

2m11, 3468, 10

Université de Montréal

**La phylogéographie de l'érable à sucre en Amérique du Nord,  
inférée à partir de la systématique moléculaire et de la palynologie**

par

Élyse-Ann Faubert

Institut de recherche en biologie végétale

Département des sciences biologiques

Faculté des arts et sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maître ès sciences (M. Sc.)

Octobre 2006

© Élyse-Ann Faubert, 2006



OK

3

U34

2007

V.002

100-1000-1

## AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

## NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

**La phylogéographie de l'érable à sucre en Amérique du Nord,  
inférée à partir de la systématique moléculaire et de la palynologie**

présenté par:

Élyse-Ann Faubert

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Jacques Brisson, président-rapporteur

Anne Bruneau, directrice de recherche

Pierre J. H. Richard, co-directeur de recherche

Denis Barabé, membre du jury

## SOMMAIRE

D'une part, le premier chapitre de cette étude aborde les théories et les méthodes qui sous-tendent la phylogéographie, cette jeune discipline qui permet de comprendre la migration des espèces sur un territoire donné, en récapitulant les principaux travaux effectués en Amérique du Nord. Une description de l'objet à l'étude, l'érable à sucre (*Acer saccharum*), espèce omniprésente dans les forêts décidues et mixtes de l'est de l'Amérique du Nord, succède à cette brève introduction. Sont ensuite présentées plusieurs hypothèses relativement à l'histoire évolutive et la migration de cette espèce, depuis le dernier maximum glaciaire du Quaternaire. Finalement, les méthodes de la phylogéographie employées dans l'étude sont présentées.

D'autre part, les chapitres subséquents constituent une étude de la migration postglaciaire de l'érable à sucre dans son aire de peuplement actuelle. Un marqueur chloroplastique et un marqueur nucléaire ont été séquencés afin de déterminer les liens phylogénétiques entre les populations, et ces données moléculaires ont été mises en relation avec des données paléopalynologiques pour mieux comprendre les patrons de migration et l'histoire récente de l'espèce. Nos résultats appuient une hypothèse voulant que l'espèce ait survécu dans deux refuges distincts durant le pléniglaciaire, situés dans le nord-est de l'Iowa épargné des glaces et dans les Appalaches méridionales, et ils tendent à démontrer également la possibilité de migrations par longues distances. Il y est également explorée la relation interspécifique avec des taxons pouvant s'hybrider avec l'érable à sucre et brouiller les patrons migratoires déduits des données disponibles.

Cette étude propose donc de jeter une lumière nouvelle sur la migration végétale en Amérique du Nord. Outre d'accumuler des informations sur nos espèces nord-américaines et d'articuler celles-ci dans le cadre d'une nouvelle discipline, ce genre de recherche permet d'ouvrir la voie à la compréhension des réactions des plantes aux changements climatiques imminents.

**Mots clés:** *Acer saccharum*, Amérique du Nord, glaciations du Quaternaire, migrations postglaciaires, paléopalynologie, phylogéographie moléculaire, réseau d'haplotypes.

## ABSTRACT

The first chapter of this thesis introduces the theories and methods behind phylogeography, this young discipline that allows us to uncover the migration history of species, with emphasis on developments in this field relative to plants species in North America. Then, there is a description of sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.), our study object that is an omnipresent species occurring in deciduous and mixed forests from Eastern North America. Some hypothesis and theories that could explain its migration on the continent since the Last Glacial Maximum are reviewed, and the molecular methods and analysis used in the present study are introduced.

The following chapters examine postglacial migration of *Acer saccharum* in the area of its present distribution. Two molecular markers, from the chloroplastic and the nuclear genomes, were sequenced to determine the affiliations among populations, and these molecular data were used in combination with paleopalynological data to understand migration patterns and past history of this species. Our results corroborate an hypothesis of two distinct pleniglacial refuges, situated in the southern Appalachian mountains and in the Driftless region of Iowa, and tend to show some long distance migration events. Reference to sister taxa of sugar maple are then made, since these taxa can hybridize with the former species, blurring the deduced migration patterns.

This study sheds light on the migration of plants in eastern North America since the Last Glacial Maximum of the Quaternary Ice Age, and, to some extent, strives to accumulate and organize information as a mean of forecasting how plants will react to global warming.

**Keywords:** *Acer saccharum*, haplotype network, molecular phylogeography, North America, paleopalynology, postglacial migrations, Quaternary glaciations.

## TABLE DES MATIÈRES

Page titre .....	i
Présentation du jury .....	ii
Sommaire et mots clés .....	iii
<i>Abstract and keywords</i> .....	iv
Table des matières .....	v
Liste des tableaux et figures .....	vii
Sigles et abréviations .....	ix
Remerciements .....	xi
Préambule: un avertissement sémantique .....	1
CHAPITRE I: LA PHYLOGÉOGRAPHIE EN AMÉRIQUE DU NORD: MISE EN PLACE DES NOTIONS ESSENTIELLES .....	3
1. La phylogéographie en tant que discipline: balbutiements et concepts fondamentaux .....	3
2. <i>Acer saccharum</i> : situation taxonomique et géographique .....	8
3. L'expansion septentrionale postglaciaire de l'aire de peuplement d' <i>Acer     saccharum</i> : données factuelles et hypothèses .....	14
4. Les outils moléculaires appliqués à la phylogéographie: méthodes et justifications .....	23
CHAPITRE II: MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	27
1. Échantillonnage .....	27
2. Méthodes moléculaires .....	35
3. Amplification et séquençage .....	35
4. Clonage .....	37
5. Analyses .....	38

CHAPITRE III: RÉSULTATS .....	40
1. Marqueur chloroplastique .....	40
2. Marqueur nucléaire .....	44
CHAPITRE IV: DISCUSSION .....	47
1. Délimitations inter-spécifiques .....	47
2. Refuges probables pour <i>Acer saccharum</i> .....	49
3. Migration postglaciaire et barrières géographiques .....	57
CHAPITRE V: CONCLUSION .....	60
Bibliographie .....	64



## LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

**TABLEAU I:** Distances moyennes de dispersion observées pour la samare de plusieurs espèces d'érables selon des données autoécologiques provenant de diverses études. (page 13)

**TABLEAU II:** Informations concernant la récolte de matériel, les spécimens, et leurs données moléculaires. (pages 28 à 34)

**TABLEAU III:** Résultats de l'exploration moléculaire préalable à la présente étude: gènes, introns ou espaceurs chloroplastiques et nucléaires testés pour leur variabilité sur un sous-ensemble de populations d'érables à sucre récoltées pour ce projet. (page 41)

**TABLEAU IV:** Analyse de clades groupés (*nested clade analysis*) des associations géographiques et leurs interprétations, selon Templeton, Routman et Phillips (1995, 2005, GeoDis 2.5) pour 51 populations d'*Acer saccharum* dans l'est de l'Amérique du Nord. (page 46)

\*\*\*

**FIGURE 1:** Cartes tirées de Pollen Viewer 3.2 (Leduc, 2003) indiquant la présence pollinique du genre *Acer*. (page 21)

**FIGURE 2:** Carte représentant les aires isopolles du genre *Acer*, correspondant à > 2% de pollen retrouvé dans les sédiments du maximum glaciaire, telles que présentées par Jackson *et al.* (2000). (page 22)

**FIGURE 3:** Région de l'ADN nucléaire représentant les introns du gène PRK (phosphoribulokinase) utilisés dans la présente étude. (page 37)

**FIGURE 4:** Carte de répartition géographique des haplotypes de l'espaceur chloroplastique *psbA-trnH* et de la région nucléaire PRK pour *Acer saccharum* et autres espèces proches. (page 43)

**FIGURE 5:** Réseau d'haplotypes pour le marqueur nucléaire de la phosphoribulokinase (PRK) obtenu par la parcimonie statistique grâce au logiciel TCS v1.2.1. (page 45)

**FIGURE 6:** Carte montrant la répartition des haplotypes nucléaires (PRK) du clade 3-3 de l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*). (page 54)

**FIGURE 7:** Carte montrant la répartition des haplotypes nucléaires (PRK) du clade 3-4 de l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*). (page 55)

**FIGURE 8:** Carte montrant la répartition des haplotypes nucléaires (PRK) du clade 3-5 de l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*). (page 56)

## SIGLES ET ABRÉVIATIONS

**µg:** Microgramme

**µl:** Microlitre

**µM:** Micromolaire

**° C:** Degré Celsius

**<sup>14</sup>C BP:** Années carbone-14 avant aujourd'hui (non calibrées, n'équivalent pas à des années sidérales)

**A.A.:** Années calibrées avant l'actuel, en années sidérales (années réelles)

**ADN:** Acide désoxyribonucléique

***atpB*:** Sous-unité β du CF1 de l'ATPase chloroplastique

**BSA:** Sérum albumine bovine

**cm/sec:** Centimètres par seconde

**dNTP:** Désoxynucléotide triphosphate

**indel:** Insertion/délétion

**km:** Kilomètre

**M:** Molaire

**m/sec:** Mètres par seconde

**MgCl<sub>2</sub>:** Chlorure de magnésium

**mg:** Milligramme

**ml:** Millilitre

**mM:** Millimolaire

**N:** Nord

***ndhF*:** NADH (nicotinamide adénine dinucléotide, forme réduite) déshydrogénase chloroplastique

**PCR:** Polymerase chain reaction (réaction de polymérisation en chaîne)

**PEG:** Polyéthylèneglycol

**PRK:** Phosphoribulokinase (gène nucléaire)

***psbA*:** Protéine du centre réactionnel du photosystème II

***rbcL*:** Grande sous unité de la ribulose 1,5 biphosphate carboxylase (Rubisco)

**RFLP:** Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (Restriction fragment length polymorphism)

***rpL16:*** Protéine ribosomale L16

***rpm:*** Rotations par minute

***sp:*** Espèce

***ssp:*** Sous-espèce

***Tris-HCl:*** Tris(hydroxyméthyle)aminométhane-hydrochloride

***trnD:*** ARN de transfert pour l'aspartate (D)

***trnG:*** ARN de transfert pour la glycine (G)

***trnH:*** ARN de transfert pour l'hystidine (H)

***trnK:*** ARN de transfert pour la lysine (K)

***trnS:*** ARN de transfert pour la sérine (S)

***trnT:*** ARN de transfert pour la thréonine (T)

***var.:*** Variété

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de (très!) loin, ont aidé à la réalisation de ce projet. D'abord, tous ceux qui ont répondu à notre requête par l'affirmative et nous ont fourni des spécimens d'érables de partout en Amérique du Nord: L. Alice, G. J. Anderson, A. Archambault, S. M. Bailleul, M.-È. Bellavance, J. Brisson, L. Brouillet, A. Bruneau, J. Caron, J. Chmielewski, M. J. Clark, S. Fortin, J. V. Freudenstein, M.-P. Gauthier, E. Grimm, S. G. Hay, B. Husband, D. Jensen, S. Joly, C. Lacroix, M. Luckow, P. S. Manos, F. Mathieu, L. McInvor, M. Mercure, J. Midy, C. A. Morse, M. Munro, M. R. Opel, K. M. Redden, P. J. H. Richard, T. Smith, S. Telliach, J. Thieret, J. Vaezi, G. Yatskievych et E. Wells. Cette longue liste digne d'un gala des prix Gémeaux est celle des personnes auxquelles je suis tout à fait redevable pour l'éclosion de ce projet! Un grand merci à vous tous pour votre si précieuse collaboration.

Merci également à tous ces acériculteurs québécois, et surtout gaspésiens, qui nous ont accueillis chaleureusement sur leurs terres et nous ont permis de récolter quelques feuilles dans leurs érablières... et de goûter à leurs fabuleux produits!

Un merci tout spécial aux étudiants du laboratoire de systématique moléculaire à l'IRBV, qui m'ont aidée à un moment ou à un autre au cours de mes études. Spécialement à Simon, qui est toujours présent pour aider et donner la réponse sur le « comment » et le « pourquoi ». Merci aussi au comité-conseil, composé de Jacques Brisson, Luc Brouillet, Anne Bruneau et de Pierre J. H. Richard, qui ont su me diriger dans la bonne voie dès le départ.

Merci à Pierre, mon co-directeur géographe, dont la porte du laboratoire-au-plancher-grinçant est toujours ouverte, à son aimable soutien tout au long du projet et à sa patience face à ces petites molécules... Chercheur talentueux et honnête, « reconstituteur de populations végétales anciennes » et grand orateur, il a su me captiver avec toutes ces admirables connaissances transmises si généreusement. Je ne regretterai jamais d'être allée frapper à sa porte, cet après-midi du mois de juin 2003...

Un merci aussi aux membres du laboratoire de palynologie Jacques-Rousseau, dont les commentaires éclairés ont été bienvenus, et avec qui j'ai pris grand plaisir à partager.

Également merci à Anne, ma directrice, avec qui j'ai fort apprécié faire ce bout de chemin. Anne, toujours prête à nous accueillir et nous écouter, malgré les papiers urgents patientant sur le plancher de son bureau(!), et ayant toujours la bonne idée qui nous fera débloquer, sur le dernier problème de clonage ou de séquenceur en panne... Cette généreuse personne est une excellente directrice, enthousiaste, motivante et disponible. Anne, merci pour tout ce que tu m'as appris; comme tu le sais, ces connaissances dépassent largement le domaine académique...

Finalement, toutes ces personnes qui me côtoient et qui me portent toujours plus loin: mes deux adorables Fugueurs, pour la motivation, la confiance et les couleurs dans ma vie; Joëlle, pour le support et l'amitié, les soirées au salon, les multiples cafés-sans-café-mais-je-prendrais-bien-un-gâteau, et surtout, surtout: le partage d'idées; Marjorie, pour ces discussions enrichissantes, pour m'avoir fait découvrir plein de choses, dont la Russet et la gelée de piment, mais aussi pour la conduite exemplaire de la Prius dans les ronds-points du Massachusetts (Rhamalaaah!); Francine, pour un coeur grand comme la Terre; Auguste, pour l'inspiration, même si tu es difficile à suivre parfois; Audrey, pour ta vivacité, tes pommettes et Patapata; et notre belle amie Sophie, pour ses questions; Jason, ∇...

Merci à vous,

Montréal, le 1<sup>er</sup> octobre 2006

« *L'esprit s'étourdit à regarder si loin  
dans le gouffre du temps* »

- John Playfair, 1788,  
mathématicien et philosophe

## **Préambule: un avertissement sémantique**

Au risque de sentir le fagot pour certains, j'aimerais introduire ici une argumentation un rien philosophique mais qui, somme toute, est d'importance fondamentale pour quiconque s'intéresse à l'histoire évolutive du vivant en général, relativement aux cycles de glaciations-déglaciations qu'a connus notre bonne vieille planète.

De notre point de vue tout anthropocentrique, nous avons souvent (la mauvaise?) habitude de prendre pour acquis que ce qui se passe *hic et nunc* est l'état normal des choses. Notre brève vie humaine embrouille trop facilement notre faculté de prendre du recul face à nos connaissances, de voir la forêt cachée par l'arbre. Un exemple de tout

ceci: le langage courant dit « le Soleil s'est levé », alors que personne ne peut nier qu'en fait, c'est la Terre qui tourne...

Quelqu'un qui me côtoie depuis un moment déjà m'a fait un jour remarquer que si un extra-terrestre avec une durée de vie beaucoup plus longue que la nôtre avait, à partir de son vaisseau spatial, photographié l'Amérique du Nord à chaque millénaire depuis au moins 2 millions d'années, et qu'il réservait les clichés où l'Amérique du Nord apparaît déglacée, comme dans l'état actuel des choses, il ne conserverait que 10 à 20% de ses photographies... En fait, les conditions de glaciations, comme celles du pléniglaciaire d'il y a 21 000 ans A.A., représentent des conditions normales, en admettant la normalité corrélée à la fréquence, qui prévalent de 80 à 90% du temps.

Ainsi, il appert que la végétation actuellement en place sous nos latitudes évolue en fait *normalement* sous des latitudes plus australes depuis des millions d'années, ne migrant vers le nord que très rarement, lors des réchauffements climatiques cycliques, tels que l'Holocène, qui dure depuis 11 430 ans. Les plantes survivent donc à ces conditions exceptionnellement chaudes et courtes en étendant leurs aires de peuplement *normales* vers le nord, où elles trouvent *refuge* temporairement. Conséquemment, les aires de répartition au sud sont en fait des conditions de vie normales pour ces espèces, et les *refuges* se trouvent au nord. C'est le monde (anthropocentrique!) à l'envers... et c'est bien qu'il en soit ainsi...

Cette courte introduction se veut empreinte d'humilité face à ce long passé. Cela replace les choses en perspective...



# Chapitre I

## La phylogéographie de l'érable à sucre en Amérique du Nord: mise en place des notions essentielles

*Natura non facit saltus*

-Gottfried Wilhelm Leibniz, 1704

(Nouveaux Essais, IV, 16)

*1. La phylogéographie en tant que discipline: balbutiements et concepts fondamentaux.*

La phylogéographie est l'étude des principes qui gouvernent la répartition géographique des lignées généalogiques, plus spécifiquement celles au niveau des populations (Schaal et Olsen, 2000). Autrement dit, cette discipline étudie, dans un cadre géographique, les relations entre les lignées qui divergent mais qui n'ont pas encore atteint le stade d'espèces distinctes. Les processus évolutifs qui agissent à ce niveau sont

complexes et autant les méthodes de la systématique moléculaire que celles de la génétique des populations sont nécessaires pour comprendre ces forces et leur impact respectif (Schaal et Leverich, 2001).

Cette discipline récente a été définie en 1987 par John C. Avise, considéré comme le père de la phylogéographie. Mais bien avant cela, à la fin des années 1970, des études réalisées à partir de fragments de restriction provenant du génome mitochondrial d'animaux permettaient déjà d'inférer quelques prémisses qui allaient devenir les fondements de cette discipline. La phylogéographie a vu le jour dans la même période où Watterson (1975) assoyait les bases de la théorie de la coalescence moderne telle que nous la connaissons aujourd'hui. Il était aussi dans l'esprit de l'époque de se questionner sur les distinctions entre les arbres géniques et les arbres représentant la phylogénie des populations d'une espèce (sujet revu dans Avise, 1998). Puis, l'intérêt pour la phylogéographie n'a cessé de croître à mesure que les méthodes génétiques se développaient dans les laboratoires. Ce contexte d'où florissaient de nouveaux outils, tant théoriques que pratiques, a permis à cette jeune science de connaître un essor important et d'atteindre à son actuelle popularité.

La phylogéographie intègre aujourd'hui plusieurs théories et méthodes empruntées à d'autres disciplines afin de permettre, notamment, de mieux comprendre les migrations postglaciaires des espèces, tant animales que végétales. Cette discipline appliquée aux plantes accuse toutefois un certain retard face à son utilisation chez les animaux. En effet, le génome mitochondrial des plantes ne possède pas la même stabilité que celui des animaux, et le génome chloroplastique a longtemps été considéré comme trop peu variable pour être digne d'intérêt. Quant au génome nucléaire, il était trop méconnu pour que l'on s'y attarde. Ainsi, cette difficulté à trouver des variations génétiques informatives a limité le nombre et la qualité des études portant sur le domaine végétal (Schaal *et al.*, 1998). Dans cette optique, les études phylogéographiques portant sur les plantes ont commencé à se multiplier depuis seulement une décennie, majoritairement sur le continent européen. Parmi les études les plus notoires effectuées sur ce continent, citons les nombreux travaux sur les chênes (Dumolin-Lapègue *et al.*,

1997; Petit *et al.*, 2002; Kelleher *et al.*, 2004), sur le hêtre (Demesure *et al.*, 1996; Magri *et al.*, 2006), ou encore sur plusieurs taxons arctiques ou alpins (Gabrielsen *et al.*, 1997; Gaudeul *et al.*, 2000; Stehlik *et al.*, 2000; Kropf *et al.*, 2002; Stehlik, 2002; et Schönswetter *et al.*, 2004). Bien que ce domaine soit en plein foisonnement en Europe et qu'on y exploite à fond le potentiel des données paléopalynologiques (Magri *et al.*, 2006), les études phylogéographiques portant sur des espèces végétales de l'est de l'Amérique du Nord sont rares et récentes. Citons les travaux remarquables de Tremblay et Schoen (1999) sur *Dryas integrifolia*, de Gamache *et al.* (2003) sur *Picea mariana*, de Griffin et Barrett (2004) sur *Trillium grandiflorum*, de Godbout *et al.* (2005) sur *Pinus banksiana*, de McLachlan *et al.* (2005) sur *Fagus grandifolia* et *Acer rubrum*, et de Walter et Epperson (2005) sur *Pinus resinosa*, qui marquèrent les balbutiements de cette discipline dans l'est de l'Amérique du Nord.

Dans ces travaux d'envergure, les chercheurs comparent généralement plusieurs arbres phylogéniques basés sur des marqueurs moléculaires différents, mais il est également intéressant de sortir du champ de la phylogénie moléculaire et de comparer ces méthodes avec des hypothèses provenant de domaines connexes - par exemple la paléopalynologie et l'étude de macrorestes végétaux - comme l'ont fait Tremblay et Schoen pour *Dryas integrifolia* (1999) en Amérique du Nord, et plus récemment, Magri *et al.* (2006) sur le hêtre en Europe. En Amérique du Nord, quelques études paléopalynologiques de synthèse parviennent à réunir toutes les informations issues de diagrammes polliniques pour dégager l'histoire de chacune des principales espèces arborescentes. Par exemple, les études approfondies comme celle de Davis (1981) et de Delcourt et Delcourt (1987) ont permis de comprendre la répartition globale et la migration postglaciaire des principaux groupes végétaux sur le territoire. En effet, l'analyse pollinique a été traditionnellement utilisée pour étudier la répartition géographique des principales espèces végétales, en Amérique du Nord comme ailleurs. Toutefois, cette méthodologie, bien que révélatrice des patrons de distribution temporelle, possède ses propres limites. La résolution qu'il est permis d'obtenir par la paléopalynologie est relativement faible: les limites des aires de répartition du pollen - et non de l'espèce - restent souvent incertaines et floues (McLachlan et Clark, 2004) et

discontinues dans le temps (voir PollenViewer : <http://www.ncdc.noaa.gov/paleo/pollen/viewer/webviewer.html>), les grains de pollen d'espèces de plusieurs genres sont difficiles, voire impossible à discerner (mais voir Finkelstein *et al.*, 2006). De surcroît, les diagrammes polliniques et les cartes isopolliniques qui en découlent ne disent rien concernant la diversité génétique des populations qu'elles représentent; conséquemment, aucune information sur l'origine et la filiation entre les différentes populations ne peut être tirée de ces méthodes. Finalement, les patrons inférés par la palynologie ne donnent guère d'information concernant les principales forces évolutives qui ont modelé l'histoire de l'espèce à l'étude. En effet, il est impossible de discerner, par exemple, un événement de dispersion par longue distance à l'aide d'une carte isopollinique, car bien souvent la population nouvellement établie est trop restreinte pour être détectée dans les sédiments. Ainsi apparaît évident l'intérêt de l'apport de méthodes moléculaires aux analyses palynologiques: ces données indépendantes permettent d'aller plus loin dans la compréhension des migrations postglaciaires des différentes espèces végétales, en Amérique du Nord comme ailleurs (Bermingham et Moritz, 1998; Jackson, 2006).

Dans les études phylogéographiques, il importe de tenir compte des changements qu'a subi dans le temps le territoire géographique où évolue l'espèce en question, afin d'évaluer l'impact des principales barrières physiques: masses glaciaires en continuuel mouvement, lacs proglaciaires temporaires et reliefs accidentés, dans le but de comprendre l'histoire postglaciaire des espèces et leurs migrations.

D'abord, commençons par revoir brièvement l'histoire géologique récente de l'Amérique du Nord. La période Quaternaire couvre les derniers 2,6 millions d'années de l'ère Cénozoïque. Les deux époques les plus récentes du Quaternaire sont le Pléistocène, de 1,8 millions d'années à 11 430 ans A.A. (en années sidérales, soit 10 000 ans <sup>14</sup>C BP), et l'Holocène depuis lors, époque dans laquelle nous nous trouvons aujourd'hui. Pendant le Pléistocène, ce sont surtout des conditions glaciaires qui régnaient. Durant les derniers 450 000 ans, par exemple, ce n'est que de 10 à 20 % du temps que les glaces furent aussi peu étendues que durant l'Holocène; le reste du temps, elles se déployaient largement dans l'hémisphère Nord, couvrant jusqu'à 30 % des continents.

Les dernières glaciations nord-américaines remontent au Wisconsinien (~80 000-10 000 années  $^{14}\text{C}$  BP), lorsqu'un immense glacier recouvrait tout le Canada; au Wisconsinien supérieur (~23 000-10 000 années  $^{14}\text{C}$  BP), à l'époque de son maximum d'extension il y a environ 21 000 années  $^{14}\text{C}$  BP (25 000 ans A.A.), la marge méridionale de l'inlandsis descendait jusqu'au  $40^{\circ}\text{N}$ , et la frange nord des États-Unis était sous l'emprise de la glace. À partir de 25 000 ans A.A., la masse glaciaire a commencé à se retirer (fin vers 6000 ans A.A., Dyke *et al.*, 2003), permettant aux espèces végétales qui occupaient les terres au sud du glacier de coloniser les espaces nouvellement libérés des glaces.

En se retirant peu à peu, l'inlandsis a créé plusieurs étendues d'eau douce temporaires. D'abord, dès 18 500 ans A.A., des lacs proglaciaires apparaissent brièvement dans la région des Grands Lacs. Puis, une réavancée de l'inlandsis a fait disparaître ces étendues d'eau au profit de la glace, jusqu'à 16 800 ans A.A., où les Grands Lacs, tels que nous les connaissons aujourd'hui, s'installent pour de bon. C'est également vers 16 800 ans A.A. qu'une incursion marine a formé la Mer de Goldthwait, envahissant l'actuel Golfe du St-Laurent. Plus à l'ouest, la disparition de deux lobes de glaces situés dans le sud de l'actuel Manitoba a donné naissance au Lac Agassiz dès 14 100 ans A.A., qui se déplacera vers le nord avec la fonte des glaces, pour finalement disparaître lorsque, il y a 8 400 ans A.A., la principale masse glaciaire se fragmenta en deux dans le nord de l'Ontario actuel, les eaux du Lac Agassiz se déversant alors dans la Mer de Tyrell. Vers 13 450 ans A.A., la Mer de Champlain aurait pu aussi bloquer la migration vers le nord et vers l'ouest, jusqu'à sa fusion avec la Mer de Goldthwait (Dyke *et al.*, 2003). L'inconstance de ces grandes étendues d'eau qui ont jalonné la dernière déglaciation du continent nord-américain a évidemment façonné les migrations postglaciaires des espèces végétales, en déterminant la disponibilité à la recolonisation des territoires nouvellement déglacés.

Puis survient la question des barrières géographiques, barrières qui peuvent prendre la forme de montagnes, de vallées profondes, ou de côtes suffisamment

importantes pour empêcher l'espèce considérée de s'approprier librement le territoire. En Europe, les principales barrières géographiques sont les chaînes montagneuses des Alpes et des Pyrénées avec leur relief accidenté, ainsi que la Mer Méditerranée. Dans l'est de l'Amérique du Nord, les barrières sont plus rares et moins importantes, et orientées dans l'axe nord-sud, donc peu susceptibles de freiner la migration des espèces. Cependant, une des barrières géographiques qui pourrait être importante dans cette région est la chaîne des Appalaches qui s'étend de l'Alabama jusqu'au centre de la Gaspésie dans un axe sud-ouest nord-est. Cette chaîne de montagnes, qui sépare les basses terres de la Côte Est du reste du continent américain, semble avoir joué un rôle dans la répartition génétique postglaciaire de certaines espèces, notamment *Trillium grandiflorum* (Griffin et Barrett, 2004) et *Pinus banksiana* (Godbout *et al.*, 2005), et sur la distribution des polyploïdes d'*Apios americana* (Joly et Bruneau, 2004); elle pourrait bien jouer un rôle dans la répartition génétique de nombreuses autres espèces. Sans empêcher les espèces végétales de passer par-delà ses nombreux sommets, cette chaîne montagneuse pourrait avoir dirigé le déplacement des espèces le long de ses contreforts. D'autres barrières géographiques ayant pu influencer la recolonisation des espèces végétales venant des refuges du sud pourraient être représentées par le réseau hydrographique des Grands Lacs, les îles isolées et les côtes morcelées des Maritimes, ou, dans une moindre mesure, le Fleuve Saint-Laurent et son Golfe.

## 2. *Acer saccharum*: situation taxonomique et géographique

Le genre *Acer*, établi par Tournefort en 1719, est composé d'environ 150 espèces réparties principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord (Huang *et al.*, 2002). Ce genre fait partie de la famille des Sapindacées qui comprend également le genre *Dipteronia*, limité à deux espèces asiatiques. Le genre *Acer* se compose d'arbres et d'arbustes caducifoliés, et se distingue par ses feuilles opposées et ses akènes ailés, ou samares, uniséminés et disposés par paires. Le plus ancien fossile nord-américain attribué à ce genre a été retrouvé dans le sud de la Californie et daté du Crétacé Supérieur, il y a 100 millions d'années (Oterdoom, 1994; Boulter *et al.*, 1996). Par

contre, l'origine géographique d'*Acer* n'est pas connue avec certitude. Parmi les hypothèses qui ont été avancées, celle qui est la plus largement acceptée voudrait que le genre *Acer* ait son centre d'origine en Asie (Xin *et al.*, 2002), puisque c'est dans l'est de l'Himalaya et en Chine centrale que l'on trouve la plus grande diversité d'érables, une cinquantaine d'espèces (Marie-Victorin, 1935; Anseau et Bernier, 1995). Par contre, Wolfe et Tanai (1987) allèguent que le genre *Acer* se serait d'abord diversifié en Amérique du Nord durant l'Éocène, et aurait traversé la Béringie pour atteindre l'Asie durant la même période. Durant l'Oligocène, des taxons asiatiques seraient ensuite revenus vers l'Amérique du Nord, pour finalement disparaître durant le Miocène (Boulter *et al.*, 1996). De nos jours, treize espèces d'érables sont indigènes en Amérique du Nord, et dix d'entre elles se trouvent au Canada (Anseau et Bernier, 1995).

Une espèce aujourd'hui éteinte, *Acer bolanderi* Lesquereux (1878), a été retrouvée dans un dépôt datant du Miocène situé dans l'est de l'état de l'Oregon. Cette espèce est intimement reliée à *Acer saccharum* ssp. *leucoderme* et *A. saccharum* var. *grandidentatum* (Oterdoom, 1994), deux taxons proches de l'érable à sucre, et pourrait représenter un ancêtre commun au complexe. D'autre part, des dépôts européens datant de l'Oligocène supérieur présentent des fossiles d'*Acer paleosaccharinum* Stur (1867), que l'on peut relier à *A. saccharum*. *Acer paleosaccharinum* est disparu durant le Miocène inférieur (Oterdoom, 1994).

L'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh.) est une espèce arborescente que l'on trouve exclusivement dans l'est de l'Amérique du Nord. Au Canada, son aire de peuplement actuelle s'étend de l'extrême sud-est du Manitoba jusqu'en Nouvelle-Écosse. Il est présent à l'Île-du-Prince-Édouard et au Nouveau-Brunswick, mais pas à Terre-Neuve, ni sur l'Île d'Anticosti, au Québec. Sa limite nord suit grossièrement le 49<sup>e</sup> parallèle, dans le sud de l'Ontario jusqu'au Saguenay, où il présente de petites populations satellites jusqu' autour du Lac Saint-Jean. On trouve également l'érable à sucre en Gaspésie, mais en des endroits souvent isolés. Aux États-Unis, l'espèce est présente à partir du centre du Minnesota et de l'Iowa, avec quelques populations satellites dans le Dakota du Sud. L'érable à sucre est présent dans l'extrême est du

Kansas, et suit la frontière sud du Missouri et du Tennessee, avec quelques populations isolées en Alabama, en Georgie et en Caroline du Sud. La limite passe ensuite par la Virginie pour remonter vers le New Jersey, où elle atteint la côte Atlantique. L'espèce est présente dans les États de la Nouvelle-Angleterre.

Cet arbre affectionne les sols frais et riches, les érablières à sucre formant de nos jours souvent des peuplements purs, sur les brunisols typiques du sud du Québec. Par ailleurs, l'érable à sucre tolère très bien l'ombre (Anseau et Bernier, 1995). Les semis peuvent ainsi attendre plusieurs années une percée dans le couvert pour prendre de l'ampleur. Cet arbre est prisé pour son bois solide et de qualité (*Acer* vient du latin et signifie « dur ») dont on fabrique notamment meubles, parquets et boiseries, pour sa sève sucrée qui donne le sirop, la *tire* et le sucre d'érable, mais aussi pour sa valeur ornementale. Arbre dont on ne peut démentir l'importance tant du point de vue culturel qu'économique et écologique, il est l'un des typiques représentants des forêts mixtes et décidues de l'est de l'Amérique du Nord. C'est une espèce diploïde ( $2n=26$ ), monoïque, qui présente une reproduction entomogame et anémogame (Farrar, 1996).

Il règne cependant une confusion tangible concernant le statut spécifique d'*Acer saccharum* et de certaines entités taxonomiquement proches. En effet, une recherche avec les termes « *Acer saccharum* » à partir du site internet de PLANTS Database (<http://plants.usda.gov>) du Ministère états-unien de l'agriculture (USDA) nous retourne les 23 résultats suivants:

*Acer barbatum* Michx.

*Acer saccharum* Marsh. ssp. *floridanum* (Chapman) Desmarais

*Acer saccharum* Marsh. var. *floridanum* (Chapman) Small & Heller

*Acer grandidentatum* Nutt. var. *grandidentatum*

*Acer saccharum* Marsh. ssp. *grandidentatum* (Nutt.) Desmarais

*Acer saccharum* Marsh. var. *grandidentatum* (Nutt.) Sudworth

*Acer grandidentatum* Nutt. var. *sinuosum* (Rehd.) Little

*Acer saccharum* Marsh. ssp. *brachypterum* (Woot. & Standl.) E. Murr.



*Acer saccharum* Marsh. var. *sinuosum* (Rehd.) Sarg.  
*Acer leucoderme* Small  
*Acer saccharum* Marsh. ssp. *leucoderme* (Small) Desmarais  
*Acer saccharum* Marsh. var. *leucoderme* (Small) Rehd.  
*Acer nigrum* Michx. f.  
*Acer saccharum* Marsh. ssp. *nigrum* (Michx. f.) Desmarais  
*Acer saccharum* Marsh. var. *nigrum* (Michx. f.) Britt.  
*Acer saccharum* Marsh. var. *viride* (Schmidt) E. Murr.  
*Acer saccharum* Marsh.  
*Acer saccharum* Marsh. var. *saccharum*  
*Acer saccharum* Marsh. var. *glaucum* (F. Schmidt) Sarg.  
*Acer saccharum* Marsh. var. *rugellii* (Pax) Rehd.  
*Acer saccharum* Marsh. var. *schneckii* Rehd.  
*Acer saccharum* Marsh. ssp. *ozarkense* E. Murr.  
*Acer saccharum* Marsh. ssp. *schneckii* (Rehd.) Desmarais

Nous pouvons ainsi constater que les taxons *Acer barbatum* (= *A. floridanum*; voir Ward, 2004), *A. grandidentatum*, *A. leucoderme*, *A. nigrum*, et *A. saccharum* ont changé plusieurs fois de statut, passant de la variété à la sous-espèce, et même au niveau de l'espèce. Manifestement, le statut de ces taxons semble ne pas faire consensus au sein des botanistes. Le taxon *A. nigrum* est celui dont la classification a subi le plus de remaniements (Skepner et Krane, 1997, 1998): il est tantôt une espèce d'érable proprement dite (Little, 1979), tantôt une sous-espèce (de Jong, 1994) ou une variété (Farrar, 1996) d'*A. saccharum*.

Cette incertitude taxonomique peut être imputée à la définition biologique de l'espèce, qui dicte que des espèces séparées sont incapables de se reproduire entre elles, alors qu'il semble exister de l'hybridation entre ces différents taxons. Cependant, les botanistes reconnaissent des différences morphologiques importantes entre ces entités, et sont donc portés à les classer comme des espèces séparées.

Il se pourrait que le cas d'*Acer saccharum* et d'*A. nigrum* représente en fait un exemple de spéciation avortée. En effet, l'hypothèse avancée par Skepner et Krane (1998), voudrait que l'aire ancestrale des érables ait été divisée durant le pléniglaciaire, créant ainsi deux entités génétiquement distinctes, et que la différenciation morphologique subséquente d'*A. saccharum* et d'*A. nigrum* n'ait pas été complétée. Quoiqu'il en soit, cette ambiguïté taxonomique n'est pas encore élucidée, et des études additionnelles seront nécessaires pour comprendre les liens qui unissent ces différents taxons.

Concernant les mouvements de la plante en regard des migrations postglaciaires, il est intéressant de savoir à quelle distance une samare d'érable peut s'éloigner de l'arbre parental. En fait, la distance de dispersion est affectée par plusieurs facteurs, notamment la masse et la vélocité de la semence (en fonction de son poids et de la portance de l'aile; pour *Acer*: 102 cm/sec), la force et la direction des vents, la hauteur à laquelle la samare est attachée sur l'arbre et la nature du milieu environnant (forêt fermée ou bordure de champ, par exemple) (Johnson, 1988; Wada et Ribbens, 1997). Ces facteurs interagissants entre eux rendent le potentiel de dispersion d'une semence complexe à estimer, et c'est d'ailleurs pourquoi les données relevées de la littérature semblent contradictoires.

Davis (1981) propose une vitesse de migration pour *Acer* de 200 mètres par année durant l'Holocène, mais ceci est estimé à partir de données paléopalynologiques, donc indirectement. Des données autoécologiques relatives à plusieurs espèces du genre *Acer* indiquent que des samares sortent habituellement de l'ombre portée de l'arbre parental et se dispersent sur une trentaine de mètres, en moyenne (tableau I). En effet, selon les données de Johnson (1988), on trouve au moins un semis d'érable à sucre par mètre carré à une distance de 31 mètres de l'arbre parental. Cependant, bien que la majorité des semences tombent à proximité de l'arbre parental, une fraction peut se disperser sur des distances plus grandes (Clark *et al.*, 1998b); mais les mêmes études autoécologiques mentionnent rarement ces possibilités pour les samares d'*Acer*, alors que des distances comme celles de 200 mètres annuels avancées par Davis sont

théoriquement possibles, surtout en tenant compte d'un vecteur de dispersion plus efficace que la simple diffusion par le vent (par exemple, par des mammifères granivores ou des oiseaux; voir la section suivante pour une discussion plus approfondie sur ces phénomènes). En ce sens, l'étude de Schwarz *et al.* (2003) propose que la samare de l'éérable à sucre puisse se disperser jusqu'à 100 mètres de l'arbre parental, ces données étant basées sur celles de Godman (1969), citées dans Burns et Honkala (1990). Cette dernière possibilité est appuyée par l'étude de McLachlan *et al.* (2005) qui tente d'établir le véritable taux de migration de certaines espèces arborées de l'Amérique du Nord en superposant des données moléculaires aux patrons paléopalynologiques disponibles, et qui propose un taux de migration de 80 à 90 mètres par année pour *Acer rubrum*. Quoiqu'il en soit, Clark *et al.* (1998b) nous rappellent que les fronts de dispersion suivent tout sauf des courbes théoriques, et qu'étant donnée la complexité de ces phénomènes, un taux de migration maximum peut ne pas exister.

**Tableau I:** Distances moyennes de dispersion observées pour la samare de plusieurs espèces d'érables selon des données autoécologiques provenant de diverses études.

Espèce considérée	Distance moyenne de dispersion (mètres)	Études (année)
<i>Acer saccharum</i>	8,15	Ribbens <i>et al.</i> (1994)
<i>Acer rubrum</i>	9,525 et 11,591	Ribbens <i>et al.</i> (1994)
<i>Acer sp.</i>	25,2 ± 2,39	Clark <i>et al.</i> (1998)
<i>Acer palmatum</i> var. <i>Matsumurae</i>	12,5	Wada et Ribbens (1997)
<i>Acer rubrum</i>	30,8 ± 3,8	Clark (1998)

Un dernier article digne de mention est celui de Guries et Nordheim (1984) qui recense leurs expériences concernant la dispersion des samares de plusieurs espèces d'érables de l'Amérique du Nord. Cette étude, axée sur les caractéristiques physiques des samares, présente des potentiels de dispersion pour les semences d'*Acer saccharum* de 40 à 400 mètres, selon la vitesse du vent, entre 2 et 20 m/sec. Cependant, ces données réfèrent plus à des arbres isolés qu'à des arbres en pleine forêt, car la turbulence causée par les végétaux à proximité n'est pas prise en compte dans les formules mathématiques

qu'utilisent les deux chercheurs. Néanmoins, même lorsque les vents sont relativement faibles, une dispersion substantielle est possible, à cause de la direction et de la magnitude du vecteur de sustentation des samares d'érables. De plus, une dispersion secondaire par un animal est possible, mais ce genre de dispersion sera discuté plus loin.

### 3. *L'expansion septentrionale postglaciaire de l'aire de peuplement d'Acer saccharum: données factuelles et hypothèses*

Avant de discuter des différentes hypothèses qui peuvent expliquer la migration postglaciaire de l'érable à sucre sur le territoire nord-américain, voyons d'abord quelques théories générales concernant la survie des plantes lors du dernier maximum glaciaire.

Il a déjà été reconnu que, durant le pléniglaciaire, certaines espèces végétales aient pu se réfugier dans des îlots épargnés des glaces, appelés des *nunataks* (Wynne-Edwards, 1937; Pielou, 1991; Stehlik, 2002). La preuve de l'existence d'un *nunatak* est difficile à établir, et se fait souvent par la négative. Pour le Québec, le frère Marie-Victorin présente dans sa flore Laurentienne (1935) les endroits où d'éventuels *nunataks* ont été désignés: il s'agit de l'archipel des îles du Bic dans le Bas-Saint-Laurent, d'une partie de l'Île d'Anticosti, et de la majorité de la péninsule gaspésienne. L'existence de ces éventuels *nunataks* a cependant été longuement débattue (Wynne-Edwards, 1937) et semble intenable à la lumière de données récentes (Dyke *et al.*, 2003).

Bien que l'hypothèse d'une survie dans des *nunataks*, suivie d'une migration postglaciaire à partir d'un tel refuge soit très peu probable pour expliquer la répartition géographique d'une espèce thermophile comme l'érable à sucre, il serait cependant intéressant ici, uniquement dans un but théorique, de prévoir ce que l'on devrait observer au niveau génétique, au sein des populations qui auraient survécu dans un de ces refuges. Si par exemple, l'on imagine que des érables à sucre aient survécu à cette période glaciaire confinés dans les différents *nunataks* québécois mentionnés précédemment, la différenciation génétique entre les populations s'y trouvant aujourd'hui

devrait être relativement élevée puisque ces populations auraient évolué isolément pendant une très longue période, soit depuis le dernier interglaciaire (Sangamonien) qui date de plus ou moins 100 000 ans (en supposant que les *nunataks* s'y soient maintenus tout ce temps, et que le flux génique entre ces populations aurait été nul, puisque trop isolées). Ces populations québécoises seraient tout aussi différentes les unes des autres que lorsqu'on les comparerait avec les populations de l'extérieur. Cette hypothèse n'est pas tenable pour l'érable à sucre, espèce relativement thermophile, qui aurait eu de la difficulté à survivre entouré par les glaces. À l'évidence, l'érable à sucre a survécu ailleurs aux dernières glaciations du Quaternaire.

Une autre possibilité de refuge pour les espèces arborescentes dans l'est de l'Amérique du Nord est celle des terres émergées durant le pléniglaciaire au large des Maritimes et de la Côte Est américaine. En effet, jusqu'à 12 000 ans A.A., une immense île pointait hors de l'eau près de Terre-Neuve (Dyke *et al.*, 2003). L'Île de Sable, au large de la Nouvelle-Écosse actuelle, était aussi dégagée des glaces dès 20 800 ans A.A. (Dyke *et al.*, 2003) et couvrait 250 km de longueur sur 50 km de largeur (Pielou, 1991), soit une superficie beaucoup plus grande que ce qui en reste aujourd'hui. De plus, des terres émergées au sud de Cape Cod (Massachusetts) durant le pléniglaciaire auraient pu servir de refuge aux espèces (Dyke *et al.*, 2003). Les conifères *Pinus banksiana* (Godbout *et al.*, 2005), *P. resinosa* (Walter et Epperson, 2001, 2005) et *Picea mariana* (Jaramillo-Correa *et al.*, 2004) se seraient réfugiés dans les Maritimes, entre les Îles-de-la-Madeleine et la Nouvelle-Écosse. Bien que cette hypothèse soit vraisemblable pour ces espèces conifériennes et appuyée par des données moléculaires, il semble peu probable que l'érable à sucre ait pu se réfugier dans ces terres émergées. Encore une fois, cette espèce thermophile n'aurait en principe pas pu survivre si près des glaces.

Dans un autre ordre d'idées, la migration postglaciaire de l'érable à sucre, qui succéda à la survie dans les refuges, est aussi très peu connue. En effet, quelles sont les principales voies migratoires? Par où l'érable à sucre a-t-il migré? Les migrations des espèces végétales sont plus complexes qu'un simple front migrant vers le nord lors de l'adoucissement du climat. Ceci peut s'illustrer, entre autres, par la théorie de l'inertie

écologique (Pielou, 1991) qui explique les désordres dans les successions habituelles en reconnaissant des décalages migratoires entre les espèces et les populations. On peut ainsi retrouver des communautés écologiques pour le moins surprenantes, comme l'association de *Pinus strobus*, une espèce relativement thermophile, en même temps que *Salix herbacea* et *Dryas integrifolia*, deux espèces arctiques, dans la région de Niagara durant le Dryas Récent (10 800 - 10 000 ans <sup>14</sup>C BP, soit de 13 000 à 11 350 ans A.A.; Mayle et Cwynar, 1995). Cette oscillation climatique, ainsi que celle de l'optimum climatique de l'Holocène Moyen (7 800 - 3 500 ans A.A.), enregistrées autant dans le sud de l'Ontario (Yu, 2003), dans les Maritimes (Mayle et Cwynar, 1995), qu'en Gaspésie (Marcoux et Richard, 1995) sont des exemples de petites oscillations du climat qui pourraient expliquer ce type de délais dans la migration des espèces. Il n'est pas impossible que des oscillations de ce genre, et même d'autres de moindre envergure, aient pu brouiller les routes de migration de l'érable à sucre. En ce sens, on retrouve du pollen d'érable à sucre daté de la même époque au Saguenay Lac-Saint-Jean et dans la région de Montréal. Finalement, la présence de barrières géographiques, telles que mentionnées précédemment, aurait pu complexifier la migration de l'espèce.

Selon Yu (2003), l'érable à sucre serait arrivé dans la région de l'escarpement des chutes Niagara, dans le sud de l'Ontario, entre 10 000 et 9 600 ans <sup>14</sup>C BP (soit entre 11 560 et 10 950 ans A.A.). Il serait intéressant ici d'évaluer l'importance des Grands Lacs et des autres étendues d'eau en constante évolution durant la déglaciation, comme barrières à la dispersion de l'espèce, et de comprendre de quelles entités génétiques découlent les populations d'érables à sucre présentes au nord de la limite maximale d'extension des glaces. En ce sens, une étude menée par Young *et al.* (1993) sur la variabilité génétique de populations canadiennes d'érables à sucre conclut à une distribution régionale de cette variabilité. À l'aide d'alloenzymes, ils ont identifié deux grands groupes génétiques, l'un en Ontario et l'autre s'étendant du Québec aux Maritimes. L'une des hypothèses avancées pour expliquer cette répartition s'inspire des travaux de Lucy Braun (1964) et suggère la présence de deux refuges distincts durant le pléniglaciaire: le premier se situant dans l'Iowa, et à partir duquel auraient migré les érables à sucre jusque dans le sud de l'Ontario; l'autre ensemble génique aurait migré à

partir d'un deuxième refuge situé dans les Appalaches méridionales, et aurait suivi la Côte Est américaine pour atteindre le Nouveau-Brunswick, la Nouvelle-Écosse et la péninsule gaspésienne, où un corridor déglacé aurait existé dès 12 000 ans <sup>14</sup>C BP (14 100 ans A.A.). Le front migratoire de l'est aurait d'ailleurs été bloqué vers l'ouest par les eaux des mers de Goldthwait et de Champlain. Puis, ces deux groupes génétiquement distincts auraient finalement refusionné dans la région se trouvant au nord des Grands Lacs, il y a environ 9 000 ans <sup>14</sup>C BP (10 200 ans A.A.). Si tel était le cas, on devrait pouvoir observer, au niveau génétique, une rupture à grande échelle entre les populations de l'ouest et celles de l'est de l'aire de répartition, puisque selon ces mêmes auteurs, les populations échantillonnées à une échelle régionale ne sont pas panmictiques, et que les deux groupes auraient été isolés génétiquement depuis au moins le pléniglaciaire, sinon avant. S'il n'y avait eu qu'un seul refuge, les populations actuelles présenteraient plutôt un patron continu, puisque les génotypes ancestraux auraient pu s'homogénéiser avant d'entreprendre la migration postglaciaire, et durant celle-ci.

Il est aussi important de discuter de l'origine des populations satellites du nord de l'aire de peuplement de l'espèce, soit celles du Saguenay-Lac-St-Jean et de la péninsule gaspésienne. En effet, malgré ses limites, l'analyse pollinique, appliquée avec les plus hauts standards de choix des sites (petits lacs) et d'identification des grains de pollen, n'en a pas moins permis de reconnaître l'ancienneté du peuplement par l'érable à sucre dans les localités satellites de la Sagamie (vers 8000 ans A.A.) et de la Gaspésie (vers 4300 ans A.A.) aujourd'hui dominées par les sapinières.

L'érable à sucre aurait pu se trouver en ces endroits disjoints par trois processus différents, tels qu'indiqués par Pielou (1991) pour expliquer la présence d'aires de répartition fragmentées. Écartons d'abord la possibilité de *nunataks*, étant donné la thermophilie de l'espèce à l'étude et surtout, de ce que nous savons de la paléogéographie de la déglaciation (Dyke *et al.*, 2003). Le deuxième processus fut proposé pour l'érable à sucre dans la péninsule gaspésienne, par Pierre Dansereau. En 1944, celui-ci avançait que l'érablière gaspésienne aurait pu, dans le passé, conquérir les plateaux gaspésiens d'où elle est présentement absente. Elle aurait ainsi profité de la

période Hypsithermique qui prit fin il y a environ 3500 ans A.A. (au début du Néoglaciale) et, au retour du climat plus froid, l'espèce se serait réfugiée dans les vallées côtières où on la retrouve aujourd'hui. Si tel avait été le cas, nous pourrions observer très peu, voire aucune variation génétique entre les populations des différentes vallées de la côte, puisque celles-ci auraient été séparées depuis 3500 ans A.A. seulement et que, durant la période Hypsithermique, le flux génique au sein de l'espèce peuplant hypothétiquement toute la péninsule aurait été élevé, conduisant à une homogénéisation génétique qui transparaîtrait encore dans les différentes populations. Cependant, des études palynologiques ont permis d'écarter l'hypothèse de Dansereau; des analyses des sédiments du Lac Turcotte, sur l'un des plateaux de la côte septentrionale gaspésienne, n'ont révélé aucun niveau suffisamment important de pollen d'érable à sucre dans le passé pour croire à la présence de l'espèce en ces endroits (Labelle et Richard, 1984), ce qui permet de conclure que ces aires disjointes septentrionales ne résultaient pas de la fragmentation d'une aire continue ancienne dans ces régions, l'érable à sucre n'ayant vraisemblablement jamais envahi les hauts plateaux gaspésiens. Les travaux subséquents de Marcoux et Richard (1995) et d'Asnong et Richard (2003) corroborèrent cette déduction. Labelle et Richard (1984) proposèrent donc, en guise d'alternative à l'hypothèse de Dansereau, une migration postglaciaire de l'érable à sucre par bonds successifs, d'une vallée à l'autre le long de la côte, donc grandement influencée par la discontinuité des milieux propices au maintien d'érablières. De plus, et tel qu'expliqué ci-après, une dispersion par longue distance est également probable, mais il est impossible de déterminer les sources des semenciers à partir de la paléopalynologie.

Toujours selon Pielou (1991), le troisième processus pouvant expliquer les aires de répartition disjointes est celui des migrations par longue distance. Dans le cas de l'érable à sucre, on peut distinguer deux types de dispersion, selon les principaux modèles théoriques (Cain *et al.*, 2000). Le premier, qui mène à une dispersion locale sur une courte distance, concerne le transport par le vent lorsque la samare tombe de l'arbre (discuté plus haut), les vents forts qui soulèvent les sames tombées au sol pour les porter plus loin, et le transport par les animaux prédateurs. Dans ce dernier cas, la souris



à pattes blanches (*Peromyscus leucopus*) est friande des samares d'érables (McCormick et Meiners, 2000; Meiners, 2005), et son comportement d'accumulation de réserves de nourriture dans son terrier à l'automne joue certainement un rôle dans la dispersion de ce genre botanique, du moins localement. D'autres espèces de rongeurs, notamment le campagnol à dos roux de Gapper (*Clethrionomys gapperi*), le tamia rayé (*Tamias striatus*), et l'écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) sont également des prédateurs de samares d'érables et aident sans doute à la dispersion de ceux-ci. Par contre, la faune aviaire ne semble pas apprécier les samares d'érables, préférant, entre autres, les glands de chênes (Plucinski et Hunter, 2001).

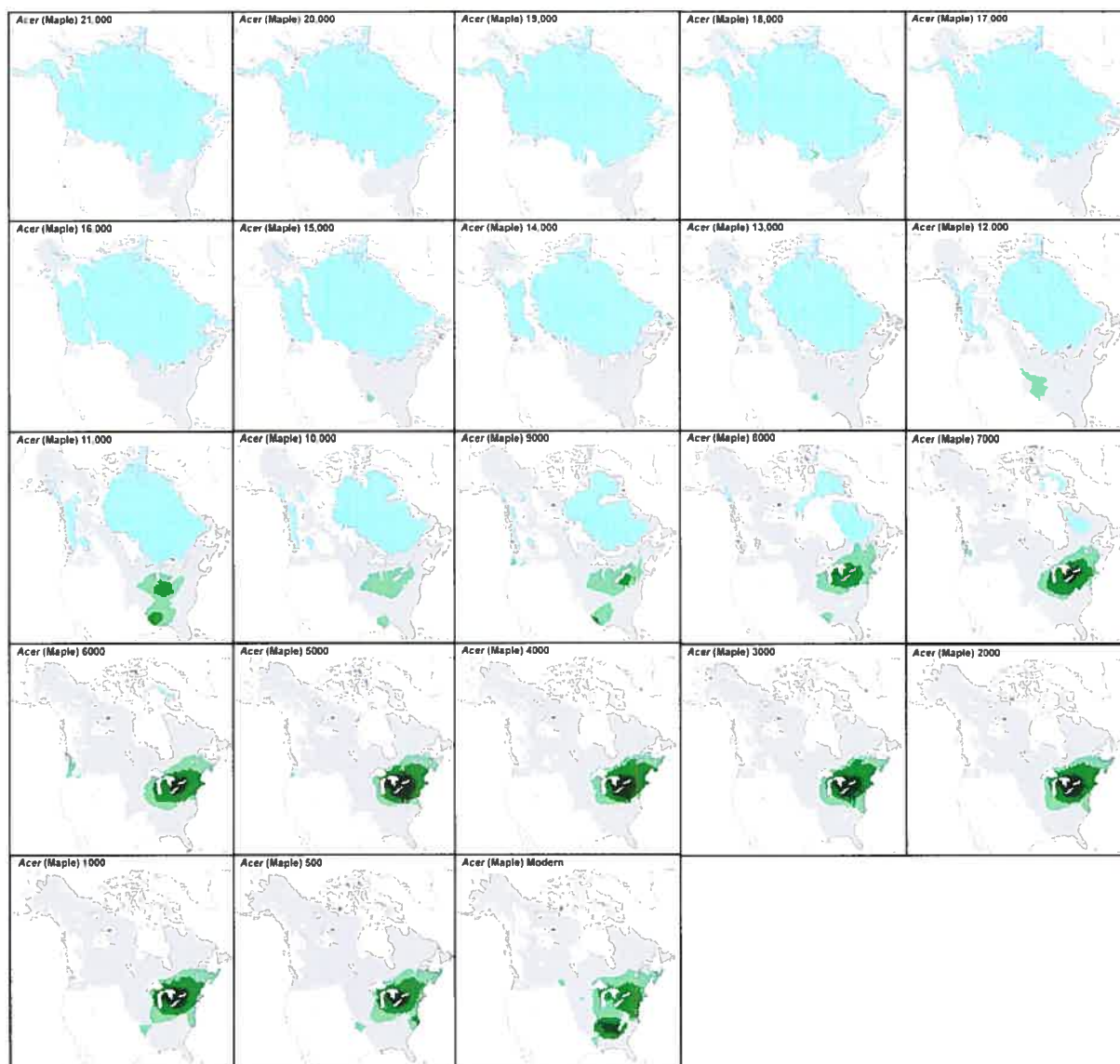
Cependant, la dispersion locale par le vent et par la faune terrestre peut difficilement expliquer des événements de migration sur de très longues distances, événements qui semblent avoir eu une importance de premier ordre lors des migrations postglaciaires de l'Holocène et auraient été plus fréquents que ce qui est habituellement proposé (Clark *et al.*, 1998b; Cain *et al.*, 2000; MacLachlan *et al.*, 2005). C'est ainsi que le deuxième type de dispersion réfère aux migrations sur plus de 100 mètres et inclut le transport de semences par les cours d'eau ainsi que l'hiver, par delà les grandes étendues enneigées, qui pourraient avoir permis l'établissement des populations pionnières éloignées du principal front migratoire (Clark *et al.*, 1998b). Cependant, il semble qu'aucune étude à ce jour n'ait vérifié ces dernières hypothèses au sujet de l'érable à sucre.

En présence d'un événement de dispersion par longue distance, nous devrions observer des populations présentant des génotypes distincts des populations voisines mais ressemblant à d'autres populations plus éloignées géographiquement. De plus, la présence de cours d'eau, tel que le Fleuve St-Laurent, pourrait avoir favorisé une dispersion par longue distance et expliquer un patron qui semblerait autrement divergent. Cependant, il est impossible de tirer de telles conclusions à partir de la paléopalynologie. Il faut donc examiner cette dernière hypothèse avec des données moléculaires, ayant écarté les deux autres processus de formation d'aires de peuplement disjointes.

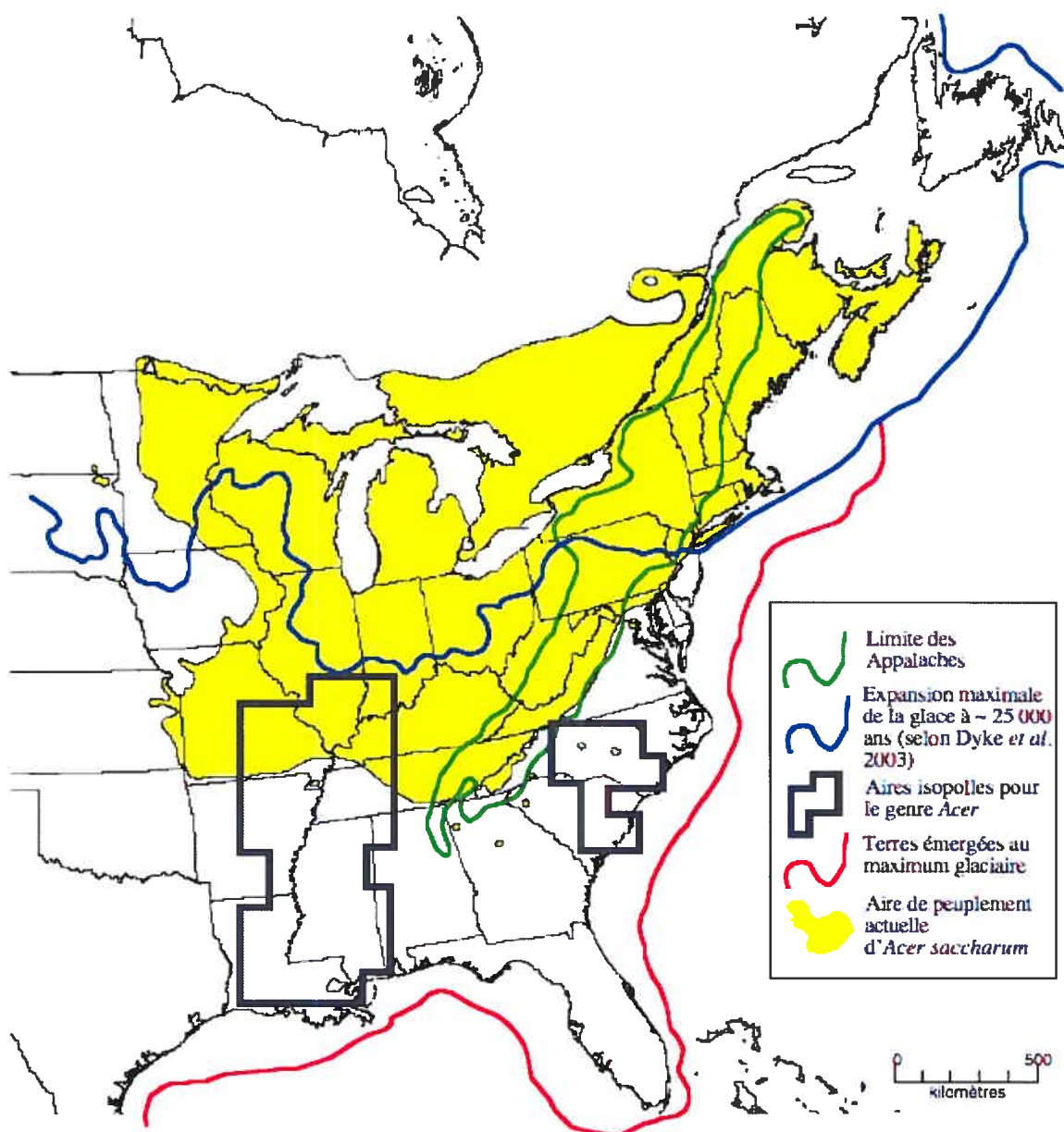
Avant de clore cette section, voyons ce que la paléopalinologie nous indique concernant l'histoire de cette espèce. D'abord, Davis (1981) avance que le refuge du genre *Acer* se trouve dans l'embouchure du Mississippi. On y a d'ailleurs retrouvé des macrorestes appartenant au genre, à un site près de Memphis, au Tennessee et à *Tunica Hills*, en Louisiane (Davis, 1981). Contrairement au pollen, les macrorestes sont typiquement dispersés localement; ces indices permettent donc de croire en la présence réelle du genre à ces endroits, en ces moments. Pollen Viewer 3.2 (Leduc, 2003) livre pour sa part de l'information concernant la représentation pollinique pour le genre *Acer* pour l'est de l'Amérique du Nord, à tous les millénaires depuis le début de la dernière déglaciation (voir figure 1). Dès 18 000 ans A.A., on distingue la présence du pollen d'*Acer* juste au sud de l'actuel Lac Supérieur; cependant, une localisation si proche du glacier est fort improbable, pour les raisons mentionnées précédemment. McLachlan et Clark (2004) indiquent d'ailleurs que le pollen peut être transporté sur de longues distances, et que des quantités infimes de pollen peuvent mener à une surestimation de la taille de l'aire de peuplement réelle d'une espèce (« faux positifs », représentant du pollen provenant de populations éloignées). Finkelstein *et al.* (2006) avancent les mêmes possibilités pour expliquer la présence de pollen d'*Acer saccharum* à l'extérieur de son aire de répartition actuelle.

Il y a 13 000 et 12 000 ans A.A., les cartes provenant de Pollen Viewer 3.2 montrent deux aires isopolliniques distinctes, situées aux environs des deux refuges hypothétiques mentionnés par Young *et al.* (1993). Par contre, ces aires se fondent en une seule sur la carte suivante, il y a 11 000 ans A.A.; ceci pourrait aller à l'encontre de l'hypothèse retenue par ces chercheurs, puisqu'ils avancent que les deux fronts séparés d'*Acer saccharum* se seraient réunis au nord des Grands Lacs, vers 9000 ans <sup>14</sup>C BP, soit vers 10 200 ans A.A. Étant donné que les cartes isopolliniques représentent l'information pour toutes les espèces d'érables de l'Amérique du Nord, il est impossible, uniquement à partir de ces données, de conclure sur l'hypothèse explorée par ces chercheurs.

Finalement, les cartes isopolliniques du maximum glaciaire de Jackson *et al.* (2000) présentent également pour le genre *Acer* deux zones isolées par plus de 500 km, et se situant approximativement aux endroits correspondants aux refuges hypothétiques retenus par Young *et al.* (1993) (figure 2).



**Figure 1:** Cartes tirées de Pollen Viewer 3.2 (Leduc, 2003) indiquant la présence pollinique du genre *Acer*. Le blanc dénote une absence de données. La glace est représentée en bleu pâle. La présence de pollen est traduite en pourcentage: gris = 0 à 1%, vert pâle = 1 à 2%, vert moyen = 2 à 4%, vert foncé = 4 à 100%.



**Figure 2:** Carte représentant les aires isopolles du genre *Acer* (zones en gris), correspondant à > 2% de pollen retrouvé dans les sédiments du maximum glaciaire, telles que présentées par Jackson *et al.* (2000). La surface en jaune représente l'aire de peuplement actuelle d'*Acer saccharum*. Le trait orange représente approximativement l'extension des terres émergées lors du maximum glaciaire (selon les données de Pollen Viewer 3,2; Leduc, 2003), causée par la baisse du niveau marin. La limite des Appalaches, ainsi que l'extension maximale de la glace, sont représentées par les traits vert et bleu, respectivement.

Les hypothèses avancées sur l'histoire postglaciaire de l'éérable à sucre gagneraient à être ré-examinées à la lumière des résultats moléculaires provenant de plusieurs génomes, afin de déterminer lesquelles sont les plus plausibles, bien qu'elles ne soient pas toutes mutuellement exclusives. Par exemple, rien n'empêche que la migration se soit produite par front continu à un endroit, et qu'en même temps mais en d'autres lieux, des événements de migration par longue distance aient eu cours. De plus, il est probable que la migration se soit faite par palliers, la progression de l'espèce sur le territoire ayant été entrecoupée de pauses, voire même de fragmentation de l'aire de répartition nouvellement établie. De telles subtilités peuvent être explorées grâce à l'approche moléculaire, étudiée conjointement aux données que nous procure la paléopalynologie, et en considérant toute l'aire de peuplement actuelle de l'espèce. L'usage des données moléculaires en phylogéographie implique des méthodes appropriées dont la description et la justification font l'objet de la prochaine section.

#### *4. Les outils moléculaires appliqués à la phylogéographie: méthodes et justifications*

Les études phylogéographiques permettent de déterminer quels types de forces évolutives ont pu créer le patron généalogique observé aux différents niveaux moléculaires, en sondant la diversité génétique de l'espèce à l'étude, ainsi que sa distribution. Le génome chloroplastique, uniquement transmis par la lignée maternelle chez la majorité des angiospermes (Palmer 1987, Harris et Ingram 1991), reflète la migration des samares de l'éérable à sucre avec plus de fidélité que le génome nucléaire transmis de façon biparentale, étant donné que la samare voyage peu comparativement au grain de pollen (McCauley, 1995). Par contre, le génome chloroplastique étant haploïde, ceci implique que les gènes qu'il contient sont hérités d'un seul locus, et théoriquement, la variance des estimations de structures populationnelles est inversement proportionnelle au nombre de loci utilisés, ce qui limite la précision des patrons de migration inférés uniquement à partir de ce génome (Cain *et al.*, 2000). L'exploration du génome nucléaire en phylogéographie est donc estimable pour

comprendre l'impact du flux génique entre populations et pour déceler des événements démographiques récents, tels que la dispersion par longue distance. Ainsi, l'utilisation complémentaire de ces deux génomes pour comprendre l'histoire évolutive d'une espèce et sa migration présente un avantage indéniable (Schaal et al. 1998, Hare 2001) sur des études qui emploient une seule source de données moléculaires.

Les relations évolutives au-dessus et au-dessous du niveau de l'espèce sont différentes par leur nature propre. En ce sens, ni les méthodes cladistiques développées pour estimer les relations interspécifiques, ni celles visant à évaluer la diversité génétique entre populations, ne peuvent expliquer correctement les relations phylogéographiques. D'une part, les méthodes cladistiques s'appuient sur la prémisse des lignées divergentes et hiérarchiques, ce qui n'est pas le cas au niveau intra-spécifique où l'on rencontre fréquemment des réticulations. D'autre part, des notions propres à la génétique des populations, par exemple l'équilibre entre la dérive génique et le flux génique, ne peuvent s'appliquer lorsque les entités ont commencé à diverger (Schaal *et al.*, 2003). Finalement, l'utilisation des allèles au lieu des populations comme unité de base des études phylogéographiques permet des analyses intégrées de l'histoire au-delà et au-dessous du niveau spécifique sans avoir besoin de faire des distinctions taxonomiques *a priori* (Hare, 2001), ce qui est intéressant pour un complexe d'espèces comme celui d'*Acer saccharum*.

Pour prendre en compte les phénomènes évolutifs propres au niveau intraspécifique - tels que les réticulations, les recombinaisons ou les extinctions d'haplotypes - , il vaut donc mieux utiliser une méthode d'analyse qui est adaptée à ce niveau. Les réseaux d'haplotypes construits à partir de la parcimonie statistique (Templeton *et al.*, 1992) sont tout indiqués pour l'étude phylogéographique. Ce type de réseau peut être construit à la main, lorsque les niveaux de divergence génétique et d'homoplasie sont bas, comme c'est généralement le cas lorsque l'on compare des séquences provenant d'individus d'une même espèce. Cependant, il existe des logiciels, tel que TCS 1.21 (du nom des trois auteurs de la méthode, Templeton, Crandall et Sing;

Clement *et al.*, 2000) qui permettent de créer ce type de réseau pour l'analyse phylogéographique.

L'un des avantages indéniables de l'utilisation de ce type de réseaux est qu'il permet de conserver et d'utiliser de l'information qui serait autrement perdue par l'analyse des données par une méthode traditionnelle. Par exemple, un réseau d'haplotypes peut présenter des « boucles » qui pourraient s'expliquer par des phénomènes de recombinaison génétique, par la présence d'homoplasies ou encore qui révéleraient des erreurs de génotypage (Posada et Crandall, 2001). De plus, la parcimonie statistique a l'avantage de ne pas nécessiter de validation subséquente à son utilisation (Joly et Bruneau, 2004). Ce même système de réseaux d'haplotypes a été utilisé avec succès dans certaines études récentes, telles que l'histoire évolutive et la structure des populations de la plante arctique *Rumex nivalis* (Stehlik, 2002), la compréhension de la répartition géographique et la variabilité chloroplastique chez *Aristolochia kaempferi* (Watanabe *et al.*, 2006) et l'évaluation des origines multiples de plantes cultivées, telles que *Spondias purpurea*, en Amérique centrale (Miller et Schaal, 2005).

Enfin, les méthodes d'analyse de réseaux, comme par exemple l'analyse de clades groupés (ou *nested clade analysis*; Templeton *et al.*, 1995; Templeton 1998, Posada *et al.* 2000) réalisée grâce au logiciel GeoDis (Posada *et al.*, 2000) permettent une interprétation des données plus objective qu'une simple interprétation visuelle du réseau obtenu. De plus, ce type d'analyse permet de distinguer entre des événements démographiques anciens ou historiques, et des événements plus récents, comme le flux génique entre populations ou la migration par longue distance, plutôt relatifs à la structure des populations (Posada *et al.*, 2000).

\*\*\*

L'intégration des éléments abordés succinctement dans ce chapitre tiendra lieu de base à l'étude phylogéographique approfondie portant sur la migration postglaciaire de l'érable à sucre en Amérique du Nord, présentée dans les chapitres subséquents.

En terme objectifs, cette étude se propose d'abord d'explorer brièvement les délimitations inter-espèces entre le taxon *Acer saccharum* et les taxons proches tels que *A. barbatum*, *A. grandidentatum*, *A. leucoderme* et *A. nigrum*, afin d'en tenir compte d'un point de vue phylogéographique. Puis, les hypothèses de refuges pléniglaciaires ci-haut mentionnées seront explorées, relativement à leur nombre et à leur emplacement, pour ensuite s'attarder aux voies probables de migrations postglaciaires. L'impact des barrières géographiques, telles que la région des Grands Lacs et la chaîne montagneuse des Appalaches, sera pris en compte.

Des données moléculaires provenant des génomes nucléaire et chloroplastique permettront d'évaluer la filiation entre les populations d'érables à sucre échantillonnées dans toute l'aire de peuplement actuelle. Ces données seront analysées à l'aide de tests de Mantel afin de vérifier s'il existe une corrélation entre la répartition géographique des haplotypes et leur proximité génétique, ainsi que par une analyse de clades groupés (*nested clade analysis*) qui permettra d'éclairer les hypothèses de refuges glaciaires avec de nouvelles données, et d'évaluer les forces évolutives qui ont pu façonner la migration postglaciaire de l'espèce. Finalement, ces données moléculaires nouvelles seront interprétées en conjonction avec des données paléopalynologiques provenant d'études antérieures.

Cette étude se propose donc d'aller plus loin que tout ce qui a déjà été fait pour comprendre l'histoire de l'érable à sucre depuis les dernières glaciations, en tenant compte de toute l'aire de peuplement actuelle, en incluant des taxons frères et en étudiant conjointement des données paléopalynologiques et des données moléculaires provenant de deux génomes distincts, afin de dresser un portrait général et complet de la migration postglaciaire d'*Acer saccharum* en territoire nord-américain.



# Chapitre II

## Matériel et méthodes

### *1. Échantillonnage*

Des échantillons provenant de 55 populations d'érables à sucre (*Acer saccharum* Marsh., Aceraceae) réparties dans toute l'aire de peuplement actuelle de cette espèce, ont été récoltés au cours des étés 2004 et 2005. Des feuilles de un à dix arbres par population ont été conservées dans du gel de silice jusqu'à l'étape d'extraction de l'ADN génomique. Nous avons aussi obtenu des feuilles de trois populations d'*A. barbatum* Michx. de la Caroline du Nord, et l'Arboretum du Jardin Botanique de Montréal (Québec) nous a permis d'obtenir trois spécimens d'*A. grandidentatum* Nutt. var. *grandidentatum* et un spécimen d'*A. nigrum* Michx. f. Ces taxons faisant partie du complexe *Acer saccharum* ont été inclus dans la présente étude parce que leur aire de répartition recouvre une partie de l'aire d'*A. saccharum*. L'information relative à ces collectes est présentée au tableau II.

**Tableau II:** Informations concernant la récolte de matériel, les spécimens, et leurs données moléculaires (continué sur les pages suivantes).

\*: Déposés à l'Herbier Marie-Victorin (MT).

\*\* : Séquences GenBank haplotype A = DQ887747, haplotype C = DQ887748, haplotype *Acer grandidentatum* = DQ887749.

\*\*\*: Lorsque l'individu est hétérozygote et qu'un deuxième allèle différent du premier a été séquencé.

	Localité	Récolteur(s)*	Coordonnées géographiques		Haplotype chloroplastique (psbA-trnH) **	Haplotypes nucléaires présents (PRK)	Numéro d'accession GenBank pour marqueur nucléaire	
			nord	ouest			allèle a	allèle b***
<i>Acer saccharum</i>								
AROUAC2	Montgomery County, AR, USA	Smith s.n.	34.32.45	-93.39.36	C	-		
CTSTOR1	Tolland County, CT, USA	Anderson et Opel 4705	41.48.22	-72.15.24	C	-		
CTSTOR2	Tolland County, CT, USA	Anderson et Opel 4706	41.48.22	-72.15.24	C	-		
CTSTOR3	Tolland County, CT, USA	Anderson et Opel 4707	41.48.22	-72.15.24	C	-		
ILGLEN1	Pope County, IL, USA	Smith s.n.	37.24.64	-88.39.52	C	-		
ILGLEN2	Pope County, IL, USA	Smith s.n.	37.24.64	-88.39.52	C	1, 16	DQ882687	DQ882688
ILGLEN3	Pope County, IL, USA	Smith s.n.	37.24.64	-88.39.52	C	-		
ILMARQ1	Jersey County, IL, USA	Richard et Grimm s.n.	38.59.39	-90.30.38	C	2, 37	DQ882689	DQ882690
ILMARQ2	Jersey County, IL, USA	Richard et Grimm s.n.	38.59.39	-90.30.38	C	-		
ILMARQ3	Jersey County, IL, USA	Richard et Grimm s.n.	38.59.39	-90.30.38	A	1, 34	DQ882691	DQ882692
ILMARQ4	Jersey County, IL, USA	Richard et Grimm s.n.	38.59.39	-90.30.38	C	-		
INSTMA1	St. Joe County, IN, USA	Jensen s.n.	41.42.24	-86.15.32	C	-		
INSTMA2	St. Joe County, IN, USA	Jensen s.n.	41.42.24	-86.15.32	C	-		
INSTMA3	St. Joe County, IN, USA	Jensen s.n.	41.42.24	-86.15.32	A	-		
INSTMA4	St. Joe County, IN, USA	Jensen s.n.	41.42.24	-86.15.32	C	-		
INSTMA5	St. Joe County, IN, USA	Jensen s.n.	41.42.24	-86.15.32	A	-		
KSJING1	Miami County, KS, USA	Morse 10456-1	38.24.22	-94.39.36	A	33, 34	DQ882693	DQ882694
KSJING2	Miami County, KS, USA	Morse 10456-2	38.24.22	-94.39.36	A	-		
KSJING3	Miami County, KS, USA	Morse 10456-3	38.24.22	-94.39.36	A	34	DQ882695	
KSJING4	Miami County, KS, USA	Morse 10456-4	38.24.22	-94.39.36	A	-		
KSJING5	Miami County, KS, USA	Morse 10456-5	38.24.22	-94.39.36	A	33, 34	DQ882696	DQ882697
KSJING6	Miami County, KS, USA	Morse 10456-6	38.24.22	-94.39.36	A	33	DQ882698	

**Tableau II:** (suite)

	Localité	Récolteur(s)*	Coordonnées géographiques		Haplotype chloroplastique (psbA-trnH) **	Haplotypes nucléaires présents (PRK)	Numéro d'accension GenBank pour marqueur nucléaire	
			nord	ouest			allèle a	allèle b***
KSJING7	Miami County, KS, USA	Morse 10456-7	38.24.22	-94.39.36	A	33	DQ882699	
KSJING8	Miami County, KS, USA	Morse 10456-8	38.24.22	-94.39.36	A	33	DQ882700	
KSLEAV1	Leavenworth County, KS, USA	Morse 10524-1	39.22.38	-94.55.43	A	-		
KSLEAV2	Leavenworth County, KS, USA	Morse 10524-2	39.22.38	-94.55.43	A	34	DQ882701	
KSLEAV3	Leavenworth County, KS, USA	Morse 10524-3	39.22.38	-94.55.43	A	31, 32	DQ882702 DQ882703	
KSLEAV4	Leavenworth County, KS, USA	Morse 10524-4	39.22.38	-94.55.43	A	1, 35	DQ882704 DQ882705	
KSLEAV5	Leavenworth County, KS, USA	Morse 10524-5	39.22.38	-94.55.43	A	-		
KSLEAV6	Leavenworth County, KS, USA	Morse 10524-6	39.22.38	-94.55.43	A	1, 43	DQ882706 DQ882707	
KSLEAV7	Leavenworth County, KS, USA	Morse 10524-7	39.22.38	-94.55.43	A	-		
KSLEAV8	Leavenworth County, KS, USA	Morse 10524-8	39.22.38	-94.55.43	A	-		
KYALEX1	Campbell County, KY, USA	Thieret 61763	38.57.18	-84.22.20	C	1, 10	DQ882708 DQ882709	
KYSHAN1	Warren County, KY, USA	Hertweck s.n.	36.59.30	-86.25.26	C	-		
KYSHAN2	Warren County, KY, USA	Hertweck s.n.	36.59.30	-86.25.26	C	-		
KYSHAN3	Warren County, KY, USA	Hertweck s.n.	36.59.30	-86.25.26	C	3	DQ882710	
KYSHAN4	Warren County, KY, USA	Hertweck s.n.	36.59.30	-86.25.26	A	-		
KYSHAN5	Warren County, KY, USA	Hertweck s.n.	36.59.30	-86.25.26	A	-		
MATEMP1	Worcester County, MA, USA	Faubert et Mercure s.n.	42.33.39	-72.02.21	C	1	DQ882711	
MATEMP2	Worcester County, MA, USA	Faubert et Mercure s.n.	42.33.39	-72.02.21	C	19, 24	DQ882712 DQ882713	
MATEMP3	Worcester County, MA, USA	Faubert et Mercure s.n.	42.33.39	-72.02.21	C	1	DQ882714	
MATEMP4	Worcester County, MA, USA	Faubert et Mercure s.n.	42.33.39	-72.02.21	C	1, 27	DQ882715 DQ882716	
MATEMP5	Worcester County, MA, USA	Faubert et Mercure s.n.	42.33.39	-72.02.21	C	-		
MDZEIG1	Allegany County, MD, USA	Wells 6045	39.39.01	-78.20.60	C	-		
MEKENN4	Kennebec County, ME, USA	Faubert et Mercure s.n.	44.46.06	-69.41.02	C	28	DQ882717	
MIHALE1	Iosco County, MI, USA	Freudenstein 2761-1	44.27.29	-83.31.33	A	1, 28	DQ882718 DQ882719	
MIHALE2	Iosco County, MI, USA	Freudenstein 2761-2	44.27.29	-83.31.33	A	1, 44	DQ882720 DQ882721	
MIMACK1	Mackinac County, MI, USA	Freudenstein 2765-1	45.59.21	-84.58.44	A	1, 29	DQ882722 DQ882723	
MIMACK2	Mackinac County, MI, USA	Freudenstein 2765-2	45.59.21	-84.58.44	A	1, 12	DQ882724 DQ882725	

Tableau II: (suite)

	Localité	Récolteur(s)*	Coordonnées géographiques		Haplotype chloroplastique (psbA-trnH) **	Haplotypes nucléaires présents (PRK)	Numéro d'accension GenBank pour marqueur nucléaire	
			nord	ouest			allèle a	allèle b***
MOCEDA1	Jefferson County, MO, USA	Hill 2005-1	38.23.04	-90.41.38	C	-		
MOCEDA2	Jefferson County, MO, USA	Hill 2005-1	38.23.04	-90.41.38	C	1	DQ882726	
MOCEDA3	Jefferson County, MO, USA	Hill 2005-1	38.23.04	-90.41.38	C	34, 43	DQ882727	DQ882728
NBBEAR1	Tork County, NB, CAN	Joly 1012-1	45.56.17	-67.04.31	C	11, 28	DQ882729	DQ882730
NBBEAR2	Tork County, NB, CAN	Joly 1012-2	45.56.17	-67.04.31	C	1	DQ882731	
NBBEAR3	Tork County, NB, CAN	Joly 1012-3	45.56.17	-67.04.31	C	1	DQ882732	
NCJKNM1	Graham County, NC, USA	Manos 1702-1	35.21.39	-83.55.28	C	-		
NCJKNM2	Graham County, NC, USA	Manos 1702-2	35.21.39	-83.55.28	C	-		
NCJKNM3	Graham County, NC, USA	Manos 1702-3	35.21.39	-83.55.28	C	-		
NCJKNM4	Graham County, NC, USA	Manos 1702-4	35.21.39	-83.55.28	C	1	DQ882733	
NHCANA1	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.37.16	-71.58.23	C	1	DQ882734	
NHCANA2	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.37.16	-71.58.23	C	1	DQ882735	
NHCANA3	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.37.16	-71.58.23	C	-		
NHCANA4	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.37.16	-71.58.23	C	-		
NHCANA5	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.37.16	-71.58.23	C	1	DQ882736	
NHLITT1	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	44.19.51	-71.52.20	C	1	DQ882737	
NHLITT2	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	44.19.51	-71.52.20	C	1	DQ882738	
NHLITT3	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	44.19.51	-71.52.20	C	-		
NHLITT4	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	44.19.51	-71.52.20	C	-		
NHLITT5	Grafton County, NH, USA	Faubert et Mercure s.n.	44.19.51	-71.52.20	C	-		
NSHANT1	Hants County, NS, CAN	Munro et Hebda s.n.	45.24.40	-63.52.50	C	-		
NYOSSI1	Westchester County, NY, USA	Anderson et Opel 4708	41.08.26	-73.51.32	C	-		
NYOSSI2	Westchester County, NY, USA	Anderson et Opel 4709	41.08.26	-73.51.32	C	1, 12	DQ882739	DQ882740
NYTRUM3	Tompkins County, NY, USA	Luckow s.n.	42.32.28	-76.36.34	C	1	DQ882741	
OHCINC1	Hamilton County, OH, USA	Thieret 61765	39.10.19	-84.31.32	C	10, 40	DQ882742	DQ882743
OHCIRC1	Pickaway County, OH, USA	Freudenstein 2759-1	39.38.02	-82.52.20	C	1, 43	DQ882744	DQ882745
OHCIRC2	Pickaway County, OH, USA	Freudenstein 2759-2	39.38.02	-82.52.20	C	1	DQ882746	

**Tableau II:** (suite)

	Localité	Récolteur(s)*	Coordonnées géographiques		Haplotype chloroplastique (psbA-trnH)**	Haplotypes nucléaires présents (PRK)	Numéro d'accèsion GenBank pour marqueur nucléaire	
			nord	ouest			allèle a	allèle b***
ONCAMB1	Region of Waterloo, ON, CAN	Husband F197	43.21.49	-80.19.56	C	1	DQ882747	
ONCAMB2	Region of Waterloo, ON, CAN	Husband F78	43.21.49	-80.19.56	C	28	DQ882749	
ONCAMB3	Region of Waterloo, ON, CAN	Husband A135	43.21.49	-80.19.56	C	1, 41	DQ882750	DQ882751
ONCAMB4	Region of Waterloo, ON, CAN	Husband F371	43.21.49	-80.19.56	C	1, 31	DQ882752	DQ882753
ONGUEL1	Guelph, ON, CAN	Clark s.n.	43.32.23	-80.12.26	C	-		
ONGUEL2	Guelph, ON, CAN	Clark s.n.	43.32.23	-80.12.26	C	1	DQ882754	
ONGUEL3	Guelph, ON, CAN	Clark s.n.	43.32.23	-80.12.26	C	1	DQ882755	
ONOMPA1	Frontenac County, ON, CAN	Hay SH4-24	45.00.23	-76.50.52	C	28	DQ882756	
ONTHUN1	Thunder Bay District, ON, CAN	Smith s.n.	48.20.36	-89.17.04	C	1	DQ882757	
ONTHUN2	Thunder Bay District, ON, CAN	Smith s.n.	48.20.36	-89.17.04	C	-		
ONTHUN3	Thunder Bay District, ON, CAN	Smith s.n.	48.20.36	-89.17.04	C	9, 25	DQ882758	DQ882759
ONTHUN4	Thunder Bay District, ON, CAN	Smith s.n.	48.20.36	-89.17.04	C	1, 28	DQ882760	DQ882761
ONTHUN5	Thunder Bay District, ON, CAN	Smith s.n.	48.20.36	-89.17.04	C	1	DQ882762	
PASLIP1	Butler County, PA, USA	Chmielewski 3047-1	41.03.49	-80.03.23	C	-		
PASLIP2	Butler County, PA, USA	Chmielewski 3047-2	41.03.49	-80.03.23	C	-		
PASLIP3	Butler County, PA, USA	Chmielewski 3047-3	41.03.49	-80.03.23	C	28	DQ882763	
PASLIP4	Butler County, PA, USA	Chmielewski 3047-4	41.03.49	-80.03.23	C	1, 28	DQ882764	DQ882765
PASLIP5	Butler County, PA, USA	Chmielewski 3047-5	41.03.49	-80.03.23	C	36, 42	DQ882766	DQ882767
PECHAR1	Queens County, PE, CAN	Lacroix s.n.	46.15.19	-63.05.56	C	-		
PECHAR2	Queens County, PE, CAN	Lacroix s.n.	46.15.19	-63.05.56	C	-		
PECHAR5	Queens County, PE, CAN	Lacroix s.n.	46.15.19	-63.05.56	?	1	DQ882768	
PECHAR7	Queens County, PE, CAN	Lacroix s.n.	46.15.19	-63.05.56	C	-		
PECHAR10	Queens County, PE, CAN	Lacroix s.n.	46.15.19	-63.05.56	C	-		
QCAMQU1	MRC de La Matapédia, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.29.07	-67.24.26	C	1	DQ882769	
QCAMQU2	MRC de La Matapédia, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.29.07	-67.24.26	C	19, 28	DQ882770	DQ882771
QCAMQU3	MRC de La Matapédia, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.29.07	-67.24.26	C	19, 26	DQ882772	DQ882773
QCASTJ1	MRC du Fjord-du-Saguenay, QC, CAN	Bruneau 1267	48.14.03	-70.12.13	C	1, 23	DQ882774	DQ882775

Tableau II: (suite)

	Localité	Récolteur(s)*	Coordonnées géographiques		Haplotype chloroplastique (psbA-trnH)**	Haplotypes nucléaires présents (PRK)	Numéro d'accension GenBank pour marqueur nucléaire	
			nord	ouest			allèle a	allèle b***
QCASTJ2	MRC du Fjord-du-Saguenay, QC, CAN	Bruneau 1268	48.14.03	-70.12.13	C	-		
QCASTJ3	MRC du Fjord-du-Saguenay, QC, CAN	Bruneau 1269	48.14.03	-70.12.13	C	-		
QCAUST1	MRC de Memphrémagog, QC, CAN	Bellavance s.n.	45.13.02	-72.18.03	C	-		
QCAUST2	MRC de Memphrémagog, QC, CAN	Bellavance s.n.	45.13.02	-72.18.03	C	-		
QCAUST3	MRC de Memphrémagog, QC, CAN	Bellavance s.n.	45.13.02	-72.18.03	C	-		
QCBASK1	MRC de La-Vallée-de-la-Gatineau, QC, CAN	Bruneau s.n.	46.39.24	-75.45.21	C	1	DQ882776	
QCBASK2	MRC de La-Vallée-de-la-Gatineau, QC, CAN	Bruneau s.n.	46.39.24	-75.45.21	C	28	DQ882777	
QCBASK3	MRC de La-Vallée-de-la-Gatineau, QC, CAN	Bruneau s.n.	46.39.24	-75.45.21	C	1	DQ882778	
QCCADR1	MRC du Rocher-Percé, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.34.35	-64.20.50	C	1, 28	DQ882779	DQ882780
QCCADR2	MRC du Rocher-Percé, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.34.35	-64.20.50	C	1	DQ882781	
QCCEHEL1	MRC des Collines-de-l'Outaouais, QC, CAN	Archambault AA170A	45.32.13	-75.48.28	C	-		
QCDDUND1	MRC du Haut-St-Laurent, QC, CAN	Brisson s.n.	45.02.00	-74.28.00	C	1	DQ882782	
QCEBOU1	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1258	47.28.02	-70.19.40	C	-		
QCEBOU2	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1259	47.28.02	-70.19.40	C	1, 28	DQ882783	DQ882784
QCEBOU3	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1260	47.28.02	-70.19.40	C	-		
QCEBOU4	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1261	47.28.02	-70.19.40	C	-		
QCEBOU5	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1262	47.28.02	-70.19.40	C	-		
QCEBOU6	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1263	47.28.02	-70.19.40	C	-		
QCEBOU7	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1264	47.28.02	-70.19.40	C	19, 38	DQ882785	DQ882786
QCEBOU8	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1265	47.28.02	-70.19.40	C	28	DQ882787	
QCEBOU9	MRC de Charlevoix, QC, CAN	Bruneau 1266	47.28.02	-70.19.40	C	1	DQ882788	
QCGASP1	MRC de la Côte-de-Gaspé, QC, CAN	Fortin s.n.	48.50.36	-64.16.14	C	1	DQ882789	
QCGASP2	MRC de la Côte-de-Gaspé, QC, CAN	Fortin s.n.	48.50.36	-64.16.14	C	27, 45	DQ882790	DQ882791
QCGASP3	MRC de la Côte-de-Gaspé, QC, CAN	Fortin s.n.	48.50.36	-64.16.14	C	1, 19	DQ882792	DQ882793
QCGATI1	MRC des Collines-de-l'Outaouais, QC, CAN	Bruneau s.n.	45.30.20	-75.54.16	C	-		
QCGATI2	MRC des Collines-de-l'Outaouais, QC, CAN	Bruneau s.n.	45.30.20	-75.54.16	C	1	DQ882794	
QCGATI3	MRC des Collines-de-l'Outaouais, QC, CAN	Bruneau s.n.	45.30.20	-75.54.16	C	-		

**Tableau II: (suite)**

	Localité	Récolteur(s)*	Coordonnées géographiques		Haplotype chloroplastique (psbA-trnH) **	Haplotypes nucléaires présents (PRK)	Numéro d'accension GenBank pour marqueur nucléaire	
			nord	ouest			allèle a	allèle b***
QCHUNT1	MRC du Haut-St-Laurent, QC, CAN	Faubert et Brisson s.n.	45.04.43	-74.07.35	C	1, 28	DQ882795	DQ882796
QCLANO1	MRC d'Autray, QC, CAN	Mathieu s.n.	45.58.58	-73.12.37	C	1	DQ882797	
QCMARS1	MRC de la Haute-Gaspésie, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	49.09.56	-66.06.31	C	1, 18	DQ882798	DQ882799
QCMARS2	MRC de la Haute-Gaspésie, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	49.09.56	-66.06.31	C	28	DQ882800	
QCMARS3	MRC de la Haute-Gaspésie, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	49.09.56	-66.06.31	C	-		
QCMATA1	MRC de Matane, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.51.24	-67.22.32	C	1, 22	DQ882801	DQ882802
QCMATA2	MRC de Matane, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.51.24	-67.22.32	C	-		
QCMIGU1	MRC d'Avignon, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.04.14	-66.16.47	C	-		
QCMIGU2	MRC d'Avignon, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.04.14	-66.16.47	C	1	DQ882803	
QCMIGU3	MRC d'Avignon, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.04.14	-66.16.47	C	4, 11	DQ882804	DQ882805
QCMONT1	Montréal, QC, CAN	Midy et T.-Coutu s.n.	45.30.19	-76.36.34	C	1, 19	DQ882806	DQ882807
QCNICO1	MRC de Nicolet-Yamaska, QC, CAN	Gauthier s.n.	46.13.11	-72.35.59	C	1, 28	DQ882808	DQ882809
QCNICO2	MRC de Nicolet-Yamaska, QC, CAN	Gauthier s.n.	46.13.11	-72.35.59	C	-		
QCNICO3	MRC de Nicolet-Yamaska, QC, CAN	Gauthier s.n.	46.13.11	-72.35.59	C	1	DQ882810	
QCNICO4	MRC de Nicolet-Yamaska, QC, CAN	Gauthier s.n.	46.13.11	-72.35.59	C	-		
QCPALC1	MRC d'Avignon, QC, CAN	Brouillet et Vaesi LBX81	48.03.50	-66.34.05	C	28	DQ882811	
QCPALC2	MRC d'Avignon, QC, CAN	Brouillet et Vaesi LBX82	48.03.50	-66.34.05	C	6, 21	DQ882812	DQ882813
QCPALC3	MRC d'Avignon, QC, CAN	Brouillet et Vaesi LBX83	48.03.50	-66.34.05	C	-		
QCPODA1	MRC du Rocher-Percé, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.15.13	-64.58.00	C	1, 20	DQ882814	DQ882815
QCPODA2	MRC du Rocher-Percé, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.15.13	-64.58.00	C	28, 44	DQ882816	DQ882817
QCPODA3	MRC du Rocher-Percé, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.15.13	-64.58.00	C	-		
QCSJPJ1	MRC de l'Islet, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	47.08.41	-70.13.34	C	5, 6	DQ882818	DQ882819
QCSJPJ2	MRC de l'Islet, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	47.08.41	-70.13.34	C	1	DQ882820	
QCSJPJ3	MRC de l'Islet, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	47.08.41	-70.13.34	C	1, 13	DQ882821	DQ882822
QCSNDR1	MRC de Rimouski-Neigette, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.15.39	-68.18.38	C	1, 39	DQ882823	DQ882824
QCSNDR2	MRC de Rimouski-Neigette, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.15.39	-68.18.38	C	1	DQ882825	
QCSNDR3	MRC de Rimouski-Neigette, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.15.39	-68.18.38	C	1, 28	DQ882826	DQ882827

**Tableau II: (suite)**

	Localité	Récolteur(s)*	Coordonnées géographiques		Haplotype chloroplastique (psbA-trnH)**	Haplotypes nucléaires présents (PRK)	Numéro d'accension GenBank pour marqueur nucléaire		
			nord	ouest			allèle a	allèle b***	
QCSNDR4	MRC de Rimouski-Neigette, QC, CAN	Faubert et Caron s.n.	48.15.39	-68.18.38	C	1, 28	DQ882828	DQ882829	
VTKILL1	Rutland County, VT, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.40.30	-72.48.51	C	8, 28	DQ882830	DQ882831	
VTKILL2	Rutland County, VT, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.40.30	-72.48.51	C	1	DQ882832		
VTKILL3	Rutland County, VT, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.40.30	-72.48.51	C	1	DQ882833		
VTKILL4	Rutland County, VT, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.40.30	-72.48.51	C	1	DQ882834		
VTKILL5	Rutland County, VT, USA	Faubert et Mercure s.n.	43.40.30	-72.48.51	C	-			
WVMONO1	Randolph County, WV, USA	Smith s.n.	38.42.45	-79.35.15	C	1	DQ882835		
WVMONO2	Randolph County, WV, USA	Smith s.n.	38.42.45	-79.35.15	C	1	DQ882836		
WVMONO3	Randolph County, WV, USA	Smith s.n.	38.42.45	-79.35.15	C	-			
<i>Acer barbatum</i>									
NCDURH1AB	Durham County, NC, USA	Manos 1703-1	36.01.02	-78.55.21	A	-			
NCDURH2AB	Durham County, NC, USA	Manos 1703-2	36.01.02	-78.55.21	C	7, 43	DQ882837	DQ882838	
NCDURH3AB	Durham County, NC, USA	Manos 1703-3	36.01.02	-78.55.21	C	43	DQ882839		
NCDURH4AB	Durham County, NC, USA	Manos 1704-1	36.04.06	-78.54.39	A	30	DQ882840		
NCDURH5AB	Durham County, NC, USA	Manos 1704-2	36.04.06	-78.54.39	A	-			
NCCHAP1AB	Orange County, NC, USA	Manos 1705-1	35.59.48	-79.03.34	A	-			
NCCHAP2AB	Orange County, NC, USA	Manos 1705-2	35.59.48	-79.03.34	A	14, 15	DQ882841	DQ882842	
<i>Acer grandidentatum</i>									
QCMONT3AG	Montréal, QC, CAN	Faubert et Mercure s.n.	45.30.19	-76.36.34	**	-			
QCMONT4AG	Montréal, QC, CAN	Faubert et Mercure s.n.	45.30.19	-76.36.34	**	17	DQ882843		
QCMONT5AG	Montréal, QC, CAN	Faubert et Mercure s.n.	45.30.19	-76.36.34	**	-			
<i>Acer nigrum</i>									
QCMONT2AN	Montréal, QC, CAN	Faubert et Mercure s.n.	45.30.19	-76.36.34	C	1, 42	DQ882844	DQ882845	



## 2. Méthodes moléculaires

L'extraction de l'ADN génomique a été effectuée selon le protocole de Doyle et Doyle (1987), comportant les modifications suivantes: le tampon d'extraction était composé de 600  $\mu$ l de bromure d'hexadécyltriméthylammonium (CTAB), 12  $\mu$ l d'acide éthylènediaminotétracétique (EDTA) pH 8,0 à 0,5 M et 1% de polyvinylpyrrolidone (PVP). De plus, 20  $\mu$ g de RNase A ont été ajoutés au tampon d'extraction avant l'incubation à 65 °C, suivie de deux étapes d'extractions au chloroforme-isoamyl alcool (24:1). Finalement, l'ADN a été précipité avec 1,5 volumes d'éthanol glacial (100%), avant d'être nettoyé, séché et resuspendu dans 100  $\mu$ l de tampon TE<sub>0,1</sub> (20 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.0). La qualité de l'extraction a été vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose 1%.

## 3. Amplification et séquençage

Le choix des régions moléculaires à utiliser pour cette étude a été facilité par des tests exploratoires qui nous ont permis de rechercher le degré de variabilité génétique adéquat pour les objectifs visés. Nous avons arrêté notre choix sur la région chloroplastique de l'espaceur *psbA-trnH* et sur celle du gène nucléaire PRK (phosphoribulokinase). L'amplification de la région chloroplastique de l'espaceur *psbA-trnH* a été réalisée au moyen des amorces *psbAF* (5'-GTTATGCATGAACGTAATGCTC) et *trnHR* (5'-CGCGCATGGTGGATTCAACAATC), telles que décrites par Sang *et al.* (1997). La réaction d'amplification, dans un volume final de 25  $\mu$ l, était la suivante: tampon de réaction 1X contenant 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (Roche Diagnostics, Laval, Québec), 200  $\mu$ M de chaque dNTP, 0,4  $\mu$ M de chacune des deux amorces mentionnées précédemment, 2% d'ADN génomique, et 2,5 unités de *Taq*-polymérase, ajoutées après une phase de dénaturation initiale de 2 minutes à 95 °C. Cette première phase était suivie de 35 cycles composés d'une phase de dénaturation (30 secondes à 95 °C), une phase d'appariement (30 secondes à 48 °C), et

une phase d'élongation (1 minute à 72 °C), auxquels succédait une phase d'élongation finale de 7 minutes à 72 °C.

La région nucléaire PRK (phosphoribulokinase) a été amplifiée à l'aide des amorces *prk488f* (5'-AAYGAYTTTGAYCTYATGTATGARCARGT) et *prk1167r* (5'-ATGGTYTGRAANARACCNGTNC CRTTGTTGC), décrites dans Lewis et Doyle (2002) (voir figure 3). La réaction d'amplification consistait en un volume total de 50 µl partagé également en deux tubes à PCR, pour chaque spécimen amplifié, afin de limiter l'apparition de recombinants (Cronn *et al.*, 2002) et de réduire la possibilité de mutations au même site liées à la *Taq*-polymérase dans plusieurs clones différents (Joly *et al.*, 2006). La réaction se composait de tampon de réaction 1X contenant 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (Roche Diagnostics), 200 µM de chaque dNTP, 0,4 µM de chaque amorce, 0,05% de Tween 20, 5 µg de BSA, 2% d'ADN génomique, et 2,5 unités de *Taq*-polymérase, ajoutées après une première étape de dénaturation de 2 minutes à 95 °C. Cette première étape était suivie de 40 cycles composés comme suit: une phase de dénaturation de 30 secondes à 95 °C, une phase d'appariement de 30 secondes à 48 °C, et une phase d'élongation de 1 minute à 72 °C. Une phase d'élongation finale de 10 minutes à 72 °C complétait le programme d'amplification. Ce temps d'élongation plus long permettrait également de réduire le taux de recombinants (Cronn *et al.*, 2002). Après l'amplification du fragment nucléaire PRK, les deux tubes utilisés pour chaque individu étaient recombinés en un seul. Les amplifications ont été effectuées à l'aide d'un thermocycleur Perkin-Elmer GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems, Foster City, California). Les amplifications résultantes, vérifiées préalablement sur gel d'agarose 1% coloré au bromure d'éthidium, ont été purifiées à l'aide du protocole de précipitation au PEG décrit dans Joly *et al.* (2006).



**Figure 3:** Région de l'ADN nucléaire représentant les introns du gène PRK (phosphoribulokinase) utilisés dans la présente étude. Les amorces *prk488f* et *prk1167r* (polygones blancs) ont été utilisées pour l'amplification. L'amorce *prk600r* (polygone noir) a été utilisée pour le séquençage uniquement. Le schéma n'est pas à l'échelle. D'après Lewis et Doyle (2002), modifié.

Le séquençage de la région chloroplastique de l'espaceur *psbA-trnH* a été effectué uniquement avec l'amorce *psbAF*; des tests exploratoires nous ayant permis de constater une mutation informative vers le début de cette région. Le marqueur nucléaire PRK a été séquençé à l'aide des deux amorces mentionnées précédemment (*prk488f* et *prk1167r*), auxquelles est venue s'ajouter l'amorce *prk600r* (5'-CAGCATATTGCTTCTGTGGA), créée spécialement pour le séquençage, à partir de résultats préliminaires (figure 3). Le séquençage a été réalisé avec la chimie *BigDye terminator* (version 1.1; Applied Biosystems, Foster City, California, USA) en respectant le protocole du manufacturier, et à l'aide d'un séquenceur automatique *3100-Avant* (Applied Biosystems).

#### 4. Clonage

Le marqueur nucléaire PRK présentait quelquefois des séquences polymorphiques, ce qui apparaît normal dans une espèce diploïde comme l'érable à sucre, compte tenu de la possibilité d'avoir deux allèles parentaux différents. Les deux allèles présents étaient facilement repérés lorsque le séquençage direct indiquait un seul site polymorphique dans la séquence; par contre, les individus présentant plus d'un site polymorphique ou des insertions/délétions (*indels*) ont dû être clonés. Dans ce dernier

cas, de trois à six clones par individu ont été générés, afin de discerner les deux allèles présents et d'éliminer la possibilité de sélectionner des allèles recombinants dans l'analyse. Le clonage a été réalisé à l'aide du kit de clonage TOPO TA (Invitrogen, Burlington, Ontario), en suivant les recommandations du manufacturier, ou, dans certains cas, du protocole de clonage décrit par Forest et Bruneau (2000), avec les modifications suivantes: la réaction de ligation contenait une seule unité de ligase *T4 DNA* (Roche Diagnostics), le volume de produit de ligation mis en contact avec les bactéries compétentes pour le choc thermique (42 °C, 90 secondes) était de 5 µl et les bactéries ont été incubées 45 minutes immédiatement après le choc thermique. Les colonies blanches résultantes ont été transférées dans 1 ml de bouillon de type LB stérile contenant 0,05 mg de tétracycline et 0,1 mg d'ampiciline, et mis à incuber une nuit à 37 °C, dans un incubateur agité (250 rpm). Les plasmides contenant le gène cloné ont ensuite été extraits à l'aide du *QIAprep spin miniprep kit* (QIAGEN, Mississauga, Ontario). Ces clones ont finalement été séquencés avec les amorces utilisées pour le séquençage initial, et alignés avec les séquençages directs obtenus préalablement, pour fin de comparaison.

## 5. Analyses

Les séquences ainsi obtenues ont été alignées à la main dans deux matrices différentes, soit une pour chaque génome, à l'aide du logiciel Se-AL v2.0a11 (Rambaut, 2002). Afin d'effectuer un test de Mantel par permutations sur les données chloroplastiques et nucléaires, nous avons créé une matrice de distances géographiques, et une matrice de distances génétiques pour chaque gène avec le progiciel POFAD 1.01 (Joly et Bruneau, 2006), qui permet de tenir compte de l'information contenue dans les différents allèles d'un même organisme diploïde tel que l'érable à sucre. Les tests de Mantel ont été effectués à l'aide du Progiciel R (Casgrain et Legendre, 2001), avec 999 permutations, afin de vérifier la corroboration entre la distance génétique et la distance géographique des individus.

La matrice alignée pour le gène PRK a été traitée avec le logiciel TCS version 1.21 (Clement *et al.*, 2000) qui utilise la parcimonie statistique pour créer un réseau d'haplotypes où les liaisons entre les haplotypes représentent une probabilité minimale de parcimonie à 95% (Templeton *et al.*, 1992). Les indels ont été traités comme manquants dans l'analyse, ayant été recodés à la fin de chaque matrice selon la méthode du « simple gap coding » de Simmons et Ochoterena (2000).

Le réseau d'haplotypes a ensuite subi un groupement des clades selon les règles décrites dans Templeton *et al.* (1987) et Templeton et Sing (1993). Le logiciel GeoDis 2.5 (Posada *et al.* 2000) a ensuite servi à l'analyse des clades groupés (*nested clade analysis*), avec 1000 permutations, et l'interprétation des résultats de l'analyse a été effectuée grâce à la clé d'inférence de D. Posada du 11 novembre 2005, disponible au <http://darwin.uvigo.es/>.

# Chapitre III

## Résultats

### *1. Marqueur chloroplastique*

Des essais préliminaires pour trouver de la variabilité génétique nous ont démontré la rareté des mutations dans le génome chloroplastique. En effet, nous n'avons décelé que cinq mutations, toutes non-informatives (i.e. présentes dans un seul individu à la fois, pour chaque marqueur testé autre que *psbA-trnH*; tableau III) à l'intérieur de 6209 bases séquencées au total, ce qui donne un pourcentage de variabilité moyen de 0,08%, pour les régions testées. Ces régions chloroplastiques étaient les gènes *ndhF*, *trnK* et *rpL16*, ainsi que les espaceurs *atpB-rbcL*, *trnT-trnD* et *trnS-trnG*, reconnus pour leur plus forte propension à la variabilité génétique (Shaw *et al.*, 2005).

**Tableau III:** Résultats de l'exploration moléculaire préalable à la présente étude: gènes, introns ou espaceurs chloroplastiques et nucléaires testés pour leur variabilité sur un sous-ensemble de populations d'érables à sucre récoltées pour ce projet.

Région	Longueur théorique (pb)	Longueur obtenue (pb. obt.)	Caractères informatifs (inf.)	Caractères variables (var.)	Nombre de populations séquencées (N)	% de variabilité (var./pb. obt.) X 100
<b>chloroplastique</b>						
ndhF	1600	1402	0	0	12	0,000
trnK	900	732	0	1	6	0,137
psbA - trnH	500	516	0	1	4	0,194
atpB - rbcL	900	892	0	0	5	0,000
trnT - trnD	1300	1363	0	3	7	0,220
rpL16	1100	1071	0	1	5	0,093
trnS-trnG	1500	749	0	0	5	0,000
<b>nucléaire à peu de copies</b>						
Triose phosphate isomerase (TPI)	1500	389	2	19	1(a)	4,884
Malate synthase (MS)	1200	1046	10	29	12	2,772
Phospho-ribulokinase (PRK)	900	891	17	20	19 (40 éch.)	2,245
"Second-largest subunit of RNA polymerase II" (RPB2)	1500	595	2	7	5	1,176
<b>ribosomal</b>						
"Internal Transcribed Spacer" (ITS)	700	691	0	0	8	0,000

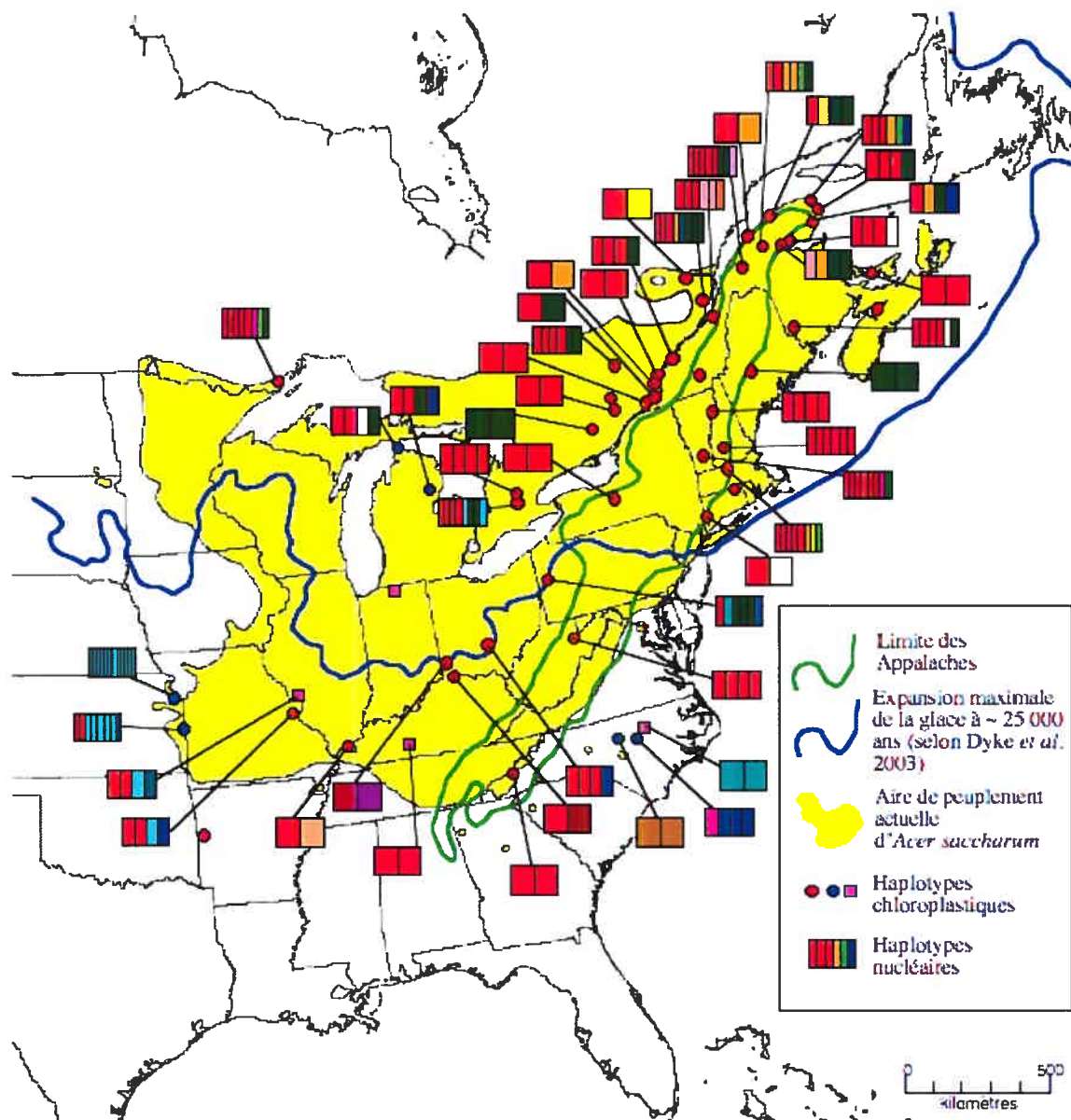
a: Ce gène a été testé sur 4 individus de la même population (Nicolet, Qc).

Pour la région chloroplastique correspondant à l'espaceur entre *psbA* et *trnH*, nous avons obtenu une matrice de 176 séquences alignées provenant d'autant d'individus, d'une longueur totale de 405 nucléotides. Une seule mutation informative (transversion A-C), localisée au site 248, nous a permis de séparer les individus échantillonnés en deux groupes, que nous avons identifiés « *Haplotype A* » et

« Haplotype C », selon la base présente au site 248. À l'est des Grands Lacs, on retrouve uniquement l'haplotype C, sauf trois populations d'*Acer barbatum* en Caroline du Nord, qui présentent l'haplotype A. Ce dernier est aussi prédominant dans l'ouest. Quatre populations (en Indiana, en Illinois, au Kentucky et Caroline du Nord) sont polymorphes quant à ce marqueur chloroplastique. L'information concernant les séquences chloroplastiques apparaît au tableau II, et la répartition géographique des haplotypes apparaît à la figure 4. Les trois échantillons d'*A. grandidentatum* présentent plusieurs variations génétiquement distinctives, incluant une insertion de huit nucléotides, une délétion d'un nucléotide et deux transitions A-G. Ces trois individus possèdent également une adénine au site 248 (haplotype A). L'individu d'*A. nigrum* possède, pour sa part, une cytosine au site 248 (haplotype C), et se regroupe avec les individus d'*A. saccharum* situés à l'est de l'aire, ainsi qu'avec les spécimens d'*A. barbatum* présentant le même caractère.

Le test de Mantel effectué sur l'ensemble des individus séquencés pour ce marqueur a donné un rM de 0,3898 ( $p=0,001$ ). Ceci nous indique qu'il existe une corrélation positive entre les distances génétiques et géographiques, donc que les populations avec le même haplotype ont tendance à se retrouver plus près géographiquement l'une de l'autre que des populations présentant l'autre haplotype.



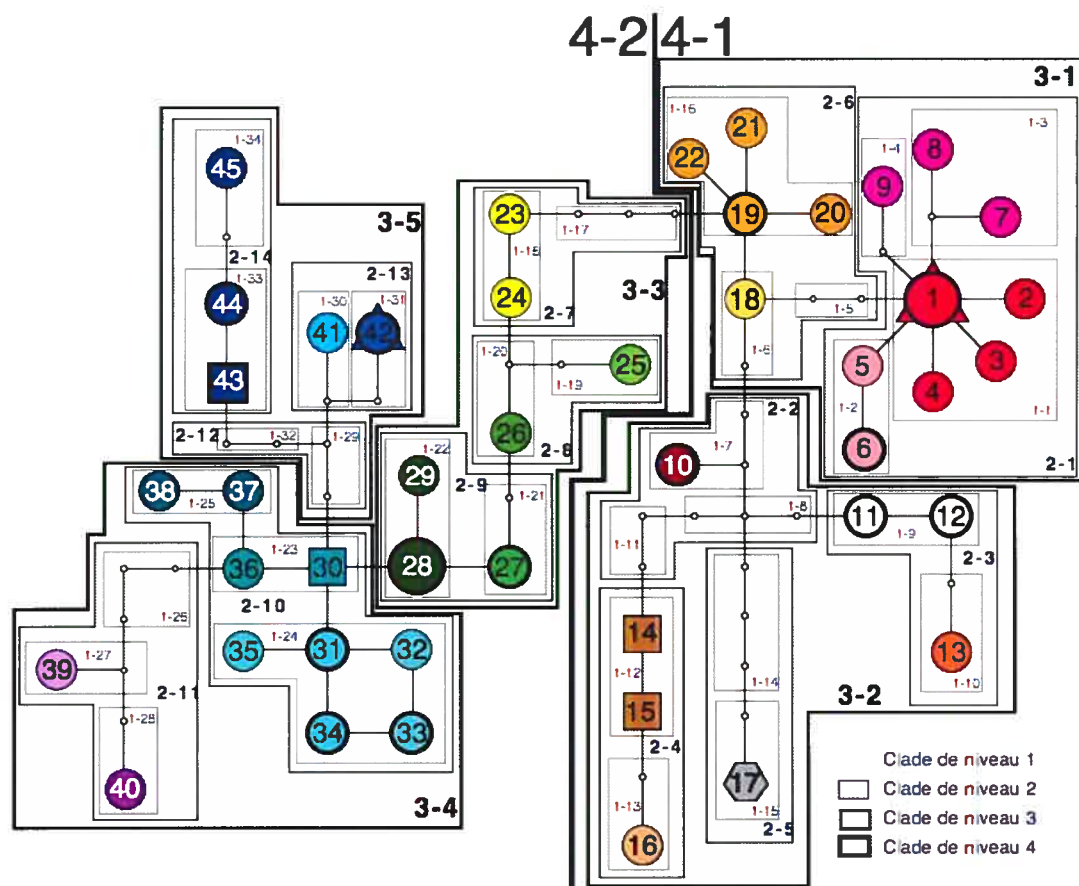


**Figure 4:** Carte de répartition géographique des haplotypes de l'espaceur chloroplastique *psbA-trnH* et de la région nucléaire PRK pour *Acer saccharum* et autres espèces proches. Haplotypes chloroplastiques: les points bleus représentent l'haplotype A, les points rouges, l'haplotype C. Les carrés violets représentent quant à eux les populations où les haplotypes chloroplastiques A et C ont été retrouvés. Haplotypes nucléaires: les barres colorées représentent les haplotypes tels que présentés à la figure 5. Chaque barre correspond à un allèle séquencé.

## 2. Marqueur nucléaire

Pour la région nucléaire de la phosphoribulokinase (PRK), nous avons obtenu un alignement de 159 séquences provenant de 106 individus, et d'une longueur totale alignée de 982 nucléotides, incluant six indels, de une à trois bases chacun. De cette matrice, 33 caractères sont informatifs, soit 3,36% du total, incluant les sous-espèces représentées dans l'échantillonnage. Sur les 106 individus, 53 étaient homozygotes, et 53, hétérozygotes, pour ce marqueur. Étant donné que nous avons trouvé deux allèles différents pour ces individus, nous avons ajouté les lettres A et B suivant le nom des individus concernés, pour différencier les deux allèles.

À l'aide du logiciel TCS, nous avons obtenu un réseau présentant 45 haplotypes pour le marqueur nucléaire (figure 5). La limite de parcimonie pour le réseau d'haplotypes est fixée à 13 pas. Les quelques séquences qui semblaient recombinantes, après comparaison de plusieurs séquences provenant de clones, ont simplement été retirées de l'analyse. Conséquemment, le réseau présente une seule boucle incluant les haplotypes 31 à 34, tous présents uniquement dans l'ouest de l'aire de répartition de l'érable à sucre. Cette boucle pourrait être due à de la recombinaison entre ces haplotypes (Templeton et Sing, 1993), mais aucune n'a été détectée sans équivoque, par comparaison entre les différents clones. Nous avons donc conservé cette unique boucle, étant donné que les haplotypes qu'elle représente sont groupés dans un territoire relativement restreint. Finalement, deux haplotypes sont beaucoup plus fréquents que les autres, soit l'haplotype 1, représentant 105 allèles sur un total de 212, soit 49,5% des allèles, et l'haplotype 28, représentant 29 allèles sur le total, soit 13,7% de l'ensemble allélique.



**Figure 5:** Réseau d'haplotypes pour le marqueur nucléaire de la phosphoribulokinase (PRK) obtenu par la parcimonie statistique grâce au logiciel TCS v1.2.1. Les pictogrammes numérotés représentent les haplotypes nucléaires du gène PRK chez *Acer saccharum* et les autres espèces proches. Les cercles correspondent aux haplotypes d'*A. saccharum*, les carrés à ceux d'*A. barbatum*. Les cercles liés à des triangles représentent des haplotypes partagés à la fois par *A. saccharum* et *A. nigrum*. Enfin, l'hexagone correspond aux deux allèles de l'individu d'*A. grandidentatum*, homozygote pour ce marqueur. Les haplotypes présents dans plus d'une population sont représentés par un contour gras, tandis que les polygones plus gros (ceux des haplotypes 1 et 28) représentent les haplotypes les plus fréquents (voir le texte). Les couleurs correspondent à celles de la figure 4 et des cartes subséquentes. Les mutations (haplotypes non échantillonnés) sont indiquées par les petits ronds clairs présents sur les branches du réseau. Les numéros des clades qui ont servi à l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*) sont indiqués dans les boîtes. Les regroupements hiérarchiques des différents clades sont représentés, selon la légende en bas à droite. La limite de parcimonie calculée par l'algorithme est de 13 pas.

Le groupement des clades pour l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*) s'est fait sans ambiguïtés, sauf pour le regroupement du clade 3-3 à l'intérieur du clade de niveau supérieur. Dans ce cas, la taille de l'échantillonnage a permis de regrouper le clade 3-3 à l'intérieur du clade 4-2, étant donné que le groupe formé par les

clades 3-4 et 3-5 comportait moins d'échantillons que l'ensemble des clades 3-1 et 3-2, tel que recommandé par Templeton et Sing (1993) dans les règles qu'ils énoncent pour regrouper les clades problématiques. Les résultats de l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*) effectuée avec le logiciel GeoDis 2.5 sont présentés dans le tableau IV.

**Tableau IV:** Analyse de clades groupés (*nested clade analysis*) des associations géographiques et leurs interprétations, selon l'approche de Templeton, Routman et Phillips (1995, 2005, GeoDis 2.5) pour 51 populations d'*Acer saccharum* dans l'est de l'Amérique du Nord.

\*: Les clades non listés n'ont pas été inclus dans l'analyse par manque de variabilité géographique, parce qu'ils contenaient un seul haplotype, et/ou parce que l'analyse ne révélait pas de données significatives pour les statistiques calculées par le logiciel (Dc, Dn et IT). L'emboîtement des clades correspond à celui présenté à la figure 5.

\*\* : Significatif au niveau 0,05 avec 1000 permutations.

\*\*\*: Selon la clé d'inférence du 11 novembre 2005.

Clade*	Statistique Chi-carré	P **	Chaîne d'inférence ***	Événement démographique inféré
2-2	0.0000	0.000	1-19-20-2	Impossibilité de tirer une conclusion
2-6	0.0000	0.000	1-19-20-2	Impossibilité de tirer une conclusion
2-7	0.0000	0.000	1-19-20-2	Impossibilité de tirer une conclusion
2-10	43.1250	0.002	1-2-3-4 Non	Flux génique restreint avec isolation par la distance
2-11	0.0000	0.000	1-19-20-2-11-17 Non	Impossibilité de tirer une conclusion
3-2	36.0000	0.047	1-19-20-2-11-12 Non	Expansion continue de l'aire
3-4	27.0000	0.041	1-2-11-17 Non	Impossibilité de tirer une conclusion
3-5	0.0000	0.000	1-19-20-2-11-17 Non	Impossibilité de tirer une conclusion
4-1	80.0674	0.000	1-19-20-2-11-12 Non	Expansion continue de l'aire
4-2	100.0000	0.000	1-2-11-12-13 Oui	Colonisation par longue distance probablement couplée avec une fragmentation subséquente de l'aire

Finalement, le test de Mantel effectué sur l'ensemble des individus séquencés pour ce marqueur nucléaire a donné un rM de 0,0717 ( $p=0,001$ ). Ceci nous indique qu'il existe une corrélation positive mais faible entre les distances génétiques et géographiques, donc que les populations avec le même haplotype ont tendance à se retrouver plus près géographiquement l'une de l'autre que des populations présentant l'autre haplotype. D'ailleurs, la figure 4 présente également la répartition des haplotypes nucléaires dans l'aire de peuplement de l'éérable à sucre.

# Chapitre IV

## Discussion

### *1. Délimitations inter-spécifiques*

Les haplotypes correspondants aux taxons *Acer barbatum*, *A. grandidentatum* et *A. nigrum* ne se regroupent pas entre eux au sein du réseau d'haplotypes nucléaires (figure 5). Ceci semble indiquer qu'il peut y avoir du flux génique entre ces taxons, bien qu'ils soient parfois signalés comme étant des espèces isolées. En fait, il existe une violation répétée, chez les plantes, de la prémisses des lignées non-réticulées: l'hybridation entre espèces est courante (Schaal *et al.*, 1998) et a été répertoriée chez plusieurs espèces arborescentes: les chênes (Samuel, 1999; Lumaret *et al.*, 2002; Ishida *et al.*, 2003; Soto *et al.*, 2003; Tovar-Sanchez et Oyama, 2004), les peupliers (Hamzeh et Dayanandan, 2004), les pins (Williams *et al.*, 2002), les sapins (Isoda *et al.*, 2000) et les noisetiers (Erdogan et Mehlenbacher, 2000). Il ne serait donc pas surprenant que de l'hybridation ait cours entre les différents taxons appartenant au genre *Acer* inclus dans la présente étude. Par contre, seuls les deux allèles de l'individu homozygote d'*A. grandidentatum* sont regroupés au sein de l'haplotype 17, qui est du reste isolé par plusieurs mutations nucléaires des autres haplotypes du réseau. De plus, le marqueur *psbA-trnH* présente quatre mutations qui distinguent les trois individus séquencés appartenant au taxon *A. grandidentatum* de tous les autres inclus dans l'étude. De surcroît, sur la base d'observations morphologiques, Gabriel (1973) a proposé que ce

dernier taxon ne soit pas regroupé dans le complexe *A. saccharum* (qui comporterait par contre les taxons *A. nigrum* et *A. barbatum*). Enfin, l'analyse des clades groupés a détecté un flux génique restreint ainsi qu'une isolation par la distance pour le clade 4-2, clade qui inclut l'haplotype 17. Toutes ces observations semblent indiquer qu'*A. grandidentatum* conserve des barrières génétiques plus fortes avec les autres taxons mentionnés précédemment.

À l'évidence, il est aisé de discerner morphologiquement un individu d'*Acer saccharum* d'avec les taxons *A. barbatum* et *A. grandidentatum*. *Acer barbatum* possède des feuilles aux profonds sinus, à base cordée ou tronquée, avec des dents acuminées sur les trois lobes principaux. Les feuilles sont d'un vert-gris glauque sur le dessous, contrairement à *A. saccharum*, chez qui elles sont plutôt d'un vert jaunâtre pâle. De plus, c'est un arbre de petite taille (10 à 15 mètres de hauteur), alors qu'*A. saccharum* est généralement plus grand (il peut mesurer jusqu'à 30 mètres). *Acer grandidentatum* possède, pour sa part et comme son nom l'indique, des lobes bien définis, à grandes dents arrondies (les dents des feuilles d'*A. saccharum* sont beaucoup plus pointues). La feuille est aussi plus large que longue. C'est une espèce qui possède une aire de répartition plus occidentale qu'*A. saccharum*, présente des Rocheuses jusqu'en Oklahoma, au Montana, en Arizona, au Nouveau-Mexique, et au Texas (de Jong, 1994).

Pour sa part, *Acer nigrum* est plus difficile à discerner d'*A. saccharum*. D'ailleurs, certains auteurs ont déjà observé la similarité du génome chloroplastique d'*A. nigrum* et d'*A. saccharum* (Skepner et Krane, 1997a, 1997b; St-Hilaire *et al.*, 2001), et il n'est pas rare de retrouver dans la littérature des hypothèses concernant l'hybridation entre ces espèces, hypothèses basées sur des observations morphologiques (Dansereau et Desmarais, 1947; Desmarais, 1952; Gabriel, 1973; Farrar, 1996).

Parce que la divergence morphologique peut être très faiblement corrélée au degré de différenciation génétique entre les lignées, il peut être difficile d'évaluer l'unité génétique d'un groupe en se basant uniquement sur la morphologie des individus (Schaal *et al.*, 1998). En tenant compte des différences morphologiques entre les taxons à l'étude,

différences reconnues par les botanistes depuis longtemps, nous pourrions nous attendre à une différenciation génétique beaucoup plus marquée. Cependant, même si ces taxons sont bien définis morphologiquement, le gène nucléaire utilisé (PRK) paraît démontrer la similarité génétique entre ceux-ci, d'autant plus que le génome nucléaire, avec son taux de mutation plus élevé, apporte une démonstration explicite de leur proximité, du moins au point de vue génétique. Ainsi il semble clair, pour le marqueur nucléaire utilisé, qu'un flux génique a eu lieu entre ces différents taxons, et corollairement qu'une indissociabilité de ces entités en résulte (sauf peut-être pour *Acer grandidentatum*, tel qu'indiqué plus haut). Cependant, des études plus approfondies incluant d'autres gènes nucléaires à faible nombre de copies et un échantillonnage plus poussé de ces taxons sont nécessaires pour nous permettre de mieux comprendre si ceux-ci appartiennent à une seule et même espèce, ou si ce sont des espèces sœurs mais bien distinctes.

## 2. *Refuges probables pour Acer saccharum*

Selon les données palynologiques compilées par Davis (1981) et Delcourt et Delcourt (1987), le genre *Acer* se serait réfugié dans l'embouchure du Mississippi lors du pléniglaciaire. Par contre, selon les résultats de Young *et al.* (1993), l'érable à sucre aurait pu se réfugier dans deux zones distinctes, soit dans l'Iowa et dans le sud des Appalaches. Contrairement à l'hypothèse d'un seul refuge, le fait qu'il ait existé deux refuges aurait permis une isolation génétique datant de 23 000 ans <sup>14</sup>C BP (Wisconsinien supérieur) pour créer deux entités génétiquement distinctes. Young et ses collègues soutiennent que ces deux ensembles isolés auraient migré de part et d'autre des Grands Lacs pour finalement refusionner en une seule aire au nord de cette région, il y a environ 9 000 ans <sup>14</sup>C BP (10 200 ans A.A.).

D'ailleurs, les deux haplotypes chloroplastiques déterminés relativement au nucléotide présent à la base 248 tendent à démontrer l'existence de deux grands groupes bien définis géographiquement à l'intérieur de l'aire de répartition (figure 4). Il est possible que cette répartition soit causée par un triage incomplet des lignées et

représenterait un polymorphisme ancestral, présent chez l'ancêtre commun aux deux taxons *A. saccharum* et *A. barbatum*. Ce phénomène aurait mené à la présence des deux haplotypes, A et C, chez ces deux taxons. Un autre scénario voudrait que ce patron chloroplastique résulte d'une introgression, dans laquelle le génome chloroplastique d'une espèce s'introduit dans les populations d'une autre espèce par hybridation interspécifique. Les plantes sont alors morphologiquement identifiables à la deuxième espèce, mais possèdent le génome chloroplastique de la première (Schaal *et al.*, 1998). Que ce patron soit le résultat d'un triage incomplet des lignées ou d'un phénomène d'introgression, ces haplotypes A et C ont certainement été mis en place avant la migration postglaciaire étant donné le faible taux de mutation du génome chloroplastique (McLachlan *et al.*, 2005). Ainsi, les résultats provenant de ce génome indiquent un clivage entre les populations de l'ouest et celles de l'est. Le test de Mantel montre une corrélation positive entre la diversité génétique basée sur les haplotypes A et C, et la distance géographique. De plus, selon Jaramillo-Correa *et al.* (2004), une structure géographique forte démontre la présence de plusieurs refuges glaciaires. Ces résultats portent donc à croire que ces deux haplotypes ont été isolés géographiquement depuis le dernier interglaciaire (Sangamonien, entre 130 000 et 80 000 ans), vraisemblablement dans deux refuges distincts et suffisamment éloignés pour empêcher tout flux génique de se produire. S'il n'y avait eu qu'un seul refuge, qu'il soit restreint à un endroit isolé ou étendu à la marge méridionale du glacier, vu l'évidence que ces deux haplotypes étaient en place avant leurs migrations, il y aurait eu un mélange génétique, ou panmixie, qui aurait généré une répartition plus homogène des deux haplotypes sur le territoire lors du retrait des glaces; à l'évidence, ce n'est pas le cas, puisqu'aucun haplotype A n'a été retrouvé à l'est des Grands Lacs, ni en Nouvelle-Angleterre, ni au Québec ou dans les Maritimes.

Conséquemment, cette répartition des haplotypes chloroplastiques tend à appuyer cette possibilité des deux refuges avancée par Young *et al.* (1993) pour expliquer leurs propres résultats. D'ailleurs, comme les populations canadiennes étudiées par ces chercheurs se trouvent à la marge septentrionale de l'aire de peuplement de l'espèce, et donc théoriquement, à la fin du mouvement migratoire, si on décèle un contraste



génétique ouest-est, alors c'est probablement parce qu'il y avait deux refuges, ou qu'il y a eu différenciation durant le mouvement d'expansion septentrionale de l'aire. Une migration postglaciaire en deux fronts distincts, provenant d'au moins deux refuges isolés et passant de chaque côté de la chaîne des Appalaches, a été démontrée pour plusieurs autres taxons: *Trillium grandiflorum* (Griffin et Barrett, 2004), *Picea mariana* (Jaramillo-Correa *et al.*, 2004), et *Pinus banksiana* (Godbout *et al.*, 2005).

Pour sa part, le génome nucléaire ne présente pas de caractéristiques aussi tranchées pour conclure à la présence de deux refuges, mais quelques indices valent la peine d'être mis en lumière. Premièrement, l'haplotype nucléaire 1 semble être l'haplotype ancestral au groupe, d'abord parce qu'il est le plus fréquemment rencontré, mais aussi parce qu'il est présent sur la presque totalité de l'aire de répartition actuelle de l'éérable à sucre, deux caractéristiques démontrant bien son ancienneté par rapport aux autres haplotypes (Templeton *et al.*, 1995). L'autre haplotype le plus fréquent, l'haplotype 28, est sans doute lui aussi ancestral étant donné sa fréquence relativement plus élevée que celle des haplotypes restants. Ces deux haplotypes sont séparés par une longue chaîne de mutations représentée par des haplotypes (#18 à 27) peu fréquents et qui ont été retrouvés seulement dans le nord de l'aire. Nous croyons que ces derniers sont des haplotypes qui se trouvaient également au sud, mais qu'ils n'ont pas été trouvés dans cette zone, simplement par malchance. En effet, l'échantillonnage est inégal: nous avons obtenu des résultats pour 37 populations au nord contre 14 seulement dans la partie sud. Il est ainsi fort probable que ces haplotypes 18 à 27 n'aient pas été retrouvés au sud simplement par une insuffisance au niveau de l'échantillonnage. Quoi qu'il en soit, cette longue chaîne de mutations représentée par ces haplotypes intermédiaires pourrait fort bien représenter une isolation en deux refuges, suffisamment espacés pour ne pas échanger de migrants, et d'où auraient migrés les haplotypes 1 et 28, largement répartis aujourd'hui.

Pour la suite des choses, portons notre attention sur l'haplotype 17 qui représente les deux allèles de l'individu homozygote d'*Acer grandidentatum*. Les observations indiquées dans la section précédente portent à croire que ce taxon est suffisamment

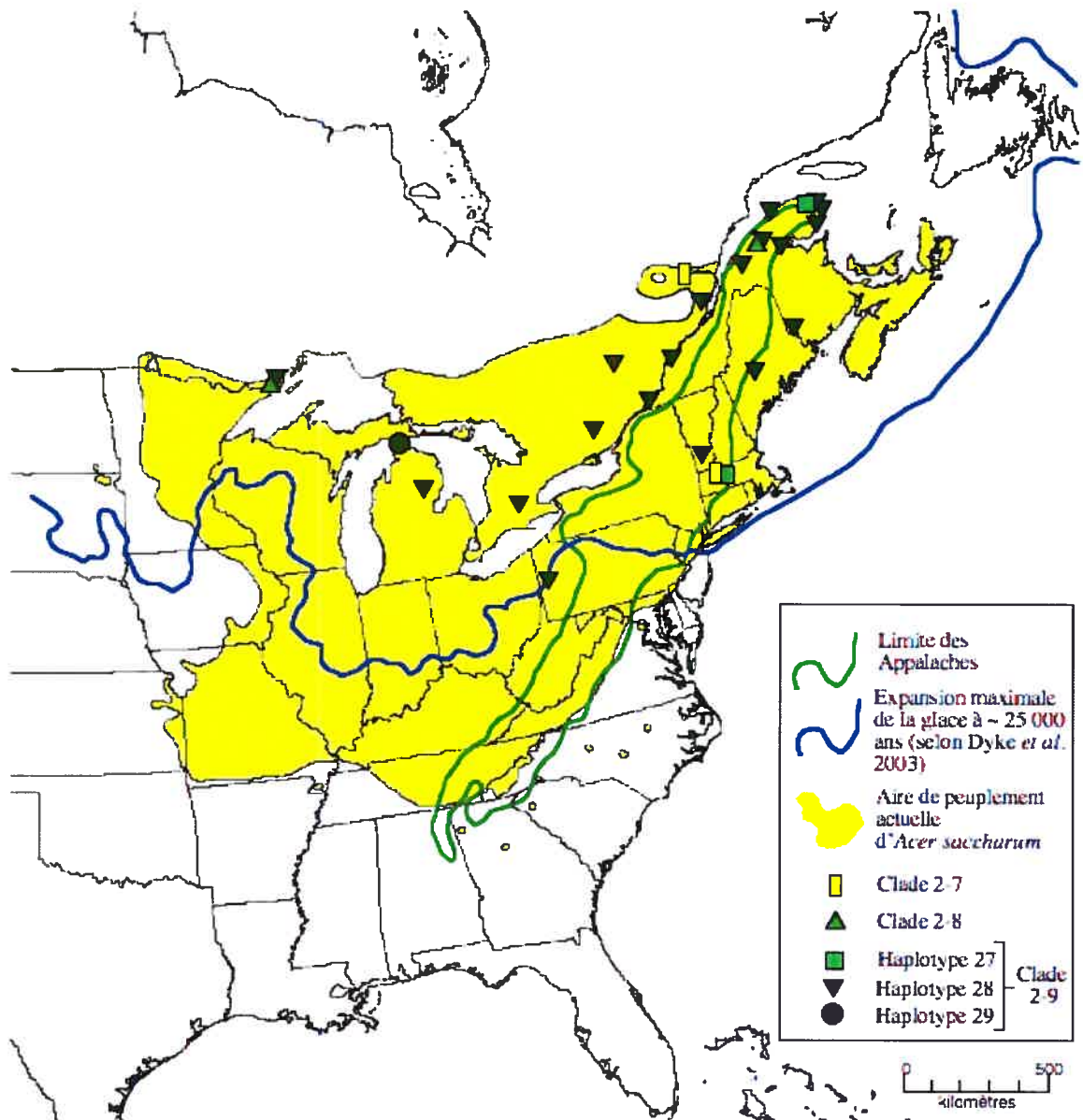
éloigné phylogénétiquement du reste des taxons à l'étude pour situer la racine du réseau d'haplotypes nucléaires entre l'haplotype 17 représentant *A. grandidentatum* et la jonction du clade 3-2 avec le clade 3-1, où se trouve une bifurcation qui mène aux deux haplotypes ancestraux 1 et 28 (figure 5). Dans ce cas, cette longue chaîne de huit mutations qui relie l'haplotype 17 au reste du réseau représenterait une différenciation génétique antérieure aux glaciations, puisque selon la théorie de la coalescence, si les haplotypes 1 et 28 sont ancestraux, tout ce qui se trouve plus au centre du réseau doit aussi être ancestral (Templeton *et al.*, 1995). Ainsi, une différenciation d'*A. grandidentatum* antérieure aux dernières glaciations aurait mené à deux lignées distinctes, qui ont leur point de jonction aux alentours de l'haplotype 18, et qui auraient pu être isolées dans deux refuges séparés durant le pléniglaciaire, hypothèse appuyée par les données chloroplastiques mentionnées plus haut.

Ainsi, bien qu'ils semblent être moins probants, les résultats du marqueur nucléaire ne vont pas à l'encontre de cette théorie des deux refuges. Cette dernière aurait pu être plus clairement appuyée si nous avions trouvé deux lignées séparées géographiquement et partant des haplotypes ancestraux 1 et 28, mais ce n'est pas si simple, car ce génome est soumis à un flux génique beaucoup plus important que celui du génome chloroplastique, ce qui semble brouiller les pistes établies solidement par l'analyse de ce dernier. En effet, les génomes cytoplasmiques (chloroplastique et mitochondrial) devraient théoriquement montrer plus fortement la structure populationnelle que le génome nucléaire (McCauley, 1995), simplement à cause des tailles efficaces de population ( $N_E$ ) respectives. Le génome nucléaire étant plus sensible au flux génique, il présente par contre des capacités intéressantes à traduire les événements récents, comme la migration par longue distance ou les fragmentations d'aires de répartition. Quoi qu'il en soit, les données chloroplastiques et nucléaires tendent à appuyer plus fortement la possibilité de deux refuges pour l'érable à sucre durant le pléniglaciaire, et que la migration postglaciaire se soit accomplie à partir de là.

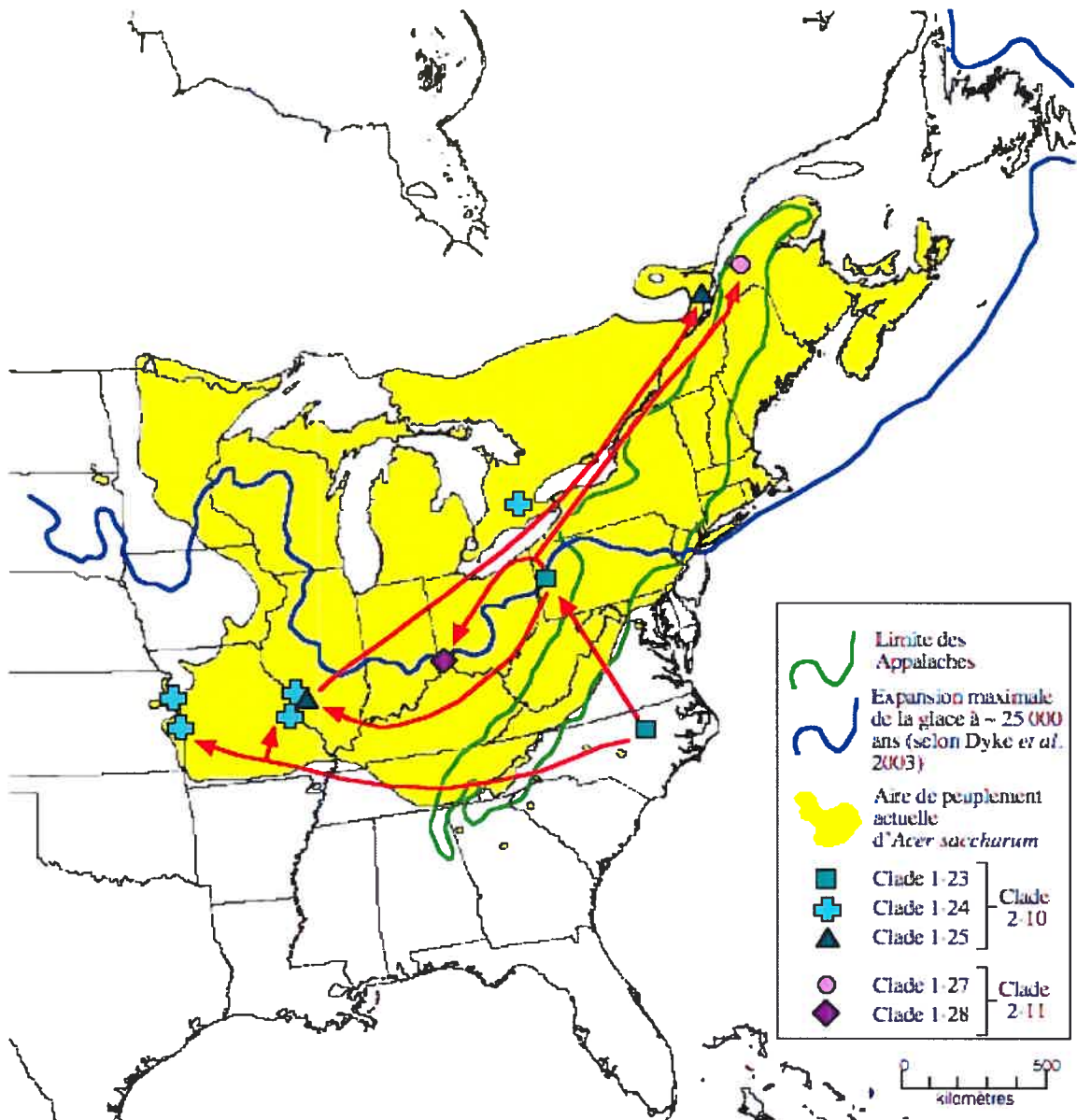
Il ne suffit pas d'appuyer cette hypothèse des deux refuges glaciaires pour *Acer saccharum*; encore faut-il trouver l'emplacement le plus probable pour ces refuges. Les

cartes isopolliniques du maximum glaciaire présentées par Jackson *et al.* (2000) nous aident en ce sens, puisqu'elles présentent, pour le genre *Acer*, deux emplacements distincts qui pourraient correspondre aux régions mentionnées dans l'article de Young *et al.* (1993) (figure 2). Un premier refuge se serait trouvé à l'ouest des Appalaches, dans la région de l'embouchure du Mississippi, comme l'avait suggéré Davis en 1981. Un deuxième refuge, sensiblement plus restreint si l'on tient compte de la superficie représentée par l'aire isopollinique, se serait trouvé à l'est des Appalaches, dans la région actuellement représentée par la Caroline du Nord et la Caroline du Sud. Les terres côtières alors émergées auraient pu aussi compter quelques populations isolées d'*Acer*. En effet, lors du maximum glaciaire il y a environ 25 000 ans A.A., le niveau de la mer était plus ou moins 120 mètres plus bas que le niveau actuel (Pielou, 1991; Clark et Mix, 2002; Lambeck *et al.*, 2002; Dyke *et al.*, 2003), dégageant ainsi une vaste zone sur la Côte Est américaine.

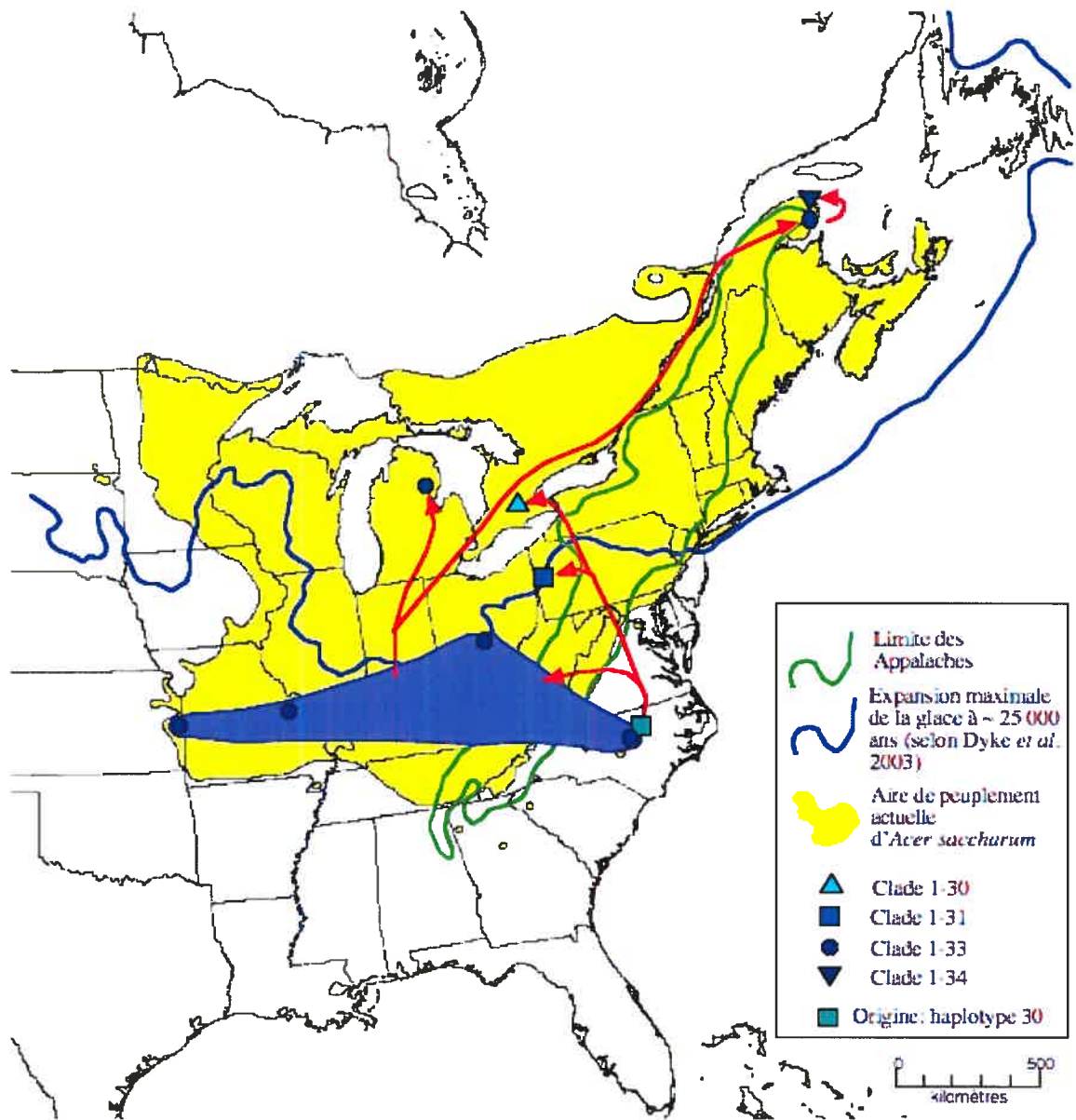
L'haplotype ancestral 28 pourrait avoir survécu aux glaciations dans ce dernier refuge, à l'est des Appalaches, si l'on tient compte de la répartition actuelle de cet haplotype: en effet, il se situe plutôt dans l'est et n'a pas été retrouvé dans les populations les plus occidentales, comme au Kansas, en Illinois, au Kentucky ou en Ohio (figure 6). De plus, l'haplotype 30, qui provient de l'haplotype 28, a donné au moins trois lignées qui semblent avoir colonisé le sud de l'aire de répartition à partir de ce refuge (clade 1-25, clade 2-11, clade 3-5; figures 7 et 8). Quant à l'haplotype 1, il serait difficile de déterminer dans quel ou quels refuge(s) il se trouvait, vue sa distribution étendue. Mais si l'on compare la répartition actuelle de ces deux haplotypes ancestraux, et que l'on tient compte que l'haplotype 1 est génétiquement éloigné de l'haplotype 28, il y a de fortes chances à ce que l'haplotype 1 se soit réfugié dans l'ouest.



**Figure 6:** Carte montrant la répartition des haplotypes nucléaires (PRK) du clade 3-3 de l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*). Il est à noter que les différents haplotypes de ce clade se retrouvent majoritairement au nord-est de la limite maximale de l'extension glaciaire (voir texte).



**Figure 7:** Carte montrant la répartition des haplotypes nucléaires (PRK) du clade 3-4 de l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*). Les flèches rouges représentent les liens de descendance entre les populations. L'haplotype 30, l'ancêtre de tous les autres haplotypes représentés sur cette carte, est situé au début du réseau de flèches rouges, en Caroline du Nord.



**Figure 8:** Carte montrant la répartition des haplotypes nucléaires (PRK) du clade 3-5 de l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*). Les flèches rouges représentent les liens de descendance entre les populations. La légende précise l'origine de tous les haplotypes présents sur cette carte, représentée par l'haplotype 30 situé en Caroline du Nord. L'haplotype 44 est représenté par le rond bleu situé à Port-Daniel, en Gaspésie, alors que l'haplotype 45 est représenté par le triangle inversé, à Gaspé (voir le texte).

### 3. Migration postglaciaire et barrières géographiques

Les données chloroplastiques semblant nous indiquer un flux migratoire scindé en deux fronts principalement situés à l'ouest et à l'est de l'aire de peuplement d'*Acer saccharum* (figure 4), sans plus, cette section portera donc principalement sur l'interprétation du réseau d'haplotypes nucléaires et de l'analyse de clades groupés (*nested clade analysis*) qui y fut appliquée. Cette dernière n'a donné une réponse évolutive significative que pour les clades 2-10, 3-2, 4-1 et 4-2, présentés au tableau III. Trois types différents d'événements historiques ont été détectés: flux génique restreint avec isolation par la distance pour le clade 2-10, expansion continue de l'aire pour les clades 3-2 et 4-1, et, finalement, une colonisation par longue distance probablement suivie par une fragmentation de l'aire, pour le clade 4-2. Par contre, la clé d'inférence publiée par Templeton *et al.* (1995) indique que le clade 3-2 a plutôt subi une fragmentation ancienne. Quoi qu'il en soit, le peu de succès de l'analyse de clades groupés pour inférer des événements historiques pour cette espèce est sans doute dû au flux génique dérivé du pollen, qui joue certainement un rôle dans l'absence de patron significatif.

Le clade 3-1 représente un modèle de migration continue où tous les descendants (haplotypes 2 à 9 inclusivement) sont restés dans l'aire de répartition de l'ancêtre, l'haplotype 1. Cet haplotype ancestral pourrait avoir été le premier à coloniser l'aire libérée des glaces à partir des refuges du sud, ce qui expliquerait sa grande dispersion. Par contre, en égard à cette fréquence élevée (figure 4), ce clade ne peut pas servir à conclure sur des hypothèses relativement aux refuges ou à la migration de l'espèce.

Les haplotypes du clade 3-3, présents uniquement dans la région des Grands Lacs et du Fleuve St-Laurent (figure 6), ont presque tous eu à migrer vers le nord, à la fin de la dernière glaciation. En effet, mise à part la population de la Pennsylvanie, toutes les autres présences de ces haplotypes sur le territoire se trouvent au nord de la limite maximale d'extension des glaces. Durant sa migration vers le nord, l'haplotype 28,

représentant la majorité des occurrences de ce clade, aurait pu subir une fragmentation de son aire causant sa disparition au sud de la limite maximale des glaciers et expliquant le fait qu'on le retrouve exclusivement au nord.

Pour leur part, les haplotypes des clades 3-4 et 3-5 présentent une dispersion disjointe sur le territoire (figures 7 et 8, respectivement). En effet, les haplotypes 37 et 38 du clade 1-25, ainsi que les haplotypes 43 et 44, du clade 1-33, se situent à près de 2000 km de distance; pourtant, ils ne sont séparés chacun que d'une mutation. Ceci pourrait dénoter une migration rapide, où l'haplotype migrant n'a « pas le temps » d'accumuler trop de mutations, par exemple une migration par longue distance utilisant une voie efficace comme l'axe des Grands Lacs et du Fleuve St-Laurent, qui aurait pu faciliter le transport, par l'eau, de l'haplotype 38 vers la région de Charlevoix, au Québec, et vers la péninsule gaspésienne, pour l'haplotype 44. Il est d'ailleurs intéressant de noter que les aires de répartition des clades 3-4 et 3-5 sont sensiblement les mêmes, donnant l'indice d'une histoire évolutive similaire, et que l'absence des haplotypes de ces deux clades en Nouvelle-Angleterre et dans les États de la Côte Est en général peut appuyer le fait que la migration de ceux-ci vers l'est ne s'est pas faite par voie terrestre. De plus, ces migrations par longue distance ont été détectées par l'analyse de clades groupés, pour le clade 4-2. Il a été avancé que la migration par longue distance pourrait avoir joué un rôle important dans la dispersion d'espèces arborées (Petit *et al.*, 1997; Clark *et al.* 1998b). Les localités satellites de la Sagamie et de la Gaspésie, où l'érable à sucre semble s'être installé précocement (vers 8000 ans A.A. pour la Sagamie, 4300 ans A.A. pour la péninsule gaspésienne), auraient pu être colonisées plus tôt que les endroits environnants par ces événements de dispersion par longue distance. Pour la péninsule gaspésienne, des colonisations par sauts de vallée en vallée, où il existe des conditions favorables au maintien d'érablières, pourraient être illustrées par les haplotypes 44 et 45 (figure 8).

À l'intérieur de ces mêmes clades 3-4 et 3-5 se trouvent des haplotypes (31 à 35 et 37, et 42 et 43, respectivement) qui semblent avoir colonisé le sud-ouest avant de remonter vers le nord par les voies indiquées précédemment. Il semblerait donc y avoir



un mélange entre les lignées issues des deux refuges, dans le sud, selon les données nucléaires. Ceci ne correspond pas avec les données chloroplastiques, qui semblent indiquer un déplacement des samares de part et d'autre des Appalaches. D'ailleurs, le rôle de barrière géographique des Appalaches a été reconnu pour *Trillium grandiflorum* (Griffin et Barrett, 2004) et pour *Pinus banksiana* (Godbout *et al.*, 2005).

Les haplotypes 41 à 45 ainsi que les haplotypes 39 et 40 sont séparés de leurs haplotypes d'origine (30 et 36, respectivement) par de longues branches de mutations (figure 5). Ceci pourrait indiquer que les haplotypes d'origine, 30 et 36, aient dû être isolés pendant une longue période de temps afin de créer les haplotypes résultants. Les branches de mutations plus longues que la moyenne, dans un réseau d'haplotypes, indiquent normalement une fragmentation de l'aire de peuplement, donc une isolation génétique (Templeton, 1995), comme c'est le cas pour l'haplotype 17 d'*Acer grandidentatum*, discuté plus haut. Par contre, nous ne pouvons trancher si les haplotypes 30 et 36 se sont retrouvés dans un refuge datant du pléniglaciaire, ou si l'isolation génétique s'est effectuée plus tard.

Finalement, des mutations récentes semblent être survenues au cours de l'Holocène, pour ce marqueur nucléaire chez l'érable à sucre. En effet, les haplotypes restreints à une seule population, donc rares et n'ayant pas eu le temps ou l'occasion de se disperser, et présents aux extrémités du réseau d'haplotypes, loin de la racine hypothétique, sont de bons candidats pour représenter des mutations récentes. Ces haplotypes sont les 38, 39, 40, 41 et 45. Ces mutations récentes représentent donc une variabilité génétique en train de se créer chez l'érable à sucre, pouvant indiquer des zones géographiques propres à la conservation de l'espèce. S'il advenait un changement climatique important pouvant nuire à l'intégrité génétique de l'érable à sucre, il serait primordial de sauvegarder cette biodiversité génétique, représentée par des haplotypes restreints géographiquement, rares et/ou placés en position « extrême » selon le réseau de la figure 5.

# Chapitre V

## Conclusion

Il semble que l'érable à sucre ait occupé deux refuges distincts au cours du pléniglaciaire, cette hypothèse étant ici appuyée par les données chloroplastiques, nucléaires et palynologiques. Ces deux refuges auraient permis la différenciation de deux lignées, isolées vraisemblablement par la chaîne montagneuse des Appalaches, et bien distinctes à l'aide du marqueur chloroplastique; par contre, le flux génique causé par le pollen semble avoir brouillé le signal venant du marqueur nucléaire. Néanmoins, grâce à ce dernier marqueur moléculaire, il nous est possible de distinguer des événements de migrations par longue distance, ayant sans doute permis à l'espèce de migrer plus rapidement vers le nord, en utilisant par exemple l'axe des Grands Lacs et du Fleuve St-Laurent. Nous avons également pu voir que le complexe *Acer saccharum* devrait inclure les taxons *A. nigrum* et *A. barbatum*, sur la base des données chloroplastiques et nucléaires présentées ici. Cependant, le taxon *A. grandidentatum* devrait être reconnu comme une espèce distincte, puisqu'il apparaît être plus éloigné, du moins génétiquement, de toutes ces autres entités.

La présente étude porte sur deux génomes distincts l'un de l'autre, et se positionne comme l'une des premières études de ce genre en Amérique du Nord. En effet, l'intégration des données chloroplastiques et nucléaires, ainsi que des données paléopalynologiques est chose rare dans les études phylogéographiques de ce côté-ci de

l'Atlantique. Peu de chercheurs se sont encore intéressés à la migration postglaciaire des arbres en Amérique du Nord; il faut cependant mentionner l'équipe de McLachlan *et al.* (2005) qui ont tenté d'estimer le taux réel de migration de deux espèces arborées nord-américaines, mais sans vraiment se pencher sur les endroits où ont migré les populations des espèces choisies, ni sur les possibilités de refuges pléniglaciaires. Des chercheurs de l'Université Laval (Gamache *et al.*, 2003; Godbout *et al.*, 2005) et d'autres (Walter et Epperson, 2001, 2005), ont abordé la question phylogéographique pour des conifères, mais sans jamais inclure toute l'aire de peuplement des espèces étudiées, et bien souvent en n'étudiant qu'un seul marqueur moléculaire. Finalement, l'étude de Young *et al.* (1993) présente elle aussi une différenciation génétique ouest-est pour l'érable à sucre, mais n'utilise pas de données paléopalynologiques, en plus de se limiter uniquement aux populations canadiennes. La présente étude innove en intégrant des données paléopalynologiques, nucléaires et chloroplastiques, en se penchant sur toute l'aire de peuplement de l'espèce étudiée, et en incluant des taxons proches afin d'évaluer l'impact de ceux-ci sur le patron phylogéographique dégagé des données disponibles.

L'un des plus grands défis qui apparaît au cours d'une étude de la phylogéographie d'une espèce est de trouver au moins un marqueur génétique qui permettra de tirer une information phylogéographique suffisamment riche pour conclure de façon intéressante sur les objectifs visés. Étant donné que l'évolution du génome chloroplastique s'effectue environ deux fois moins vite que celle du génome nucléaire (Wolfe *et al.*, 1987), il n'est pas surprenant de ne trouver que deux haplotypes pour un marqueur de 405 bases chez l'érable à sucre. Étonnamment, McLachlan *et al.* (2005) ont trouvé 20 haplotypes pour *Acer rubrum*, sur un total d'environ 1500 nucléotides provenant du génome chloroplastique, Godbout *et al.* (2005) ont trouvé 14 haplotypes provenant de minisatellites mitochondriaux chez *Pinus banksiana*, et Tremblay et Schoen (1999) ont détecté 20 haplotypes par des RFLP sur le génome chloroplastique de *Dryas integrifolia*. Comparativement à ces études effectuées sur ces plantes nord-américaines, la variabilité du génome chloroplastique d'*Acer saccharum*, du moins pour le marqueur sélectionné ici, est relativement faible; néanmoins, cette faible variabilité a toutefois permis de tirer des conclusions intéressantes. Comme dans la présente étude,

les futures recherches phylogéographiques devraient envisager sérieusement l'utilisation du génome nucléaire comme source de variabilité génétique, et des méthodes d'analyse telles que l'analyse de clades groupés. Ceci est d'autant plus vrai en Amérique du Nord, où le faible isolement génétique causé par l'absence de barrières géographiques comparables à celles de l'Europe procure rarement un isolement suffisant pour créer une variabilité génétique permettant d'inférer des conclusions intéressantes du point de vue phylogéographique.

Par contre, et malgré la puissance des nouvelles méthodes moléculaires et de la disponibilité toujours grandissante de nouvelles méthodes d'analyse, une étude phylogéographique basée exclusivement sur ce type de données n'est pas complète. En effet, si l'on veut mieux comprendre la migration des espèces végétales, il est primordial de privilégier l'intégration des données moléculaires aux études paléopalynologiques, telles que la récente étude de Magri *et al.* (2006), en Europe. Il importe également d'obtenir des données les plus précises possible. Par exemple, pour l'érable, des données paléopalynologiques nous sont disponibles grâce à une récente analyse des bases de données de l'Amérique du Nord par Finkelstein *et al.* (2006), où l'information paléopalynologique relative à chaque espèce du genre *Acer* dévoile une écologie et des histoires postglaciaires divergentes pour *A. saccharum* et *A. rubrum*, qui passeraient inaperçues autrement. En effet, ne pas tenir compte des différentes espèces à l'intérieur d'un genre revient à effacer une bonne part de l'information interprétable en termes écologiques et migratoires. Étant donné que la phylogéographie se base sur l'étude d'une espèce - et non d'un regroupement d'espèces ou d'un genre botanique - dans le temps et l'espace, il est essentiel que les données paléopalynologiques utilisées dans ce type de recherche soient précises autant que faire se peut, et disponibles pour l'espèce que l'on désire étudier. D'ailleurs, il serait intéressant d'intégrer ces données de Finkelstein *et al.* (2006) à la présente étude afin d'obtenir un apport plus précis des indices paléopalynologiques propres à l'espèce. Une autre possibilité intéressante, qui sera envisageable lorsque les études nécessaires seront effectuées, serait de synthétiser en une seule toutes les études phylogéographiques réalisées en Amérique du Nord et de vérifier ainsi si les patrons de migrations, les refuges hypothétiques et l'impact des barrières

géographiques sont les mêmes pour les différentes espèces. Cette approche de phylogéographie comparative, qui permet surtout de faire ressortir les concordances phylogéographiques des espèces étudiées, est très utilisée en Europe et aurait grand avantage à être exploitée ici afin de nous permettre de mieux comprendre l'histoire récente de notre biodiversité nord-américaine.

En fin de compte, ce genre d'étude phylogéographique permet de mieux comprendre comment les espèces végétales ont pu réagir aux changements climatiques passés, et par transposition, nous aidera sans doute à comprendre les migrations qui seront causées par les changements climatiques imminents. Chose courante en Europe, la phylogéographie des espèces botaniques de notre continent est encore largement à explorer...

# Bibliographie

Anseau C., Bernier H. (1995) Caractéristiques de l'érable à sucre, in *L'Érable à sucre : caractéristiques, écologie et aménagement* [coordination de la rédaction des textes par Linda Drouin] , pages 3 à 17. Publication du Ministère des ressources naturelles no RN95-3050 ; Publication du Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation no 95-0064

Asnong A., Richard P. J. H. (2003) La végétation et le climat postglaciaires du centre et de l'Est de la Gaspésie, au Québec, *Géographie Physique et Quaternaire* 57 (1): 37-63

Avice J. C. (1998) The history and purview of phylogeography: a personal reflection, *Molecular Ecology* 7: 371-379

Avice J. C. (2000) Phylogeography: the history and formation of species, Cambridge, Massachussets, Harvard University Press

Bermingham E., Moritz C. (1998) Comparative phylogeography: concepts and applications, *Molecular Ecology* 7: 367-369

Boulter M.C., Benfield J.N., Fisher H.C., Gee D.A. et Lhotak M. (1996) The evolution and global migration of the Aceraceae, *Philosophical transactions of the royal society of London* 351: 589-603

Braun, E. L. (1964) Deciduous forests of eastern North America, Hafner, New York

Burns R. M., Honkala B. H. (1990) Silvics of North America, Agricultural Handbook 654. USDA, Washington, D.C., USA.

Cain M. L., Milligan B. G., Strand A. E. (2000) Long-distance seed dispersal in plant populations, American Journal of Botany 87 (9): 1217-1227

Casgrain P., Legendre, P. (2001) The R Package for multivariate and spatial analysis, version 4.0 d6 – User's Manual. Département de sciences biologiques, Université de Montréal. Disponible via Internet <<http://www.fas.umontreal.ca/BIOL/legendre/>>

Clark J. S., Macklin E., Wood L. (1998a) Stages and spatial scales of recruitment limitation in Southern Appalachian Forests, Ecological Monographs 68 (2): 213-235

Clark J. S., Fastie C., Hurtt G., Jackson S. T., Johnson C., King G. A., Lewis M., Lynch J., Pacala S., Prentice C., Schupp E. W., Webb III T., Wyckoff P. (1998b) Reid's Paradox of rapid plant migration, BioScience 48 (1): 13-24

Clark P. U., Mix A. C. (2002) Ice sheets and sea level of the Last Glacial Maximum, Quaternary Science Reviews 21: 1-7

Clement, M., D. Posada and K. A. Crandall 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies, Molecular Ecology 9 (10): 1657-1660.

Cronn R., Cedroni M., Haselkorn T., Grover C., Wendel J. F. (2002) PCR-mediated recombination in amplification products derived from polyploid cotton, Theoretical and Applied Genetics 104: 482-489

Dansereau P. (1944) Les érablières de la Gaspésie et les fluctuations du climat, Contributions de l'Institut Botanique de l'Université de Montréal 51: 1-18

Dansereau P., Desmarais Y. (1947) Introgression in sugar maple II, American Midland Naturalist 37: 146-161

Davis M. B. (1981) Quaternary history and the stability of forest communities, in Forest Succession: Concepts and Application. D. C. West, H. H. Shugart & D. B. Botkin, eds. 1981 Springer-Verlag, New York 517 pp.

de Jong P.C. (1994) Taxonomy and reproductive biology of Maples, in van Gelderen D.M., de Jong P.C., Oterdoom H.J., eds., Maples of the World, Timber Press, Portland, pp. 69-103

Delcourt P. A., Delcourt H. R. (1987) Long-Term Forest Dynamics of the Temperate Zone, Springer-Verlag, New-York, 439 pages

Demesure B., Comps B., Petit R. J. (1996) Chloroplast DNA phylogeography of the common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe, Evolution 50 (6): 2515-2520

Desmarais Y. (1952) Dynamics of leaf variation in the sugar maples, Brittonia 7: 347-387

Doyle J.J., Doyle J.L. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, Phytochemical Bulletin 19: 11-15

Dumolin-Lapègue S., Demesure S., Fineschi S., Le Corre V., Petit R. J. (1997) Phylogeographic Structure of White Oaks Throughout the European Continent, Genetics 146: 1475-1487

Dyke A. S., Moore A., Robertson L. (2003) Deglaciation of North America, Geological survey of Canada, Open file 1574



Erdogan V., Mehlenbacher S. A. (2000) Phylogenetic relationships of *Corylus* species (Betulaceae) based on nuclear ribosomal DNA ITS region and chloroplast matK gene sequences, Systematic Botany 25 (4): 727-737.

Farrar J. L. (1996) Les arbres du Canada, Fides & le Service canadien des forêts (Ressources naturelles Canada), 502 pages

Finkelstein S. A., Gajewski K., Viau A. E. (2006) Improved resolution of pollen taxonomy allows better biogeographical interpretation of post-glacial forest development: analyses from the North American Pollen Database, Journal of Ecology 94: 415-430

Forest F., Bruneau A. (2000) Phylogenetic analysis, organization, and molecular evolution of the nontranscribed spacer of 5s ribosomal RNA genes in *Corylus* (Betulaceae), International Journal of Plant Sciences 161 (5): 793-806

Gabriel W. J. (1973) Morphological differences between black maple and sugar maple and their hybrids, Proceedings of the Northeastern Forest Tree Improvement Conference 21: 39-46

Gabrielsen T. M., Bachmann K., Jakobsen K. S., Brochmann C. (1997) Glacial survival does not matter: RAPD phylogeography of Nordic *Saxifraga oppositifolia*, Molecular Ecology 6: 831-842

Gamache I., Jaramillo-Correa J. P., Payette S., Bousquet J. (2003) Diverging patterns of mitochondrial and nuclear DNA diversity in subarctic black spruce: imprint of a founder effect associated with postglacial colonization, Molecular Ecology 12: 891-901

Gaudeul M., Taberlet P., Till-Bottraud I. (2000) Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpinum* L. (Apiaceae), inferred from amplified fragment length polymorphism markers, Molecular Ecology 9: 1625-1637

Godbout J., Jaramillo-Correa J. P., Beaulieu J., Bousquet J. (2005) A mitochondrial DNA minisatellite reveals the postglacial history of jack pine (*Pinus banksiana*), a broad-range North American conifer, *Molecular Ecology* 14: 3497-3512

Godman, Richard M. (1969) Culture of young stands, in *Proceedings, Sugar Maple Conference, August 1969, Houghton, MI.*, p. 82-87. Michigan Technological University and USDA Forest Service.

Griffin S. R., Barrett S. C. H. (2004) Post-glacial history of *Trillium grandiflorum* (Melanthiaceae) in Eastern North America: inferences from phylogeography, *American Journal of Botany* 91 (3): 465-473

Guries R. P., Nordheim E. V. (1984) Flight characteristics and dispersal potential of maple samaras, *Forest Science* 30 (2): 434-440

Hamzeh M., Dayanandan S. (2004) Phylogeny of *Populus* (Salicaceae) based on nucleotide sequences of chloroplast trnT-trnF region and nuclear rDNA, *American Journal of Botany* 91(9): 1398-1408

Hare M. P. (2001) Prospects for nuclear gene phylogeography, *Trends in Ecology & Evolution* 16 (12): 700-706

Harris S. A., Ingram R. (1991) Chloroplast DNA and biosystematics: the effect of intraspecific diversity and plastid transmission, *Taxon* 40: 393-412

Huang S.-F., Ricklefs R., Raven P. H. (2002) Phylogeny and Historical Biogeography of *Acer* I - Study History of the Infrageneric Classification, *Taiwania* 47 (3): 203-218

Ishida T. A., Hattori K., Sato H., Kimura M. T. (2003) Differentiation and hybridization between *Quercus crispula* and *Q. dentata* (Fagaceae): Insights from morphological traits, amplified fragment length polymorphism markers, and leafminer composition, American Journal of Botany 90: 769-776

Isoda K., Shiraishi S., Watanabe S., Kitamura K. (2000) Molecular evidence of natural hybridization between *Abies veitchii* and *A. homolepis* (Pinaceae) revealed by chloroplast, mitochondrial and nuclear DNA markers, Molecular Ecology 9 (12): 1965-1974

Jackson S. T., Webb R. S., Anderson K. H., Overpeck J. T., Webb III T., Williams J. W., Hansen B. C. S. (2000) Vegetation and environment in Eastern North America during the Last Glacial Maximum, Quaternary Science Reviews 19: 489-508

Jackson S. T. (2006) Forest genetics in space and time, New Phytologist 171: 1-3

Jaramillo-Correa J. P., Bousquet J., Beaulieu J. (2004) Variation in mitochondrial DNA reveals multiple distant glacial refugia in black spruce (*Picea mariana*), a transcontinental North American conifer, Molecular Ecology 13: 2735-2747

Johnson W. C. (1988) Estimating dispersibility of *Acer*, *Fraxinus*, and *Tilia* in fragmented landscapes from patterns of seedling establishment, Landscape Ecology 1: 175-187

Joly S., Bruneau A. (2004) Evolution of triploidy in *Apios americana* (Leguminosae) revealed by genealogical analysis of the histone H3-D gene, Evolution 58 (2): 284-295

Joly S., Bruneau A. (2006) Incorporating allelic variation for reconstructing the evolutionary history of organisms from multiple genes: an example from *Rosa* in North America, Systematic Biology 55 (4): 623-636

Joly S., Starr J. R., Lewis W. H., Bruneau A. (2006) Ployploid and hybrid evolution in roses east of the Rocky Mountains, *American Journal of Botany* 93 (3): 412-425

Kelleher C. T., Hodkinson T. R., Kelly D. L., Douglas G. C. (2004) Characterisation of chloroplast DNA haplotypes to reveal the provenance and genetic structure of oaks in Ireland, *Forest Ecology and Management* 189: 123-131

Kropf M., Kadereit J. W., Comes H. P. (2002) Late Quaternary distributional stasis in the submediterranean mountain plant *Anthyllis montana* L. (Fabaceae) inferred from ITS sequences and amplified fragment length polymorphism markers, *Molecular Ecology* 11: 447-463

Labelle C., Richard P. J. H. (1984) Histoire postglaciaire de la végétation dans la région de Mont-Saint-Pierre, Gaspésie, Québec, *Géographie Physique et Quaternaire* 38 (3): 257-274

Lambeck K., Yokoyama Y., Tony Purcell (2002) Into and out of the Last Glacial Maximum: sea-level change during Oxygen Isotope Stages 3 and 2, *Quaternary Science Reviews* 21: 343–360

Leduc P. (2003) Pollen Viewer 2003:

<http://www.ncdc.noaa.gov/paleo/pollen/viewer/webviewer.html>

Lewis C. E., Doyle J. J. (2002) A phylogenetic analysis of tribe *Areceae* (*Areaceae*) using two low-copy nuclear genes, *Plant Systematics and Evolution* 236: 1-17

Little E. L. (1979) Checklist of United States Trees (native and naturalized), Forest Service, United States Department of Agriculture Handbook. no. 541, Washington, DC

Lumaret R., Mir C., Michaud H., Raynal V. (2002) Phylogeographical variation of chloroplast DNA in holm oak (*Quercus ilex* L.), *Molecular Ecology* 11: 2327-2336.

Magri D, Vendramin G. G., Comps B., Dupanloup I., Geburek T., Gömöry D., Latalowa M., Litt T., Paule L., Roure J. M., Tantau I., van der Knaap W. O., Petit R. J., de Beaulieu J.-L. (2006) A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences, *New Phytologist* 171: 199-221

Marcoux N., Richard P. J. H. (1995) Végétation et fluctuations climatiques postglaciaires sur la côte septentrionale gaspésienne, Québec, *Canadian Journal of Earth Sciences* 32: 79-96

Marie-Victorin (Frère) (1935) Flore Laurentienne, Troisième Édition (1995), Les Presses de l'Université de Montréal, Montréal, 1093 pages

Mayle F. E., Cwynar L. C. (1995) Impact of the Younger Dryas Cooling Event Upon Lowland Vegetation of Maritime Canada, *Ecological Monographs* 65 (2): 129-154

McCauley D. E. (1995) The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants, *Trends in Ecology and Evolution* 10 (5): 198-202

McCormick J. T., Meiners S. J. (2000) Season and distance from forest - old field edge affect seed predation by white-footed mice, *Northeastern Naturalist* 7 (1): 7-16

McLachlan J. S., Clark J. S. (2004) Reconstructing historical ranges with fossil data at continental scales, *Forest Ecology and Management* 197: 139-147

McLachlan J. S., Clark J. S. Manos P. S. (2005) Molecular indicators of tree migration capacity under rapid climate change, *Ecology* 86 (8): 2088-2098

Meiners S. J. (2005) Seed and seedling ecology of *Acer saccharum* and *Acer platanoides*: a contrast between native and exotic congeners, *Northeastern Naturalist* 12 (1): 23-32

Miller A., Schaal B. (2005) Domestication of a mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (36): 12801-12806

Oterdoom H.J. (1994) Paleobotany and Evolution of Maples, *in* van Gelderen D.M., de Jong P.C., Oterdoom H.J., eds., *Maples of the World*, Timber Press, Portland, p. 63-68

Palmer J. D. (1987) Chloroplast DNA evolution and biosystematic uses of chloroplast DNA variation, *American Naturalist* 130 (Supplement) 6-29

Petit R. J., Pineau E., Demesure B., Bacilieri R., Ducouso A., Kremer A. (1997) Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonisation by oaks, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 9996-10001

Petit R. J., Csaikl U. M., Bordács S., Burg K., Coart E., Cottrell J., van Dam B., Deans J. D., Dumolin-Lapègue S., Fineschi S., Finkeldey R., Gillies A., Glaz I., Goicoechea P. G., Jensen J. S., König A. O., Lowe A. J., Madsen S. F., Mátyás G., Munro R. C., Olalde M., Pemonge M.-H., Popescu F., Slade D., Tabbener H., Turchini D., de Vries S. G. M., Ziegenhagen B., Kremer A. (2002) Chloroplast DNA variation in European white oaks: Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations, *Forest Ecology and Management* 156: 5-26

Pielou, E. C. (1991) After the Ice Age: The Return of Life to Glaciated North America, The University of Chicago Press, Chicago, 366 pages

Plucinski K. E., Hunter M. L. (2001) Spatial and temporal patterns of seed predation on three tree species in an oak-pine forest, *Ecography* 24: 309-317

Posada D., Crandall K. A., Templeton A. R. (2000) GEODIS: a program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes, *Molecular Ecology* 9: 487-488

Posada D., Crandall K. A. (2001) Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks, *Trends in Ecology and Evolution* 16 (1): 37-45

Rambaut, A. 1996. Se-AL: Sequence Alignment Editor. <http://evolve.zoo.ox.ac.uk/>

Samuel, R. (1999) Identification of hybrids between *Quercus petraea* and *Q. robur* (Fagaceae): Results obtained with RAPD markers confirm allozyme studies based on the Got-2 locus, *Plant Systematics & Evolution* 217: 137-146.

Sang T., Crawford D. J., Stuessy T. F. (1997) Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae), *American Journal of Botany* 84 (9): 1120-1136

Schaal B. A., Hayworth D. A., Olsen K. M., Rauscher J. T., Smith W. A. (1998) Phylogeographic studies in plants: problems and prospects, *Molecular Ecology* 7: 465-474

Schaal B. A., Olsen K. M. (2000) Gene genealogies and population variation in plants, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (13): 7024-7029

Schaal B. A., Leverich W. J. (2001) Plant population biology and systematics, *Taxon* 50: 679-695

Schaal B. A., Gaskin J. F., Caicedo A. L. (2003) Phylogeography, haplotype trees, and invasive plant species, *Journal of Heredity* 94 (3): 197-204

Schönswetter P., Tribsch A., Stehlik I., Niklfeld H. (2004) Glacial history of high alpine *Ranunculus glacialis* (Ranunculaceae) in the European Alps in a comparative phylogeographical context, *Biological Journal of the Linnean Society* 81: 183-195

Schwarz, P. A.; Fahey, T. J.; McCulloch, C. E. (2003) Factors controlling spatial variation of tree species abundance in a forested landscape, *Ecology* 84 (7): 1862-1878.

Shaw J., Lickey E. B., Beck J. T., Farmer S. B., Liu W., Miller J., Siripun K. C., Winder C. T., Schilling E. E., Small R. L. (2005) The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis, *American Journal of Botany* 92 (1): 142-166

Simmons M.P. et Ochoterena H. (2000) Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses, *Systematic Biology*, 49 (2): 369-381

Skepner A. P., Krane D. E. (1997) cpDNA of *Acer saccharum* and *Acer nigrum* are very similar, *Ohio Journal of Science* 97 (4): 90-93

Skepner A. P., Krane D. E. (1998) RAPD reveals genetic similarity of *Acer saccharum* and *Acer nigrum*, *Heredity* 80: 422-428

Soto A., Lorenzo Z., Gil L. (2003) Nuclear microsatellite markers for the identification of *Quercus ilex* L. and *Q. suber* L. hybrids, *Silvae Genetica* 52: 63-66

St-Hilaire R., Graves W. R., Small R. L. (2001) Variation in *TaqI*-digested DNA of sugar and black maples is independant of taxon and plant origin, *HortScience* 36 (7): 1327-1328



Stehlik I., Holderegger R., Schneller J. J., Abbott R. J., Bachmann K. (2000) Molecular biogeography and population genetics of alpine plant species, Bulletin of the Geobotanical Institute 66: 47-59

Stehlik, I. (2002) Glacial history of the alpine herb *Rumex nivalis* (Polygonaceae): A comparison of common phylogeographic methods with nested clade analysis, American Journal of Botany , 89 (D cembre): 2007-2016

Templeton A. R., Boerwinkle E., Sing C. F. (1987) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. I. Basic theory and an analysis of alcohol dehydrogenase activity in *Drosophila*, Genetics 117: 343-351

Templeton, A. R., K. A. Crandall and C. F. Sing, (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation, Genetics 132: 619-633.

Templeton A. R., Sing C. F. (1993) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. IV. Nested analyses with cladogram uncertainty and recombination, Genetics 134: 659-669

Templeton A. R., Routman E., Phillips C. A. (1995) Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*, Genetics 140: 767-782

Templeton A. R. (1998) Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypothesis about gene flow and population history, Molecular Ecology 7: 381-397

Tovar-Sanchez E., Oyama K. (2004) Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: Morphological and molecular evidence, American Journal of Botany 91 (9):1352-1363

Tremblay N. O., Schoen D. J. (1999) Molecular phylogeography of *Dryas integrifolia*: glacial refugia and postglacial recolonization, Molecular Ecology 8: 1187-1198

USDA, NRCS. 2006. The PLANTS Database (<http://plants.usda.gov>, 27 juillet 2006). National Plant Data Center, Baton Rouge, LA 70874-4490 USA.

Wada N., Ribbens E. (1997) Japanese maple (*Acer palmatum* var. *Matsumurae*, Aceraceae) recruitment patterns: seeds, seedlings, and saplings in relation to conspecific adult neighbors, American Journal of Botany 84 (9): 1294-1300

Ward D. B. (2004) *Acer floridanum*: the correct scientific name of the Florida Maple, Castanea 69 (3): 230-233

Watanabe K., Kajita T., Murata J. (2006) Chloroplast DNA variation and geographical structure of the *Aristolochia kaempferi* group (Aristolochiaceae), American Journal of Botany (93) 3: 442-453

Walter R., Epperson B. K. (2001) Geographic pattern of genetic variation in *Pinus resinosa*: area of greatest diversity is not the origin of postglacial populations, Molecular Ecology 10: 103-111

Walter R., Epperson B. K. (2005) Geographic pattern of genetic diversity in *Pinus resinosa*: contact zone between descendants of glacial refugia, American Journal of Botany 92 (1): 92-100

Webb III T., Kutzbach J.E. (1998) An introduction to late quaternary climates: data syntheses and model experiments, Quaternary Science Reviews 17: 465-472

Williams C. G., Joyner K. L., Auckland L. D., Johnston S., Price H. J. (2002) Genomic consequences of interspecific *Pinus* spp. hybridization, Biological Journal of the Linnean Society 75 (4): 503-508

Wolfe J.A., Tanai T. (1987) Systematics, phylogeny, and distribution of *Acer* (maples) in the Cenozoic of western North America, Journal of the Faculty of Science of Hokkaido University, series 4, 22: 1-246

Wolfe K. H., Li W.-H., Sharp P. M. (1987) Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 84: 9054-9058

Wynne-Edwards V. C. (1937) Isolated arctic-alpine floras in Eastern North America: a discussion of their glacial and recent history, Transactions of the Royal Society of Canada, Section V: 33-58

Xin T., Guo Z.-H., et Li D.-Z. (2002) Phylogeny of Aceraceae based on ITS and trnL-F data sets, Acta Botanica Sinica, 44 (6): 714-724

Young A. G., Warwick S. I., Merriam H. G. (1993) Genetic variation and structure at three spatial scales for *Acer saccharum* (sugar maple) in Canada and the implications for conservation, Canadian Journal of Forest Research 23: 2568-2578

Yu, Z. (2003) Late Quaternary dynamics of tundra and forest vegetation in the southern Niagara Escarpment, Canada, New Phytologist 157: 365-390

