Science and Policy*, 10(6), p.512-525.
- Byars, S.G., Papst, W. & Hoffmann, A.A. (2007) Local adaptation and cogradient selection in the alpine plant, *Poa hiemata*, along a narrow altitudinal gradient. *Evolution*, 61, p.2925-2941.
- Cabin, R.J. (2007) Science-driven restoration: A square grid on a round earth? *Restoration Ecology*, 15, p.1-7.
- Cairns, J.J. (1995) Ecosocietal restoration. Reestablishing humanity's relationship with natural systems. *Environment*, 37, p.4-33.
- Campbell, A. (1998) Fomenting synergy: experiences with facilitating Landcare in Australia. Pages 232-249 in Röling, N. and M.A.E. Wagemakers editors. *Social learning for sustainable agriculture*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Cavalli-Sforza, L. & Edwards, A. (1967) Phylogenetic analysis : models and estimation procedures. *Evolution*, 32, p.550-570.
- Chan, K.M.A., Pringle, R.M., Ranganathan, J., Boggs, C.L., Chan, Y.L., Ehrlich, P.R., Haff, P.K., Heller, N.E., Al Krafaji, K. & Macmynowski, D.P. (2007) When agendas collide: Human welfare and biological conservation. *Conservation Biology*, 21, p.59-68.
- Chapin, F.S., Autumn, K. & Pugnaire, F.I. (1993) Evolution of suites of traits in response to environmental stress. *The American Naturalist*, 142, p.S78-S92.
- Choi, Y. D. (2007) Restoration ecology to the future: a call for a new paradigm. *Restoration Ecology*, 15(2), p.351-353.
- Clausen, J., Keck, D. & Hiesey, W. (1941) Experimental studies on the nature of species. 1. Effect of varied environments on Western North-American plants. *American Naturalist*, 75, p.74-79.
- Clay, K. & Holah, J. (1999) Fungal Endophyte Symbiosis and Plant Diversity in Successional Fields. *Science*, 285, p.1742.
- Conover, D.O. & Schultz, E.T. (1995) Phenotypic Similarity and the Evolutionary Significance of Countergradient Variation. *Trends in Ecology & Evolution*, 10, p.248-252.
- Cook, S.D.N. & Brown, J.S. (1999) Bridging epistemologies: the generative dance between organizational knowledge and organizational knowing. *Organization Science*, 10(4), p.381-400.
- Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., ter Steege, H., Morgan, H.D., van der Heijden, M.G.A., Pausas, J.G. & Poorter, H. (2003) A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 51, p.335-380.
- Couix, N. (1993) Contributions à une ingénierie de projets d'aménagement de l'espace en milieu rural. Contribution théorique et méthodologique ; deux études de cas. Thèse de Doctorat. Université d'Aix Marseille.
- Couix, N. (2002) Concerted approach to land-use management: developing common working procedures. A Cevennes case study (France). *Land Use Policy*, 19(1), p.75-90.
- Crandall, K.A., Bininda-Emonds, O.R.P., Mace, G.M. & Wayne, R.K. (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 15, p.290-295.
- Curtin, C. (2002) Integration of science and community-based conservation in the Mexico/U.S. borderlands. *Conservation Biology*, 16, p.880-886.
- Darré, J.P., Mathieu, A. & Lasseur, J. (2004) Le sens des pratiques. Conceptions d'agriculteurs et modèles d'agronomes. INRA, Paris.
- David, A. (2004) Etude de cas et généralisation scientifique en sciences de gestion. XIII Conférence de l'Association Internationale de Management Stratégique, 2-20. 2004. Le Havre, France.
- Dewey, J. (1938) The theory of inquiry. Henry Holt and Company. New York, USA.
- Dinger, F. (2002). La reconquête des pistes de ski par des espèces natives *Comptes rendus de l'Académie d'agriculture de France*, 88 (6), p.49-57.

- Eckhart, V.M., Geber, M.A. & McGuire, C.M. (2004) Experimental studies of adaptation in *Clarkia xantiana*. I. Sources of trait variation across a subspecies border. *Evolution*, 58, p.59-70.
- ElMousadik, A. & Petit, R.J. (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L) Skeels] endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics*, 92, p.832-839.
- Emery, R.J.N., Chinnappa, C.C. & Chmielewski, J.G. (1994) Specialization, plant strategies, and phenotypic plasticity in populations of *Stellaria longipes* along an elevational gradient. *International Journal of Plant Sciences*, 155, p.203-219.
- Etterson, J.R. (2004) Evolutionary potential of *Chamaecrista fasciculata* in relation to climate change. 1. Clinal patterns of selection along an environmental gradient in the great plains. *Evolution*, 58, p.1446-1458.
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, p.47-50.
- Faeth, S. (2002) Are endophytic fungi defensive plant mutualists? *Oikos*, 98, p.25-36.
- Faeth, S.H., Helander, M.L. & Saikkonen, K.T. (2004) Asexual *Neotyphodium* endophytes in a native grass reduce competitive abilities. *Ecology Letters*, 7, p.304-313.
- Felsenstein, J. (1993) PHYLIP: Phylogenetic inference package. . Seattle, USA, University of Washington.
- Finlayson, C.M. (2001) Views from divergent stakeholders on the Macquarie-Cudgegong River Management Committee. *Ecological Management and Restoration*, 2, p.87-98.
- Gao, L.Z. (2005) Microsatellite variation within and among populations of *Oryza officinalis* (Poaceae), an endangered wild rice from China. *Molecular Ecology*, 14, p.4287-4297.
- Gauthier, P., Lumaret, R. & Bédécarrats, A. (1998) Ecotype differentiation and coexistence of two parapatric tetraploid subspecies of cocksfoot (*Dactylis glomerata*) in the Alps. *New Phytologist*, 139, p.741-750.
- Geist, C. & Glatowitsch, S.M. (1999) Reciprocal model for meeting ecological and human needs in restoration projects. *Conservation Biology*, 13, p.970-979.
- Gherardi, S. (2006) Organizational knowledge. The texture of workplace learning. Blackwell Publishing, London, UK.
- Gibbons, M., Limoges, C., Nowotny, H., Schwartzman, S., Scott, P. & Trow, M. (1994) The New Production of Knowledge: The Dynamics of Science and Research in Contemporary Societies. Sage, London, UK.
- Gobster, P.H. & Hull, R.B. (1999) The restoration and management of nature. A conference and forthcoming book explore restoration from the perspectives of the social sciences and humanities. *Ecological Restoration*, 17, p.44-51.
- Gobster, P.H. & Hull, R.B. (2000) Restoring Nature. Perspectives from the Social Sciences and Humanities. Island press, Washington, DC, USA.

- Godelle,B., Austerlitz,F., Brachet,S., Colas,B., Cuguen,J., Gandon,S., Gouyon,P.H., Lefranc,M., Olivieri,I., Reboud,X. & Renaud,V. (1998) Système génétique, polymorphisme neutre et sélectionné : implications en biologie de la conservation. *Genetique Selection Evolution*, 30, p.15-28.
- Goudet,J. (1995) FSTAT: a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 6, p.1123-1132.
- Gouyon,P.H. (2001) Les harmonies de la Nature à l'épreuve de la biologie. Evolution et biodiversité. INRA Edition, Paris, France.
- Gregory,A., Burke,T., Ferris,R., Robson,J., Smithers,R., & Whitlock,R. (2006) The conservation of genetic diversity: Science and policy needs in a changing world. JNCC Report n°383.
- Grime,J.P. (1977) Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist*, 111, p.1169-1194.
- Hagen,D., Aasetre,J. & Emmelin,L. (2002) Communicative approaches to restoration ecology: a case study from Dovre Mountain and Svalbard, Norway. *Landscape Research*, 27, p.359-380.
- Harris,J.A., Hobbs,R.J., Higgs,E. & Aronson,J. (2006) Ecological Restoration and Global Climate Change. *Restoration Ecology*, 14, p.170-176.
- Hassel,K., Pedersen,B. & Soderstrom,L. (2005) Changes in life-history traits in an expanding moss species: phenotypic plasticity or genetic differentiation? A reciprocal transplantation experiment with *Pogonatum dentatum*. *Ecography*, 28, p.71-80.
- Helford,R.M. (2000) Constructing nature as constructing science: expertise, activist science and public conflict in the Chicago wilderness. pp. 119-142 in Gobster,P.H. & Hull,R.B. Restoring nature. Perspectives from the social sciences and humanities. Island Press, Washington, USA.
- Hesse,U., Schoberlein,W., Wittenmayer,L., Forster,K., Warnstorff,K., Diepenbrock,W. & Merbach,W. (2003) Effects of *Neotyphodium* endophytes on growth, reproduction and drought-stress tolerance of three *Lolium perenne* L. genotypes. *Grass and Forage Science*, 58, p.407-415.
- Hesse,U., Schoberlein,W., Wittenmayer,L., Forster,K., Warnstorff,K., Diepenbrock,W. & Merbach,W. (2005) Influence of water supply and endophyte infection (*Neotyphodium* spp.) on vegetative and reproductive growth of two *Lolium perenne* L. genotypes. *European Journal of Agronomy*, 22, p.45-54.
- Hessels,L.K. & Van Lente,H. (2008) Re-thinking new knowledge production: A literature review and a research agenda. *Research Policy*, 37(4), p.740-760.
- Hiatt,E.E., Hill,N.S., Bouton,J.H. & Stuedemann,J.A. (1999) Tall fescue endophyte detection: Commercial immunoblot test kit compared with microscopic analysis. *Crop Science*, 39, p.796-799.
- Higgs,E. (2005) The two-culture problem: Ecological restoration and the integration of knowledge. *Restoration Ecology*, 13, p.159-164.
- Higgs,E.S. (1997) What is good ecological restoration? *Conservation Biology*, 11, p.338-348.
- Hirao,A.S. & Kudo,G. (2004) Landscape genetics of alpine-snowbed plants: comparisons along geographic and snowmelt gradients. *Heredity*, 93, p.290-298.
- Hovenden,M.J. & Vander Schoor,J.K. (2004) Nature vs nurture in the leaf morphology of Southern beech, *Nothofagus cunninghamii* (Nothofagaceae). *New Phytologist*, 161, p.585-594.

- Hubert,B. (2005) L'interdisciplinarité entre sciences sociales/sciences de la nature dans les recherches sur problème. pp. 133-155 in Lorino,P. & Teulier,R. Entre connaissance et organisation: l'activité collective. L'entreprise face au défi de la connaissance La Découverte, Paris, France.
- Hufford,K.M. & Mazer,S. (2003) Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. Trends in Ecology & Evolution, 18, p.147-155.
- Hull,R.B. & Robertson,D.P. (2000) The language of nature matters: we need a more public ecology. pp. 97-118 in Gobster,P.H. & Hull,R.B. Restoring nature. Perspectives from the social sciences and humanities. Island Press, Washington, USA.
- IPCC (2007) Climate change 2007: the physical science basis. Working Group I Report "The Physical Science Basis".
- Iwata,H., Kamijo,T. & Tsumura,Y. (2006) Assessment of genetic diversity of native species in Izu Islands for a discriminate choice of source populations: Implications for revegetation of volcanically devastated sites. Conservation Genetics, 7, p.399-413.
- Jacobson,S.K. & Mcduff,M.D. (1998) Training idiot savants: The lack of human dimensions in conservation biology. Conservation Biology, 12, p.263-267.
- Jensen,L.B., Muylle, H., Arens, P. & Andersen, C.H. (2005) Development and mapping of a public reference set of SSR markers in *Lolium perenne* L. Molecular Ecology Notes, 5, p.951-957.
- Journé,B., & Raulet,N. (2007) Of Organizations and Situations: A pragmatist view of organizing through the process of inquiry. 23rd EGOS Colloquium, July 5-7 2007, Vienna. Available from <http://www.egosnet.org/>.
- Jump,A.S. & Penuelas,J. (2005) Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. Ecology Letters, 8, p.1010-1020.
- Kaufmann,J.C. (1996) L'entretien compréhensif. Nathan Université, Paris, France.
- Kawecki,T.J. & Ebert,D. (2004) Conceptual issues in local adaptation. Ecology Letters, 7, p.1225-1241.
- Knapp,E.E. & Rice,K.J. (1996) Genetic Structure and Gene Flow in *Elymus glaucus* (blue wildrye): Implications for Native Grassland Restoration. Restoration Ecology, 4, p.1-10.
- Koh,S. & Vicari,M. (2006) Rapid detection of fungal endophytes in grasses for large-scale studies. Functional Ecology, 20, p.736-742.
- Koh,S. & Hik,D. (2007) Herbivory mediates grass-endophyte relationships. Ecology, 88, p.2752-2757.
- Körner,C. (1989) The nutritional status of plants from high altitudes. A worldwide comparison. Oecologia, 81, p.379-391.
- Körner,C. (1999) Alpine plant life: Functional plant ecology of high mountain ecosystems. Springer, Berlin, Germany.
- Körner,C. (2003) Limitation and stress - always or never ? Journal of Vegetation Science, 14, p.141-143.
- Körner,C. (2007) The use of 'altitude' in ecological research. Trends in Ecology & Evolution, 22, p.569-574.

- Krautzer,B., Graiss,W. & Peratoner,G. (2007) Seed production of subalpine and alpine leguminosae Reviewed; Quality Legume-based Forage Systems for Contrasting Environments, Proceedings of the Final Meeting, 30.8. - 3.9.2006, Gumpenstein, Austria.
- Lande,R. & Shannon,S. (1996) The role of genetic variation in adaptation and population persistence in a changing environment. *Evolution*, 50, p.434-437.
- Lauvergeat,V., Barre,P., Bonnet,M. & Ghesquiere,M. (2005) Sixty simple sequence repeat markers for use in the Festuca-Lolium complex of grasses. *Molecular Ecology Notes*, 5, p.401-405.
- Le Floc'h,E. & Aronson,J. (1995) Ecologie de la restauration. Définition de quelques concepts de base. *Nature, Sciences, Sociétés, Hors-série*, p.29-35.
- LEARN-Group. (2000) Cow up a tree. Knowing and learning for change in agriculture. Case studies from industrialised countries. INRA Editions, Paris, France.
- Leinonen,T., O'hara,R.B., Cano,J.M. & Merila,J. (2008) Comparative studies of quantitative trait and neutral marker divergence: a meta-analysis. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, p.1-17.
- Lem,P. & Lallemand,J. (2003) Grass consensus STS markers: an efficient approach for detecting polymorphism in Lolium. *Theoretical and Applied Genetics*, 107, p.1113-1122.
- Lesica,P. & Allendorf,F.W. (1999) Ecological genetics and restoration of plant communities: mix or match? *Restoration Ecology*, 7, p.42-50.
- Leuchtmann,A. (1992) Systematics, distribution and host specificity of grass endophytes. *Natural Toxins*, 1, p.185-204.
- Light,A. & Higgs,E.S. (1996) The politics of ecological restoration. *Environmental Ethics*, 18, p.227-247.
- Light,A. (2000) Restoration, the value of participation and the risks of professionalization. pp. 163-184 in Gobster,P.H. & Hull,R.B. *Restoring nature. Perspectives from the social sciences and humanities*. Island Press, Washington, USA.
- Lopez-Moreno,J.I., Goyette,S. & Beniston,M. (sous presse) Climate change prediction over complex areas: spatial variability of uncertainties and predictions over the Pyrenees from a set of regional climate models. *International Journal of Climatology*.
- Lundquist,C.J. & Granek,E.F. (2005) Strategies for successful marine conservation: Integrating socioeconomic, political, and scientific factors. *Conservation Biology*, 19, p.1771-1778.
- Lynch,M., Pfreder,M., Spitze,K., Lehman,N. & et al (1999) The quantitative and molecular genetic architecture of a subdivided species. *Evolution*, 53, p.100-110.
- Lynch,M. & Ritland,K. (1999) Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. *Genetics*, 152, p.1753-1766.
- Malinowski,D.P., Zuo,H., Kramp,B.A., Muir,J.P. & Pinchak,W.E. (2005) Obligatory summer-dormant cool season perennial grasses for semiarid environments of the Southern Great Plains. *Agronomy Journal*, 97, p.147-154.
- Malinowski,D.P. & Belesky,D.P. (2006) Ecological importance of *Neotyphodium* spp. grass endophytes in agroecosystems. *Grassland Science*, 52, p.1-14.

- Mantel,N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, p.209-220.
- McKay,J.K. & Latta,R.G. (2002) Adaptative population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, p.285-291.
- Meffe,G.K. & Carroll,C.R. (1997) *Principles of conservation biology*. Second edition. Sinauer associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- Meijer,G. & Leuchtmann,A. (2001) Fungal genotype controls mutualism and sex in *Brachypodium sylvaticum* infected by *Epichloe sylvatica*. *Acta Biologica Hungarica*, 52, p.249-263.
- Méral,P., Castellanet,C. & Lapeyre,R.(2008) *La gestion concertée des ressources naturelles. L'épreuve du temps*. Editions GRET – Karthala, France.
- Merila,J. & Crnokrak,P. (2001) Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits. *Journal of Evolutionary Biology*, 14, p.892-903.
- Milian,J. (2004) *Protection de la nature et développement territorial dans les Pyrénées*. Thèse de doctorat. Université de Toulouse le Mirail.
- Mitchell,J.C. (1983) Case and situation analysis. *The sociological review*, 31, p.187-211.
- Montalvo,A., Williams,S.L., Rice,K.J. & Buchmann,S.L. (1997) Restoration biology: a population biology perspective. *Restoration Ecology*, 5, p.277-290.
- Moritz,C. (1994) Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 9, p.373-375.
- Moritz,C. (2002) Strategies to protect biological diversity and the evolutionary processes that sustain it. *Systematic Biology*, 51, p.238-254.
- Morse,L.J., Day,T.A. & Faeth,S.H. (2002) Effect of *Neotyphodium* endophyte infection on growth and leaf gas exchange of Arizona fescue under contrasting water availability regimes. *Environmental and Experimental Botany*, 48, p.257-268.
- Murphy,S.R. & Lodge,G.M. (2002) Ground cover in temperate native perennial grass pastures comparison four estimation methods. *Rangeland Journal*, 24, p.288-300.
- Murray,C. & Marmorek, D. (2003) Adaptive management: a science-based approach to managing ecosystems in the face of uncertainty. 5th international SAMPAA Conference.
- Naveh,Z. (2005) Epilogue: Toward a transdisciplinary science of ecological and cultural landscape restoration. *Restoration Ecology*, 13, p.228-234.
- Nei,M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals. *Genetics*, 89, p.583-590.
- Nieberding,C.M. & Olivieri,I. (2007) Parasites: proxies for host genealogy and ecology? *Trends in Ecology and Evolution*, 22, p.156-165.
- Nowotny,H., Scott,P. & Gibbons,M. (2001) *Re-thinking science. Knowledge and the public in an age of uncertainty*. 1st edition. Sage, London, UK.

- Orlikowski, W.J. (2002) Knowing in practice: enacting a collective capability in distributed organizing. *Organization Science*, 13(3), p.249-273.
- Page, R.D.M. (1996) TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, 12, p.357-358.
- Peterson, M.N., Peterson, M.J. & Peterson, T.R. (2005) Conservation and the Myth of Consensus. *Conservation Biology*, 19, p.762-767.
- Pfadenhauer, J. (2001) Some remarks on the socio-cultural background of restoration ecology. *Restoration Ecology*, 9, p.220-229.
- Pigliucci, M. (2005) Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology & Evolution*, 20, p.481-486.
- Pluess, A.R. & Stocklin, J. (2005) The importance of population origin and environment on clonal and sexual reproduction in the alpine plant *Geum reptans*. *Functional Ecology*, 19, p.228-237.
- Pretty, J.N. (1995) Participatory learning for sustainable agriculture. *World Development*, 23(8), p.1247-63.
- Raymond, M. & Rousset, F. (1995) Genepop (Version-1.2) - Population-Genetics Software for Exact Tests and Ecumenism. *Journal of Heredity*, 86, p.248-249.
- Rhoades, R. (1989) The Role of Farmers in the Creation of Appropriate Technology. Pages 3-9 in Chambers, R., Pacey, R. & Thrupp, L. *Farmer First: Farmer Innovation and Agricultural Research*. Intermediate Technology Publications, London, UK.
- Rice, W. (1989) Analysing tables of statistical tests. *Evolution*, 43, p.223-225.
- Rice, K.J. & Emery, N.C. (2003) Managing microevolution: restoration in the face of global change. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1, p.469-478.
- Robertson, D.P. & Hull, R.B. (2001) Beyond biology: toward a more public ecology for conservation. *Conservation Biology*, 15, p.970-979.
- Robinson, J.G. (2006) Conservation Biology and Real-World Conservation. *Conservation Biology*, 20, p.658-669.
- Röling, N. & Wagemakers, M.A.E. (1998) *Social learning for sustainable agriculture*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Rossiter, M.C. (1996) Incidence and consequences of inherited environmental effects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27, p.451-476.
- Rousset, F. (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145, p.1219-1228.
- Roux, D.J., Rogers, K.H., Biggs, H.C., Ashton, P.J. & Sergeant, A. Bridging the science-management divide: moving from unidirectional knowledge transfert to knowledge interfacing and sharing. Available from <http://www.ecologyandsociety.org/vol11/iss1/art4/> . 2006.
- Sachs, J.L. & Simms, E.L. (2006) Pathways to mutualism breakdown. *Trends in Ecology and Evolution*, 21, p.585-592.

- Saikkonen,K., Faeth,S.H., Helander,M. & Sullivan,T.J. (1998) FUNGAL ENDOPHYTES: A Continuum of Interactions with Host Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29, p.319-343.
- Saikkonen,K., Wali,P., Helander,M. & Faeth,S.H. (2004) Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends in Plant Science*, 9, p.275-280.
- Saikkonen,K., Lehtonen,P., Helander,M., Koricheva,J. & Faeth,S.H. (2006) Model systems in ecology: dissecting the endophyte-grass literature. *Trends in Plant Science*, 11, p.428-433.
- Saitou,N. & Nei,M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, p.406-425.
- Sambatti,J.B.M. & Rice,K.J. (2006) Local adaptation, patterns of selection, and gene flow in the Californian serpentine sunflower (*Helianthus exilis*). *Evolution*, 60, p.696-710.
- Schardl,C.L., Leuchtman,A. & Spiering,M.J. (2004) Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annual Review of Plant Biology*, 55, p.315-340.
- Schlichting,C.D. & Pigliucci,M. (1998) Reaction norms and phenotypic plasticity. *Phenotypic Evolution : A Reaction Norm Perspective* pp. 51-84.
- Schonswetter,P., Stehlik,I., Holderegger,R. & Tribsch,A. (2005) Molecular evidence for glacial refugia of mountain plants in the European Alps. *Molecular Ecology*, 14, p.3547-3555.
- Segarra-Moragues,J.G., Palop-Esteban,M., Gonzalez-Candelas,F. & Catalan,P. (2007) Nunatak survival vs. tabula rasa in the Central Pyrenees: a study on the endemic plant species *Borderea pyrenaica* (Dioscoreaceae). *Journal of Biogeography*, 34, p.1893-1906.
- Simon,H.A. (1976) *Models of Bounded Rationality 2*. MIT Press.
- Simon,H.A. (1978) Rationality as process and as a product of thought. *American Economic Review*, 68(2), p.1-16.
- Soulé,M.E. (1985) What is conservation biology? *Bioscience*, 35, p.727-730.
- Spyreas,G., Gibson,D.J. & Middleton,B.A. (2001) Effects of endophyte infection in tall fescue (*Festuca arundinacea*: Poaceae) on community diversity. *International Journal of Plant Sciences*, 162, p.1237-1245.
- Steyaert,P. & Ollivier, G. (2007) The European Water Framework Directive : how ecological assumptions frame technical and social change. *Ecology and Society*, 12(1), p.25. Available from URL:<http://www.ecologyandsociety.org/vol12/iss1/art25/>
- Stinson,K.A. (2004) Natural selection favors rapid reproductive phenology in *Potentilla pulcherrima* (Rosaceae) at opposite ends of a subalpine snowmelt gradient. *American Journal of Botany*, 91, p.531-539.
- Stringer,L.C., Dougill,A.J., Fraser,E., Hubacek,K., Prell,C. & Reed,M.S. (2006) Unpacking "Participation" in the adaptive management of social-ecological systems: a critical review. *Ecology and Society*, 11, p.39.
- Suchman,L. (1987) *Plans and situated actions. The problem of human-machine communication*. 1st edition. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Sultan, E.S. (2000) Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, 5, p.537-542.
- Temperton, V.M. (2007) The recent double paradigm shift in restoration ecology. *Restoration Ecology*, 15(2), p.344-347.
- Theurillat, J.P. & Guisan, A. (2001) Potential impact of climate change on vegetation in the European Alps: A review. *Climatic change*, 50, p.77-109.
- Till-Bottraud, I. & Gaudeul, M. (2002) Intraspecific genetic diversity in alpine plants. pp. 23-34 in Körner, C. & Spehn, E.M. *Mountain Biodiversity: A Global Assessment*. Parthenon publishing, New York, USA.
- Torrecilla, P. & Catalan, P. (2002) Phylogeny of broad-leaved and fine-leaved *Festuca* lineage (Poaceae) based on nuclear ITS sequences. *Systematic Botany*, 27, p.241-251.
- Turner, B., Cairns, A.J. & Armstead, I.P. (2006) Dissecting the regulation of fructan metabolism in perennial ryegrass (*Lolium perenne*) with locus mapping. *New Phytologist*, 169, p.45-58.
- van Aken, J. E. (2005) Management Research as a design science: articulating the research products of Mode-2 knowledge production in management. *British Journal of Management*, 16, p.19-36.
- Vargas, P. (2003) Molecular evidence for multiple diversification patterns of alpine plants in Mediterranean Europe. *Taxon*, 52, p.463-476.
- Vile, D., Garnier, E., Shipley, B., Laurent, G., Navas, M.L., Roumet, C., Lavorel, S., Diaz, S., Hodgson, J.G., Lloret, F., Midgley, G.F., Poorter, H., Rutheford, M.C., Wilson, P.J. & Wright, I.J. (2005) Specific leaf area and dry matter content estimate thickness in laminar leaves. *Annals of Botany*, 96, p.1129-1136.
- Weir, B. & Cockerham, C. (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, p.1358-1370.
- Wesche, K., Hensen, I. & Undrakh, R. (2006) Genetic structure of *Galitzkya macrocarpa* and *G. potaninii*, two closely related endemics of central Asian Mountains Ranges. *Annals of Botany*, 98, p.1025-1034.
- West, C., Izekor, E., Turner, K. & Elmi, A. (1993) Endophyte effects on growth and persistence of tall fescue along a water-supply gradient. *Agronomy Journal*, 85, p.264-271.
- Western, D., Wright, R.M. & Strum, S.C. (1994) *Natural connections: perspectives on community-based conservation*. Island Press, Washington, D.C., USA.
- Wright, S. (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15, p.323-354.
- Zabalgoieazcoa, I., Garcia-Ciudad, A., Vazquez de Aldana, B.R. & Garcia-Criado, B. (2006) Effects of infection by the fungal endophyte *Epichloë festucae* in the growth and nutrient content of *Festuca rubra*. *European Journal of Agronomy*, 24, p.374-384.
- Zhao, Q.F., Wang, G.A.N., Li, Q.X., Ma, S.R., Cui, Y.A. & Grillo, M.I.C. (2006) Genetic diversity of five *Kobresia* species along the eastern Qinghai-Tibet plateau in China. *Hereditas*, 143, p.33-40.

Résumé

Les sciences de la conservation ont pour objet l'évaluation des dégradations causées à la biodiversité et la conception de solutions pour la conserver et la restaurer. Si ces sciences sont historiquement ancrées dans des disciplines biologiques, elles s'en différencient car elles sont explicitement destinées à l'action. Cela suppose la conception de projets en collaboration avec des acteurs de terrain et l'adoption d'une certaine interdisciplinarité. Très peu d'auteurs relatent ce que ces deux perspectives impliquent concrètement concernant les projets de gestion de la biodiversité et la recherche en sciences de la conservation.

L'enjeu principal de cette thèse était de mettre concrètement en œuvre ces perspectives afin de produire des connaissances plus pertinentes pour l'action dans un projet relatif à la gestion de la biodiversité, et ce faisant, de donner à voir le cheminement que cela suppose pour un biologiste pratiquant les sciences de la conservation.

Ce travail de thèse est ancré dans le projet Ecovars (2005-2007). Ce projet était porté par le Conservatoire Botanique Pyrénéen en partenariat avec l'Institut National de la Recherche Agronomique et le Service d'Utilité Inter-chambres d'Agriculture des Pyrénées. L'objectif finalisé de la thèse était d'établir un outil (des zones de transfert de graines) permettant de gérer sur le massif pyrénéen la diversité génétique intraspécifique de la flore locale. Cette gestion devait intégrer les points de vue des acteurs utilisant les espaces à restaurer. Ce travail s'appuie sur l'étude conjointe des diversités génétiques neutre et adaptative d'une graminée alpine sauvage (*Festuca eskia*) destinée à la restauration des pelouses alpines, de son patron d'infection par un endophyte (*Epichloë festucae*) et des points de vue d'acteurs concernés par des opérations de restauration.

L'étude conjointe de la diversité génétique neutre et de l'endophytisme met en évidence que *F. eskia* est divisée en deux entités génétiques distinctes (Est *versus* Ouest). L'étude de la diversité génétique adaptative montre que *F. eskia* présente une différenciation génétique adaptative le long des gradients altitudinaux, malgré des flux de gènes important entre altitudes. Cette étude montre aussi que le potentiel adaptatif de *F. eskia* n'est pas faible et ne diminue pas avec l'altitude contrairement aux hypothèses classiques sur les plantes alpines. La complexité des patrons génétiques mis en évidence amène à reconsidérer la pertinence d'établir des zones de transfert de graines. Au-delà, l'analyse des points de vue d'acteurs conduit à abandonner l'idée d'un mode de gestion uniforme de la diversité génétique et plus généralement conduit à proposer l'intégration de la restauration à une gestion globale des territoires. Par ailleurs, l'analyse de cette expérience au sein d'Ecovars montre la nécessité de repenser le partenariat dans les projets de conservation et de restauration afin de produire des connaissances pertinentes pour l'action. A l'issue de ce travail, mon cheminement m'amène à proposer de raisonner les opérations de restauration comme des constructions collectives et locales. Ce cheminement effectué au cours de ma thèse, depuis une approche basée sur des référentiels disciplinaires (dans mon cas la biologie évolutive et l'écologie) jusqu'à une approche plus holiste et plus relativiste des sciences de la conservation est à mon sens ce qui permettrait aux biologistes de faire des sciences de la conservation de vraies sciences pour l'action.