



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

ÉCOLE DOCTORALE « Ressources Procédés Produits Environnement »

Laboratoire Sols et Environnement

UMR 1120, Université de Lorraine - INRA

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention de grade de

Docteur en Sciences Agronomiques

de l'Université de Lorraine

Par

Cédric GONNEAU

Soutenue publiquement le **26 Mars 2014**

**Distribution, écologie et évolution de l'hyperaccumulation
des éléments en traces par *Noccaea caerulea***

devant le Jury composé de :

Ophélie RONCE, Directeur de Recherche CNRS, Montpellier

Pierre MEERTS, Professeur, Université Libre de Bruxelles

Catherine KELLER, Professeur, Université Aix-Marseille

Pierre BERTHOMIEU, Professeur, Montpellier SupAgro

Catherine SIRGUEY, Maître de Conférences, Université Lorraine

Maxime PAUWELS, Maître de conférences, Université de Lille 1

Thibault STERCKEMAN, Ingénieur de Recherche INRA, Nancy

Rapporteuse

Rapporteur

Examinatrice

Examineur

Co-directrice

Invité

Directeur

Remerciements

A l'instar d'Ulysse quittant Ithaque, cinq années se sont passées depuis le départ de mon île natale. Je parcours ainsi le monde de la recherche, pour assouvir ma soif de sciences, de rencontres et de moments incroyables. Ainsi, dans le fleuve de ma vie, j'ai accosté dans le Nord et le Nord-est de la France pour vivre une aventure extraordinaire, la thèse 'CG' ou thèse '*Noccaea*' comme j'aime si souvent la mentionner. Après trois ans et demi parmi vous, j'ouvre l'album souvenir. C'est donc plein d'émotion et de joie que j'écris ces quelques lignes pour remercier l'ensemble des personnes qui m'ont aidé scientifiquement et humainement dans cette aventure extraordinaire.

Je voudrais remercier l'ensemble des membres du jury : **Ophélie Ronce**, **Catherine Keller**, **Pierre Meerts** et **Pierre Berthomieu**, pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse ainsi que pour vos remarques constructives pour la valorisation de celui-ci.

Je voudrais remercier ensuite l'ensemble des personnels des deux laboratoires, le Laboratoire Sols et Environnement et le laboratoire de Génétique et d'Evolution des Populations Végétale, pour l'accueil chaleureux qui me fut accordé. Un grand merci aux directeurs de ces deux unités : d'une part **Jean-Louis Morel** et **Christophe Schwartz** et d'autre part, à **Joël Cuguen**. Ces laboratoires resteront à jamais des lieux importants dans mon cheminement scientifique.

Mes chaleureux remerciements vont ensuite vers mes trois encadrants pour l'ensemble des moments passés durant ces quatre dernières années. A vous trois, je veux vous dire toute ma profonde reconnaissance pour votre savoir, votre savoir-faire, votre patience, votre écoute et le soutien nécessaire à la bonne réalisation de cette thèse. De plus, comment ne pas mentionner les nombreux moments de rires et de convivialités que ce soit sur le terrain, en congrès ou dans le Nord.

A **Catherine**, merci pour tous ces instants à m'expliquer l'ensemble des protocoles et ils furent si nombreux. Merci d'avoir toujours répondu avec le sourire à l'ensemble de mes sollicitations face à un problème de gamme étalon ou en m'aidant à gérer mon stress avant un TD. Merci d'avoir supporté mon humour un peu décalé tous les midis à table. Je n'oublierai pas votre dévotion pour avoir cherché mes précieuses lunettes dans les stériles miniers de Viviez. Je suis votre premier doctorant et c'est un privilège.

A **Thibault**, merci pour votre sagesse, votre disciple qui fut si précieuse face à mon côté dispersé. Vous êtes pour moi le modèle d'un anti-modèle trop souvent mis en avant. Vous m'avez enseigné l'essence même de la recherche en me posant les bonnes questions et en y répondant simplement. Avec vous, pas de chichi! Grâce à vous, je ressors très fort après ces moments passés à vos côtés. Actuellement, en préparant mes nouveaux projets, je me pose très souvent la question : 'Cédric, calme toi et que t'aurait dit Thibault dans ce cas là?' Enfin, je veux vous remercier pour toutes nos discussions scientifiques, politiques et culturelles.

Je vous donne donc rendez-vous à vous deux avant dix ans, je l'espère, pour de nouvelles prospections à travers l'Europe. Ce voyage passera forcément par les charmantes villes de Costaros en Haute-Loire et de Decazeville en Lozère car ce sont des lieux mythiques remplis d'histoires et d'anecdotes.

A **Maxime**, je veux chaleureusement te remercier pour ta disponibilité malgré la distance. Tu m'as bien formé à la genet des pops et aux différentes analyses. Si j'ai accepté cette thèse pluridisciplinaire, c'était avant tout pour la partie genet. Je suis très heureux d'avoir fait ce choix et d'avoir travaillé avec toi. Ainsi, nos échanges furent toujours très constructifs. Merci pour toutes ces discussions et aparté de nos nombreux Skypes ou 'entre deux portes'. J'ai eu la chance d'être ton premier doctorant et je ne me fais aucun souci pour les suivants que j'espère nombreux.

En plus de mes trois encadrants, j'ai eu la chance de bénéficier des précieux conseils de vous deux, Hélène Frérot-Pauwels (je t'avais promis que je le mettrais) et Nausicaa Noret, les anciennes doctorantes *Noccaea*. Merci beaucoup **Hélène** pour tes nombreux conseils scientifiques et autres, ton aide précieuse sur les stats de mon premier papier de thèse. Je veux vous exprimer à toi et à Max ma profonde gratitude pour vous êtes si bien occupés de moi durant mes séjours à Lille ainsi que pour les petits plats. On est toujours très bien accueilli à Mouchin chez LN et Max avec vos deux petits.

A **Nausicaa**, je veux t'exprimer toute ma reconnaissance pour l'accueil très chaleureux sur le projet phylogéographie. Dès les premiers moments, tu m'as transmis en toute confiance l'ensemble des informations nécessaires pour la réalisation de la mise au point des marqueurs. Un ENORME merci pour le partage des données géochimiques et génétiques. Je n'oublierais jamais tes nuits blanches pour que j'aie les données au petit matin. Tu es une force de la nature. Que ce fut agréable de te côtoyer et de partager notre passion des séries US. Je les verrai en direct très bientôt ;-)

Un grand merci à **Pierre Saumitou-Laprade** pour l'accueil au sein de l'équipe métaux lourds. Tu t'es toujours très bien occupé de mon bien-être scientifique et de vie lors de l'ensemble de mes trois missions Lilloises.

Je voudrais également remercier **Sophie Leguedois** pour son aide avec la carto et les discussions R. Merci beaucoup pour ton aide dans la préparation de mon oral de thèse ainsi qu'à **Apolline Auclerc** et **Pierre Légize**. Vos notes et vos encouragements m'ont énormément aidé à améliorer mon oral durant la dernière phase de préparation. Gardien du temple, merci à **François Bartoli** et à **Fabrice Roux** pour nos nombreuses discussions et les conseils toujours très instructifs, bien souvent en fin de journée.

Un grand merci à **Jérôme Cortet** et **Geoffroy Séré** pour m'avoir accueilli dans leur coloc durant mon premier mois de thèse.

Je veux remercier les botanistes pour leur grande aide pour la localisation des stations de *Noccaea caerulescens* notamment Mr **Antonetti**, du Conservatoire Botanique National (CBN) du Massif Central, Mr **Ferrez** du CBN de Franche-Comté, Mr **Guy Seznec** et Mr **Thierry Mahévas** des Conservatoire et Jardins Botanique de Nancy

Une expédition, c'est également des matelots, une formidable équipe qui furent d'une grande aide. Un grand merci à vous :

Cécile Godé (la première et à jamais CG) pour les moments BM (des journées d'extraction à la mise au point du multiplexe 2 en passant par la formation aux machines), les pauses café/thé à discuter. Et oui, comme tu le dis si bien, je suis une vraie pipelette.

Romain Goudon pour tous le temps passés devant l'ICP, à préparer et passer mes nombreux échantillons. L'un des deux plus gros utilisateurs de la machine, je te remercie pour ton aide. Merci ensuite à **Lucas Charrois** pour les dernières analyses et le temps passé pour que je puisse avoir un beau jeu de données complet. Merci à **Alain Rakoto** pour la mise à disposition du matériel informatique pour faire tourner l'ABC. Enfin, je voudrais remercier l'ensemble du personnel technique (**Adeline**, **Stéphane**, **Jean-Claude**, **Anne-Cath**) dans l'encadrement et l'accompagnement dans la vie du labo.

Je veux remercier chaleureusement les deux stagiaires que j'ai co-encadré, **Aurélien Renel** et **Nicolas Genevois**. Votre aide fut très précieuse dans l'avancement de mes travaux.

Merci à **Jonathan Kitt** pour la validation des SNP durant son stage, à **Elodie Flaven** pour les échanges sur le mix1C ainsi qu'à l'équipe Métapopulations de l'ISEM pour la mise à disposition de la banque enrichie en microsat.

Au sein des labos, il existe une confrérie importante, les doctorants. Et oui, une thèse c'est de nombreux moussaillons. A vous, chers amis, je veux exprimer ma profonde reconnaissance car sans vous, je n'aurai pas pu tenir ces quatre années. Vous êtes le soleil des îles dans ma vie. A **Audrey**, ma binôme, merci pour m'avoir supporté depuis notre premier jour de thèse. Qu'on s'est bien marré tous ce temps, à coup de pause chocolat et de discussion en tout genre. C'était tellement génial que je n'ai pas vu le temps passé. A **Sarah**, le sunshine du labo, qui est arrivée par la suite, que dire si ce n'est que ta bonne humeur a égayé ces quatre années. Je salue ta détermination et ta vision des choses. Bonne route vers tes nombreux projets. A nous trois, nous avons formé le trépied gagnant. Inséparables, je me souviendrais toujours des festoches, des road trip... A **Hermine**, la référence, je plains les nouveaux doctorants car ils ne profiteront pas de ton savoir infini. J'ai toujours été admiratif de ton engagement et tes convictions qui forcent le respect. A **Marie**, la petite dernière des phytos, tu m'impressionnes par ton talent et ta volonté de fer depuis ton premier jour. Continue comme ça, une grande carrière s'annonce devant toi. J'espère que l'on continuera à collaborer ainsi que nos discussions très passionnantes encore longtemps. A **Joan**, la Patronne et l'autre sudiste, garde ton sourire et ton tempérament, c'est une force indéniable. A **Fred**, l'historique, tu es l'âme de ce labo... Gardien du fort, tu es le lien entre toutes les générations. J'ai hâte de voir ton film surtout si je suis dedans. A **Robin**, Mr chemise, merci pour ta bonne humeur. A **Romain**, Mr thaliana, merci pour ton aide sur les stats et nos discussions sur la recherche. A **Ryad**, le cuisto, merci pour tous tes petits plats et les légendaires Bourek. A **Sophie**, l'autre écologue, je n'ai pas tous compris de tes petites bêtises. Bon courage acidifié. Aux petits nouveaux, **Ali** et **Amina**, je vous souhaite une bonne route pour cette grande épopée. Aux anciens, **Benjamin**, **David**, **Jean-Marc**, **Fabien**, **Nouhou**, merci pour vos nombreux conseils et l'accueil dans le monde des doctorants. Merci **Lucie** pour le transfert de ton savoir sur *Noccaea* et la mise en place de ma manip en hydroponie. A vous, et aux autres que je m'excuse de ne pas mentionner, MERCI tout simplement.

De plus, la thèse permet de belles rencontres amicales et des moments de partage. Merci à mes collègues de pause (**Noële**, **Marie**, **Sarah**, **Alain**) qui furent très importants pour décompresser et refaire parfois le monde. Merci aux lillois pour votre accueil chaleureux, à **Anne-Cath** pour ta sympathie et nos franches parties de rigolade ; à **Claire-Lise** pour les nombreux échanges sur les métallophytes, toi sur la tolérance et moi sur l'hyperaccumulation. Peut-être que l'on synthétisera tous ça un jour ; à **Eric**, l'expert végétal et ciné ; **Diala** et **Roxane**.

Pour finir, je voudrais remercier ma famille pour leur soutien et les encouragements depuis toutes ces années universitaires. Ces cinq années loin de vous est un déchirement permanent mais il a fallu dix à Ulysse pour rentrer, ce sera également le cas pour moi un jour. Merci à vous mes amis d'enfance (**Kavish, Aurel, Tom, Rudy, Ben**). Cela fait de plus de 20 ans que l'on se suit avec toujours autant de plaisir. Enfin, durant la thèse, j'ai gagné une deuxième maman. Merci à toi **Elodie-Denise Chenot**, Elo. Tous ces petits matins à discuter durant la préparation du café furent un régal. Toujours de bons conseils, tes paroles d'encouragement m'ont pleinement aidé, de même que tes rappels sur mes papiers. On t'attend avec Hermine aux USA.

Après le clap de fin, il est temps pour moi de préparer mon sac et prendre la mer Atlantique. Un nouveau chapitre s'ouvre devant moi. Cette étape de la thèse m'a transformé de personne à un homme nouveau. MERCI.

O terre des palmiers, pays d'Eléonore,
Qu'emplissent de leurs chants la mer et les oiseaux !
Île des bengalis, des brises, de l'aurore !
Lotus immaculé sortant du bleu des eaux !
Svelte et suave enfant de la forte nature,
Toi qui sur les contours de ta nudité pure,
Libre, laisses rouler au vent ta chevelure,
Vierge et belle aujourd'hui comme Ève à son réveil ;
Muse natale, muse au radieux sourire,
Toi qui dans tes beautés, jeune, m'appris à lire,
A toi mes chants ! à toi mes hymnes et ma lyre,
O terre où je naquis ! ô terre du soleil !

Auguste Lacaussade, poète réunionnais.

A Stéphanie Bollard, je pense très fort à toi.

Sommaire

Remerciements.....	3
Sommaire.....	9
Chapitre 1-Etat de l'art	15
1 Les éléments en traces dans les écosystèmes.....	17
1.1 Classification des éléments en traces.....	17
1.2 Origine des éléments en traces dans les sols	19
1.3 Diversité des milieux métallifères	20
1.4 Les échanges ioniques dans la rhizosphère	21
1.5 Réponse des végétaux aux éléments en traces dans les sols.....	27
2 Distribution et caractérisation des hyperaccumulateurs	29
2.1 Mesure de l'hyperaccumulation	29
2.2 Distribution géographique et phylogénique des hyperaccumulateurs	32
2.3 Utilisation de l'hypertolérance et de l'hyperaccumulation pour la phytoextraction des sols contaminés.....	35
2.4 Mécanismes de l'hyperaccumulation et de l'hypertolérance.....	37
2.5 Rôle de l'hyperaccumulation.....	38
3 Génétique des populations des pseudométallophytes hyperaccumulateurs	39
3.1 Applications aux pseudo-métallophytes.....	41
3.2 Inférence bayésienne sur les lignées de gènes.....	42
4 <i>Noccaea caerulea</i>, un modèle écologique plastique.	43
4.1 Une systématique complexe: de <i>Thlaspi</i> à <i>Noccaea</i>	43
4.2 Ecologie de <i>Noccaea caerulea</i>	45
4.3 Système de reproduction	45
4.4 Variation de l'hyperaccumulation en éléments en traces... ..	46
4.4.1 ... <i>in situ</i>	46

4.4.2 ... en conditions contrôlées	47
4.4.3 ... pour la phytoextraction.....	48
4.5 Une forte amplitude écologique : vers la définition d'unités.....	48
5. Objectifs de la thèse	49
 <i>Chapitre 2-Ecologie de Noccaea caerulea en France et dans les régions limitrophes : effet</i>	
<i>des conditions édaphiques</i>	<i>53</i>
1 Introduction.....	55
2 Matériels et méthodes	61
2.1 Présentation de la zone d'étude	61
2.2 Échantillonnage de couples sol/plante <i>in situ</i>	62
2.3 Caractérisations physico-chimiques des sols.....	63
2.3.1 Mesure du pH.....	63
2.3.2 Dosage du phosphore assimilable par la méthode de Olsen.....	63
2.3.3 Détermination de la capacité d'échange cationique et du taux de saturation.....	64
2.3.4 Teneur en carbone, azote et soufre.....	65
2.3.5 Mise en solution des éléments pseudo-totaux par l'eau régale	65
2.4 Mise en solution des éléments dans les tissus végétaux	65
2.5 Dosage des éléments en traces et majeurs	66
2.6 Analyses des données	66
3 Résultats.....	71
3.1 Caractérisations écologiques et distribution des stations.....	71
3.2 Caractérisations physico-chimiques des terres	71
3.3 Concentrations pseudo-totales en éléments en trace dans les terres	73
3.3.1 Comparaison des stations minières, non minières et de serpentines	75
3.3.2 Détermination de l'origine des éléments en traces totaux.....	79
3.4 Concentrations en éléments échangeables dans les terres	83
3.4.1 Concentrations en éléments majeurs échangeables.....	83

3.4.2 Concentrations en éléments en traces échangeables	89
3.4.3 Corrélations entre les concentrations échangeables	93
3.4.4 Influence des paramètres édaphiques sur les concentrations échangeables	93
3.4.5 Vers la (re)définition des types édaphiques	95
3.5 Concentrations élémentaires dans les parties aériennes	97
3.5.1 Concentrations en éléments majeurs	97
3.5.2 Concentrations en éléments en traces.....	101
3.5.3 Relations entre éléments dans les parties aériennes	104
3.5.4 Influence des paramètres édaphiques sur les concentrations foliaires en éléments .	104
4 Discussion	107
4.1 Description de l'aire de distribution et de la niche écologique.....	107
4.2 Classification des sites sur la base des concentrations totales en éléments en traces.	108
4.3 Nouvelle définition des groupes édaphiques	109
4.4 Absence de spécificité écotypique dans l'hyperaccumulation des éléments en traces	111
4.4.1 Niveaux d'hyperaccumulation en Cd, Ni et Zn.....	111
4.4.2 Effet de la composition édaphique	112
5 Conclusion	113
 <i>Chapitre 3- Variation of trace metal accumulation, major nutrient uptake and growth</i>	
<i>parameters and their interactions in 22 populations of Noccaea caerulea</i>	<i>117</i>
1- Introduction	118
2- Materials and methods.....	121
2.1 Plant material.....	121
2.2 Plant cultivation.....	123
2.3 Harvest and analyses	124
2.4 Data processing	125
3 Results.....	125

3.1 Growth parameters and their interactions.....	125
3.2 Major element contents and their interactions.....	127
3.3 Trace element contents and their interactions	131
4- Discussion	140
4.1 Particular phenotypic characteristics observed in groups and populations	140
4.2 Interactions among major and trace elements	142
4.3 Which populations for phytoextraction?	143
5- Conclusions	144
<i>Chapitre 4- Structure génétique de.....</i>	<i>147</i>
<i>Noccaea caerulescens à l'ouest de son aire de répartition</i>	<i>147</i>
1 Introduction.....	149
2 Matériels et Méthodes.....	156
2.1 Echantillonnage des plantes et extraction de l'ADN	156
2.2 Origine des individus pour la mise au point des marqueurs	156
2.3 Mise au point des marqueurs SNP chloroplastiques et génotypage	156
2.3 Génotypage microsatellite	159
2.4 Analyse des données	162
2.4.1 Diversité et différenciation génétique	162
2.4.2 Clustering	162
2.4.3 Patron de diversité génétique intra et inter unités.	163
2.5 Test des scénarios démographiques.....	164
2.5.1 Paramètres des scénarios	165
2.5.2 Modèle mutationnel.....	165
2.5.3 Sélection des scénarios et estimation des paramètres démographiques associés	165
2.5.4 Validation des scénarios démographiques	166
3 Résultats.....	169

3.1 Analyse des données chloroplastiques.....	169
3.2 Analyse microsatellite	171
3.2.1 Analyse de la diversité génétique globale et intra-populationnelle.....	171
3.2.2 Structure génétique.....	173
3.2.3 Définition et diversité génétique entre et au sein des unités et sous-unités.....	177
3.3 Analyse des scénarios démographiques.....	179
4. Discussion	183
4.1 Une forte structure génétique actuelle et une zone de métissage dans l'unité Ouest de <i>N. caerulescens</i>	183
4.2 Evolution démographique en Europe de l'Ouest.....	189
5. Conclusion	191
<i>Conclusions générales et perspectives</i>	<i>194</i>
1- Amplitude écologique chez <i>Noccaea caerulescens</i>	194
2- Origine des populations et de l'hyperaccumulation	196
3- Vers l'utilisation des capacités naturelles pour la phytoextraction ou la phytomine	198
<i>Références bibliographiques</i>	<i>200</i>
<i>Annexe A Figures et Tableaux supplémentaires du chapitre 2.....</i>	<i>214</i>
<i>Annexe B Figures et Tableaux supplémentaires du chapitre 3.....</i>	<i>219</i>
<i>Annexe C figures et tableaux supplémentaires du chapitre 4</i>	<i>234</i>

Chapitre 1-Etat de l'art

GROUP
IA

Goldschmidt's Classification

VIIIA

1	H																	He	
2	Li	Be																	Ne
3	Na	Mg	IIIB	IVB	VB	VIB	VII	VIII	IB	IIB	IIIA	IVA	VA	VIA	VIIA	Ar			
4	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	
6	Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
7	Fr	Ra	Ac																

La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
Ac	Th	Pa	U	Nu	Pu									

Lithophile

Siderophile

Chalcophile

Atmophile

Figure 1 : Classification des éléments du tableau périodique de Mendeleïev selon les quatre groupes proposés par Goldschmidt, 1937.

1 Les éléments en traces dans les écosystèmes

1.1 Classification des éléments en traces

La distinction entre les éléments majeurs et en traces varient selon le référentiel choisi et les méthodes utilisés par les différents auteurs pour estimer la composition de la croûte continentale (Wedepohl 1995; Gao *et al.* 1998). Dans l'écorce terrestre supérieure, onze éléments constituent 99,4 % de la masse totale des éléments dans l'ordre décroissant suivant: oxygène (O), silicium (Si), aluminium (Al), fer (Fe), calcium (Ca), potassium (K), sodium (Na), magnésium (Mg), titane (Ti), hydrogène (H), carbone (C). Ces éléments sont présents à des teneurs supérieures ou égales à 1000 mg kg⁻¹ (Goni 1966; Gao *et al.* 1998). Les autres éléments inférieurs à cette teneur sont dénommés éléments en traces. Les éléments en traces se distinguent par leurs propriétés physicochimiques, géochimiques et biologiques (Adriano *et al.* 2005). C'est pourquoi différentes classifications existent au regard de ces propriétés. Dans le tableau de Mendeleïev, les éléments en traces regroupent différentes familles chimiques : (i) les métaux de transitions, (ii) les terres rares et (iii) les métalloïdes. Dans la suite du document, la notion d'éléments en traces (ET) réfèrera sans indication contraire aux éléments en traces métalliques. Adriano *et al.* 2005)

Les éléments en traces peuvent également être subdivisés sur la base de la composition élémentaire des phases minéralogiques (Goldschmidt 1937). Trois des quatre groupes déterminés par Goldschmidt comportent des éléments en traces :

- Le groupe des chalcophiles qui comprend les éléments présentant une affinité dominante pour le soufre (ex. Cd, Cu, Pb, Zn).
- Le groupe des sidérophiles qui comprend les éléments présentant une affinité dominante pour le fer (ex. Mn, Ni).

Tableau 1: Concentrations totales en éléments en traces (mg kg^{-1}) dans la couche terrestre supérieure et dans différents types de roches mères (Alloway, 2013).

Elément	Croute continental supérieur	Granite, Granodiorite	Gabbro, Basalte	Roche ultramafique	Grès	Argile	Schiste	Calcaire
Ag	0,07	0,04	0,1	0,06	0,25	0,07	1,9	0,12
Ba	668	600	330	5	300	550	67	90
Cd	0,1	0,1	0,2	0,05	< 0,04	0,25	<240	0,1
Co	12	4	45	110	0,3	20	67	0,1
Cr	35	10	250	2 300	35	100	< 700	5
Cu	14	12	90	40	2	45	<300	6
Mn	527	400	1 500	1 200	100	850	nd	15
Mo	1,4	1,5	1,2	0,3	0,3	2	< 570	0,3
Ni	19	5	130	2 000	2	70	<700	5
Pb	17	20	4	0,05	10	22	<100	5
Zn	52	50	100	60	20	100	< 2314	40

nd : non déterminé

- Le groupe des lithophiles qui concerne les éléments présentant une affinité dominante pour l'oxygène et se retrouvant par conséquent avec les aluminates et les silicates (ex. Mn).

Les éléments en traces sont également classés selon leurs fonctions physiologiques vis-à-vis des organismes notamment les végétaux supérieurs (Marschner 2012). Quatre d'entre eux (Mn, Cu, Zn, Mo) font actuellement partie des 13 éléments essentiels. Les critères d'appartenance aux éléments essentiels énoncés par Arnon et Stout (1939) dans (Marschner 2012) nécessitent qu'ils soient :

- indispensables aux organismes pour finir un cycle de vie complet,
- non remplaçables par un autre élément,
- constituants d'un métabolite essentiel ou intervenant dans une réaction enzymatique.

Les autres éléments en traces sont alors qualifiés de toxiques (Marschner 2012). Néanmoins, cette classification est discutable puisque certains éléments peuvent être indispensables à un groupe restreint d'organismes (Mengel *et al.* 2001). Ainsi, Ni fut classé comme non essentiel jusqu'à ce que Summer (1926) dans Dixon *et al.* (Dixon *et al.* 1975) montre qu'il est impliqué dans l'hydrolyse de l'urée. Cependant, l'absence de Ni n'empêche pas le cycle complet des organismes (Seregin et Kozhevnikova 2006).

1.2 Origine des éléments en traces dans les sols

Les éléments en traces ont des concentrations variables dans la croûte terrestre supérieure (Tableau 1; Wedepohl, 1995; Adriano *et al.* 2005; Hu et Gao, 2008). Ces concentrations déterminent les teneurs géogéniques dans les sols, c'est à dire le **fond pédogéochimique naturel** de chaque élément (Baize 1997). De plus, selon les roches mères et les processus d'altération mis en place, certains sols peuvent présenter des concentrations en éléments en traces très supérieures aux valeurs médianes : ce sont les anomalies géochimiques locales

(Baize 1997). Ainsi, les sols dérivés de roches ultramafiques sont plus riches en Ni et en Cr que les autres types de sols (Massoura 2004). De même, les concentrations totales en Cd et en Zn dans les sols calcaires du Jura sont naturellement plus élevées que dans d'autres sols en Suisse et en France (Baize et Sterckeman 2001).

Aux concentrations initiales du fond géochimique, s'ajoutent les apports en éléments en traces par les activités agricoles – du fait de l'usage de matières fertilisantes comme certains phosphates et amendements organiques riches en éléments en traces (Smolders et Mertens 2013) – et métallurgiques en lien avec l'extraction et le traitement des minerais ou encore les bassins de décantations (Adriano *et al.* 2005). De plus, des apports de l'atmosphère et de l'hydrosphère peuvent également augmenter les quantités d'ET dans les sols (Bourrelrier et Berthelin, 1998).

1.3 Diversité des milieux métallifères

Les différences d'origines des éléments en traces définissent trois grands types de milieux métallifères qui diffèrent selon l'âge des sites et les processus de formation des sols (Baker *et al.* 2010).

Les **milieux primaires** sont les sites les plus anciens pouvant être âgés de plusieurs millions d'années. Les fortes concentrations en éléments en traces y sont d'origines naturelles comme les **zones de minéralisations** ou d'**affleurement** sans modifications humaines. Les éléments en traces y sont présents en fortes concentrations dans les roches mères sous formes de filons ou de gisements (Coquand 1857). Les sites primaires sont majoritairement des affleurements de roches ultramafiques en ce qui concerne Ni et Mn mais également des zones de minéralisation en ce qui concerne Cu, Co, Pb et Zn.

Les **milieux secondaires** dérivent des sites primaires et sont donc beaucoup plus récents que les sites primaires puisqu'ils résultent de l'**activité minière**. A partir des éléments en traces déjà présents, la contamination est accrue par les procédés d'extraction qui augmentent

leurs concentrations dans les sols par rapport aux sites d'origines (Kabata-Pendias 2000). L'expansion des sites secondaires fut lente durant l'âge de bronze (- 2 000 ans avant J.C.) puis s'accéléra durant l'ère industrielle à la fin du Moyen Age (XIII^e siècle) notamment dans le sud de la France. Les sites secondaires sont principalement des sites contenant des éléments chalcophiles Cd, Pb et du Zn en Europe. Ces sites peuvent être qualifiés de métallifères, miniers ou calaminaires comme des synonymes.

Les **milieux tertiaires** correspondent à des sites pollués par les **bassins de décantations** et les **retombés atmosphériques des ET présents dans les fumées émises lors de l'extraction**. Ces sites sont plus récents (à partir du XVII^e siècle) que les deux autres types. Dans le cas des retombés atmosphériques, l'aire de distribution de ces sites tertiaires peut être assez importante autour de la source d'émission en éléments en traces puis diminuer le long d'un gradient depuis la source (Bourennane *et al.* 2010). D'un point de vue général, les concentrations ici sont également plus faibles que les sites primaires et secondaires.

Par convention, les sols présentant des anomalies géochimiques naturelles et les sols contaminés par les activités anthropogéniques sont dits métallifères. Par opposition, l'ensemble des autres types de sols est qualifié de **non métallifère** ou normal et il comprend les fonds pédogéochimiques élevés (Antonovics *et al.* 1971; Baker 1987; Baker *et al.* 2010). La distinction ne repose donc pas uniquement sur les concentrations totales dans les sols mais également les modifications anthropogéniques. Les espèces végétales retrouvées sur ces sites métallifères sont appelées les **métallophytes** et les populations sont dites **métallicoles**.

1.4 Les échanges ioniques dans la rhizosphère

Si les teneurs en éléments en traces varient selon le type de sol et son niveau de contamination, celles-ci ne correspondent pas toujours à des formes disponibles pour le prélèvement par les végétaux (Bourrelier *et al.* 1998; Kabata-Pendias 2000).

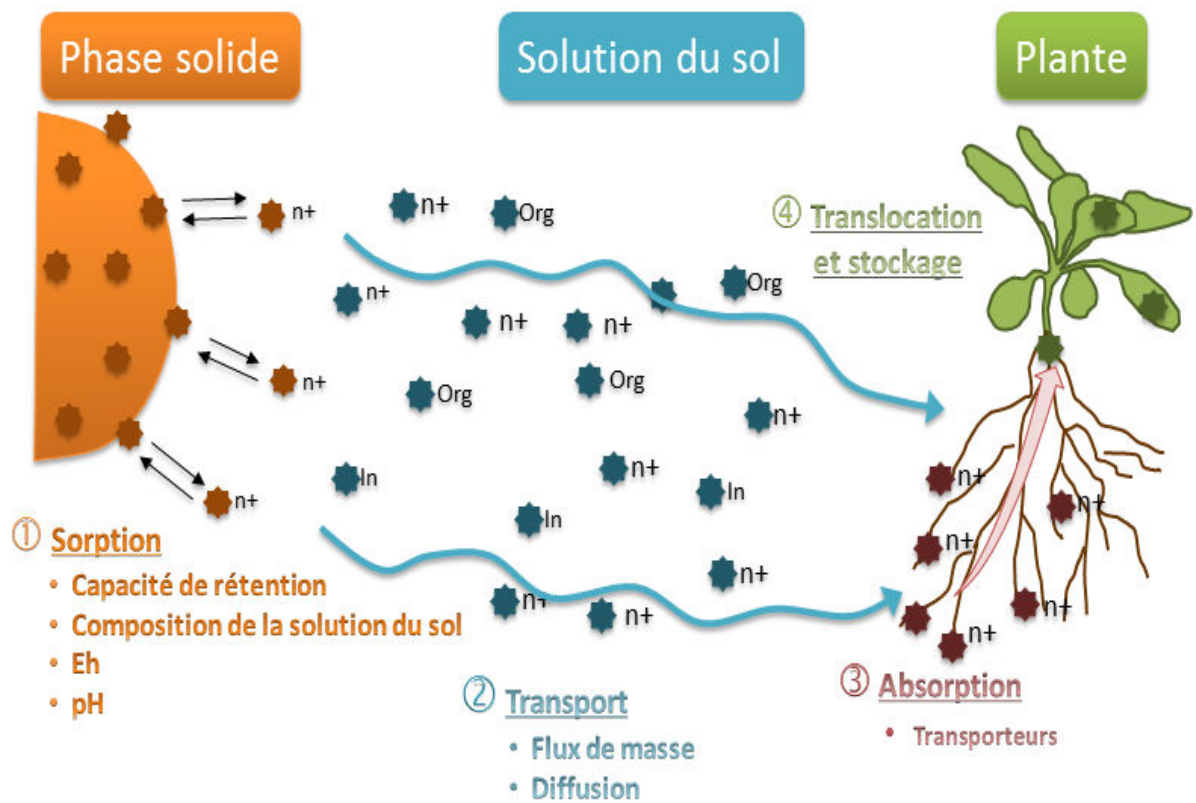
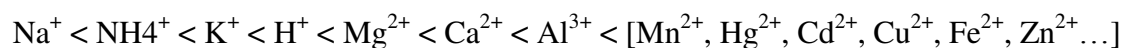


Figure 2 : Représentation schématique des flux d'éléments en traces dans le continuum sol – eau – plante. D'après Sirguey, comm pers.

Dans un sol, les éléments sont localisés à l'intérieur et à la surface de la phase solide, principalement le complexe argilo-humique (Figure 2). Celui-ci présente des charges majoritairement négatives pouvant retenir des ions, définissant le complexe d'échange d'un sol. Au niveau de celui-ci, les cations et des anions peuvent s'adsorber ou s'échanger avec ceux de présents dans la phase aqueuse du sol, la solution du sol, selon trois règles (Gobat *et al.* 1998) :

- L'équilibre ionique doit être maintenu.
- Les échanges se font selon l'équivalence ionique exprimée en $\text{cmol}^+ \text{kg}^{-1}$.
- La fixation des ions est sélective.

Les forces de fixation augmentent selon l'ordre suivant :



La quantité maximale de cations et d'anions sur le complexe d'échange détermine respectivement la capacité d'échange cationique (CEC) et la capacité d'échange anionique (CEA) (Gobat *et al.* 1998). Le nombre des charges présentes sur la phase solide du sol, en particulier sur la matière organique, varie avec le pH du sol. En effet, en présence de H^+ les charges négatives auront tendance à être neutralisées par la fixation d'un proton (protonation). De ce fait, la CEC est généralement plus faible à pH acide qu'à pH basique. La détermination de la CEC est réalisée grâce à une solution saturante (NH_4^+ ou $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$) qui vient déloger l'ensemble des ions sur la surface d'échange (AFNOR X 31-130). La quantité d'ions fixés correspond alors à la CEC. Cette mesure peut se faire à un pH tamponné ou au pH du sol (CEC effective). Si l'on veut une évaluation de la CEC telle qu'elle existe dans le milieu où se développent les racines, il est préférable de réaliser la mesure de la CEC au pH du sol (Wang *et al.* 2006). Outre le pH, les échanges ioniques sont influencés par le potentiel d'oxydoréduction (eH). La mobilité d'un élément réfère à l'aptitude d'un élément à passer d'un compartiment du sol à un autre en diminuant l'énergie de rétention (Baize 1997).

Dans les sols, les éléments en traces se trouvent sous six formes (Baize 1997):

- inclus dans les réseaux cristallins des minéraux
- séquestrés dans les résidus d'organismes
- adsorbés sur les oxydes et les hydroxydes d'Al, Fe et Mn
- complexés par les ligands organiques de la matière organique condensée
- échangeables sur les phases solides
- solubles dans la solution du sol

Dans la solution du sol, les éléments en traces existent sous différentes formes, notamment d'ion libre hydraté, de complexes avec des ligands organiques (acides fulviques, acides organiques, sidérophores, etc.) ou des ligands minéraux (chlorures, ammonium, hydroxydes, etc.). Ces différentes formes (= spéciation) dépendent de plusieurs processus comme la complexation, adsorption/désorption, précipitation, réduction (Kabata-Pendias 2000). Ces processus dépendent des paramètres du sol comme les quantités totales des éléments concernés, le pH, le Eh, le climat et les exsudats racinaires. Ainsi, la quantité biodisponible correspond à l'élément sous forme d'ion libre hydraté en solution et à la quantité sorbée en équilibre avec la solution, susceptible d'alimenter celle-ci à mesure que la racine l'épuise (Tarradellas *et al.* 1996). Il existe différentes méthodes pour évaluer la biodisponibilité comme des modèles géochimiques tels que PHREEQC (Parkhurst et Appelo 2013) ou CHESS (Van der Lee 2002), des modèles empiriques (Sauve *et al.* 2000) ou encore des mesures par voltamétrie ou à l'aide d'électrodes spécifiques. Si les mesures *in situ* sont les plus pertinentes, elles apparaissent plus difficiles et coûteuses à obtenir (Wolt 1994). C'est pourquoi, des méthodes alternatives sont utilisées pour l'évaluation de la biodisponibilité. Parmi ces méthodes, les extractions chimiques sont actuellement les plus utilisées.

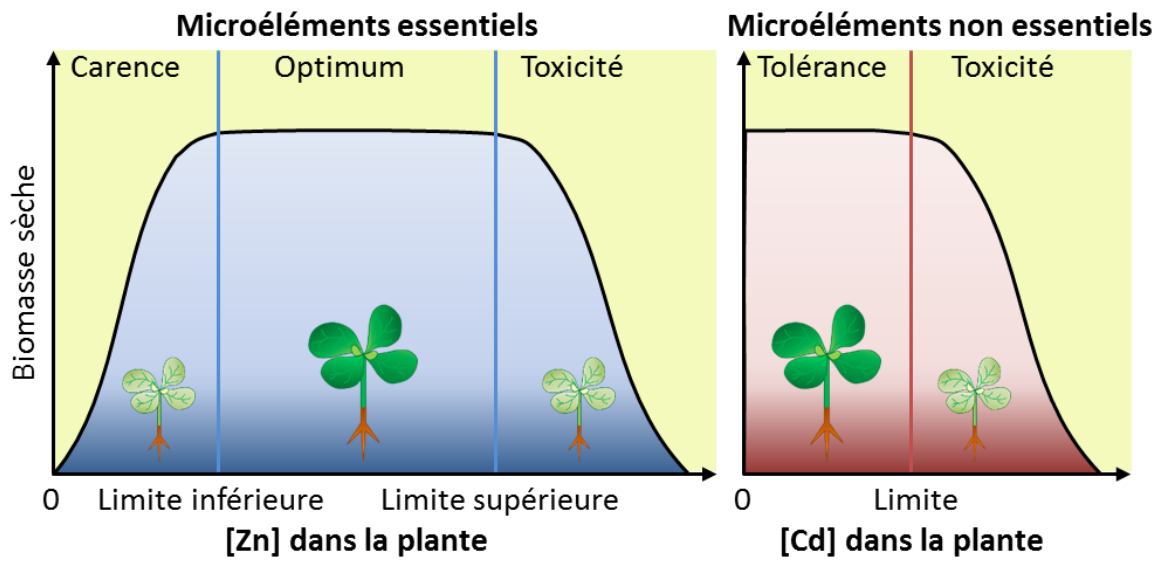


Figure 3 : Production de biomasse par les plantes en fonction de leurs concentrations en Zn (élément essentiel) et en Cd (élément non essentiel) (Lin et Aarts 2012).

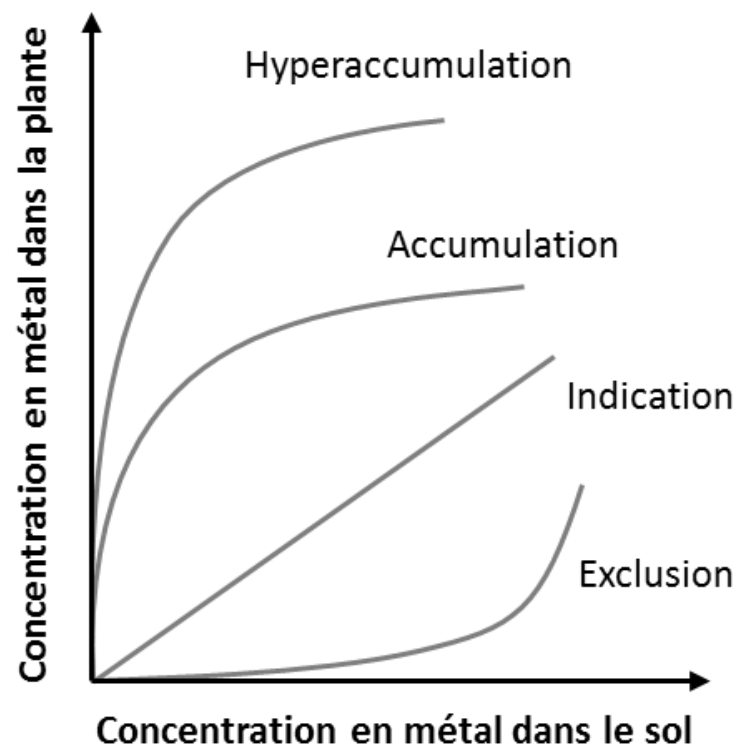


Figure 4 : Les différentes stratégies en réponse à la présence d'éléments en traces dans les sols (Baker 1981).

Les extractants sont l'eau, des ligands organiques (EDTA, DTPA), des solutions salines échangeuses d'ions comme le chlorure de cobaltihexamine (NF ISO 23470) ou le nitrate d'ammonium (NF ISO 19730).

1.5 Réponse des végétaux aux éléments en traces dans les sols

Quels que soient les végétaux, trois types de réponse existent en fonction des concentrations en micronutriments essentiels dans les plantes, à l'exemple du Zn (Figure 3). Aux fortes et aux faibles concentrations en Zn, la croissance des plantes sera limitée, respectivement du fait d'une carence et d'une toxicité vis-à-vis de cet élément. Le bon développement des végétaux est alors conditionné par des concentrations en Zn entre ces deux limites, qui définissent une plage de concentration optimale. Néanmoins, l'amplitude de cette plage de concentrations peut varier entre les végétaux. Les plantes sont considérées comme tolérantes jusqu'à une concentration limite au-delà de laquelle elles deviendront sensibles et présenteront des symptômes de toxicité (Figure 3). Dans le cas des éléments non essentiels pour la croissance des plantes comme le Cd, il n'existe pas de limite inférieure. La carence et la toxicité des éléments en traces ont un impact fort sur la physiologie des organismes avec pour conséquences des chloroses et des réductions de biomasses foliaires et racinaires (Das *et al.* 1997; Gill et Tuteja 2010). Afin de maintenir une concentration optimale en éléments essentiels et limiter la carence et la toxicité des éléments non essentiels, les végétaux ont alors développé un ensemble de réactions biochimiques et biomoléculaires et de processus physiologiques, une homéostasie spécifique aux éléments en traces. L'**homéostasie** implique la mobilisation, le prélèvement des ET du sol, le transport dans le système vasculaire, l'accumulation et la distribution dans les tissus et les cellules, la séquestration et le stockage dans les compartiments intracellulaires, la détoxification de l'excès d'ET par des chélatants (Clemens 2001; Lin et Aarts 2012). Ce mécanisme ubiquiste retrouvé chez l'ensemble des végétaux dans des conditions normales (hors sites métallifères) est appelé la **tolérance**

physiologique aux éléments en traces (Pauwels *et al.* en préparation). Les fortes concentrations en éléments en traces dans les sols métallifères correspondant souvent à une toxicité aigüe, les espèces ayant colonisé ces sols, dites **métallophytes**, sont supposées posséder une tolérance physiologique accrue. Elles sont pour cela qualifiées d'**hypertolérantes**. L'**hypertolérance physiologique** permet de distinguer la capacité des métallophytes à maintenir l'homéostasie des éléments en traces dans les milieux métallifères de la tolérance physiologique aux éléments en traces des espèces non métallophytes qui leur sont proches (Hanikenne et Nouet 2011). En effet, les espèces peuvent également se classer selon leur patron de tolérance et leurs aires de distribution (Pollard *et al.* 2002, 2014). Les **Eumétallophytes** sont endémiques des sites métallifères alors que les pseudo-métallophytes sont présents à la fois sur des sites métallifères et non métallifères. Ainsi, l'hypertolérance caractérise l'ensemble des individus des Eumétallophytes; elle n'est observée en forte fréquence que dans les populations métallicoles des pseudo-métallophytes (Pauwels *et al.* en préparation).

La notion de tolérance peut également être discutée d'un point de vue de la valeur sélective, c'est-à-dire la capacité des métallophytes à survivre et à se reproduire qui comprend l'ensemble des caractéristiques adaptatives des génotypes rencontrés sur des milieux métallifères (Pauwels *et al.* en préparation). Ceci caractérise **la tolérance écologique aux éléments en traces**. C'est pourquoi il est donc important de distinguer l'**hypertolérance physiologique**, le contrôle de l'homéostasie des ET de la **tolérance écologique**, le maintien de la valeur sélective. De plus, si les milieux métallifères sont caractérisés par de fortes concentrations en éléments en traces, la tolérance écologique aux ET intègre potentiellement des adaptations à d'autres pressions comme la déficience en éléments nutritifs ou en encore la sécheresse (Kruckeberg 1984; Macnair 1987; Baker *et al.* 2010). Il existe trois types d'homéostasie conduisant à l'hypertolérance des éléments en traces en milieux métallifères

(Baker 1981, 1987). L'**exclusion** où les végétaux accumulent une grande quantité d'éléments en traces dans les racines au niveau vacuolaire, et évitent toute translocation vers les parties aériennes. L'**indication** où le prélèvement et le transport des éléments en traces sont régulés pour un maintien des concentrations dans l'ensemble de la plante au même niveau que les concentrations du milieu. L'**accumulation** se caractérise par une plus forte concentration en éléments en traces dans les parties aériennes que dans les racines, dans des sols faiblement comme fortement concentrés (Baker 1981). Enfin, un sous-groupe d'espèces émerge au sein des accumulateurs appelé **hyperaccumulateur** avec des concentrations foliaires en ET 10 à 100 fois plus grandes que d'autres espèces présentent sur les milieux métallifères (Figure 4).

2 Distribution et caractérisation des hyperaccumulateurs

L'introduction du terme d'hyperaccumulateur apparaît pour la première fois dans l'étude des concentrations du Ni dans la sève de *Sebertia acuminata* (Sapotaceae) sur un site de serpentine en Nouvelle Calédonie (Jaffré *et al.* 1976). Il a ensuite été généralisé avec l'étude des concentrations foliaires en Ni chez deux genres *Homalium* (Salicacée) et *Hybanthus* (Violacée) (Brooks *et al.* 1977). L'hyperaccumulation définit alors la capacité des végétaux à concentrer les éléments en traces dans leurs parties aériennes à des valeurs quantitatives inhabituelles pour des espèces végétales (Reeves 1992).

2.1 Mesure de l'hyperaccumulation

Il existe différents critères pour définir l'hyperaccumulation. Suite aux travaux de Jaffré *et al.* (Jaffré *et al.* 1976), des échantillons provenant principalement d'herbiers des différentes flores mondiales ou récoltés sur le terrain furent analysés afin de doser les concentrations en Ni foliaire puis les autres éléments en traces (Brooks *et al.* 1977; Brooks et Radford 1978; Baker et Brooks 1989; Reeves *et al.* 2001; Reeves 2003).

Tableau 2: Seuils de concentrations foliaires (mg kg⁻¹) de carence, de toxicité et d'hyperaccumulation en éléments en traces chez les végétaux et le nombre de familles et d'espèces hyperaccumulatrices, d'après Kramer (2010)

Elément	Carence	Toxicité	Hyperaccumulation	Espèces	Familles
Cadmium	n.e	6-10	100	5	2
Cobalt	n.e	0,4	1000 (300)	26*	11*
Cuivre	1-5	20-30	1000 (300)	35*	15*
Plomb	n.e	0,6-28	1000	14*	7*
Manganèse	10-20	200-3 500	10 000	10	6
Nickel	0.002-0.004	10 à 50	1000	390	42
Selenium	n.e	3-100	1000 (100)	20	7
Thallium	n.e	20	1000 (100)	1	1
Zinc	15-20	300	10 000 (3 000)	15	6

n.e : élément non essentiel ; * : surestimation possible par contamination de particule de sol

Les valeurs entre parenthèses correspondent aux nouveaux seuils d'hyperaccumulation proposés par (Krämer 2010; Van der Ent *et al.* 2013).

Les différents auteurs montrèrent ainsi que la distribution des concentrations foliaires en Ni présentent au moins deux modes en milieux à serpentine. Etant donné que peu d'espèces présentent des concentrations entre 100 et 1 000 mg kg⁻¹, le seuil d'hyperaccumulation pour le Ni fut en conséquence fixé à 1 000 mg kg⁻¹. Ainsi, Reeves (1992) proposa la définition d'hyperaccumulation du Ni suivante : 'un hyperaccumulateur doit avoir une concentration en Ni supérieure à 1 000 mg kg⁻¹ dans au moins un organe supérieur retrouvé chez un spécimen provenant de l'habitat naturel de l'espèce'. La notion d'hyperaccumulation fut ensuite étendue aux autres éléments en traces avec la nécessité de définir un seuil pour chaque élément. Les différents seuils d'hyperaccumulation sont présentés en Tableau 2 pour dix éléments en traces pour lesquels des hyperaccumulateurs sont connus (Krämer 2010; Van der Ent *et al.* 2013). Ces seuils arbitraires ont pour objectif de discriminer des comportements et capacités physiologiques distincts entre les espèces (Van der Ent *et al.* 2013). C'est pourquoi, certains auteurs suggèrent aujourd'hui de revoir à la baisse les teneurs limites établies dans les années 1990 et considérées trop drastiques. Outre le dépassement des valeurs limites de concentrations foliaires en éléments en traces, deux autres paramètres permettent de spécifier l'hyperaccumulation : (i) le **facteur de bioconcentration (BCF)**, qui est déterminé comme le rapport entre les concentrations foliaires et les concentrations dans le sol, et (ii) le **facteur de translocation**, qui est déterminé comme le rapport des concentrations foliaires sur les concentrations racinaires. Ces deux rapports doivent alors être supérieurs à 1 pour établir l'hyperaccumulation. Néanmoins, ces deux facteurs sont difficilement applicables avec des échantillons *in situ* selon Van der Ent *et al.* (2013). En effet, le dosage dans les racines n'est quasiment jamais réalisé car il y a un risque important de surestimation des concentrations en raison du contact direct des racines avec le sol et du risque de dépôt des métaux à la surface des racines. Ce risque existe également pour les feuilles sur lesquelles des poussières peuvent se déposer mais un lavage minutieux limite ce problème (Faucon *et al.* 2007). Concernant le

facteur de bioconcentration, le ratio peut-être obtenu de différentes manières en considérant les teneurs en éléments en traces du sol soit totales, soit échangeables. Ainsi, l'absence d'homogénéité dans les méthodes analytiques complique les comparaisons du BCF entre les espèces. Finalement, selon Van der Ent *et al.* (2013), le dosage des concentrations foliaires d'individus provenant du terrain reste la meilleure méthode pour définir et explorer l'hyperaccumulation lors de la prospection des milieux à la recherche d'espèces hyperaccumulatrices.

2.2 Distribution géographique et phylogénique des hyperaccumulateurs

Il existe environ 500 espèces hyperaccumulatrices au sein des Angiospermes soit 0,2 % des espèces. A l'échelle mondiale, les hyperaccumulateurs sont retrouvés majoritairement en milieu tropical avec plus de 80 % des espèces hyperaccumulatrices. Concernant Ni, les deux tiers des espèces hyperaccumulatrices sont retrouvées en milieu tropical principalement en Nouvelle Calédonie et en Amérique Latine (Proctor et Roberts 1991; Jaffré 1992; Proctor 2003; Harrison et Rajakaruna 2011). Les hyperaccumulateurs de Cu et Co sont quant à eux principalement trouvés en République Démocratique du Congo (Faucon *et al.* 2010). Enfin, en Europe, les hyperaccumulateurs sont retrouvés sur les milieux à serpentines dans les Balkans (Bani *et al.* 2008) et les Alpes (Mengoni *et al.* 2003; Moore *et al.* 2013) mais aussi sur des sols calaminaires dérivés de l'exploitation minière des filons d'éléments chalcophiles dans le Nord et le Sud de la France, la Belgique, l'Allemagne (Reeves *et al.* 2001; Bert *et al.* 2002; Escarré *et al.* 2011).

A l'échelle locale, les hyperaccumulateurs sont retrouvés:

- Sur des sols métallifères primaires en lien avec l'affleurement de roches ultramafiques en ce qui concerne Ni et Mn ou de zones de minéralisation en ce qui concerne Cu, Co, Pb et Zn. L'altération des roches conduit alors à l'augmentation dans les sols des concentrations en

éléments en traces en surface et ainsi à favoriser le développement d'une flore endémique très diversifiée.

- Sur des sols métallifères secondaires liés aux activités minières et métallurgiques des éléments chalcophiles (Cd, Pb et Zn).

- Sur des sols métallifères tertiaires contaminés par des retombées atmosphériques des éléments chalcophiles.

- Sur des sols non métallifères dans le cas des espèces pseudo-métallophytes, hyperaccumulantes le Cd et le Zn, principalement au sein des Brassicacées.

Au regard de la systématique, la distribution des hyperaccumulants n'est pas uniforme (Cappa et Pilon-Smits 2014). Au niveau des familles végétales, 60 (sur 443) contiennent au moins une espèce hyperaccumulante. Toutefois, trois familles concentrent la majorité des espèces. Il s'agit principalement des Astéracées, Euphorbiacées et Brassicacées. Ainsi, l'hyperaccumulation semble avoir évolué indépendamment dans de nombreuses familles, de même qu'à l'intérieur des familles. Krämer (2010) décompte six origines indépendantes pour l'hyperaccumulation du Ni et trois origines pour l'hyperaccumulation de Cd et Zn (Figure 5). Par ailleurs, certains genres comptent de nombreuses espèces hyperaccumulantes, notamment les genres *Alyssum* (50 espèces hyperaccumulantes de Ni ; Cecchi *et al.* 2010) et *Noccaea* (Koch et German 2013). A l'échelle des espèces, l'hyperaccumulation n'est pas forcément trouvée chez toutes les populations. Par exemple, chez les pseudo-métallophytes, l'hyperaccumulation du Ni n'est mise en évidence que dans les populations se développant sur des stations à serpentine (Boyd et Martens 1998a). Dans le cas de l'hyperaccumulation de Cd et Zn, les deux espèces principalement étudiées, *Noccaea caerulescens* et *Arabidopsis halleri* présentent quant à elles une forte variabilité tant inter- que intra-populations. Ainsi, la variabilité de l'hyperaccumulation s'exprime aux différents niveaux de la classification : intra-genre dans le cas de Ni chez les espèces du genre *Alyssum* à inter-populations dans le cas de Cd et Zn chez *Noccaea caerulescens*.

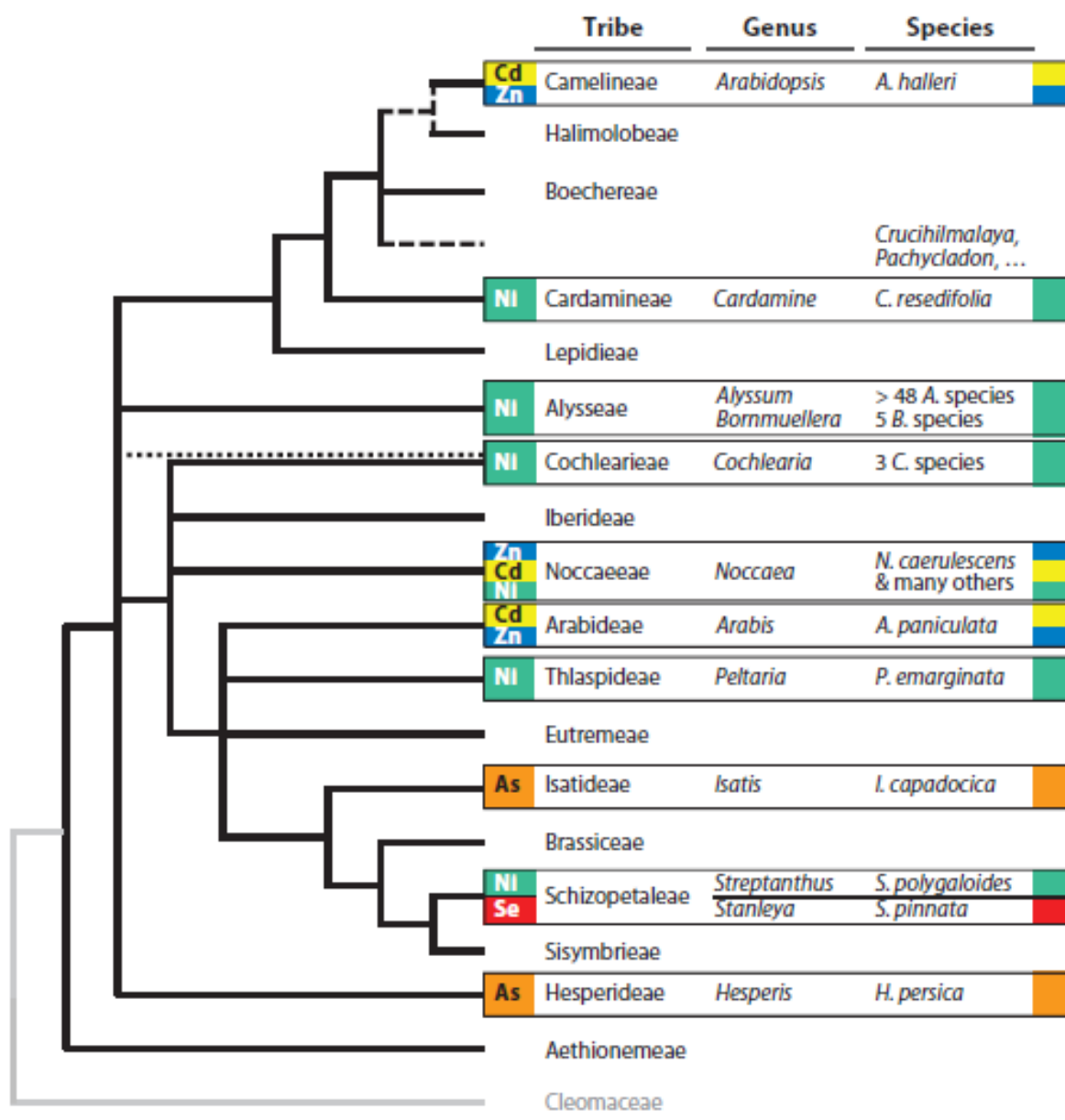


Figure 5 : Evolution de l'hyperaccumulation des éléments en traces au sein des Brassicacées à l'échelle de la tribu, du genre et de l'espèce au regard de la phylogénie (Krämer 2010)

2.3 Utilisation de l'hypertolérance et de l'hyperaccumulation pour la phytoextraction des sols contaminés.

Face à l'augmentation des surfaces concernées par la contamination en éléments en traces comme les anciennes mines, les terres industrielles ou encore les zones cultivées, se pose la nécessité de traiter de réhabiliter les sols. La phytoremédiation est une méthode basée sur la capacité de tolérance et d'accumulation de certaines plantes pour réhabiliter des sols contaminés par les éléments en traces (Cunningham *et al.* 1995; Chaney *et al.* 1997; Raskin *et al.* 1997; Meagher 2000; Pilon-Smits 2005; Pilon-Smits et Freeman 2006). Elle apparaît comme une alternative aux méthodes physico-chimiques. Parmi les différents procédés, la phytoextraction est une technique prometteuse basée sur la capacité des végétaux à tolérer, prélever et stocker les éléments en traces dans les parties aériennes facilement récoltables (Sterckeman *et al.*, 2012). L'efficacité de la phytoextraction se base principalement sur deux paramètres clés que sont une forte production de biomasse et un facteur de bioconcentration (BCF) des éléments supérieur à 1 (McGrath et Zhao 2003). Dès lors, deux types de végétaux peuvent être envisagés : les espèces hyperaccumulatrices caractérisées par des BCF très élevés mais des biomasses faibles à modestes ou les plantes de grandes cultures caractérisées par des BCF faibles mais de fortes productions de biomasse (Sterckeman *et al.* 2012). Par ailleurs, la biodisponibilité des ET est faible à modérée dans certains sols et peuvent nécessiter d'utiliser des espèces tolérantes écartant ainsi les plantes de grande culture les plus sensibles. De plus, la phytoextraction doit souvent s'effectuer dans des milieux polymétalliques avec parfois un risque d'effets antagonistes sur leur prélèvement par les plantes (Lin *et al.* 2008). Pour que le procédé soit économiquement et écologiquement efficace (Sarma 2011), il faut que la plante possède :

- Un niveau de tolérance aux ET adapté à la contamination.

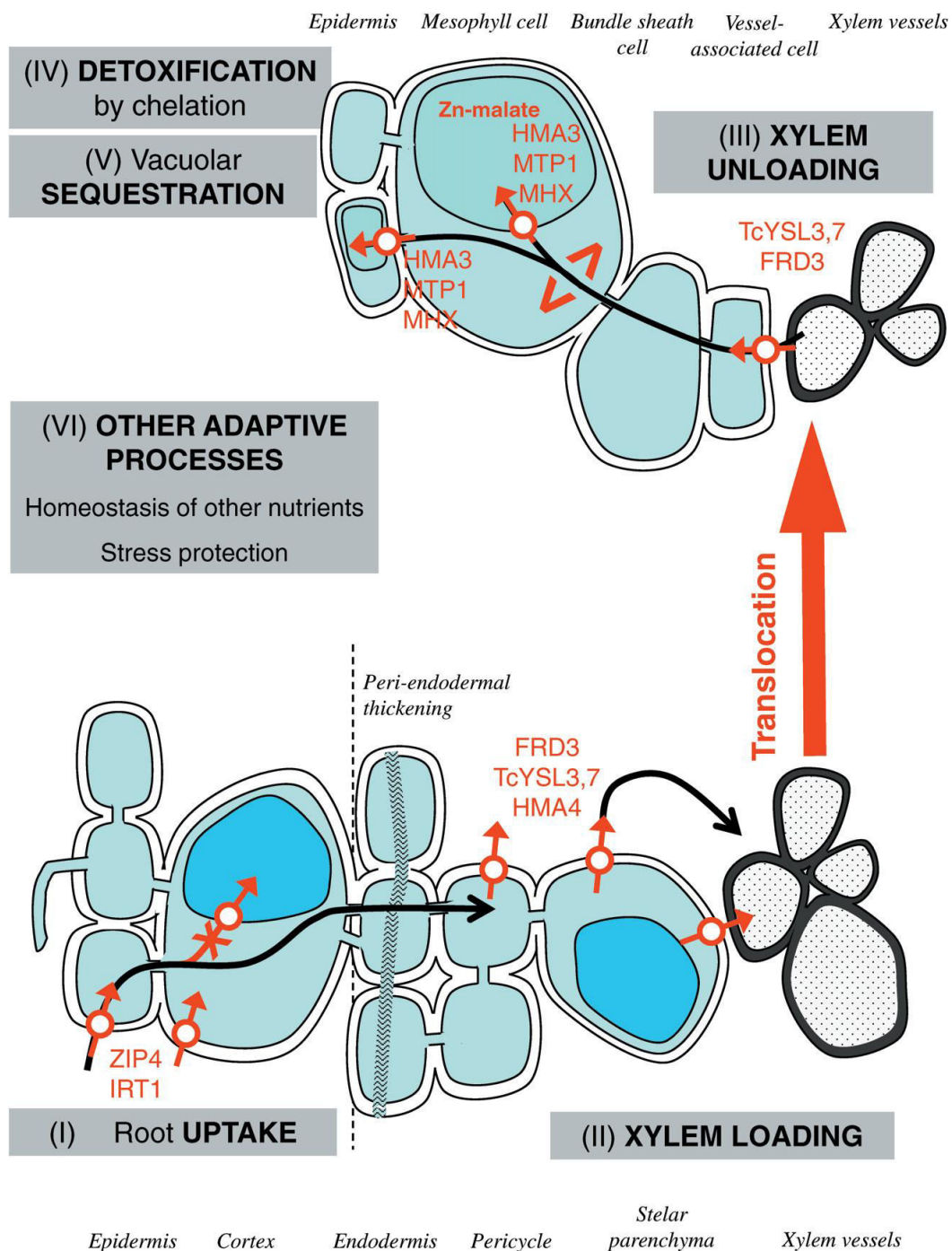


Figure 6 : Transport des éléments en traces de la racine jusqu'au stockage dans les parties aériennes (Verbruggen *et al.* 2009).

- Un niveau d'accumulation adéquat, se traduisant par un transport et un potentiel de prélèvement des ET élevés.
- Une vitesse de croissance et une production de biomasse élevées.
- Une tolérance à des pH extrêmes et à des environnements salins.

Pour ces raisons, il existe aujourd'hui peu de candidats à la phytoextraction. Ainsi, l'exploration des capacités naturelles des hyperaccumulateurs est importante afin d'étoffer les connaissances sur leurs aptitudes mais également de déterminer les mécanismes de l'hypertolérance ainsi que les caractéristiques écologiques des sites métallifères pouvant influencer sur ces mécanismes.

2.4 Mécanismes de l'hyperaccumulation et de l'hypertolérance

Les concentrations en éléments en traces mesurées dans les parties aériennes d'une espèce hyperaccumulatrice *in situ* sont la résultante de différentes étapes depuis le transport des ET dans la solution du sol jusqu'à leur stockage dans les parties aériennes. De plus, les mécanismes mis en place par les plantes à chacune de ces étapes reflètent l'hypertolérance physiologique observée chez les hyperaccumulateurs de Cd et de Zn. Ceci peut être résumé par trois étapes physiologiques clés que sont le prélèvement, le transport et la séquestration (Verbruggen *et al.* 2009; Hanikenne *et al.* 2011). Les éléments sont transportés sous formes d'ions (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) de la solution du sol vers les surfaces racinaires par diffusion ou par advection (Bourrelie *et al.* 1998). A l'intérieur de la racine, deux voies de transport sont possibles pour les ions (Redjala *et al.* 2009, 2010). D'une part, les ions peuvent s'accumuler dans les espaces intercellulaires du cortex (apoplasme) et d'autre part, entrer dans le cytoplasme des cellulaires racinaires (symplasme). Une partie des ET est stockée dans les vacuoles des racines alors qu'une autre partie, transportée par voie symplasmique, est déversée dans le xylème par des transporteurs ATPase du type P, ATPase-HMA, MATE ou

OPT pour être véhiculée vers les feuilles. C'est principalement ce mécanisme que caractérise le facteur de translocation (Milner et Kochian 2008; Verbruggen *et al.* 2009; Hanikenne *et al.* 2011). Au niveau des parties aériennes, les éléments en traces sont stockés dans les vacuoles et des parois cellulaires des feuilles. Différents composés organiques permettent leur prise en charge dans les cellules : l'histidine (cas majoritaire), la nicotianamine et des acides organiques comme le malate ou le citrate (Callahan *et al.* 2006).

La comparaison des gènes susceptibles de participer dans l'hypertolérance et l'hyperaccumulation de Cd et de Zn chez les espèces hyperaccumulatrices *Noccaea caerulescens* et *Arabidopsis halleri*, montrent une modification des mécanismes déjà existants par rapport à une espèce proche non accumulatrice *Arabidopsis thaliana*. L'hypertolérance chez ces espèces se caractérise alors par l'augmentation de l'activité des transporteurs via la multiplication du nombre de copies de gènes comme les ATP-ases (HMA3, HMA4) et une non régulation de certains gènes de type ZIP (Van de Mortel *et al.* 2006, 2008; Milner *et al.* 2008; Lochlainn *et al.* 2011; Craciun *et al.* 2012).

2.5 Rôle de l'hyperaccumulation

Les concentrations élevées en éléments en traces dans les organes aériens des hyperaccumulateurs induisent des modifications physiologiques importantes comme une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Dat *et al.* 2000). De plus, le transport des éléments en traces des racines vers les parties aériennes utilisent dans certains cas des transporteurs ATP-ases nécessitant de l'énergie (Verbruggen *et al.* 2009). Les espèces métallophytes présentent donc généralement de faibles biomasses. Ainsi, une partie du carbone et de l'énergie photosynthétique va être utilisée pour prendre en charge les éléments en traces plutôt qu'être allouée à la production de la biomasse. Il est en résulte donc un coût lié à l'hyperaccumulation des éléments en traces. De plus, d'autres conditions de stress retrouvées dans les milieux métallifères, comme la sécheresse et la carence en nutriments,

peuvent augmenter les coûts associés à la tolérance écologique chez les métallophytes. Il est donc difficile de dissocier le coût de la tolérance écologique lié aux propriétés des sites de celui engendré par l'hyperaccumulation. Le coût de la tolérance à l'ensemble des conditions écologiques des milieux métallifères est estimé à environ 20 % de l'énergie globale (Ernst 2006).

Quelle serait la contrepartie d'une telle dépense ? (Boyd et Martens 1992) formulent plusieurs hypothèses pour expliquer le rôle de l'hyperaccumulation: (i) une stratégie de l'(hyper)tolérance, (ii) une résistance au stress hydrique, (iii) une meilleure protection contre les herbivores et les pathogènes, (iv) un prélèvement indirect, (v) une protection contre les plantes compétitrices par la libération des éléments en traces contenus dans les organes à la mort de la plante (allélopathie). Depuis l'énoncé de ces hypothèses, différentes études ont cherché à les tester. Pour chacune d'elles, des résultats contradictoires apparaissent selon les espèces et les conditions expérimentales mises en œuvre, notamment dans l'étude d'une meilleure protection contre les herbivores et les pathogènes. En effet, (Boyd et Martens 1998b) décrivent différents cas où les feuilles présentant les plus fortes concentrations en éléments en traces étaient les moins consommées par des herbivores alors que (Boyd 2009) montre que certaines espèces d'insectes sont exclusivement trouvées sur des hyperaccumulateurs de Ni et peuvent tolérer de fortes concentrations en l'élément. Le débat sur le rôle de l'hyperaccumulation reste d'actualité et aucune règle générale ne semble prévaloir pour l'ensemble des hyperaccumulateurs.

3 Génétique des populations des pseudométallophytes hyperaccumulateurs

L'organisation spatiale, au sein et entre les populations, de la diversité génétique d'une espèce, ou structure génétique, résulte de divers processus évolutifs et démographiques.

Comprendre la structure actuelle de la diversité génétique au sein d'une espèce, c'est donc aussi identifier les facteurs qui l'ont déterminée. La biogéographie est la discipline qui s'intéresse au sens large à la distribution spatiale de la diversité biologique. Au niveau spécifique, la biogéographie des espèces est par exemple l'étude de la distribution géographique des individus d'une même espèce (Ball 1975). L'étude biogéographique permet par exemple de révéler l'influence des facteurs géographiques (barrières géographiques, dérive continentale), historiques (spéciation, extinction, changements globaux) ou environnementaux sur la distribution géographique d'une espèce (Crisp *et al.* 2011). Elle permet aussi de caractériser la niche écologique d'une espèce, c'est-à-dire ses préférences vis-à-vis de paramètres écologiques biotiques et abiotiques. Au niveau intra-spécifique, la biogéographie se décline en écogéographie, ou étude de la distribution géographique de traits écologiques, et en génétique des populations ou phylogéographie, ou étude de la distribution géographique de la diversité génétique observée à l'aide d'outils moléculaires. L'écogéographie est généralement basée sur des mesures phénotypiques et s'intéresse essentiellement à l'impact de la sélection exercée par les facteurs environnementaux sur la distribution de la diversité phénotypique de traits écologiques. La génétique des populations et la phylogéographie sont basées sur des données obtenues à l'aide de méthodes de génotypage moléculaire. Etant donné la méconnaissance actuelle du déterminisme génétique des traits écologiques dans la plupart des situations, les données moléculaires sont généralement obtenues sur des locus génétiques non codants, supposés neutres, dont l'évolution n'est pas déterminée par la sélection naturelle.

La phylogéographie étudie plus précisément la distribution géographique des lignées généalogiques au sein des espèces (Avice 2000), en s'intéressant non seulement aux fréquences d'haplotypes ou allèles mais aussi aux distances moléculaires entre haplotypes ou allèles (Avice 1989). Deux mécanismes peuvent modeler et expliquer la distribution des

haplotypes dans les zones géographiques. Dans le cas de la vicariance, la séparation en allopatrie des lignées est le reflet des séparations géographiques (Avice 2000) alors qu'avec de la dispersion, les haplotypes et la structure géographique peuvent avoir une relation plus variable. Toutes ces études nécessitent l'utilisation de marqueurs moléculaires neutres (Futuyma 1998) qui permettent de refléter uniquement les processus évolutifs générés par la dérive génétique, les flux géniques et les mutations (Schaal et Olsen 2000). Deux principaux marqueurs, permettant d'étudier différents niveaux de l'histoire démographique sont préférentiellement choisis : les marqueurs obtenus à partir de l'ADN des organites (mitochondrie ou chloroplaste) reflétant plutôt les événements anciens et les microsatellites nucléaires, dont la dynamique mutationnelle est plus rapide, reflétant plutôt des événements plus récents, voire contemporains (Selkoe et Toonen 2006). Chez les végétaux, l'analyse des lignées de gènes s'effectue principalement à partir des gènes chloroplastiques (Petit et Vendramin 2007).

3.1 Applications aux pseudo-métallophytes

Chez les pseudo-métallophytes, la discontinuité géographique de l'habitat est moins marquée que celle des métallophytes car la composante édaphique de la niche écologique est plus large allant des sols non métallifères à métallifères. Les caractéristiques propres des sites à serpentines par exemple sont considérées comme des pressions de sélection pour les individus du fait d'un excès de Ni, un ratio Ca/Mg bas et de teneurs faibles en éléments essentiels (Brady *et al.* 2005; Kazakou *et al.* 2008). De ce fait, les milieux métallifères ont été définis comme des 'îles édaphiques' (Lefebvre et Vernet 1990). Deux hypothèses sont proposées pour comprendre l'origine et l'histoire de la colonisation des milieux métallifères. Du fait des pressions de sélection liées à ces milieux (sécheresse, faibles ressources minérales, fortes concentrations en ET), seuls les géotypes tolérants peuvent ainsi survivre et se développer sur ces milieux particuliers (Pollard *et al.* 2002). Dans ce cas, un effet de

foundation est attendu par rapport aux populations non métallicoles et donc une diminution de la diversité génétique (Lefebvre *et al.* 1990). L'autre hypothèse est que la structuration discontinue et la possible évolution rapide de la tolérance au sein des populations non métallicoles ou pré-adaptées font que les populations métallicoles auraient évolué plusieurs fois formant un groupe polyphylétique (Schat *et al.* 1996). Les études phylogéographiques montrent que la première hypothèse d'une réduction de la diversité génétique est peu soutenue alors que de multiples origines des populations métallifères à partir de populations non métallifères ont été montrées chez de nombreuses espèces comme *Arabidopsis halleri* (Pauwels *et al.* 2005, 2012) et *Armeria maritima* (Vekemans et Lefebvre 1997). Enfin, les études montrent que les populations dériveraient de populations ancestrales issues de la dernière glaciation (Pauwels *et al.* 2012; Moore *et al.* 2013) sans pouvoir tester et valider les hypothèses émises.

3.2 Inférence bayésienne sur les lignées de gènes

A partir des lignées de gènes et d'un modèle démographique donné, un arbre de coalescence peut donc être construit (Knowles 2009). Cet arbre se compose de différents nœuds avec un ancêtre commun et des lignées divergentes. En utilisant la coalescence et la variation des taux de mutations, il est possible d'estimer par une fonction de vraisemblance les paramètres de génétique des populations tels que les tailles efficaces, les flux de gènes, les effets de fondations et les temps de divergence. Les méthodes d'inférence qui recherchent les valeurs de paramètres les plus proches de l'arbre de coalescence observé utilisent l'inférence bayésienne. Parmi les méthodes d'inférences, l'approche 'Approximate Bayesian Computation' (ABC) (Beaumont *et al.* 2002; Csillery *et al.* 2010; Girod *et al.* 2011) est de plus en plus utilisée (Guillemaud *et al.* 2009; Keller *et al.* 2012; Fontaine *et al.* 2013). L'approche ABC peut être résumée en trois étapes :

- (i) formuler les modèles démographiques et générer un grand nombre de généalogies,

- (ii) sélectionner le meilleur modèle qui approxime au mieux les données observées sur la base de variables statistiques choisies par l'utilisateur comme les indices de diversité génétique (richesse allélique, hétérozygotie attendue), les F_{st} entre paires de populations ou encore un estimateur de réduction des tailles efficaces (indice M_{GW}),
- (iii) estimer les paramètres démographiques a posteriori par régression linéaire locale.

Actuellement, les approches ABC ont été plutôt utilisées pour l'étude des invasions biologiques (Pascual *et al.* 2007; Guillemaud *et al.* 2009) mais leur utilisation pour décrire l'histoire démographique des espèces végétales est prometteuse (François *et al.* 2008; Roux *et al.* 2011).

4 *Noccaea caerulea*, un modèle écologique plastique.

4.1 Une systématique complexe: de *Thlaspi* à *Noccaea*.

Le genre *Thlaspi* (Brassicacée) comprend plus de 80 espèces réparties dans toute l'Europe (Al-Shehbaz, 1986). De même que pour la famille, la classification du genre se fait essentiellement sur la base de la morphologie des fruits et des graines (Schulz, 1936 dans (Beilstein *et al.* 2006). Ces caractères peuvent être labiles, ce qui amène à confondre homologie et homoplasie. Cela a conduit à la création de groupes polyphylétiques sur la base de ressemblances morphologiques sans préjuger de réels liens génétiques entre les espèces au sein de ces groupes (Mummenhoff *et al.* 1997; Koch et Mummenhoff 2001).

(Meyer 1979) fut le premier à remettre en cause la classification du genre *Thlaspi* et proposa de séparer ce groupe en 12 genres dont *Noccaea*. En 2004, (Koch et Al-Shehbaz 2004) étudient la phylogénie du genre *Thlaspi* présent en Amérique du Nord. Leur étude porte sur les liens de parenté avec les populations européennes et se base sur un typage moléculaire de deux régions génomiques : ITS (région du génome nucléaire codant pour les sous-unités

ribosomiques) et *trnL-trnF* (région du génome plastidial). Les auteurs montrent alors que le genre européen *Thlaspi* est monophylétique et qu'il doit être assigné au genre *Noccaea*. Néanmoins, cette classification ne fut prise en compte qu'au milieu des années 2000 (Koch *et al.* 2001, 2013).

Au sein du genre *Noccaea*, la nomenclature et la taxonomie de l'espèce *N. caerulescens* furent également remise en cause. L'espèce fut dénommée successivement: *T. sylvestre* Jordan, *T. occitanum* Jordan, *T. virens* Jordan et *T. montanum* L. subsp. *Alpestre* Bonnier & Layens. Enfin, le taxon a également été divisé en deux sous-espèces, *T. caerulescens* ssp. *caerulescens* et *T. caerulescens* ssp. *calaminare* selon leur provenance édaphique à savoir respectivement les sols non métallifères et les sols métallifères calaminaires. Avec l'émergence du typage moléculaire, la génétique des populations permet de mettre en exergue les relations de parenté entre les populations. Koch *et al.* (1998) utilisent pour la première fois des marqueurs moléculaires chez cette espèce pour déterminer la structuration des populations grâce à des isozymes et tester la séparation entre les sous espèces. Les auteurs mettent alors en évidence l'absence de différences génétiques entre les sous-espèces citées plus haut. Leurs résultats sont confirmés par une étude similaire portant sur les allozymes (Dubois *et al.* 2003). Avec la révision systématique et sur l'absence de différenciation morphologique, certains auteurs proposent d'abandonner les sous-espèces ssp *calaminare* et ssp *caerulescens* en lien avec la composante des sols. La taxonomie proposée et recommandée par Meyer (2006), et reprise par (Koch *et al.* 2013), est la suivante : *N. caerulescens* subsp. *caerulescens* pour les stations d'Europe de l'Est et les stations ayant récemment colonisé la Scandinavie et *Noccaea caerulescens* subsp. *sylvestris* pour les stations d'Europe de l'Ouest ainsi que les stations de Grande-Bretagne.

4.2 Ecologie de *Noccaea caerulescens*

Noccaea caerulescens (J. & C. Presl) F. K. Mey. est une Brassicaceae alpine ou subalpine, annuelle, bisannuelle à pérennante dont la période de floraison s'étend d'avril à juin (Dechamps *et al.* 2011). La plante produit plusieurs longs racèmes. Les fruits sont des silicules contenant jusqu'à six à huit graines. Elle est naturellement présente sur une partie de l'Europe et des populations furent introduites et naturalisées en Scandinavie et au Royaume-Uni (Tutin *et al.* 1993; Ernst 2006). Les populations de *N. caerulescens* se distribuent sur un gradient altitudinal allant de 60m pour la population d'Angleur en Belgique (Dechamps *et al.* 2008b) à plus de 1 500 m d'altitude pour des populations du Massif Alpin Suisse (Besnard *et al.* 2009). Les stations sont préférentiellement exposées du sud-est au sud-ouest (Molitor *et al.* 2005). En Europe de l'Ouest, la majorité des populations de *N. caerulescens* se trouve au niveau de six massifs montagneux : le Massif des Ardennes, le Massif Alpin, le Massif Central, le Jura, le Massif des Pyrénées et le Massif Vosgien (Reeves *et al.* 2001).

4.3 Système de reproduction

Le régime de reproduction est protogyne c'est-à-dire que la réceptivité du stigmate précède la déhiscence des anthères et la libération du pollen, ce qui favorise l'allogamie. Néanmoins, il n'existe pas de système d'auto-incompatibilité, ce qui rend l'autogamie possible (Riley, 1956). Le pollen est trop lourd pour être dispersé par le vent. La pollinisation serait entomophile (Riley, 1956). En se basant sur des marqueurs moléculaires et le ratio pollen/ovule - autre indicateur du système de reproduction (Cruden, 1977)- (Dubois *et al.* 2003) montrent une forte proportion de petites populations autogames. De même, (Antonovics 1968) prédisait un plus fort taux d'autofécondation chez les populations adaptées à des conditions extrêmes, comme les milieux à fortes teneurs en éléments en traces. Ainsi, *Noccaea caerulescens* posséderait un système de reproduction mixte allant de l'autogamie stricte à l'allogamie selon les populations (Dubois *et al.* 2003; Besnard *et al.* 2009). Ce

régime de reproduction mixte a pour avantages une assurance de reproduction, la purge des allèles délétères dans les petites populations et de limiter l'effet de la dépression de consanguinité lors d'une reproduction allogame (Goodwillie *et al.* 2005).

4.4 Variation de l'hyperaccumulation en éléments en traces...

4.4.1 ... *in situ*

La découverte de l'hyperaccumulation du Zn chez *N. caerulescens* date de 1865 (Baumann dans (Krämer 2010). L'exploration des concentrations foliaires en milieux métallifères - principalement des anciennes exploitations minières ou fonderies (Reeves *et al.* 2001; Schmitt-Sirguey 2004)- met en évidence que les populations de *N. caerulescens* hyperaccumulent Cd et Zn à des valeurs très élevées au niveaux de ces stations. Deux principales études ont exploré les stations non métallifères *in situ* : l'une au Luxembourg et l'autre en Suisse (Molitor *et al.* 2005; Basic *et al.* 2006b). Dans la moitié des populations suisses, les concentrations en Cd foliaire dépassent le seuil conventionnel d'hyperaccumulation de 100 mg kg⁻¹. Dans les populations luxembourgeoises, les concentrations en Zn varient de 3 000 à 13 000 mg kg⁻¹. Ainsi, quatre des treize populations étudiées dépassent le seuil de 10 000 mg kg⁻¹ mais si l'on considère le nouveau seuil proposé par (Krämer 2010; Van der Ent *et al.* 2013), l'ensemble des populations sont hyperaccumulatrices de Zn. Les concentrations en Cd varient quant à elles de 11 à 44 mg kg⁻¹ ce qui représente des valeurs élevées étant donné la faible disponibilité de cet élément dans les sols (Molitor *et al.* 2005). Concernant l'hyperaccumulation du Ni, elle est retrouvée exclusivement dans les stations métallifères sur serpentines (Reeves *et al.* 2001; Schmitt-Sirguey 2004; Chardot 2007). Ainsi, l'hyperaccumulation en ces trois éléments correspond majoritairement aux stations où ils sont les plus concentrés dans les sols.

Si toutes ces études mettent en évidence une forte variabilité des concentrations en éléments en traces dans les sols et les plantes, leur comparaison reste complexe du fait que les

méthodes de dosage des éléments en traces dans les sols varient fortement et renseignent des pools différents à savoir : la fraction échangeable (CaCl_2 0,01 M ; Schmitt-Sirguey, 2004), la fraction complexée (EDTA 1 N à pH 4,65 ; Molitor et al., 2005 ou DTPA-TEA à pH 7,3 ; Chardot et al., 2007) et la fraction pseudo-totale (HNO_3 2M ; Basic et al., 2006a). De ce fait, il est difficile de conclure sur l'effet de la disponibilité des éléments en traces dans les sols sur leur accumulation par *N. caerulescens* en conditions naturelles. Dans leurs travaux, (Assunção et al. 2003) présentent des résultats comprenant les trois milieux mais représentés uniquement par une ou deux populations, ce qui ne permet pas une généralisation des données à l'échelle de l'espèce. Actuellement, il n'existe pas de publications comprenant à la fois le dosage des concentrations foliaires et échangeables dans les sols et un nombre conséquent de populations issues des trois milieux (Pollard et al. 2014).

4.4.2 ... en conditions contrôlées

Afin de comparer les capacités d'(hyper)tolérance et d'(hyper)accumulation chez *N. caerulescens* et de s'affranchir de la variabilité environnementale, de nombreuses cultures en conditions contrôlées ont été réalisées depuis une quinzaine d'années (Meerts et Van Isacker 1997; Frérot et al. 2003; Perronnet et al. 2003; Assunção et al. 2003; Saison et al. 2004; Dechamps et al. 2005; Keller et al. 2006; Escarré et al. 2013). Sur l'ensemble de ces travaux, plusieurs caractéristiques communes ressortent. Ainsi, l'accumulation du Zn est plus élevée chez les populations non-métallicoles que les populations métallicoles calaminaires. A l'inverse, les populations calaminaires accumulent plus de Cd à l'exception des populations calaminaires belges en comparaison des populations luxembourgeoises (Dechamps et al. 2005). Le niveau de concentrations foliaires dépend alors des concentrations d'exposition mais également des ratios entre éléments dans la solution (Assunção et al. 2008). Enfin, l'interaction avec les autres éléments, notamment les majeurs, et la production de biomasse a été peu explorée.

4.4.3 ... pour la phytoextraction.

En vue de la phytoremédiation des sols contaminés, les fortes capacités d'accumulation rencontrées *in situ* font que *N. caerulescens* est un candidat potentiel, notamment en ce qui concerne les populations issues du milieu métallifère. Parmi les populations les plus étudiées, la population de Ganges (Cévennes dans le sud de la France) accumule 43 fois plus de Cd que la population belge de Prayon lors d'une culture en hydroponie (Lombi *et al.* 2000; Roosens *et al.* 2003). D'où l'émergence de deux écotypes du nom des populations emblématiques : écotype Ganges et écotype Prayon. A partir des travaux de Lombi *et al.* (2000), (Krämer 2000) propose de focaliser les études sur ces populations, de les propager et de les croiser afin de les rendre disponible pour la communauté scientifique au même titre que les banques de graines issue de mutants ou d'écotypes *d'Arabidopsis thaliana*.

4.5 Une forte amplitude écologique : vers la définition d'unités

Les populations de *N. caerulescens* peuvent être séparées selon les différents milieux qu'elles occupent dont les synonymes sont les suivants: métallifères *vs* non métallifères, miniers *vs* non miniers, calaminaires *vs* serpentines *vs* non calaminaires (Escarré *et al.* 2000; Dechamps *et al.* 2005). La distinction est ainsi une simplification excessive car elle ne tient pas compte de possible variation de la structure et texture des sols, de la biodisponibilité des éléments mais aussi des caractéristiques des milieux autres que les éléments en traces (Pollard *et al.* 2014). De plus, des unités édaphiques peuvent être définies sur la base des caractéristiques de tolérance et d'hyperaccumulation selon les milieux décrits ci-dessus. L'étude de l'hyperaccumulation et de la tolérance chez *N. caerulescens* a été principalement focalisée sur la partie ouest de la distribution de l'espèce en Europe et plus précisément sur certaines régions telles que le sud de la France, et certaines populations en particulier. Actuellement, les relations génétiques entre les populations sont méconnues. Les phylogénies obtenues à partir des séquences de l'ITS sont peu résolutes (Peer *et al.* 2006), de même que

celles obtenues à partir de séquences codantes et non codantes de gènes potentiellement impliqués dans la tolérance et/ou l'hyperaccumulation (Deniau, 2010).

5. Objectifs de la thèse

L'hyperaccumulation par *N. caerulescens* est assez bien étudiée en conditions contrôlées sur quelques populations types. La variabilité intra- et inter-populationnelle est importante notamment selon la composition élémentaire en solution (Assunção *et al.* 2008; Escarré *et al.* 2013). Il convient donc d'élargir l'échantillon des populations étudiées afin de mieux appréhender la réponse des traits d'histoire de vie aux pressions de sélection par les concentrations en éléments en traces. De plus, la majorité des études ne prennent en compte que la capacité de bioaccumulation en E.T. mais ne renseignent pas sur les caractéristiques des stations. (Molitor *et al.* 2005) ont pris en considération ces aspects dans leur étude sur des populations luxembourgeoises et leurs résultats mettent en évidence des microclimats favorables à l'espèce. Cependant, ce type d'étude devrait être élargi à l'ensemble de son aire de répartition. Ceci nécessite de caractériser les sites naturels colonisés par *N. caerulescens*, notamment en France où l'espèce est fortement présente (Reeves *et al.* 2001; Peer *et al.* 2006).

N. caerulescens possède 80% de son génome en commun avec la plante modèle *A. thaliana*, dont le génome est entièrement séquencé (Initiative, 2000). Ceci permet d'avoir une base pour la mise au point de marqueurs moléculaires. Ces marqueurs et leurs différents taux d'évolution permettent maintenant de discriminer l'évolution de l'espèce dans son genre mais aussi entre les populations. Néanmoins, des efforts sont nécessaires pour mieux comprendre la distribution de l'espèce, son écologie et l'évolution des capacités d'hyperaccumulation dans les différentes lignées.

Le but de cette thèse est dès lors de : i) mieux appréhender l'écologie de *N. caerulescens* notamment les composantes abiotiques de son habitat, ii) comparer les capacités

d'accumulation des populations, iii) déterminer les relations génétiques entre populations pour comprendre l'évolution démographique de l'espèce.

Ainsi, la thèse abordera les questions suivantes :

- Quels sont les habitats et les facteurs écologiques définissant la niche écologique de *N. caerulea* ?

- Peut-on définir des écotypes spécifiques à un ou plusieurs éléments en traces ?
- Quels sont les facteurs édaphiques explicatifs des concentrations foliaires ?
- Quels sont les capacités d'hyperaccumulation des différentes populations ?
- Comment se structurent les populations à l'échelle de l'Europe de l'Ouest ?
- Peut-on montrer une divergence génétique entre des groupes basés sur des propriétés édaphiques ?

- Y-a-t'il eu un ou plusieurs événements de fondation ?
- Les populations calaminaires ou de serpentines sont-elles ancestrales ou dérivées ?

Dans le chapitre deux, un vaste échantillonnage des populations a été réalisé afin de caractériser au mieux les différentes caractéristiques dans les trois types de milieux classiquement rencontrés chez *N. caerulea* que sont les milieux miniers, non miniers et à serpentines dans la partie ouest de l'aire de distribution, notamment la France. La variabilité phénotypique des concentrations en éléments en traces et majeurs dans les sols et dans les plantes a été déterminée. De plus, l'hétérogénéité des milieux a été quantifiée et comparée entre eux. Enfin, la discrimination des milieux miniers, non miniers et à serpentines a été testée à la fois sur la base des concentrations échangeables des trois éléments en traces (Cd, Ni et Zn) mais également d'autres éléments dans les sols.

Dans le chapitre trois, la variabilité phénotypique dans l'hyperaccumulation a été testée en conditions contrôlées par une culture en hydroponie pendant sept semaines d'un sous ensemble représentatif de l'ensemble des populations prospectées. Les paramètres mesurés ont été les caractéristiques morphométriques et les capacités d'hyperaccumulation.

Dans le chapitre quatre, la structure génétique neutre a été déterminée au sein des stations. Sur la base de résultats de clustering, l'histoire démographique des groupes génétiques obtenus a été testée selon les différents scénarios démographiques pour expliquer la distribution actuelle de l'espèce.

Chapitre 2-Ecologie de *Noccaea*

***caerulescens* en France et dans les**

régions limitrophes : effet des conditions

édaphiques

Ce chapitre présente les caractéristiques écologiques principalement édaphiques d'un large panel de stations à *Noccaea caerulescens* en France et dans ses régions limitrophes. Les éléments majeurs et en traces ont été mesurés dans les feuilles et les terres rhizosphériques de 568 individus répartis en 63 stations. La caractérisation fine des sols, tant d'un point de vue agronomique que des teneurs en éléments majeurs et en traces, a permis de valider une classification des sols métallifères et non métallifères sur la base des teneurs totales et de proposer une classification des types édaphiques sur la base des teneurs échangeables. Des stations sur des terres présentant des anomalies géochimiques et/ou acides présentent une composition édaphique nouvelle avec de fortes concentrations en aluminium échangeable. Enfin, les paramètres ont été intégrés dans des modèles empiriques afin de déterminer les facteurs édaphiques qui influencent la biodisponibilité des éléments dans les sols et le prélèvement des éléments dans les feuilles. Dans la majorité des stations, les concentrations médianes des végétaux présentent au minimum des concentrations supérieures à l'un des trois seuils d'hyperaccumulation du Cd, du Ni et du Zn.

1 Introduction

Les fortes capacités de tolérance et d'accumulation des métaux chez les espèces hyperaccumulatrices présentent un intérêt économique en particulier pour la phytoextraction des sols contaminés en Cd et Zn, et la phytomine du Ni (Chaney *et al.* 1997; Robinson *et al.* 1998; Pilon-Smits *et al.* 2006; Milner *et al.* 2008). *Noccaea caerulescens*, une espèce hyperaccumulatrice de Cd, Ni et Zn, apparaît à ce titre comme une espèce modèle à la fois pour étudier et comprendre les mécanismes de tolérance et d'accumulation des métaux et développer la phytoremédiation des sols contaminés. C'est une espèce pseudo-métallophyte présente sur trois grands types de milieux : minières (=calaminaires), à serpentine et non minières (=non métallifères). Le terme minier englobe ici les stations métallifères secondaires et tertiaires où l'influence anthropique est marquée par l'exploitation minière et les retombées atmosphériques des usines (paragraphe 1.3 du chapitre 1).

Dans leur étude, (Reeves *et al.* 2001) montrent que la France, avec plus de 80 stations, est le pays où l'espèce est très abondante au regard de sa distribution européenne. A cette échelle, des différences de concentrations totales en éléments en traces (ET) dans les sols et dans les parties aériennes des individus ont été observées entre et au sein des trois types de milieux. Les concentrations totales en Cd et en Zn dans les parties aériennes de plantes issues des milieux miniers sont très largement supérieures aux seuils d'hyperaccumulation à savoir : 100 mg kg⁻¹ de Cd (soit 0,9 mmol kg⁻¹) et 10 000 mg kg⁻¹ de Zn (soit 45 mmol kg⁻¹). Concernant les teneurs en Ni dans les parties aériennes de *N. caerulescens*, elles ne dépassent le seuil d'hyperaccumulation de 1 000 mg kg⁻¹ (soit 17 mmol kg⁻¹) que dans les stations à serpentines (Reeves *et al.* 2001; Visioli *et al.* 2011).

Avec l'augmentation des prospections en milieux non miniers, différents auteurs ont montré que les seuils d'hyperaccumulation en Cd et en Zn ne discriminent pas toujours *in situ* les phénotypes de l'espèce selon les trois types de milieux : miniers, à serpentine et non

minières (Reeves *et al.* 2001; Molitor *et al.* 2005; Basic *et al.* 2006a). Ceci est contraire à d'autres pseudo-métallophytes, généralement des hyperaccumulateurs de Ni, pour lesquels les fortes concentrations en cet élément dans les parties aériennes sont restreintes aux sites de serpentines. Récemment, il a été proposé de diminuer le seuil d'hyperaccumulation du Zn de 10 000 à 3 000 mg kg⁻¹ (van der Ent *et al.* 2013) à la fois pour des raisons biologiques – une telle concentration en Zn dans les tissus est en effet très suffisante pour suggérer une physiologie anormale – et de potentiel pour la phytoremédiation – ce nouveau seuil permet en effet de considérer un plus grand nombre d'espèces comme candidats. Cette modification a pour effet de renforcer le fait que, chez les pseudo-métallophytes hyperaccumulatrices de Cd et Zn, le dépassement des seuils d'hyperaccumulation *in situ* n'est pas propre aux sites calaminaires. Ces faits soulèvent la question d'une adaptation de l'espèce à différents milieux, notamment aux milieux métallifères, et d'une réponse spécifique des géotypes correspondants à chacun de ces milieux (Antonovics *et al.* 1971; Jiménez-Ambriz *et al.* 2007; Dechamps *et al.* 2008b; Baker *et al.* 2010).

Le travail présenté ici vise à proposer une réponse quant à l'adaptation de *N. caerulescens* aux sites métallifères et à l'existence d'écotypes spécifiques au sein des principaux milieux dans lesquels on trouve l'espèce. Dans le cadre de la phytoextraction des sols contaminés, l'extraction et le prélèvement des éléments en traces dépendent de la capacité des plantes à se développer dans des conditions de sols et climatiques particulières, potentiellement différentes de leurs conditions naturelles (Nascimento et Xing 2006). Il est donc important de quantifier et qualifier les conditions édaphiques naturelles des populations. Jusqu'à présent, les différentes études qui ont été réalisées concernaient des zones géographiques assez restreintes (Jura Suisse, Luxembourg, Cévennes) et n'utilisaient pas des protocoles analytiques comparables, notamment pour l'évaluation des concentrations en ET disponibles pour l'absorption par les racines ce qui rend leur comparaison difficile. Dans cette étude, on a

choisi de caractériser un vaste échantillon de stations appartenant aux trois types distingués précédemment, couvrant l'essentiel de la partie ouest de la zone de distribution de *N. caerulescens* en Europe. Outre une description de l'habitat, cette caractérisation a consisté en un chimiotypage des parties aériennes des plantes et en la mesure des concentrations des éléments correspondants dans les sols, concentrations pseudo-totales et échangeables d'éléments majeurs et en traces. Ont également été mesurés les paramètres physico-chimiques des sols influant sur la nutrition minérale des plantes. La caractérisation cherchait à répondre à des questions plus détaillées :

- La typologie des milieux classiquement distinguée (minier, à serpentine, non-métallifère) est-elle pertinente ? En particulier, les populations des stations non métallifères françaises ayant été relativement peu étudiées, on pouvait se demander si ce grand groupe ne comprenait pas des milieux aux caractéristiques distinctes.
- Existe-t-il des différences d'(hyper)accumulation des ET entre les populations (ou stations), en particulier selon les types de milieux ? Cette question était justifiée en partie par l'abaissement récent du seuil des teneurs en Zn pour caractériser l'hyperaccumulation de l'espèce.
- Quelles sont les propriétés abiotiques et notamment édaphiques qui expliquent les variations d'accumulation des ET chez *N. caerulescens* ? Notamment, quelle est la contribution de l'offre du sol dans l'explication des variations de teneurs en ET dans la plante ?
- Ne peut-on distinguer les phénotypes de *N. caerulescens*, voire les génotypes s'ils existent, par la composition des plantes en éléments majeurs, en sus des teneurs en ET ?

Tableau 1: Caractéristiques des stations à *Noccaea caerulescens*. L'altitude est donnée en mètre et la taille populations en nombre d'individus.

Pays	Code	Region	Ville	Altitude	Coordonnees	Taille	Geologie	Habitat	Milieu ¹
Belgique	B01*	Ardenne	Prayon	150	50°35'03,31"N 05°40'23,69"E	> 500	Calcaire	Pelouse Anthropisee	MIN
Belgique	B02*	Ardenne	Angleur	65	50°36'46,21"N 05°36'34,29"E	> 500	Alluvions	Sur Eboulis	MIN
Belgique	B03*	Ardenne	Schmalgraf	207	50°41'44,20"N 05°59'39,40"E	> 500	Nd	Sur Eboulis	MIN
France	F65	Jura	Mouthe	1091	46°40'17,31"N 06°12'20,25"E	[50-500]	Calcaire	Prairie	NMIN
France	F66	Jura	Cernois	1096	46°39'11,81"N 06°07'59,79"E	> 500	Calcaire	Prairie	NMIN
France	F67	Jura	Premanon	1213	46°27'38,18"N 06°00'50,25"E	< 50	Calcaire	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F68	Jura	Sepmoncel	1118	46°22'31,05"N 05°54'27,66"E	< 50	Calcaire	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F69	Jura	Bellecombe	1214	46°18'46,54"N 05°54'24,76"E	> 500	Calcaire	Prairie	NMIN
France	F70	Jura	Lajoux	1223	46°22'39,70"N 05°57'52,75"E	> 500	Calcaire	Prairie	NMIN
Suisse	Sw08*	Jura	Chasseron	1373	46°51'23,45"N 06°34'06,76"E	< 50	Calcaire	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F57*	MA	Montgenevre	1860	44°55'33,49"N 06°43'08,02"E	< 50	Gres	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F58*	MA	Lac Des Anges	2400	44°54'20,85"N 06°43'32,96"E	[50-500]	Serpentine	Pelouse	SERP
Italie	It02*	MA	Pontboset	1239	45°35'37,20"N 07°40'48,30"E	[50-500]	Nd	Pelouse	NMIN
France	F31	MC-CVG	Pradelles	1032	44°45'19,30"N 03°53'02,50"E	[50-500]	Alluvions	Prairie	NMIN
France	F32	MC-CVG	L'herm	1111	44°54'24,20"N 03°49'10,10"E	> 500	Basalte Et Rhyolites	Prairie	NMIN
France	F33	MC-CVG	Fougeras	1039	44°58'01,70"N 03°24'11,00"E	[500-500]	Granitoïdes Peralumineux	Prairie	NMIN
France	F34	MC-CVG	Montchamp	1066	45°04'06,80"N 03°12'45,40"E	>500	Gneiss	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F35	MC-CVG	Nouvialle	1016	45°02'49,00"N 02°56'45,40"E	[50-500]	Basalte Et Rhyolites	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F36	MC-CVG	Molèdes	1275	45°17'04,60"N 03°01'12,30"E	> 500	Basalte Et Rhyolites	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F37	MC-CVG	Montgreleix	1132	45°17'44,80"N 02°51'35,20"E	[50-500]	Basalte Et Rhyolites	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F38	MC-CVG	Saint-Genes-Champespe	954	45°23'48,30"N 02°43'59,00"E	> 500	Gneiss	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F39	MC-CVG	Picherande	1054	45°27'29,70"N 02°47'24,60"E	> 500	Gneiss	Prairie	NMIN
France	F40	MC-CVG	Besse	1036	45°30'25,50"N 02°56'26,30"E	[50-500]	Gneiss	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F41	MC-CVG	Laschamp	964	45°44'36,00"N 02°58'08,90"E	[50-500]	Basalte Et Rhyolites	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F42	MC-CVG	Vertolaye	965	45°39'50,90"N 03°45'57,30"E	< 50	Granitoïdes Peralumineux	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F43	MC-CVG	Valcivieres	1342	45°35'24,10"N 03°50'55,20"E	> 500	Granitoïdes Peralumineux	Pelouse Anthropisee	NMIN
France	F53	MC-CVG	Laguiole	1301	44°40'50,30"N 02°55'51,54"E	> 500	Basalte Et Rhyolites	Prairie	NMIN
France	F27	MC-E	Pic De Chenavari	460	44°35'58,80"N 04°41'04,20"E	[50-500]	Basalte Et Rhyolites	Pelouse	NMIN
France	F28	MC-E	Mezilhac	1118	44°48'28,00"N 04°20'44,80"E	>500	Granitoïdes Peralumineux	Prairie	NMIN

1 : La classification des milieux miniers (MIN), non miniers (NMIN) et à serpentine (SERP) se base sur les observations de terrains et des données historiques sans tenir compte d'aucun dosage dans les terres.

* : stations échantillonnées par Nausicaa Noret.

MA : Massif Alpin ; MC-CVG : centre volcanique et granitique du Massif Central, MC-E : est du Massif Central ; MC-NNE : nord nord-est du Massif Central ; MC-SO : sud-ouest du Massif Central

Tableau 1 suite

Pays	Code	Région	Ville	Altitude	Coordonnées	Taille	Géologie	Habitat	Milieu ¹
France	F29	MC-E	Ste Eulalie	1270	44°48'13,10"N 04°12'47,10"E	>500	Granitoïdes Peralumineux	Prairie	NMIN
France	F30	MC-E	Sagnes Et Goudoulet	1165	44°46'27,60"N 04°12'13,40"E	[50-500]	Alluvions	Sur Eboulis	NMIN
France	F44	MC-E	Largentièrre	264	44°32'26,33"N 04°18'18,44"E	> 500	calcaire	sur dalle rocheuse	MIN
France	F45	MC-E	Ste Marguerite	741	44°36'03,03"N 03°58'56,40"E	> 500	granitoïdes calco-alcalins	sur éboulis	MIN
France	F46	MC-E	Bleymard	1116	44°28'18,52"N 03°43'40,45"E	> 500	calcaire	sur dalle rocheuse	MIN
France	F47	MC-E	Ramponenche	698	44°20'15,85"N 03°40'00,31"E	> 500	granitoïdes peralumineux	sur dalle rocheuse	MIN
France	F48	MC-E	St Felix	349	44°02'36,21"N 03°56'11,27"E	> 500	calcaire	dalle rocheuse	MIN
France	F49	MC-E	Durfort	195	43°59'56,70"N 03°57'08,54"E	[50-500]	calcaire	sur éboulis	MIN
France	F50	MC-E	Malines	436	43°55'20,67"N 03°37'14,57"E	[50-500]	calcaire	sur éboulis	MIN
France	F51	MC-E	Montardier ²	536	43°55'56,80"N 03°36'29,12"E	> 500	calcaire	sur dalle rocheuse	MIN
France	F52	MC-E	Ganges	175	43°56'10,98"N 03°40'19,88"E	> 500	alluvions	éboulis	MIN
France	F61	MC-E	Navacelles	588	43°53'16,61"N 03°30'29,33"E	[50-500]	calcaire	pelouse anthropisée	NMIN
France	F05	MC-NNE	Auxy	369	46°57'44,13"N 04°23'47,05"E	< 50	grès	pelouse anthropisée	NMIN
France	F13	MC-NNE	Pierre-Perthuis	275	47°26'12,63"N 03°46'59,42"E	<50	calcaire	dalle rocheuse	NMIN
France	F23	MC-NNE	Cusset	341	46°06'35,70"N 03°29'06,60"E	>500	granitoïdes peralumineux	pelouse anthropisée	NMIN
France	F24	MC-NNE	Renaion	512	46°03'20,60"N 03°51'30,50"E	[50-500]	granitoïdes calco-alcalins	pelouse anthropisée	NMIN
France	F25	MC-NNE	Rosier	589	46°04'13,50"N 04°33'25,20"E	[50-500]	granitoïdes calco-alcalins	pelouse anthropisée	NMIN
France	F54	MC-SO	Viviez	202	44°33'34,16"N 02°13'01,39"E	> 500	alluvions	éboulis	MIN
France	F55	MC-SO	Firmi ³	472	44°33'23,80"N 02°18'21,07"E	> 500	serpentine	pelouse	SERP
France	F14*	Pyrénées	Aulus les Bains	2068	42°46'46,64"N 01°23'24,21"E	[50-500]		pelouses	NMIN
France	F15*	Pyrénées	Bagnères de Luchon	2173	42°42'52,76"N 00°39'02,13"E	[50-500]	gneiss	pelouses	NMIN
France	F81	Vosges	Vagney	825	48°02'20,04"N 06°45'13,20"E	>500	granitoïdes peralumineux	pelouse anthropisée	NMIN
France	F82	Vosges	Thiefosse	434	47°58'10,00"N 06°43'55,00"E	[50-500]	granitoïdes peralumineux	éboulis	NMIN
France	F73	Vosges	Cornimont	514	47°57'47,91"N 06°50'16,96"E	>500	granitoïdes peralumineux	pelouse anthropisée	NMIN
France	F83	Vosges	Gaschny	981	48°02'08,46"N 07°02'46,15"E	[50-500]	Granitoïdes calco-alcalins	pelouse anthropisée	NMIN
France	F03	Vosges	Auxelle-Haut	538	47°44'21,52"N 06°46'35,84"E	[50-500]	alluvions	pelouse anthropisée	NMIN
France	F04	Vosges	Bergenbach	810	47°54'22,90"N 06°57'25,50"E	>500	serpentine	pelouse	SERP
France	F06	Vosges	Rochesson	688	48°02'09,79"N 06°51'04,95"E	>500	granitoïdes peralumineux	pelouse anthropisée	NMIN
France	F07	Vosges	Rupt-sur-Moselle	562	47°55'18,80"N 06°41'47,00"E	[50-500]	granitoïdes calco-alcalins	prairie	NMIN
France	F08	Vosges	Le Thillot	565	47°51'52,47"N 06°45'15,73"E	[50-500]	granitoïdes calco-alcalins	éboulis	NMIN
France	F09	Vosges	Plancher-Bas	480	47°45'03,91"N 06°43'51,79"E	<50	formations morainiques	pelouse anthropisée	NMIN
France	F21	Vosges	Bresse	578	48°00'17,05"N 06°53'44,46"E	[50-500]	Alluvions	pelouse anthropisée	NMIN
France	F22	Vosges	Valtin	1103	48°06'31,27"N 07°01'56,97"E	[50-500]	formations morainiques	pelouse anthropisée	NMIN
France	F72	Vosges	Geishouse	893	47°53'32,50"N 07°04'19,60"E	> 500	granitoïdes calco-alcalins	pelouse anthropisée	NMIN

2 : Connue également sous le nom de la Sanguinède ; 3 : Connue également sous le nom de Puy de Wolf



Figure 1: Représentation photographique des différents habitats où *N. caerulescens* est retrouvé.

2 Matériels et méthodes

2.1 Présentation de la zone d'étude

Le recensement des stations où *N. caerulea* est présente a été effectué d'une part, à partir de stations françaises déjà étudiées dans la littérature (Escarré et al., 2000; Reeves et al., 2001; Schmitt-Sirguez, 2004) et d'autre part, à partir de données d'inventaires fournies par les bases de données CHLORIS® et TAXA® des Conservatoires Botaniques Nationaux du Massif Central et de Franche Comté avec l'aide de MM. Philippe Antonetti et Yorick Ferrez respectivement.

Le choix des stations prospectées a été défini afin de maximiser la représentation de l'aire de répartition de l'espèce et de caractériser au mieux l'amplitude des conditions abiotiques, notamment édaphiques (Tableau 1). Ainsi, les trois critères de choix des stations ont été la région naturelle, la géologie et l'habitat. Les données concernant la couverture géologique ont été fournies par le BRGM (<http://www.brgm.fr>). La nature de la roche-mère a été déterminée par combinaison de la couche lithologique au 1/1 000 000^e avec la couche de surface au 1/50 000^e pour les formations alluviales et les serpentines.

La nature des habitats a été établie à partir de la classification hiérarchisée des grands types de milieux de Julve (Julve 1998), adaptée aux stations que nous avons étudiées (Figure 1). Cinq grands types ont ainsi été définis :

- Les pelouses composées d'une strate herbacée peu développée avec des sols nus apparents. Ce type de pelouse acidophile des étages subalpin à montagnard est retrouvé au niveau des pics ou des massifs exposés au vent.
- Les pelouses anthropisées, retrouvées sur des bords de chemins, de routes ou de prairies.

- Les prairies de fauche ou de pâture pour lesquelles *N. caerulea* est retrouvée en taches de taille variables.
- Les dalles rocheuses horizontales et sables plus ou moins stabilisés. Ce sont des zones à sols très superficiels, généralement de faibles niveaux trophiques et sujets à la sécheresse.
- Les éboulis et les parois plus ou moins verticales des murs et rochers composés d'un agglomérat de pierres. La végétation y est peu abondante.

2.2 Échantillonnage de couples sol/plante *in situ*

L'échantillonnage de végétaux et de leurs sols rhizosphériques a été effectué durant les printemps de 2011 et 2012, lorsque les individus étaient en fleurs dans 54 stations. Cet échantillonnage a été réalisé le long d'un transect de 100 m, dessiné au travers de chaque station, à raison d'un individu à l'état de rosette ou en fleurs récolté tous les six mètres environ. Les individus ont été coupés au niveau du collet puis lavés sur place avec de l'eau déionisée pour enlever la terre fine, essuyés et placés dans un sachet de papier kraft. La fraction de terre dans laquelle se développait le système racinaire proche de la racine principale, dénommée par la suite 'terre rhizosphérique', a également été prélevée à l'aide d'une petite pelle et placée dans un sachet en polyéthylène.

Par la suite, neuf stations échantillonnées et cordialement mises à notre disposition par Nausicaa Noret, ont été ajoutées. Elles correspondent à des zones limitrophes à celle de cette étude :

- Trois stations minières belges largement étudiées Prayon, Angleur et Schmalgraf (près de la Calamine) (Meerts *et al.* 1997; Dechamps *et al.* 2007, 2008a; b, 2011).
- Trois stations alpines peu étudiées jusqu'à présent, dont une station à serpentine (Lac des anges).
- Deux stations des Pyrénées qui représentent la limite sud de notre zone d'étude.

- Une station du Jura (Sw08) présente également dans l'étude de Basic et al. (2006b) pour laquelle les concentrations en Cd mesurées dans les sols et les parties aériennes *in situ* étaient les plus élevées de leur échantillonnage.

Sur les échantillons de ces neuf stations, les seuls paramètres analysés ont été le pH, les concentrations échangeables en ET dans les sols et les concentrations en ET dans les parties aériennes sauf pour les trois stations belges.

2.3 Caractérisations physico-chimiques des sols

La terre rhizosphérique a été séchée à l'étuve durant 24 h à 40°C puis tamisée à 2 mm. Le pourcentage d'éléments grossiers a été déterminé en rapportant la masse de refus à la masse totale de terre dont seule la fraction fine a été gardée pour analyse. Par station, des volumes équivalents de chaque échantillon de terre rhizosphérique ont été mélangés afin de constituer **un échantillon composite représentatif** de la station. Sur ces échantillons composites, seule la détermination des teneurs totales en carbone, soufre et azote ainsi que les teneurs totales en six ET (Cd, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn) et deux majeurs (Al et Fe) ont été mesurées.

2.3.1 Mesure du pH

La détermination du pH eau a été réalisée selon la Norme AFNOR NF ISO 10390 (2005). Une suspension de sol rhizosphérique sec a été préparée dans cinq fois son volume d'eau distillée (rapport 1:5). Après agitation, les solutions sont mises au repos durant 2 h au minimum avant la mesure.

2.3.2 Dosage du phosphore assimilable par la méthode de Olsen

Le dosage du phosphore assimilable par la méthode Olsen a été réalisé selon le protocole établi par la Norme AFNOR NF ISO 11263 (1995), en trois étapes : (i) extraction de la fraction d'acide phosphorique assimilable du sol par une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium NaHCO_3 à pH 8,50 ; (ii) formation d'un complexe de

l'acide phosphorique et de l'acide molybdique par ajout d'une solution sulfomolybdique et d'acide ascorbique dans le filtrat ; (iii) mesure de l'intensité de la coloration par spectrophotométrie à $\lambda = 825 \text{ nm}$.

2.3.3 Détermination de la capacité d'échange cationique et du taux de saturation

La détermination de la capacité d'échange cationique effective (CEC ; en $\text{cmol}^+ \text{kg}^{-1}$) est réalisée en deux étapes (norme NF ISO 23470 ; 2007) : Une première étape d'extraction des cations par le chlorure de cobaltihexammine qui repose sur un échange entre les cations retenus par le complexe adsorbant du sol et les ions cobaltihexammine $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ puis une seconde étape de mesure de la concentration dans le filtrat des ions $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ libres à l'aide d'un spectrophotomètre. La quantité d'ions $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ adsorbée sur le complexe argilo-humique correspond à la CEC du sol. Celle-ci est donc déterminée par différence entre la quantité d'ions cobaltihexammine dans la solution initiale et la quantité restante mesurée dans l'extrait. Le dosage colorimétrique des ions cobaltihexammine en solution est effectué à une longueur d'onde de 475 nm et à une longueur d'onde de 380 nm afin de corriger l'interférence due à la matière organique.

La teneur en ion $[\text{H}^+]$ a été déterminée par différence de la CEC et de la somme des cations échangeables (Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Na^+ , Al^{3+} , Mn^{2+} et Fe^{3+}). Les bases échangeables correspondent à la somme $[\text{Ca}^{2+}] + [\text{K}^+] + [\text{Mg}^{2+}] + [\text{Na}^+]$ ($\text{cmol}^+ \text{kg}^{-1}$) et l'acidité d'échange à la somme $[\text{H}^+] + [\text{Al}^{3+}] + [\text{Fe}^{3+}] + [\text{Mn}^{2+}]$ ($\text{cmol}^+ \text{kg}^{-1}$). Le taux de saturation T (exprimé en %) a été déterminé en faisant le ratio entre la somme des bases échangeables extraites au chlorure de cobaltihexammine et la capacité d'échange cationique ($\text{cmol}^+ \text{kg}^{-1}$).

Les concentrations échangeables en Cd, Cu, Ni, Pb et Zn sont déterminées à partir du même extrait de terre à la cobaltihexammine. Les ions échangeables correspondent aux ions susceptibles de réapprovisionner la solution du sol à mesure que celle-ci est appauvrie par l'absorption racinaire. La quantité échangeable est donc un bon indicateur de la disponibilité

des ions pour les racines(Barber 1995; Tinker et Nye 2000; Sterckeman *et al.* 2004; Custos *et al.* 2014).

2.3.4 Teneur en carbone, azote et soufre

Les teneurs totales en carbone, azote et soufre ont été déterminées par combustion sèche, après broyage des échantillons à une granulométrie $< 250 \mu\text{m}$, selon la Norme AFNOR NF ISO 10694, en utilisant un analyseur élémentaire CHNS (Vario micro, Elementar).

2.3.5 Mise en solution des éléments pseudo-totaux par l'eau régale

La mise en solution des éléments pseudo-totaux sur les échantillons de sols composites a été réalisée par ajout successif de trois réactifs selon les méthodes « Application Note - Soil Digestion, EPA 3050B1 » et « EPA 3050B Method » adaptées au système de tubes et bloc chauffant Digiprep® (SCP Science). Une prise d'essai de 0,5 g de terre broyée à une granulométrie inférieure à $250 \mu\text{m}$ a été attaquée successivement par de l'acide nitrique (HNO_3 ; 65 %) durant 4 h 30, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 ; 30 %) pendant 4 h et de l'acide chlorhydrique (HCl ; 37 %) pendant 15 min à 95°C dans un bloc en graphite dont le chauffage est contrôlé à l'aide du système de bloc Digiprep® (SCP Science). Après ajustement du volume à 50 mL avec de l'eau déionisée, le mélange réactionnel a été filtré à $0,45 \mu\text{m}$ à l'aide de filtres sans cendres.

2.4 Mise en solution des éléments dans les tissus végétaux

Le matériel végétal récolté *in situ* a été séché à l'étuve durant 24h à 70°C puis broyé finement à l'aide d'un mortier en agate. La minéralisation a été effectuée à l'aide des tubes et bloc chauffant thermostaté Digiprep® (SCP Science) par attaque successive avec (1) HNO_3 à 65 % pendant 12 h à froid puis 30 min à 70°C suivi de (2) H_2O_2 à 30 % pendant 3 h 30 à 95°C . Les échantillons végétaux ayant des biomasses variables, les prises d'essais et les volumes de réactifs ont été adaptés. Lorsque la prise d'essai était supérieure à 100 mg, 8 mL

d'acide nitrique à 65 % et 4 mL de peroxyde d'hydrogène à 30 % ont été ajoutés pour la digestion. Lorsque la prise d'essai était inférieure à 100 mg, les volumes de réactifs étaient de 3,2 mL et 2 mL respectivement. Les extraits ont ensuite été filtrés à 0,45 µm et le volume du filtrat ajusté avec de l'eau déminéralisée à 25 et 10 mL selon la masse de la prise d'essai (respectivement supérieure et inférieure à 100 mg).

2.5 Dosage des éléments en traces et majeurs

Les éléments dans les extraits de terre et dans les tissus végétaux ont été dosés par spectrométrie d'émission atomique à plasma induit d'argon (ICP-AES, ICAP 6300, Thermo Scientific). A chaque analyse, des blancs ont été utilisés pour déterminer les limites de détection et de quantification. Le bon déroulement des mises en solution a été vérifié par l'introduction d'échantillons de référence dans chaque série d'analyse. Une poudre issue de feuilles de *N. caerulea* finement broyée (contrôle interne ; R21001002_V02.1) et un matériau terreux de référence certifié (EnviroMAT Sol contaminé, lot SS-1, SCP Sciences) ont respectivement été utilisés pour les minéralisations des végétaux et des terres.

2.6 Analyses des données

La classification des stations dans les milieux miniers, non minières et de serpentines a été confrontée à la classification basée sur les concentrations totales en ET selon les valeurs limites pour l'épandage des boues dans les sols agricoles. Les limites au delà desquelles un sol est considéré comme contaminé sont de 300 mg kg⁻¹ en Zn, 2 mg kg⁻¹ en Cd, 50 mg kg⁻¹ en Ni et 100 mg kg⁻¹ en Pb et Cu (Arrêté du 8 janvier 1998). L'origine des ET pour chaque site a été évaluée en comparant les concentrations totales en Cd, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn à la concentration totale en Fer. Le rapport E.T. / Fe permet en effet de distinguer les teneurs normales ou les faibles anomalies locales d'origine naturelle, encore appelé fond pédogéochimique naturel (FPGN), des pollutions locales liées aux activités humaines (Baize

et Sterckeman 2001). A partir des jeux de données correspondant aux stations pour lesquelles la linéarité entre un ET considéré et le fer total a été démontrée (voir résultat 3.3.2), les valeurs médianes, du 1^{er} (QI) et 3^e quartile (QS) ont été calculées. Les vibrisses inférieure (VI) et supérieure (VS) ont alors été définies comme : $VI = QI - 1,5 (QS - QI)$ et $VS = QS + 1,5 (QS - QI)$. La visualisation de cette approche en boîte à moustaches a été calculée avec XLSTAT (version 2012.6.07, AddinsoftTM).

Le facteur de bioconcentration a été calculé pour chaque élément. Il correspond au rapport entre la concentration de cet élément dans les parties aériennes et celle de la fraction du sol extractible à la cobaltihexammine. Une transformation logarithmique a été effectuée afin de répondre aux critères de normalité des variables. Les différences de concentrations échangeables en éléments majeurs entre les milieux puis entre les types édaphiques (partie 3.4.5) dans les parties aériennes ont été testées par une analyse de variance à un facteur. Les pourcentages de variance des concentrations dans les terres et les végétaux ont été calculés par un modèle linéaire mixte hiérarchisé avec l'ensemble des facteurs en aléatoire sous R (v2.14.1) avec le package lmer. Le meilleur modèle empirique explicatif des concentrations en ET échangeables dans le sol et dans les parties aériennes a été calculé pour chaque élément. Cette modélisation se base sur une méthode ascendante pas à pas visant à retenir le nombre minimum de paramètres explicatifs dans des régressions multiples. Enfin, les corrélations entre les logarithmes des concentrations dans les sols et dans les feuilles ont été déterminées par la méthode de Pearson sous R.

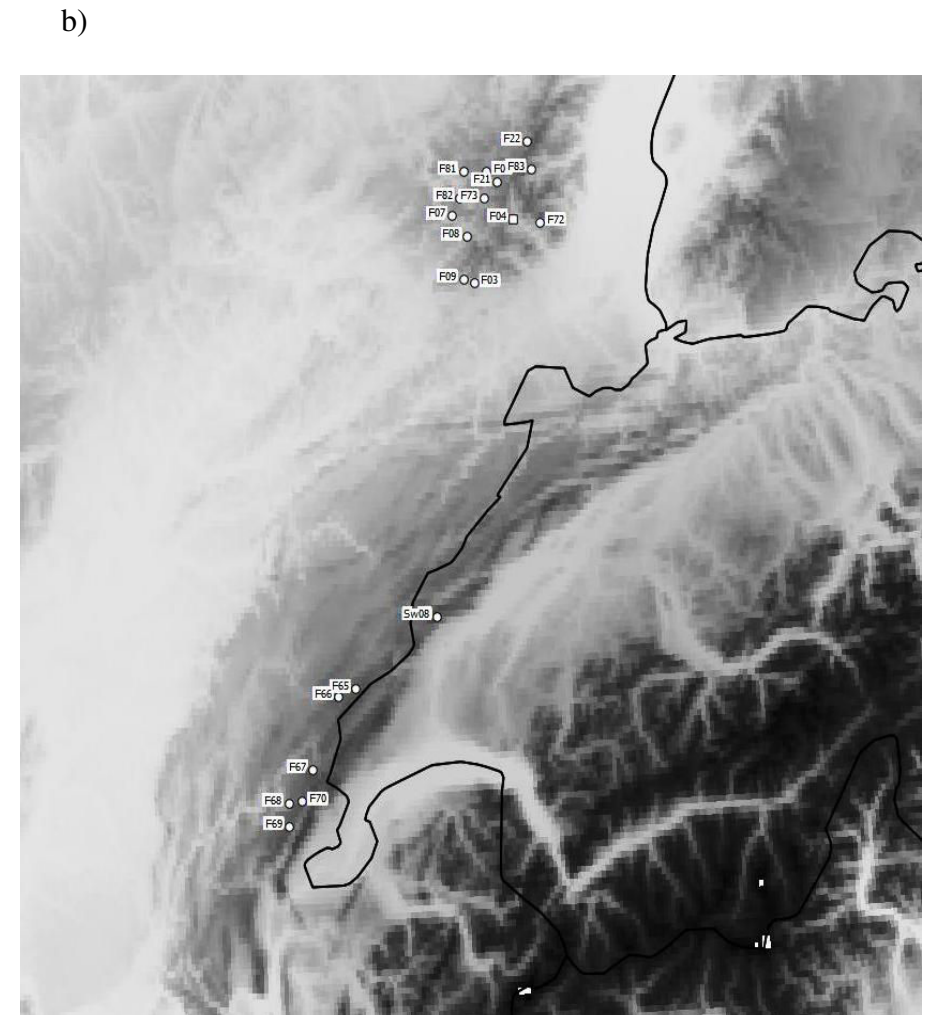
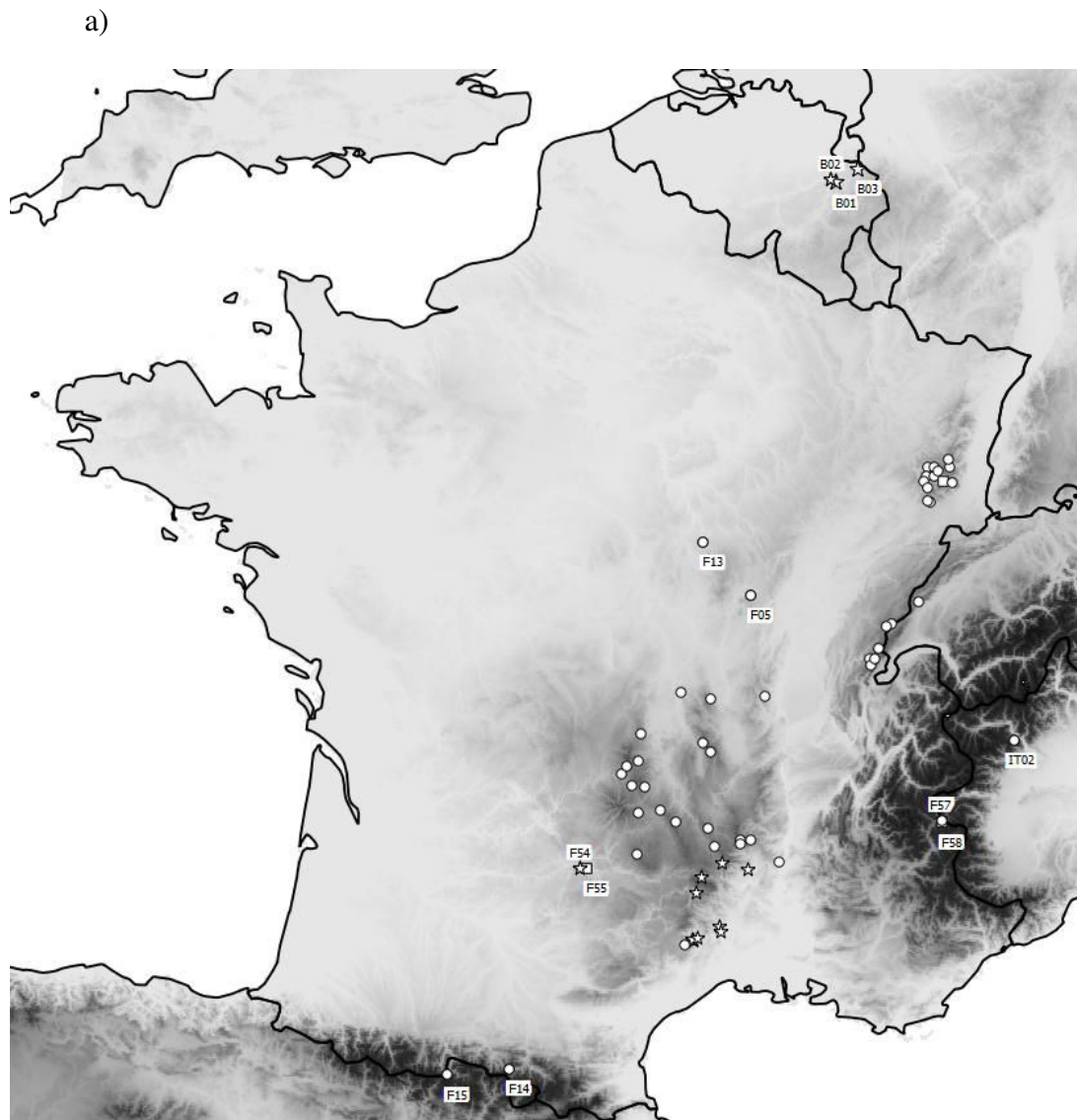


Figure 2 : Localisation des 63 stations de *N. caerulea* échantillonnées a) à l'échelle de la France et de ses régions limitrophes (1 : 5000000°) avec un zoom au 1 : 120000° sur b) la zone du Jura et des Vosges et c) au niveau du Massif Central.

Les symboles représentent les milieux : rond : non miniers, étoile : minier et carré : serpentines.

c)

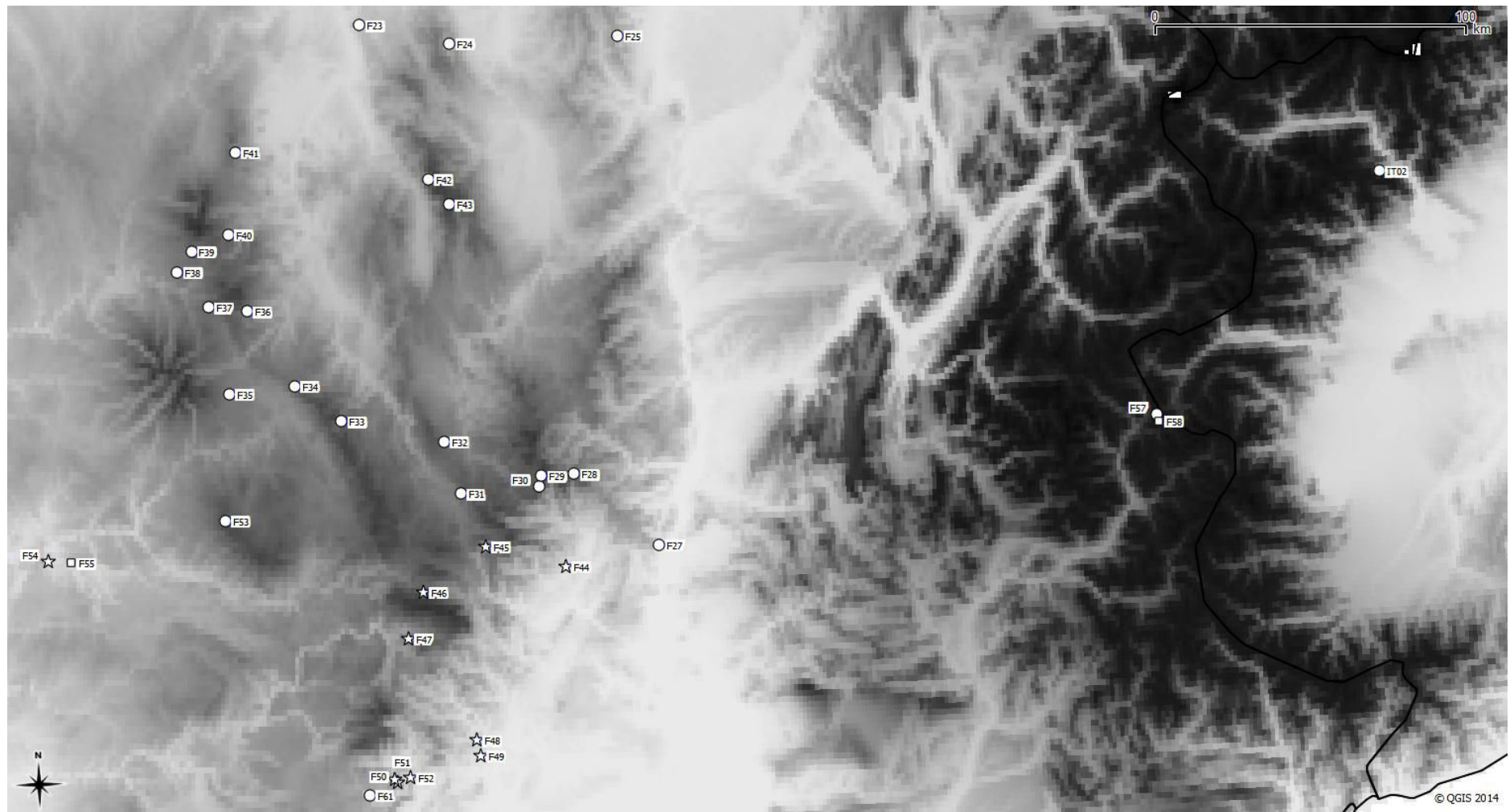


Figure 2 suite

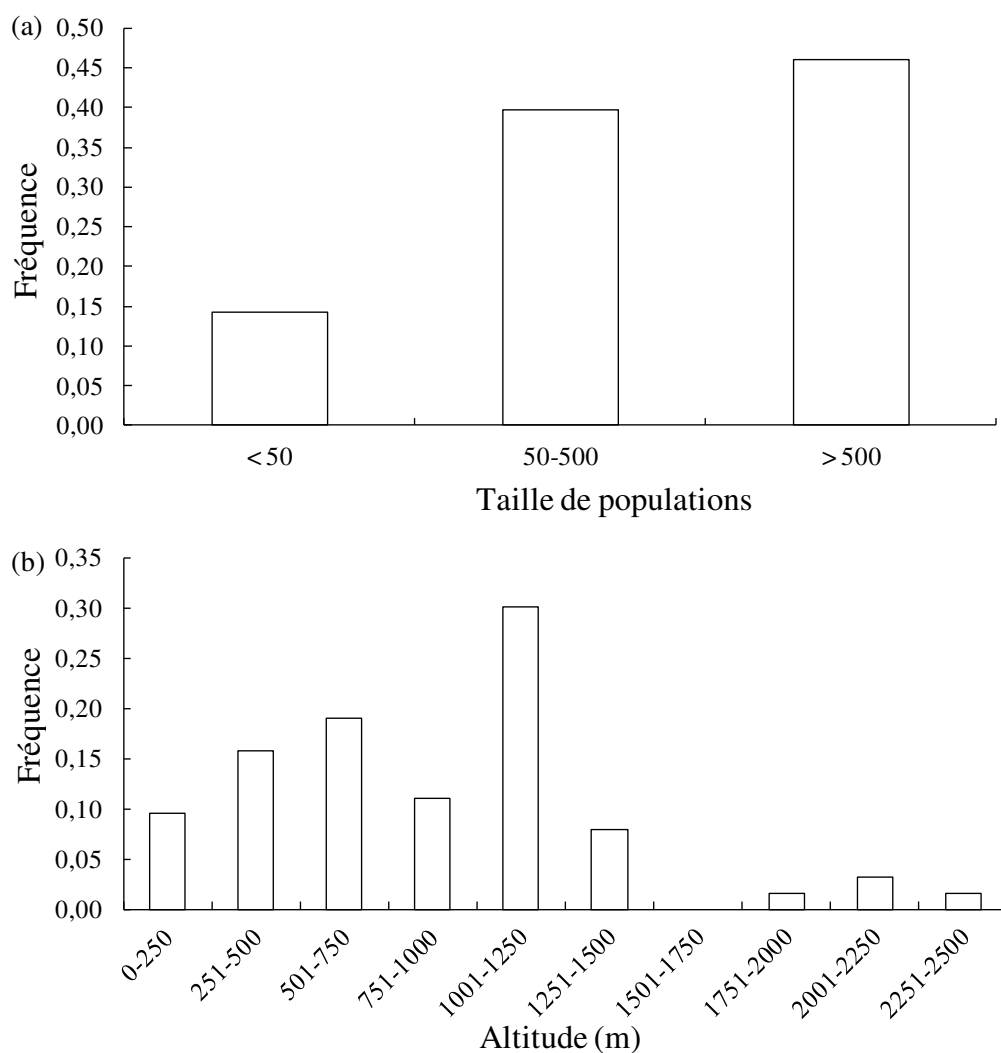


Figure 3: Fréquence de distribution de 63 stations à *N. caeruleus* suivant la taille des populations (a) et leur altitude (b)

Tableau 2 : Statistiques descriptives des paramètres agronomiques des terres rhizosphériques composites ^(a) ou par individu ^(b) issues des stations à *N. caeruleus* prospectées.

	Unité	n	Minimum	1e décile	Médiane	Moyenne	9e décile	Maximum	cv
C organique	g kg ⁻¹	^a 54	1,62	3,41	5,92	6,97	11,4	16,2	48,6 %
C/N		54	9,81	10	12,2	13,1	16,7	24,8	25,1 %
pH _{eau}		^b 644	4,35	4,74	5,84	5,91	7,01	7,79	14,8 %
CEC	cmol ⁺ kg ⁻¹	644	0,718	4,3	10,8	14	31,7	48,6	75,1 %
Taux de saturation	%	644	19,8	55,9	76,9	79,8	94,4	381	36,9 %
Bases échangeables	cmol ⁺ kg ⁻¹	644	0,374	3,08	8,36	11,1	23,85	39	79,9 %
Acidité d'échange	cmol ⁺ kg ⁻¹	644	0	0,338	2,25	3,09	6,21	29,8	93,7 %
P ₂ O ₅ Olsen	mg kg ⁻¹	584	2,5	14,4	32,6	43,1	78,3	287	84,0 %

cv: coefficient de variation.

3 Résultats

3.1 Caractérisations écologiques et distribution des stations

Au total, 63 stations de *N. caeruleus* ont été échantillonnées (Figure 2). Parmi elles, 13 correspondent à d'anciennes zones minières ou de fonderies localisées en Belgique ou dans le sud-est de la France et trois à des stations à serpentines (Tableau 1). Les 47 autres stations sont non minières, parmi lesquelles 43 sont décrites ici pour la première fois. En fonction du nombre d'individus, les stations sont majoritairement de moyennes (50-500) et de grandes tailles avec plus de 500 individus (Figure 3a). Leur altitude moyenne est de 866 m et varie de 65 à 2 400 m (Figure 3b).

Les stations se répartissent suivant neuf domaines géographiquement et géologiquement bien distincts (Tableau 1). Les domaines du centre volcanique/granitique (MC-CVG) et de l'est du Massif Central (MC-E) présentent le plus de diversité géologique avec respectivement quatre et cinq des neuf formations géologiques rencontrées. Néanmoins, ces deux domaines sont majoritairement composés de basaltes/rhyolites et de calcaires respectivement. Les autres domaines apparaissent plus uniformes. Ainsi, les stations du Jura sont situées sur un plateau calcaire tandis que celles des Vosges et du Nord/Nord-Est du Massif Central (MC-NNE) sont majoritairement caractérisées par des formations de types granitoïdes. Concernant les habitats, les pelouses anthropisées et les prairies sont les plus retrouvées et ce dans tous les domaines sauf dans le sud-ouest du Massif Central (SO-MC) tandis que les éboulis et les dalles rocheuses sont principalement retrouvés dans l'est du Massif Central.

3.2 Caractérisations physico-chimiques des terres

Les distributions des caractéristiques physico-chimiques au sein des stations sont contrastées et asymétriques hormis le taux de saturation (Tableau 2, Figure 4). Le C/N médian des terres rhizosphériques composites est de 12,2 et s'étend de 9,81 à 24,8. Avec une valeur

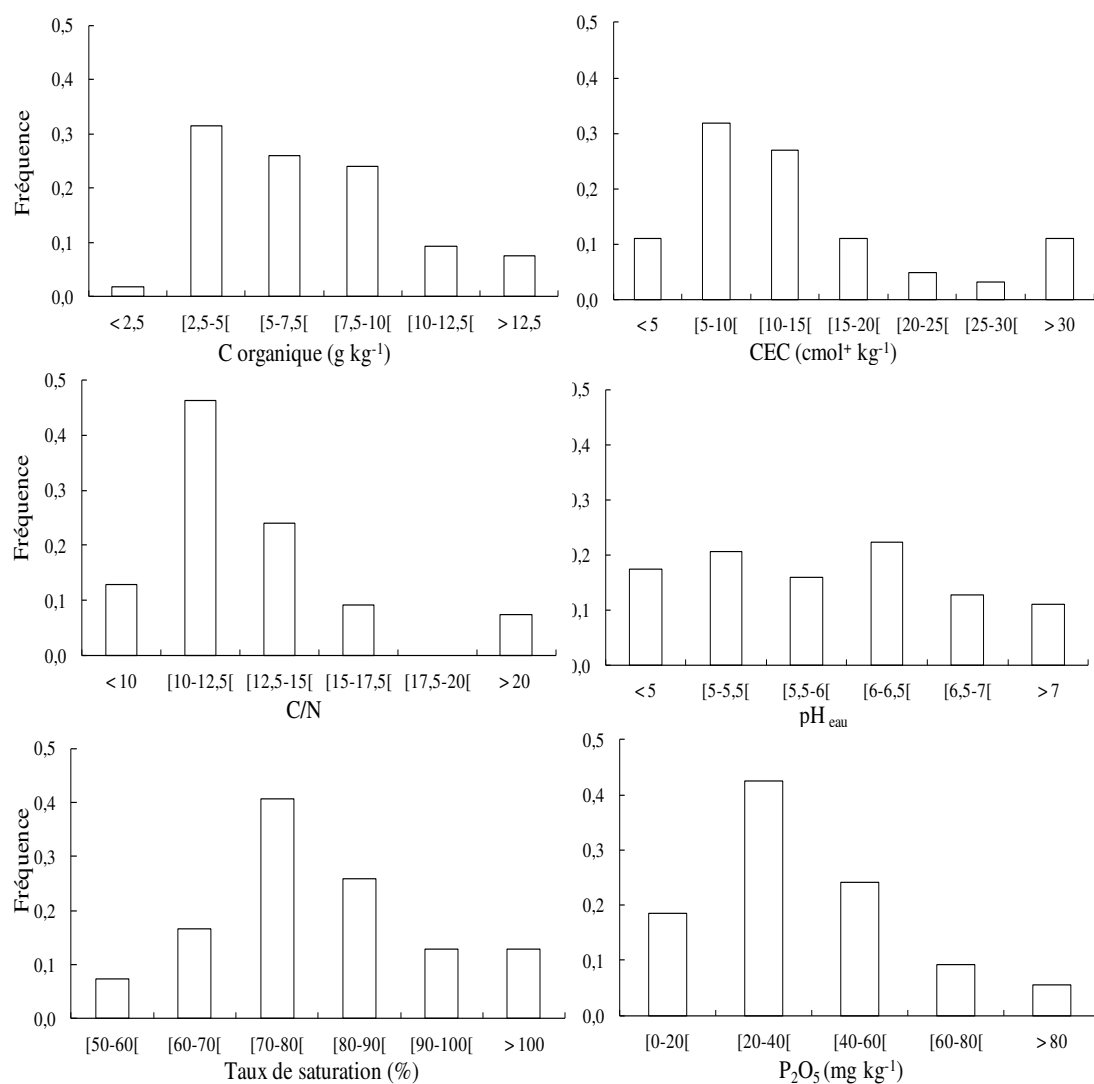


Figure 4: Histogrammes des paramètres agronomiques (teneur en carbone organique, C/N, pH, CEC, taux de saturation et teneur en phosphore assimilable (P_2O_5) des stations à *N. caeruleus*

Tableau 3: Statistiques descriptives des concentrations pseudo-totales ($mg\ kg^{-1}$) en éléments en traces (Cd, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn) et majeurs (Al et Fe) des terres rhizosphériques de 54 stations à *N. caeruleus* (un échantillon composite par station).

Element	Minimum	1e décile	Médiane	Moyenne	9e décile	Maximum	cv
Al _{tot}	3 650	7 301	23 067	22 178	36 592	43 177	49,5 %
Cd _{tot}	0,601	1,69	4,46	39,1	60,8	975	348 %
Cu _{tot}	7,55	11,9	26,6	70,2	524	573	155 %
Fe _{tot}	3 028	11 734	28 323	31 857	57 777	97 092	57,0 %
Mn _{tot}	99,3	343	745	963	1 589	9 380	83,9 %
Ni _{tot}	2,13	10,6	36,8	80,0	106	1 423	249 %
Pb _{tot}	19,2	22,8	59,1	5 230	27 811	76 579	267 %
Zn _{tot}	58,9	79,1	149	7 012	17 340	142 494	328 %

cv: coefficient de variation

moyenne de 10,8 les terres de prairies ont les rapports C/N les plus bas tandis que les valeurs les plus élevées sont retrouvées au niveau des dalles rocheuses et des éboulis. Le pH_{eau} varie de 4,16 à 8,92. Les sols sont majoritairement acides avec un pH médian de 5,8 et une valeur de 7,11 au 9^e décile. Seuls les habitats sur dalles rocheuses et les éboulis développés sur calcaires dans le Jura et l'est du Massif Central ont des pH_{eau} supérieurs à 6,5. Ainsi, la distribution des pH dans les sols montre deux groupes : les stations acidoclines sur formations granitiques et les stations neutrophiles sur formations calcaires (Annexe A Tableau S1). La CEC médiane des terres est de $10,8 \text{ cmol}^+ \text{ kg}^{-1}$. Les terres développées sur calcaires, sur serpentines et sur basaltes/rhyolites présentent des valeurs de CEC deux à trois fois plus grandes que les autres terres. La décomposition de la CEC montre que les teneurs en bases échangeables sont globalement plus élevées que celles en cations acides. Ainsi, la quasi-totalité des stations ont un taux de saturation moyen supérieur à 50 % avec une distribution normale autour de 77 %. Les terres sur serpentines présentent les taux de saturation les plus bas (66,1 %) alors qu'ils sont supérieurs à 85 % dans les terres sur calcaires et grès. La teneur en phosphore assimilable (P_2O_5 selon la méthode Olsen) montre une variation de deux ordres de grandeurs entre les stations. La concentration médiane est de $32,6 \text{ mg kg}^{-1}$. Les dalles rocheuses, les terres de prairies et les pelouses anthropisées présentent des teneurs en P_2O_5 Olsen supérieures à 40 mg kg^{-1} (Annexe A Tableau S1).

3.3 Concentrations pseudo-totales en éléments en trace dans les terres

Les concentrations pseudo-totales (extraites à l'eau régale) en éléments en traces et majeurs dans les échantillons composites représentatifs de chaque station sont très variables entre les stations. Les coefficients de variations dépassent 50 % pour Al et Fe, 150 % pour Cu et 250 % pour Cd, Ni, Pb et Zn (Tableau 3). Ainsi, sur l'ensemble des stations, les concentrations varient de deux ordres de grandeur pour Cu, trois pour Cd, Mn, Ni et Pb et quatre pour Zn.

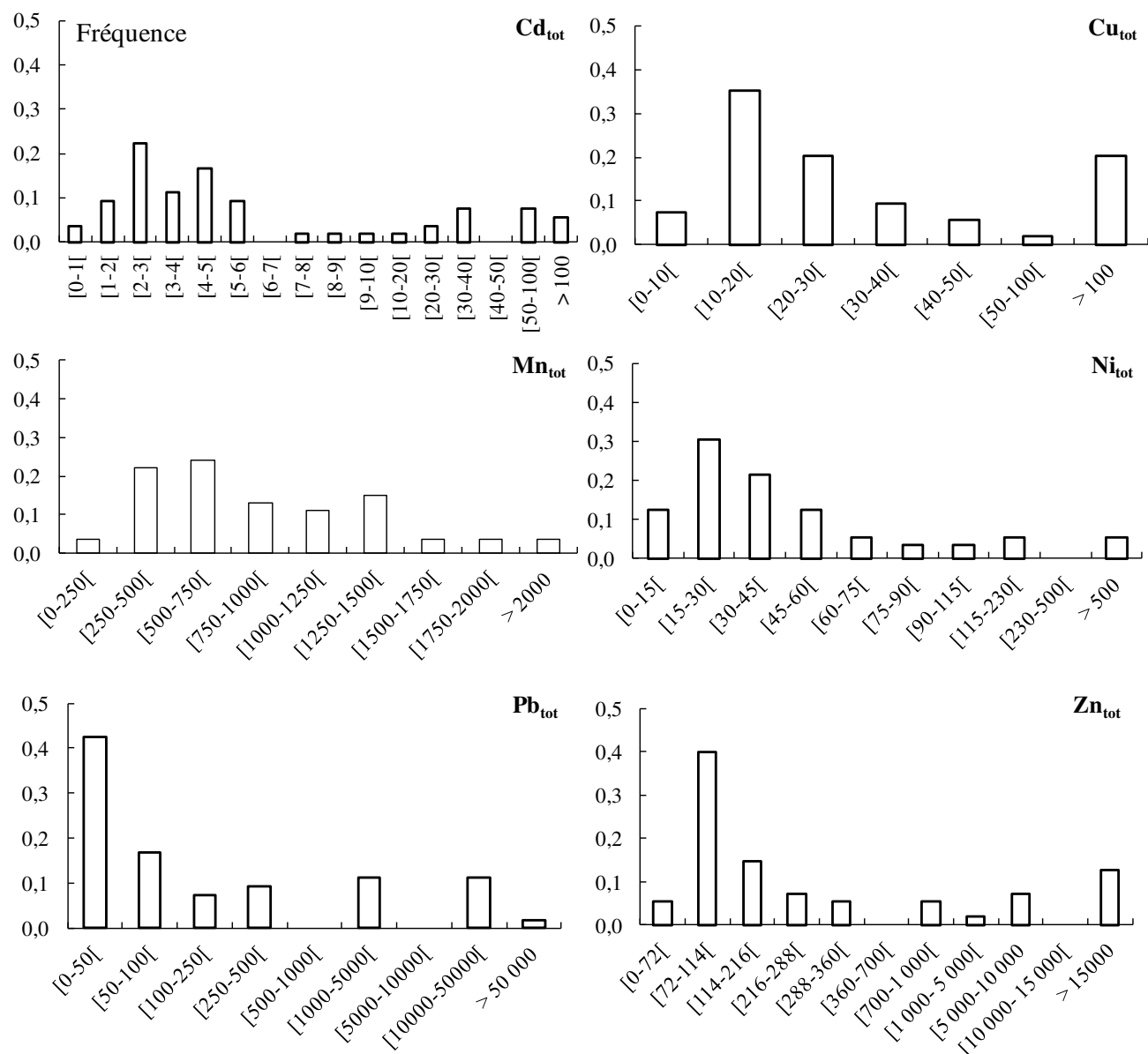


Figure 5: Histogrammes des concentrations pseudo-totales (mg kg^{-1}) en éléments en traces (Cd, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn) des terres rhizosphériques de 54 stations à *N. caeruleus* (un échantillon composite par station). L'axe des abscisses n'est pas à l'échelle.

De plus, les distributions en Cd, Ni et Zn présentent une nette asymétrie positive (Figure 5). En effet, les concentrations varient d'un ordre de grandeur pour Cd et Ni et deux pour Zn entre la valeur du 9^e décile et la valeur maximale.

3.3.1 Comparaison des stations minières, non minières et de serpentines

Les concentrations pseudo-totales les plus élevées en Cd, Cu, Pb et Zn sont retrouvées dans les stations minières (Tableau 4). De même, avec 532 et 1 411 mg kg⁻¹, les deux stations sur serpentines (F04 et F55 respectivement) présentent les plus fortes concentrations en Ni (Tableau 4). Cependant, certaines stations non minières présentent des concentrations élémentaires parfois élevées et proches de celles des stations minières ou sur serpentines. En particulier, la station F05 présente une concentration en Cd de 22,3 mg kg⁻¹ alors qu'elle est de 25 mg kg⁻¹ pour la plus faible concentration de la station minière F45. La station vosgienne F09 montre quant à elle une concentration pseudo-totale en Cu supérieure à celle de l'ensemble des stations minières (Tableau 4).

Une importante hétérogénéité existe entre les stations minières avec des facteurs de variation entre la plus faible et la plus forte concentration en Pb et Zn d'une part et en Cd d'autre part de 25 et 36 respectivement. Ainsi, au sein des stations minières, les gammes de concentrations pseudo-totales en Cd, Cu et Ni sont respectivement 25-911, 17-311 et 7-52 mg kg⁻¹ et celles pour Pb et Zn 2,5-71 et 5,4-133 g kg⁻¹ (Tableau 4). Excepté Ni, ces gammes de variation sont très au-dessus des valeurs médianes mesurées pour l'ensemble des stations et qui atteignent respectivement 4,5 et 26,6 mg kg⁻¹ pour Cd et Cu et 0,06 et 0,1 g kg⁻¹ pour Pb et Zn (Tableau 3). Il est à noter que l'ensemble des stations composant ce groupe présente des concentrations pseudo-totales en Cd, Pb et Zn supérieures au seuil admissible pour l'épandage des boues en agriculture (Tableau 5). En ce qui concerne Cu et Ni, sur les 10 stations minières, le nombre de stations dépassant ce seuil réglementaire est respectivement de 8 et 1.

Tableau 4: Concentrations pseudo-totales en éléments majeurs (Al et Fe ; g kg⁻¹) et en traces (ET : Cd, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn ; mg kg⁻¹) et rapport ET / Fe dans les échantillons composites de chaque station. Les valeurs en gras sont supérieures aux valeurs limites pour l'épandage des boues en agriculture : 300 mg kg⁻¹ en Zn, 2 mg kg⁻¹ en Cd, 50 mg kg⁻¹ en Ni et 100 mg kg⁻¹ en Pb et Cu (Arrêté du 8 janvier 1998). Les valeurs soulignées sont exclues du calcul des vibrisses supérieures présentées en tableau 7 alors que les valeurs grisées dépassent les vibrisses supérieures.

Code	Station	Cd	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Al	Fe	Cd/Fe	Cu/Fe	Mn/Fe	Pb/Fe	Ni/Fe	Zn/Fe
F45	MIN	25,0	211	5475	27,5	37 991	8 822	21,7	42,6	0,588	4,96	129	892	0,646	207
F47	MIN	37,0	290	1447	20,4	27 469	8 279	6,4	25,6	1,44	11,3	56,4	1071	0,794	323
F44	MIN	38,0	251	426	15,5	29 679	8 268	9,2	18,8	2,03	13,4	22,7	1583	0,830	446
F54	MIN	51,0	308	974	52,2	2 539	5 425	28,7	53,9	0,945	5,71	18,1	47	0,969	101
F49	MIN	60,6	17,0	406	7,35	2 947	24 138	7,4	8,63	7,02	1,97	47,0	341	0,852	2796
F48	MIN	87,5	133	1318	43,9	14 042	18 561	7,3	96,0	0,911	1,38	13,7	146	0,456	193
F50	MIN	91,4	49,8	555	22,3	3 872	17 364	7,9	20,4	4,49	2,45	27,3	190	1,09	853
F46	MIN	181	259	957	30,7	42 429	45 549	10,8	34,3	5,27	7,55	27,9	1236	0,893	1327
F51	MIN	439	311	1916	48,5	41 242	98 063	5,4	47,0	9,33	6,60	40,7	877	1,03	2084
F52	MIN	911	238	320	45,7	71 648	133 772	7,5	41,1	22,18	5,80	7,8	1745	1,11	3258
F05	NMIN	22,3	12,1	722	9,8	1 555	1 966	17,3	9,50	2,35	1,28	76,0	164	1,03	207
F03	NMIN	2,28	72,3	100	70,2	1 965	800	4,3	4,47	0,511	16,2	22,3	439	15,6	179
F13	NMIN	0,645	14,2	346	2,28	1 226	704	3,8	3,25	0,199	4,38	107	377	0,703	214
F25	NMIN	5,55	101	1557	46,8	462	354	32,8	38,1	0,146	2,65	40,8	12,1	1,23	9,28
F06	NMIN	0,831	8,39	221	8,64	26,8	67	9,1	7,11	0,117	1,18	31,0	3,76	1,21	9,46
F24	NMIN	1,30	7,93	508	7,40	63,2	61	14,3	11,9	0,110	0,667	42,7	5,32	0,623	5,13
F81	NMIN	1,47	16,9	269	14,6	36,3	74,4	8,3	12,9	0,114	1,31	20,9	2,82	1,13	5,77
F82	NMIN	1,63	18,8	466	17,5	160	110	13,6	14,1	0,115	1,33	33,0	11,3	1,24	7,80
F07	NMIN	1,68	10,8	479	16,1	29,2	72	14,3	15,1	0,111	0,714	31,7	1,93	1,07	4,74
F22	NMIN	1,85	15,1	340	10,6	55,1	84	15,1	17,2	0,108	0,877	19,7	3,20	0,617	4,88
F72	NMIN	2,13	29,5	475	30,7	50,1	93,6	19,0	20,0	0,106	1,47	23,7	2,50	1,53	4,67
F83	NMIN	2,17	7,81	527	29,0	24	72,3	18,4	20,4	0,106	0,383	25,8	1,20	1,42	3,55
F33	NMIN	2,24	8,00	563	15,5	40,0	125	25,6	19,6	0,114	0,420	28,7	2,04	0,790	6,37
F73	NMIN	2,37	14,7	584	37,6	53,5	136	16,3	21,1	0,112	0,699	27,7	2,54	1,78	6,43
F30	NMIN	2,39	12,4	480	18,1	39,9	88	24,7	23,1	0,103	0,539	20,8	1,73	0,787	3,80
F42	NMIN	2,48	13,0	469	42,2	26,1	81	18,6	22,5	0,110	0,579	20,8	1,16	1,87	3,62

Tableau 4 suite

Code	Station	Cd	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Al	Fe	Cd/Fe	Cu/Fe	Mn/Fe	Pb/Fe	Ni/Fe	Zn/Fe
F34	NMIN	2,54	21,3	552	16,2	21, 3	103	24,4	23,7	0,107	0,836	23,3	0,889	0,684	4,34
F21	NMIN	2,68	46,9	684	37,7	130	202	17,4	21,8	0,123	2,15	31,4	5,97	1,73	9,27
F28	NMIN	2,75	19,1	504	21,5	58,2	118	26,5	25,2	0,109	0,758	20,0	2,31	0,855	4,68
F68	NMIN	3,07	12,3	1136	36,4	64,8	145	28,9	24,3	0,126	0,504	46,7	2,66	1,50	5,97
F09	NMIN	3,13	573	567	20,7	359	976	16,6	24,2	0,130	23,7	23,5	15	0,858	40,4
F23	NMIN	3,32	32,6	1071	20,7	282	254	24,8	27,4	0,121	1,19	39,0	10,3	0,755	9,27
F43	NMIN	3,44	21,2	546	39,4	49,2	105	27,1	30,5	0,113	0,696	17,9	1,61	1,29	3,45
F08	NMIN	3,50	36,1	1251	19,0	91,1	168	17,5	30,0	0,117	1,20	41,7	3,03	0,632	5,58
F69	NMIN	3,79	16,1	436	27,5	48,8	134	32,4	26,3	0,144	0,612	16,5	1,86	1,04	5,10
F39	NMIN	4,02	22,5	868	41,6	21,1	114	30,5	35,6	0,113	0,632	24,3	0,59	1,17	3,19
F38	NMIN	4,28	29,0	753	52,6	24,8	119	29,1	37,4	0,115	0,777	20,2	0,663	1,41	3,17
F31	NMIN	4,40	31,0	680	103	21,6	107	25,9	37,0	0,119	0,838	18,4	0,584	2,79	2,89
F67	NMIN	4,62	101	1321	42,9	309	273	29,2	32,0	0,145	3,21	41,3	9,64	1,34	8,52
F29	NMIN	4,68	15,6	650	33,2	45,8	99	29,2	39,6	0,118	0,394	16,4	1,16	0,838	2,51
F66	NMIN	4,69	15,9	1116	51,2	47,4	183	33,6	29,1	0,161	0,545	38,3	1,63	1,76	6,27
F61	NMIN	4,76	25,0	1255	70,0	219	295	42,5	34,8	0,137	0,718	36,0	6,28	2,01	8,47
F41	NMIN	4,86	15,2	1239	25,1	29,8	140	36,4	41,0	0,119	0,371	30,2	0,73	0,613	3,43
F65	NMIN	4,99	15,8	1642	44,4	57,9	277	31,8	25,8	0,194	0,613	63,7	2,25	1,72	10,7
F36	NMIN	5,02	17,6	883	84,9	33,2	134	31,3	42,3	0,119	0,416	20,9	0,786	2,01	3,17
F40	NMIN	5,47	29,0	1078	70,2	80,7	146	32,7	46,1	0,119	0,629	23,4	1,75	1,53	3,17
F70	NMIN	5,65	47,1	1305	52,4	81,9	227	39,7	35,0	0,161	1,34	37,3	2,34	1,49	6,47
F53	NMIN	5,98	38,2	916	98,8	45,4	194	33,1	48,9	0,122	0,782	18,7	0,930	2,02	3,97
F37	NMIN	6,98	27,7	1384	167	20,5	124	40,1	58,2	0,120	0,476	23,8	0,353	2,88	2,14
F27	NMIN	7,33	28,9	1225	84,8	37,7	118	41,5	59,3	0,124	0,488	20,7	0,64	1,43	1,99
F32	NMIN	8,67	29,1	1835	217	152	146	40,6	70,4	0,123	0,414	26,0	2,14	3,09	2,07
F35	NMIN	9,13	39,5	1477	207	49,6	191	35,5	71,9	0,127	0,549	20,5	0,690	2,88	2,66
F04	SERP	3,67	25,6	722	532	43,8	102	17,3	29,7	0,124	0,864	24,3	1,48	17,9	3,44
F55	SERP	11,4	27,9	2951	1 411	339	342	14,5	64,0	0,178	0,437	46,1	5,30	22,1	5,35

Tableau 5: Nombre de stations à *N. caerulea* dépassant les seuils admissibles de teneurs totales en Cd, Cu, Ni, Pb et Zn dans les sols (en mg kg⁻¹) pour l'épandage des boues (un échantillon composite par station).

		Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Station	n	2	100	50	100	300
minière	10	10	8	1	10	10
non minière	42	36	3	13	11	5
de serpentine	2	2	0	2	1	1
ensemble	54	48	12	16	23	17

Au sein des deux stations sur serpentines, les valeurs sont de l'ordre de 15 à 40 fois supérieures à la médiane mesurée sur l'ensemble des stations à savoir $36,8 \text{ mg kg}^{-1}$ (Tableau 3) et dépassent la valeur seuil pour l'épandage des boues sur les sols agricoles. Par ailleurs, sur cette même considération, les deux stations sur serpentines sont au-dessus du seuil Cd tandis que seule la station F55 dépasse les seuils Pb et Zn (Tableau 5).

Concernant les stations non minières, une très large hétérogénéité dans les concentrations pseudo-totales en ET a été observée (Tableau 4). En effet, les gammes de concentrations en Cd, Cu, Ni, Pb et Zn au sein de ce groupe sont respectivement : 0,8-22,3, 7,9-573, 7,4-207, 21-1965 et 61-1966 mg kg^{-1} . Par ailleurs, de nombreuses stations non minières dépassent plus ou moins largement les seuils réglementaires relatifs à l'épandage de boues. Seules six des 42 stations non minières ne dépassent aucun des seuils réglementaires établis pour Cd, Cu, Ni, Pb et Zn (Tableau 5). Ces stations sont majoritairement issues des Vosges avec cinq stations (F06, F07, F22, F81, F82) sur les six concernées. Concernant Cd, ce sont 35 stations qui sont concernées avec en outre la présence de deux modes à 2,5 et 4,5 mg kg^{-1} (Figure 5). Pour Zn, cinq stations non minières dépassent la valeur seuil de 300 mg kg^{-1} tandis que dix stations dépassent les 100 mg kg^{-1} de Pb avec trois d'entre elles (F05, F03 et F13) dépassant les 1000 mg kg^{-1} . Enfin, pour ce qui est de Cu, trois stations vosgiennes ont des concentrations supérieures à 100 mg kg^{-1} parmi lesquelles deux présentent toutefois une concentration de 101 mg kg^{-1} .

3.3.2 Détermination de l'origine des éléments en traces totaux

Afin de déterminer l'origine pédogéochimique et/ou anthropique des éléments en traces dans les sols des stations prospectées, les rapports ET / Fe ont été calculés. En effet, en milieu sédimentaire non contaminé et non perturbé par des processus de minéralisation, il existe un rapport constant entre la plupart des ET et Fe (Baize et Sterckeman 2001; Sterckeman *et al.* 2006) permettant ainsi de distinguer le fond pédogéochimique des apports anthropiques.

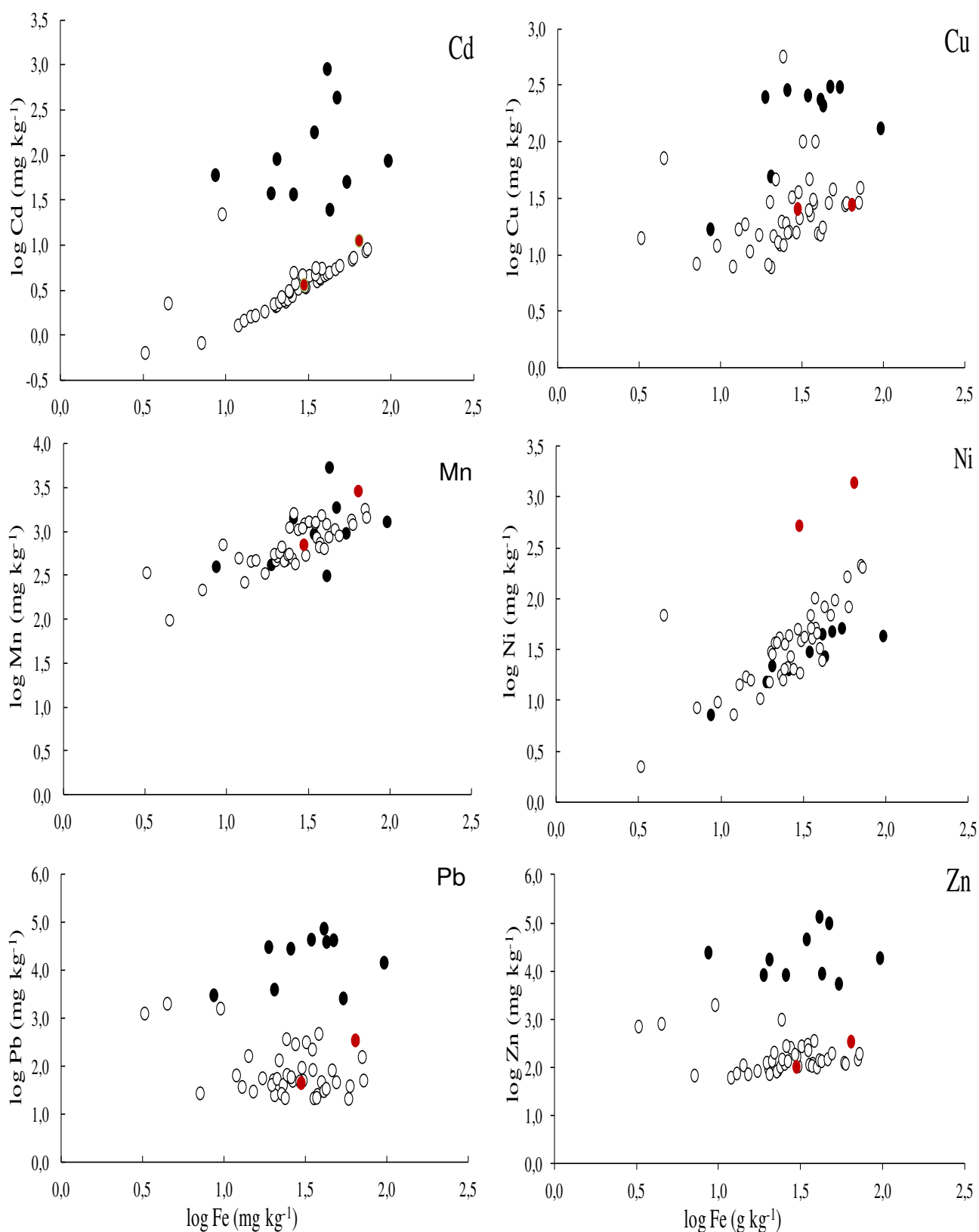


Figure 6 : Variation du logarithme des concentrations pseudo-totales en éléments en traces en fonction du logarithme de la concentration pseudo-totale en Fe sur 54 des 63 stations à *N. caeruleus* (échantillon composite). Les couleurs correspondent aux différents types de stations : en noir, les stations minières ; en blanc, les stations non minières et en rouge, les stations à serpentines.

De ce fait, tous les points éloignés de la régression entre Fe et un ET considéré correspondent à de l'enrichissement d'origine anthropique ou des anomalies géochimiques. Ce raisonnement a été utilisé ici malgré la diversité de substrats géologiques en dehors du domaine sédimentaire (Tableau 1). La figure 6 met en évidence que les stations minières présentent des relations non linéaires entre Fe et les ET suivants : Cd, Cu, Pb et Zn. De même, les stations sur serpentines apparaissent en dehors de la linéarité pour Ni. Par ailleurs, des stations non métallifères ont présenté le même comportement. Il s'agit plus particulièrement des stations F03, F05 et F13 pour Cd, Pb et Zn, F03 pour Ni et F03, F09 et F13 pour Cu (Figure 6 et Tableau 4). Les autres stations non minières et sur serpentines présentent donc une relation linéaire entre Fe et Cd, Cu et Ni (Figure 6) avec des ratios ET/Fe moyens respectifs de $1,24 \cdot 10^{-4}$, $8,81 \cdot 10^{-4}$ et $3,00 \cdot 10^{-3}$. Malgré une absence de relation linéaire avec le Fe pour le Zn et le Pb, les stations non minières et sur serpentines se distinguent des stations minières décrites ci-dessus.

A partir des concentrations dans les terres des stations présentant uniquement des relations linéaires entre tous les ET et Fe, les vibrisses inférieures et supérieures ont été calculées pour Cd, Cu, Ni, Pb et Zn (Tableau 6). Les vibrisses inférieures sont négatives et peuvent être assimilées à une valeur nulle. Lorsque l'on compare les vibrisses supérieures (VS) obtenues avec les seuils réglementaires (SR) pour l'épandage de boues dans les sols agricoles, trois situations sont observées : (i) une vibrisse supérieure au seuil dans les cas de Cd (VB/SR 8,9/2 mg kg⁻¹), Ni (VB/SR 102/50 mg kg⁻¹) et Pb (VB/SR 154/100 mg kg⁻¹), (ii) une vibrisse inférieure au seuil dans le cas de Cu (VB/SR 50,3/100 mg kg⁻¹) et (iii) une vibrisse proche du seuil dans le cas de Zn (VB/SR 310/300 mg kg⁻¹).

Tableau 6 : Statistiques descriptives des concentrations pseudo-totales (mg kg^{-1}) en éléments en traces (Cd, Cu, Ni, Pb et Zn) des terres rhizosphériques des stations à *N. caeruleus* (un échantillon composite par station) utilisées pour le calcul des quartiles et des vibrisses. Les seuils correspondent aux valeurs admissibles de teneurs totales en Cd, Cu, Ni, Pb et Zn dans les sols (mg kg^{-1}) pour l'épandage des boues.

Paramètre	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
n	31	33	49	31	31
1 ^{er} Quartile	2,38	15,2	19,4	32,4	101
Médiane	3,72	20,5	37,6	49,0	125
3 ^{ème} Quartile	5,00	29,2	52,5	81,0	185
Distance interquartile	2,62	14,1	33,1	48,6	83,3
Vibrisse inférieure	-1,55	-5,93	-30,2	-40,5	-23,6
Vibrisse supérieure	8,90	50,3	102	154	310
Seuil	2	100	50	100	300

Tableau 7: Statistiques descriptives des concentrations en éléments majeurs (en mmol kg^{-1}) et en traces ($\mu\text{mol kg}^{-1}$) échangeables à la cobaltihexammine dans les 63 stations de *N. caeruleus*.

Element	Minimum	1e décile	Médiane	Moyenne	9e décile	Maximum	cv
<i>Majeurs</i>							
Al.e	0,100	0,100	0,266	0,906	2,87	6,51	150
Ca.e	9,48	16,1	27,6	41,8	93,7	156	84,5
Fe.e	0,010	0,010	0,004	0,030	0,087	0,175	128
K.e	0,658	1,38	3,34	3,80	7,29	11,8	59,6
Mg.e	0,694	2,32	5,91	9,82	20,9	71,7	141
Na.e	0,097	0,146	0,460	1,38	2,84	12,9	167
<i>Traces</i>							
Cd.e	0,010	0,120	0,538	26,1	46,0	802	405
Cu.e	0,015	0,016	0,016	1,45	2,64	40,5	381
Mn.e	13,0	79,9	428	674	1 522	6 746	144
Ni.e	0,010	0,017	1,83	22,6	15,2	658	443
Pb.e	0,010	0,005	0,005	30,0	88,6	544	308
Zn.e	0,010	2,63	37,5	1895	6 228	36 595	293

cv : coefficient de variation

En résumé, les stations minières et à serpentines présentent des anomalies géochimiques en éléments chalcophiles (Cd, Cu, Pb et Zn) et en Ni respectivement. Certaines stations non minières présentent également des teneurs anormales en éléments chalcophiles comme F05 (pour Cd, Pb et Zn), F09 (pour Cu, Pb et Zn), F13 et F25 (pour Pb et Zn), F61 et F67 (pour Pb). Enfin, les stations F31, F32 et F37 présentent un fond géochimique en Ni anormal alors que la station sur serpentines F55 et les stations non minières F03 et F35 présentent à la fois des teneurs anormalement élevées en Ni et en éléments chalcophiles (les quatre éléments pour F03; Cd pour F35 ; Cd, Pb et Zn pour F55) (Tableau 4).

3.4 Concentrations en éléments échangeables dans les terres

3.4.1 Concentrations en éléments majeurs échangeables

Les statistiques descriptives et les distributions des fréquences des concentrations en éléments majeurs échangeables à la cobaltihexamine mettent en évidence une forte asymétrie (Tableau 7). Ainsi, les concentrations varient de deux (Fe), trois (Al) voire quatre ordres de grandeurs (Ca, K et Na). Par ailleurs, une très grande variabilité a été observée avec des coefficients de variations entre 60 (K) et 167 % (Na). Le pourcentage variance associé aux deux facteurs 'milieux' et 'stations emboîtées dans les milieux' varie de 55,0 % (Ca) jusqu'à 86,7 % (Mg). A l'exception du Mg échangeable, les quatre autres éléments présentent des pourcentages de variation associés au facteur 'stations emboîtées dans les milieux' supérieurs aux pourcentages de variation associés au facteur 'milieux' (Tableau 8).

Sur la base des valeurs médianes, les concentrations échangeables diminuent dans l'ordre $\text{Ca} (27,6 \text{ mmol kg}^{-1}) > \text{Mg} (5,91 \text{ mmol kg}^{-1}) > \text{K} (3,34 \text{ mmol kg}^{-1}) > \text{Na} (0,46 \text{ mmol kg}^{-1}) > \text{Al} (0,9 \text{ mmol kg}^{-1}) > \text{Fe} (0,03 \text{ mmol kg}^{-1})$. Concernant ces deux derniers éléments, de nombreuses stations ($n=39$) présentent des concentrations médianes inférieures aux limites de quantifications qui atteignent respectivement 0,1 et 0,01 mmol kg^{-1} notamment dans les milieux miniers et à serpentines (Tableau 9).

Tableau 8: Pourcentage de variation total des concentrations échangeables à la cobaltihexammine en éléments majeurs et en traces associé aux facteurs milieux et 'station emboîtée dans milieux' pour 63 stations à *N. caeruleus*.

	Al.e	Ca.e	Fe.e	K.e	Mg.e	Na.e	Cd.e	Cu.e	Mn.e	Ni.e	Pb.e	Zn.e
milieux	30,3	7,51	16,6	27,3	71,3	30,4	68,1	29,6	35,0	60,7	70,6	61,7
station (milieux)	47,8	47,9	50,1	29,3	15,3	43,9	24,6	28,0	38,6	29,6	23,2	28,7
Résidus	21,9	45,0	43,3	43,4	13,3	25,7	7,33	42,4	24,4	9,67	6,17	9,48

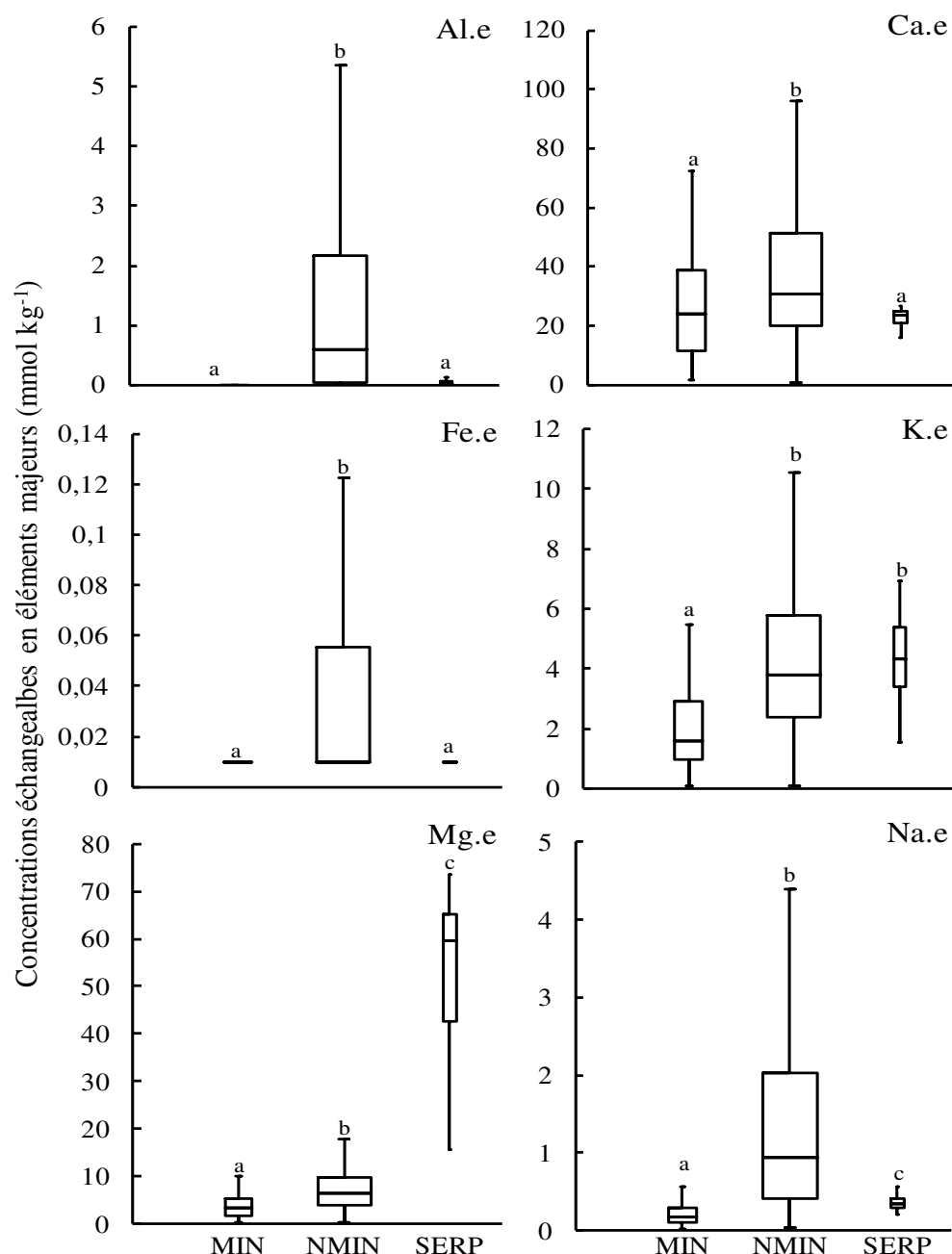


Figure 7 : Boîte à moustache des concentrations échangeables en éléments majeurs à la cobaltihexammine au sein des 13 stations minières (MIN ; n=127), 47 stations non minières (NMIN, n=458) et 3 stations à serpentines (SERP, n=25). Les lettres présentent des différences significatives à p=0,05

En effet, les stations des milieux non miniers sont significativement différentes des stations des milieux miniers et à serpentines en Al (ddl=2, F=95,1, $p<0,001$) et en Fe (ddl=2, F=43,9, $p<0,001$) (Figure 7). Les concentrations en K échangeable sont significativement inférieures dans les stations minières. Enfin, les concentrations en Mg et en Na échangeables sont significativement différentes entre les trois milieux avec les plus fortes concentrations dans les stations à serpentines en Mg (ddl=2, F=143, $p<0,001$) et dans les stations non minières en Na (ddl=2, F=122, $p<0,001$) (Figure 7). Les concentrations en Ca échangeable sont significativement plus élevées (ddl=2, F=15,1, $p<0,001$) dans les stations non minières par rapport aux autres stations (Figure 7).

De fortes variations entre les stations au sein des milieux sont également observées (Tableau 10). Les coefficients de variations sont notamment élevés pour Al et Fe avec des valeurs supérieures à 150 %, ceci du fait des faibles concentrations observées chez une grande majorité des terres dans les stations. Ces variations peuvent être mises en relation avec la diversité de substrats géologiques. Ainsi, les stations présentant les valeurs en Ca et en Mg les plus élevées (> 9^e décile) correspondent respectivement aux stations non minières sur calcaire du Jura d'une part et aux trois stations sur serpentines ainsi qu'aux trois stations non minières sur basaltes d'autre part (Tableaux 1 et 9). Concernant les concentrations en Na, les valeurs les plus élevées sont rencontrées dans certaines stations non minières des Vosges (F07, F08, F09, F21 et F22). Enfin, les plus fortes concentrations échangeables en Al, en K et en Fe ne sont pas géographiquement localisées et n'apparaissent pas liées à une géologie particulière.

Tableau 9: Médiane (med) et écart absolu médian (EAM) du pH, des concentrations en E.T. (en $\mu\text{mol kg}^{-1}$) et majeurs (en mmol kg^{-1}) échangeables à la cobaltihexammine dans la terre rhizosphérique de 63 stations à *N. caeruleus*. Les valeurs soulignées sont supérieures à la valeur du 9^e décile de la distribution de chaque élément. Les classifications des milieux correspondent aux observations de terrain. La détermination des types édaphiques (TE) est détaillée en 3.4.5 : CAL, stations calaminaires ; NMA, stations non minières sur sol acide ; NMN, stations non minières sur sol neutrophile et SERP, stations sur serpentine.

milieu	TE	code	pH		Al.e		Ca.e		Fe.e		K.e		Mg.e		Na.e		Cd.e		Cu.e		Mn.e		Ni.e		Pb.e		Zn.e	
			med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM
MIN	CAL	B01	5,68	0,05	<0,1		40,8	15,7	<0,01		3,59	0,962	3,81	0,581	0,536	0,041	<u>802</u>	246	<u>6,52</u>	6,5	370	285	<0,01		27,2	10,1	<u>36 595</u>	16 067
MIN	CAL	B02	6,28	0,135	<0,1		40,7	17,9	<0,01		3,22	0,505	3,55	0,852	0,476	0,197	<u>54,2</u>	16,4	<0,01		178	115	<0,01		21,1	13,6	<u>17 267</u>	13 672
MIN	CAL	B03	6,68	0,22	<0,1		56,0	14,7	<0,01		3,74	1,72	5,59	3,78	0,269	0,073	<u>46,2</u>	22,9	<0,01		420	261	<0,01		25,2	19,1	<u>10 793</u>	6 397
MIN	CAL	F44	6,40	0,27	<0,1		18,8	8,44	<0,01		1,38	0,313	1,95	0,441	0,126	0,049	<u>52,7</u>	26,5	1,04	1,02	79,5	34,5	2,17	1,42	<u>545</u>	173	<u>6 229</u>	2 348
MIN	CAL	F45	6,20	0,52	<0,1		9,85	4,4	<0,01		1,12	0,59	2,04	0,808	0,099	0,02	17,1	8,4	<u>6,93</u>	2,21	455	446	4,17	2,3	<u>399</u>	69,3	2 803	1 301
MIN	CAL	F46	7,79	0,38	<0,1		28,6	10,2	<0,01		2,21	1,06	3,77	2,18	0,202	0,08	15,5	11,9	0,643	0,627	24,7	19,3	<0,01		1,93	1,928	422	261
MIN	CAL	F47	7,06	0,455	<0,1		16,8	10,6	<0,01		0,818	0,631	3,8	1,66	0,113	0,033	31,5	12,2	2,53	2,51	110	55,5	<0,01		<u>221</u>	206	4 461	1 368
MIN	CAL	F48	6,97	0,19	<0,1		47,0	26	<0,01		1,65	0,808	7,14	4,79	0,334	0,168	22,1	10,8	<0,01		79,8	37,1	0,033	0,016	5,16	5,16	2 452	499
MIN	CAL	F49	7,58	0,23	<0,1		19,9	17,7	<0,01		0,658	0,464	1,6	0,926	0,097	0,058	16,3	8,63	<0,01		13	10,1	<0,01		1,85	1,85	857	617
MIN	CAL	F50	7,40	0,35	<0,1		27,6	3,63	<0,01		1,48	0,462	3,48	1,23	0,146	0,042	16,2	11,1	1,38	0,577	30,2	15	0,051	0,034	1,56	1,55	895	617
MIN	CAL	F51	6,54	0,09	<0,1		24,1	9,42	<0,01		1,41	0,497	5,4	2,54	0,14	0,056	<u>130</u>	41,8	0,819	0,804	114	61,9	2,86	0,533	<u>165</u>	18,7	<u>11 785</u>	2 897
MIN	CAL	F52	6,98	0,19	<0,1		13,2	5,64	<0,01		1,03	0,214	0,694	0,214	0,153	0,039	<u>201</u>	28,5	<u>8,91</u>	2,39	20,8	0,859	<0,01		<u>179</u>	28,7	<u>9 644</u>	2 001
MIN	CAL	F54	5,88	0,415	0,690	0,492	13,9	7,01	<0,01		2,26	0,587	3,3	1,43	0,223	0,064	32,3	13,9	<u>6,82</u>	3,45	228	91,3	0,725	0,709	<u>89,2</u>	68	2 254	809
NMIN	NMA	F14	4,55	0,135	1,70	0,775	26,7	8,59	<u>0,108</u>	0,082	5,47	0,302	9,59	2,59	0,39	0,121	15,1	9,28	<0,01		<u>6746</u>	2377	<0,01		<u>88,6</u>	55,5	2328	1233
NMIN	NMA	F05	4,59	0,04	1,48	0,965	20,6	7,03	0,051	0,028	4,95	0,652	3,78	1,34	0,217	0,066	<u>136</u>	58,7	<0,01		<u>2741</u>	1242	<u>16,3</u>	2,38	66,6	40,5	<u>7 935</u>	149
NMIN	NMA	F13	4,93	0,22	1,98	1,01	32,2	1,39	0,021	0,008	3,85	0,155	6,41	0,256	0,478	0,08	6,7	0,637	<0,01		<u>2380</u>	517	<u>15,2</u>	2,13	2,73	2,6	512	54,6
NMIN	NMA	F03	4,85	0,22	2,26	1,52	33,9	6,73	0,038	0,018	4,82	2,64	3,49	0,861	0,982	0,77	22,6	20	<u>40,5</u>	40,5	467	139	<u>658</u>	649	50,6	31,9	631	448
NMIN	NMA	F83	4,74	0,27	<u>2,92</u>	2,01	29,3	10,4	0,023	0,021	2,77	0,788	3,5	1,32	0,219	0,033	0,325	0,129	<0,01		448	203	4,27	2,29	<0,01		44,2	26,5
NMIN	NMA	F28	4,80	0,12	1,85	1,85	37,6	12,4	<u>0,149</u>	0,086	<u>7,68</u>	2,59	10,2	4,39	0,847	0,151	0,755	0,088	<0,01		<u>1741</u>	990	4,65	1,76	<0,01		64,8	14,8
NMIN	NMA	F24	4,84	0,23	2,42	1,1	9,56	3,31	0,029	0,023	1,83	0,401	2,32	0,288	1,76	0,949	0,591	0,207	<u>5,18</u>	1,5	795	222	1,94	1,01	0,768	0,763	22,6	8,79
NMIN	NMA	F15	4,35	0,06	2,21	0,332	36,2	8,03	<u>0,121</u>	0,001	2,81	1,07	8,59	3,53	0,307	0,101	1,29	0,302	<0,01		<u>1776</u>	431	<0,01		0,336	0,008	140	42,1
NMIN	NMA	F72	4,87	0,205	<u>2,87</u>	1,47	22,4	6,7	0,084	0,042	3,34	0,341	6,47	1,88	0,230	0,02	0,526	0,093	<0,01		757	173	6,07	2,13	<0,01		21,2	14,4
NMIN	NMA	It02	4,99	0,07	1,94	0,472	21,2	3,34	<u>0,096</u>	0,025	2,63	1,05	5,96	0,977	0,103	0,003	0,666	0,107	<0,01		481	182	6,40	0,801	0,93	0,006	89	28,2
NMIN	NMA	F30	5,00	0,13	<u>6,51</u>	2,08	17,2	4,57	0,036	0,019	3,51	0,85	3,2	0,859	0,275	0,09	0,548	0,254	<0,01		825	335	5,28	2,19	<0,01		59,9	18,4
NMIN	NMA	F34	5,01	0,18	2,83	0,663	21,7	3,84	0,063	0,042	3,09	1,26	5,34	1,24	0,46	0,133	0,509	0,11	<u>2,64</u>	2,05	842	425	3,39	1,16	<0,01		66,9	39,4
NMIN	NMA	F07	5,01	0,175	1,64	0,864	16,1	7,77	0,021	0,016	3,95	1,56	3,85	1,94	<u>4,64</u>	2,18	0,409	0,086	<0,01		477	92,3	1,83	0,563	<0,01		34,8	9,45
NMIN	NMA	F53	5,09	0,18	<u>4,59</u>	2,22	27,9	6,98	0,065	0,034	<u>9,24</u>	1,22	8,31	2,63	<u>2,84</u>	2,35	1,01	0,236	<0,01		562	157	12,8	5,28	<0,01		109	30,3
NMIN	NMA	F29	5,11	0,07	<u>5,09</u>	0,532	20,7	3,29	<u>0,175</u>	0,064	3,77	1,44	3,58	0,952	1,11	0,149	0,596	0,117	<0,01		1329	555	9,69	1,15	<0,01		37,5	8,85
NMIN	NMA	F43	5,25	0,26	1,69	1,37	14,9	4,78	<u>0,087</u>	0,052	3,99	1,04	6,42	1,83	2,24	0,768	0,264	0,095	2,42	0,823	539	238	7,1	1,97	<0,01		31,2	12,6
NMIN	NMA	F73	5,33	0,48	0,566	0,264	29,5	12,9	<0,01		2,59	0,494	4,07	2,02	0,185	0,061	0,279	0,109	<0,01		159	41,6	1,39	1,34	<0,01		20,7	10,3

Tableau 9 suite

milieu	TE	code	pH		Al.e		Ca.e		Fe.e		K.e		Mg.e		Na.e		Cd.e		Cu.e		Mn.e		Ni.e		Pb.e		Zn.e	
			med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM
NMIN	NMA	F08	5,35	0,24	0,579	0,449	41,9	16,1	<0,01		4,63	1,44	6,73	1,5	<u>12,9</u>	4,05	0,795	0,319	<0,01		1226	486	3,44	2,15	<0,01		97,7	44
NMIN	NMA	F36	5,36	0,18	1,94	1,35	32,4	7,3	<u>0,136</u>	0,073	6,84	3,02	9,48	2,54	0,798	0,242	0,534	0,081	<0,01		800	414	11,6	3,96	<0,01		51,1	28,6
NMIN	NMA	F37	5,37	0,13	1,39	0,55	32,6	4,61	0,058	0,017	2,85	0,609	11,3	0,952	0,95	0,163	0,328	0,045	<0,01		<u>2021</u>	488	<u>17,7</u>	2,61	<0,01		28,5	8,16
NMIN	NMA	F42	5,46	0,195	0,978	0,762	20,9	10,6	0,034	0,017	2,58	0,981	5,84	1,86	1,34	0,635	0,303	0,122	<0,01		424	214	7,7	1,3	<0,01		33,2	17,8
NMIN	NMA	F22	5,52	0,401	2,05	0,655	21,9	7,84	0,042	0,012	2,57	1,16	2,52	0,414	<u>9,12</u>	4,62	0,538	0,091	<0,01		386	100	<0,01		<0,01		77,4	37,7
NMIN	NMA	F81	4,79	0,045	0,952	0,545	19,5	8,09	<0,01		2,03	0,543	5,15	2,43	0,176	0,059	0,396	0,128	<0,01		261	106	2,93	0,705	<0,01		82,2	50,9
NMIN	NMA	F06	5,16	0,235	0,832	0,631	9,48	2,37	<0,01		1,21	0,434	1,93	0,399	0,918	0,768	0,200	0,029	<0,01		98	19,9	0,733	0,187	<0,01		16,4	5,24
NMIN	NMA	F33	5,27	0,115	<u>3,03</u>	0,621	27,8	2,08	<0,01		1,78	0,191	9,09	0,745	0,286	0,085	1,18	0,065	<0,01		563	137	<0,01		<0,01		18,5	3,46
NMIN	NMA	F39	5,35	0,09	0,822	0,348	24,3	4,59	0,019	0,011	3,81	0,728	7,4	1,52	1,82	0,292	0,287	0,066	<0,01		1257	761	3,6	1,31	<0,01		20,8	5,43
NMIN	NMN	F82	5,94	0,095	0,456	0,123	22,8	3,6	<0,01		2,02	0,693	3,4	0,883	2,38	0,882	0,590	0,203	<0,01		148	1,84	2,44	0,748	<0,01		87,5	22,9
NMIN	NMN	F66	5,84	0,375	<0,1		<u>93,7</u>	20	<0,01		3,73	0,259	6,24	0,578	1,66	0,353	1,58	0,96	<0,01		1522	528	1,99	1,87	<0,01		7,06	6,33
NMIN	NMN	F38	5,75	0,2	0,476	0,429	26,6	5,76	0,021	0,014	2,99	1,01	7,58	2,02	1,99	1,042	0,249	0,063	<0,01		395	105	5,5	1,86	<0,01		18,9	4,41
NMIN	NMN	F27	5,60	0,165	<0,1		104	14,7	<0,01		5,55	1,73	<u>21,0</u>	12,7	0,416	0,242	0,179	0,112	<0,01		207	43,3	<0,01		<0,01		9,03	4,52
NMIN	NMN	F32	5,83	0,05	<0,1		50,4	2,96	<0,01		1,82	0,358	<u>33,5</u>	1,86	0,987	0,103	0,128	0,017	<0,01		535	215	6,61	1,44	<0,01		3,78	1,51
NMIN	NMN	F23	5,94	0,23	0,151	0,141	38,1	3,53	<0,01		<u>8,11</u>	1,56	7,65	0,96	0,778	0,212	0,356	0,2	<0,01		445	227	0,307	0,29	<0,01		17,6	10
NMIN	NMN	Sw08	6,12	0,05	0,432	0,243	57,3	0,002	0,043	0,015	3,04	0,920	3,58	1,02	0,321	0,012	2,31	1,098	<0,01		761	38,2	5,09	0,643	<0,01		20,6	14,4
NMIN	NMN	F35	6,21	0,15	<0,1		54	3,21	<0,01		<u>11,8</u>	1,42	<u>26,3</u>	2,35	0,572	0,237	0,071	0,027	<0,01		1293	289	0,205	0,188	<0,01		4,96	3,03
NMIN	NMN	F69	6,23	0,505	<0,1		<u>155</u>	9,46	<0,01		6,09	2,32	7,06	1,28	0,257	0,059	0,531	0,474	<0,01		207	179	<0,01		<0,01		2,31	2,3
NMIN	NMN	F40	6,26	0,065	0,381	0,189	33,4	7,29	<0,01		3,7	0,978	7,38	1,11	<u>2,60</u>	1,25	0,178	0,029	<0,01		559	327	0,994	0,356	<0,01		22,6	4,74
NMIN	NMN	F09	6,29	0,175	<0,1		77	6	<0,01		3,92	0,834	5,50	0,817	<u>5,95</u>	5,66	0,361	0,163	1,83	1,82	173	59,2	<0,01		<0,01		61,3	26,3
NMIN	NMN	F65	6,42	0,28	<0,1		<u>138</u>	13,6	<0,01		<u>7,29</u>	0,944	7,49	2,17	0,54	0,152	0,387	0,195	<0,01		428	60,1	0,017	0,001	<0,01		2,63	1
NMIN	NMN	F70	6,44	0,29	<0,1		<u>156</u>	8,9	<0,01		2,98	0,607	8,34	1,48	1,27	0,259	0,514	0,246	<0,01		456	255	<0,01		<0,01		1,75	1,68
NMIN	NMN	F41	6,48	0,13	0,139	0,042	27	7,8	<0,01		2,95	1,29	4,86	0,849	1,26	0,17	0,150	0,023	<0,01		124	24,2	<0,01		<0,01		13	2,73
NMIN	NMN	F25	6,59	0,18	<0,1		42,2	5,09	<0,01		4,06	1,13	7,89	2,14	0,431	0,108	0,746	0,194	<0,01		330	99,1	<0,01		<0,01		8,29	6,11
NMIN	NMN	F21	6,59	0,16	0,342	0,184	19,8	4,91	<0,01		1,02	0,583	1,86	0,593	<u>7,33</u>	2,57	0,344	0,085	<0,01		124	63,7	<0,01		<0,01		23,6	9,76
NMIN	NMN	F31	6,66	0,15	<0,1		24,3	6,57	<0,01		4,82	0,814	9,62	0,745	6,24	1,66	0,800	0,045	<0,01		569	209	<0,01		<0,01		3,76	0,707
NMIN	NMN	F57	6,67	0,075	<0,1		73,6	17,1	<0,01		5,51	0,972	10,9	2,52	1,97	0,169	0,068	0,029	<0,01		31,9	11,1	6,03	0,02	0,91	0,003	2,77	1,14
NMIN	NMN	F61	7,18	0,205	<0,1		85,7	5,2	<0,01		3,94	0,582	5,89	0,7	0,366	0,037	0,120	0,062	<0,01		128	69,2	<0,01		<0,01		<0,01	
NMIN	NMN	F68	7,31	0,18	<0,1		<u>109</u>	12,8	<0,01		<u>8,95</u>	2	<u>34,8</u>	4,64	0,299	0,014	0,010		<0,01		82,8	19	<0,01		<0,01		0,358	0,032
NMIN	NMN	F67	7,5	0,15	<0,1		<u>140</u>	13,7	<0,01		<u>7,87</u>	2,24	5,26	1,49	0,411	0,108	0,054	0,028	<0,01		139	60,9	<0,01		<0,01		<0,01	
SERP	SERP	F55	6,08	0,155	<0,1		22,3	1,64	<0,01		4,98	1,53	<u>57,1</u>	8,58	0,342	0,056	2,75	1,165	<0,01		1135	340	<u>394</u>	217	<0,01		58,4	26,4
SERP	SERP	F04	6,09	0,17	<0,1		24,1	1,38	<0,01		4,19	0,742	<u>63,6</u>	12,9	0,325	0,062	0,249	0,12	<0,01		223	56,7	<u>73,2</u>	44,1	<0,01		7,02	3,05
SERP	SERP	F58	6,20	0,035	<0,1		55,6	16,6	<0,01		5,08	0,798	<u>71,7</u>	9,46	0,257	0,074	0,072	0,031	<0,01		256	117	<u>53,3</u>	15,8	0,923	0,01	2,1	0,452

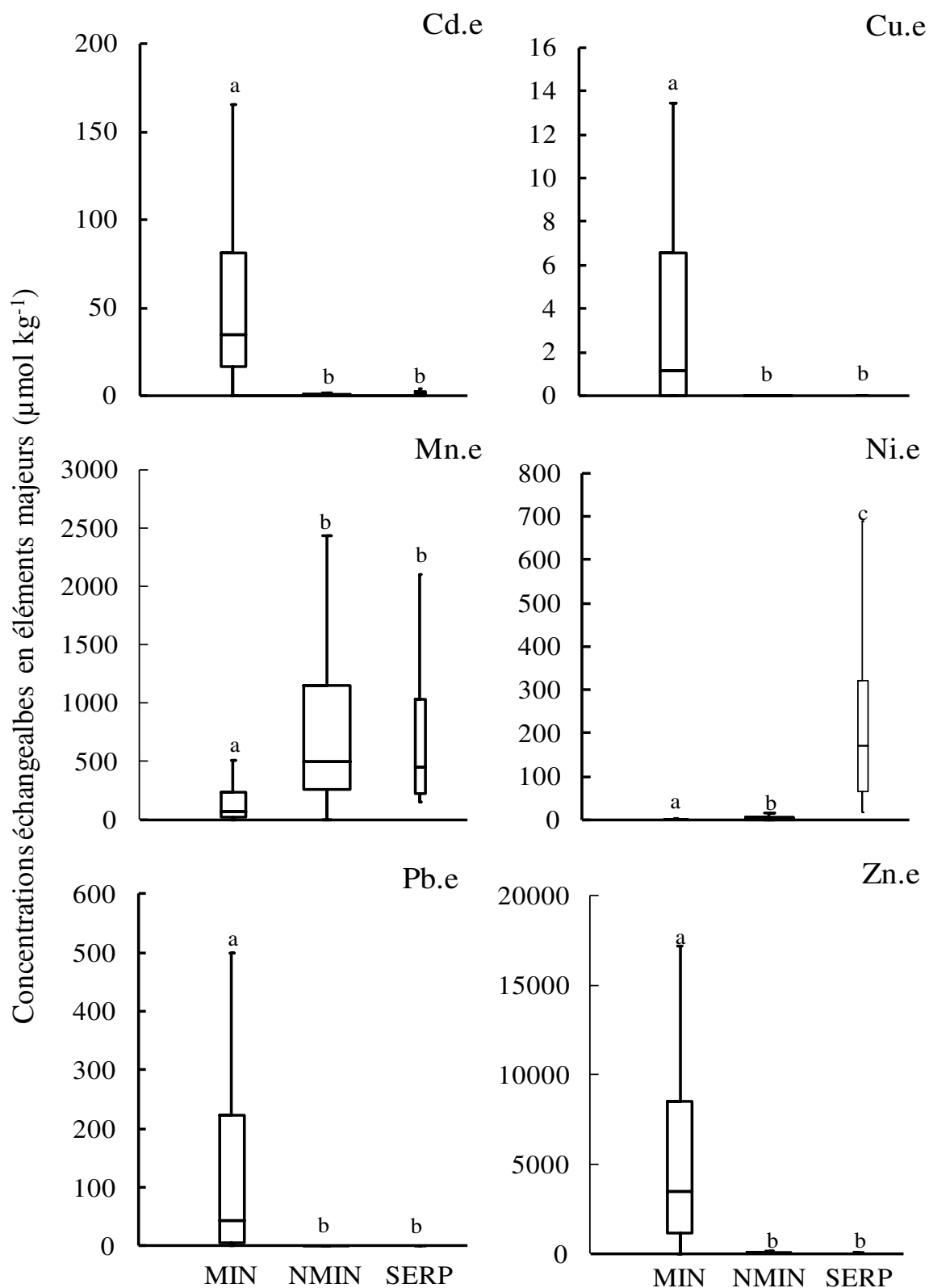


Figure 8 : Boîte à moustache des concentrations en éléments en traces échangeables à la cobaltihexamine au sein des 13 stations minières (MIN ; n=127), 47 stations non minières (NMIN, n=458) et 3 stations à serpentines (SERP, n=25). La présence de lettre différente indique une différence statistique (ANOVA à 1 facteur, test de Tukey, $p < 0,05$)

3.4.2 Concentrations en éléments en traces échangeables

Les statistiques descriptives et les distributions des fréquences des teneurs en ET échangeables à la cobaltihexamine présentent une forte asymétrie de même que les éléments majeurs (Tableau 7). Sur l'ensemble des stations, les concentrations échangeables s'échelonnent sur cinq ordres de grandeurs pour Cd, Ni, Pb et sur sept ordres de grandeur dans le cas de Zn (Tableau 7). Cette forte variabilité se traduit par des coefficients de variations tous supérieurs à 100 % et atteignant 400 % pour les éléments chalcophiles et 600 % pour Ni. Le pourcentage variance associé aux facteurs 'milieux' et 'stations emboîtées dans les milieux' varie de 57,6 % (Cu) jusqu'à 93,8 % (Cd). Les pourcentages de variation associés au 'facteur milieux' sont supérieures au facteur 'stations emboîtées dans les milieux' pour Cd, Ni, Pb et Zn échangeables contrairement aux deux autres éléments en traces (Tableau 8). De plus, les pourcentages de variation associés au facteur 'milieux' sont compris entre à 60 % à 70% de la variation totale.

Les concentrations échangeables en éléments chalcophiles (Cd, Cu, Pb et Zn) sont significativement plus élevées dans le milieu minier (les trois p-value des ANOVA sont inférieures à 0,001) que dans les deux autres milieux contrairement aux concentrations en Mn échangeable (Figure 8). De plus, les concentrations en Cu et en Pb échangeables sont majoritairement inférieures à $1 \mu\text{mol kg}^{-1}$ dans les stations des milieux non miniers et à serpentines (Figure 8 ; Tableau 9). Les concentrations en Ni échangeable sont significativement différentes entre les trois milieux avec une décroissance des concentrations selon l'ordre suivant : SERP > NMIN > MIN (Figure 8).

Tableau 10: Coefficient de variation des concentrations échangeables en éléments à la cobaltihexammine au sein des 13 stations minières (MIN ; n=127), 47 stations non minières (NMIN, n=458) et 3 stations à serpentines (SERP, n=25).

Eléments	MIN	NMIN	SERP
<i>Majeurs</i>			
Al.e	268	157	-
Ca.e	89,7	85,9	15,9
Fe.e	426	182	-
K.e	93,6	73,8	43,8
Mg.e	126	108	31,7
Na.e	208	170	34,6
<i>Mineurs</i>			
Cd.e	192	550	110
Cu.e	206	695	-
Mn.e	203	123	86,8
Ni.e	290	717	94,9
Pb.e	201	689	-
Zn.e	197	502	109

Outre la forte variabilité entre les milieux, de fortes variations entre les stations d'un même milieu sont également observées (Tableau 10). Les milieux présentent des concentrations échangeables très hétérogènes notamment en milieux non miniers avec des coefficients de variations dépassant les 500 % sauf pour Mn. Ainsi, au sein du milieu minier, les gammes de concentrations médianes entre les stations en Cd, Cu, Pb et Zn sont respectivement : 15-802, <0,01-8,91, 1,54-475 et 422-36 595 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ (Tableau 9). Par ailleurs, les concentrations médianes en Cd et en Zn sont quatre fois plus élevées à Prayon (B01) qu'à Ganges (F52) pour les deux éléments et jusqu'à 40 et 90 fois plus importantes qu'au Bleymard (F46) respectivement (Tableau 9). Au sein du milieu non minier, les gammes de concentrations en Cd, Cu, Pb et Zn sont respectivement : <0,01-136, <0,01-40,5, <0,01-88,6 et 0,358-7935 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ (Tableau 9). Entre les trois milieux, les gammes de concentrations sont dans certains cas chevauchantes avec des concentrations médianes dans certaines stations non minières proches à supérieures à celles de certaines des stations minières pour les éléments chalcophiles et à celles des stations à serpentines pour Ni (Figure 8 et Tableau 9). En effet, trois stations non minières présentent des valeurs supérieures au 9^e décile de la distribution générale d'un ou plusieurs éléments chalcophiles (Tableau 9) : F03 (Cu), F14 (Pb, Zn) et F05 (Cd, Zn). Ainsi, la station F05 avec 136 $\mu\text{mol Cd kg}^{-1}$ échangeable montre une concentration supérieure à 10 des 13 stations minières (Tableau 9). Concernant les autres éléments, 10 stations non minières présentent des concentrations en un ou plusieurs éléments au-delà du 9^e décile : F24 et F34 (Cu), F14, F15, F28 et F66 (Mn), F03 (Cu, Ni), et, F05, F13 et F37 (Mn, Ni). La station F03 présente en outre la teneur la plus élevée en Cu échangeable (40,5 $\mu\text{mol kg}^{-1}$) ainsi qu'une teneur en Ni (658 $\mu\text{mol kg}^{-1}$) 1,7, 9 et 12 fois plus élevée que celle des stations sur serpentine F55, F04 et F58 respectivement.

Tableau 11 : Matrice de corrélation de Pearson du logarithme des concentrations en éléments majeurs (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na) et en traces (Cd, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) échangeables à la cobaltihexamine des terres rhizosphériques dans les milieux miniers (MIN), non miniers (NMIN) et à serpentines (SERP) chez *N. caerulescens*.

MIN	Al.e	Ca.e	Fe.e	K.e	Mg.e	Na.e	Cd.e	Cu.e	Mn.e	Ni.e	Pb.e	Zn.e
Al.e												
Ca.e												
Fe.e												
K.e		0,757										
Mg.e		0,757		0,641								
Na.e		0,617		0,705	0,499							
Cd.e		-0,042		0,039	-0,222	0,126						
Cu.e		-0,376		0,005	-0,249	0,138	0,292					
Mn.e		0,315		0,523	0,491	0,386	0,201	0,290				
Ni.e		-0,189		0,047	-0,118	0,122	0,069	0,053	0,590			
Pb.e		-0,372		-0,128	-0,203	-0,125	0,356	0,369	0,348	0,339		
Zn.e		0,054		0,120	-0,035	0,219	0,881	0,323	0,426	0,183	0,446	
NMIN	Al.e	Ca.e	Fe.e	K.e	Mg.e	Na.e	Cd.e	Cu.e	Mn.e	Ni.e	Pb.e	Zn.e
Al.e												
Ca.e		-0,539										
Fe.e		0,600	-0,014									
K.e		-0,018	0,495	0,280								
Mg.e		-0,286	0,592	0,091	0,563							
Na.e		-0,207	-0,073	-0,146	-0,105	-0,121						
Cd.e		0,222	-0,106	0,124	0,031	-0,151	-0,076					
Cu.e												
Mn.e		0,305	-0,034	0,368	0,303	0,263	-0,030	0,482				
Ni.e		0,390	-0,027	0,344	0,056	0,007	0,029	0,496	0,251			
Pb.e												
Zn.e		0,417	-0,282	0,288	0,047	-0,179	0,058	0,733	0,430		0,778	
SERP	Al.e	Ca.e	Fe.e	K.e	Mg.e	Na.e	Cd.e	Cu.e	Mn.e	Ni.e	Pb.e	Zn.e
Al.e												
Ca.e												
Fe.e												
K.e		0,352										
Mg.e		0,519		0,292								
Na.e		0,065		-0,110	0,086							
Cd.e		-0,504		0,088	-0,391	-0,053						
Cu.e												
Mn.e		-0,314		0,314	-0,213	-0,204	0,905					
Ni.e		-0,216		0,271	-0,038	-0,172	0,780		0,808			
Pb.e												
Zn.e		-0,363		0,318	-0,213	-0,160	0,898		0,900	0,755		

Les valeurs en gras sont significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

3.4.3 Corrélations entre les concentrations échangeables

Les concentrations échangeables (notées élément.e dans le texte) dans les trois milieux présentent les similitudes suivantes : une corrélation positive entre Ca.e et Mg.e au niveau des éléments majeurs, une corrélation entre Cd.e et Zn.e, Cd.e et Mn.e au niveau des éléments en traces (Tableau 11). Outre ces corrélations, d'autres sont retrouvées dans deux ou un seul milieux : des corrélations en Ca.e, K.e et Mg.e positives entre elles au sein des milieux miniers et non miniers (Tableau 11). Na.e est corrélé positivement avec Ca.e, K.e et Mg.e en milieu minier alors qu'il est négativement corrélé avec K.e et Mg.e en milieu non minier. Cd.e, Mn.e, Ni.e et Zn.e sont positivement corrélés au sein des milieux non miniers et à serpentines avec des valeurs de r comprises entre 0,480 et 0,900 (Tableau 11). Enfin, Al.e est corrélé positivement avec Fe.e et négativement avec Ca.e au sein du milieu non minier.

3.4.4 Influence des paramètres édaphiques sur les concentrations échangeables

Les concentrations médianes en éléments échangeables (notées élément.e dans le texte) ont été comparées avec les paramètres édaphiques tels que les concentrations pseudo-totales (notées ET_{tot} dans le texte) et les paramètres physico-chimiques mesurés sur un échantillon de terre composite par station (Annexe A Tableau S2) au sein des milieux miniers et non miniers. Le nombre de corrélations significatives est supérieure dans le milieu non minier que minier avec respectivement 62 et 12 sur les 130 corrélations testées. Entre les concentrations échangeables et pseudo-totales pour chaque élément, une corrélation positive est trouvée pour Cd et Mn uniquement dans le milieu minier ($r=0,652$ et $r=0,780$ respectivement). Les deux types de milieux présentent des corrélations similaires pour les éléments suivants avec des paramètres agronomiques: Ca.e et Mg.e très hautement corrélés positivement ($r > 0,57$) avec la CEC, Mn.e et Ni.e négativement corrélés avec le pH. Les autres corrélations sont retrouvées exclusivement dans l'un ou l'autre des deux milieux.

Tableau12: Modèles empiriques explicatifs des logarithmes des concentrations en Al, Cd, Mn, Ni et Zn échangeables sur 10 stations minières (MIN) et 42 (30 pour le Ni) stations non minières (NMIN) de *N. caerulescens*.

Log ₁₀ (élément)	milieu	Paramètres	Constante	R ²
Al.e	MIN	nd		
	NMIN	-0,727 pH – 1,44 log (CEC)	5,22	0,774
Cd.e	MIN	-0,362 pH + 0,624 log (Cd _{tot})	2,74	0,598
	NMIN	-0,522 pH + 0,932 log (Cd _{tot}) + 0,789 log (Zn _{tot}) – 11,1 log (Fe _{tot})	1,82	0,834
Mn.e	MIN	- 0,554 pH + 0,769 log (Mn _{tot})	3,31	0,886
	NMIN	- 1,35 pH + 0,840 log (Mn _{tot}) + 0,315 log (Zn _{tot})	2,33	0,549
Ni.e	MIN	nd		
	NMIN	- 1,52 pH + 1,56 log (Ni _{tot}) -1,10 log (Cd _{tot}) + 0,928 log (Zn _{tot})	4,70	0,727
Pb.e	MIN	- 1,29 pH + 0,769 log (Pb _{tot})	6,73	0,754
	NMIN	nd		
Zn.e	MIN	-0,163 pH + 1,08 log (Zn _{tot})	0,754	0,431
	NMIN	-0,945 pH + 1,36 log (Zn _{tot}) – 1,38 log (CEC)	4,87	0,971

Element_{tot} = concentration pseudo-totale en un élément extractible à l'eau régale (mg kg⁻¹ sol sec)

Element.e = concentration en un élément extractible à la cobaltihexammine (μmol kg⁻¹ sol sec)

CEC = capacité d'échange cationique effective par extraction à la cobaltihexammine (cmol⁺ kg⁻¹)

pH = pH eau

nd : non déterminé

Parmi les corrélations présentant une valeur de $r > 0,5$, K.e et Na.e sont corrélés positivement avec Fe_{tot} et Ni_{tot} , Pb.e est corrélé positivement avec Cu_{tot} et négativement avec le pH dans le milieu minier. Dans le milieu non minier, le pH est positivement corrélé avec Ca.e, Mg.e et négativement corrélé avec Al.e, Cd.e, Mn.e, Ni.e, Zn.e (Annexe A Tableau S2). Enfin, seul le phosphore échangeable n'est pas significativement corrélé avec les concentrations en éléments échangeables.

Afin de comprendre l'influence des paramètres édaphiques sur les concentrations en Al, Cd, Mn, Ni et Zn échangeables, le meilleur modèle empirique a été calculé pour chaque élément au sein des milieux miniers et non miniers lorsque les concentrations échangeables étaient au-dessus des limites de quantification. Cette modélisation se base sur une méthode ascendante pas à pas cherchant le nombre minimum de paramètres explicatifs dans des régressions multiples (Tableau 12). Dans les modèles expliquant les concentrations échangeables en Al, en Cd, en Mn, en Ni et en Zn, la concentration pseudo-totale de l'élément et le pH interviennent systématiquement, avec un coefficient positif pour le premier et négatif pour le second quelque soit le milieu. D'autres paramètres viennent améliorer les modèles pour le milieu non minier uniquement comme le log de la concentration pseudo-totale du Fe et du Zn pour Cd.e, le log de la concentration pseudo-totale du Zn pour Mn.e, le log de la concentration pseudo-totale du Cd et du Zn pour le Ni.e et le log de la CEC pour Al.e et Zn.e (Tableau 12).

3.4.5 Vers la (re)définition des types édaphiques

Sur la base des différences de concentrations échangeables et du pH (Tableau 9) d'une part et des corrélations entre les éléments échangeables (Tableau 11) d'autre part, des types édaphiques (TE) de stations sont proposés. Concernant les 13 stations minières, les concentrations pseudo-totales et échangeables en Cd, Pb et Zn sont plus élevées par rapport à la majorité des sites. Ces stations sont donc qualifiées de calaminaires (CAL).

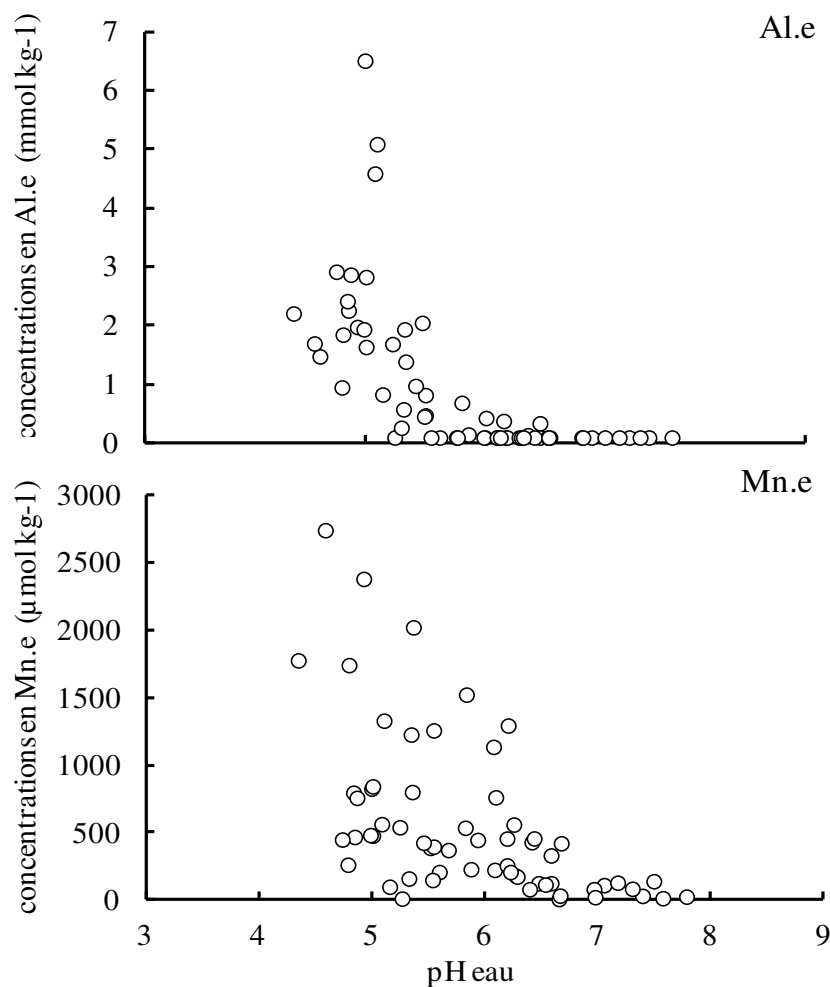


Figure 9: Relation entre les concentrations en Al (mmol kg^{-1}) et Mn ($\mu\text{mol kg}^{-1}$) échangeables à la cobaltihexammine et le pH_{eau} des terres dans les 63 stations de *N. caerulea*.

Tableau 13 : Statistiques descriptives des concentrations dans les parties aériennes en éléments majeurs et en traces (en mmol kg^{-1}) dans 60 stations à *N. caerulea*.

Elément	Minimum	1e décile	Médiane	Moyenne	9e décile	Maximum	cv
<i>Majeur</i>							
Al.pa	0,533	1,85	4,52	5,67	10,6	19,9	65,2
Ca.pa	66,5	165	248	264	373	530	32,2
Fe.pa	1,05	1,64	3,52	4,11	7,42	15,7	64,6
K.pa	112	216	563	525	797	930	41,3
Mg.pa	54,5	68,6	102	113	161	396	44,3
Na.pa	0,150	1,98	3,49	13,3	39,2	128	191
<i>Trace</i>							
Cd.pa	0,005	0,065	0,208	2,07	7,89	20,6	202
Cu.pa	<0,01	0,039	0,058	0,066	0,104	0,176	47,0
Mn.pa	0,286	0,509	1,00	1,21	2,10	2,53	49,8
Ni.pa	<0,01	0,013	0,536	6,23	20,6	136	317
Pb.pa	<0,01	0,010	0,010	0,260	1,07	4,05	269
Zn.pa	7,33	32,3	78,3	89,5	180	295	66,6

Avec les plus fortes concentrations en Ni échangeable dans les terres, les trois stations à serpentines conservent le qualificatif de serpentine (SERP). Parmi toutes les stations prospectées, 26 d'entre elles présentent des valeurs de pH eau inférieures à 5,5. Or en-dessous de cette valeur, les concentrations en Al.e, et en Mn.e dans une moindre mesure, sont les plus élevées (Figure 9). De plus, ces concentrations dépassent le seuil de toxicité agronomique fixé à 50 mg kg⁻¹ pour Al et 100 mg kg⁻¹ pour Mn soit environ 1 800 µmol kg⁻¹ dans les deux cas (Bonneau et Souchier 1979). Le TE de ces stations, toutes non minières, reçoit alors la qualification supplémentaire 'acidocline' (NMA). Il est à noter que ce groupe comprend les stations F03, F05, F14 et F13 qui présentent des valeurs extrêmes dans la distribution des concentrations échangeables en Cd, Ni, Pb et Zn au sein des stations non minières. Ces stations représentent ainsi une transition entre les groupes CAL et NMA car elles présentent à la fois des anomalies géochimiques caractéristiques du premier groupe et des pH acides caractéristiques du second groupe. Enfin, les 21 stations restantes, qui ne présentent pas de particularités vis-à-vis des éléments dans les sols, sont quant à elles qualifiées de non minières neutrophiles (NMN).

3.5 Concentrations élémentaires dans les parties aériennes

3.5.1 Concentrations en éléments majeurs

Les concentrations dans les parties aériennes (rosettes, hampes, bractées, noté élément.pa) en éléments majeurs varient d'un jusqu'à trois ordres de grandeurs (Tableau 13 et 14). Les coefficients de variation sur l'ensemble des stations sont modérés pour Ca, K et Mg (entre 30 et 45 %). Le pourcentage de variance associé aux facteurs 'type édaphique (TE)' et 'stations emboîtées dans les TE' varie de 44,3 % (Fe) jusqu'à 64,6 % (Mg). Les pourcentages de variation associés au 'TE' sont supérieures au facteur 'stations emboîtées dans les TE' pour Ca et Mg contrairement aux quatre autres éléments (Tableau 15).

Tableau 14: Médiane (med) et écart absolu médian (EAM) des concentrations foliaires en éléments majeurs et en traces (en mmol kg⁻¹).

TE	station	Al.pa		Ca.pa		Fe.pa		K.pa		Mg.pa		Na.pa		Cd.pa		Cu.pa		Mn.pa		Ni.pa		Pb.pa		Zn.pa	
		med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM
CAL	F44	1,69	0,415	343	126	1,36	0,187	825	66,3	139	17,4	3,24	0,902	8,77	2,35	0,089	0,017	0,839	0,259	0,036	0,019	1,24	0,680	295	89,0
CAL	F45	4,85	2,73	242	83,9	4,10	1,987	425	105	149	52,0	2,04	0,429	4,58	2,69	0,096	0,014	2,50	0,714	0,044	0,021	2,41	1,137	180	67,1
CAL	F46	2,72	2,05	412	45,6	2,53	1,207	447	85,4	138	28,0	3,14	1,29	6,38	2,55	0,055	0,012	0,688	0,204	0,013	0,006	0,452	0,408	65,4	24,2
CAL	F47	0,533	0,291	234	41,0	1,34	0,403	276	74,8	142	19,0	1,30	0,805	9,94	2,98	0,048	0,019	1,03	0,319	<0,01		1,06	0,649	184	35,3
CAL	F48	1,86	0,700	530	107	7,42	2,038	670	135	201	41,2	3,43	0,792	7,89	2,55	0,067	0,004	0,584	0,062	<0,01		0,490	0,128	144	46,3
CAL	F49	4,72	1,43	465	70,2	5,77	2,456	431	84,6	203	112	3,52	1,17	6,97	1,14	0,052	0,024	0,643	0,166	<0,01		1,20	0,839	91,0	30,4
CAL	F50	3,93	2,09	431	73,0	7,27	4,360	504	90,2	161	21,7	2,93	1,04	10,0	2,94	0,100	0,028	0,955	0,242	0,021	0,006	0,853	0,613	123	32,4
CAL	F51	2,32	0,983	285	67,9	2,58	0,908	797	97,9	177	18,9	2,46	0,232	17,5	4,25	0,100	0,017	1,43	0,176	<0,00	0,010	2,08	0,398	252	30,1
CAL	F52	0,84	0,841	359	53,8	3,09	1,467	412	37,4	110	14,9	2,14	0,568	20,6	3,99	0,110	0,059	0,443	0,117	<0,01		4,05	1,120	261	93,1
CAL	F54	19,9	9,71	209	38,4	15,7	6,841	287	17,5	118	19,5	2,79	0,645	6,18	2,23	0,158	0,053	1,33	0,412	0,041	0,023	0,593	0,273	86,1	16,8
NMA	F03	6,12	2,02	181	41,9	2,72	0,574	273	42,5	116	26,6	3,68	2,03	0,334	0,212	0,176	0,035	0,682	0,259	4,37	4,37	0,112	0,041	82,9	5,80
NMA	F05	2,59	1,25	195	14,2	1,70	0,603	786	185	70,8	4,52	4,53	1,37	5,02	0,827	0,060	0,004	2,01	0,059	0,051	0,008	0,058	0,028	140	35,2
NMA	F13	10,8	2,72	249	41,9	8,84	2,816	763	175	99,5	21,9	3,34	0,454	0,365	0,109	0,070	0,015	2,10	1,08	0,150	0,053	0,061	0,022	236	52,6
NMA	F14	nm		338		1,21		241		113		nm		0,176		0,115		0,985		0,021		0,315		191	
NMA	F15	nm		230	38,6	2,73	0,110	219	26,5	91,7	3,56	nm		0,209	0,075	0,081	0,009	1,70	0,623	0,297	0,046	0,198	0,069	99,8	14,3
NMA	F06	3,23	1,21	155	42,6	2,06	0,431	563	21,3	83,5	13,6	24,4	10,8	0,127	0,027	0,057	0,013	0,923	0,319	0,288	0,046	<0,01		63,1	17,4
NMA	F07	2,96	0,676	130	13,3	2,01	0,206	712	108	102	12,0	39,2	22,7	0,067	0,023	0,064	0,006	0,971	0,140	0,138	0,124	<0,01		56,2	10,9
NMA	F08	4,10	1,45	204	44,3	3,53	0,948	654	71,0	113	15,3	128	42,3	0,064	0,020	0,102	0,015	1,20	0,445	0,115	0,080	<0,01		94,2	20,6
NMA	F22	5,27	3,22	152	45,3	2,71	1,480	254	47,1	82,2	11,3	62,7	58,4	0,070	0,018	0,076	0,019	1,00	0,184	0,266	0,148	<0,01		83,4	26,2
NMA	F24	6,64	3,19	171	43,3	3,46	1,057	905	149	96,3	11,9	37,0	16,8	0,261	0,058	0,074	0,025	2,14	0,295	0,301	0,153	<0,01		67,6	9,86
NMA	F28	4,82	2,27	237	38,0	3,12	1,217	664	151	92,5	8,68	3,35	0,716	0,079	0,029	0,057	0,005	1,78	0,383	0,087	0,084	<0,01		63,9	13,5
NMA	F29	8,14	2,93	241	25,9	4,88	1,097	381	69,7	60,9	7,21	3,30	0,531	0,065	0,015	0,050	0,007	1,79	0,212	0,225	0,094	<0,01		60,4	13,2
NMA	F30	2,43	0,436	223	32,4	1,64	0,327	448	132	95,1	15,8	3,85	1,19	0,074	0,019	0,044	0,013	2,42	0,410	0,327	0,163	<0,01		80,7	19,9
NMA	F33	4,43	2,35	376	51,8	2,67	1,189	655	128	112	10,6	2,38	1,05	1,80	0,172	0,052	0,007	1,89	0,651	1,73	0,552	<0,01		107	22,6
NMA	F34	4,65	1,39	223	24,5	3,15	0,536	741	93,7	87,0	11,1	3,57	1,28	0,102	0,038	0,058	0,009	1,99	0,387	0,266	0,155	<0,01		116	48,8
NMA	F36	7,60	2,72	232	23,7	4,12	0,982	800	204	112	16,7	3,52	1,62	0,133	0,074	0,054	0,010	1,76	0,264	1,54	1,12	<0,01		93,1	29,9
NMA	F37	8,51	4,34	278	69,0	5,70	2,271	326	36,5	100	16,4	2,55	1,54	0,208	0,103	0,052	0,019	2,15	0,217	6,39	2,76	<0,01		73,6	20,3
NMA	F39	7,45	2,53	220	25,6	4,71	1,479	751	69,3	109	13,9	12,4	2,52	0,106	0,031	0,071	0,010	1,42	0,260	1,18	0,498	<0,01		74,4	14,3
NMA	F42	8,90	2,77	233	37,8	5,18	2,228	705	140	139	28,2	8,24	2,50	0,090	0,043	0,073	0,024	2,53	0,158	2,19	0,629	<0,01		109	16,8

Nm : non mesuré. Les valeurs en gras dépassent les seuils d'hyperaccumulation : Cd 0,9 mmol kg⁻¹, Ni, 17 mmol kg⁻¹ et Zn, 45 mmol kg⁻¹.

Les valeurs soulignées sont supérieures à la valeur du 9^e décile de la distribution de chaque élément.

Tableau 14 suite

TE	station	Al.pa		Ca.pa		Fe.pa		K.pa		Mg.pa		Na.pa		Cd.pa		Cu.pa		Mn.pa		Ni.pa		Pb.pa		Zn.pa	
		med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM	med	EAM
NMA	F43	5,54	1,02	195	42,8	3,53	0,522	496	132	111	14,3	18,0	9,23	0,055	0,022	0,047	0,015	1,50	0,346	1,27	0,369	<0,01		44,4	9,86
NMA	F53	4,57	0,628	177	25,6	2,52	0,626	371	66,6	79,7	10,4	4,15	1,22	0,130	0,077	0,030	0,007	0,886	0,174	0,649	0,378	<0,01		68,1	16,9
NMA	F72	5,66	3,04	262	26,6	3,78	1,829	930	380	98,9	21,6	2,85	0,360	0,159	0,069	0,065	0,015	1,20	0,228	2,18	0,990	<0,01		35,3	17,3
NMA	F73	2,67	1,02	257	84,9	2,11	0,630	605	72,2	100	13,1	3,06	0,834	0,128	0,044	0,051	0,010	0,812	0,138	0,536	0,366	<0,01		104	33,2
NMA	F81	1,43	0,085	249	39,2	1,23	0,083	595	22,8	117	24,2	2,70	0,685	0,081	0,029	0,055	0,009	0,665	0,126	0,418	0,287	<0,01		87,9	50,9
NMA	F83	3,63	0,581	319	63,5	3,01	0,671	595	85,9	90,6	9,51	3,12	0,381	0,113	0,064	0,112	0,049	2,00	0,593	0,504	0,075	<0,01		78,4	22,2
NMA	It02	nm		172	14,7	1,62	0,464	112	17,9	86,5	5,46	nm		0,005	0,002	0,070	0,009	1,58	0,065	44,1	3,97	<0,01		7,87	0,806
NMN	F23	2,91	1,42	181	20,5	2,02	0,833	668	114	76,6	8,63	3,67	1,19	0,234	0,048	0,042	0,003	0,725	0,094	0,830	0,411	<0,01		38,8	8,36
NMN	F61	12,5	2,45	248	15,8	5,89	0,428	135	2,6	54,5	3,67	0,150	0,128	0,540	0,012	0,039	0,005	0,825	0,040	0,135	0,107	<0,01		7,33	1,35
NMN	F68	5,79	0,649	244	77,1	3,26	0,866	609	25,1	89,7	12,4	2,12	0,640	0,143	0,066	0,040	0,007	0,456	0,041	0,299	0,133	<0,01		41,3	8,25
NMN	F09	4,05	0,566	280	69,2	3,21	0,368	507	71,9	116	24,9	52,6	44,1	0,030	0,012	0,104	0,059	0,512	0,113	0,048	0,023	<0,01		112	31,9
NMN	F21	10,6	2,40	165	36,1	4,17	0,891	211	12,6	67,4	12,8	77,3	34,6	0,211	0,072	0,100	0,012	0,509	0,080	0,430	0,141	<0,01		62,2	14,1
NMN	F25	4,71	2,44	288	18,6	3,45	1,759	216	13,1	102	10,4	2,49	0,614	0,773	0,211	0,088	0,014	0,795	0,247	0,670	0,233	<0,01		58,7	16,9
NMN	F27	7,61	1,68	318	19,9	4,48	0,732	758	93,8	128	17,4	2,41	0,689	0,403	0,219	0,062	0,012	1,09	0,300	4,11	1,89	<0,01		61,1	15,9
NMN	F31	2,91	1,34	278	29,4	2,27	0,820	772	106	111	18,0	98,8	74,2	0,168	0,048	0,050	0,023	1,07	0,279	1,43	0,612	<0,01		82,6	19,7
NMN	F38	4,13	1,49	241	47,6	3,17	1,248	838	260	108	12,4	10,38	8,87	0,195	0,072	0,048	0,003	0,830	0,299	2,32	0,774	<0,01		82,9	18,0
NMN	F40	15,6	4,54	298	29,5	8,56	1,631	629	193	120	11,9	19,23	14,6	0,149	0,060	0,058	0,010	1,27	0,133	0,872	0,603	<0,01		149	18,0
NMN	F41	6,96	1,63	280	15,3	3,13	0,466	229	31,3	137	15,0	11,35	4,44	0,100	0,018	0,051	0,009	0,640	0,146	0,656	0,091	<0,01		71,8	22,0
NMN	F65	3,49	1,19	370	58,9	2,20	0,668	482	150	68,6	17,5	3,54	0,994	1,37	0,343	0,058	0,011	1,57	0,339	0,767	0,311	<0,01		75,7	28,5
NMN	F66	12,6	3,53	358	12,4	7,89	2,521	556	71,2	96	10,8	3,81	0,851	1,95	0,272	0,070	0,005	1,87	0,470	1,48	0,300	<0,01		53,0	9,99
NMN	F67	7,52	0,832	374	50,1	4,96	0,304	508	87,4	61,3	11,1	1,98	0,394	0,289	0,037	0,059	0,007	0,610	0,175	0,635	0,531	<0,01		59,2	8,92
NMN	F69	5,17	2,66	323	43,3	2,77	1,128	636	95,8	67,8	6,54	1,84	0,563	0,983	0,373	0,042	0,003	0,470	0,078	1,19	0,754	<0,01		43,6	22,6
NMN	F70	5,44	2,65	356	49,9	3,32	1,373	361	36,0	71,7	17,0	1,70	0,335	0,993	0,381	0,054	0,011	0,882	0,295	1,20	0,369	<0,01		52,7	19,0
NMN	F82	4,48	0,665	257	43,7	3,14	0,344	687	138	71,3	2,00	13,3	1,19	0,178	0,039	0,068	0,009	0,485	0,111	0,409	0,080	<0,01		78,0	13,6
NMN	Sw08	9,68	2,41	329	2,48	5,98	1,073	575	150	71,1	14,3	4,25	0,298	2,82	0,543	0,026	0,001	1,66	0,305	7,01	0,215	<0,01		82,5	20,7
NMN	F35	6,47	1,80	241	22,1	5,27	1,395	662	96,8	119	7,47	3,49	0,901	0,078	0,025	0,043	0,014	0,546	0,229	10,04	1,82	<0,01		84,4	21,7
NMN	F32	7,99	1,96	316	32,5	6,58	1,567	349	70,9	127	15,8	3,89	1,25	0,237	0,027	<0,01		0,842	0,140	37,2	3,89	<0,01		28,1	5,44
NMN	F57	nm		282	32,1	4,37	0,860	603	141	101	18,8	nm		0,090	0,018	0,124	0,009	0,987	0,104	35,3	4,38	<0,01		17,6	3,83
SERP	F04	1,12	0,504	66,5	11,7	1,05	0,353	170	14,6	191	34,7	1,39	0,403	0,066	0,028	<0,01		0,286	0,094	34,0	11,8	<0,01		32,3	8,44
SERP	F55	4,54	2,30	256	35,6	12,4	5,749	304	38,2	396	29,0	2,14	0,818	1,48	0,317	<0,01		1,82	0,221	136	27,6	<0,01		88,2	7,11
SERP	F58	nm		160	9,47	4,84	2,389	129	11,8	138	4,49	nm		0,022	0,006	0,074	0,014	0,908	0,341	20,5	2,40	<0,01		7,45	0,608

Tableau 15 : Pourcentage de variation total des concentrations foliaires en éléments majeurs et en traces associé aux facteurs 'type édaphique (TE)' et 'station emboîtée dans TE' pour 60 stations à *N. caerulescens*.

	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
TE	24,1	37,6	3,5	18,2	44,5	20,4	51,2	58,0	23,2	58,8	62,8	32,2
Station (TE)	32,1	26,3	40,8	43,3	20,1	42,2	29,6	16,6	39,4	21,7	20,5	31,3
Résidus	43,7	36,1	55,7	38,4	35,4	37,4	19,1	25,4	37,4	19,5	16,7	36,5

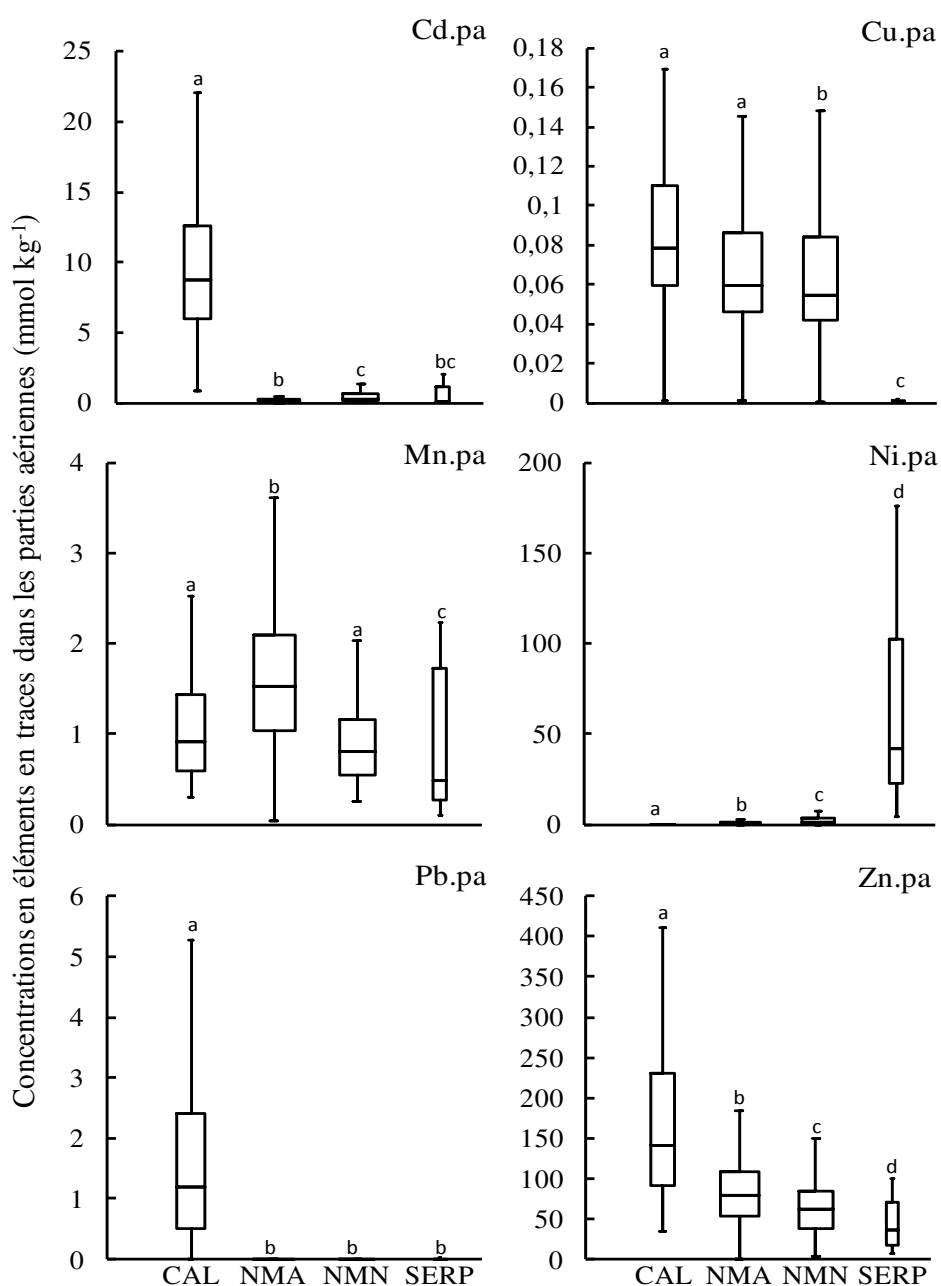


Figure 10 : Boite à moustache des concentrations dans les parties aériennes des végétaux en éléments en traces au sein des types édaphiques calaminaires (CAL), non miniers acidoclines (NMA), non miniers neutrophiles (NMN) et à serpentines (SERP)

La présence de lettre différente indique une différence statistique (ANOVA à 1 facteur, test de Tukey, p<0,05)

A l'exception Fe, les concentrations en éléments majeurs dans les parties aériennes entre les quatre TE sont significativement différentes (Annexe A Figure S1). Quatre des dix stations CAL montrent des concentrations parmi les plus élevées en Ca avec plus de 400 mmol kg⁻¹ et 2,5 fois plus importantes que d'autres stations CAL (Tableau 14). Les autres valeurs de Ca supérieures au 9^e décile (373 mmol kg⁻¹) concernent des stations des groupes NMN (F27 et F67) et NMA (F33) (Tableau 14). Pour Mg, les stations sur serpentines ainsi que les stations CAL F48 à F51 sont celles présentant les plus fortes concentrations *i.e.* supérieure au 9^e décile (161 mmol kg⁻¹). Parmi les stations prospectées les valeurs extrêmes (> 39,2 mmol Na kg⁻¹) concernent pour trois d'entre elles le type édaphique NMN et pour quatre d'entre elles le type édaphique NMA (Tableau 14). Ces stations montrent des concentrations en Na plus de deux fois supérieures aux autres stations de ces mêmes TE (Annexe A Figure S1).

3.5.2 Concentrations en éléments en traces

Les concentrations en éléments en traces dans les parties aériennes des individus varient d'un ordre de grandeur pour Cu et Mn jusqu'à cinq pour Cd et Ni (Tableau 13 et 14). Les concentrations se distribuent asymétriquement autour de la médiane (Tableau 13). Le pourcentage variance associé aux facteurs 'type édaphique' (TE) et 'stations emboîtées dans les TE' varie de 62,6 % (Mn) jusqu'à 83,3 % (Pb). Les pourcentages de variation totale des concentrations foliaires en Cd, Cu, Ni et Pb associés aux 'TE' sont supérieurs à 50 %. Pour Mn et Zn, le pourcentage de variation totale expliquée est plus faible (environ 62 %) et est plus homogène entre les deux niveaux explicatifs à savoir 'TE' et 'stations emboîtées dans TE' (Tableau 15).

Les végétaux sur les stations calaminaires présentent les plus fortes concentrations foliaires en Cd, Pb et Zn alors que les concentrations en Ni sont significativement supérieures aux autres TE dans les stations à serpentines (Figure 10, Tableau 14). Au sein des stations non

Tableau 16 : Matrice des corrélations de Pearson entre les logarithmes des concentrations dans les parties aériennes en éléments traces et majeurs (en haut) au sein des types édaphiques : calaminaires (CAL), sur sols non miniers acidoclines (NMA) sur sols non miniers neutrophiles (NMN) et à serpentines (SERP).

CAL	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
Al.pa	1											
Ca.pa	-0,007	1										
Fe.pa	0,761	0,107	1									
K.pa	-0,049	0,196	-0,155	1								
Mg.pa	-0,013	0,502	0,152	0,226	1							
Na.pa	0,158	0,223	0,077	0,401	0,176	1						
Cd.pa	-0,293	0,122	-0,197	0,185	0,077	-0,118	1					
Cu.pa	0,607	-0,245	0,466	0,028	-0,110	-0,116	0,035	1				
Mn.pa	0,208	-0,359	0,057	-0,028	0,184	-0,209	-0,201	0,188	1			
Ni.pa	0,259	0,045	0,270	-0,289	-0,079	-0,247	-0,084	0,147	0,139	1		
Pb.pa	0,128	0,011	0,236	0,022	0,108	-0,259	0,167	0,360	0,050	-0,097	1	
Zn.pa	-0,142	0,013	-0,083	0,281	0,187	-0,029	0,558	0,279	0,012	-0,109	0,468	1

NMA	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
Al.pa	1											
Ca.pa	0,213	1										
Fe.pa	0,954	0,284	1									
K.pa	-0,032	0,136	0,173	1								
Mg.pa	0,236	0,507	0,264	0,247	1							
Na.pa	0,109	-0,295	0,098	0,036	0,057	1						
Cd.pa	0,026	0,292	0,046	0,152	0,091	-0,211	1					
Cu.pa	0,208	0,097	0,187	-0,100	0,231	0,334	0,141	1				
Mn.pa	0,299	0,261	0,336	0,167	0,228	-0,129	0,097	-0,063	1			
Ni.pa	0,204	0,238	0,149	-0,223	0,068	-0,171	0,219	0,112	0,016	1		
Pb.pa												
Zn.pa	-0,079	0,216	0,004	0,241	0,394	-0,088	0,294	0,045	0,125	-0,317		1

NMN	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
Al.pa	1											
Ca.pa	0,142	1										
Fe.pa	0,932	0,217	1									
K.pa	-0,146	0,034	0,028	1								
Mg.pa	0,162	0,346	0,239	0,139	1							
Na.pa	0,122	-0,278	0,054	0,005	0,125	1						
Cd.pa	0,074	0,345	0,042	-0,041	-0,313	-0,427	1					
Cu.pa	0,222	0,228	0,200	-0,244	0,170	0,409	-0,109	1				
Mn.pa	0,286	0,349	0,320	0,174	0,212	-0,173	0,454	0,096	1			
Ni.pa	0,206	0,222	0,322	0,179	0,326	-0,151	0,103	-0,033	0,261	1		
Pb.pa												
Zn.pa	0,010	0,028	-0,011	0,130	0,338	0,342	-0,040	0,126	0,148	-0,164		1

SERP	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
Al.pa	1											
Ca.pa	0,595	1										
Fe.pa	0,890	0,844	1									
K.pa	0,615	0,607	0,600	1								
Mg.pa	0,477	0,620	0,631	0,735	1							
Na.pa	0,376	0,254	0,406	0,120	0,427	1						
Cd.pa	0,688	0,719	0,702	0,720	0,813	0,401	1					
Cu.pa												
Mn.pa	0,736	0,895	0,898	0,524	0,543	0,232	0,725		1			
Ni.pa	0,426	0,687	0,638	0,566	0,881	0,639	0,814		0,570	1		
Pb.pa												
Zn.pa	0,208	0,387	0,345	0,589	0,737	0,147	0,749		0,448	0,658		1

minières, les individus du TE NMA montrent des concentrations en Cd significativement inférieures aux individus des stations NMN alors que l'inverse est trouvé pour le Ni et le Zn. Les concentrations en Pb sont inférieures aux limites de quantifications ($<0,01 \text{ mmol kg}^{-1}$) chez les végétaux retrouvés sur les stations à serpentines, sur sols non miniers hormis cinq stations NMA (F03, F05, F13, F14 et F15) (Figure 10). Les concentrations foliaires en Cu les plus élevées ($> 0,1 \text{ mmol kg}^{-1}$) sont retrouvées dans deux stations calaminaires F52 (Ganges) et F54 (Viviez) ainsi que dans une station NMA F57 et trois stations des Vosges ; deux NMA (F03 et F83) et une NMN F09 (Tableau 15) alors qu'elles sont en-dessous des limites de quantification chez les populations sur serpentines. Enfin, les plus fortes concentrations en Mn sont retrouvées dans des stations NMA dont cinq valeurs se situent au-dessus du 9^e décile de la distribution de l'ensemble des concentrations (Figure 10, Tableau 15).

Parmi les six éléments en traces dosés, seules les concentrations en Cd, Ni et Zn dépassent les seuils conventionnels d'hyperaccumulation (Tableau 14). Le Zn est l'élément le plus souvent hyperaccumulé avec des concentrations médianes supérieures à 45 mmol kg^{-1} dans 50 des 60 stations (Tableau 14). Les concentrations dans les parties aériennes des végétaux les plus extrêmes, c'est-à-dire dépassant la valeur du 9^e décile (180 mmol kg^{-1}), sont supérieures à l'ancien seuil d'hyperaccumulation de 151 mmol kg^{-1} (soit $10\,000 \text{ mg kg}^{-1}$). Dans le cas du Cd, les concentrations foliaires dépassent le seuil d'hyperaccumulation ($0,9 \text{ mmol kg}^{-1}$) dans 18 stations. Cela concerne d'une part les 10 stations calaminaires et, d'autre part, la station sur serpentine F55, deux stations NMA (F05 et F33) et cinq stations NMN du Jura (Sw08, F65, F66, F68 et F69) (Tableau 14). Enfin, le Ni foliaire dépasse le seuil d'hyperaccumulation (17 mmol kg^{-1}) non seulement dans les trois populations sur serpentine mais aussi dans deux stations NMN (F32 et F57) et une station NMA (It02) pour lesquelles ont été retrouvées des valeurs supérieures à celles des stations sur serpentine F04 et F58 (Tableau 14).

Au regard des trois éléments hyperaccumulés chez *N. caerulescens*, seules quatre stations F61, F23, F68, F72 ne présentent pas de concentration médiane dans les parties aériennes au-dessus d'un des trois seuils (Tableau 14). Les trois dernières stations présentent cependant des valeurs supérieures à 45 mmol kg^{-1} en Zn chez 5 sur 13 végétaux récoltés, 2 sur 5 végétaux récoltés et 3 sur 8 végétaux récoltés respectivement. La station sur serpentine F55 est la seule à présenter des concentrations médianes en Cd, Ni et Zn dans les parties aériennes supérieures aux trois seuils d'hyperaccumulation.

3.5.3 Relations entre éléments dans les parties aériennes

Les corrélations significatives entre les concentrations en éléments majeurs et en traces dans les parties aériennes des végétaux (noté element.pa) suivantes sont communes chez les individus provenant des quatre TE: Al.pa et Fe.pa sont corrélés positivement avec des $r > 0,7$; Ca.pa et Mg.pa sont corrélés positivement avec des r supérieures à 0,5 sauf chez les individus retrouvés sur les stations à serpentines (Tableau 16). Les autres corrélations diffèrent pour au moins un des quatre TE (Tableau 16). Parmi les corrélations supérieures présentant des valeurs $r > 0,5$, Cd.pa et Zn.pa sont corrélés positivement au sein des populations CAL et SERP. Au sein des populations sur serpentines, de nombreuses corrélations sont retrouvés entre Al.pa, Ca.pa, Cd.pa, Fe.pa, K.pa, Mg.pa, Mn.pa et Ni.pa, de même qu'entre Zn.pa avec K.pa, Mg.pa, Mn.pa et Ni.pa.

3.5.4 Influence des paramètres édaphiques sur les concentrations foliaires en éléments

Les concentrations dans les parties aériennes pour chaque élément présentent majoritairement une corrélation significative et positive avec leurs concentrations échangeables dans les terres. Ceci est valable pour les quatre TE mais avec des valeurs de r

différentes (Annexe A Tableau S3). Ainsi, les valeurs de r sont supérieures à 0,5 pour aucun élément chez les CAL, Na et Cd chez les NMA et NMN, Cd, Mn, Ni et Zn chez les SERP.

Des corrélations significatives et positives avec des valeurs de $r > 0,5$ sont retrouvées entre les concentrations en éléments en traces échangeables dans les terres et les concentrations en éléments majeurs dans les parties aériennes chez les SERP. Les concentrations échangeables en éléments en traces présentent des corrélations négatives avec la concentration en Ca dans les parties aériennes chez les CAL.

Afin d'évaluer les interactions entre les éléments échangeables sur les concentrations dans les parties aériennes en Cd, Ni et Zn, les meilleurs modèles synthétiques pour ces trois éléments hyperaccumulés ont été déterminés par des régressions multiples progressives ascendante dans chacun des quatre TE (Tableau 17). Pour les trois éléments, le premier facteur explicatif est la concentration échangeable en l'élément.

Pour les concentrations en Cd.pa, le meilleur modèle empirique ne comprend que les concentrations échangeables en Cd dans les terres chez les CAL avec un r^2 de 0,210. Pour les trois autres TE, les modèles présentent de meilleurs r^2 (> 0.6), par l'ajout du Zn.e avec un coefficient négatif. D'autres paramètres interviennent dans les modèles avec un coefficient négatif en Na.e chez les NMA et NMN, un coefficient négatif pour Al.e chez les NMA et positif Mg.e chez les SERP.

Pour les concentrations en Ni dans les parties aériennes, le meilleur modèle empirique pour les trois TE considérés (excepté les CAL) montre des effets négatifs du Zn.e et positif du Mg.e. Un quatrième paramètre complète les modèles avec un effet négatif Mn.e chez les NMA, négatif Ca.e chez les NMN et positif Cd.e chez les SERP sur les concentrations en Ni.pa. Les modèles montrent des valeurs de r^2 comprises entre 0,2 et 0,3 chez les individus retrouvés au sein des types édaphiques CAL, NMA et SERP.

Tableau 17 : Modèles empiriques explicatifs des logarithmes des concentrations foliaires en Cd, Ni et Zn sur 59 stations de *N. caerulescens*.

Log ₁₀ (élément)	TE	Paramètres	Cste	R ²
Cd.pa	CAL	0,201 log (Cd.e)	1,16	0,210
	NMA	0,928 log (Cd.e) – 0,576 log (Zn.e) – 0,131 log (Al.e) – 0,176 log (Na.e)	0,700	0,605
	NMN	0,847 log (Cd.e) – 0,381 log (Zn.e) – 0,168 log (Na.e)	0,585	0,625
	SERP	1,73 log (Cd.e) – 0,480 log (Zn.e) + 0,480 log (Mg.e)	-0,661	0,913
Ni.pa	CAL	nd		
	NMA	0,415 log (Ni.e) – 0,539 log (Zn.e) + 0,499 log (Mg.e) – 0,596 log (Mn.e)	2,64	0,210
	NMN	0,182 log (Ni.e) – 0,269 log (Zn.e) + 1,12 log (Mg.e) – 0,584 log (Ca.e)	0,024	0,893
	SERP	0,232 log (Ni.e) + 0,733 log (Cd.e) – 0,395 log (Zn.e) + 1,02 log (Mg.e)	0,223	0,679
Zn.pa	CAL	0,180 log (Zn.e) – 0,159 log (Ca.e)	4,09	0,265
	NMA	0,177 log (Zn.e) – 0,204 log (K.e) + 0,219 log (Mg.e)	3,55	0,210
	NMN	0,177 log (Zn.e) – 0,097 log (Mg.e)	3,97	0,269
	SERP	0,177 log (Zn.e) – 1,07 log (Ca.e) + 0,926 log (Mg.e)	1,99	0,810

cste : constante

Enfin, les meilleurs modèles empiriques des concentrations dans les parties aériennes en Zn comprennent des éléments échangeables majeurs avec un effet négatif du Ca.e chez les CAL et les SERP, négatif du K.e chez les NMA. Enfin, le Mg.e montre un effet positif chez les NMA et les SERP alors que l'effet est négatif chez les NMN. Néanmoins, les modèles montrent des valeurs de r^2 comprises entre 0,2 et 0,3 pour les concentrations en Zn.pa au sein des types édaphiques CAL, NMA, NMN et de 0,810 pour les individus retrouvés sur les stations à serpentines (Tableau 17).

4 Discussion

4.1 Description de l'aire de distribution et de la niche écologique

La répartition et le nombre important de stations échantillonnées dans cette étude confirment la large distribution de l'espèce en France (Reeves *et al.* 2001). Découverte sur des sites miniers en Belgique, l'espèce est actuellement présente sur de nombreuses stations non minières au Luxembourg et dans le Jura Suisse (Molitor *et al.* 2005; Basic *et al.* 2006a). Cette étude présente de nouvelles stations non minières en France. Les stations présentent de larges disparités écologiques. Ainsi, les paramètres édaphiques et biotiques de la niche écologique de l'espèce montrent des gammes de variation importantes. Au niveau abiotique, l'altitude varie de plus de 2 000 m, ce qui ne permet pas de classer l'espèce dans un étage de végétation donné. De plus, l'espèce est répartie sur neuf domaines géologiquement et géographiquement distincts. La variation bimodale du pH sépare les stations en deux groupes : 26 stations acidoclines (pH < 5,5 ; Julve, 1998) et 37 neutrophiles. Une large tolérance aux variations de pH a également été observée au Luxembourg, sur la base d'une étude de 47 sites (Molitor *et al.* 2005). Nos sites se distinguent également selon les ressources minérales. Les stations minières sur dalles rocheuses/éboulis ou les pelouses anthropisées sont oligotrophes avec des

C/N élevés. D'autres stations sont riches en matière organique et en phosphore assimilable comme les habitats de prairies de fauches ou de pâtures.

4.2 Classification des sites sur la base des concentrations totales en éléments en traces.

Actuellement, les stations métallifères à *N. caeruleus* correspondent aux sites d'activités minières (Reeves *et al.* 2001; Assunção *et al.* 2003; Schmitt-Sirguey 2004; Dechamps *et al.* 2008b) et aux stations à serpentine (Visioli *et al.* 2011). Dans ces dernières stations, les caractéristiques édaphiques comme un ratio Ca/Mg inférieur à un, des teneurs élevées en éléments en traces et une déficience en macroéléments rendent facile leur discrimination (Kazakou *et al.* 2008). En revanche, la distinction des stations minières est moins aisée, ce qui a poussé certains auteurs à proposer qu'on utilise les teneurs-seuils en éléments en traces dans les sols au-delà desquelles l'épandage des boues en agriculture est interdit comme limites entre sol métallifère et non métallifère (Bert *et al.* 2002). Dans cette étude, des stations non minières présentent des concentrations totales en Cd et en Ni supérieures à leurs limites respectives de 2 et 50 mg kg⁻¹ tout en conservant des rapports ET_{tot}/Fe_{tot} linéaires correspondant à une origine liée au fond pédogéochimique local (Baize 1997). Baize et Sterckeman (2001) ont par ailleurs également observé dans le Jura suisse des concentrations pseudo-totales comprises entre 2 et 6 mg kg⁻¹ en Cd dans des sols non miniers, qu'ils soient cultivés ou sous forêt. Ainsi, les limites de teneurs en ET pour l'épandage des boues en agriculture ne permettent pas de discriminer les stations minières des autres stations. D'après nos résultats, les teneurs de 8 mg kg⁻¹ pour le Cd et de 100 mg kg⁻¹ pour le Ni, correspondant aux vibrisses supérieures des boîtes à moustache, paraissent des limites mieux adaptées pour distinguer les sols miniers des autres sols. Concernant Cu, Pb et Zn, il n'y aurait pas lieu de modifier les seuils puisque l'analyse des distributions des teneurs en ces éléments confirme les seuils proposés par la réglementation sur l'épandage des boues en agriculture.

4.3 Nouvelle définition des groupes édaphiques

L'extraction à la cobaltihexamine met en exergue une large variabilité des concentrations en ET disponibles pour l'absorption racinaire avec des coefficients de variations supérieurs à 100 % au sein des groupes édaphiques mais aussi au sein des stations. Cette variabilité vient d'une différence des concentrations totales et du pH, les deux principaux paramètres des modèles empiriques (Tableau 12). Les ions échangeables correspondent aux ions susceptibles de réapprovisionner la solution du sol à mesure que celle-ci est appauvrie par l'absorption racinaire. La quantité échangeable est donc un bon indicateur de la disponibilité des ions pour les racines. C'est pour cette raison que ce paramètre est utilisé dans la modélisation mécaniste du prélèvement des cations majeurs et en traces par les racines (Tinker et Nye, 2000 ; Sterckeman *et al*, 2004, Custos *et al*, 2014).

Les caractérisations faites ici nous ont amenés à considérer quatre types édaphiques. Les caractéristiques des stations calaminaires et à serpentine relevées dans de précédents travaux sont retrouvées dans les stations prospectées. Les sols des stations calaminaires sont connus pour leurs plus fortes concentrations en Cd, Zn et dans certains cas Cu et Pb (Meerts et Van Isacker, 1997; Dechamps et al., 2008b; Escarré et al., 2010). Ces variations viennent des différents processus d'extractions minières et des différences locales en minerais. Ayant la même origine géochimique en lien avec le soufre (Goldschmidt 1937), ces quatre éléments présentent de bonnes corrélations entre eux et sont généralement trouvés ensemble. Cu et Pb sont des éléments peu échangeables et ont des concentrations disparates selon les stations. Néanmoins, ces deux éléments, et en particulier Cu, peuvent influencer et limiter l'hyperaccumulation d'autres éléments (Walker et Bernal 2004; Banasova *et al.* 2008) et doivent donc être mieux quantifiés. Au sein des trois stations à serpentine, deux des trois principales caractéristiques du syndrome de serpentine sont retrouvées, à savoir les fortes

concentrations échangeables en Ni et un ratio Ca/Mg inférieur à un (Brady *et al.* 2005; Kazakou *et al.* 2008).

Jusqu'à présent, sur la base des teneurs totales et échangeables en Cd, Ni et Zn, les stations non calaminaires ou sur des roches différentes de la serpentine étaient qualifiées de non métallifères. Or les concentrations échangeables trouvées ici dans trois stations non minières (F03, F05 et F13) sont supérieures à certaines concentrations mesurées en sites miniers. Ces stations ont toutes des pH inférieurs à 5,5 et présentent des anomalies géochimiques en Cd, Ni et Zn (Tableau 4). Un effet important du pH sur la dissolution des éléments des phases solides est confirmé (Wang *et al.* 2006). De plus, ces pH acides ont une incidence sur les concentrations en Al et dans une moindre mesure en Mn. Ainsi, un groupe particulier, celui des stations sur sol acide (NMA), émerge donc de l'ensemble des stations non minières.

L'effet de l'aluminium et du manganèse n'a jamais été étudié chez les hyperaccumulateurs de Cd et Zn. Ces deux éléments sont principalement sous la forme libre Al^{3+} et Mn^{2+} aux pH acides et dépassent majoritairement les $1\,800\ \mu\text{mol kg}^{-1}$ dans les sols, seuil de toxicité agronomique. Ces formes sont extrêmement toxiques pour les végétaux (Mossor-Pietraszewska 2001; Rout *et al.* 2001). Leur principal effet se situe au niveau des racines, consistant en une modification de leur morphologie (Horst *et al.* 1983). Or les racines sont essentielles dans l'hyperaccumulation car une partie importante des processus impliqués se situent à ce niveau (Guimarães *et al.* 2009). Il semble donc que les individus développés sur ces terres soient tolérants à ces concentrations en Al et en Mn. De nouvelles questions scientifiques émanent de ces résultats, qui concernent la tolérance de *N. caerulea* à ces deux éléments sur les 26 stations NMA et, leur influence sur l'hyperaccumulation, en particulier le prélèvement des éléments dans le sol. On peut se demander si les mécanismes de tolérance à Al et Mn pourraient être à l'origine de l'adaptation aux fortes teneurs en éléments en traces et à la capacité constitutive de l'espèce à accumuler Cd, Ni et Zn.

4.4 Absence de spécificité écotypique dans l'hyperaccumulation des éléments en traces

4.4.1 Niveaux d'hyperaccumulation en Cd, Ni et Zn

Les concentrations foliaires en Cd/Zn et Ni dépassant les seuils d'hyperaccumulation sont principalement retrouvées dans les stations calaminaires et à serpentines respectivement. Avec la modification du seuil d'hyperaccumulation du Zn de 151 à 45 mmol kg⁻¹ (soit 3000 mg kg⁻¹), la quasi-totalité des populations hyperaccumulent cet élément. (Molitor *et al.* 2005) trouvent également des concentrations en Zn supérieures à 45 mmol kg⁻¹ dans l'ensemble des stations non minières luxembourgeoises. De même, les individus de la majorité des stations d'*Arabidospsis halleri* dépassent ce seuil *in situ* (Bert *et al.* 2002). De plus, ces résultats confirment les fortes capacités de translocation observées dans d'autres études. Les populations non hyperaccumulatrices de Zn se trouvent dans des stations où les concentrations en Zn échangeables sont parmi les plus faibles (Tableau 9). C'est le cas de deux stations à serpentine mais aussi des populations sur calcaire des Cévennes et du Jura. Il serait donc intéressant de tester leur capacité à hyperaccumuler Zn en conditions contrôlées.

L'hyperaccumulation du Cd est trouvée dans toutes les populations calaminaires mais aussi dans des populations du Massif Central et sur sols calcaires du Jura. Les concentrations en Cd dans les parties aériennes sont fortement corrélées aux concentrations échangeables dans les sols. Par ailleurs, les concentrations foliaires en Cd *in situ* dans les stations belges sont peu nombreuses dans la littérature et non mesurées ici. Assunção *et al.* (2003) montrent qu'elles sont inférieures à la limite de 0,9 mmol kg⁻¹ pour B03 (La Calamine) et les données de thèse non publiées de Lloyd-Thomas (1995) qu'elles sont de 5,82 mmol kg⁻¹ pour Prayon. Selon ces auteurs, ces deux populations ne sont pas considérées comme des hyperaccumulatrices de Cd malgré des teneurs dans la population Prayon cinq fois plus élevées que la limite d'hyperaccumulation. Ce jugement vient du fait que les concentrations mesurées pour ces

populations étaient beaucoup plus faibles que celles de la population Ganges (Lombi *et al.* 2000; Roosens *et al.* 2003). Même si les concentrations foliaires sont inférieures à celles retrouvées dans les autres stations calaminaires, ces deux stations belges présentent les teneurs en Cd échangeable parmi les plus élevées, notamment à Prayon (Tableau 9). Ici, la composition édaphique ne peut donc pas expliquer seule les concentrations observées dans la plante. Au niveau des gènes impliqués dans l'hyperaccumulation, les individus de Prayon présentent des nombres de copies inférieures à ceux de Ganges et St Felix pour un gène de translocation (HMA4) (Lochlainn *et al.* 2011; Craciun *et al.* 2012) et un gène de stockage vacuolaire (HMA3) (Ueno *et al.* 2011). Prayon présente également un influx racinaire plus faible (Lombi *et al.* 2002). Ces trois résultats tendent à montrer une stratégie différente des populations belges par rapport à Ganges, tendant à l'exclusion du Cd avec une limitation à la fois de son entrée dans les racines et de sa translocation vers les parties aériennes. Le dosage des racines *in situ* permettrait de vérifier cette hypothèse avec une prédiction d'une plus grande concentration dans les racines que dans les feuilles (Baker 1981).

Les populations à serpentine hyperaccumulent le Ni, mais elles ne sont pas les seules. En effet, l'hyperaccumulation du Ni a été constatée dans trois autres stations non métallifères dont deux NMN (F32, F57) et une NMA (It02). A notre connaissance, c'est la première fois que l'on observe *in situ*, hors sols à serpentine, des populations hyperaccumulant le Ni. Ces individus présentent également de plus faibles concentrations en Cd et en Zn, hormis F55.

4.4.2 Effet de la composition édaphique

L'hyperaccumulation est un phénomène complexe impliquant un nombre important de mécanismes tant au niveau du prélèvement dans le sol que de la translocation et du stockage dans les parties aériennes (Verbruggen *et al.* 2009; Hanikenne *et al.* 2011). Les modèles empiriques sont donc la résultante de l'ensemble de ces phénomènes et montrent que les

concentrations échangeables dans les terres influencent fortement sur les concentrations dans les parties aériennes. Dans les stations du Jura, Basic et al. (2006b) montrent le même modèle. Toutefois, des effets antagonistes d'éléments en traces du sol sur leur prélèvement par les plantes ont été mis en évidence dans cette étude avec par exemple un effet négatif du Zn échangeables sur le Cd et le Ni dans les parties aériennes hormis chez les CAL. Il a été démontré en conditions contrôlées, que les concentrations foliaires en Cd/Ni/Zn varient non seulement selon leurs quantités initiales dans la solution du sol ou de culture en hydroponie mais également en fonction de leurs ratios (Assunção *et al.* 2008; Escarré *et al.* 2013). D'autres interactions, faisant intervenir des éléments majeurs sur le prélèvement des éléments en traces, ont également été retrouvés dans les modèles notamment entre un effet négatif de Al.e sur le Cd.pa chez végétaux dans le type édaphique NMA où les concentrations en Al.e sont les plus élevées ou encore entre un effet positif du Mg échangeable sur les concentrations en Ni. Ainsi, les différences observées pourraient s'expliquer par de la compétition entre éléments vis-à-vis du transport, des affinités et/ou des densités différentes des transporteurs pour les éléments tant au niveau de leur absorption racinaire que de leur translocation vers les parties aériennes. Ces modèles devront être expérimentalement testés pour vérifier leur validité.

5 Conclusion

Cette étude confirme que *N. caerulea* est très largement répandue dans les massifs montagneux français et que l'espèce n'est pas inféodée aux sites métallifères vu le grand nombre de stations explorées pour la première fois en milieu non minier. Par ailleurs, les stations prospectées se caractérisent par une très large amplitude dans les paramètres abiotiques décrivant le biotope de l'espèce. Ainsi, les populations étudiées se répartissent sur neuf domaines géologiquement et géographiquement distincts avec des propriétés des sols s'étendant sur une large gamme tant en ce qui concerne le pH (stations acidoclines à

neutrophiles) que les ressources minérales (stations oligotrophes à eutrophes). Cette forte variabilité se retrouve également à l'échelle climatique et géomorphologique avec une large amplitude altitudinale des stations ne permettant pas d'inféoder l'espèce à un étage donné.

Concernant les teneurs en éléments en traces du sol totales et échangeables les 63 stations étudiées ici représentent des situations très différentes. Si les plus fortes concentrations en Cd/Zn et en Ni sont retrouvées dans les stations calaminaires et à serpentines respectivement, dans certaines stations non minières, des concentrations proches voire supérieures en Cd, Ni et Zn sont également retrouvées du fait d'anomalies géochimiques locales et de l'acidité des sols. Ainsi, les teneurs limites en ET pour l'épandage des boues en agriculture, classiquement utilisées pour caractériser les populations, ne permettent pas de discriminer les stations minières des autres stations. Dès lors, ce travail conduit à proposer une nouvelle classification des stations à *N. caerulea* en prenant en compte la disponibilité des métaux et le pH des sols. Quatre groupes édaphiques ont donc été retenus : calaminaire, sur serpentines, non minières acides et non minières neutrophiles. Concernant l'accumulation des ET *in situ*, nous avons démontré que l'offre du sol ne permettait pas d'expliquer seule les concentrations observées dans la plante. En effet, si les concentrations échangeables en Cd, Ni et Zn sont les principaux facteurs expliquant leurs concentrations dans la plante, ils n'expliquent toutefois qu'une partie de la variation totale comme le montrent les modèles empiriques développés. Par ailleurs, nous avons également mis en évidence pour la première fois que l'hyperaccumulation du Ni par *N. caerulea* n'était pas restreinte aux seules stations sur serpentine. Ces résultats obtenus *in situ*, mettent en évidence des comportements contrastés des populations. Toutefois, vu l'importance des effets environnementaux sur la réponse de la plante, il advient de les comparer dans des conditions contrôlées notamment en ce qui concerne la disponibilité des éléments.

Chapitre 3- Variation of trace metal accumulation, major nutrient uptake and growth parameters and their interactions in 22 populations of *Noccaea caerulescens*

Noccaea caerulescens is a model plant for the study of trace metal accumulation and a source of cultivars for phytoextraction. The aim was to characterize 22 populations to better understand their ecophysiology and assess their potential for phytoextraction. Populations from three edaphic groups, i.e. calamine (CAL), serpentine (SERP) and non metalliferous (NMET) sites were grown in hydroponics for seven weeks at moderate trace metal exposure. Growth indicators, element contents and correlations between these variables were compared. All the phenotypical characteristics showed a high variability among individual plants. The edaphic group explained only a minor part of this variability. The SERP populations showed a smaller size, higher cation contents and strong correlations between all element concentrations. This group had the highest trade-off between carbon fixation and cation accumulation. NMET populations did not differ from the CAL ones by the size, and could be distinguished from CAL and SERP by higher Zn and Ni contents. The CAL populations showed higher Cd and Mn accumulations and lower Ca contents. The trade-off between carbon fixation and Cd, Ni and Zn accumulation was low in the CAL and NMET populations. *N. caerulescens* appears as a genetically diverse species, which vary not only in trace element contents, but also in carbon allocation, major element contents and ratios between elements.

Article en révision dans Plant and Soil

1- Introduction

Noccaea caerulescens (formerly *Thlaspi caerulescens*) is a pseudo-metallophyte growing both on unpolluted and trace metal enriched soils. This species is particularly known to accumulate in its aboveground parts some trace metals like zinc (Zn), cadmium (Cd) and nickel (Ni) (Meerts *et al.* 1997; Escarré *et al.* 2000, 2013; Assunção *et al.* 2003; Visioli *et al.* 2011; Lovy *et al.* 2013). *In situ*, the plant can concentrate in its shoots up to 53450 mg Zn kg⁻¹, 2890 mg Cd kg⁻¹ and 12880 mg Ni kg⁻¹ (Reeves *et al.* 2001). Previous studies have shown that this wild species has a good potential for remediation, through phytoextraction, of soils moderately contaminated with Cd (Zhao *et al.* 2002; Schwartz *et al.* 2003; Maxted *et al.* 2007; Liu *et al.* 2008). Feasible trace metal phytoextraction implies simultaneous improvement of several plant characteristics, such as metal uptake, biomass production and growth speed. The achievement of phytoextraction may thus imply genetic engineering, necessarily based on existing variation for parameters of interest in candidate species. Actually, natural variation of Zn, Cd or Ni hyperaccumulation has been largely investigated in *N. caerulescens* (Meerts *et al.* 1997; Escarré *et al.* 2000, 2013; Assunção *et al.* 2003; Visioli *et al.* 2011; Lovy *et al.* 2013). In the field, the various studied populations have shown contrasted accumulation abilities, some of them being able to hyperaccumulate Cd, Ni and Zn in their shoots at higher concentrations than the others (Reeves *et al.* 2001; Assunção *et al.* 2003; Basic *et al.* 2006a). In general, the highest concentrations of Cd and Zn have been measured in calamine sites and those of Ni in serpentine ones (Assuncao *et al.* 2003; Chardot *et al.* 2007), leading to the idea that hyperaccumulation of trace elements could be mainly attributed to their high bioavailability in soils. However, when cultivated in controlled conditions, the calamine populations of *N. caerulescens* exhibited lower ability to hyperaccumulate Zn in their shoots than the non-metallicolous ones (Escarré *et al.* 2000, 2013). For Cd, the reverse was found with the calamine populations exhibiting the highest

concentrations (Escarré *et al.* 2000) except in Belgian calamine populations which show no group difference with non-metallicolous populations from Luxembourg (Dechamps *et al.* 2005).

Although exploration of natural variation of trace metal hyperaccumulation provides interesting phenotypic data, the underlying genetic mechanisms are still far from being uncovered, as hyperaccumulation would be a multigenic process with a complex homeostasis network (Verbruggen *et al.* 2009; Hanikenne *et al.* 2011), involving around a hundred genes (Van de Mortel *et al.* 2006; . 2008). This makes very unlikely, on the mean term, the creation of transgenic cultivars for phytoextraction, for example by introducing Cd hyperaccumulation ability in a high dry matter yield crop. That is why there is a need to also investigate natural variation of nutritional and growth parameters, in order to exploit original genetic combinations created in the wild. Therefore, what now appears essential is to estimate on a large scale the natural variability not only of trace metal accumulation, nutrient uptake, or plant growth taken separately, but also of the interactions between these parameters. As an example, in a perspective of efficient phytoextraction, it seems essential to ensure that increasing amounts of metallic elements are accumulated during cultivation, and that they stay in shoots during plant development (i.e. that Cd hyperaccumulation is positively correlated to shoot development). This was tested by (Lovy *et al.* 2013) used the Viviez population of *N. caerulescens* grown in aeroponics and shown that dry matter and Cd allocation between roots and shoots was constant all over the cultivation cycle (until fruit formation) and independent of Cd exposure. The plant Cd content increased linearly with that in the exposure solution, which indicated that the higher the plant biomass, the greater the amount of toxic metal extracted (Lovy *et al.* 2013). However, these results were obtained with only one population of the species and cannot be generalized. In Western Europe, and particularly in France, *N. caerulescens* is present in numerous locations both on metalliferous

and non-metalliferous sites (Basic et al. 2006a; Molitor et al. 2005; Peer et al. 2006; Reeves et al. 2001). The various populations of *N. caerulescens* are usually classified in three main groups corresponding to the three contrasted edaphic environments in which they live. Two edaphic groups from metalliferous soils can be distinguished. The calamine group (hereafter CAL) gathers populations which grow in soils highly enriched with Zn, Cd, and lead (Pb) such as those of mining or smelting sites (Reeves et al. 2001; Escarré et al. 2011). These plants tolerate high amounts of Zn and Cd and hyperaccumulate these metals. The serpentine group (hereafter SERP) corresponds to populations which seem to be adapted to soils naturally enriched with Ni, such as those originating from ultramafic rocks, i.e. mainly rocks with serpentine in Western Europe. These populations are known to tolerate and accumulate higher amounts of Ni than the others (Assunção et al. 2003; Escarré et al. 2013). The last edaphic group corresponds to the populations developing in non-metalliferous soils (hereafter NMET), which have been generally found in mountain areas such as Ardennes, Jura, Alps and Cévennes (Reeves et al. 2001; Molitor et al. 2005; Basic et al. 2006a). However, some NMET populations are also developing in Vosges and Massif Central mountains, but up to now these locations have never been investigated.

In this study, we assessed for the first time nine new NMET populations of *N. caerulescens* from Massif Central mountains and one new SERP populations from Alps mountains, thus extending knowledge about the species abilities to accumulate trace metal and to grow in trace metal contaminated environments. For this purpose, we chose to cultivate the plants in hydroponic solution with moderate trace metal concentrations. Indeed, in soil cultivation, the root exposure to trace metal elements is not clearly controlled, as the available fraction (the flow of free hydrated ion towards the root surface) is not known, can vary with time, and depend on metal interaction (Lombi et al. 2000) and on the plant uptake. For instance, in this experiment, the initial concentration of Cd in the nutrient solution (1 μM) is moderate, as if it

is higher than the majority of the concentrations of contaminated soil solutions which are more often around 0.1 μM , Cd concentrations above 4 μM can be found in highly contaminated soils (Maxted *et al.* 2007). In addition, the value of 1 μM is of the same order of magnitude of the K_m for *N. caerulescens* (Redjala *et al.* 2009). The nutrient solution might therefore enable a high (even close to the maximum) root influx, without excessive exposure of the roots. That means that the nutrient solution used here corresponds to a soil with a high amount of available Cd but without excess of toxicity, which enables to assess the ability of plants to accumulate trace metals.

This work was conceived to characterize on a wider scale the populations of the three groups of *N. caerulescens*, not only for their ability to accumulate Cd, Ni and Zn, but also for nutritional and growth traits, in order to progress in the domestication of the species. In particular, the experiment was carried out:

- To assess the phenotypic variability of the three edaphic groups in controlled conditions, as well as the variability within each group, on a large number of populations (22) exposed to moderate metal concentrations,
- To explore the interactions between growth parameters, major nutrient uptake and trace metal accumulation,
- To detect the populations with a highest potential for use in Cd phytoextraction.

2- Materials and methods

2.1 Plant material

During summer 2011, seeds from three maternal lineages of 22 populations of *N. caerulescens* were collected by cutting the base of the inflorescence. Seeds were first stored in paper bags at room temperature during two months and then at 4°C. The studied accessions included nine calamine (CAL) and 10 non-metallicolous (NMET) populations from Massif

Table 1: Location and coding of the 22 *Noccaea caerulescens* populations and the two control species (*Arabidopsis thaliana* and *N. montana*) used in the experiments. CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SERP: serpentine.

Species	Edaphic group	Department (except for Luxembourg)	Location	Altitude (m)	Coordinate	Abbreviation
<i>Noccaea caerulescens</i>	CAL	Saône-et-Loire	Auxy	500	46°57'44.13"N 04°23'47.05"E	AUX
		Southern Ardèche	Largentièrre	264	44°32'26.33"N 04°18'18.44"E	LAR
		Southern Ardèche	Sainte Marguerite	741	44°27'29.13"N 04°00'31.32"E	SML
		Lozère	Ramponenche	698	44°20'15.85"N 03°40'00.31"E	RAM
		Gard	Saint Felix	349	44°02'36.21"N 03°56'11.27"E	SFP
		Gard	Durfort	195	43°59'56.70"N 03°57'08.54"E	DUR
		Gard	Malines	436	43°55'20.67"N 03°37'14.57"E	MAL
		Gard	Ganges	175	43°56'10.98"N 03°40'19.88"E	GA
		Aveyron	Viviez	202	44°33'34.16"N 02°13'01.39"E	VIV
	NMET	Southern Ardèche	Pic de Chenavari	460	44°35'58.80"N 04°41'04.20"E	PC
		Northern Ardèche	Mezilhac	1118	44°48'28.00"N 04°20'44.80"E	MEZ
		Northern Ardèche	Sainte Eulalie	1270	44°48'13.10"N 04°12'47.10"E	SEU
		Haute-loire	L'Herm	1111	44°54'24.20"N 03°49'10.10"E	HER
		Cantal	Nouvialle	1016	45°02'49.00"N 02°56'45.40"E	NOU
		Cantal	Salesses	1132	45°17'44.80"N 02°51'35.20"E	SAL
		Puy-de-Dôme	Chavignée	954	45°23'48.30"N 02°43'59.00"E	CHA
		Puy-de-Dôme	Besse	1036	45°30'25.50"N 02°56'26.30"E	BES
		Puy-de-Dôme	Laschamp	964	45°44'36.00"N 02°58'08.90"E	LAS
		Wiltz (Luxembourg)	Winseler	325	49°57'N 5°53'E	WIN
	SERP	Vosges	Bergembach	810	47°54'22.90"N 06°57'25.50"E	BER
		Aveyron	Puy de Wolf	472	44°33'23.80"N 02°18'21.07"E	PW
		Hautes-Alpes	Montgenèvre	1860	44°55'33.49"N 06°43'08.02"E	MON
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Controls		-	-	-	At
<i>Noccaea montana</i>		Northern Ardèche	Clava	586	45°18'39.10"N 04°38'46.00"E	Nm

Central (9) and from Luxembourg (1) and three serpentine (SERP) populations from Massif Central, Vosges and Alps (Table 1). Two species were used as controls, namely *Arabidopsis thaliana* (Col-0) and a *Noccaea montana* from an ultramafic soil in Massif Central. *A. thaliana* was chosen because its ionic composition has been extensively studied (e.g. McDowell et al. (2013)). *N. montana* was chosen because it belongs to the *Noccaea* genus as a non hyperaccumulating species (mean Ni concentration in shoots *in situ*: 334 mg kg⁻¹, standard deviation: 226 mg kg⁻¹; C. Gonneau, unpublished data). These controls allowed testing the toxicity of the nutrient solution and evaluating the hyperaccumulating status of the individuals in the studied populations.

2.2 Plant cultivation

Four plants by maternal lineage were grown hydroponically in a growth chamber for 49 days in 12 polyethylene sinks (400 mm x 300 mm x 220 mm) containing each 17 L of nutrient solution. In each container, a 2 cm thick polystyrene tray, floating on the nutrient solution was used to support the plants. Each tray contained 24 conical holes filled with 7 g L⁻¹ agar as a stand for the seeds and the young seedlings after germination.

The composition of the nutrient solution was adapted from (Küpper *et al.* 2007): 1 mM KNO₃, 1 mM Ca(NO₃)₂, 0.5 mM MgSO₄, 0.1 mM KH₂PO₄, 50 µM KCl, 20 µM NaFe(III)EDTA, 10 µM H₃BO₃, 10 µM ZnSO₄, 1 µM Cd(NO₃)₂, 1 µM MnCl₂, 0.7 µM NiSO₄, 0.2 µM Na₂MoO₄, 0.2 µM CuSO₄ in deionized water. The nutrient solution also contained 2 mM 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES) to buffer the pH at 5.5, which was adjusted through the addition of 20 ml of 0.34 mM KOH. Six capillary tubes were regularly placed through each tray and sunk into the nutrient solution to allow its oxygenation by bubbling with filtered air. The nutrient solutions were renewed once a week at the beginning of the cultivation, then twice a week. Cadmium concentration in the solution was monitored by sampling and analysing the nutrient solution before and after its renewal

(Annexe B Figure S1). The photoperiod was set at 16 h day and 8 h night, with a light intensity of $196 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The temperature was maintained at 23°C during the day and 18°C during the night and the relative humidity was set at 70%. Twice a week, the sinks were translated to the neighbouring position and individually rotated at 180°, since each of them thus held at least once each of the positions available. This was done to reduce the effect of environmental differences that may exist in different points of the growth chamber.

2.3 Harvest and analyses

At the end of the cultivation, namely 49 days after germination for each plant, the roots were separated from the leaves at the crown. Leaf surface area (LA) was measured by scanning using WinRhizo® software. The total number of leaves (NL) and the largest diameter of the rosette (RD) were also measured. Root and leaf dry biomass (RDM and LDM respectively) were weighed after drying during 24 h at 70°C.

The plant material was finely ground using an agate mortar before successive digestion of 0.5 g with 8 ml 65% HNO₃ for 12 h and 4 ml 30% H₂O₂ during 3.5 h at 95°C using the DigiPREP® system (SCP Science, Baie-d'Urfé, QC, Canada). After filtration of the extract at 0.45 μm , the samples were adjusted to 25 mL with ultrapure water (18 M Ω).

Elements in nutrient solution and plant extracts were determined by induced coupled plasma emission spectrometry (ICP-AES, iCAP 6000 Series, Thermo Scientific, Cambridge, UK). Control material from *N. caerulea* with known compositions (internal analyses carried out by INRA-USRAVE, Villenave d'Ornon, France), as well as a certified solution (EU-H₂, SCP Science, Courtaboeuf, France) were included in all analyses for quantitative verification of the results.

2.4 Data processing

Translocation factor was calculated as the ratio of element concentration in shoot to the concentration in roots, while allocation factor corresponded to the ratio of the element quantity (concentration x biomass) in shoot to its quantity in roots.

All statistical analyses were performed using R v2.10.14. Before analysis, all data were log-transformed in order to improve normality and variance homogeneity of residues. Analyses of variance for biomass production and element content in *N. caerulescens* were analysed by a hierarchical mixed model analysis using lmer function inside lme4 package, also allowing estimation of variance components by the restricted maximum likelihood (REML) method. For ANOVAs, edaphic group were treated as a fixed factor whereas population nested within group, family nested within population nested within group and sink were treated as random factors. For variance component estimation, edaphic group was punctually treated as random factor. Multiple correlation tests were performed using Pearson method.

3 Results

3.1 Growth parameters and their interactions

At the end of cultivation, that is 49 days after seed germination, *N. caerulescens* and *N. montana* were at the rosette stage whereas *A. thaliana* was at the flowering stage which started after 20 days of cultivation. All plants presented no symptoms of toxicity (e.g. chlorosis). Mean values and coefficients of variation for LDM, RDM, LDM/RDM, LA, LN and RD at the population level are given in (Annexe B Table S1).

From 30.2% to 84.0% of the total variance was unexplained by the studied factors (Table 2). Only LN and the LDM/RDM ratio were not significantly different between groups.

Table 2 : Variance components (%) and p-values from analyses of variance for growth parameters accounted for by sink, edaphic group (group), population within group (pop(group)) and family within population within group (fam{pop(group)}). For analyses of variance, group is considered as a fixed factor whereas sink, pop(group) and fam{pop(group)} are random factors.

Source	LDM ^a	RDM ^b	LDM/RDM	LA ^c	LN ^d	RD ^e
group	19.1 *	16.1 *	1.60 ns	20.8 ***	0.220 ns	25.1**
pop(group)	14.8 ***	1.24 ns	3.94 ns	15.6 ***	24.8 ***	18.1***
fam{pop(group)}	26.4 ***	11.1 *	5.59 ns	25.9 ***	21.6 **	8.15 ns
sink	3.01 *	0.000 ns	3.80 ns	7.36 ns	1.41 ns	7.52 ns
residues	36.5	71.2	84.0	30.2	52.1	73.5

^a Leaf dry matter (g); ^b Root dry matter (g); ^c Leaf area (cm²); ^d Number of leaves from the rosette; ^e Diameter of the rosette (mm)
Percentage of total variance are given for random factors: ns, non-significant; *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001

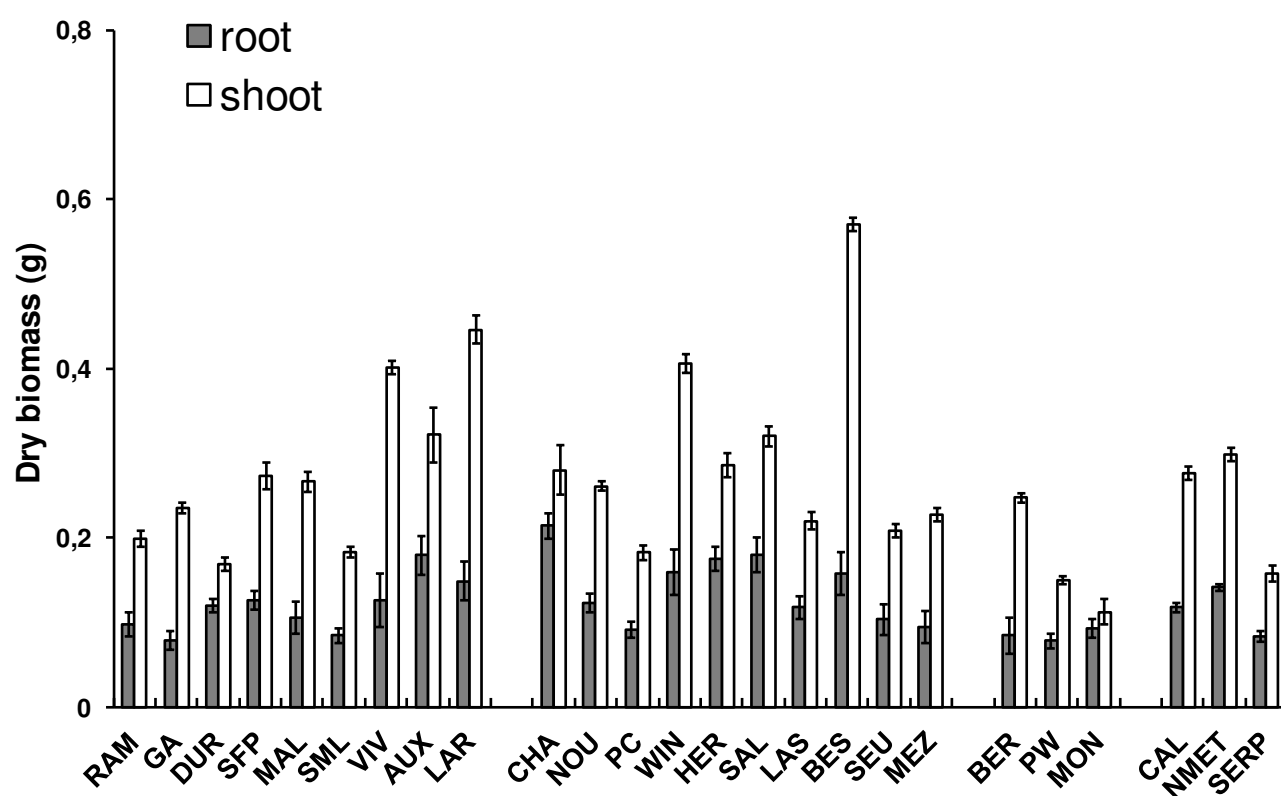


Figure 1 : Roots (grey bars) and shoot (white bars) mean biomass in 22 populations of *Noccaea caerulea* after 49 days of hydroponic cultivation. Mean by edaphic group (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SERP: serpentine). Vertical bars represent standard errors. For population code, see Table 1.

Considering LDM and RDM, mean values showed no significant differences between CAL and NMET whereas SERP exhibited significantly lower mean values by a factor from 1.5 to 1.9 (Figure 1, Table S1). As for dry matter, CAL and NMET showed similar mean LN and LA. Unlike LN, LA was significantly smaller in SERP populations. Finally, mean RD per group varied from 93.4 mm to 132 mm and was significantly different between groups in the order CAL > NMET > SERP. Among populations within groups, the variation factors for both LDM and RDM reached 2.5, 3 and 2 for CAL, NMET and SERP respectively (Annexe B Table S1). Among individuals, LDM and RDM ranged respectively from 32 to 860 mg and from 10 to 873 mg. The highest and lowest total biomasses were found respectively in a non metallicolous (BES) population and a serpentine (MON) one (Figure 1). Populations of LAR and VIV showed the highest LDM and RDM among calamine populations (Figure 1). Within CAL and NMET group, a factor of two was found between maximum and minimum values for LDM/RDM.

Most of the biomass parameters were significantly positively correlated ($p = 0.05$). In order to describe the strongest correlations, only $|r|$ values above 0.57 were taken into account. On this basis, (Annexe B Table S2) shows a very strong positive correlations between LDM and LA ($r > 0.9$), between RD and LA ($0.63 > r > 0.76$), and between LDM and RD ($0.59 < r < 0.73$) whatever the group considered. The LDM/RDM ratio was also strongly negatively correlated ($r < -0.62$) to RDM for NMET and SERP. Lastly, some correlations were observed only in NMET group namely RDM which was positively correlated to LDM and LA ($r = 0.66$).

3.2 Major element contents and their interactions

Considering the concentrations of major elements in the roots and in the shoots of *N. caerulea* and the shoot to root concentration ratio (shoot/root) at the end of the cultivation, between 45.1% (K) and 75.3% (Fe) of the variation was not explained by the

Table 3 : Analysis of variance of major element contents in shoots, root and of translocation factor (shoot/root) and percentage of total variance accounted for by sink, edaphic group (group), population within group (pop(group)) and family within population within group (fam{pop(group)}). For analysis of variance, group is considered as a fixed factor whereas sink, pop(group) and fam{pop(group)} are random factors.

Source	Ca shoot	Ca root	Ca shoot/root	Fe shoot	Fe root	Fe shoot/root	K shoot
group	18.0 ***	0.483 ns	4.08 ns	1.65 ns	3.73 ns	2.31 ns	1.49 ns
pop(group)	3.88 *	0.000 ns	10.2 **	9.19***	3.79 ns	8.42 *	26.6***
fam{pop(group)}	11.7 *	5.61 ns	0.221 ns	20.6***	0.000 ns	0.000 ns	18.7***
sink	0.228 ns	27.2 *	24.3 ***	14.5***	17.7 ***	19.5 ***	8.16***
residues	66.1	66.7	61.2	53.9	75.3	69.7	45.1

Source	K root	K shoot/root	Mg shoot	Mg root	Mg shoot/root	Na shoot	Na root	Na shoot/root
group	2.38 ns	1.90 ns	1.91 ns	1.93 ns	1.59 ns	6.18 *	2.45 ns	5.15 *
pop(group)	7.53 *	7.29 **	16.5***	0.000 ns	8.31***	17.1 ***	0.000 ns	6.15 **
fam{pop(group)}	3.16 ns	6.03 ns	19.2***	2.12 ns	3.89 ns	9.19 *	5.13 ns	9.88 *
sink	15.0 ***	27.3 ***	4.32*	35.1 ***	37.9***	17.5 **	22.7 ***	16.0 ***
residues	71.9	57.4	58.1	62.0	48.3	50.0	69.8	62.7

Percentage of total variance are given for random factors: ns, non-significant; *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001

studied factors (Table 3). The variance component for sink effect was high and significant ($p = 0.05$).

Only Ca and Na contents in shoots showed some significant differences between groups (Annexe B Table S3). Indeed, the CAL group had a significantly lowest mean shoot concentration and translocation factor of Ca than the NMET and SERP ones, the highest values being observed for the SERP group. A quite similar behaviour was found for Na with the CAL and NMET groups showing significantly lower mean shoot concentrations and translocation factors than the SERP one. At the population level, there were significant differences for all major elements when considering their concentrations in shoots and their translocation factors except for the shoot Ca concentration (Table 3). However, population poorly explained the total variance for the root concentrations in major elements as it was significant only for K. At this level, the coefficients of variation for major elements concentrations in shoots and in roots were similar for a given element but differed between elements. These coefficients varied from 7.3% for Ca to 149.0% for Na (Annexe B Table S3). The MON serpentine population showed clearly higher concentrations in major elements than the other populations, with however a high coefficient of variation (Annexe B Table S3). The family also explained an important part of the variance from 9.97% (Na in shoots) to 20.6% (Fe in shoots), except for the concentrations of Ca, Fe, Mg and Na in roots and the translocation factors of Ca, Fe, K and Mg (Table 3).

All major elements except Na were positively correlated between them ($p = 0.05$, Annexe B Table S2). As previously indicated, to better describe the correlations between the major elements in *N. caerulea*, only $|r|$ values above 0.57 have been considered. On this basis, Table S2 showed an increasing number of significant correlations in the order NMET (1:2:2) < CAL (1:5:1) < SERP (9:6:4), with values in parentheses corresponding and in roots and for the translocation factors (shoot/root).

Table 4 : Analysis of variance of trace elements in shoots, root and of translocation factor (shoot/root) and percentage of total variance accounted for by sink, edaphic group (group), population within group (pop(group)) and family within population within group (fam{pop(group)}). For analysis of variance, group is considered as a fixed factor whereas sink, pop(group) and fam{pop(group)} are random factors.

Source	Cd shoot	Cd root	Cd shoot/root	Cu shoot	Cu root	Cu shoot/root	Mn shoot
group	48.5***	31.5***	4.50*	10.1 *	7.27*	22.7 **	59.9***
pop(group)	24.7***	7.39*	16.4***	19.7***	11.6***	15.5 ***	16.6***
fam{pop(group)}	5.70*	7.93*	21.5***	25.6***	3.49NS	0.000 NS	5.26***
sink	2.47*	7.00*	3.85*	8.67***	30.2***	23.2 ***	1.85**
residues	18.7	46.2	53.7	38.9	47.3	38.6	16.7

Source	Mn root	Mn shoot/root	Ni shoot	Ni root	Ni shoot/root	Zn shoot	Zn root	Zn shoot/root
group	12.4*	8.44*	10.6*	2.48*	15.3 **	27.2***	5.88*	31.6***
pop(group)	19.6***	10.9***	47.5***	24.1***	19.6 ***	9.27**	32.7***	25.9***
fam{pop(group)}	1.64NS	6.95NS	13.4***	10.6*	0.000 NS	19.3***	4.98NS	4.56NS
sink	15.9***	22.8***	6.47***	9.09***	6.72 **	1.31NS	3.59NS	0.426NS
residues	50.3	51.4	21.9	53.6	58.3	42.8	52.8	37.5

Percentage of total variance are given for random factors: ns, non-significant; *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001

The most significant correlations were thus found in roots of the CAL group and in shoots of the SERP group. Moreover, the strength of the correlations decreased in the order SERP > CAL > NMET. For instance the correlation between Ca and Mg was the only found for all groups and all parameters with the correlation coefficient ranges: 0.75-0.95 for SERP, 0.81-0.83 for CAL and 0.57-0.80 for NMET.

3.3 Trace element contents and their interactions

Considering the concentrations of trace elements in the roots and in the shoots of *N. caerulea* as well as the shoot/root ratios, between 18.7% (Cd in shoot) and 58.3% (Ni shoot/root) of the variation was not explained by the studied factors (Table 4). The sink component of the variance was significant for all trace elements, except for Zn, but lower than that found for major elements. It accounted from 1.85% (Mn in shoot) to 30.2% (Cu in roots) of the total variance with values systematically higher for roots than for shoots. The three main factors (group, population, family) represented from 22.3% (for Cu in roots) to 78.9% (for Cd in shoots) of the total variance (Table 4). If group and population factors were significant for all trace elements and parameters, this was not the case for the family component which was not significant for Mn and Zn in roots and Cu, Mn, Ni and Zn translocation factors. With 0.113 mmol kg⁻¹ on average (Annexe B Table S4), Cu was not accumulated in the shoots of *N. caerulea*. Considering the new threshold value for Cu hyperaccumulation (4.72 mmol kg⁻¹; van der Ent et al., 2013), all populations had Cu concentrations in shoots from 30 to 67 times below. However, significant differences were found at the group level, the NMET group having Cu concentrations lower in shoots but higher in roots than the two others.

Concerning Cd, mean shoot concentrations exceeded the hyperaccumulation threshold (Van der Ent *et al.* 2013) in all *N. caerulea* populations and in *A. thaliana*.

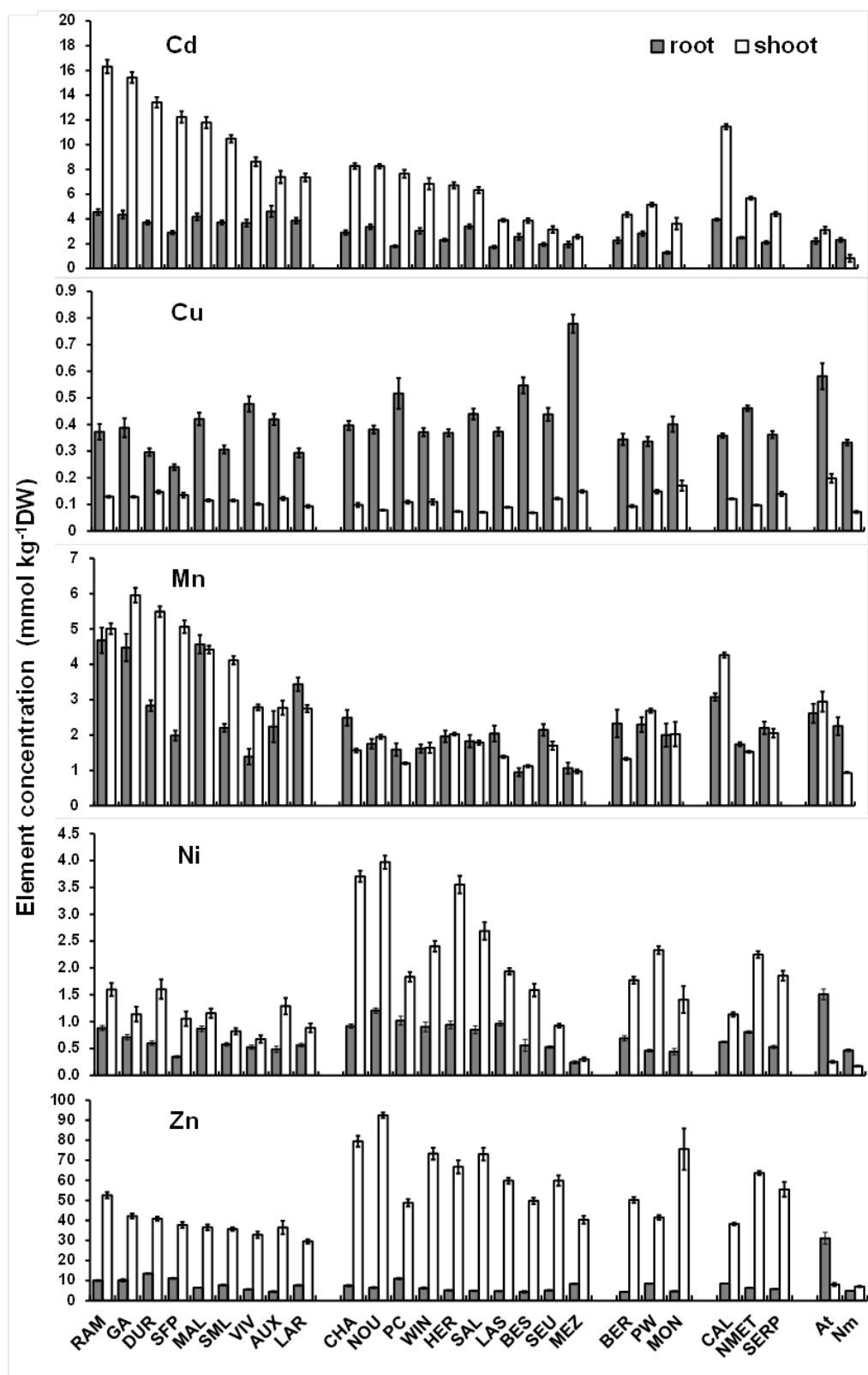


Figure 2 : Cadmium, Cu, Mn, Ni and Zn mean concentrations in roots (grey bars) and shoot (white bars) in 22 populations of *Nocca caerulea* after 49 days of hydroponic cultivation. Mean by edaphic group (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SERP: serpentine) and control plant (At: *Arabidopsis thaliana* Col-0; Nm: *N. montana*). Vertical bars represent standard errors. For population code, see Table 1.

Significant differences were observed between groups with increasing mean Cd concentrations as followed (Figure 2, Annexe B Table S4): SERP (4.4 mmol kg^{-1}) < NMET (5.7 mmol kg^{-1}) < CAL ($11.5 \text{ mmol kg}^{-1}$). A similar pattern was observed for Cd concentrations in roots. Furthermore, Cd concentrations in shoots appeared as a continuum among populations with six populations from the NMET group showing Cd concentrations close to those of the three lowest CAL populations (Cd range: 6 to 9 mmol kg^{-1} , Figure 2). The variation factors for Cd concentrations in shoots reached 6.4 among populations and 2.2, 3.2 and 1.4 within group for CAL, NMET and SERP respectively.

Manganese concentrations in shoots and roots showed the same pattern than Cd. The Mn concentrations in shoots were more than twice higher in CAL group ($4.26 \text{ mmol kg}^{-1}$) than in NMET ($1.53 \text{ mmol kg}^{-1}$) and SERP ($2.06 \text{ mmol kg}^{-1}$). The variation factor for Mn concentrations in shoots was similar to that observed for Cd. It reached 6.4 among populations and about 2 within group whatever the group considered. Concerning the control *A. thaliana*, shoot Mn concentrations were between those of CAL and NMET (Figure 2).

For Zn concentrations in shoots, twelve populations exceeded the hyperaccumulation threshold (46 mmol kg^{-1}), including nine NMET and two SERP (BER and MON) populations (Figure 2, Annexe B Table S4). Significant differences were observed between groups with increasing mean Zn concentrations in shoots as followed: CAL ($38.2 \text{ mmol kg}^{-1}$) < SERP ($55.5 \text{ mmol kg}^{-1}$) < NMET ($63.7 \text{ mmol kg}^{-1}$). An opposite trend was observed for Zn concentrations in roots, the CAL group having a significantly higher value than those of NMET and SERP which were close together (Annexe B Table S4).

Finally, with $1.73 \text{ mmol kg}^{-1}$ in mean in the shoots, no populations of *N. caerulea* reached the hyperaccumulation threshold for Ni (17 mmol kg^{-1}). Significant differences were observed at the group level, with increasing Ni concentrations in shoots as followed: CAL ($1.13 \text{ mmol kg}^{-1}$) < SERP ($1.86 \text{ mmol kg}^{-1}$) $\leq$ NMET ($2.25 \text{ mmol kg}^{-1}$). Thus, three NMET

populations showed higher Ni shoot concentration than PW, a typical SERP population (Figure 2, Annexe B Table S4). Some CAL and other NMET populations also showed similar Ni concentrations than the two SERP populations BER and MON. In the roots, the concentrations of Ni were relatively close for the three groups. However, Ni root concentration was higher for NMET than that of SERP, the CAL group being intermediate (Table S4).

All populations of *N. caerulea* presented Cd, Ni and Zn translocation factors greater than 1, consistently with one of the hyperaccumulation criterions (Figure 2, Annexe B Table S4). All populations combined, the mean values reached 3 for Cd and Ni and 13 for Zn. For Cu, an inverse pattern was found with concentrations in roots about three times higher than those in shoots whereas concentrations in shoots and in roots were close for Mn. Even if *A. thaliana* is not an hyperaccumulator, it exhibited a translocation factor of 2.29 for Cd and < 1 for Zn. Inversely, *N. montana* showed a translocation factor < 1 for Cd and of 1.60 for Zn. At the group level, the translocation factors of Cd, Mn and Zn were significantly greater in CAL than in NMET and SERP for which it was similar (Annexe B Table S4). For Ni, the translocation factor significantly increased from 2.1 to 5.9 in the order CAL $<$ NMET $<$ SERP. In the case of Cu, the lowest translocation factor was found in NMET while it was similar for CAL and SERP.

Correlations between trace elements varied widely between groups (Table S2). When considering only $|r|$ values above 0.57, there was an increasing number of significant correlations in the order NMET (4:0:0) $<$ CAL (5:0:0) $<$ SERP (9:9:1), with values in parentheses corresponding respectively to the number of correlations for the concentrations of trace elements in shoots and in roots and for the translocation factors. In opposition with major elements, the most significant correlations were found in shoots whatever the group. Moreover, similarly to that we observed with major elements, the strength of the correlations

were higher in SERP group. This group had a particular behaviour as all elements were strongly correlated both in the shoots and in the roots. In the shoots, three strong positive correlations were found for all groups: Cd/Mn ($0.56 < r < 0.86$), Mn/Ni ($0.58 < r < 0.88$) and Ni/Zn ($0.63 < r < 0.69$). Three other weaker correlations were also outstanding: Cd/Ni ($0.46 < r < 0.85$), Cd/Zn ($0.50 < r < 0.81$) and Mn/Zn ($0.41 < r < 0.77$).

Ratios between elements in shoots presented high coefficients of variation at group (from 37.9% to 47.3%) and population levels (from 9.3% to 127.0%; Annexe B Table S5). All *N. caerulea* plants showed on average higher trace element ratios in shoots than those of the hydroponic solution, except for Zn/Cd ratio which was the same in shoot than in nutrient solution (Annexe B Table S5). CAL group showed lower Zn/Cd and Zn/Mn ratios and higher Cd/Ni and Mn/Ni ratios (by a factor of about four) than SERP and NMET groups which presented similar values. Only Cd/Mn and Ni/Zn ratios did not vary between groups.

Correlations between growth parameters and element contents

When considering the relationships between trace and major elements in the shoots and the biomass production, a general trend in negative correlations was observed whatever the element and the growth parameter considered (Annexe B Table S2). Although mostly weak, the strength of the correlations was higher for major elements than for trace elements. Only K in CAL and NMET groups and Cu in SERP group were strongly correlated with LDM ($|r| > 0.57$). In the roots, the significant correlations between dry matter and element content were also negative. They were closer in the roots of SERP than in those of the two other groups (Annexe B Table S2).

Table 5: Analysis of variance of the sum of cations and percentage of total variance accounted for by sink, edaphic group (group), population within group (pop(group)) and family within population within group (fam{pop(group)}). For analysis of variance, group is considered as a fixed factor whereas sink, pop(group) and fam{pop(group)} are random factors.

Source	Sum of cations	Sum of major cations	Sum of trace cations
group	4.33*	4.34*	6.87*
pop(eco)	8.52***	8.29***	21.1***
fam{pop(group)}	13.6***	13.50**	17.5***
sink	4.80*	4.96*	3.19
residues	68.7	68.8	51.4

Percentage of total variance are given for random factors: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Correlations between major and trace elements

The correlations between trace and major elements were different considering the group and the plant part (Annexe B Table S2). As a general trend, a decrease in the strength of correlations was observed whatever the element considered both at the group (SERP > CAL > NMET) and the plant part (shoots > roots) levels. In SERP group, the trace element concentrations in shoots were strongly positively correlated (*i.e.* $|r| > 0.57$) with those of all the measured major elements except Na. In CAL group, trace elements (Cd, Cu, Ni, Zn) concentrations in shoots were significantly, positively but loosely correlated with those of Ca, K and Mg (Annexe B Table S2). Only three close correlations (*i.e.* $|r| > 0.57$) were found in CAL shoots: Mn/Ca, Cu/Fe and Mn/K. In NMET, the only relevant correlation was Zn/Ca. Furthermore, even if the correlations were weak, Fe and Na appeared negatively correlated with Cd, Mn, Ni and Zn but positively correlated with Cu in the shoots of NMET and CAL groups. A similar pattern was observed in the roots.

Sum and proportions of cations

Sum of cations concentrations in whole plant differed between groups, populations and families and also between the three species (Table 5, Annexe B Table S6). Plant from the SERP populations showed a higher cations content than the two other groups, which were not significantly different on this point. The same ranking could be made when comparing the major cation contents, while NMET population appeared to accumulate more trace cations than CAL populations, the SERP ones being intermediate (Annexe B Table S6).

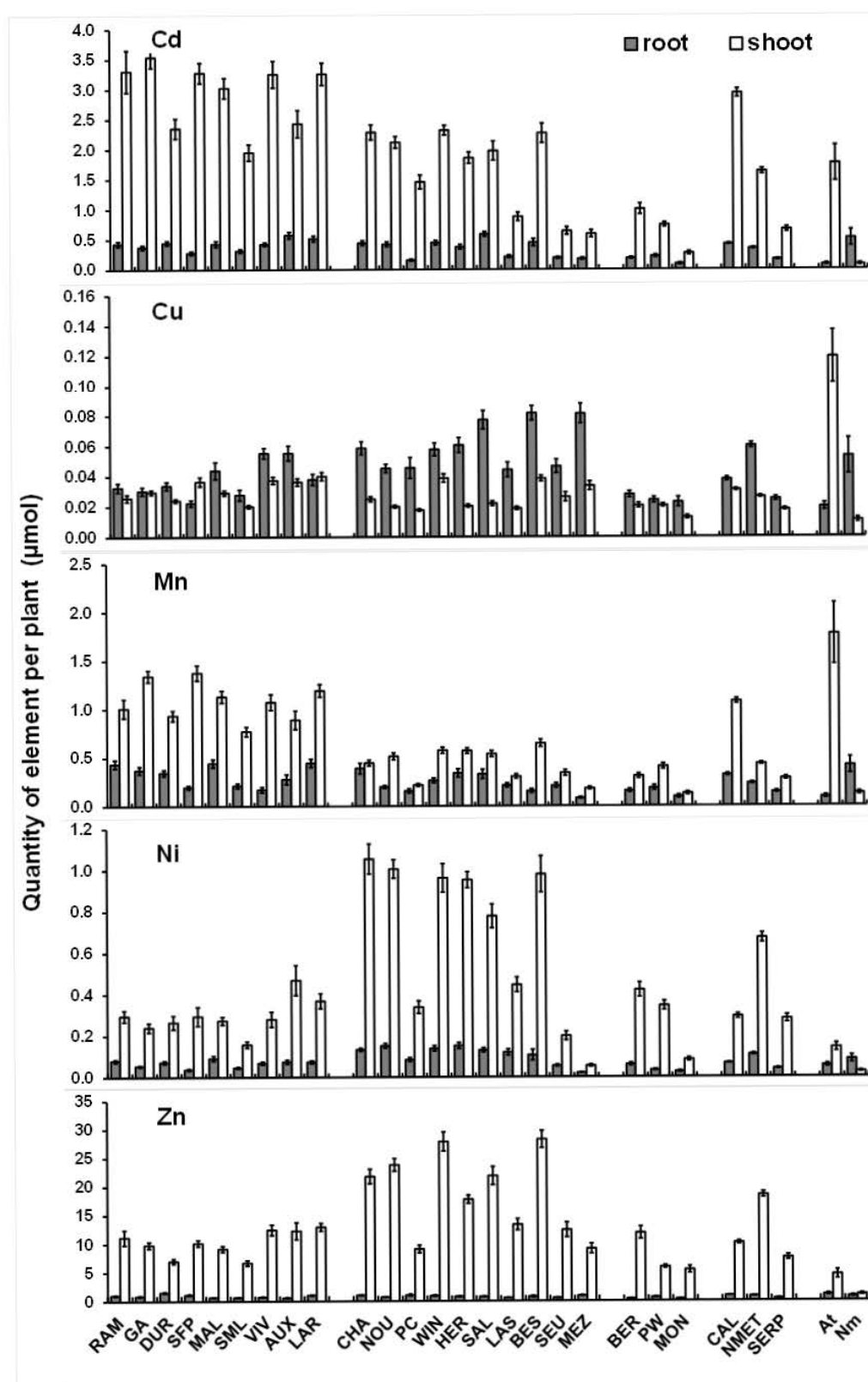


Figure 3 : Cadmium, Cu, Mn, Ni and Zn mean quantities in roots (grey bars) and shoot (white bars) in 22 populations of *Nocca caerulea* after 49 days of hydroponic cultivation. Mean by edaphic group (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SERP: serpentine) and control plant (At: *Arabidopsis thaliana* Col-0; Nm: *N. montana*). Vertical bars represent standard errors. For population code, see Table 1.

Major elements represented from 97.5% to 98.0% of the whole plant cation content in the three edaphic groups. In the shoots, values were slightly lower (96.4% to 97.1%), because of much lower Fe concentrations than in the roots. The variation of the Ca proportion was compensated by that of K, the proportions of the other major cations (Fe, Mg, Na) being poorly variable between groups. This was particularly visible in the CAL group, which had the lower Ca proportion (Annexe B Table S7).

The proportion of trace elements was very low compared to that of the major elements, as it varied between 1.97% (SERP) to 2.55% (NMET) for the whole plant. However, it was higher in *N. caerulea* than in *A. thaliana* (1.05%) and *N. montana* (0.66%).

Quantity of trace elements taken up

The quantities of Cd, Cu and Mn accumulated (concentration x dry matter) decreased significantly in the order CAL > NMET > SERP whereas Ni and Zn amounts were significantly higher in NMET group compared to CAL and SERP which had similar values (Fig. 3, Table S8 in Supplementary material). Six CAL populations showed the greatest quantities of Cd in shoots. This was explained either by a high biomass production for VIV and LAR populations or a high shoot concentration for RAM, GA, MAL and SML. Then, similar quantities were observed in the other CAL populations and the six NMET populations with the highest Cd uptake (Figure 3). These NMET populations also took up the highest Ni and Zn quantities. On the opposite, two NMET populations, SEU and MEZ, geographically very close, extracted the lowest quantity for all elements (Supplementary Material, Table S8). Lastly, two serpentine populations showed similar Ni quantities but with opposite behaviour *i.e.* one by producing higher biomass (BER) and the other by a higher shoot Ni concentration (PW).

4- Discussion

4.1 Particular phenotypic characteristics observed in groups and populations

Our results showed a high variability in the biomass production and elemental composition of the *N. caerulea* individual plants, characterizing a genetically variable species. Nevertheless, all the inter-individual variability was not explained by our analyses as often more than 50% of the phenotypic variability remained unexplained.

The *N. caerulea* populations of the SERP group had lower shoot and root dry matter, and smaller leaf surface area and rosette diameter compared to the two other groups. CAL and NMET groups were not clearly different in terms of biomass production. This might be a trait of the SERP populations, which generally show small plants in the field. SERP populations also exhibited the highest cation contents, while they were similar in the CAL and NMET populations. What differed the most between the groups were the number and the strength of positive correlations between major element contents: the SERP populations clearly showed many strongly positive correlations between major and trace element contents in roots and shoots and also between shoot/root concentration ratios. These characteristics may evidence the particular homeostasis of these populations which grow in soil with lower cations contents and Ca/Mg ratio compared to the other soils (Brady *et al.* 2005; Kazakou *et al.* 2008). It can be hypothesised that these plants have adapted to the nutritionally poor serpentine soil by increasing their cation uptake, allocating more energy to cation absorption (see below) and eventually detoxification. As it is well established that the energy cost of ion uptake is high (Tinker et Nye 2000), the supplementary uptake of cations could cause a decrease of photosynthetic assimilates allocation to the growth.

In addition, Cd concentration in roots and shoots clearly discriminated the groups, as it increased according the following order: SERP < NMET < CAL. This result was also found in previous studies, but with higher Cd concentrations in solutions (Roosens *et al.* 2003). However, if Cd content appeared clearly higher in the CAL populations than in the populations of the two other groups, this was not due to all the CAL populations. Indeed, only few of them showed such high affinity for Cd, mainly Ganges (GA) population and the other geographically close populations (RAM, DUR, SFP, MAL, SML). CAL populations more distant from Ganges (VIV, AUX, LAR) accumulated Cd at the same level than the NMET did. These results confirm the specific trait of *N. caerulescens* from the Ganges region which had already been observed (Escarré *et al.* 2000, 2013; Roosens *et al.* 2003). Manganese contents varied in a similar way to that of Cd, the CAL populations showing much higher Mn contents than the NMET and the SERP ones.

The NMET populations showed the highest Ni contents and were followed by the SERP and CAL populations, even though no population exceeded the Ni hyperaccumulation threshold (17 mmol kg^{-1}), probably because of a too low Ni content in the nutrient soil solution ($0.7 \text{ }\mu\text{M}$). The hyperaccumulation of Ni by populations from serpentine soils is well known (Assunção *et al.* 2008; Escarré *et al.* 2013) but this work shows for the first time that NMET populations can accumulate more Ni than the SERP ones. It is a surprising result, as in the field (Reeves *et al.* 2001; Visioli *et al.* 2011) and in pot experiments (Assunção *et al.* 2003; Escarré *et al.* 2013), SERP populations always showed the highest Ni shoots concentrations. Studying Cd, Ni and Zn interactions with different ratios in hydroponics solutions on shoots trace elements accumulation in four populations including two CAL and one NMET and SERP, (Assunção *et al.* 2008) showed that Cd and Zn in solution inhibited shoots Ni accumulation in each three edaphic group, except in the calamine population from La Calamine (Belgium). These results suggest that root absorption is controlled by a low-

affinity transport system with Cd and Zn preference over Ni. It seems that in our results, the competition between Cd, Zn and Ni for root absorption is weaker in the NMET populations than in the two other groups.

Zinc content also enabled a clear discrimination between the three groups: CAL populations had lower Zn contents in shoots than SERP and NMET, while it was the contrary in roots. A majority of the NMET populations exceeded the recently suggested hyperaccumulation threshold ($3\,000\text{ mg kg}^{-1}$, *i.e.* 46 mmol kg^{-1}) (Van der Ent *et al.* 2013) as well as two serpentines populations. These results were consistent with the high shoot concentrations measured *in situ*, mainly in NMET accessions growing in uncontaminated soils, with low Zn concentrations in soil solution (Basic *et al.* 2006a)

4.2 Interactions among major and trace elements

In the SERP group, trace element concentrations in shoots were strongly positively correlated with those of all the measured major elements except Na. It is not conceivable that the different cations are taken up by a unique poorly selective transporter. Therefore, these correlations suggest that SERP populations demonstrate a stronger sink for all cations, although they have more or less specific transport systems for each of them. This sink could result from an increase of the activity of proton pumps, particularly of the plasma membrane bound H^+ -ATPase which is responsible for the electrochemical gradient which drives root absorption and vacuolization of most of the cations. Other ATPase are involved in cation uptake, such as HMA4 which leading to efficient efflux of Zn from symplasm (Verbruggen *et al.* 2009). Inorganic pyrophosphatase (PPIase), which extrudes protons in the vacuoles, is also responsible for vacuolization, while the redox pump (NAD(P)oxidase) causes the reduction of Fe(III) and the absorption of Fe(II) (Marschner, 1995). It can be hypothesized that in the SERP populations, the plants allocate more energy (*i.e.* ATP, PPi or NAD(P)H) to the roots,

to accelerate the activity of the proton and redox pumps and consequently the absorption, vacuolization and translocation of the various elements altogether.

In CAL group, trace elements (Cd, Cu, Ni, Zn) concentrations in shoots were loosely correlated with those of Ca, K and Mg (Annexe B Table S2). Only three close correlations were found in CAL shoots: Mn vs Ca, Cu vs Fe and Mn vs K. They indicate that, apart the specific transport system (*e.g.* ZIP, CAX, NRAMP transport systems), the trace metals might enter *N. caerulea* taking the route of several major cations, which might be more or less specific according to the population. In NMET, the only relevant correlation was Zn vs Ca, which suggests that Zn should take the Ca pathway to accumulate in the plant (Cheng *et al.* 2002; 2005). Furthermore, even if the correlations were weak, Fe and Na appeared negatively correlated with Cd, Mn, Ni and Zn, which indicates that transporter(s) of Fe and Zn would also carry the listed trace elements but with a lower affinity.

4.3 Which populations for phytoextraction?

N. caerulea is one of the plants which could be used for phytoextraction of Cd in moderately contaminated soils (Schwartz *et al.* 2003; Zhao *et al.* 2003; Maxted *et al.* 2007). In this purpose and based on the results obtained here, the CAL populations are the best candidates as they should extract more Cd than the others due to concentrations and/or biomasses among the highest. More particularly, the Ganges population, which shows Cd contents among the highest, has also the advantage of being highly tolerant to Cd and Zn (Assunção *et al.* 2003) allowing thus its use in more toxic soils. However, the use of NMET populations in phytoremediation strategy should not be excluded as some of them can extract high amounts of Zn while others can accumulate more Ni than the SERP populations. Some NMET populations can extract simultaneously significant amounts of Cd, Ni and Zn and this could be an advantage in case of polymetallic soil contamination, with purposes of economic metal valorisation (phytomining). Moreover, NMET populations might be cultivated in

climate and soil conditions for which the CAL populations from Southern France would not be well adapted to.

However, as shown by (Escarré *et al.* 2013), hydroponics cultivation might give different results than soil cultivation. As a consequence, the results found here have to be verified in soils, with in mind the hypotheses that they could be affected by the ratios between elements in the rhizosphere solution, particularly in the case of Ni and Zn.

Our results showed negative correlations between shoot or root biomass and cation contents. They indicate a trade-off between carbon fixation and cation accumulation, which can be explained by the energetic cost of cation uptake (see above). This trade-off is an obstacle for a plant breeding strategy aiming at creating a cultivar with an elevated production of trace metal highly enriched biomass. However, these correlations are loose ($r < 0.25$) and often non-significant for Cd, Ni and Zn in the shoots of the CAL and NMET populations, which indicate possibilities for associating in a cultivar a high biomass yield with a high accumulation ability.

5- Conclusions

Hydroponics enabled a characterisation of the dry matter production and the cationic composition of 22 populations of *N. caerulea*, with a control of the concentrations in solution which made the exposure to trace metals realistic. The edaphic groups explained only a minor part of the high inter-individual variability. The latter suggest a high genetic variability of the species, favouring its adaptation to different environments. However, this work showed that in term of biomass production as well as in cationic composition, the populations from ultramafic soils had a particular feature, suggesting a homeostasis adapted to their particular natural environment. It also showed for the first time that the populations from non metalliferous soils accumulated more Ni than those from Ni naturally enriched soils, when moderately exposed to this metal.

The correlations between element contents suggest a link between Cd and Mn accumulation in CAL and SERP populations, as well as between Ni and Zn in all populations. They also show that trace element uptake could also be a function of major element uptake, depending on the populations considered. The high accumulation of Cd of some populations from the calamine soils, particularly in the area of Ganges, confirms the potential of *N. caerulescens* for the production of phytoextraction cultivars. The high genotypic variability of the species and the low trade-off between dry matter production and Cd, Ni or Zn accumulation could be used to combine the traits favourable to the remediation of contaminated soils.

Chapitre 4- Structure génétique de

***Noccaea caerulescens* à l'ouest de son**

aire de répartition

Noccaea caerulescens est la principale Brassicacée hyperaccumulatrice de Cd, Ni et Zn, candidate pour la phytoremédiation des sols contaminés. La distribution de l'espèce se caractérise par une importante hétérogénéité environnementale, notamment pour la nature des sols. Par ailleurs des variations quantitatives importantes des capacités d'accumulation existent entre les populations (chapitre 2 et 3). Afin de progresser dans la compréhension des facteurs expliquant la distribution actuelle de la variation quantitative entre les populations, nous avons étudié leurs relations génétiques et démographiques. Un échantillonnage de 62 stations a été réalisé dans six massifs montagneux d'Europe de l'Ouest. L'analyse de la diversité génétique neutre a été effectuée à l'aide de 16 marqueurs de polymorphisme SNP chloroplastiques et 12 marqueurs microsatellites nucléaires. Les groupes génétiques déterminés par deux méthodes de regroupement différentes montrent trois zones géographiques fortement différenciées, sans cohérence avec le type édaphique. Différents scénarios explorant les relations démographiques entre les trois groupes génétiques ont été testés par analyse ABC. Les résultats suggèrent une première séparation isolant les populations du Sud de la France après le dernier maximum glaciaire et une seconde séparation, plus récente, isolant les populations du Nord.

1 Introduction

La biogéographie est l'étude de la distribution des espèces et de leur évolution dans l'espace et dans le temps (Ball 1975). Son objectif est de révéler les influences des facteurs géographiques (distance, relief, discontinuité, etc.), environnementaux (température, précipitation, etc.), historiques (dérive des continents, changements globaux, spéciation, extinction) dans la distribution de la biodiversité (Crisp *et al.* 2011). On considère ainsi que la distribution actuelle d'une espèce traduit non seulement ses préférences écologiques (niche écologique, correspondant aux interactions biotiques et abiotiques) mais aussi l'histoire évolutive de ses populations. Au niveau intraspécifique, l'étude biogéographique consiste généralement à analyser soit la distribution spatiale des variations des phénotypes mesurées sur divers traits écologiques (écogéographie), soit la structuration des polymorphismes moléculaires existant à divers locus génomiques (génétique des populations et phylogéographie) (Avice, 2000). Les deux approches permettent de définir des unités à l'intérieur des espèces. L'analyse des variations pour des traits écologiques permet par exemple la définition de sous-espèces morphologiques ou d'écotypes. L'analyse de la distribution des polymorphismes moléculaires permet d'identifier des unités génétiques différenciées pouvant traduire des histoires évolutives différentes. Cela passe par l'utilisation d'outils de génotypage moléculaire pour déterminer la structure génétique des populations.

L'origine des différences génétiques existant entre populations est variable. Deux principaux marqueurs, permettant d'étudier différents niveaux de l'histoire démographique sont préférentiellement choisis : les marqueurs obtenus à partir de l'ADN des organites (mitochondrie ou chloroplaste) reflétant plutôt les événements d'origines anciennes et les microsatellites nucléaires, dont la dynamique mutationnelle est plus rapide, qui sont plus variables reflétant plutôt des événements origines plus récentes, voire contemporaines (Selkoe *et al.* 2006). Lorsque les différences sont observées à partir de marqueurs moléculaires

neutres, permettant d'analyser la diversité génétique de locus non soumis à sélection, elles ne devraient refléter que l'histoire démographique des populations et l'action de processus neutres comme la dérive génétique, les flux géniques et les mutations (Stevens et al., 2006). Il est alors souvent difficile de déterminer chronologiquement les événements conduisant à la structure génétique contemporaine. Depuis la fin des années 1980, la phylogéographie propose pour cela d'ajouter à l'analyse classique, en génétique des populations, de la distribution de la diversité génétique à divers locus, l'analyse des relations généalogiques entre variants alléliques détectés, souvent sur des locus de génomes cytoplasmiques (Avice 1987). L'hypothèse majeure est qu'une correspondance entre la structuration spatiale de la diversité génétique et des relations généalogiques entre allèles doit refléter des événements démographiques anciens et durables comme un isolement génétique par vicariance (Avice 2000). Plus récemment, l'utilisation de méthodes inspirées de la statistique bayésienne s'est révélée être une démarche puissante pour retracer l'histoire démographique des populations avec l'approximation des tailles efficaces des populations, des temps de divergence entre populations et des scénarios sur la généalogie des populations (Beaumont *et al.* 2002; Csillery *et al.* 2010; Girod *et al.* 2011). Dans une analyse ABC (Approximate Bayesian Computation), par exemple, différents scénarios démographiques représentant différentes hypothèses évolutives sur les populations sont proposés *a priori*. Des variables résumées issues des données de génotypage moléculaire sont utilisées pour discriminer les différents scénarios selon une succession d'étapes décrite dans (Excoffier *et al.* 2005) et généralisée dans (Bertorelle *et al.* 2010). Un scénario présentant une probabilité postérieure non chevauchante avec celles des autres scénarios est retenu comme étant le plus probable parmi ceux testés. Les paramètres démographiques définissant ce scénario (taille des populations, temps de divergence, taux de mutation, etc.) sont alors estimés *a posteriori*.

Etonnamment, peu d'études confrontent les connaissances écogéographiques sur la distribution en populations de la variation pour des traits phénotypiques avec des connaissances sur les relations génétiques et démographiques entre ces populations. Cela devrait pourtant permettre de mieux comprendre l'histoire évolutive des traits étudiés au sein des populations (mais voir, par exemple, (Barrette *et al.* 2009). En montrant par exemple que des populations phénotypiquement proches sont génétiquement très connectées ou partagent une même histoire démographique récente, ceci suggérerait que la proximité phénotypique traduit une origine commune. En montrant, au contraire que des populations très divergentes sont phénotypiquement semblables lorsque leurs environnements sont similaires, ce qui soutiendrait l'hypothèse d'évolution adaptatif indépendante mais convergente.

Ces questions sont particulièrement soulevées par les espèces végétales pseudo-métallophytes, qui présentent une mosaïque d'habitats avec des milieux métallifères et non métallifères. Ainsi, les pseudo-métallophytes ont fortement intéressé les scientifiques d'un point de vue de l'adaptation de la tolérance au milieu métallifère (Antonovics *et al.* 1971). En effet, les fortes concentrations en ET sont généralement considérées comme une pression de sélection que seuls certains génotypes sont capables de tolérer (Antonovics *et al.* 1971). En conséquence, la colonisation des milieux métallifères s'accompagne généralement de la sélection de génotypes tolérants et/ou hyperaccumulateurs dans ces habitats. Lors de la colonisation des milieux métallifères, Lefèvre et Vernet, (1990) prédisent un effet de fondation et donc une diminution de la diversité génétique par rapport aux populations sur sites non métallifères. La comparaison des populations métallicoles et non-métallicoles d'espèces pseudo-métallophytes montrent généralement une ressemblance phénotypique en adéquation avec le type édaphique, suggérant l'existence de deux écotypes distincts. Cependant, la question demeure souvent de savoir si les deux écotypes forment effectivement des groupes monophylétiques de populations présentant une ancestralité commune

relativement récente ou si au contraire la proximité phénotypique résulte de la convergence adaptative de populations génétiquement divergentes mais évoluant dans un environnement semblable.

Les espèces pseudo-métallophytes peuvent se distinguer selon la distribution des génotypes tolérants vis-à-vis des milieux (Pauwels *et al.* en préparation; Pollard *et al.* 2002, 2014). Trois cas sont décrits, avec (i) des pseudo-métallophytes ‘electives’ très répandus sur des milieux métallifères avec des génotypes tolérants en ET ainsi que des génotypes non tolérants et peu abondants hors milieux métallifères, (ii) des pseudo-métallophytes ‘accidentels’ avec des génotypes tolérants occasionnellement retrouvés sur milieux métallifères alors que la majorité des génotypes sont répandus et communs en milieux non métallifères et (iii) des pseudo-métallophytes ‘indifférents’ avec une abondance relativement similaire dans les milieux métallifères et non métallifères (Pollard *et al.* 2014).

Noccaea caerulescens est une pseudo-métallophyte modèle typique du dernier cas décrit précédemment (pseudo-métallophyte ‘indifférente’), hyperaccumulatrice de Cd, Ni et Zn. Elle est présente en Europe de l’ouest avec la majorité des stations connues à ce jour (Reeves *et al.* 2001; Molitor *et al.* 2005; Besnard *et al.* 2009) ; chapitre 2). Cette zone présente des différences marquées au niveau des sols avec des types édaphiques calaminaires, non minières et de serpentines. En Europe de l’Est, l’espèce est principalement trouvée en République Tchèque, Autriche, Slovaquie (Peer *et al.* 2006; Banasova *et al.* 2008; Koch *et al.* 2013).

Au niveau génétique, peu d’informations sont disponibles sur l’origine de *N. caerulescens*. Sur la base des différences de séquences au niveau de l’ITS (*Internal Transcribed Spacer* de l’ADN ribosomique) et de l’horloge moléculaire, la divergence de l’espèce avec *Noccaea praecox* (une espèce sœur) est estimée à 1,2 Ma durant le Pléistocène (Likar *et al.* 2010; Koch *et al.* 2013). Malgré des différences d’hyperaccumulation (chapitre 3) et des caractéristiques édaphiques contrastés (chapitre 2), les critères morphologiques ne distinguent pas les deux

groupes métallifères et non métallifères. Avec la révision systématique et sur l'absence de différenciation morphologique, certains auteurs proposent d'abandonner les sous-espèces *ssp calaminare* et *ssp caerulescens* en lien avec les milieux métallifères et non métallifères respectivement où l'espèce est retrouvée. La taxonomie proposée et recommandée par Meyer (2006) et reprise par (Koch *et al.* 2013) est la suivante : *N. caerulescens* subsp. *caerulescens* pour les stations d'Europe de l'Est et les stations ayant récemment colonisées la Scandinavie et *Noccaea caerulescens* subsp. *sylvestris* pour les stations d'Europe de l'Ouest ainsi que les stations de Grande-Bretagne. Ces résultats sont confirmés par une analyse phylogéographique en cours suggérant, l'existence de deux unités vicariantes (est vs ouest) dont les limites semblent correspondre aux deux sous espèces (Noret et al., in prep). Cette analyse est réalisée à partir de marqueurs chloroplastiques communs à cette étude.

L'analyse de la structure génétique neutre ici se focalise sur l'unité ouest chez *Noccaea caerulescens* cherchant à répondre aux questions suivantes :

- Comment se structurent les populations à l'échelle de cette unité ?
- Les types édaphiques discriminent-ils la structure génétique neutre ?
- Y-a-t'il eu un ou plusieurs événements de fondation ?
- Les populations calaminaires ou de serpentines sont-elles ancestrales ou dérivées ?

Tableau 1: Localisation, description et diversité génétique des 62 stations de *N. caeruleus*. Altitude en mètres, HE : hétérozygotie attendue ; Ar : richesse allélique, FIS : indice de fixation. Les indices c et n renvoient aux génomes chloroplastique et nucléaire, respectivement.

Pays	Region	Code	Station	Coordonnées	Altitude	TE	n	He _c	Ar _c	He _n	Ar _n	Fis
Belgique	Ardennes	B02	Angleur	50°36'44.61"N 05°36'38.74"E	65	CAL	25	0,558	2,54	0,555	2,78	0,379
Belgique	Ardennes	B03	La calamine	50°41'44.20"N 05°59'39.40"E	207	CAL	16	0,221	1,896	0,402	2,35	0,515
Luxembourg	Ardennes	L02	Wilwerwiltz	49°59'28.52"N 05°59'39.68"E	300	NMET	18	0	1	0,374	2,19	0,582
France	Jura	F65	Mouthe	46°40'17.31"N 06°12'20.25"E	1160	NMET	24	0	1	0,239	1,69	0,409
France	Jura	F66	Le Cernois	46°39'11.81"N 06°07'59.79"E	1121	NMET	24	0	1	0,308	2,18	0,036
France	Jura	F67	Prémanon	46°27'38.18"N 06°00'50.25"E	1071	NMET	16	0	1	0,408	2,48	0,245
France	Jura	F68	Sepmoncel	46°22'31.05"N 05°54'27.66"E	1017	NMET	16	0	1	0,465	2,67	0,271
France	Jura	F69	Bellecombe	46°18'46.54"N 05°54'24.76"E	1259	NMET	24	0	1	0,352	2,48	0,487
France	Jura	F70	Lajoux	46°22'39.70"N 05°57'52.75"E	1173	NMET	24	0	1	0,461	2,93	0,292
Suisse	Jura	Sw02 *	Col de Marchairuz	46°32'26.84"N 06°15'20.94"E	1334	NMET	16	0	1	0,015	1,06	0
Suisse	Jura	Sw06 *	Suchet	46°45'04.56"N 06°26'29.19"E	1223	NMET	16	0	1	0,415	2,6	0,620
Suisse	Jura	Sw15 *	Ulrichen	46°30'14.11"N 08°19'11.68"E	1424	NMET	16	0,325	1,98	0,435	2,45	0,628
France	MC	F05	Auxy	46°57'44.13"N 04°23'47.05"E	500	CAL	16	0	1	0,279	2,19	0,409
France	MC	F13	Pierre-Perthuis	47°26'12.63"N 03°46'59.42"E	240	NMET	18	0	1	0,413	2,26	0,522
France	MC	F23	Cusset	46°06'35.70"N 03°29'06.60"E	341	NMET	24	0,344	1,98	0,363	2,12	0,464
France	MC	F24	Renaion	46°03'20.60"N 03°51'30.50"E	512	NMET	23	0,623	2,963	0,460	2,43	0,661
France	MC	F25	Rosier	46°04'13.50"N 04°33'25.20"E	589	NMET	23	0,237	1,903	0,430	2,55	0,338
France	MC	F27	Pic de Chenavari	44°35'58.80"N 04°41'04.20"E	460	NMET	22	0	1	0,347	2,17	0,716
France	MC	F28	Mezilhac	44°48'28.00"N 04°20'44.80"E	1118	NMET	23	0,723	4,25	0,534	3,41	0,115
France	MC	F29	Ste Eulalie	44°48'13.10"N 04°12'47.10"E	1270	NMET	23	0,458	3,863	0,494	3,36	0,196
France	MC	F30	Jean Arsac	44°46'27.60"N 04°12'13.40"E	1165	NMET	23	0,577	3,295	0,505	3,53	0,264
France	MC	F31	Pradelles	44°45'19.30"N 03°53'02.50"E	1032	NMET	22	0,506	2,883	0,527	2,9	0,811
France	MC	F32	l'herm	44°54'24.20"N 03°49'10.10"E	1111	NMET	23	0,506	2	0,449	2,79	0,362
France	MC	F33	fougeras	44°58'01.70"N 03°24'11.00"E	1039	NMET	23	0	1	0,323	2,06	0,663
France	MC	F34	montchamp	45°04'06.80"N 03°12'45.40"E	1066	NMET	23	0	1	0,364	2,32	0,391
France	MC	F35	nouvialle	45°02'49.00"N 02°56'45.40"E	1016	NMET	23	0,087	1,521	0,388	2,31	0,510
France	MC	F36	giniol	45°17'04.60"N 03°01'12.30"E	1275	NMET	23	0,486	3,026	0,498	3,42	0,213
France	MC	F37	salesses	45°17'44.80"N 02°51'35.20"E	1132	NMET	23	0,719	3,758	0,352	2,21	0,722
France	MC	F38	chavignée	45°23'48.30"N 02°43'59.00"E	954	NMET	23	0,524	2	0,275	1,71	0,733
France	MC	F39	beaubie	45°27'29.70"N 02°47'24.60"E	1054	NMET	23	0,416	1,996	0,449	3,17	0,088
France	MC	F40	besse	45°30'25.50"N 02°56'26.30"E	1036	NMET	23	0,356	1,984	0,199	1,78	0,527

* Pour les détails, voir Besnard et al, 2009

Tableau 1 suite

Pays	Region	Code	Station	Coordonnées	Altitude	TE	n	He _c	Ar _c	He _n	Ar _n	Fis
France	MC	F41	laschamp	45°44'36.00"N 02°58'08.90"E	964	NMET	23	0	1	0,091	1,21	0,921
France	MC	F42	langelat	45°39'50.90"N 03°45'57.30"E	965	NMET	20	0,105	1,607	0,416	2,44	0,598
France	MC	F43	supeyres	45°35'24.10"N 03°50'55.20"E	1342	NMET	23	0,416	1,996	0,496	3,29	0,059
France	MC	F44	lagentière	44°32'26.33"N 04°18'18.44"E	264	CAL	23	0	1	0,407	2,73	0,350
France	MC	F45	Ste Marguerite	44°27'29.13"N 04°00'31.32"E	741	CAL	19	0	1	0,461	2,74	0,674
France	MC	F46	Bleymard	44°28'18.52"N 03°43'40.45"E	1116	CAL	21	0,267	2,378	0,32	2,02	0,353
France	MC	F47	Ramponenche	44°20'15.85"N 03°40'00.31"E	698	CAL	22	0	1	0,293	1,93	0,286
France	MC	F48	St Felix	44°02'36.21"N 03°56'11.27"E	349	CAL	23	0,514	2	0,725	4,45	0,296
France	MC	F49	Durfort	43°59'56.70"N 03°57'08.54"E	195	CAL	23	0	1	0,525	3,07	0,275
France	MC	F50	Malines	43°55'20.67"N 03°37'14.57"E	436	CAL	22	0,091	1,54	0,544	3,19	0,433
France	MC	F51	Sanguinède	43°55'56.80"N 03°36'29.12"E	536	CAL	21	0	1	0,569	3,58	0,324
France	MC	F52	Ganges	43°56'10.98"N 03°40'19.88"E	175	CAL	23	0,443	1,998	0,566	3,38	0,149
France	MC	F54	Viviez	44°33'34.16"N 02°13'01.39"E	202	CAL	23	0	1	0,25	1,93	0,274
France	MC	F55	Puy de wolf	44°33'23.80"N 02°18'21.07"E	472	SERP	23	0	1	0,036	1,2	0,600
France	MC	F57	Montgenèvre	44°55'33.49"N 06°43'08.02"E	1860	NMET	11	0	1	0	1	1
France	MC	F58	Lac des Anges	44°54'20.85"N 06°43'32.96"E	2400	SERP	15	0	1	0,408	2,54	0,305
France	MC	F61	Navacelles	43°53'16.61"N 03°30'29.33"E	618	NMET	9	0	1	0,579	3,15	0,445
France	Pyrénées	F15	Bagnère de Luchon	42°42'52.76"N 00°39'02.13"E	2173	NMET	16	0,692	2,992	0,358	2,16	0,432
France	Pyrénées	F19	Galène	42°56'48.10"N 00°05'11.95"W	700	CAL	21	0,237	1,903	0,193	1,70	0,326
France	Vosges	F03	Auxelles-Haut	47°44'21.52"N 06°46'35.84"E	538	CAL	29	0	1	0,381	2,01	0,831
France	Vosges	F04	Bergенbach	47°54'22.90"N 06°57'25.50"E	810	SERP	30	0	1	0,222	1,71	0,363
France	Vosges	F06	Rochesson	48°02'09.79"N 06°51'04.95"E	688	NMET	20	0	1	0,248	1,66	0,362
France	Vosges	F07	Rupt-sur-Moselle	47°55'18.80"N 06°41'47.00"E	562	NMET	19	0	1	0,149	1,53	0,645
France	Vosges	F08	Le Thillot	47°51'52.47"N 06°45'15.73"E	565	NMET	17	0	1	0,087	1,20	0,824
France	Vosges	F09	Plancher-Bas	47°45'03.91"N 06°43'51.79"E	480	NMET	16	0,125	1,692	0,307	2,13	0,441
France	Vosges	F21	Bresse	48°00'17.05"N 06°53'44.46"E	578	NMET	23	0	1	0,262	1,81	0,464
France	Vosges	F22	Valtin	48°06'31.27"N 07°01'56.97"E	1103	NMET	22	0	1	0,019	1,02	0,792
France	Vosges	F71	Bussang	47°53'22.51"N 06°53'44.68"E	760	NMET	18	0	1	0,292	1,97	0,314
France	Vosges	F72	Geihouse	47°53'32.50"N 07°04'19.60"E	893	NMET	15	0	1	0,286	1,86	0,296
France	Vosges	F73	Cornimont	47°58'01.20"N 06°49'47.50"E	523	NMET	17	0	1	0,248	1,78	0,276
France	Vosges	F75	Col d'oderen	47°54'50.70"N 06°55'11.40"E	914	NMET	15	0	1	0,238	1,87	0,352

2 Matériels et Méthodes

2.1 Echantillonnage des plantes et extraction de l'ADN

Les feuilles de neuf à trente individus de *N. caerulea* par station d'échantillonnage, ont été récoltées durant les printemps 2010 à 2012 dans 59 stations. Par individu, dix à quinze mg de feuilles sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur à billes. L'ADN total a ensuite été extrait selon le protocole modifié de Santoni (*comm pers*). L'élution finale a été faite dans 200 µL de tampon d'élution. Les extractions d'ADN ont ensuite été diluées au 1/20^e dans un volume final de 200 µL pour les manipulations et le reste a été conservé à -20° C. Les échantillons d'ADN d'individus provenant de trois populations du Jura Suisse étudiées par (Besnard *et al.* 2009), proches géographiquement de nos populations, ont également été utilisés pour le génotypage. Au total, le génotypage a porté sur 1243 individus provenant de 62 stations d'échantillonnage (Tableau 1).

2.2 Origine des individus pour la mise au point des marqueurs

La mise au point des marqueurs de génotypage moléculaire chloroplastique et nucléaire ont été effectués sur un sous-échantillon de 23 individus européens (Annexe C Tableau S1). La répartition géographique de ces individus recouvre au maximum l'aire de distribution de l'espèce en Europe. Elle est aussi représentative des variations d'abondance de l'espèce, avec une densité plus forte dans l'ouest de la distribution (Tutin *et al.* 1993; Reeves *et al.* 2001).

2.3 Mise au point des marqueurs SNP chloroplastiques et génotypage

Six régions du génome chloroplastique ont été séquencées. Les régions séquencées ont été sélectionnées parce qu'elles présentent généralement un niveau de polymorphisme important dans divers espèces végétales (Grivet 2001). Les séquences des amorces consensus déjà publiées pour l'amplification de ces six régions ont été comparées avec la séquence

chloroplastique *d'Arabidopsis thaliana*, disponible en ligne sur genbank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), et éventuellement corrigées pour augmenter leur affinité avec un génome chloroplastique de Brassicaceae. Pour le séquençage de fragments amplifiés dépassant une taille de 1000 pb, des amorces internes ont été définies après un premier séquençage à l'aide des amorces d'amplification. Ainsi, différentes paires d'amorces ont été utilisées pour séquencer 15 kb (Annexe C Tableau S2). Le séquençage a permis de déterminer 19 sites nucléotidiques présentant des polymorphismes de substitution d'un nucléotide par un autre (Single Nucleotide Polymorphism ou SNP) (Tableau 2).

Le génotypage des individus aux 19 sites SNP est réalisée selon la méthode KASPAR (LGC Genomics, Royaume Uni). La méthode KASPAR[®] (Kbioscience competitive Allele Specific PCR) permet le génotypage de polymorphismes SNP par PCR spécifique d'allèle couplée à des amorces fluorescentes. La spécificité de la réaction PCR est assurée par l'utilisation simultanée de deux amorces sens dont la séquence ne diffère que d'un nucléotide, c'est-à-dire un polymorphisme de type SNP correspondant au polymorphisme du locus considéré. Les deux amorces sont marquées spécifiquement d'un fluorophore n'émettant un signal qu'après intégration de l'amorce dans un fragment d'amplification. Le mélange d'amorces (*primer mix*) utilisé pour la réaction PCR est ainsi composé de deux amorces sens, en compétition et d'une amorce anti-sens commune. Le mélange réactionnel est constitué de 4 µL de mix KASP 3X fourni par Kbioscience, 0.06 µL de primer mix, 0.11 µL de MgCl₂ à 50 mM et 3 µL d'ADN. Les réactions sont réalisées en plaque PCR 96 puits. Pour chaque plaque, un témoin négatif (sans ADN) et deux ADNs contrôles représentatifs des deux allèles connus (témoins positifs) sont rajoutés. Avant la PCR, une lecture de fluorescence est réalisée à l'aide d'un lecteur de plaque à fluorescence Light Cycler[®] 480 (Roche Applied BioSystems, Pays) afin d'éliminer le bruit de fond générés par les amorces sens libres.

Tableau 2 : Détails des 16 polymorphismes nucléotidiques SNP chloroplastiques utilisés pour le génotypage du génome chloroplastique

région chloroplastique	nom du SNP	polymorphisme nucléotidique
trnDT	Nc_DT_1_G/T	A/G
trnDT	Nc_DT_2_C/T	C/T
trnDT	Nc_DT_3_A/G	A/G
trnDT	Nc_DT_4_A/C	A/C
trnDT	Nc_DT_5_C/T	C/T
trnK	Nc_K_1_A/G	A/G
trnK	Nc_K_2_T/G	T/G
trnK	Nc_K_3_A/C	A/C
trnK	Nc_K_6_T/G	T/G
trnK2Q	Nc_K2Q_1_A/C	A/C
trnK2Q	Nc_K2Q_2_A/G	A/G
trnQS	Nc_QS_1_G/T	G/T
trnTF	Nc_TF_1_A/T	A/T
trnTF	Nc_TF_2_T/G	T/G
trnTF	Nc_TF_3_T/G	T/G
trnTF	Nc_TF_4_T/G	T/G

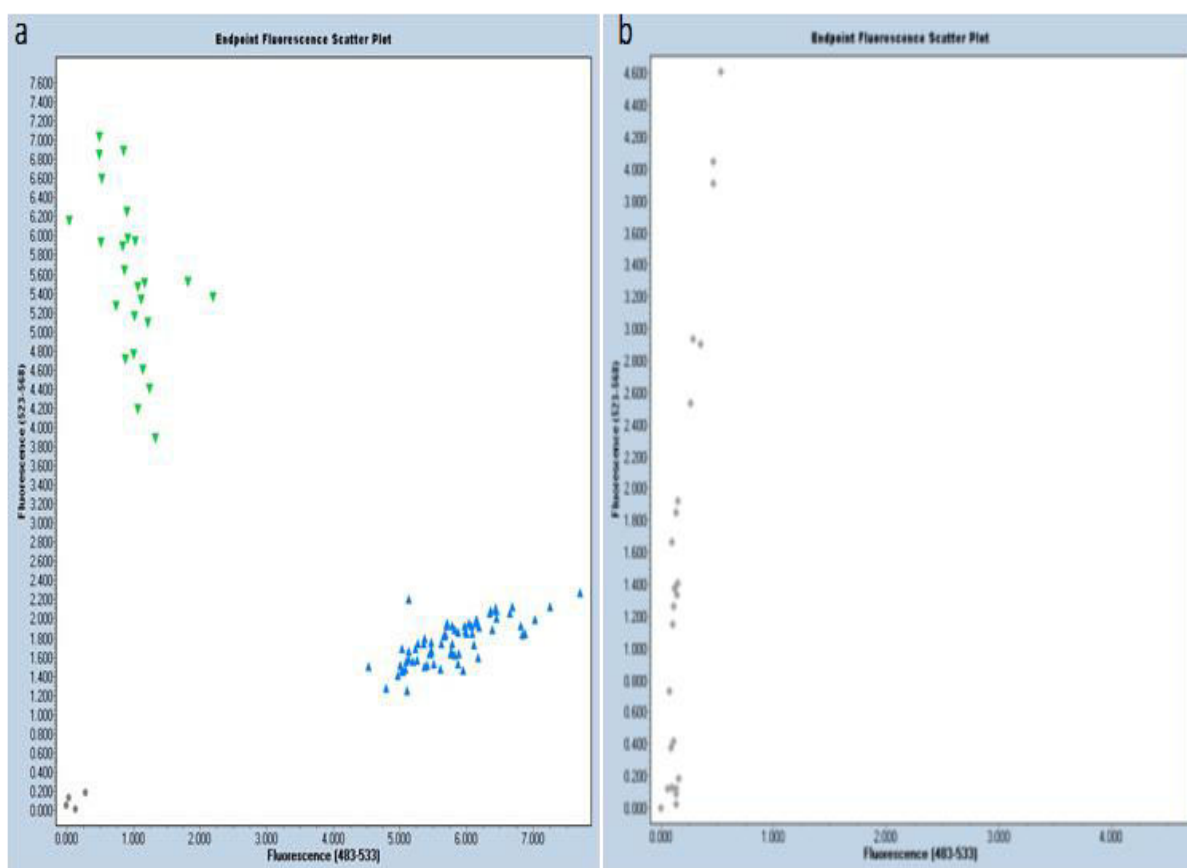


Figure 1 : Représentation graphique du résultat de la réaction de génotypage d'un marqueur SNP a) valide et b) inexploitable. Les niveaux de fluorescence émise par les amorces sens après réaction sont indiqués sur les deux axes du graphique. Le rapport des niveaux de fluorescence, calibrés par les rapports obtenus sur les deux ADN témoins dont le génotype est connu, permettent le génotypage des individus.

La PCR est réalisée dans un thermocycleur (Eppendorf MasterCycler[®], Allemagne) selon le protocole suivant : 15 min de dénaturation à 94°C, dix cycles de dénaturation à 94°C durant 20 s puis une étape d'hybridation en *touchdown*, c'est-à-dire une diminution de la température d'hybridation par palier à chaque cycle de 65 à 57°C puis 26 cycles à 57°C. A la fin de la PCR, l'acquisition des fluorescences se fait également sur le Light Cycler[®] 480. Le rapport des niveaux de fluorescence émise par les amorces sens après réaction a été calibré par les rapports obtenus sur les deux ADN témoins permettant le génotypage des individus (Figure 1a).

Avant le génotypage des 62 populations de la collection, un test préalable a été réalisé sur les 23 individus européens séquencés et dont l'état allélique est connu afin de tester la robustesse de la technique. Le génotype déterminé par la technique KASPAR[®] a été comparé à celui obtenu directement à partir des données de séquençage. Sur la base de ces résultats, trois des 19 SNP présentent des données inexploitable car les intensités de fluorescences et la discrimination des deux groupes de génotypes étaient mauvaises (Figure 1b). Ce sont donc 16 marqueurs KASPAR[®] qui ont été utilisés pour le génotype de la collection.

2.3 Génotypage microsatellite

Les marqueurs microsatellites ont été mis au point à partir des données issues du séquençage d'une banque génomique enrichie en séquences microsatellites, obtenues par la société Genoscreen (Lille, France) pour le laboratoire ISEM et aimablement mis à notre disposition par celui-ci. 1852 séquences comprenant un motif microsatellite répété étaient disponibles. Pour chaque locus microsatellite plusieurs propositions d'amorces et de taille d'amplicon étaient à notre disposition.

A partir de ces données, deux multiplexes ont été réalisés. Le premier multiplexe ("mix1C") comprend six des huit locus mis au point par E. Flaven et S. Donegà à l'ISEM.

Tableau 3: Caractéristiques des 12 locus microsatellites étudiées

Nom	Multiplexe	chromosome A.t	chromosome N.c.*	Bloc génomique †	Motif	Nb	Fluorochrome
Nc02	mix2	4	3	O	AGG	8	VIC
Nc03	mix2	5	4	S	AC	12	NED
Nc04	mix2	2	5	J	AG	11	VIC
Nc06b	mix2	4	6	U	AG	13	PET
Nc07b	mix2	3	7	F	AC	10	NED
Nc19	mix2	2	5	J	AAG	11	PET
Nc20	mix2	4	3	O	AG	11	FAM
Nc22	mix2	2	5	K	AG	10	FAM
Nc09	mix1C	1	2	B	CT	18	FAM
Nc21	mix1C	3	7	F	CTT	10	VIC
Nc23	mix1C	n.t.	n.t.	n.t.	TTC	11	FAM
Nc31	mix1C	5	4	W	CTT	12	NED

Nb: nombre de répétitions dans le génotype séquencé

* : position relative d'après (Mandáková et Lysak 2008)

† : position relative d'après (Schranz *et al* 2006)

Un deuxième multiplexe a été mis au point par Cécile Godé (assistante ingénieure au laboratoire GEPU) et moi-même. Le choix des locus pour le deuxième multiplexe a été fait après avoir blasté les 1852 séquences flanquant les motifs microsatellite sur le génome d'*A. thaliana*. Nous avons ensuite estimé la position potentielle des locus microsatellite dans le génome de *N. caerulescens* en tenant compte des limites des blocs chromosomiques supposés représenter la structure du caryotype ancestral des Brassicaceae, la position de ces blocs dans les génomes d'*A. thaliana* (Schranz *et al.* 2006) et de *N. caerulescens* ((Mandáková et Lysak 2008). L'objectif était de sélectionner des locus microsatellites largement distribués dans le génome de *N. caerulescens* afin d'avoir une meilleure représentativité de celui-ci. Ainsi, 22 marqueurs ont été testés séparément sur les 23 individus tests pour obtenir un nombre final de 8 marqueurs. Outre les positions relatives sur le génome, les locus ont été choisis en fonction de la qualité des profils de génotypage et la compatibilité des tailles d'amplicons pour le multiplexage. De plus, l'absence de dimérisation des 16 amorces multiplexées a été vérifiée avec OligoAnalyzer 3.1 (Integrated DNA Technologies, USA). Sur les 14 marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage de la collection, 12 ont été retenus (Tableau 3).

Les PCR sont réalisées dans un volume réactionnel de 10 µL en mélangeant 20 ng d'ADN avec 0.5 U du kit PCR Qiagen® multiplexe (QIAGEN, Courtaboeuf, France ; solution qui contient le tampon d'amplification, des dNTPs et la Taq polymérase 'HotStarTaq DNA polymérase'), 2µM du mélange d'amorces. Après la réaction, 1,5 µL du produit PCR est mélangé avec 0.25 µL de LIZ500 (marqueur de taille de référence) qsp 10 µL de formamide pour migration et lecture sur un séquenceur capillaire. Les profils de sortie ont été lus et corrigés sous GeneMapper v.3.7 (Applied Biosystems®).

2.4 Analyse des données

2.4.1 Diversité et différenciation génétique

Pour estimer la diversité génétique aux locus chloroplastiques et nucléaires, différents indices tels que la richesse allélique (*Arc* et *Arn*, respectivement), l'hétérozygotie observée (*Ho*) et attendue (*Hec* et *Hen*, respectivement) (Nei 1987) ont été calculés sous Fstat v2.9.3 (Goudet 2001). L'estimation de la richesse allélique a été standardisée par la taille de population la plus faible ($n=7$; F61) par la méthode de raréfaction. La structure en populations de cette diversité a été analysée en utilisant le même logiciel pour le calcul indices de différenciation *Fst*, *Fit* et *Fis* (Weir et Cockerham 1984). Les indices de différenciation par paires de populations (pairwise *Fst*) ont été calculés sous Spagedi v3.0 (Hardy et Vekemans 2002).

2.4.2 Clustering

Le nombre de groupes génétiques (*K*) expliquant le mieux la distribution observée des polymorphismes aux marqueurs microsatellites nucléaires a été déterminé par deux approches : l'une bayésienne, mise en œuvre avec le logiciel STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard *et al.* 2000) et l'autre multivariée, fondée sur une analyse discriminante en composantes principales (DAPC) et mise en œuvre avec le package R Adegnet (Jombart *et al.* 2010).

Sous STRUCTURE, l'analyse a été réalisée avec un modèle avec métissage ou admixture autorisant l'appartenance de fractions différentes du génome des individus à des groupes génétiques différents. L'information d'origine des individus n'est pas utilisée pour l'assignation des individus aux différents groupes. L'analyse a été réalisée pour un nombre de groupes génétiques *K* variant de 1 à 60, avec dix répétitions de l'analyse pour chaque valeur de *K*. Au final, seuls les cinq réplicats donnant la meilleure vraisemblance des données *a posteriori* ont été retenus. Chaque analyse a été effectuée en utilisant une chaîne MCMC (Monte Carlo

Markov Chain) de 10^6 pas, dont les 200 000 premières sont supprimées (Burnin) car supposés donner des résultats trop dépendants des valeurs initiales des paramètres. A la fin de l'analyse, une valeur de vraisemblance des données moyennée sur les cinq réplicats a été attribuée à chaque K. Afin de déterminer la valeur de K expliquant le mieux les données, l'indice ΔK proposé par (Evanno *et al.* 2005) a été calculé pour chaque valeur de K à partir des réplicats d'analyse. Une extrapolation spatiale des coefficients de métissage a été réalisée selon une méthode du krigeage mis en œuvre sous R grâce aux packages GSTAT par les fonctions predict et gstat.

Sous Adegenet, la détermination du nombre de groupes K a été réalisée par une analyse discriminante en composante principale. Cette analyse est réalisée sans *a priori* et l'information d'origine des individus n'est pas utilisée pour l'assignation des individus aux différents groupes. Cette analyse est basée sur l'utilisation de la méthode du 'K-means' après transformation des données par une analyse en composante principale de 500 axes. Le 'K-means' est un algorithme de clustering associé à un modèle similaire à celui de l'analyse discriminante, réalisé par la fonction *find.cluster* de Adegenet. Cette méthode cherche la meilleure valeur de K qui diminue la variance génétique au sein des groupes et maximise celle-ci entre les groupes. Pour identifier cette valeur, le K-means a été réalisé avec un nombre croissant de groupes et de façon à produire les vraisemblances associées à chacun d'eux. La meilleure valeur de K a été évaluée selon le critère d'information bayésien (BIC) quand une inversion ou un plateau de la courbe est observé. Les relations entre les groupes sont évaluées sur les premiers axes de DAPC.

2.4.3 Patron de diversité génétique intra et inter unités.

D'après la proximité géographique, la distribution des haplotypes chloroplastiques et la proximité génétique, les stations sont regroupées hiérarchiquement en sous-unités incluant des groupes génétiques (voir résultats). Les moyennes des richesses alléliques (Ar_c et Ar_n), de

l'hétérozygotie attendue (H_{Ec} et H_{En}) et le F_{is} ont été comparés entre les sous-unités puis entre les groupes génétiques au sein des sous-unités sous Fstat v2.9.3 (Goudet 2001). Le niveau de différenciation génétique entre sous-unités et entre groupes génétiques à l'intérieur des sous-unités a été testé sous R à l'aide d'une analyse hiérarchisée implémentée dans le package HIERFSTAT (Goudet 2005). La significativité de la différenciation à chaque niveau a été testée par permutation ($n=10\,000$).

Un test de Mantel de corrélation entre les matrices des logarithmes népériens des distances géographiques et des distances génétiques entre paires de populations linéarisées, i.e. représentées par la valeur de $F_{st}/(1-F_{st})$, a été effectué sous Fstat v2.9.3 (Goudet 2001). L'existence d'isolement par la distance a été testée en tenant compte des paires de populations à l'intérieur d'une même sous-unité ou appartenant à des sous-unités différentes.

Une régression linéaire de l'hétérozygotie attendue a été effectuée à l'aide d'une matrice de $600 * 500$ points sur un réseau bidimensionnel couvrant l'Europe en considérant chaque point comme une source potentielle (Ramachandran *et al.* 2005).

2.5 Test des scénarios démographiques

Afin de comprendre les relations démographiques entre les sous-unités définies, une analyse ABC des scénarios démographiques potentiels a été réalisée sous DIYABC v2.0.1 (Cornuet *et al.* 2008). Du fait de l'incapacité d'intégrer de la migration entre sous-unités dans les modèles démographiques testés par DIYABC, les stations présentant un coefficient d'appartenance moyen inférieur à 0,75 d'après l'analyse de regroupement bayésien sous STRUCTURE ont été enlevées de l'analyse parce qu'elles suggèrent des flux de gènes localement importants et leur appartenance à une sous-unité particulière pourrait être discutée (voir résultats). Pour chaque scénario, 500 000 simulations ont été réalisées.

2.5.1 Paramètres des scénarios

Les paramètres démographiques utilisés pour la définition des scénarios comprennent les tailles efficaces des sous-unités actuelles (N), les tailles efficaces des sous-unités ancestrales (N_a et N_b), le taux de métissage (ra) pour les scénarios proposant la fondation d'une sous-unité par le mélange de deux sous-unités préexistantes, et les temps de divergences entre sous-unités (nommés t et t_a). Ces paramètres ont été considérés comme des variables aléatoires tirées à partir d'une distribution de valeurs potentielles définie *a priori* (priors) détaillés en tableau 13. Pour chaque simulation, DIYABC a tiré une valeur pour chaque paramètre et a effectué une simulation basée sur le principe de coalescence afin de générer des données simulées avec le même nombre d'individus et de locus qu'utilisé pour l'acquisition des données observées.

2.5.2 Modèle mutationnel

Les simulations de coalescence utilisent un modèle mutationnel généralisé (Estoup *et al.* 2002) qui nécessite deux paramètres : le taux moyen de mutation μ , le coefficient de la loi géométrique P qu'est censé suivre le nombre de motifs ajouté ou retranché à un microsatellite lorsque celui-ci mute. De plus, le modèle comprend un taux moyen d'insertion/délétion d'un simple nucléotide (SNI). Toutes les distributions *a priori* des paramètres du modèle sont tirés dans des lois uniformes dont les bornes sont entre 10^{-6} et 10^{-3} pour μ , 0,1 et 0,3 pour P et 10^{-8} et 10^{-5} pour SNI . Seul l'intervalle de valeur du taux mutation a été ajusté ici par rapport aux valeurs par défaut [10^{-5} à 10^{-3}]. Cet ajustement permet de tenir compte de la variabilité de valeurs retrouvées chez les végétaux (Marriage *et al.* 2009).

2.5.3 Sélection des scénarios et estimation des paramètres démographiques associés

Des variables statistiques résumées sont calculées sur les données observées et pour chaque jeu de données simulées. Pour chaque variable statistique résumée, une distance euclidienne δ

permet de calculer l'écart entre la valeur obtenue à partir des données observées et celle obtenue à partir des données simulées. Les variables résumées (S) suivantes ont été considérées : le nombre d'allèles moyen par locus, l'hétérozygotie attendue et la variance moyenne de la taille allélique absolue pour chaque groupe génétique (A , He et V respectivement) et pour chaque paire de groupe génétique ($A2P$, $He2P$ et $V2P$ respectivement). Deux autres variables ont été ajoutées : les valeurs de F_{st} par paires de populations et l'indice M_{GW} entre locus (Cornuet *et al.* 2008).

Les probabilités postérieures de chaque modèle ont été estimées par régression logistique polytomique à partir des 1 % de données simulées les plus proches du jeu de données observées (Estoup *et al.* 2012). Les meilleurs scénarios ont été considérés comme les scénarios présentant les probabilités postérieures les plus élevées sans chevauchement des intervalles de confiance (IC) d'un scénario vis-à-vis des autres modèles.

L'estimation *a posteriori* des paramètres démographiques tels que les tailles efficaces, les temps de divergences et le taux de mutation sous les meilleurs scénarios a été réalisée par une régression linéaire locale après une transformation *logit*.

2.5.4 Validation des scénarios démographiques

Afin d'évaluer la robustesse des meilleurs scénarios démographiques, deux analyses complémentaires ont été réalisées. Tout d'abord, la confiance dans les scénarios sélectionnés a été mesurée en générant pour chaque scénario 500 jeux de données simulées en tirant les valeurs de paramètres dans les distributions postérieures correspondantes. Ces données ont été utilisées comme données pseudo-observées dans autant d'analyses ABC, afin de déterminer les erreurs de type I et de type II. L'erreur de type I est la fréquence à laquelle un scénario est rejeté par l'analyse ABC alors que les données pseudo-observées analysées ont été simulées sous ce scénario. L'erreur de type II est la fréquence à laquelle un modèle alternatif à celui utilisé pour la simulation des données pseudo-observées est sélectionné par l'analyse ABC

(Cornuet et al., soumis). Enfin, la procédure *model checking* a été réalisée en simulant 10 000 pseudo-données pour chaque modèle sélectionné à partir de la distribution postérieure correspondante. L'objectif est de vérifier par analyse ACP des statistiques résumées la capacité d'un modèle à reproduire par simulation des valeurs de variables statistiques résumées proches de celles calculées à partir des données observées. Il détermine aussi, pour chaque statistique résumée, les proportions de données simulées produisant des valeurs inférieures à celles obtenues à partir des données observées.

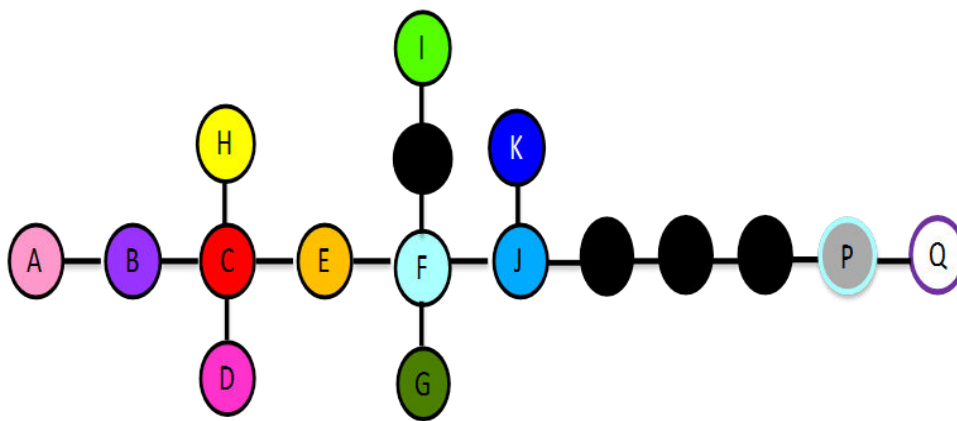


Figure 2: Généalogie des haplotypes identifiés à partir des 16 SNP chloroplastiques chez *N. caeruleus*. Une barre entre deux haplotypes consécutifs représente une mutation nucléotidique et les disques noirs représentent des haplotypes. La couleur des contours des disques représente différemment les haplotypes présents à l'ouest en noir, présents à l'est en violet et présents partout en cyan.

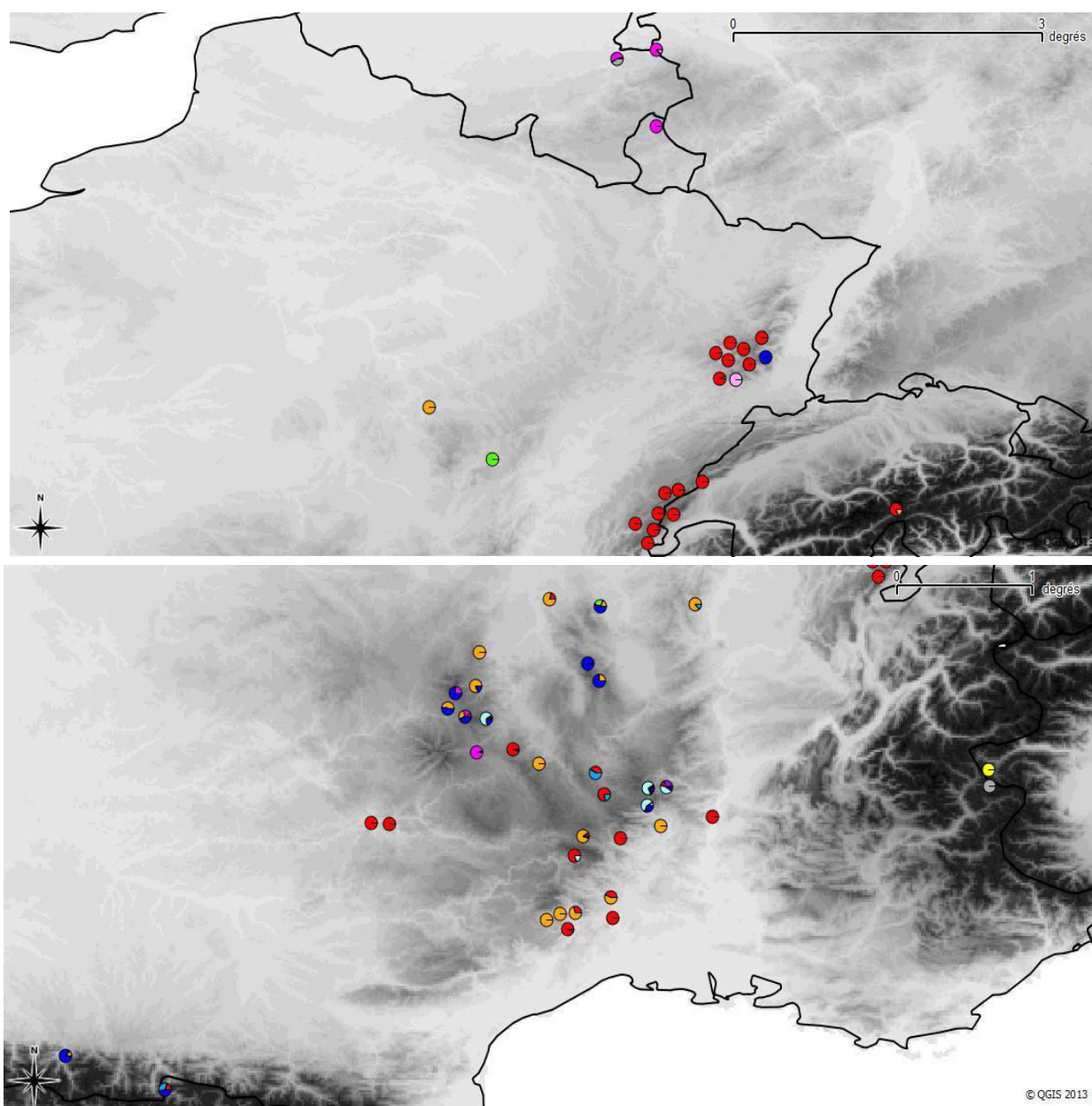


Figure 3: Distribution des haplotypes dans les 62 stations géotypées. La correspondance entre les couleurs et les haplotypes est donnée en figure 2.

3 Résultats

3.1 Analyse des données chloroplastiques

Les 16 sites polymorphes détectés chez les 23 individus tests permettent de définir 10 combinaisons d'états alléliques ou haplotypes nommés de A à Q (Figure 2; Tableau S1). Certains haplotypes voisins dans la généalogie sont néanmoins séparés par un nombre de différences supérieur à un, ce qui suggère que certains haplotypes ne sont pas représentés par les 23 individus. Le génotypage des 62 stations échantillonnées au cours de cette étude permettent l'identification de trois haplotypes supplémentaires. Au final, la généalogie comporte donc 13 haplotypes et semble distinguer deux clades divergents et inégalement représentés. Le premier clade regroupe les haplotypes A à K et le second clade comprend les haplotypes P et Q distribué dans la partie ouest et est respectivement (Figure 2; Tableau S1).

Dans nos 62 stations, 98 % des individus portent des haplotypes du clade A–K (Figure 3). Au sein de ce clade, deux haplotypes proches ne se distinguent que par une mutation (l'haplotype I est considéré dans cette interprétation comme une exception). Il se caractérise par une structure en étoile avec quelques haplotypes centraux (C, E, F) desquels divergent par une ou deux mutations les autres haplotypes (A, B, D, G, H, I). Enfin, l'haplotype P est présent uniquement à la bordure Est de la distribution de cette étude, dans les deux stations calaminaires belges et une population du massif alpin (Figure 3).

Les haplotypes majoritaires sont les haplotypes C et E avec 68% des génotypes (47% et 21 %, respectivement). L'haplotype C est principalement trouvé dans les stations du Jura, des Vosges et en mélange avec l'haplotype E dans les Cévennes (Figure 3). L'haplotype E est également trouvé en mélange avec l'haplotype K dans le nord-ouest du Massif Central (Figure 3). Les haplotypes rayonnant dans la généalogie à partir de ces deux haplotypes majoritaires sont peu fréquents, comme l'haplotype A ou H (2,2% et 0,8%, respectivement).

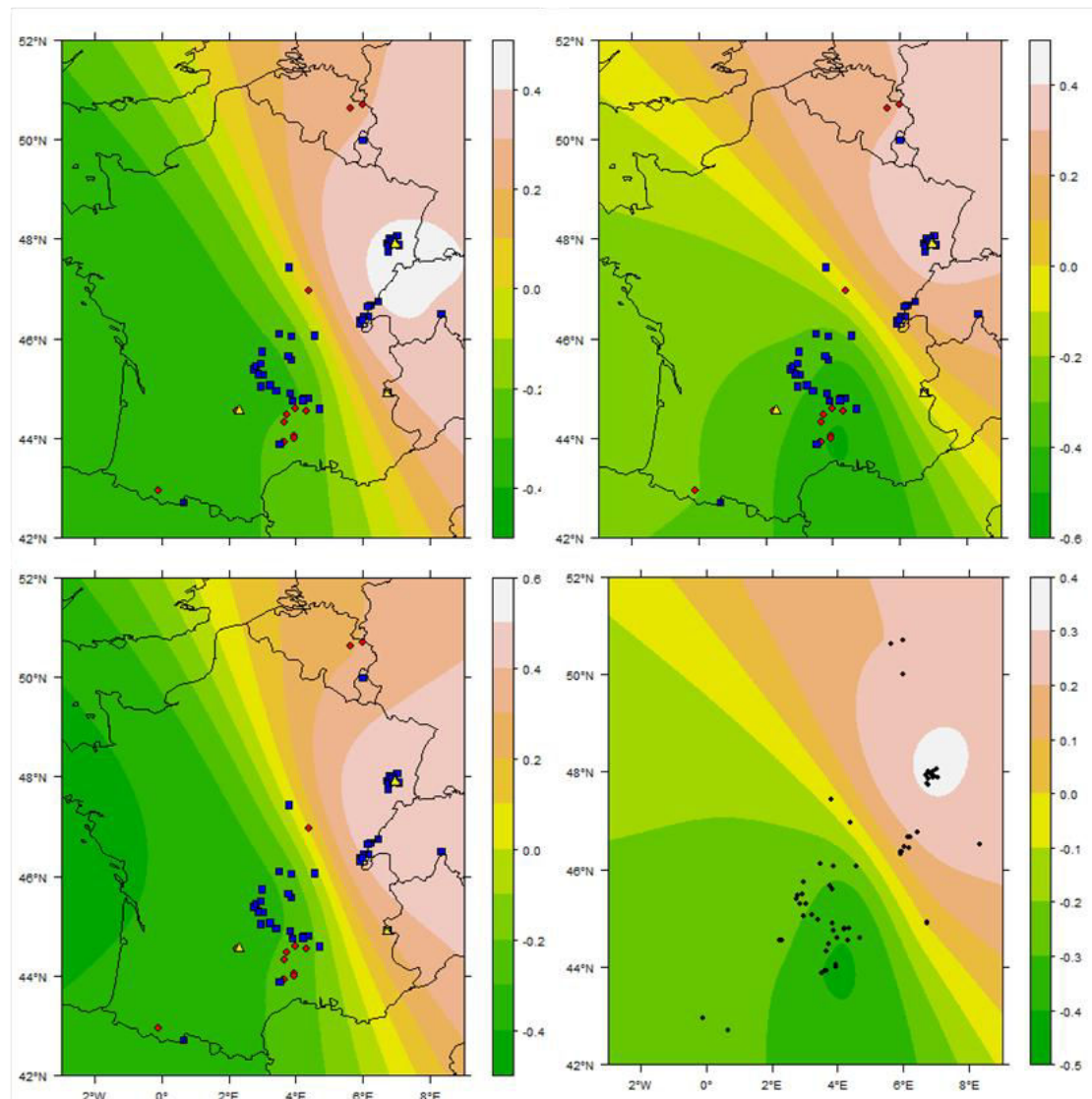


Figure 4 : Régression de la richesse allélique (à gauche) et de l'hétérozygotie attendue (à droite) au niveau chloroplastiques (en haut) et nucléaire (en bas) sur la distance géographique en Europe de l'Ouest. A chaque pixel, un coefficient de régression est calculé entre le paramètre dans chaque station et la distance géographique entre cette station et le pixel.

Tableau 4: Diversité génétique observée entre les locus. n: nombre d'allèles; H_O : Hétérozygotie observée; H_T : diversité génétique totale ; F_{ST} : différence entre les populations basée sur les fréquences alléliques et F_{IS}

Locus	n	Gamme de variation	H_O	H_T	F_{ST}	F_{IS}
Nc02	9	[170-191]	0,151	0,660	0,643	0,394
Nc03	7	[188-200]	0,233	0,681	0,519	0,291
Nc04	12	[129-152]	0,197	0,778	0,465	0,574
Nc06b	46	[91-166]	0,332	0,940	0,432	0,372
Nc07b	10	[97-166]	0,187	0,714	0,531	0,426
Nc09	19	[96-133]	0,294	0,878	0,437	0,409
Nc19	16	[187-240]	0,065	0,459	0,736	0,448
Nc20	23	[205-250]	0,194	0,545	0,545	0,478
Nc21	16	[231-276]	0,270	0,669	0,453	0,267
Nc22	22	[140-147]	0,278	0,875	0,497	0,382
Nc23	14	[195-234]	0,193	0,762	0,605	0,346
Nc31	20	[66-104]	0,136	0,737	0,619	0,545
Overall	214		0,211	0,750	0,528	0,402

Néanmoins, ces deux derniers sont fixés dans certaines populations comme l'haplotype A dans la population F03 (Vosges) ou l'haplotype H dans la population F57 (Alpes) (Annexe C Tableau S3). La richesse haplotypique Ar_c varie de 1 à 4,25 entre les stations (Tableau 1). La diversité des haplotypes He_c varie de 0 à 0,723 et présente une diversité totale élevée avec une valeur de H_t de 0,726. Enfin, il existe une structuration génétique forte entre les stations avec une valeur de F_{st} globale de 0,734 et de N_{st} de 0,736. Le N_{st} n'est pas significativement supérieur à la valeur obtenue après permutations des distances moléculaires entre haplotypes (non montré). Les régressions des estimateurs de la diversité génétique (Ar et He) présentent une corrélation négative avec la structure géographique depuis les stations du Sud de la France au niveau nucléaire (Figure 4). Au niveau chloroplastique, un gradient de l'ouest vers l'est est trouvé avec la plus forte valeur d' Ar et d' He .

3.2 Analyse microsatellite

3.2.1 Analyse de la diversité génétique globale et intra-populationnelle

Les 12 locus microsatellites présentent un nombre total d'allèles allant de 7 à 46. Les indices de diversité génétique et de structuration de la diversité sont élevés sur l'ensemble des locus (Tableau 4). Les coefficients de variations entre locus sont modérés pour la diversité génétique totale H_{Tn} (C.V.= 17,3 %) et F_{IT} (C.V.= 20,6 %), élevés pour la diversité génétique observée H_O (C.V.= 35,6 %) et très élevés pour le F_{IS} (C.V.= 54,0 %). L'hétérozygotie observée sur l'ensemble des locus est de 0,211. Elle est significativement inférieure à l'hétérozygotie attendue (test t, ddl = 11, $p < 0,001$).

Les moyennes d'hétérozygotie attendue (H_{En}) et de richesse allélique (Ar_n) par populations sont présentées en Tableau 1. Le H_{En} moyen est de 0,356 et varie de 0 à 0,725 (C.V.=42,8 %) alors que la variation de la richesse allélique est de 30,6 % entre 1 à 4,45. Les valeurs F_{IS} sont généralement élevées avec un F_{IS} moyen est de 0,402 et un C.V. de 50,3 % (Tableau 1). Hormis trois stations (F43, F66 et Sw02), les F_{IS} sont significativement différents de 0.

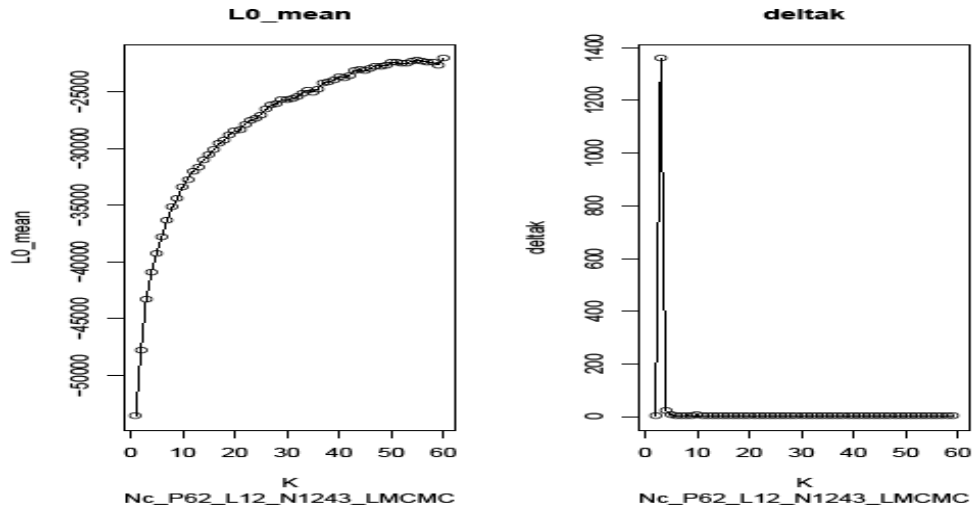


Figure 5 : Distribution de la valeur moyenne du log de vraisemblance des données après analyse sous STRUCTURE (à droite) et de la variation du ΔK (à gauche) en fonction de K sur l'ensemble des 62 stations.

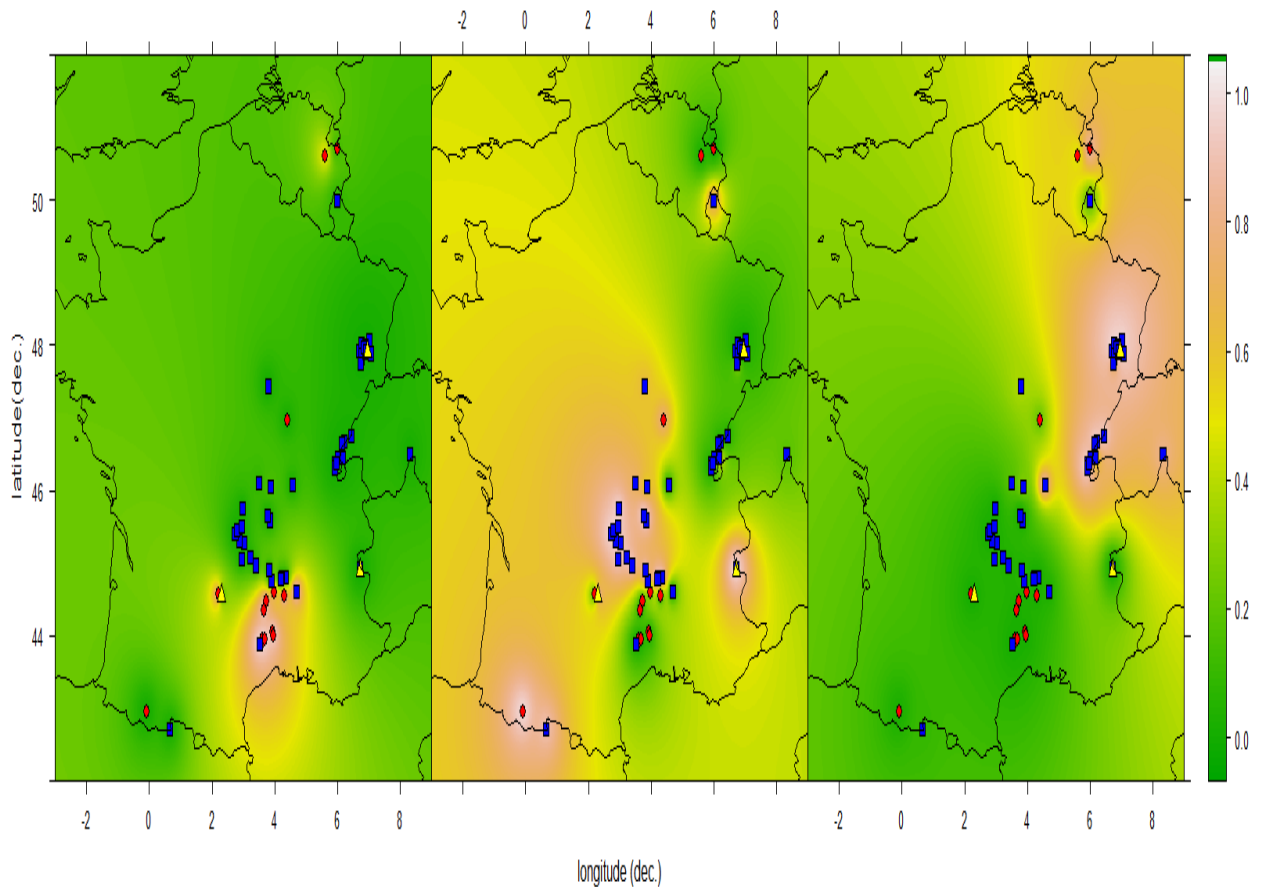


Figure 6 : Représentation spatiale de des coefficients d'appartenance des 62 populations aux trois clusters K_{S1} (à gauche), K_{S2} (au centre) et K_{S3} (à droite) définis par regroupement bayésien (STRUCTURE). Les carrés bleus représentent les stations NM, les triangles jaunes les stations de serpentes et les losanges rouges les stations calaminaires.

Ils varient donc entre 0 et 1 (Annexe C Figure S1) confirmant un système de reproduction mixte chez *N. caerulea*. Ce résultat indique un déficit important en hétérozygotes au sein de certaines stations. Le F_{ST} global est très élevé pour des marqueurs microsatellites nucléaires, avec une valeur multilocus de 0,529. Sur les 1981 paires de stations, 90 % d'entre elles ont des valeurs de F_{ST} supérieures à 0,25. Cinq paires de stations dont quatre à l'intérieur du Jura et deux stations de l'Ardèche ont des valeurs non significatives inférieures à 0,05.

3.2.2 Structure génétique

La distribution du logarithme des vraisemblances après l'analyse sous STRUCTURE montrent une zone de plateau vers $K=50$ (Figure 5). La distribution du ΔK présente une valeur modale pour $K = 3$ pic à 3, ce qui suggère l'existence de trois groupes génétiques différents, nommés K_{S1} , K_{S2} et K_{S3} . A $K = 3$, 56 stations montrent des coefficients d'appartenances moyens supérieures à 0,75 alors que six stations ont des coefficients d'appartenance moyens inférieurs à 0,75 (Figure 9a, Annexe C Tableau S4). Le groupe K_{S1} comprend les stations allant du sud-ouest (l'Aveyron) au sud-est du Massif Central (basse Ardèche) avec la majorité de stations calaminaires (Figure 6, Annexe C Tableau S4). Le groupe K_{S2} est le groupe plus étendu géographiquement avec les stations de l'ouest/nord-ouest du Massif Central, une station du Jura, les deux stations des Pyrénées et les deux stations du Massif alpin. Ce groupe de 21 stations comportent une station calaminaire et deux stations de serpentines (Figure 6, Annexe C Tableau S4). Enfin le K_{S3} comprend la station calaminaire belge B03 ainsi que les stations du Jura et des Vosges comprenant la 3^e station de serpentine (Figure 6, Annexe C Tableau S4).

Des analyses de regroupement bayésien menées indépendamment à l'intérieur de chacun des groupes déterminés à $K = 3$ révèlent l'existence d'un niveau inférieur de structuration comprenant 4 sous-groupes pour K_{S1} et trois sous-groupes pour K_{S2} et K_{S3} (données non montrées), soit un total de 10 sous-groupes sur l'ensemble des 62 stations. Les coefficients

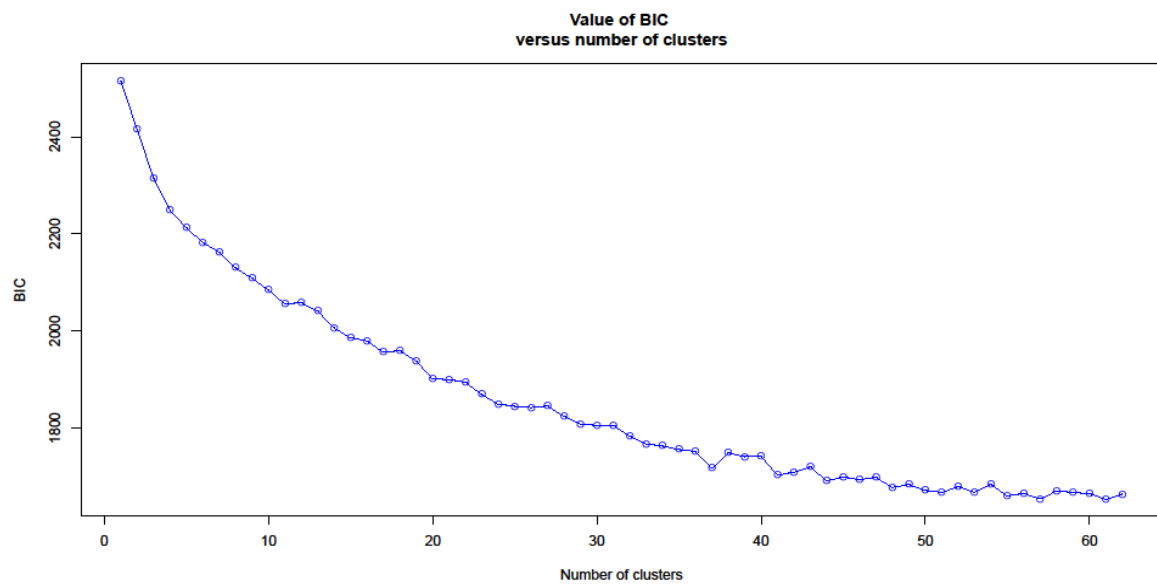


Figure 7: Variation du critère d'information bayésien (BIC) en fonction du nombre K de groupes sous DAPC

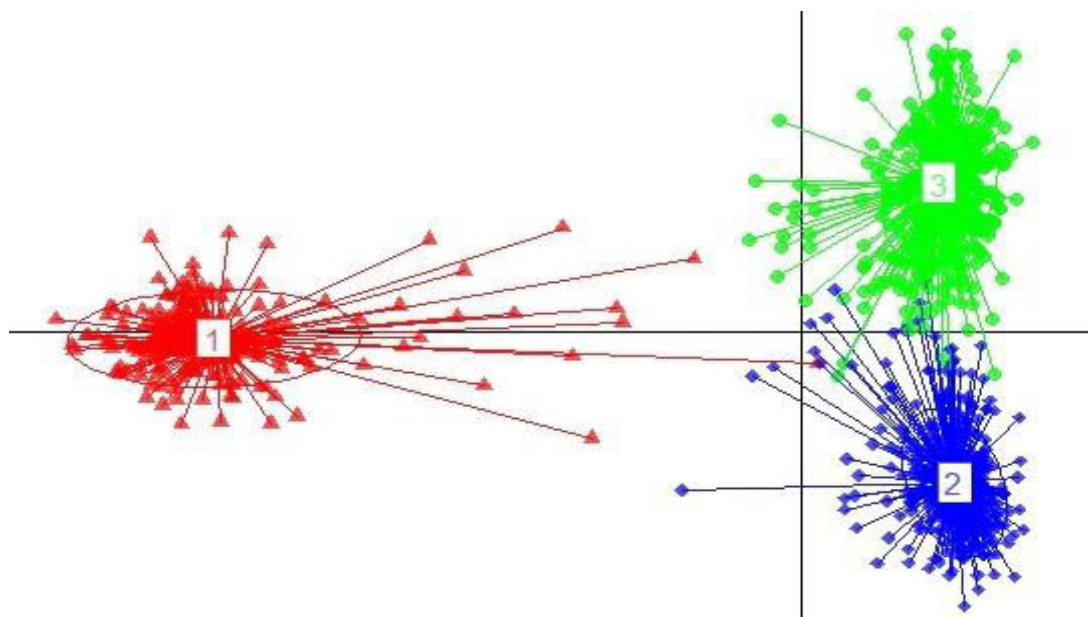


Figure 8: Représentation sur les deux premières composantes des résultats de l'analyse discriminante en composantes principales des données de génotypage microsatellites pour une valeur de K égale à 3. Le groupe génétique $K_{3D}1$ est représenté en rouge, $K_{3D}2$ en bleu et $K_{3D}3$ en vert.

d'appartenance des 62 stations à $K = 10$ dans l'analyse globale sont indiqués dans la Figure 9c.

La variation du critère d'information bayésien (BIC) obtenue après une analyse DAPC sous Adegenet montre une décroissance continue en fonction de K (Figure 7). Ce critère ne permet donc pas de déterminer précisément un nombre de groupes génétiques rendant compte de la distribution observée de la diversité génétique. Néanmoins, des zones de palier sont observables à $K = 10, 17, 20$ et 24 , ce qui suggère une structuration hiérarchisée (Jombart *et al.* 2010). L'analyse discriminante en composantes principales sous DAPC à $K = 3$ permet de distinguer trois groupes (nommé K_{3D1} , K_{3D2} et K_{3D3}) présentant un regroupement comparable avec celui de STRUCTURE (Figure 9a et 9b, Annexe C Tableau S4) hormis quatre stations (B02, F13, L02 et F05). Le groupe K_{3D1} (équivalent à K_{3S1}) se distingue des deux autres groupes K_{3D2} et K_{3D3} (équivalent à K_{3S2} et K_{3S3} , respectivement) sur le premier axe 1 de DAPC. Cet axe explique 80 % de la variance génétique (Figure 8).

La structure sous DAPC est étudiée uniquement au premier palier à $K = 10$ définissant dix groupes génétiques (K_{10D}) nommés K_{10D1} à K_{10D10} , avec 4 sous-groupes dans K_{3D1} (K_{10D1} ; K_{10D2} ; K_{10D4} ; K_{10D6}) et trois sous-groupes dans K_{3D2} (K_{10D5} ; K_{10D7} ; K_{10D9}) et K_{3D3} (K_{10D3} ; K_{10D8} ; K_{10D10}), de même que sous STRUCTURE. Le détail des 10 groupes sous DAPC est donné en Tableau S5 (Annexe C).

A $K = 10$, le premier axe de l'analyse DAPC explique un pourcentage de variance associé de 35,7 % et discrimine les stations du groupe K_{D1} des deux autres groupes. (Annexe C Figure S2). Les axes 2 et 3 discriminent ensuite les stations à l'intérieur de K_{D1} (Annexe C Figure S2). Sur l'axe 2 (13,3 %), le groupe K_{10D1} comprenant les stations de l'Ardèche (F27 et F44) s'opposent à la station calaminaire de l'Aveyron F54 formant à elle seule le groupe K_{10D2} , conformément à la géographie du groupe K_{3D1} (Figure S2, Tableau S5).

Ces deux groupes K_{10d}1 et K_{10d}2 se distinguent des deux groupes des Cévennes K_{10D}4 et K_{10D}6 sur l'axe 3 (12,1 %) (Annexe C Figure S5). Les deux axes suivants discriminent les stations du Jura K_{10D}8 de deux groupes du massif central K_{10D}5 et K_{10D}9 (non montré). Les autres groupes sont représentés en Figure 9d.

3.2.3 Définition et diversité génétique entre et au sein des unités et sous-unités.

Sur la base des proximités géographiques et la congruence des résultats des données génétiques, les stations de l'unité ouest de *N. caerulea* sont regroupées dans trois sous-unités (SU), nommées SU1, SU2 et SU3 (Figure 9). La première sous-unité SU1 comprend les stations du groupe K_{3s}1 et est composée des haplotypes C et E. Ce groupe présente une forte diversité génétique nucléaire H_{e_n} et une faible diversité génétique chloroplastique H_{e_c} (Tableau 5). La seconde sous-unité SU2 correspond aux stations du Massif Central, des Pyrénées et du Massif Alpin. Enfin, la troisième unité va du Jura vers le Massif des Ardennes en passant par les Vosges et le Nord du Massif Central (Figure 9). A l'intérieure des 3 sous-unités, 15 groupes génétiques sont définis d'après la proximité géographique, la distribution des haplotypes chloroplastiques et la proximité génétique suggérée par les résultats d'analyse de clustering à $K = 10$ principalement (Figure 9).

Les unités présentent des différences d' A_r et d' H_E au niveau chloroplastique et nucléaire alors qu'ils sont peu variables entre les groupes génétiques au sein des sous-unités (Tableau 5). La différenciation génétique entre les trois sous-unités est significative entre et au sein des unités au niveau chloroplastique et nucléaire (Tableau 6). La différenciation est la plus élevée au niveau des stations dans les groupes génétiques qu'au niveau des trois sous-unités et ceux malgré le regroupement effectué précédemment.

Enfin, une corrélation significative entre les distances génétiques ($F_{st}/1-F_{st}$) et le logarithme des distances géographiques n'est trouvé qu'au sein des sous unités SU1 et SU2 contrairement à SU3 et entre les trois sous-unités (Figure 10).

Tableau 5: Moyenne des variables décrivant la variation génétique et la structure au sein des trois sous-unités (SU1, SU2, SU3) de l'unité ouest de *N. caerulea*.

Sous-unité	Station (n)	Diversité chloroplastique		Diversité nucléaire			
		Ar _c	He _c	Ar _n	He _n	Fis	Fst _n
U1.1	F27;F44	1	0	2,45	0,372	0,533	0,435
U1.2	F54	1	0	3,19	0,250	0,274	-
U1.3	F45;F46;F48;F49; F51;F52; F61	1,48	0,204	3,20	0,535	0,359	0,331
U1.4	F50;F47	1,27	0,046	2,56	0,417	0,360	0,180
Différence entre les sous unités U1		ns	ns	ns	ns	ns	0,055
SU1	(12)	1,33 ± 0,514	0,110 ± 0,190	2,86 ± 0,769	0,466 ± 0,143	0,381 ± 0,166	0,448
U2.1	F19;F28- F30;F36;F42;F43	2,85	0,436	3,02	0,450	0,219	0,281
U2.2	F23;F31-F35	1,73	0,241	2,42	0,400	0,542	0,350
U2.3	F37-F41	2,15	0,403	2,01	0,269	0,497	0,389
U2.4	F03	1	0	1,21	0,091	0,921	-
U2.5	F57	1	0	1	0	1	-
U2.6	F15.F55.F57	1,66	0,196	1,97	0,224	0,397	0,530
Différence entre les sous unités U2		ns	ns	ns	0,064	ns	ns
SU2	(23)	2,09 ± 1,03	0,311 ± 0,263	2,38 ± 0,759	0,352 ± 0,155	0,484 ± 0,272	0,426
U3.1	Sw02;Sw06; F65- F70;F09	1,08	0,014	2,25	0,330	0,347	0,313
U3.2	F06- F08;F21,F22;F73;F75	1,00	0,000	1,55	0,179	0,432	0,517
U3.3	Sw15;F04;F71;F72	1,25	0,081	2,00	0,295	0,418	0,509
U3.4	B02;B03;L02	1,81	0,260	2,44	0,444	0,455	0,336
U3.5	F05;F13.F24;F25	1,72	0,215	2,36	0,409	0,497	0,403
Différence entre les sous unités U3		ns	ns	ns	0,055	ns	ns
SU3	(27)	1,26 ± 0,536	0,077 ± 0,171	2,07 ± 0,509	0,310 ± 0,136	0,407 ± 0,197	0,514
TOTAL		1,58 ± 0,842	0,170 ± 0,237	2,34 ± 0,715	0,356 ± 0,153	0,439 ± 0,223	0,528
Différence entre les trois unités		***	***	***	*	ns	ns

Tableau 6 : Niveaux de différenciation génétique estimée par Fst hiérarchisé entre les 3 niveaux de structuration de la diversité génétique (sous-unités, groupes et stations) chez *N. caerulea*.

genome	F su/t	Psu	Fg/su	Pg	Fs/g	Ps	Fis
nucléaire	0,127	***	0,180	***	0,353	***	0,441
chloroplastique	0,090	***	0,343	***	0,567	***	

Pi est la p-value estimée au i^e niveau hiérarchique. T, total ; su, sous-unités ; g, groupe ; s, station ; i, individu.

3.3 Analyse des scenarios démographiques.

Afin de comprendre les relations démographiques entre les trois sous-unités dans l'unité ouest de *N. caeruleus*, une analyse ABC de sept scénarios démographiques potentiels est réalisée en excluant les stations dont le coefficient d'appartenance est inférieur à 0,75. Le scénario 1 décrit une séparation simultanée des trois sous-unités, les scénarios 2, 3 et 4 dérivent les trois cas possibles de séparations successives des trois sous-unités et enfin, les scénarios 5, 6 et 7 décrivent les trois cas possibles de métissage de deux sous unités divergentes pour la formation de la troisième sous-unité (Tableau 7). Dans chacun des scénarios, les trois sous-unités ont une taille efficace constante après les événements de divergence ou de métissage. Parmi les 30 variables résumées pour l'analyse DYABC, seules les trois valeurs de l'indice M_{GW} dans chacune des trois SU n'ont pas été analysées précédemment. La valeur observée de l'indice M_{GW} de la SU2 de 0,830 est dans la gamme de valeur de populations n'ayant pas souffert de réduction de taille ($M_{GW} > 0,82$ (Garza et Williamson 2001) au contraire de la SU1 et SU3 avec des valeurs inférieures à 0,72 (Tableau 11).

Le meilleur scénario sans chevauchement des intervalles de confiance est le scénario 4 avec une probabilité postérieure $P = 0,468$ [0,440-0,491] (Tableau 8) suivi des scénarios 6 et 5 ($P = 0,287$ (IC 95 % [0,265-0,309]) et $P = 0,159$ (IC 95 % [0,143-0,176]), respectivement). Les autres scénarios ont tous des probabilités postérieures inférieures à 0,1 (Tableau 8).

Les estimations postérieures des différents paramètres (taille efficace, temps de divergence et taux de mutation moyen) présentent des distributions uni-modales et dissymétriques (Figure 11). Sous le scénario 4, le taux de mutation modale est estimé à $5,34 \cdot 10^{-5}$ [$3,06 \cdot 10^{-5} - 1,66 \cdot 10^{-4}$]. La valeur modale du temps de divergence de SU1 à partir d'une population ancestrale N_a est estimée à 9 650 générations (IC 95 % [3 490-81 200]) alors que celui entre SU2 et SU3 est estimé à 6 900 générations (IC 95 % [2 480-42 700]). Les tailles efficaces des

Tableau 7: Description et représentation graphique des sept scénarios analysés sous DIYABC v2.0.1

Scénario	Description	représentation graphique
1	A t, séparation simultanée des groupes 1, 2 et 3	
2	A t générations, séparation de SU3 de taille efficace N3 et d'un groupe ancestral de taille efficace Nb à partir d'une population ancestrale d'une taille efficace Na. A ta générations, SU1 et SU2 divergent à partir d'une population de taille efficace Nb	
3	A t générations, séparation de SU2 de taille efficace N2 et d'un groupe ancestral de taille efficace Nb à partir d'une population ancestrale d'une taille efficace Na. A ta générations, SU1 et SU3 divergent à partir d'une population de taille efficace Nb	
4	A t générations, séparation de SU1 de taille efficace N1 et d'un groupe ancestral de taille efficace Nb à partir d'une population ancestrale d'une taille efficace Na. A ta générations, SU2 et SU3 divergent à partir d'une population de taille efficace Nb	
5	A t générations, SU1 et SU2 de taille efficace respective N1 et N2 constante se séparent partir d'une population ancestrale de taille efficace Na A ta générations, il y a mélange d'un ratio ra de SU1 et 1-ra du SU2 donnant SU3 d'une taille efficace N3	
6	A t générations, SU1 et SU3 de taille efficace respective N1 et N3 constante se séparent partir d'une population ancestrale de taille efficace Na A ta générations, il y a mélange d'un ratio ra de SU1 et 1-ra de SU3 donnant SU2 d'une taille efficace N2	
7	A t générations, SU2 et SU3 de taille efficace respective N2 et N3 constante se séparent partir d'une population ancestrale de taille efficace Na A ta générations, il y a mélange d'un ratio ra de SU2 et 1-ra de SU3 donnant SU1 d'une taille efficace N1	

sous-unités actuelles sont plus grandes que celles des populations ancestrales ($N_a < N_1$) et ($N_b < N_2$ et N_3) après les deux événements de divergence (Tableau 9). Enfin, les scénarios 5 et 6 montrent des valeurs modales proches de celles du scénario 4 (Annexe C Tableau S6). Le paramètre r_a , caractérisant le métissage d'une sous-unité à partir des deux autres, montre dans les deux cas une part relativement faible de la SU1 dans le métissage des SU3 (Sc5) et SU2 (Sc6) avec des valeurs modales de 0,101 (IC 95 % [0,010-0,712]) et de 0,131 (IC 95 % [0,009 - 0,644]) respectivement. Ainsi, les trois modèles les plus probables suggèrent une séparation primaire de la SU1 avant la séparation des sous-unités 2 et 3 (Tableau 7).

La confiance accordée au scénario 4 vis-à-vis des six autres scénarios via l'erreur de type I (faux négatif) et II (faux positif) est respectivement de 0,504 et 0,099 [0,034-0,173] (Tableau 10). La valeur la plus haute 0,174 est observée sous le scénario 5 avec 87 pseudo-données simulées sous le scénario 4 sélectionnées.

La robustesse des scénarios les plus probables (Sc4, Sc5 et Sc6) a été testé par 'model checking' à partir de 10 000 pseudo-données simulées. Les variables statistiques simulées ont été comparées à la valeur observée. Sous le scénario 4 (Annexe C Figure S3), seules 2 des 24 variables statistiques présentent des valeurs extrêmes (outliers) avec une probabilité de données simulées inférieures à 0,01 ou 0,99 à la valeur observée (Tableau 10). Ce sont l'indice M_{GW} moyen entre locus dans la SU1 et le F_{st} entre la SU2 et SU3 (Tableau 11). Il est à noter que les probabilités des variables simulées vis-à-vis des variables observées montrent une surestimation de l'ensemble des indices M_{GW} ($P < 0,16$) et une sous-estimation des valeurs de F_{st} ($P > 0,89$). D'ailleurs, les trois probabilités associées aux trois valeurs de paires de F_{st} sont significatives sous les scénarios 5 et 6 (Tableau 11).

Ainsi, la faible valeur du type II (0,099 %) et la robustesse du 'model checking' valide le choix modèle sélectionné.

Tableau 8: Probabilité postérieure des différents scénarios dans l'analyse globale des trois clusters de STRUCUTRE

Scénario	Probabilité postérieure
Scénario 1	0,047 [0,035-0,058]
Scénario 2	0,011 [0,001-0,022]
Scénario 3	0,015 [0,004-0,026]
Scénario 4	0,468 [0,440-0,491]
Scénario 5	0,159[0,143-0,176]
Scénario 6	0,287 [0,265-0,309]
Scénario 7	0,013 [0,002-0,023]

Tableau 9: Estimation des paramètres a postériori sous le scénario le plus probable (scénario 4)

Paramètres	moyenne	médiane	mode	IC à 95%
N1	37 400	38 400	40 900	[19 300-49 300]
N2	43 000	44 300	45 700	[29 400-49 500]
N3	21 500	20 400	20 100	[5 890-44 500]
Nb	12 900	7 190	3 150	[470-64 100]
Na	26 400	18 800	5 830	[1 100-87 500]
t	25 100	18 100	9 650	[3 490-81 200]
ta	14 400	11 700	6 900	[2 480-42 700]
μ	$7,44 \cdot 10^{-5}$	$6,64 \cdot 10^{-5}$	$5,34 \cdot 10^{-5}$	$[3,06 \cdot 10^{-5} - 1,66 \cdot 10^{-5}]$

Tableau 10: Validité des modèles les plus probables.

	Scénario 4	Scénario 5	Scénario 6
Performance			
P(sc4)	248	87	80
P(sc5)	47	193	33
P(sc6)	42	33	190
Type I	0,504	0,614	0,620
Type II	0,099 [0,034 – 0,174]	0,092 [0,038 – 0,124]	0,089 [0,050 – 0,130]
Nombre d'outliers			
p<0,05	0	5	4
p<0,01	2	0	0

4. Discussion

La présente étude s'intéresse à la structure génétique et aux relations démographiques des populations de *N. caerulea* représentatives de la moitié ouest de l'aire de distribution. D'après (Meyer 1979; Koch *et al.* 2013), ces populations correspondraient à la sous-espèce *Noccea caerulea* subsp. *sylvestris*. Les données chloroplastiques semblent supporter cette hypothèse. En effet, elles révèlent l'existence de deux lignées chloroplastiques divergentes. Ce type de généalogie est généralement associé à l'existence d'une barrière durable aux flux de gènes entre populations (Avice 1987). Le fait que les haplotypes P et Q soient minoritaires dans notre échantillonnage et majoritaire dans des populations plus orientales (Annexe C Tableau S1, N. Noret, communication personnelle) suggère l'existence de deux unités phylogéographiques divergentes à l'Ouest et à l'Est de l'aire de distribution de *N. caerulea*. Une différenciation Est vs Ouest est retrouvée chez de nombreuses espèces, notamment tempérées, du fait de l'extension des glaciers et du permafrost sur l'Europe continentale au cours de la dernière glaciation, et d'une séparation latitudinale des espèces en unités vicariantes (Taberlet *et al.* 1998; Avice 2000).

4.1 Une forte structure génétique actuelle et une zone de métissage dans l'unité Ouest de *N. caerulea*

Les indices de différenciation génétique entre populations observés aux niveaux chloroplastiques et nucléaires sont élevés. La valeur de l'indice de différenciation chloroplastique de 0,734 est comprise dans l'intervalle interquartile retrouvée chez les angiospermes [0,416-0,871] alors que la valeur de l'indice de différenciation nucléaire 0,529 est largement supérieure à l'intervalle [0,061-0,230] majoritairement déterminé à partir d'espèces ligneuses (Petit *et al.* 2005).

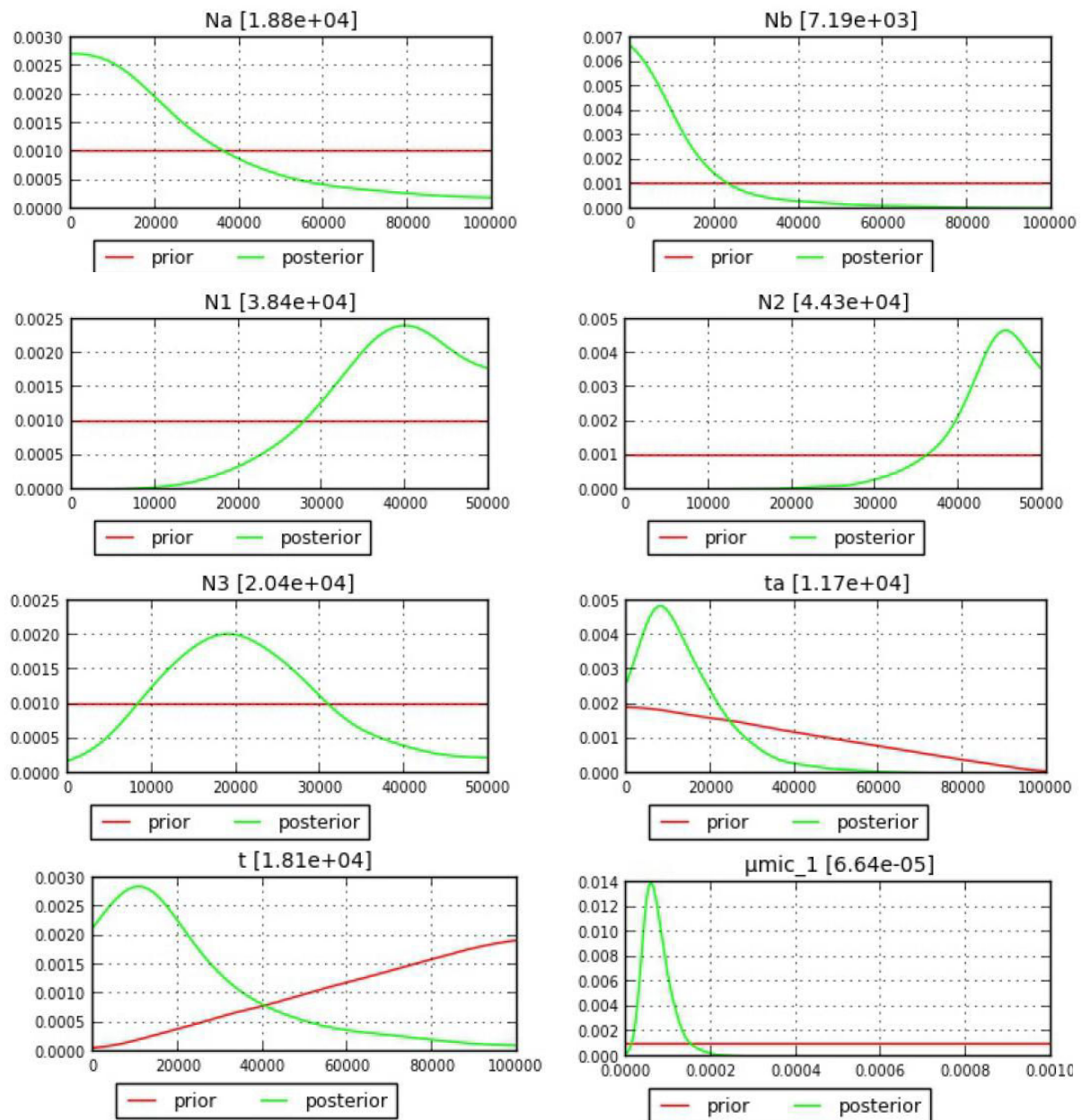


Figure 11: Distribution des paramètres *a posteriori* sous le scénario 4. N1, N2, N3, Nb, Na représentent les tailles efficaces de chaque groupe (voir Tableau 7) ; t et ta représentent les temps de séparation entre les groupe ; μ_{mic} , le taux de mutation moyen.

D'après les estimations des valeurs moyennes de l'indice de différenciation chloroplastique en fonction des traits d'histoires de vies (Aguinagalde *et al.* 2005), la valeur ici est proche de celle des espèces à reproduction sexée ($0,630 \pm 0,060$), d'une pollinisation abiotique ($0,380 \pm 0,080$) et à distribution tempérée ($0,600 \pm 0,050$). D'après Aguinagalde (2005), un niveau élevé de différenciation est attendu chez les espèces tempérées par rapport aux espèces montrant une distribution tempérée à boréale. Il est à noter ici que *N. caerulescens* n'est ni tempérée, ni boréale. Ceci reflèterait un plus grand isolement génétique des populations durant les périodes glaciaires pour les espèces tempérées, notamment dans les grandes péninsules du sud de l'Europe. En effet, lors du dernier maximum glaciaire, il y a 23 000 à 18 000 ans, les glaciers et le permafrost couvraient toute l'Europe centrale et septentrionale, ne laissant libre que les régions du sud de l'Europe (Hewitt 2004; Clark *et al.* 2012). Ainsi, les espèces tempérées ont migré vers trois zones de refuges principales que sont les Balkans, la péninsule ibérique et l'Italie puis ont recolonisé le nord de l'Europe à la fin des glaciations. Les généalogies de gènes chloroplastiques permettent de mettre en évidence les différentes lignées issues de l'isolement dans les refuges lors de la dernière glaciation (Taberlet *et al.* 1998; Schaal *et al.* 2000). Cependant, ces résultats sont généralement obtenus sur l'ensemble de la distribution européenne des espèces considérées, ce qui n'est pas notre cas. Transposé à *N. caerulescens*, ce raisonnement supposerait que les populations d'Europe de l'Ouest dérivent de plusieurs refuges glaciaires. En effet, une différence de la composition haplotypique est observée entre le sud (Cévennes) et le nord du Massif Central alors que les stations sont proches géographiquement. Il est alors possible d'envisager deux zones refuges dont le premier, peut-être d'origine italienne, serait à l'origine des stations des Cévennes et le deuxième, plus à l'ouest, peut-être ibérique ou pyrénéens, serait à l'origine des autres stations du Massif Central. Un tel scénario n'est pas conforme avec les résultats généralement

Tableau 11 : Résultats des probabilités ($S_{\text{simulées}} < S_{\text{observées}}$) données pour chaque variable statistiques S après 10 000 pseudo-données sous les scénarios 4, 5 et 6 par le *model checking* dans chaque sous unité ou par paires.

S	$S_{\text{observées}}$	Probabilité ($S_{\text{simulées}} < S_{\text{observées}}$)		
		Scénario 4	Scénario 5	Scénario 6
A SU1	12,5	0,645	0,709	0,625
A SU2	12,8	0,752	0,726	0,594
A SU3	8,66	0,479	0,447	0,540
He SU1	0,788	0,668	0,724	0,629
He SU2	0,611	0,133	0,043*	0,036*
He SU3	0,582	0,181	0,076	0,164
V SU1	17,4	0,776	0,815	0,753
V SU2	11,1	0,707	0,597	0,548
V SU3	7,20	0,576	0,395	0,504
M_{GW} SU1	0,695	0,009 **	0,014*	0,014*
M_{GW} SU2	0,830	0,166	0,229	0,197
M_{GW} SU3	0,727	0,111	0,215	0,168
A2P SU1 & SU2	16,5	0,726	0,752	0,684
A2P SU1 & SU3	14,8	0,655	0,722	0,650
A2P SU2 & SU3	14,2	0,728	0,686	0,630
He2P SU1 & SU2	0,757	0,356	0,258	0,239
He2P SU1 & SU3	0,758	0,446	0,398	0,400
He2P SU2 & SU3	0,67	0,252	0,101	0,137
V2P SU1 & SU2	16,5	0,731	0,722	0,659
V2P SU1 & SU3	13,5	0,635	0,652	0,567
V2P SU2 & SU3	11,4	0,701	0,580	0,583
Fst SU1 & SU2	0,221	0,928	0,989*	0,988*
Fst SU1 & SU3	0,238	0,896	0,981*	0,905
Fst SU2 & SU3	0,193	0,990**	0,981*	0,981*

Les variables résumées sont : le nombre d'allèles moyen par locus, l'hétérozygotie attendue et la variance moyenne de la taille allélique absolue pour chaque population (A, He et V respectivement) et pour chaque paire de populations (A2P, He2P et V2P respectivement) ; les valeurs de Fst par paires, l'indice moyen M_{GW} entre locus.

*, ** correspondent à l'aire de la probabilité $<0,05$, $<0,01$ respectivement.

obtenus sur des espèces végétales tempérées, pour lesquelles les populations occidentales dérivent généralement d'un refuge ibérique (Hewitt 2000, 2001). Il a cependant déjà été suggéré, par exemple chez le chêne, espèce pour laquelle des refuges secondaires d'origine italiennes auraient pu participer à la recolonisation du quart Sud-Est de la France (Petit *et al.* 2002). De plus, le côté européen du bassin méditerranéen est connu pour la présence de multiples refuges, parfois de petites tailles autres que les trois zones refuges principales (Médail et Diadema 2009). Enfin, il est notable que *N. caerulea* n'est pas exclusivement une espèce tempérée mais peut se développer également à moyenne altitude (chapitre 2). En conséquence, il est envisageable qu'elle ait aussi survécu aux périodes glaciaires à des latitudes supérieures à celles couramment envisagées (Schönswetter *et al.* 2005; Holderegger et Thiel-Egenter 2009). Dans ce contexte, la modélisation de la niche écologique de l'espèce et sa projection à l'aide de données paléoclimatiques permettrait d'avoir une idée de la distribution de l'espèce à la fin du dernier maximum glaciaire (Knowles *et al.* 2007).

L'analyse des données microsatellites montre une structuration hiérarchisée sans distinction selon les types édaphiques mais présentant une bonne cohérence géographique. Au niveau supérieur de structuration, l'analyse ΔK suggère l'existence de trois pools génétiques nommées SU1, SU2 et SU3. On distingue un premier groupe génétique rassemblant les stations du sud du Massif Central, un deuxième comprenant les stations du nord-ouest du Massif Central, des Pyrénées, et du massif alpin, et enfin un troisième avec les stations du Jura et des Vosges (Figure 9). L'existence d'une différenciation génétique significative au niveau chloroplastique entre les trois sous-unités suggère une bonne cohérence entre données nucléaires et chloroplastiques. De plus, sous DAPC, la décroissance continue du BIC peut être interprétée comme révélant une structuration en 'stepping stone' hiérarchique (Jombart *et al.* 2010). Dans le cas des modèles hiérarchiques, DAPC ne détecte pas le premier niveau hiérarchique au contraire de STRUCTURE où le flux de gènes est censé être plus faible que

dans le(s) niveau(x) inférieure(s). Ici, le premier niveau hiérarchique correspondrait aux trois groupes génétiques définis par STRUCTURE. L'analyse de l'isolement par la distance (IBD) conforme ce modèle hiérarchique en 'stepping stone' avec la présence d'IBD entre les stations à l'intérieur des sous-unités sauf pour la SU3 et d'une absence d'IBD entre les sous-unités suggérant l'existence de barrière aux flux de gènes. A l'intérieur des trois sous-unités, une forte structuration est également observée avec des valeurs de F_{st} entre stations d'une même sous-unité supérieures à 0,400 (0,448 ; 0,426 ; 0,514, tableau 5). De plus, les valeurs de F_{st} par paires de stations sont élevées, supérieures à 0,25 dans la majorité des cas. Des résultats comparables ont également été observés dans les Cévennes par des études sur les isozymes et des microsatellites (Dubois *et al.* 2003; Jiménez-Ambriz *et al.* 2007). Ces valeurs élevées sont légèrement plus faibles que les valeurs observées chez *Arabidopsis thaliana*, une espèce autogame strict dans quatre zones françaises avec des valeurs de F_{st} variant de 0,480 à 0,610 (Brachi *et al.* 2013).

Quelques stations s'écartent néanmoins de ce patron géographique: les stations belges et du nord du massif central présentent des résultats contrastés à $K=3$ entre l'analyse sous STRUCTURE et DAPC (Annexe C Tableau S4). Sous STRUCTURE, ces populations présentent des coefficients d'appartenance moyens inférieurs à 0,8 indiquant une zone de métissage entre le groupe K_{3S2} et K_{3S3} hormis la station d'Angleur (B02). Cette dernière appartient au même sous-groupe génétique à $K=10$ que Viviez sous STRUCTURE. Ceci pourrait résulter d'introductions récentes de génotypes du Sud de la France notamment de Viviez dans la zone. Différents auteurs signalent l'acheminement de minerais provenant de toutes l'Europe dont Viviez dans la région de Liège vers la fin du XIXe siècle (Peters, communication personnelle ; (Ernst 2006). Avec le minerai, des apports de graines des sites d'origines sont possibles puis les individus ont pu se naturaliser.

4.2 Evolution démographique en Europe de l'Ouest

L'analyse des scénarios démographiques et les régressions des indices de diversité génétique permettent de discuter l'évolution démographique de *N. caerulea* en Europe de l'Ouest.

L'analyse ABC supporte une séparation primaire de la SU1 comprenant les stations du sud du Massif Central, les stations calaminaires de l'Ardèche, de l'Aveyron et des Cévennes mais également les deux stations non métallifères proches géographiquement de ces stations calaminaires (scénario 4) (Tableau 7). L'analyse ABC suggère aussi une divergence secondaire entre SU2 et SU3. Les valeurs modales des temps de divergence associés sont $t = 9\,650$ et $t_a = 6900$, respectivement. Il est relativement difficile de traduire en temps annuels les nombre de génération estimés. En effet, les temps de générations chez *N. caerulea* semblent varier selon les zones géographiques avec des populations annuelles dans le Sud de la France et des populations bisannuelles et pérennes dans les stations belges et luxembourgeoises (Dubois 2005; Dechamps *et al.* 2011). Néanmoins, les temps de divergences semblent indiquer des événements ultérieurs à la fin du dernier maximum glaciaire. Il est à noter qu'une réduction de moitié de la taille efficace est observée entre la population ancestrale Na donnant la SU1 et la population ancestrale NB donnant les SU2 et SU3. Les augmentations des valeurs de tailles efficaces dans les trois SU par rapport aux deux populations ancestrales suggèrent une expansion démographique après les deux événements de divergence. Ceci est congruent avec la structure en étoile observée dans la généalogie des chloroplastes qui comprend quelques haplotypes centraux (C, E, F), majoritairement retrouvés dans les trois SU avec C et E dans la SU1, E et F dans la SU2 et C dans la SU3 desquels divergent par une ou deux mutations les autres haplotypes (A, B, D, G, H, I); une telle structure est généralement interprétée comme un signe d'expansion démographique.

Parmi les variables des scénarios démographiques, l'estimation du taux moyen de mutation est très important (Kronholm *et al.* 2010). L'estimation de l'ensemble des paramètres nécessite de fixer la valeur du taux de mutation moyen (Cornuet *et al.* 2006). La valeur modale estimée ici de $5,34 \cdot 10^{-5}$ est plus faible que la valeur moyenne estimée de $8,87 \cdot 10^{-4}$ par génération et par locus pour des motifs dinucléotidiques chez *Arabidopsis thaliana* (Marriage *et al.* 2009). La valeur observée est proche de celle estimée pour le motif CA avec $4,96 \cdot 10^{-5}$. Les taux de mutation des microsatellites varient selon le motif mais également la taille du motif. Les estimations directes des taux de mutations des trinucléotides chez le maïs montrent qu'ils sont plus faibles que les dinucléotides. Dans cette étude, les 12 marqueurs se composent de cinq motifs trinucléotides et sept dinucléotides, ce qui peut expliquer la valeur moyenne estimée plus basse que celle d'*Arabidopsis thaliana*.

L'évolution démographique des trois sous-unités montre des origines multiples dans la colonisation des sites calaminaires et à serpentines. En effet, la station à serpentine F04 est dans la sous-unité 3 allant du Jura à la Belgique et les deux autres stations dans la sous-unité 2, qui aurait divergé il y a 7 000 générations. Au niveau des stations calaminaires, les deux zones que sont le sud de la France et les stations belges apparaissent dans deux sous-unités différentes ayant divergées il y a plus de 9 000 générations. Des origines multiples des stations métallifères ont été montrées chez différentes pseudo-métallophytes comme *Armeria maritima* (Vekemans *et al.* 1997) ou encore *Arabidopsis halleri* (Pauwels *et al.* 2012).

En plus du modèle démographique de l'ABC, la décroissance de la diversité génétique nucléaire du sud vers le nord suggère l'existence d'une voie de recolonisation postglaciaire de l'Europe (Figure 4). En effet, il est prédit que la diversité génétique décroît dans les zones de colonisation, correspondant à des événements de fondation lors de la colonisation de nouveaux habitats (Ramachandran *et al.* 2005). Néanmoins, dans l'hypothèse de l'existence de multiples refuges, comme suggéré précédemment, la SU2 ne résulterait pas nécessairement

d'un mouvement de recolonisation vers le nord à partir de la région directement au sud où se trouvent les populations de la SU1. Notre hypothèse envisagerait plutôt une décroissance de la diversité génétique depuis les Pyrénées dans la SU2 puis dans la SU3, séparant la SU1 des deux autres. Le patron de colonisation est similaire à celui des espèces d'arbres tempérées avec un gradient du sud au nord depuis les zones de refuges. Néanmoins, la diversité génétique observée chez une vingtaine d'espèces d'arbres tempérés est plus élevée au niveau des latitudes moyennes que dans les zones de refuges situées au sud de l'Europe (Petit *et al.* 2003). Pour la SU1, l'absence de la localisation précise de la possible zone refuge et de sa diversité génétique ne permet pas de vérifier cette hypothèse alors que la forte diversité chloroplastique dans la SU2 est conforme à cette observation contrairement à la diversité nucléaire (Comps *et al.* 2001).

Les deux variables résumées observées déviant de la distribution *a posteriori* des valeurs simulées sont l'indice M_{GW} de la SU1 et la paire de F_{st} entre la SU2 et SU3 suggérant respectivement une surestimation de réduction de taille efficace (Garza *et al.* 2001) et une sous estimation de la différenciation génétique entre les deux SU. Les goulots d'étranglement ne sont pas présents dans les modèles testés. Il serait donc intéressant d'inclure ces événements et comparer les probabilités postérieures dans une analyse ABC confrontant des modèles avec et sans goulot d'étranglement pour mieux approximer les différents événements démographiques.

5. Conclusion

Cette étude confirme que les stations de la partie ouest de la distribution de *N. caerulescens* appartiennent à une unité de l'espèce. A l'intérieur de cette unité, une forte structuration génétique est observée aux niveaux chloroplastiques et nucléaires formant trois sous-unités et quinze groupes génétiques sur la base de la géographie. De plus, la composition haplotypique et l'analyse de l'évolution démographique suggèrent une origine multiple de la colonisation

post glaciaire mais aussi des milieux métallifères avec une histoire indépendante des stations cévennoles (SU1) séparées après le dernier maximum glaciaire des autres stations plus au nord. Ces dernières stations se seraient séparées plus récemment pour former les deux autres sous-unités.

La structure génétique neutre observée ici ne se discrimine pas selon le type édaphique et l'appartenance des stations métallifères à différentes sous-unités supportent l'hypothèse d'évolutions adaptatives multiples et indépendantes mais convergentes vers le phénotype observée en milieux métallifères, c'est-à-dire une tolérance accrue et l'hyperaccumulation des éléments en traces.

Conclusions générales et perspectives

Le travail de thèse présenté ici avait pour objectif d'étudier la distribution, l'écologie et l'évolution de l'espèce hyperaccumulatrice *Noccaea caerulescens*. Malgré son statut d'espèce modèle pour l'étude de l'hyperaccumulation et de tolérance aux métaux, l'écologie et l'histoire évolutive de l'espèce furent jusqu'à présent peu étudiées, notamment à une grande échelle spatiale, au-delà des quelques populations référencées. C'est pourquoi une approche pluridisciplinaire a été utilisée afin de décrire au mieux la variabilité quantitative d'un trait phénotypique, l'hyperaccumulation d'éléments métalliques, *in situ* et en conditions contrôlées mais également de replacer les populations dans leur contexte historique et écologique.

1- Amplitude écologique chez *Noccaea caerulescens*

L'étude des 63 stations de *Noccaea caerulescens* a permis de montrer une large amplitude écologique tant aux niveaux des milieux miniers, non miniers et à serpentines que des caractéristiques édaphiques de ceux-ci. L'espèce montre une amplitude et une certaine plasticité dans ses préférences environnementales illustrées par une variation altitudinale de plus de 2 000 mètres et une présence dans six massifs présentant des conditions climatiques différentes.

Les propriétés édaphiques des stations ont aussi montré une large gamme de variation pour la concentration dans le sol de certains éléments en traces comme Cd, Ni, Zn montrant des coefficients de variations très élevés mais aussi pour d'autres paramètres édaphiques comme le pH montrant par exemple une variation de quatre unités sur l'ensemble des stations. Les distributions des concentrations totales et échangeables en Cd, Cu, Ni et Zn se chevauchent entre les milieux miniers et non miniers, estompant la différence apparente entre ces milieux en termes de disponibilité des ET. Si des valeurs élevées et hétérogènes des concentrations des éléments en traces dans les sols est intuitive pour les milieux miniers, nos résultats

montrent également de fortes valeurs et de l'hétérogénéité pour les teneurs en ET disponibles dans les milieux non miniers. Les stations minières où l'on trouve *N. caerulescens* sont des sites métallifères secondaires dérivant de l'exploitation humaine des sites primaires et des sites tertiaires issus des retombés atmosphériques, comme à Prayon. Les différents procédés de transformation des ressources minérales ainsi que la nature de celle-ci peuvent expliquer les variations des concentrations de chaque site. En milieu non minier, de fortes variations des concentrations échangeables pour l'ensemble des éléments en traces s'expliquent par des fonds pédogéochimiques différents en lien avec la roche mère comme les fortes concentrations en Cd dans les stations sur calcaires du Jura mais également par les processus géochimiques en lien avec le pH. Du fait de ces variations de pH, les stations non minières se distinguent entre elles par les teneurs de leurs sols en aluminium échangeable. Cela soulève des questions quant à la tolérance de *N. caerulescens* à l'aluminium, éléments extrêmement toxique pour les végétaux et le lien entre cette tolérance et celle pour les autres métaux.

Parmi les stations non minières acides (NMA) prospectées, la station vosgienne F03, les deux stations du Morvan F05 et F13 ainsi que la station pyrénéenne F14 intriguent. Ces stations présentent des pH acides et de fortes teneurs totales et échangeables en éléments en traces métalliques qui font d'elles des anomalies pédogéochimiques et conduisent à les assimiler à des sites métallifères primaires au regard de l'absence d'activité industrielle dans les environs. L'utilisation du terme calaminaire paraît peu appropriée dans leur cas si une clarification du terme n'est pas effectuée. Si le terme calaminaire repose sur de fortes concentrations en éléments chalcophiles dans les sols alors les sites métallifères primaires peuvent être également qualifiés de calaminaires. Par contre, si la notion de calaminaire se réfère à l'ensemble des facteurs biotiques et abiotiques des sites influençant les métallobytophytes, les quatre sites métallifères primaires particuliers sont différents des sites métallifères secondaires et tertiaires. En effet, le couvert végétal retrouvé dans ces quatre stations NMA

diffère de celle des anciennes zones minières ou de fonderies, principalement composé d'une pelouse calaminaire et des métalphytes indicateurs. Enfin, le dosage en certains éléments dans les terres comme Cu ou Fe révèle des concentrations échangeables en dessous des limites de quantification chez un grand nombre de stations. Ces éléments sont peu échangeables avec la cobaltihexamine et sont mieux dosés par des extractants tels que le DTPA ou l'EDTA. Il serait donc intéressant de mieux estimer ces éléments avec d'autres méthodes de dosages. De plus, il a été montré en conditions contrôlées qu'une déficience en Fe entraînait une surexpression du gène IRT1 chez la population de Ganges, permettant une plus grande accumulation du Cd (Lombi *et al.* 2000). Qu'en est-il sur le terrain ?

Notre étude s'est principalement focalisée sur les caractéristiques abiotiques des stations. Il paraît important maintenant d'étudier les caractéristiques biotiques de celle-ci comme la pression des herbivores. (Noret *et al.* 2007) ont montré en effet que la pression des herbivores représentés par les gastéropodes était moins importante dans les milieux miniers qu'en milieux non miniers pour les populations du sud de la France, de Belgique et du Luxembourg. Une étude comparable chez les 42 nouvelles stations présentées (ou un sous échantillon représentatif) serait intéressante.

2- Origine des populations et de l'hyperaccumulation

Les analyses génétiques de clustering ont montré une structuration génétique importante et hiérarchique des stations de *N. caerulea* avec trois sous-unités génétiques dans la partie Ouest de la distribution de l'espèce. Chacune de ces sous-unités contient à la fois des stations métallifères à savoir minières et non minières. Les stations à serpentines apparaissent dans deux sous-unités. Ces résultats soutiennent l'hypothèse d'origines multiples et indépendantes des populations métallifères, les stations minières et à serpentines chez l'espèce. Ce résultat est conforme avec ceux obtenus par des isozymes sur la même zone géographique (Koch *et al.* 1998). Le même patron est retrouvé chez d'autres pseudo-métallophytes comme

Arabidopsis halleri (Pauwels *et al.* 2005, 2012), *Armeria maritima* (Vekemans *et al.* 1997).

Même si la structure des populations neutre ne concorde pas à une grande échelle avec les types édaphiques métallifères et non métallifères, il serait intéressant d'étudier de possibles associations locales entre les propriétés écologiques et la structure génétique des populations. En effet, la connaissance de l'influence des caractéristiques écologiques sur la structure des populations est nécessaire pour comprendre les processus d'adaptation locale et les flux de gènes entre les populations (Manel *et al.* 2003; Manel et Holderegger).

Les dosages en éléments en traces *in situ* et l'analyse en hydroponie permettent de confirmer que l'hyperaccumulation du Cd et du Zn est un trait spécifique de l'espèce. Etant donnée la forte structure hiérarchique en trois sous-unités obtenues par clustering, il serait parcimonieux de considérer que l'acquisition des capacités d'hyperaccumulation est largement à la séparation des trois sous-unités. L'estimation par ABC de 9 000 générations est largement antérieure à l'exploitation des sites miniers. Cela pose alors la question des pressions de sélection, notamment en relation avec les composantes édaphiques à l'origine de l'acquisition des capacités d'accumulation ou à de possibles pré-adaptations aux conditions métallifères. Une hypothèse possible est que cela se soit passé dans des milieux métallifères primaires avant que ceux-ci soient modifiés par l'exploitation humaine des milieux. Par une analyse ABC sur les séquences *AhHMA4*, gène impliqué dans la translocation du Cd et du Zn (Craciun *et al.* 2012), (Roux *et al.* 2011) ont estimé que les deux duplications du nombre de copies d'*AhHMA4* chez *Arabidopsis halleri*, supposées participer à l'évolution de la tolérance et l'hyperaccumulation chez cette espèce, dateraient d'il y a 357 000 ans [IC 95% 216 968–1 057 370] et 250 000 ans [5 790–474 510] respectivement. Les temps estimés sont ici aussi bien antérieurs à la contamination des sols métallifères secondaires et tertiaires et, a fortiori, à la colonisation de ces sols par les métallobytophytes. S'il est possible de déterminer les localisations possibles des espèces, sur la base de modèle de niche, lors du dernier maximum

glacier, il est difficilement possible de décrire les localisations antérieures à cette période. De plus, les conditions édaphiques avant l'Holocène restent méconnues. Une nouvelle fois, si l'on considère que les concentrations en ET dans les sols sont à l'origine de l'évolution de l'hyperaccumulation, l'hypothèse d'une origine sur site métallifère primaire est à privilégier.

3- Vers l'utilisation des capacités naturelles pour la phytoextraction ou la phytomine

Nos résultats *in situ* et en conditions contrôlées confirment les fortes capacités d'accumulations des populations françaises de *N. caerulescens* et leurs potentiels pour une utilisation en phytoremédiation. Nos données montrent une continuité de la distribution des concentrations foliaires, ceci en lien avec le grand nombre de populations étudiées. Toutefois, les concentrations foliaires varient entre et à l'intérieur des groupes édaphiques. Les populations issues des milieux miniers présentent le meilleur potentiel pour la phytoextraction du Cd, du fait des plus fortes concentrations en ce métal dans leurs parties aériennes. Cependant l'amélioration de la production de biomasse peut passer par une phase d'amélioration et de domestication des capacités naturelles. Ceci devra être réalisé sur sol pour se rapprocher au mieux des conditions des terres à remédier. De plus, la composition édaphique des terres sujettes à la phytoextraction peut différer des conditions naturelles rencontrées chez *N. caerulescens*. Dans leur étude, (Sirguey et Ouvrard 2013) ont montré que la salinité d'un sol à remédier avait un effet d'inhibition sur la germination des graines issues la population de Ganges.

Certaines plantes de stations non minières présentent quant à elles des concentrations foliaires en Ni *in situ* comparables à celles de stations à serpentines alors que les concentrations dans les sols sont faibles. De même, en conditions contrôlées, les plantes

issues de ces stations présentent de plus fortes concentrations en Ni. Ce résultat ouvre de nouvelles perspectives pour la phytomine du Ni (Brooks *et al.* 1998). Actuellement, la phytomine est réalisée sur les milieux à serpentines avec des hyperaccumulateurs de Ni comme les *Alyssum* (Bani *et al.* 2007). Les populations non minières F32, F35 et It02, retrouvées sur des prairies offrent de nouvelles perspectives avec des nouveaux sites pour la phytomine et des conditions de sols *a priori* moins stressantes que les milieux de serpentines.

Au cours de cette thèse, la prospection des 63 stations et leurs caractérisations au niveau des propriétés édaphiques permettent d'aboutir à une base de données importante sur une partie du contexte écologique dans la partie Ouest de la distribution de *N. caerulescens*. Avec le développement des méthodes de séquençage haut débit, les ressources génomiques permettraient d'étudier les bases génétiques de possible adaptation locale à des conditions écologiques particulières. En effet, le séquençage du génome de *N. caerulescens* est presque achevé (Aarts, comm pers) et sera donc bientôt disponible. Les données correspondantes représenteront un atout important pour le développement d'approches de type 'Genome-Wide Association (GWA) mapping' ou des scans génomiques.

Références bibliographiques

- Adriano, D.C., Bolan, N.S., Vangronsveld, J. et Wenzel, W.W. (2005) HEAVY METALS. *Encyclopedia of Soils in the Environment* (éd Daniel Hillel), p. 175-182. Elsevier, Oxford.
- Aguinagalde, I., Hampe, A., Mohanty, A., Martín, J.P., Duminil, J. et Petit, R.J. (2005) Effects of life-history traits and species distribution on genetic structure at maternally inherited markers in European trees and shrubs. *Journal of Biogeography*, **32**, 329-339.
- Antonovics, J. (1968) Evolution in closely adjacent plant populations V. Evolution of self-fertility. *Heredity*, **23**, 219-238.
- Antonovics, J., Bradshaw, A.D. et Turner, R.G. (1971) Heavy metal tolerance in plants. *Advances in ecological research*, **7**, 85.
- Assunção, A.G.L., Bleeker, P., Wilma, M., Vooijs, R. et Schat, H. (2008) Intraspecific variation of metal preference patterns for hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*: evidence from binary metal exposures. *Plant and Soil*, **303**, 289-299.
- Assunção, A.G.L., Bookum, W.M., Nelissen, H.J., Vooijs, R., Schat, H. et Ernst, W.H.. (2003) Differential metal-specific tolerance and accumulation patterns among *Thlaspi caerulescens* populations originating from different soil types. *New Phytologist*, **159**, 411-419.
- Avice, J.C. (1989) Gene trees and organismal histories: a phylogenetic approach to population biology. *Evolution*, 1192-1208.
- Avice, J.C. (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard Univ Pr.
- Baize, D. (1997) *Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France)*. Editions Quae.
- Baize, D. et Sterckeman, T. (2001) Of the necessity of knowledge of the natural pedo-geochemical background content in the evaluation of the contamination of soils by trace elements. *Science of the Total Environment*, **264**, 127-139.
- Baker, A.J.. (1981) Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of plant nutrition*, **3**, 643-654.
- Baker, A.J.M. (1987) Metal Tolerance. *New Phytologist*, **106**, 93-111.
- Baker, A.J.M. et Brooks, R. (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery.*, **1**, 81-126.
- Baker, A.J., Ernst, W.H., van der Ent, A., Malaisse, F. et Ginocchio, R. (2010) Metallophytes: the unique biological resource, its ecology and conservational status in Europe, central Africa and Latin America. *Ecology of industrial pollution. Cambridge University Press, Cambridge*, 7-40.
- Ball, I.R. (1975) Nature and formulation of biogeographical hypotheses. *Systematic Biology*, **24**, 407-430.
- Banasova, V., Horak, O., Nadubinska, M. et Ciamporova, M. (2008) Heavy metal content in *Thlaspi caerulescens* J. et C. Presl growing on metalliferous and non-metalliferous soils in Central Slovakia. *International Journal of Environment and Pollution*, **33**, 133-145.
- Bani, A., Echevarria, G., Reeves, R., Sulcice, S., Mullaj, A. et Morel, J.L. (2008) Nickel hyperaccumulation in the serpentine flora of Albania and Greece. *Poster in Sixth*

International Conference on Serpentine Ecology. College of Atlantic. Bar Harbor, ME, USA
p. 15–20.

Bani, A., Echevarria, G., Sulçe, S., Morel, J.L. et Mullai, A. (2007) In-situ phytoextraction of Ni by a native population of *Alyssum murale* on an ultramafic site (Albania). *Plant and Soil*, **293**, 79–89.

Barber, S.A. (1995) *Soil nutrient bioavailability: a mechanistic approach*. John Wiley & Sons.

Barrette, M., Daigle, G. et Dodson, J.J. (2009) Intraspecific vicariant history and the evolution of adaptive morphological diversity in a fish species (*Osmerus mordax*). *Biological Journal of the Linnean Society*, **97**, 140–151.

Basic, N., Keller, C., Fontanillas, P., Vittoz, P., Besnard, G. et Galland, N. (2006a) Cadmium hyperaccumulation and reproductive traits in natural *Thlaspi caerulescens* populations. *Plant biol (Stuttg)*, **8**, 64–72.

Basic, N., Salamin, N., Keller, C., Galland, N. et Besnard, G. (2006b) Cadmium hyperaccumulation and genetic differentiation of *Thlaspi caerulescens* populations. *Biochemical Systematics and Ecology*, **34**, 667–677.

Beaumont, M.A., Zhang, W. et Balding, D.J. (2002) Approximate Bayesian computation in population genetics. *Genetics*, **162**, 2025–2035.

Beilstein, M.A., Al-Shehbaz, I.A. et Kellogg, E.A. (2006) Brassicaceae phylogeny and trichome evolution. *American Journal of Botany*, **93**, 607.

Bert, V., Bonnin, I., Saumitou-Laprade, P., De Laguérie, P. et Petit, D. (2002) Do *Arabidopsis halleri* from nonmetallicolous populations accumulate zinc and cadmium more effectively than those from metallicolous populations? *New Phytologist*, **155**, 47–57.

Bertorelle, G., Benazzo, A. et Mona, S. (2010) ABC as a flexible framework to estimate demography over space and time: some cons, many pros. *Molecular Ecology*, **19**, 2609–2625.

Besnard, G., Basic, N., Christin, P.A., Savova-Bianchi, D. et Galland, N. (2009) *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae) population genetics in western Switzerland: is the genetic structure affected by natural variation of soil heavy metal concentrations? *New Phytologist*, **181**, 974–984.

Bonneau, M. et Souchier, B. (1979) *Pedologie. 2. Constituants et propriétés du sol*, Masson, Paris, 459.

Bourennane, H., Douay, F., Sterckeman, T., Villanneau, E., Ciesielski, H., King, D. et Baize, D. (2010) Mapping of anthropogenic trace elements inputs in agricultural topsoil from Northern France using enrichment factors. *Geoderma*, **157**, 165–174.

Bourrelrier, P.-H. et Berthelin, J. (1998) *Contamination des sols par les éléments en traces: Les risques et leur gestion*. Technique et documentation.

Boyd, R.S. (2009) High-nickel insects and nickel hyperaccumulator plants: A review. *Insect Science*, **16**, 19–31.

Boyd, R.S. et Martens, S.N. (1992) The raison d'être for metal hyperaccumulation by plants. *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils* p. 279–289.

Boyd, R.S. et Martens, S.N. (1998a) Nickel hyperaccumulation by *Thlaspi montanum* var. *montanum* (Brassicaceae): a constitutive trait. *American journal of botany*, **85**, 259.

- Boyd, R.S. et Martens, S.N. (1998b) The significance of metal hyperaccumulation for biotic interactions. *Chemoecology*, **8**, 1–7.
- Brachi, B., Villoutreix, R., Faure, N., Hautekèete, N., Piquot, Y., Pauwels, M., Roby, D., Cuguen, J., Bergelson, J. et Roux, F. (2013) Investigation of the geographical scale of adaptive phenological variation and its underlying genetics in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, n/a–n/a.
- Brady, K.U., Kruckeberg, A.R. et Bradshaw Jr, H.D. (2005) Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 243–266.
- Brooks, R.R., Chambers, M.F., Nicks, L.J. et Robinson, B.H. (1998) Phytomining. *Trends in Plant Science*, **3**, 359–362.
- Brooks, R.R., Lee, J., Reeves, R.D. et Jaffre, T. (1977) Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *Journal of Geochemical Exploration*, **7**, 49–57.
- Brooks, R.R. et Radford, C.C. (1978) Nickel Accumulation by European Species of the Genus *Alyssum*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, **200**, 217–224.
- Callahan, D.L., Baker, A.J., Kolev, S.D. et Wedd, A.G. (2006) Metal ion ligands in hyperaccumulating plants. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **11**, 2–12.
- Cappa, J.J. et Pilon-Smits, E.A.H. (2014) Evolutionary aspects of elemental hyperaccumulation. *Planta*, 267–275.
- Cecchi, L., Gabbrielli, R., Arnetoli, M., Gonnelli, C., Hasko, A. et Selvi, F. (2010) Evolutionary lineages of nickel hyperaccumulation and systematics in European *Alyseae* (Brassicaceae): evidence from nrDNA sequence data. *Annals of botany*, **106**, 751–767.
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S. et Baker, A.J. (1997) Phytoremediation of soil metals. *Current opinion in Biotechnology*, **8**, 279–284.
- Chardot, V. (2007) *Réponse des Brassicacées hyperaccumulatrices à la biodisponibilité du nickel des sols ultramfiques*. INPL Vandœuvre-lès-Nancy
- Clark, P.U., Shakun, J.D., Baker, P.A., Bartlein, P.J., Brewer, S., Brook, E., Carlson, A.E., Cheng, H., Kaufman, D.S., Liu, Z., Marchitto, T.M., Mix, A.C., Morrill, C., Otto-Bliesner, B.L., Pahnke, K., Russell, J.M., Whitlock, C., Adkins, J.F., Blois, J.L., Clark, J., Colman, S.M., Curry, W.B., Flower, B.P., He, F., Johnson, T.C., Lynch-Stieglitz, J., Markgraf, V., McManus, J., Mitrovica, J.X., Moreno, P.I. et Williams, J.W. (2012) Global climate evolution during the last deglaciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **109**, E1134–E1142.
- Clemens, S. (2001) Molecular mechanisms of plant metal tolerance and homeostasis. *Planta*, **212**, 475–486.
- Coquand, H. (1857) *Traité des roches considérées au point de vue de leur origine, de leur composition, de leur gisement et de leurs applications à la géologie et à l'industrie, suivi de la description des minerais qui fournissent les métaux utiles*. Baillière.
- Cornuet, J.-M., Excoffier, L., Franck, P. et Estoup, A. (2006) Inférence bayésienne dans des scénarios évolutifs complexes avec populations mélangées: application à l'abeille domestique. *Les actes du BRG*, **6**, 163–180.

Cornuet, J.-M., Santos, F., Beaumont, M.A., Robert, C.P., Marin, J.-M., Balding, D.J., Guillemaud, T. et Estoup, A. (2008) Inferring population history with DIY ABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics*, **24**, 2713–2719.

Craciun, A.R., Meyer, C.-L., Chen, J., Roosens, N., De Groot, R., Hilson, P. et Verbruggen, N. (2012) Variation in HMA4 gene copy number and expression among *Nocca caerulescens* populations presenting different levels of Cd tolerance and accumulation. *Journal of experimental botany*, **63**, 4179–4189.

Crisp, M.D., Trewick, S.A. et Cook, L.G. (2011) Hypothesis testing in biogeography. *Trends in Ecology & Evolution*, **26**, 66–72.

Csillery, K., Blum, M.G., Gaggiotti, O.E. et Francois, O. (2010) Approximate Bayesian computation (ABC) in practice. *Trends in ecology & evolution*, **25**, 410–418.

Cunningham, S.D., Berti, W.R. et Huang, J.W. (1995) Phytoremediation of contaminated soils. *Trends in Biotechnology*, **13**, 393–397.

Custos, J.-M., Moyne, C., Treillon, T. et Sterckeman, T. (2014) Contribution of Cd-EDTA complexes to cadmium uptake by maize: a modelling approach. *Plant and Soil*, **374**, 497–512.

Das, P., Samantaray, S. et Rout, G.R. (1997) Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environmental Pollution*, **98**, 29–36.

Dat, J., Vandenabeele, S., Vranová, E., Montagu, M.V., Inzé*, D. et Breusegem, F.V. (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, **57**, 779–795.

Dechamps, C., Elvinger, N., Meerts, P., Lefebvre, C., Escarré, J., Colling, G. et Noret, N. (2011) Life history traits of the pseudometallophyte *Thlaspi caerulescens* in natural populations from Northern Europe. *Plant biology*, **13**, 125–135.

Dechamps, C., Lefebvre, C., Noret, N. et Meerts, P. (2007) Reaction norms of life history traits in response to zinc in *Thlaspi caerulescens* from metalliferous and nonmetalliferous sites. *New Phytologist*, **173**, 191–198.

Dechamps, C., Noret, N., Mozek, R., Draye, X. et Meerts, P. (2008a) Root allocation in metal-rich patch by *Thlaspi caerulescens* from normal and metalliferous soil—new insights into the rhizobox approach. *Plant and Soil*, **310**, 211–224.

Dechamps, C., Noret, N., Mozek, R., Escarré, J., Lefebvre, C., Gruber, W. et Meerts, P. (2008b) Cost of adaptation to a metalliferous environment for *Thlaspi caerulescens*: a field reciprocal transplantation approach. *New Phytologist*, **177**, 167–177.

Dechamps, C., Roosens, N.H., Hotte, C. et Meerts, P. (2005) Growth and mineral element composition in two ecotypes of *Thlaspi caerulescens* on Cd contaminated soil. *Plant and Soil*, **273**, 327–335.

Dixon, N.E., Gazzola, C., Blakeley, R.L. et Zerner, B. (1975) Jack bean urease (EC 3.5.1.5). Metalloenzyme. Simple biological role for nickel. *Journal of the American Chemical Society*, **97**, 4131–4133.

Dubois, S. (2005) *Etude d'un réseau de populations métallicoles et non-métallicoles de « Thlaspi caerulescens » (Brassicaceae) : Structure génétique, démographie et pressions de sélection*. Montpellier 2.

- Dubois, S., Cheptou, P.O., Petit, C., Meerts, P., Poncelet, M., Vekemans, X., Lefebvre, C. et Escarré, J. (2003) Genetic structure and mating systems of metallicolous and nonmetallicolous populations of *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, **157**, 633–641.
- Van der Ent, A., Baker, A.J., Reeves, R.D., Pollard, A.J. et Schat, H. (2013) Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant and Soil*, 1–16.
- Ernst, W.H. (2006) Evolution of metal tolerance in higher plants. *For Snow Landsc Res*, **80**, 251–274.
- Escarré, J., Lefebvre, C., Frérot, H., Mahieu, S. et Noret, N. (2013) Metal concentration and metal mass of metallicolous, non metallicolous and serpentine *Nocca caerulescens* populations, cultivated in different growth media. *Plant and Soil*, 1–25.
- Escarré, J., Lefebvre, C., Gruber, W., Leblanc, M., Lepart, J., Rivière, Y. et Delay, B. (2000) Zinc and cadmium hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens* from metalliferous and nonmetalliferous sites in the Mediterranean area: implications for phytoremediation. *New Phytologist*, **145**, 429–437.
- Escarré, J., Lefebvre, C., Raboyeau, S., Dossantos, A., Gruber, W., Marel, J.C.C., Frérot, H., Noret, N., Mahieu, S., Collin, C. et Oort, F. van. (2011) Heavy Metal Concentration Survey in Soils and Plants of the Les Malines Mining District (Southern France): Implications for Soil Restoration. *Water, Air, & Soil Pollution*, **216**, 485–504.
- Estoup, A., Jarne, P. et Cornuet, J.-M. (2002) Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology*, **11**, 1591–1604.
- Estoup, A., Lombaert, E., Marin, J.-M., Guillemaud, T., Pudlo, P., Robert, C.P. et Cornuet, J.-M. (2012) Estimation of demo-genetic model probabilities with Approximate Bayesian Computation using linear discriminant analysis on summary statistics. *Molecular Ecology Resources*, **12**, 846–855.
- Evanno, G., Regnaut, S. et Goudet, J. (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, **14**, 2611–2620.
- Excoffier, L., Estoup, A. et Cornuet, J.-M. (2005) Bayesian Analysis of an Admixture Model With Mutations and Arbitrarily Linked Markers. *Genetics*, **169**, 1727–1738.
- Faucon, M.-P., Meersseman, A., Shutcha, M.N., Mahy, G., Luhembwe, M.N., Malaisse, F. et Meerts, P. (2010) Copper endemism in the Congolese flora: a database of copper affinity and conservational value of cuprophytes. *Plant Ecology and Evolution*, **143**, 5–18.
- Faucon, M.-P., Shutcha, M.N. et Meerts, P. (2007) Revisiting copper and cobalt concentrations in supposed hyperaccumulators from SC Africa: influence of washing and metal concentrations in soil. *Plant and Soil*, **301**, 29–36.
- Fontaine, M.C., Austerlitz, F., Giraud, T., Labbé, F., Papura, D., Richard-Cervera, S. et Delmotte, F. (2013) Genetic signature of a range expansion and leap-frog event after the recent invasion of Europe by the grapevine downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. *Molecular Ecology*, **22**, 2771–2786.
- François, O., Blum, M.G.B., Jakobsson, M. et Rosenberg, N.A. (2008) Demographic History of European Populations of *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet*, **4**, e1000075.

- Frérot, H., Petit, C., Lefèbvre, C., Gruber, W., Collin, C. et Escarré, J. (2003) Zinc and cadmium accumulation in controlled crosses between metallicolous and nonmetallicolous populations of *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae). *New Phytologist*, **157**, 643–648.
- Gao, S., Luo, T.-C., Zhang, B.-R., Zhang, H.-F., Han, Y., Zhao, Z.-D. et Hu, Y.-K. (1998) Chemical composition of the continental crust as revealed by studies in East China. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **62**, 1959–1975.
- Garza, J.C. et Williamson, E.G. (2001) Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology*, **10**, 305–318.
- Gill, S.S. et Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, **48**, 909–930.
- Girod, C., Vitalis, R., Leblois, R. et Fréville, H. (2011) Inferring Population Decline and Expansion From Microsatellite Data: A Simulation-Based Evaluation of the Msvar Method. *Genetics*, **188**, 165–179.
- Gobat, J.M., Aragno, M. et Matthey, W. (1998) Le sol vivant, base de pédologie, biologie des sols. *Presses polytechniques et universitaires romandes. Collection gérer l'environnement*, **14**.
- Goldschmidt, V.M. (1937) The principles of distribution of chemical elements in minerals and rocks. The seventh Hugo Müller Lecture, delivered before the Chemical Society on March 17th, 1937. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, 655–673.
- Goni, J. (1966) *Contribution à l'étude de la localisation et de la distribution des éléments en traces dans les minéraux et les roches granitiques*. Bureau de Recherches Géologiques et Minières.
- Goodwillie, C., Kalisz, S. et Eckert, C.G. (2005) The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 47–79.
- Goudet, J. (2001) *FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3)*.
- Goudet, J. (2005) hierfstat, a package for r to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes*, **5**, 184–186.
- Grivet, D. (2001) *Phylogéographie et évolution moléculaire comparée d'arbres forestiers à l'aide des marqueurs chloroplastiques*. Henry Poincaré, Nancy-I.
- Guillemaud, T., Beaumont, M.A., Ciosi, M., Cornuet, J.-M. et Estoup, A. (2009) Inferring introduction routes of invasive species using approximate Bayesian computation on microsatellite data. *Heredity*, **104**, 88–99.
- Guimarães, M. de A., Gustin, J.L. et Salt, D.E. (2009) Reciprocal grafting separates the roles of the root and shoot in zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, **184**, 323–329.
- Hanikenne, M. et Nouet, C. (2011) Metal hyperaccumulation and hypertolerance: a model for plant evolutionary genomics. *Current opinion in plant biology*, **14**, 252–259.
- Hardy, O.J. et Vekemans, X. (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular ecology notes*, **2**, 618–620.

- Harrison, S. et Rajakaruna, N. (2011) *Serpentine: The Evolution and Ecology of a Model System*. University of California Press.
- Hewitt, G. (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907–913.
- Hewitt, G.M. (2001) Speciation, hybrid zones and phylogeography—or seeing genes in space and time. *Molecular Ecology*, **10**, 537–549.
- Hewitt, G.M. (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **359**, 183.
- Holderegger, R. et Thiel-Egenter, C. (2009) A discussion of different types of glacial refugia used in mountain biogeography and phylogeography. *Journal of Biogeography*, **36**, 476–480.
- Horst, W.J., Wagner, A. et Marschner, H. (1983) Effect of Aluminium on Root Growth, Cell-division Rate and Mineral Element Contents in Roots of *Vigna unguiculata* Genotypes. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, **109**, 95–103.
- Hu, Z. et Gao, S. (2008) Upper crustal abundances of trace elements: A revision and update. *Chemical Geology*, **253**, 205–221.
- Jaffré, T. (1992) Floristic and ecological diversity of the vegetation on ultramafic rocks in New Caledonia. *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils*, 101–107.
- Jaffré, T., Brooks, R.R., Lee, J. et Reeves, R.D. (1976) *Sebertia acuminata*: A Hyperaccumulator of Nickel from New Caledonia. *Science*, **193**, 579–580.
- Jiménez-Ambríz, G., Petit, C., Bourrié, I., Dubois, S., Olivieri, I. et Ronce, O. (2007) Life history variation in the heavy metal tolerant plant *Thlaspi caerulescens* growing in a network of contaminated and noncontaminated sites in southern France: role of gene flow, selection and phenotypic plasticity. *New Phytologist*, **173**, 199–215.
- Jombart, T., Devillard, S. et Balloux, F. (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC genetics*, **11**, 94.
- Julve, P. (1998) Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France.
- Kabata-Pendias, A. (2000) *Trace elements in soils and plants*. CRC press.
- Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P.G., Baker, A.J.M., Reeves, R.D. et Troumbis, A.Y. (2008) Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biological Reviews*, **83**, 495–508.
- Keller, C., Diallo, S., Cosio, C., Basic, N. et Galland, N. (2006) Cadmium tolerance and hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens* populations grown in hydroponics are related to plant uptake characteristics in the field. *Functional Plant Biology*, **33**, 673–684.
- Keller, S.R., Gilbert, K.J., Fields, P.D. et Taylor, D.R. (2012) Bayesian inference of a complex invasion history revealed by nuclear and chloroplast genetic diversity in the colonizing plant, *Silene latifolia*. *Molecular Ecology*, **21**, 4721–4734.
- Knowles, L.L. (2009) Statistical phylogeography. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **40**, 593–612.
- Knowles, L.L., Carstens, B.C. et Keat, M.L. (2007) Coupling genetic and ecological-niche models to examine how past population distributions contribute to divergence. *Current Biology*, **17**, 940–946.

- Koch, M.A. et German, D. (2013) Taxonomy and systematics are key to biological information: *Arabidopsis*, *Eutrema* (*Thellungiella*), *Noccaea* and *Schrenkiella* (*Brassicaceae*) as examples. *Frontiers in Plant Science*, **4**, 267.
- Koch, M. et Mummenhoff, K. (2001) *Thlaspi* s. str. (*Brassicaceae*) versus *Thlaspi* sl: morphological and anatomical characters in the light of ITS nrDNA sequence data. *Plant Systematics and Evolution*, **227**, 209–225.
- Koch, M., Mummenhoff, K. et Hurka, H. (1998) Systematics and evolutionary history of heavy metal tolerant *Thlaspi caerulescens* in Western Europe: evidence from genetic studies based on isozyme analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*, **26**, 823–838.
- Koch, M. et Al-Shehbaz, I.A. (2004) Taxonomic and Phylogenetic Evaluation of the American “*Thlaspi*” Species: Identity and Relationship to the Eurasian Genus *Noccaea* (*Brassicaceae*). *Systematic Botany*, **29**, 375–384.
- Krämer, U. (2000) Cadmium for all meals – plants with an unusual appetite. *New Phytologist*, **145**, 1–3.
- Krämer, U. (2010) Metal hyperaccumulation in plants. *Annual review of plant biology*, **61**, 517–534.
- Kronholm, I., Loudet, O. et Meaux, J. de. (2010) Influence of mutation rate on estimators of genetic differentiation - lessons from *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genetics*, **11**, 33.
- Kruckeberg, A.R. (1984) *California Serpentes: Flora, Vegetation, Geology, Soils, and Management Problems*. University of California Press.
- Küpper, H., Parameswaran, A., Leitenmaier, B., Trtílek, M. et \vSetlík, I. (2007) Cadmium-induced inhibition of photosynthesis and long-term acclimation to cadmium stress in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, **175**, 655–674.
- Van der Lee, J. (2002) CHESS Software for Geochemistry. *Hydrology and Environmental Science, École des Mines de Paris, Fontainebleau, France*.
- Lefebvre, C. et Vernet, P. (1990) Microevolutionary processes on contaminated deposits. *Heavy metal tolerance in plants: Evolutionary aspects*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 285–299.
- Likar, M., Pongrac, P., Vogel-Mikuš, K. et Regvar, M. (2010) Molecular diversity and metal accumulation of different *Thlaspi praecox* populations from Slovenia. *Plant and soil*, **330**, 195–205.
- Lin, Y.-F. et Aarts, M.G.M. (2012) The molecular mechanism of zinc and cadmium stress response in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **69**, 3187–3206.
- Lin, Q., Shen, K.-L., Zhao, H.-M. et Li, W.-H. (2008) Growth response of *Zea mays* L. in pyrene–copper co-contaminated soil and the fate of pollutants. *Journal of hazardous materials*, **150**, 515–521.
- Liu, M.-Q., Yanai, J., Jiang, R.-F., Zhang, F., McGrath, S.P. et Zhao, F.-J. (2008) Does cadmium play a physiological role in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*? *Chemosphere*, **71**, 1276–1283.
- Lochlainn, S.Ó., Bowen, H.C., Fray, R.G., Hammond, J.P., King, G.J., White, P.J., Graham, N.S. et Broadley, M.R. (2011) Tandem quadruplication of HMA4 in the zinc (Zn) and cadmium (Cd) hyperaccumulator *Noccaea caerulescens*. *PloS one*, **6**, e17814.

- Lombi, E., Tearall, K.L., Howarth, J.R., Zhao, F.J., Hawkesford, M.J. et McGrath, S.P. (2002) Influence of iron status on cadmium and zinc uptake by different ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiology*, **128**, 1359.
- Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J. et McGrath, S.P. (2000) Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*. *New Phytologist*, **145**, 11–20.
- Lovy, L., Latt, D. et Sterckeman, T. (2013) Cadmium uptake and partitioning in the hyperaccumulator *Nocca caerulescens* exposed to constant Cd concentrations throughout complete growth cycles. *Plant and Soil*, **362**, 345–354.
- Macnair, M.R. (1987) Heavy metal tolerance in plants: A model evolutionary system. *Trends in Ecology & Evolution*, **2**, 354–359.
- Mandáková, T. et Lysak, M.A. (2008) Chromosomal Phylogeny and Karyotype Evolution in $x=7$ Crucifer Species (Brassicaceae). *The Plant Cell Online*, **20**, 2559–2570.
- Manel, S. et Holderegger, R. (2013) Ten years of landscape genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, **28**, 614–621.
- Manel, S., Schwartz, M.K., Luikart, G. et Taberlet, P. (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 189–197.
- Marriage, T.N., Hudman, S., Mort, M.E., Orive, M.E., Shaw, R.G. et Kelly, J.K. (2009) Direct estimation of the mutation rate at dinucleotide microsatellite loci in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *Heredity*, **103**, 310–317.
- Marschner, P. (2012) *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press.
- Massoura. (2004) *Spéciation et phytodisponibilité du nickel dans les sols*. Institut National Polytechnique de Lorraine.
- Maxted, A.P., Black, C.R., West, H.M., Crout, N.M.J., McGrath, S.P. et Young, S.D. (2007) Phytoextraction of cadmium and zinc from arable soils amended with sewage sludge using *Thlaspi caerulescens*: Development of a predictive model. *Environmental Pollution*, **150**, 363–372.
- McGrath, S.P. et Zhao, F.J. (2003) Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, **14**, 277–282.
- Meagher, R.B. (2000) Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants. *Current Opinion in Plant Biology*, **3**, 153–162.
- Médail, F. et Diadema, K. (2009) Glacial refugia influence plant diversity patterns in the Mediterranean Basin. *Journal of Biogeography*, **36**, 1333–1345.
- Meerts, P. et Van Isacker, N. (1997) Heavy metal tolerance and accumulation in metallicolous and non-metallicolous populations of *Thlaspi caerulescens* from continental Europe. *Plant Ecology*, **133**, 221–231.
- Mengel, K., Kosegarten, H., Kirkby, E.A. et Appel, T. (2001) *Principles of Plant Nutrition*. Springer.
- Mengoni, A., Baker, A.J.M., Bazzicalupo, M., Reeves, R.D., Adigüzel, N., Chianni, E., Galardi, F., Gabbrielli, R. et Gonnelli, C. (2003) Evolutionary dynamics of nickel hyperaccumulation in *Alyssum* revealed by its nrDNA analysis. *New Phytologist*, **159**, 691–699.
- Meyer, F.K. (1979) Kritische Revision der „*Thlaspi*“ □-Arten Europas, Afrikas und Vorderasiens I. Geschichte, Morphologie und Chorologie. *Feddes Repertorium*, **90**, 129–154.

- Milner, M.J. et Kochian, L.V. (2008) Investigating heavy-metal hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a model system. *Annals of botany*, **102**, 3.
- Molitor, M., Dechamps, C., Gruber, W. et Meerts, P. (2005) *Thlaspi caerulescens* on nonmetalliferous soil in Luxembourg: ecological niche and genetic variation in mineral element composition. *New Phytologist*, **165**, 503–512.
- Moore, A.J., Merges, D. et Kadereit, J.W. (2013) The origin of the serpentine endemic *Minuartia loricifolia* subsp. *ophiolitica* by vicariance and competitive exclusion. *Molecular Ecology*, n/a–n/a.
- Van de Mortel, J.E., Almar Villanueva, L., Schat, H., Kwekkeboom, J., Coughlan, S., Moerland, P.D., Ver Loren van Themaat, E., Koornneef, M. et Aarts, M.G.M. (2006) Large Expression Differences in Genes for Iron and Zinc Homeostasis, Stress Response, and Lignin Biosynthesis Distinguish Roots of *Arabidopsis thaliana* and the Related Metal Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol.*, **142**, 1127–1147.
- Van de Mortel, J.E., Schat, H., Moerland, P.D., Van Themaat, E.V.L., Van Der Ent, S., Blankestijn, H., Ghandilyan, A., Tsiatsiani, S. et Aarts, M.G. m. (2008) Expression differences for genes involved in lignin, glutathione and sulphate metabolism in response to cadmium in *Arabidopsis thaliana* and the related Zn/Cd-hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant, Cell & Environment*, **31**, 301–324.
- Mossor-Pietraszewska, T. (2001) Effect of aluminium on plant growth and metabolism. *ACTA BIOCHIMICA POLONICA-ENGLISH EDITION*-, **48**, 673–686.
- Mummenhoff, K., Franzke, A. et Koch, M. (1997) Molecular data reveal convergence in fruit characters used in the classification of *Thlaspi* s. l.(Brassicaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **125**, 183–199.
- Nascimento, C.W.. et Xing, B. (2006) Phytoextraction: A review on enhanced metal availability and plant accumulation. *Scientia agricola*, **63**, 299–311.
- Nei, M. (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press.
- Noret, N., Meerts, P., Vanhaelen, M., Dos Santos, A. et Escarre, J. (2007) Do metal-rich plants deter herbivores? A field test of the defence hypothesis. *Oecologia*, **152**, 92–100.
- Parkhurst, D.L. et Appelo, C.A.J. (2013) Description of input and examples for PHREEQC version 3D A computer program for speciation, batch-reaction, one-dimensional transport, and inverse geochemical calculations. *US Geological Survey Techniques and Methods, Book 6, Modeling Techniques*.
- Pascual, M., Chapuis, M.P., Mestres, F., Balanyà, J., Huey, R.B., Gilchrist, G.W., Serra, L. et Estoup, A. (2007) Introduction history of *Drosophila subobscura* in the New World: a microsatellite-based survey using ABC methods. *Molecular Ecology*, **16**, 3069–3083.
- Pauwels, M., Saumitou-Laprade, P., Holl, A.C., Petit, D. et Bonnin, I. (2005) Multiple origin of metallicolous populations of the pseudometallophyte *Arabidopsis halleri* (Brassicaceae) in central Europe: the cpDNA testimony. *Molecular Ecology*, **14**, 4403–4414.
- Pauwels, M., Vekemans, X., Godé, C., Frérot, H., Castric, V. et Saumitou-Laprade, P. (2012) Nuclear and chloroplast DNA phylogeography reveals vicariance among European populations of the model species for the study of metal tolerance, *Arabidopsis halleri* (Brassicaceae). *New Phytologist*, **193**, 916–928.
- Peer, W.A., Mahmoudian, M., Freeman, J.L., Lahner, B., Richards, E.L., Reeves, R.D., Murphy, A.S. et Salt, D.E. (2006) Assessment of plants from the Brassicaceae family as

genetic models for the study of nickel and zinc hyperaccumulation. *New Phytologist*, **172**, 248–260.

Perronnet, K., Schwartz, C. et Morel, J.L. (2003) Distribution of cadmium and zinc in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown on multicontaminated soil. *Plant and Soil*, **249**, 19–25.

Petit, R.J., Aguinagalde, I., de Beaulieu, J.L., Bittkau, C., Brewer, S., Cheddadi, R., Ennos, R., Fineschi, S., Grivet, D., Lascoux, M. et others. (2003) Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science*, **300**, 1563.

Petit, R.J., Brewer, S., Bordács, S., Burg, K., Cheddadi, R., Coart, E., Cottrell, J., Csaikl, U.M., van Dam, B. et Deans, J.D. (2002) Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest ecology and management*, **156**, 49–74.

Petit, R., Duminil, J., Fineschi, S., Hampe, A., Salvini, D. et Vendramin, G.G. (2005) INVITED REVIEW: Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. *Molecular Ecology*, **14**, 689–701.

Petit, R.J. et Vendramin, G.G. (2007) Plant phylogeography based on organelle genes: an introduction. *Phylogeography of southern European refugia* p. 23–97. Springer.

Pilon-Smits, E. (2005) Phytoremediation. *Plant Biology*, **56**, 15.

Pilon-Smits, E.A. et Freeman, J.L. (2006) Environmental cleanup using plants: biotechnological advances and ecological considerations. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **4**, 203–210.

Pollard, A.J., Powell, K.D., Harper, F.A. et Smith, J.A.C. (2002) The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants. *Critical reviews in plant sciences*, **21**, 539–566.

Pollard, A.J., Reeves, R.D. et Baker, A.J.M. (2014) Facultative hyperaccumulation of heavy metals and metalloids. *Plant Science*, **217–218**, 8–17.

Pritchard, J.K., Stephens, M. et Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945–959.

Proctor, J. (2003) Vegetation and soil and plant chemistry on ultramafic rocks in the tropical Far East. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **6**, 105–124.

Proctor, J. et Roberts, B.A. (1991) The ecology of areas with serpentinized rocks: a world view. , 427 pp.

Ramachandran, S., Deshpande, O., Roseman, C.C., Rosenberg, N.A., Feldman, M.W. et Cavalli-Sforza, L.L. (2005) Support from the relationship of genetic and geographic distance in human populations for a serial founder effect originating in Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **102**, 15942–15947.

Raskin, I., Smith, R.D. et Salt, D.E. (1997) Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology*, **8**, 221–226.

Redjala, T., Sterckeman, T. et Louis Morel, J. (2010) Determination of the different components of cadmium short-term uptake by roots. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **173**, 935–945.

Redjala, T., Sterckeman, T. et Morel, J.L. (2009) Cadmium uptake by roots: contribution of apoplast and of high-and low-affinity membrane transport systems. *Environmental and Experimental Botany*, **67**, 235–242.

- Reeves, R.D. (1992) The hyperaccumulation of nickel by serpentine plants. *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils*, 253–277.
- Reeves, R.D. (2003) Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction. *Plant and Soil*, **249**, 57–65.
- Reeves, R.D., Schwartz, C., Morel, J.L. et Edmondson, J. (2001) Distribution and metal-accumulating behavior of *Thlaspi caerulescens* and associated metallophytes in France. *International Journal of Phytoremediation*, **3**, 145–172.
- Robinson, B.H., Leblanc, M., Petit, D., Brooks, R.R., Kirkman, J.H. et Gregg, P.E.. (1998) The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils. *Plant and Soil*, **203**, 47–56.
- Roosens, N., Verbruggen, N., Meerts, P., XIMÉNEZ-EMBÚN, P. et Smith, J.A.C. (2003) Natural variation in cadmium tolerance and its relationship to metal hyperaccumulation for seven populations of *Thlaspi caerulescens* from western Europe. *Plant, Cell & Environment*, **26**, 1657–1672.
- Rout, G.R., Samantaray, S. et Das, P. (2001) Aluminium toxicity in plants: a review. *Agronomie*, **21**, 3–21.
- Roux, C., Castric, V., Pauwels, M., Wright, S.I., Saumitou-Laprade, P. et Vekemans, X. (2011) Does Speciation between *Arabidopsis halleri* and *Arabidopsis lyrata* Coincide with Major Changes in a Molecular Target of Adaptation? *PLoS ONE*, **6**, e26872.
- Saison, C., Schwartz, C. et Morel, J.-L. (2004) Hyperaccumulation of Metals by *Thlaspi caerulescens* as Affected by Root Development and Cd–Zn/Ca–Mg Interactions. *International Journal of Phytoremediation*, **6**, 49–61.
- Sarma, H. (2011) Metal hyperaccumulation in plants: A review focusing on phytoremediation technology. *Journal of Environmental Science and Technology*, **4**, 118–138.
- Sauve, S., Hendershot, W. et Allen, H.E. (2000) Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. *Environmental Science & Technology*, **34**, 1125–1131.
- Schaal, B.A. et Olsen, K.M. (2000) Gene genealogies and population variation in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97**, 7024–7029.
- Schat, H., Vooijs, R. et Kuiper, E. (1996) Identical major gene loci for heavy metal tolerances that have independently evolved in different local populations and subspecies of *Silene vulgaris*. *Evolution*, 1888–1895.
- Schmitt-Sirguey, C. (2004) *Dynamique du Cd disponible du sol sous l'influence de l'hyperaccumulateur Thlaspi caerulescens*. INPL Vandœuvre-lès-Nancy.
- Schönswetter, P., Stehlik, I., Holderegger, R. et Tribsch, A. (2005) Molecular evidence for glacial refugia of mountain plants in the European Alps. *Molecular Ecology*, **14**, 3547–3555.
- Schranz, M.E., Lysak, M.A. et Mitchell-Olds, T. (2006) The ABC's of comparative genomics in the Brassicaceae: building blocks of crucifer genomes. *Trends in Plant Science*, **11**, 535–542.
- Schwartz, C., Echevarria, G. et Morel, J.L. (2003) Phytoextraction of cadmium with *Thlaspi caerulescens*. *Plant and Soil*, **249**, 27–35.
- Selkoe, K.A. et Toonen, R.J. (2006) Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, **9**, 615–629.

- Seregin, I.V. et Kozhevnikova, A.D. (2006) Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, **53**, 257-277.
- Sirguey, C. et Ouvrard, S. (2013) Contaminated soils salinity, a threat for phytoextraction? *Chemosphere*, **91**, 269-274.
- Smolders, E. et Mertens, J. (2013) Cadmium. *Heavy Metals in Soils* Environmental Pollution. (éd B.J. Alloway), p. 283-311. Springer Netherlands.
- Sterckeman, T., Douay, F., Baize, D., Fourrier, H., Proix, N. et Schwartz, C. (2006) Trace elements in soils developed in sedimentary materials from Northern France. *Geoderma*, **136**, 912-929.
- Sterckeman, T., Perriguet, J., Caël, M., Schwartz, C. et Morel, J.L. (2004) Applying a mechanistic model to cadmium uptake by *Zea mays* and *Thlaspi caerulescens*: Consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant and soil*, **262**, 289-302.
- Taberlet, P., Fumagalli, L., Wust-Saucy, A.-G. et Cosson, J.-F. (1998) Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology*, **7**, 453-464.
- Tarradellas, J., Bitton, G. et Rossel, D. (1996) *Soil Ecotoxicology*. CRC Press.
- Tinker, P.B. et Nye, P.H. (2000) *Solute movement in the rhizosphere*. Oxford University Press.
- Tutin, T.G., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M. et Webb, D.A. (1993) *Flora Europaea*. Vol. 1. *Cambridge University*, 187.
- Ueno, D., Milner, M.J., Yamaji, N., Yokosho, K., Koyama, E., Clemencia Zambrano, M., Kaskie, M., Ebbs, S., Kochian, L.V. et Ma, J.F. (2011) Elevated expression of TcHMA3 plays a key role in the extreme Cd tolerance in a Cd-hyperaccumulating ecotype of *Thlaspi caerulescens*. *The Plant Journal*, **66**, 852-862.
- Vekemans, X. et Lefèbvre, C. (1997) On the evolution of heavy-metal tolerant populations in *Armeria maritima*: evidence from allozyme variation and reproductive barriers. *Journal of Evolutionary Biology*, **10**, 175-191.
- Verbruggen, N., Hermans, C. et Schat, H. (2009) Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *New Phytologist*, **181**, 759-776.
- Visioli, G., Vincenzi, S., Marmioli, M. et Marmioli, N. (2011) Correlation between phenotype and proteome in the Ni hyperaccumulator *Noccaea caerulescens* subsp. *caerulescens*. *Environmental and Experimental Botany*.
- Walker, D.J. et Bernal, M.P. (2004) The Effects of Copper and Lead on Growth and Zinc Accumulation of *Thlaspi Caerulescens* J. and C. Presl: Implications for Phytoremediation of Contaminated Soils. *Water, Air, & Soil Pollution*, **151**, 361-372.
- Wang, A.S., Angle, J.S., Chaney, R.L., Delorme, T.A. et Reeves, R.D. (2006) Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*. *Plant and Soil*, **281**, 325-337.
- Wedepohl, H.K. (1995) The composition of the continental crust. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **59**, 1217-1232.
- Weir, B.S. et Cockerham, C.C. (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *evolution*, 1358-1370.

- Wolt, J.D. (1994) *Soil solution chemistry: applications to environmental science and agriculture*. John Wiley and Sons.
- Zhao, F.J., Hamon, R.E., Lombi, E., McLaughlin, M.J. et McGrath, S.P. (2002) Characteristics of cadmium uptake in two contrasting ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Journal of Experimental Botany*, **53**, 535.

Annexe A Figures et Tableaux **supplémentaires du chapitre 2**

Table S1: Médiane des paramètres physico-chimiques de 54 terres rhizosphériques composites en C organique, C/N et dans les 63 stations pour le pH eau, la somme des bases échangeables, l'acidité d'échange, la CEC et le taux de saturation.

Strate	n	C organique (g kg ⁻¹)	C/N		P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)	pH eau	Bases échangeables (cmol ⁺ kg ⁻¹)	Acidité d'échange (cmol ⁺ kg ⁻¹)	CEC (cmol ⁺ kg ⁻¹)	Taux de saturation (%)
Géologie										
alluvions	7	5,15	13,4		35,7	6,28	5,50	2,85	8,42	78,4
basalte	7	8,96	11,3		28,4	5,60	9,47	3,30	15,5	77,3
calcaire	16	6,92	11,7		35,1	6,51	15,5	3,52	16,5	85,9
formations morainiques	2	8,63	13,2		40,0	5,90	11,5	3,64	15,1	78,4
gneiss	5	5,87	11,2		33,3	5,55	8,22	1,85	9,38	78,8
granitoïdes calco-alcalins	7	4,52	11,9		49,4	5,01	7,03	2,13	7,56	75,2
granitoïdes peralumineux	11	5,23	12,4		44,6	5,26	6,52	2,01	9,32	74,6
grès	2	5,55	10,7		28,9	5,63	13,8	0,67	13,8	94,2
serpentine	3	9,41	11,7		19,1	6,09	17,9	8,02	23,2	66,1
nd	2	nm	nm		nm	5,84	9,26	0,73	10,1	91,4
Habitat										
dalle rocheuse	6	4,02	15,9		53,8	6,60	7,92	1,85	9,74	82,8
pelouse	8	9,41	11,7		19,1	5,84	15,6	3,87	19,2	81,4
pelouse anthropisée	28	6,84	12,2		42,5	5,77	11,1	2,68	13,5	80,9
prairie	12	9,14	11,1		46,1	5,69	16,7	3,56	20,3	77,5
éboulis	10	5,48	17,0		37,4	6,29	6,54	1,89	8,48	83,6
Région										
Ardennes		nm	nm	3	nm	6,21	10,6	3,093	13,8	79,7
Jura		11,4	10,4	7	53,7	6,56	30,8	4,243	34,9	89,2
MA		nm	nm	3	nm	5,95	14,9	0,000	14,4	99,5
MC-CVG		7,68	12,0	14	33,5	5,67	8,91	2,566	11,6	76,5
MC-E		5,66	15,9	14	30,4	6,46	8,43	3,178	11,7	74,2
MC-NNE		4,33	12,0	5	59,6	5,38	8,96	1,847	10,4	80,9
MC-SO		5,69	13,2	2	16,7	5,98	11,2	4,177	13,2	109
Pyrénées		nm	nm	2	nm	4,45	8,59	1,135	9,88	88,4
Vosges		6,77	12,8	13	57,2	5,39	8,67	2,727	11,1	79,8

Tableau S2 : Matrice de corrélation partielle de Pearson des concentrations en E.T. échangeables à la cobalthexamine en fonction des concentrations en E.T. et majeurs pseudo-totales et des paramètres édaphiques sur 54 des 63 stations à *Noccaea caerulescens*.

MIN	Al.e	Ca.e	Fe.e	K.e	Mg.e	Na.e	Cd.e	Cu.e	Mn.e	Ni.e	Pb.e	Zn.e
Al _{tot}		-0,458		0,404	-0,120	0,190	-0,362	0,470	0,542	0,314	0,190	-0,286
Fe _{tot}		0,317		0,645	0,457	0,770	0,241	0,218	0,615	0,122	0,237	0,284
Cd _{tot}		0,169		0,064	-0,206	0,213	0,652	0,168	-0,417	-0,368	-0,103	0,327
Cu _{tot}		-0,092		0,442	0,126	0,390	0,411	0,618	0,669	0,566	0,658	0,524
Mn _{tot}		-0,093		0,134	0,455	0,021	-0,254	0,169	0,780	0,533	0,307	0,015
Ni _{tot}		0,180		0,636	0,285	0,716	0,414	0,469	0,510	0,131	0,258	0,359
Pb _{tot}		-0,053		-0,040	-0,176	-0,010	0,471	0,349	0,188	0,226	0,484	0,498
Zn _{tot}		0,159		-0,114	-0,225	0,008	0,534	0,011	-0,515	-0,396	-0,181	0,227
pH		0,406		-0,241	-0,005	-0,122	-0,305	-0,547	-0,823	-0,788	-0,763	-0,513
CEC		0,867		0,443	0,712	0,413	-0,112	-0,475	0,033	-0,108	-0,331	-0,073
Sat		0,040		0,365	0,109	0,512	-0,175	0,058	0,061	-0,240	-0,145	-0,214
P ₂ O ₅		-0,029		0,151	-0,396	0,194	0,572	0,451	-0,227	-0,203	0,109	0,306
C/N		0,247		-0,219	0,130	-0,099	0,098	-0,498	-0,294	-0,279	-0,323	0,007

NMIN	Al.e	Ca.e	Fe.e	K.e	Mg.e	Na.e	Cd.e	Cu.e	Mn.e	Ni.e	Pb.e	Zn.e
Al _{tot}	-0,424	0,429	-0,035	0,297	0,522	-0,031	-0,483		-0,023	-0,396		-0,543
Fe _{tot}	-0,347	0,348	-0,162	0,280	0,581	0,118	-0,568		-0,020	-0,307		-0,460
Cd _{tot}	-0,353	0,412	-0,101	0,425	0,495	-0,055	0,013		0,202	-0,141		-0,159
Cu _{tot}	-0,427	0,389	-0,143	0,228	0,161	0,263	-0,065		-0,176	-0,276		-0,153
Mn _{tot}	-0,540	0,513	-0,250	0,326	0,585	0,017	-0,419		0,040	-0,434		-0,509
Ni _{tot}	-0,334	0,375	-0,274	0,291	0,583	0,053	-0,390		-0,055	-0,047		-0,399
Pb _{tot}	-0,196	0,210	-0,153	0,154	-0,096	-0,100	0,531		0,038	0,020		0,162
Zn _{tot}	-0,292	0,365	-0,050	0,314	0,049	-0,103	0,537		0,131	-0,049		0,172
pH	-0,825	0,652	-0,333	0,244	0,334	0,083	-0,606		-0,560	-0,788		-0,804
CEC	-0,763	0,969	-0,213	0,585	0,620	-0,208	-0,218		-0,124	-0,486		-0,566
Sat	-0,340	0,393	-0,256	0,033	0,209	-0,200	-0,024		-0,069	-0,201		-0,122
P ₂ O ₅	0,164	0,051	-0,118	0,137	-0,038	-0,127	-0,014		0,057	0,132		0,099
C/N	0,319	-0,413	0,119	-0,109	-0,267	0,236	0,059		-0,117	0,163		0,405

Les valeurs en gras sont significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

Tableau S3 : Matrice de corrélation partielle du logarithme des concentrations en éléments majeurs et en traces dans les parties aériennes et échangeables à la cobaltihexammine dans les terres au sein des types édaphiques : calaminaires (CAL), sur sols non miniers acidoclines (NMA) sur sols non miniers neutrophiles (NMN) et à serpentines (SERP).

CAL	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
Ca.e	-0,136	<u>0,220</u>	-0,285	0,309	-0,152	0,148	-0,014	-0,070	-0,195	-0,224	-0,462	-0,293
K.e	0,100	-0,082	-0,090	<u>0,339</u>	-0,224	0,270	-0,096	0,167	-0,040	0,036	-0,396	-0,190
Mg.e	-0,101	0,007	-0,192	0,303	<u>0,100</u>	0,242	-0,085	-0,094	0,034	-0,076	-0,529	-0,286
Na.e	0,065	0,052	0,015	0,175	-0,138	<u>0,160</u>	-0,105	0,108	-0,090	-0,053	-0,279	-0,089
Cd.e	-0,151	-0,136	-0,060	0,055	-0,044	-0,205	<u>0,458</u>	0,335	0,024	-0,104	0,258	0,421
Cu.e	0,123	-0,319	0,199	-0,319	-0,061	-0,198	-0,017	<u>0,279</u>	0,155	0,218	0,126	0,189
Mn.e	0,011	-0,520	-0,217	0,162	-0,184	-0,029	-0,113	0,171	<u>0,491</u>	0,301	-0,259	-0,008
Ni.e	-0,075	-0,555	-0,265	0,011	-0,217	-0,275	-0,152	-0,008	0,393	<u>0,241</u>	0,181	0,041
Pb.e	-0,110	-0,429	-0,143	-0,051	-0,043	-0,202	0,090	0,208	0,343	0,226	<u>0,436</u>	0,363
Zn.e	-0,212	-0,271	-0,167	0,096	-0,081	-0,243	0,412	0,278	0,118	-0,040	0,210	0,484
NMA	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
Al.e	0,002	-0,346	-0,081	-0,106	-0,205	-0,154	-0,172	-0,180	0,279	-0,160		0,047
Ca.e	0,060	<u>0,435</u>	0,108	-0,093	0,234	-0,187	0,112	0,144	-0,057	0,034		0,152
K.e	-0,029	0,084	-0,016	<u>0,117</u>	0,182	-0,236	-0,068	-0,093	0,006	-0,146		0,101
Mg.e	0,095	0,319	0,117	0,019	<u>0,345</u>	-0,295	0,068	-0,033	0,103	0,112		0,121
Na.e	0,130	-0,293	0,126	-0,032	-0,029	<u>0,722</u>	-0,207	0,104	-0,237	-0,130		0,077
Cd.e	-0,061	-0,048	-0,152	-0,174	0,037	-0,134	<u>0,539</u>	0,244	-0,100	-0,126		0,305
Mn.e	0,160	0,055	0,141	0,022	0,120	-0,129	0,108	-0,007	<u>0,414</u>	-0,160		0,216
Ni.e	0,140	-0,115	0,062	-0,392	0,043	-0,120	0,001	0,194	-0,122	<u>0,243</u>		0,151
Zn.e	-0,104	-0,168	-0,183	-0,191	0,069	-0,051	0,170	0,158	-0,135	-0,284		0,377
NMN	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
Al.e	0,024	-0,119	-0,011	0,154	-0,006	0,164	-0,230	0,173	0,024	-0,141		0,159
Ca.e	-0,066	<u>0,410</u>	-0,015	0,090	-0,209	-0,506	0,365	0,009	0,138	-0,062		-0,231
K.e	-0,225	0,091	-0,108	<u>0,367</u>	-0,051	-0,346	0,039	-0,039	0,063	-0,053		-0,072
Mg.e	-0,085	0,190	0,057	0,195	<u>0,322</u>	-0,394	-0,024	-0,418	0,094	0,475		-0,172
Na.e	0,051	-0,348	-0,008	-0,104	0,007	<u>0,664</u>	-0,327	0,174	-0,109	-0,079		0,209
Cd.e	-0,003	0,097	-0,036	-0,001	-0,144	-0,032	<u>0,492</u>	0,197	0,248	-0,184		0,242
Mn.e	0,009	0,102	0,106	0,172	0,170	-0,189	0,258	-0,229	<u>0,315</u>	0,223		0,197
Ni.e	0,246	0,299	0,256	-0,161	0,216	-0,358	0,009	-0,247	0,013	<u>0,450</u>		-0,225
Zn.e	-0,038	-0,203	-0,061	0,031	0,060	0,323	-0,279	0,205	-0,093	-0,272		<u>0,393</u>
SERP	Al.pa	Ca.pa	Fe.pa	K.pa	Mg.pa	Na.pa	Cd.pa	Cu.pa	Mn.pa	Ni.pa	Pb.pa	Zn.pa
Ca.e	-0,457	0,032	-0,070	-0,351	-0,442	-0,282	-0,550	0,535	-0,072	-0,312		-0,521
K.e	-0,317	0,119	-0,087	0,061	0,052	-0,433	-0,014	0,114	-0,008	0,090		0,288
Mg.e	-0,376	-0,124	-0,099	-0,259	0,064	0,135	-0,326	0,232	-0,143	0,055		-0,008
Na.e	-0,186	-0,288	-0,230	-0,194	-0,114	0,267	0,002	-0,067	-0,278	-0,053		-0,061
Cd.e	0,618	0,680	0,616	0,781	0,756	0,158	<u>0,938</u>	-0,513	0,631	0,722		0,730
Mn.e	0,425	0,772	0,636	0,743	0,731	0,096	0,842	-0,299	<u>0,666</u>	0,721		0,717
Ni.e	0,198	0,619	0,426	0,561	0,657	0,179	0,664	-0,364	0,398	<u>0,746</u>		0,543
Zn.e	0,334	0,590	0,488	0,676	0,654	-0,084	0,783	-0,370	0,574	0,614		<u>0,820</u>

Les valeurs en gras sont significatives au seuil $\alpha = 0,05$.

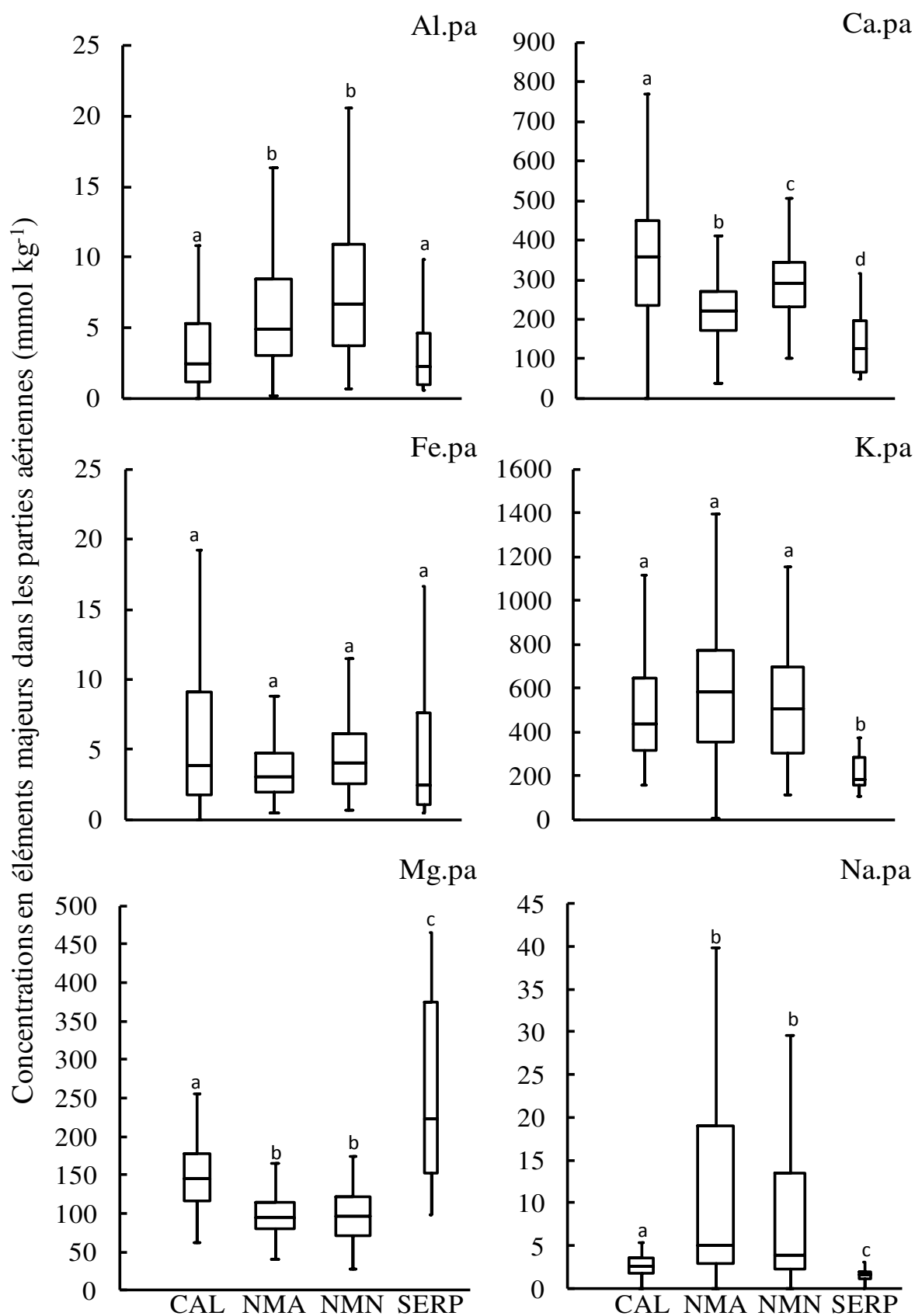


Figure S1 : Boite à moustache des concentrations en éléments en traces dans les parties aériennes au sein des types édaphiques : calaminaires (CAL), sur sols non miniers acidoclines (NMA), non miniers neutrophiles (NMN) et de serpentines (SERP).

Annexe B Figures et Tableaux **supplémentaires du chapitre 3**

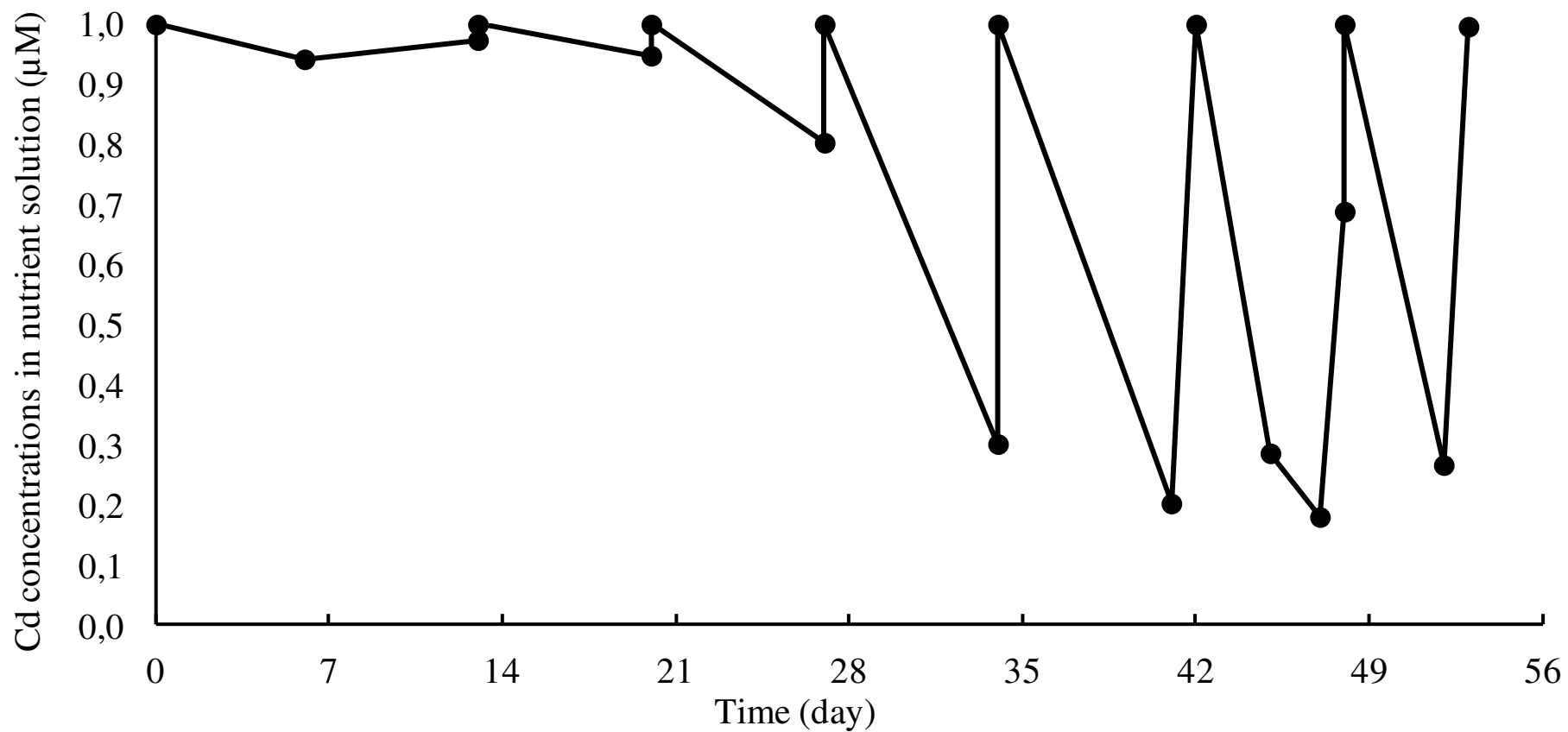


Figure S1: Cadmium concentrations (μM) in the nutrient solution during time in day. Cd concentrations were measured once or twice times a week and adjusted through solution renewal or spiking to reach the target values. Each value is the mean of the concentration in the 12 cultivation sinks.

Tableau S1 : Means and coefficients of variation (cv) of the morphological parameters of 22 populations of *Noccaea caerulescens* (n = 12 for each accession) from three edaphic groups (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SER: serpentine), of *Arabidopsis thaliana* and of *N. montana*. For population code, see table 1. Mean comparisons were carried out using the Tuckey test (p = 0.05) following a hierarchical mixed model analysis. Means significantly different are marked with different letters.

Edaphic group	Population	LDM ^a		RDM ^b		LDM/RDM		LA ^c		LN ^d		RD ^e	
		mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv
CAL	AUX	0.312	51.9	0.173	130	2.98	62.4	63.8	60.2	15.5	31.8	118	22,6
	DUR	0.169	34.3	0.119	47.1	2.04	102	32.1	32.1	11.8	28.5	122	14,5
	GA	0.237	33.3	0.077	51.9	3.81	57.0	45.5	32.1	12.4	19.0	142	18,5
	LAR	0.446	37.0	0.148	79.7	3.97	61.7	80.6	29.8	15.2	30.3	171	20,0
	MAL	0.266	50.8	0.105	81.0	3.25	61.5	51.8	43.8	12.3	18.1	141	22,8
	RAM	0.198	52.0	0.098	66.3	2.41	43.2	39.4	39.1	12.0	20.1	114	20,9
	SFP	0.273	28.6	0.126	88.9	4.29	111	48.0	29.4	14.3	27.1	151	14,8
	SML	0.183	35.5	0.084	53.6	2.56	43.4	37.6	39.4	12.3	16.0	108	17,1
	VIV	0.401	56.4	0.126	43.7	3.48	48.0	52.5	31.4	19.3	21.7	123	18,6
NMET	BES	0.57	31.4	0.158	35.4	3.78	24.3	103	39.1	18.3	28.7	133	18,5
	CHA	0.287	37.3	0.214	93.0	1.86	49.5	60.0	42.7	13.5	26.9	124	27,0
	HER	0.285	36.1	0.174	57.5	1.98	47.0	54.3	36.1	12.1	24.5	117	22,5
	LAS	0.219	45.2	0.117	64.1	2.17	44.7	46.0	48.0	12.2	13.4	117	13,0
	MEZ	0.227	60.4	0.095	58.9	3.60	120	34.1	66.0	19.6	41.7	90.4	29,0
	NOU	0.262	28.2	0.116	38.8	2.70	61.1	50.1	28.5	14.3	22.8	109	12,6
	PC	0.186	36.6	0.089	67.4	2.37	40.1	83.5	43.6	10.8	22.0	103	26,6
	SAL	0.320	45.9	0.180	46.7	1.91	46.6	58.7	38.7	13.3	23.6	117	28,7
	SEU	0.208	62.5	0.103	51.5	2.32	55.6	45.9	70.8	15.6	48.0	96.8	47,7
	WIN	0.406	47.8	0.159	49.7	2.99	72.9	33.4	35.6	13.9	20.4	142	18,0
SERP	BER	0.220	72.3	0.081	58.0	2.83	48.4	44.6	75.8	10.8	39.5	102	37,0
	MON	0.103	77.7	0.093	122	2.22	70.3	22.5	52.0	11.8	30.6	63.0	34,8
	PW	0.150	40.7	0.078	48.7	2.38	65.5	31.4	41.1	12.3	14.3	115	23,8
CAL	All	0.276 a	56.2	0.117 a	89.2	3.20 a	74.6	50.2 a	48.3	13.9 a	26.4	132 a	23,6
NMET		0.298 a	56.0	0.141 b	68.7	2.57 a	72.9	57.1 a	57.3	14.4 a	35.9	115 b	27,4
SERP		0.157 b	73.6	0.084 c	84.4	2.49 a	59.3	33.1 b	70.7	11.6 a	28.8	93.4 c	39,1
N. caerulescens		0.277	60.1	0.120	80.0	2.82	73.7	51.0	51.0	13.8	33.3	115	29.0
Arabidopsis thaliana		0.592	58.5	0.036	72.0	34.8	58.5	6.51	43.3	14.5	43.1	67.7	58.4
N. montana		0.143	75.4	0.158	613	2.19	41.4	21.8	54.9	15.1	43.0	73.5	127

a Leaf dry matter (g); b Root dry matter (g) ;c Leaf area (cm²); d Number of leaves from the rosette; e Diameter of the rosette (mm)

Table S2. Correlations between biomass production and element concentrations in shoots and roots of *Noccaea caerulescens* from three edaphic groups (CAL: calamine, 9 populations; NMET: non metalliferous, 10 populations; SER: serpentine, 3 populations). In bold, significant correlation ($p < 0.05$). 12 individuals per population.

CAL	LDM	RDM	shoot:root	LN	LA	RD	Ca.shoot	Fe.shoot	K.shoot	Mg.shoot	Na.shoot	Cd.shoot	Cu.shoot	Mn.shoot	Ni.shoot	Zn.shoot	Ca.root	Fe.root	K.root	Mg.root	Na.root	Cd.root	Cu.root	Mn.root	Ni.root	Zn.root
LDM	1																									
RDM	0,405	1																								
shoot:root	0,434	-0,648	1																							
LN	0,474	0,185	0,213	1																						
LA	0,900	0,433	0,322	0,392	1																					
RD	0,594	0,199	0,299	0,088	0,637	1																				
Ca.shoot	-0,248	-0,139	-0,070	-0,241	-0,094	-0,009	1																			
Fe.shoot	-0,329	-0,221	-0,056	0,049	-0,374	-0,411	0,155	1																		
K.shoot	-0,741	-0,234	-0,387	-0,486	-0,687	-0,378	0,248	0,175	1																	
Mg.shoot	-0,363	-0,191	-0,115	-0,268	-0,234	-0,170	0,820	0,278	0,261	1																
Na.shoot	-0,367	-0,253	-0,056	-0,011	-0,412	-0,341	-0,049	0,564	0,255	0,175	1															
Cd.shoot	-0,228	-0,066	-0,125	-0,284	-0,152	0,065	0,550	0,039	0,523	0,459	-0,100	1														
Cu.shoot	-0,443	-0,252	-0,121	-0,178	-0,445	-0,222	0,333	0,590	0,496	0,273	0,342	0,392	1													
Mn.shoot	-0,361	-0,091	-0,211	-0,407	-0,225	0,052	0,603	-0,079	0,579	0,456	-0,167	0,827	0,315	1												
Ni.shoot	-0,184	0,063	-0,215	-0,364	-0,032	0,104	0,262	-0,127	0,354	0,206	-0,051	0,457	-0,056	0,577	1											
Zn.shoot	-0,188	0,065	-0,220	-0,202	-0,092	0,024	0,500	-0,144	0,433	0,383	-0,240	0,738	0,162	0,770	0,645	1										
Ca.root	-0,044	-0,333	0,292	-0,019	-0,041	-0,113	0,092	0,180	0,157	0,016	0,141	-0,012	0,106	0,054	0,134	-0,082	1									
Fe.root	-0,202	-0,154	-0,016	-0,162	-0,140	-0,219	0,039	-0,001	0,333	0,035	0,143	0,133	-0,007	0,206	0,387	0,145	0,666	1								
K.root	-0,206	-0,323	0,148	-0,220	-0,127	-0,148	0,375	0,113	0,315	0,298	0,061	0,187	0,198	0,298	0,226	0,145	0,794	0,578	1							
Mg.root	0,088	-0,267	0,337	0,117	0,044	-0,047	0,138	0,151	-0,042	0,055	0,005	-0,120	0,040	-0,059	-0,060	-0,162	0,847	0,379	0,747	1						
Na.root	-0,203	-0,235	0,062	-0,250	-0,091	-0,098	0,112	0,080	0,262	0,106	0,301	0,147	0,109	0,148	0,181	0,048	0,468	0,351	0,473	0,328	1					
Cd.root	-0,090	-0,187	0,110	-0,134	-0,014	-0,166	0,212	0,323	0,132	0,186	0,151	0,237	0,396	0,040	-0,032	-0,025	0,426	0,343	0,465	0,299	0,338	1				
Cu.root	-0,023	-0,222	0,200	0,064	-0,009	-0,190	-0,031	0,272	0,112	-0,066	0,183	-0,087	0,122	-0,109	0,054	-0,153	0,846	0,659	0,545	0,628	0,356	0,531	1			
Mn.root	-0,216	-0,128	-0,054	-0,306	-0,011	0,126	0,430	-0,168	0,314	0,255	-0,057	0,264	0,169	0,457	0,356	0,264	0,337	0,308	0,612	0,239	0,336	0,206	0,118	1		
Ni.root	-0,078	-0,074	0,008	-0,239	-0,024	0,061	0,281	-0,256	0,359	0,167	-0,079	0,419	-0,036	0,433	0,614	0,538	0,438	0,559	0,526	0,269	0,380	0,282	0,356	0,420	1	
Zn.root	-0,124	-0,140	0,034	-0,138	-0,091	0,192	0,323	0,030	0,315	0,173	-0,085	0,438	0,322	0,466	0,313	0,463	0,195	0,169	0,338	0,217	0,166	0,220	0,022	0,359	0,398	1

Table S2

NMET	LDM	RDM	shoot:root	LN	LA	RD	Ca.shoot	Fe.shoot	K.shoot	Mg.shoot	Na.shoot	Cd.shoot	Cu.shoot	Mn.shoot	Ni.shoot	Zn.shoot	Ca.root	Fe.root	K.root	Mg.root	Na.root	Cd.root	Cu.root	Mn.root	Ni.root	Zn.root
LDM	1																									
RDM	0,655	1																								
shoot:root	0,482	-0,346	1																							
LN	0,520	0,327	0,267	1																						
LA	0,906	0,664	0,356	0,477	1																					
RD	0,702	0,483	0,313	0,205	0,681	1																				
Ca.shoot	-0,170	0,093	-0,319	0,000	0,024	-0,135	1																			
Fe.shoot	-0,381	-0,392	-0,020	0,083	-0,435	-0,378	-0,095	1																		
K.shoot	-0,694	-0,455	-0,335	-0,594	-0,608	-0,385	-0,017	0,231	1																	
Mg.shoot	-0,487	-0,272	-0,290	-0,165	-0,357	-0,384	0,568	0,308	0,425	1																
Na.shoot	-0,419	-0,410	-0,046	-0,028	-0,452	-0,365	-0,146	0,473	0,207	0,122	1															
Cd.shoot	-0,015	0,116	-0,153	-0,361	0,084	0,131	0,199	-0,225	0,438	0,354	-0,411	1														
Cu.shoot	-0,493	-0,430	-0,114	0,047	-0,477	-0,411	0,147	0,544	0,241	0,328	0,552	-0,190	1													
Mn.shoot	-0,146	0,045	-0,234	-0,364	-0,010	0,106	0,214	-0,167	0,362	0,235	-0,346	<u>0,564</u>	-0,278	1												
Ni.shoot	0,112	0,219	-0,115	-0,354	0,256	0,258	0,231	-0,344	0,293	0,177	-0,499	<u>0,747</u>	-0,469	<u>0,626</u>	1											
Zn.shoot	-0,025	0,127	-0,178	-0,184	0,126	-0,028	0,596	-0,210	0,117	0,367	-0,392	0,500	-0,094	0,412	<u>0,628</u>	1										
Ca.root	-0,036	-0,060	0,026	0,006	0,051	-0,080	0,149	-0,069	-0,043	0,104	0,145	-0,057	-0,039	-0,141	-0,070	-0,092	1									
Fe.root	0,067	0,063	0,010	0,124	0,134	0,042	0,151	-0,225	-0,137	0,014	-0,044	-0,116	-0,070	0,020	-0,022	0,062	0,470	1								
K.root	-0,380	-0,199	-0,242	-0,195	-0,176	-0,212	0,477	0,003	0,390	0,371	0,169	0,145	0,220	0,142	0,123	0,217	0,529	0,178	1							
Mg.root	0,092	0,059	0,045	0,046	0,161	-0,027	0,188	-0,137	-0,035	0,086	-0,018	-0,006	-0,087	-0,224	-0,009	-0,061	0,798	0,203	0,605	1						
Na.root	-0,259	-0,048	-0,266	-0,091	-0,153	-0,109	0,236	0,091	0,181	0,235	0,331	0,044	0,113	0,090	0,006	0,045	0,419	0,079	0,487	0,252	1					
Cd.root	-0,012	0,089	-0,117	-0,152	0,081	0,071	0,093	-0,026	0,104	0,202	-0,153	0,514	0,013	0,322	0,403	0,333	-0,017	-0,042	0,047	-0,094	0,128	1				
Cu.root	0,025	-0,112	0,162	0,256	0,006	-0,211	-0,087	0,283	-0,119	0,048	0,258	-0,265	0,286	-0,396	-0,427	-0,281	0,523	0,396	0,086	0,298	0,048	-0,082	1			
Mn.root	-0,290	-0,033	-0,322	-0,335	-0,135	0,028	0,275	-0,093	0,368	0,226	0,035	0,259	-0,065	0,492	0,404	0,284	0,265	0,114	0,521	0,191	0,361	0,161	-0,183	1		
Ni.root	-0,227	-0,022	-0,257	-0,395	-0,030	-0,024	0,381	-0,096	0,498	0,411	-0,224	0,547	-0,148	0,506	0,723	0,553	0,017	-0,138	0,511	0,113	0,271	0,276	-0,312	0,502	1	
Zn.root	-0,263	-0,222	-0,069	-0,052	-0,249	-0,250	0,040	0,224	0,466	0,312	0,025	0,315	0,359	-0,084	-0,039	0,119	-0,073	-0,129	0,268	0,002	0,029	0,148	0,171	0,058	0,240	1

SERP	LDM	RDM	shoot:root	LN	LA	RD	Ca.shoot	Fe.shoot	K.shoot	Mg.shoot	Na.shoot	Cd.shoot	Cu.shoot	Mn.shoot	Ni.shoot	Zn.shoot	Ca.root	Fe.root	K.root	Mg.root	Na.root	Cd.root	Cu.root	Mn.root	Ni.root	Zn.root
LDM	1																									
RDM	0,493	1																								
shoot:root	0,373	-0,624	1																							
LN	0,509	0,144	0,304	1																						
LA	0,954	0,389	0,441	0,524	1																					
RD	0,732	0,226	0,417	0,254	0,765	1																				
Ca.shoot	-0,337	-0,377	0,099	-0,059	-0,246	0,029	1																			
Fe.shoot	-0,438	-0,495	0,135	-0,134	-0,357	-0,078	0,874	1																		
K.shoot	-0,398	-0,362	0,028	-0,201	-0,301	0,112	0,904	0,833	1																	
Mg.shoot	-0,506	-0,405	-0,023	-0,087	-0,406	-0,160	0,952	0,900	0,885	1																
Na.shoot	-0,461	-0,336	-0,056	0,035	-0,404	-0,323	0,564	0,626	0,589	0,712	1															
Cd.shoot	-0,195	-0,392	0,243	-0,156	-0,065	0,291	0,829	0,751	0,849	0,732	0,340	1														
Cu.shoot	-0,585	-0,450	-0,045	-0,193	-0,482	-0,187	0,835	0,860	0,838	0,907	0,641	<u>0,776</u>	1													
Mn.shoot	-0,299	-0,397	0,155	-0,142	-0,211	0,249	0,795	0,690	0,890	0,719	0,356	<u>0,856</u>	0,736	1												
Ni.shoot	-0,050	-0,186	0,154	-0,175	0,015	0,444	0,699	0,531	0,800	0,532	0,141	<u>0,853</u>	0,563	0,881	1											
Zn.shoot	-0,304	-0,381	0,133	-0,164	-0,212	-0,015	0,940	0,788	0,810	0,864	0,506	<u>0,808</u>	0,754	0,709	<u>0,692</u>	1										
Ca.root	-0,132	-0,486	0,399	-0,036	0,013	0,166	0,662	0,658	0,625	0,631	0,453	0,761	0,623	0,564	0,511	0,738	1									
Fe.root	-0,281	-0,383	0,156	-0,090	-0,120	-0,056	0,475	0,460	0,439	0,514	0,359	0,492	0,460	0,374	0,281	0,577	0,817	1								
K.root	-0,158	-0,509	0,401	-0,175	-0,033	0,162	0,650	0,667	0,582	0,600	0,410	0,776	0,614	0,536	0,509	0,750	0,944	0,720	1							
Mg.root	0,014	-0,434	0,475	-0,016	0,080	0,062	0,474	0,478	0,295	0,420	0,355	0,444	0,308	0,235	0,217	0,639	0,807	0,655	0,841	1						
Na.root	-0,118	-0,087	-0,013	-0,110	0,033	0,254	0,591	0,405	0,666	0,531	0,427	0,607	0,486	0,523	0,593	0,561	0,458	0,217	0,431	0,193	1					
Cd.root	-0,001	-0,161	0,171	-0,257	0,068	0,365	0,431	0,413	0,530	0,358	0,221	0,657	0,390	0,596	0,581	0,500	0,612	0,336	0,650	0,452	0,433	1				
Cu.root	-0,351	-0,499	0,217	-0,231	-0,170	-0,029	0,629	0,670	0,624	0,643	0,438	0,725	0,659	0,542	0,467	0,714	0,903	0,878	0,855	0,656	0,380	0,513	1			
Mn.root	-0,119	-0,427	0,349	-0,062	0,000	0,173	0,643	0,668	0,694	0,631	0,541	0,712	0,542	0,586	0,490	0,651	0,797	0,563	0,727	0,615	0,542	<u>0,709</u>	<u>0,682</u>	1		
Ni.root	-0,113	-0,424	0,351	-0,250	-0,020	0,207	0,661	0,681	0,588	0,583	0,321	0,761	0,556	0,561	0,571	0,784	0,891	0,679	0,942	0,839	0,371	<u>0,702</u>	<u>0,812</u>	<u>0,721</u>	1	
Zn.root	-0,152	-0,376	0,265	-0,040	-0,046	0,240	0,432	0,502	0,531	0,438	0,345	0,614	0,494	0,662	0,471	0,433	0,704	0,576	0,672	0,465	0,187	<u>0,756</u>	<u>0,674</u>	<u>0,608</u>	<u>0,674</u>	1

Table S3 Means and coefficients of variation (cv, %) of shoot and root concentrations (mmol kgDW⁻¹) and translocation factors of major elements in 22 *Noccaea caerulescens* populations from three edaphic groups (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SER: serpentine), of *Arabidopsis thaliana* and of *N. montana*. For population code, see table 1. Mean comparisons were carried out using the Tuckey test (p = 0.05) following a hierarchical mixed model analysis. Means significantly different are marked with different letters.

Edaphic group	Population	Ca shoot		Ca root		Ca shoot/root		Fe shoot		Fe root		Fe shoot/root		K shoot		K root	
		mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv
CAL	AUX	633	15,6	131	21,9	5,19	39,1	1,69	39,1	64,9	51,5	0,033	72,7	794	17,1	906	17,5
	DUR	722	10,5	124	22,6	6,23	33,5	1,46	17,1	74,8	57,0	0,025	60,0	1101	13,9	1013	23,9
	GA	809	11,4	150	53,1	7,29	66,4	1,22	17,2	94,3	50,2	0,017	52,9	977	11,4	1201	45,3
	LAR	750	18,4	116	33,7	8,82	91,0	1,11	30,6	64,4	57,8	0,022	63,6	701	18,4	1004	33,9
	MAL	609	14,0	153	30,6	4,31	32,5	1,15	14,8	105	45,8	0,014	57,1	1044	22,6	1173	19,0
	RAM	749	10,5	138	32,1	5,84	28,9	1,35	18,5	80,7	54,4	0,02	45,0	1109	16,1	1206	28,5
	SFP	704	19,0	116	32,6	6,68	32,3	1,40	17,1	54,1	33,6	0,032	71,9	916	20,5	903	27,0
	SML	785	8,0	124	21,8	6,62	22,5	1,43	16,1	74,4	32,3	0,022	54,5	973	10,9	1101	22,2
	VIV	551	16,3	141	25,9	4,51	58,3	1,49	40,3	81,8	30,2	0,02	50,0	890	18,4	804	28,9
NMET	BES	878	12,3	133	23,3	6,92	23,4	1,43	20,3	74,4	34,9	0,022	40,9	843	11,2	1074	25,0
	CHA	798	12,3	148	13,4	5,53	24,1	1,26	15,9	74,5	20,4	0,017	29,4	591	13,2	769	32,1
	HER	942	11,7	142	28,2	7,08	27,4	1,47	19,0	81,8	45,6	0,022	59,1	871	20,9	1040	18,8
	LAS	899	12,7	148	35,1	6,52	27,9	1,16	18,1	79,8	44,2	0,017	47,1	741	17,1	1220	41,0
	MEZ	955	15,9	134	25,1	7,42	21,6	1,55	27,7	109	54,9	0,018	61,1	814	22,1	1081	23,8
	NOU	841	12,5	139	22,1	6,42	30,4	1,26	14,3	89,2	26,8	0,015	26,7	769	21,1	930	30,5
	PC	840	14,4	140	25,3	6,35	28,2	1,65	52,1	63,0	41,3	0,032	87,5	1222	26,0	1160	19,6
	SAL	948	9,6	136	13,2	7,2	22,1	1,39	22,3	76,0	23,6	0,020	45,0	862	14,6	1026	15,1
	SEU	794	7,3	132	25,4	6,64	42,2	1,45	24,8	78,0	33,7	0,021	45,0	960	17,8	959	23,0
	WIN	814	19,4	129	20,7	5,97	21,4	2,05	27,3	81,2	38,2	0,030	63,3	726	15,6	904	18,9
SERP	BER	806	13,3	130	20,2	6,43	26,4	1,44	13,9	77,6	65,9	0,028	78,6	824	13,8	1198	13,7
	MON	1270	97,4	137	23;0	9,80	72,7	2,28	82,0	102	48,2	0,031	80,6	1229	96,6	1091	25,0
	PW	862	7,0	134	17,8	6,59	17,6	1,68	17,9	73,4	42,1	0,031	77,4	1152	9,2	1136	17,7
CAL	All	701 a	17,8	133 a	32,4	6.09 a	57,8	1.37 a	28,6	77.5 a	49,6	0.023 a	67,9	946 a	21,4	1034 a	30,8
NMET		868 b	14,4	138 a	22,6	6.59 b	27,7	1.46 a	31,8	80.7 a	41,1	0.021 a	61,8	836 a	26,9	1017 a	28,4
SERP		981 b	73,9	131 a	20,2	7.68 b	62,0	1.81 a	62,2	83.6 a	53,2	0.030 a	75,3	1078 a	64,1	1117 a	19,0
N. caerulescens		813	37,0	135	26,7	6,47	47,3	1,47	39,8	79,6	46,3	0,023	68,5	914	35,8	1040	28,4
Arabidopsis thaliana		2656	57,8	234	69,4	14,7	70,0	1,73	66,5	106	69,8	0,029	116	515	54,1	1310	55,2
Noccaea montana		718	23,4	136	12,9	5,48	32,1	1,22	40,1	60,8	26,5	0,022	53,6	1069	20,3	1057	20,3

Table S3 suite

Edaphic group	Population	K shoot/root		Mg shoot		Mg root		Mg shoot/root		Na shoot		Na root		Na shoot/root	
		mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv
CAL	AUX	0,91	33,0	196	17,2	72,1	20,1	2,92	42,1	3,73	49,3	7,23	71,1	0,708	64,5
	DUR	1,19	42,9	194	16,1	73,2	29,1	2,93	41,0	3,31	33,2	7,32	50,3	0,696	98,7
	GA	0,98	58,2	224	18,9	85,4	61,0	4,15	95,9	3,32	61,7	9,54	82,2	0,632	97,8
	LAR	0,95	103	228	19,0	85,5	35,0	3,56	87,9	2,70	34,8	5,16	45,5	0,595	49,7
	MAL	0,90	23,3	182	12,0	76,6	32,8	2,55	27,1	3,21	19,3	9,98	55,8	0,474	85,4
	RAM	0,98	31,6	259	9,9	75,0	36,0	4,24	71,2	3,37	22,6	6,82	108	0,366	42,6
	SFP	1,18	65,3	228	15,3	76,7	49,8	3,90	68,7	3,06	40,8	6,82	108	0,731	62,4
	SML	0,94	31,9	286	7,9	83,5	33,3	4,21	69,4	4,08	39,2	6,73	47,1	0,663	41,3
	VIV	1,2	35,8	170	18,8	81,3	29,6	2,76	98,9	3,95	47,1	6,32	56,5	0,734	42,1
NMET	BES	0,841	33,3	226	14,3	73,6	26,2	3,38	41,7	3,70	26,8	12,0	88,3	0,682	149
	CHA	0,82	19,5	212	15,8	86,0	12,3	2,52	28,6	3,29	52,9	7,47	86,9	0,683	74,1
	HER	0,85	22,4	263	11,2	73,7	14,4	3,63	17,6	2,66	41,4	10,5	96,2	0,380	62,4
	LAS	0,66	30,3	196	20,6	89,3	27,7	2,31	29,9	3,41	23,5	9,66	55,7	0,555	106
	MEZ	0,89	83,1	238	8,7	77,9	27,2	3,71	74,4	4,06	43,3	9,46	69,5	0,563	54,0
	NOU	0,91	40,7	220	17,8	75,0	27,2	3,44	65,4	2,73	26,7	11,6	85,0	0,462	82,7
	PC	1,08	25,0	253	14,7	97,8	23,8	2,71	26,6	5,13	103,0	10,9	109,2	0,898	130
	SAL	0,851	11,8	248	9,3	83,3	13,1	3,04	20,4	2,41	44,0	9,15	65,7	0,349	83,1
	SEU	1,09	53,2	193	10,7	76,3	29,9	3,15	82,5	2,56	37,1	10,2	62,1	0,391	89,0
	WIN	0,821	20,7	216	14,6	69,1	12,0	3,19	24,5	5,32	28,4	11,0	90,2	0,805	54,9
SERP	BER	0,70	21,4	169	12,8	93,0	16,8	1,91	30,4	3,38	24,6	10,1	81,9	0,511	62,2
	MON	1,31	83,2	357	92,2	101	18,9	4,11	84,2	7,37	61,7	8,50	97,6	1,64	81,7
	PW	1,03	16,5	212	10,8	69,2	21,0	3,25	23,7	4,59	33,3	9,37	82,3	0,726	56,2
CAL	All	1.03 a	50,6	219 a	21,7	78.6 a	37,2	3.45 a	73,9	3.41 a	41,6	9.17 a	66,6	0.621 a	70,0
NMET		0.88 a	42,0	225 a	16,7	80.3 a	24,2	3.10 a	51,0	3.54 a	61,5	10.2 a	81,3	0.582 a	106
SERP		1.02 a	64,3	248 a	81,5	85.0 a	24,0	3.12 a	76,7	5.15 b	62,2	8.91 a	84,4	0.958 b	103
N. caerulescens		0,95	49,9	225	36,7	80,6	30,1	3,23	65,9	3,7	57,9	9,07	78,8	0,63	95,3
Arabidopsis thaliana		0,507	87,0	533	57,1	133	70,2	5,25	76,2	6,69	45,3	17,2	107	0,579	68,4
Noccaea montana		1,09	43,7	159	26,0	78,0	14,3	2,12	33,5	6,05	80,1	9,65	46,1	0,828	96,2

Table S4 Means and coefficients of variation (cv) of shoot and root concentrations (mmol kgDW⁻¹) and translocation factors of trace elements elements in 22 *Noccaea caerulescens* populations from three edaphic groups (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SER: serpentine), of *Arabidopsis thaliana* and of *N. montana*. For population codes, see table 1. Mean comparisons were carried out using the Tuckey test (p = 0.05) following a hierarchical mixed model analysis. Means significantly different are marked with different letters.

Edaphic group	Population	Cd shoot		Cd root		Cd shoot:root		Cu shoot		Cu root		Cu shoot:root		Mn shoot		Mn root	
		mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv
CAL	AUX	7,39	44,7	4,61	64,2	2,37	113	0,122	33,5	0,419	33,0	0,323	44,3	2,77	48,3	2,24	135
	DUR	13,4	21,9	3,71	29,8	4,04	44,6	0,147	24,8	0,296	32,4	0,565	59,1	5,49	19,3	2,83	37,7
	GA	15,4	18,2	4,35	49,3	4,46	53,8	0,128	17,1	0,388	60,7	0,440	57,4	5,96	23,4	4,47	57,0
	LAR	7,36	30,0	3,87	40,5	2,3	67,6	0,093	38,5	0,293	41,6	0,477	110	2,75	4,42	3,44	39,2
	MAL	11,8	26,6	4,17	45,3	3,24	42,2	0,115	27,4	0,420	39,7	0,326	57,1	4,42	17,0	4,57	39,2
	RAM	16,3	22,9	4,56	35,8	3,81	24,4	0,129	17,1	0,372	54,4	0,414	39,5	5,01	21,1	4,68	53,7
	SFP	12,2	26,2	2,91	33,5	4,77	44,5	0,135	46,6	0,24	33,3	0,656	66,1	5,06	24,5	1,99	50,2
	SML	10,5	20,1	3,72	30,3	2,97	26,5	0,115	24,9	0,306	34,5	0,405	32,5	4,12	19,2	2,21	35,3
	VIV	8,63	29,1	3,67	53,6	2,95	50,4	0,101	23,5	0,477	42,0	0,272	73,8	2,78	20,7	1,39	100
NMET	BES	3,87	33,9	2,56	65,9	1,88	50,1	0,068	21,9	0,547	38,1	0,131	26,1	1,12	20,5	0,951	83,8
	CHA	8,28	18,7	2,9	39,5	3,4	58,6	0,098	53,1	0,397	28,7	0,260	46,7	1,57	23,7	2,49	59,1
	HER	6,72	25,5	2,3	30,6	3,04	26,5	0,073	17,6	0,369	25,3	0,209	38,7	2,03	13,5	1,96	58,0
	LAS	3,9	19,8	1,73	42,3	2,61	42,3	0,089	17,0	0,373	27,5	0,263	38,5	1,39	18,2	2,04	78,6
	MEZ	3,15	56,1	1,95	42,3	1,63	27,3	0,122	18,0	0,438	36,8	0,335	63,1	1,70	45,7	2,15	50,6
	NOU	8,26	12,6	3,36	34,8	2,75	37,2	0,078	15,3	0,381	23,5	0,217	29,3	1,95	18,3	1,75	45,5
	PC	7,65	28,9	1,81	32,3	4,63	37,5	0,109	37,2	0,517	74,4	0,260	43,0	1,20	13,2	1,59	73,7
	SAL	6,33	27,5	3,41	34,9	2,02	37,7	0,070	19,0	0,440	32,2	0,172	29,1	1,79	25,1	1,83	65,6
	SEU	2,57	40,9	1,94	82,4	1,79	40,7	0,149	21,1	0,778	30,4	0,217	37,6	0,97	42,0	1,07	101
	WIN	6,85	46,7	3,04	52,4	2,71	60,2	0,110	63,1	0,372	29,2	0,326	78,2	1,64	61,8	1,62	50,6
SERP	BER	4,36	27,7	2,27	65,5	2,73	65,4	0,093	28,3	0,344	39,3	0,306	40,8	1,33	15,8	2,33	107
	MON	5,16	21,6	2,82	44,4	2,18	38,9	0,148	31,4	0,336	36,3	0,499	30,9	2,68	14,9	2,29	63,6
	PW	3,62	87,8	1,28	51,0	3,29	112	0,171	76,0	0,401	47,6	0,446	50,8	2,03	112	2,00	108
CAL	All	11.5 a	36,5	3.95 a	45,4	3.43 a	54,6	0.120 a	31,6	0.358 a	46,9	0.429 a	69,9	4.26 a	35,8	3.08 a	69,7
NMET		5.68 b	47,0	2.49 b	51,9	2.63 b	54,9	0.097 b	42,7	0.461 b	47,0	0.240 b	58,5	1.53 b	38,6	1.74 b	67,9
SERP		4.40 c	44,9	2.10 c	58,7	2.75 b	88,8	0.139 a	57,9	0.362 a	38,0	0.418 a	40,8	2.06 b	68,2	2.20 b	91,0
N. caerulescens		7,94	56,4	3,06	55,4	2,98	60,8	0,113	44,3	0,405	47,8	0,340	70,9	2,74	78,5	2,36	78,5
Arabidopsis thaliana		3,11	62,9	2,21	70,8	2,29	110	0,198	58,0	0,581	58,4	0,461	92,5	2,94	66,6	2,61	71,5
Noccaea montana		0,83	226	2,3	45,8	0,327	181	0,072	29,2	0,333	20,7	0,222	30,6	0,92	26,9	2,25	71,8

Table S4 suite

Edaphic group	Population	Mn shoot:root		Ni shoot		Ni root		Ni shoot:root		Zn shoot		Zn root		Zn shoot:root	
		mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv		
CAL	AUX	2,10	58,5	1,29	78,0	0,484	82,3	3,18	55,2	36,5	60,5	4,42	68,8	10,8	71,1
	DUR	2,26	49,7	1,61	79,2	0,599	49,0	2,68	49,2	40,9	17,2	13,5	16,7	3,10	20,9
	GA	1,85	65,7	1,14	80,4	0,708	47,9	1,98	67,5	42,2	18,8	10,2	53,5	4,98	38,2
	LAR	0,915	65,5	0,884	65,3	0,565	40,8	1,94	74,5	29,6	24,3	7,59	44,1	4,72	59,4
	MAL	1,09	60,1	1,16	51,8	0,868	40,1	1,45	47,5	36,5	26,3	6,46	26,6	5,88	28,5
	RAM	1,43	65,2	1,60	53,0	0,880	40,1	1,89	40,0	52,6	20,5	10,0	29,2	5,65	3,7
	SFP	2,87	36,6	1,05	89,7	0,346	37,4	2,83	53,3	37,7	57,4	11,1	27,3	3,69	44,6
	SML	20,9	41,2	0,824	48,5	0,578	39,1	1,5	37,2	35,7	16,8	7,72	36,9	5,23	40,9
	VIV	3,31	55,2	0,676	70,1	0,525	53,0	1,39	54,0	32,8	33,9	5,61	40,5	6,36	34,1
NMET	BES	1,98	66,8	1,59	52,0	0,559	138	4,25	65,9	49,8	22,3	4,34	99,5	14,8	34,8
	CHA	0,91	65,5	3,71	18,9	0,918	27,2	4,30	29,9	79,5	22,8	7,48	53,8	13,4	53,2
	HER	1,36	65,5	3,55	31,8	0,941	52,4	4,63	59,1	66,7	33,9	5,14	46,9	13,7	30,4
	LAS	1,09	60,1	1,94	21,2	0,963	32,9	2,17	33,4	59,8	17,4	4,72	27,0	13,2	20,7
	MEZ	1,07	79,4	0,931	25,4	0,526	30,2	1,98	51,9	59,9	28,3	5,13	42,6	13,3	34,8
	NOU	1,37	60,2	3,97	18,7	1,210	23,6	3,55	38,9	92,5	8,80	6,42	47,5	17,4	49,8
	PC	1,11	59,2	1,83	32,4	1,020	53,9	2,09	40,9	48,8	24,8	11,0	36,1	4,77	33,2
	SAL	1,63	79,6	2,69	42,3	0,851	58,8	3,98	44,2	73,1	30,5	4,94	56,3	16,3	22,3
	SEU	1,37	48,0	0,302	79,0	0,241	85,9	1,23	52,5	40,3	33,9	8,36	29,0	5,47	59,5
	WIN	1,15	49,8	2,40	28,3	0,902	68,7	3,30	55,7	73,3	28,1	6,26	48,1	14,6	50,0
SERP	BER	1,09	74,5	1,77	23,6	0,690	45,8	3,01	42,7	50,2	18,3	4,40	38,5	12,9	38,9
	MON	1,68	57,7	21,6	21,6	0,462	36,1	5,87	38,4	41,5	19,5	8,54	27,1	5,23	30,9
	PW	1,83	104	1,41	117	0,442	88,6	14,7	209	75,6	91,5	4,66	48,4	19,2	99,7
CAL	All	2.00 a	64,0	1.13 a	74,9	0.620 ab	53,0	2.08 a	61,9	38.2 a	32,2	8.51 a	47,7	5.59 a	64,6
NMET		1.31 b	67,9	2.25 b	59,6	0.807 b	63,7	3.13 b	62,9	63.7 b	33,9	6.34 b	56,6	12.6 b	50,2
SERP		1.55 b	64,3	1.86 b	57,5	0.529 a	59,6	5.90 c	120	55.5 c	72,6	5.83 b	43,6	12.7 b	102
N. caerulescens		1,61	69,6	1,73	71,3	0,700	63,0	2,91	93,8	52,1	48,2	7,20	53,4	6,69	77,5
Arabidopsis thaliana		3,04	213	0,252	54,5	1,51	45,3	0,28	149	8,01	61,5	31,1	64,5	0,449	119
Noccaea montana		0,656	62,6	0,171	25,0	0,465	35,0	0,406	41,3	7,03	25,9	4,91	31,8	1,60	48,9

Table S5. Means and coefficients of variations (cv, %) of the ratios between Cd, Mn, Ni and Zn concentrations in shoots of 22 populations of *Noccaea caerulescens* from three edaphic groups (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SERP: serpentine), of *Arabidopsis thaliana* and of *N. montana*. For population codes, see table 1.

Edaphic group	Population	Zn.shoot/Cd.shoot mean (cv)	Cd.shoot/Ni.shoot mean (cv)	Zn. shoot/Ni.shoot mean (cv)	Mn.shoot/Ni.shoot mean (cv)	Zn.shoot/Mn.shoot mean (cv)	Cd.shoot/Mn.shoot mean (cv)
CAL	AUX	5.7 (57.1)	12.6 (127.0)	39.5 (51.8)	3.6 (74.1)	13.4 (40.3)	3.2 (64.7)
	DUR	3.1 (14.0)	12.1 (60.5)	35.9 (46.5)	5.0 (58.3)	7.5 (13.3)	2.5 (14.7)
	GA	2.8 (9.3)	18.3 (41.5)	49.5 (40.0)	6.8 (39.0)	7.3 (20.2)	2.7 (19.7)
	LAR	4.1 (15.6)	11.8 (67.0)	47.6 (64.7)	4.3 (59.9)	11.0 (16.1)	2.7 (12.3)
	MAL	3.2 (22.8)	12.3 (42.9)	37.0 (37.7)	4.5 (35.3)	8.2 (18.7)	2.7 (18.3)
	RAM	3.3 (16.3)	12.2 (46.9)	39.2 (37.8)	3.7 (46.0)	10.8 (21.6)	3.3 (17.4)
	SFP	3.10 (9.9)	15.9 (48.3)	47.9 (42.3)	6.6 (46.8)	7.5 (18.1)	2.4 (14.5)
	SML	3.5 (11.2)	15.2 (42.5)	50.4 (35.5)	5.9 (39.1)	8.8 (16.3)	2.6 (16.7)
	VIV	3.8 (13.6)	17.2 (54.2)	63.1 (46.7)	5.6 (52.3)	11.7 (16.2)	3.1 (12.0)
NMET	BES	13.7 (26.5)	3.2 (53.4)	47.5 (80.7)	1.0 (64.6)	45.2 (21.3)	3.4 (20.7)
	CHA	9.7 (17.3)	2.3 (27.7)	22.1 (25.8)	0.4 (19.3)	52.4 (25.2)	5.5 (26.3)
	HER	9.8 (15.3)	2.0 (22.6)	19.2 (21.9)	0.6 (21.9)	32.6 (26.2)	3.3 (21.7)
	LAS	15.5 (11.3)	2.1 (21.8)	32.1 (25.2)	0.7 (27.2)	44.0 (21.1)	2.9 (20.5)
	MEZ	18.3 (48.9)	11.7 (56.5)	176.0 (56.2)	3.9 (38.3)	48.6 (53.8)	3.1 (52.1)
	NOU	11.3 (9.9)	2.1 (17.6)	23.9 (16.7)	0.5 (27.6)	48.8 (19.2)	4.3 (18.1)
	PC	6.5 (13.6)	4.4 (25.1)	27.7 (22.6)	0.7 (28.9)	40.3 (20.2)	6.3 (21.8)
	SAL	11.6 (21.3)	2.7 (41.8)	29.8 (27.9)	0.8 (41.9)	42.2 (34.7)	3.7 (33.1)
	SEU	22.9 (37.7)	3.4 (41.2)	68.8 (36.2)	1.9 (38.5)	40.9 (41.3)	1.9 (33.4)
	WIN	12.3 (33.7)	3.5 (91.9)	33.9 (23.7)	0.9 (122.0)	55.9 (38.8)	4.5 (27.0)
SERP	BER	11.9 (16.8)	2.5 (23.7)	29.4 (23.9)	0.8 (20.5)	38.3 (17.6)	3.3 (18.8)
	MON	19.9 (26.1)	4.9 (85.2)	82.4 (51.8)	1.8 (46.3)	48.4 (39.3)	2.6 (47.1)
	PW	8.2 (18.7)	2.3 (29.6)	18.4 (26.7)	1.2 (23.3)	15.7 (22.9)	2.0 (23.2)
CAL		3.6 (37.9)	14.2 (60.7)	45.6 (48.3)	5.1 (52.4)	9.6 (31.7)	2.8 (29.1)
NMET		13.2 (47.3)	3.8 (99.2)	49.1 (117.0)	1.2 (104.0)	44.9 (35.1)	3.9 (42.1)
SERP		13.2 (45.2)	3.2 (83.1)	43.1 (87.2)	1.3 (50.7)	33.5 (54.5)	2.6 (37.7)
All <i>N. caeulescens</i> plants		9.2 (73.5)	8.1 (99.9)	46.9 (92.3)	2.8 (96.3)	28.6 (72.9)	3.2 (42.5)
<i>Arabidopsis thaliana</i>		2.61 (14.8)	12.1 [18.7]	31.1 [16.9]	11.6 (22.6)	2.78 (23.1)	1.07 (19.3)
<i>Noccaea montana</i>		28.6 (32.6)	1.32 (31.3)	38.9 (37.3)	4.91 (36.7)	7.99 (29.2)	0.296 (29.3)
Nutrient solution		10	1,4	14,3	1,4	10	1

Table S6. Means (mmol kgDW-1) and coefficients of variations (cv, %) of the sum of total, major and trace cations in 22 populations of *Noccaea caerulescens* from three edaphic groups (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SERP: serpentine), in *Arabidopsis thaliana* and in *N. montana*. For population codes, see table 1. Mean comparisons were carried out using the Tuckey test ($p = 0.05$) following a hierarchical mixed model analysis. Means significantly different are marked with different letters.

Edaphic group	Population	Sum of cations in the whole plant		Sum of major cations in the whole plant		Sum of trace cations in the whole plant	
		mean	cv	mean	cv	mean	cv
CAL	AUX	2869	11,8	2809	11,8	60,2	41,6
	DUR	3396	9,40	3314	9,64	82,5	13,3
	GA	3629	17,5	3543	18,0	85,8	9,11
	LAR	2979	24,4	2924	24,5	54,8	26,6
	MAL	3429	13,4	3358	13,3	70,5	21,6
	RAM	3730	14,6	3633	15,1	96,2	16,1
	SFP	3085	10,3	3012	10,3	73,5	22,8
	SML	3505	7,95	3439	8,06	65,8	16,9
	VIV	2787	15,2	2730	15,3	56,7	28,1
NMET	BES	2760	15,5	2695	15,5	64,4	28,1
	CHA	3511	7,48	3404	7,48	107	20,6
	HER	3285	9,42	3196	9,76	89,0	31,6
	LAS	3397	15,1	3320	15,3	77,0	16,6
	MEZ	3500	10,5	3424	10,5	76,0	20,7
	NOU	3548	9,65	3428	9,82	120	8,58
	PC	3869	13,5	3794	13,9	75,5	22,0
	SAL	3174	16,4	3079	16,2	95,4	29,1
	SEU	3017	10,0	2960	10,1	57,3	23,9
	WIN	3484	22,7	3388	22,8	96,5	26,0
SER	BER	3382	5,84	3314	5,77	67,8	17,8
	MON	4401	69,0	4306	68,8	95,4	78,4
	PW	3712	8,56	3645	8,54	66,9	13,5
CAL	All	3272 a	16,9	3200 a	17,0	72.1 a	27,8
NMET		3350 a	16,1	3264 a	16,2	85.1 b	30,9
SERP		3850 b	47,2	3773 b	47,0	77.3 ab	59,6
N. caerulescens		3381	24,8	3302	24,8	79,1	35,5
Arabidopsis thaliana		5565	40,8	5512	40,9	52,6	45,2
Noccaea montana		3313	9,20	3294	9,21	19,3	24,7

Table S7. Percentage of element in plant in each *Noccaea caerulescens* edaphic group (CAL=calamine; NMET: non metalliferous and SERP= serpentines), in *Noccaea montana* and *Arabidopsis thaliana*.

Element	CAL		NMET		SERP		<i>N. montana</i>		<i>A. thaliana</i>	
	Shoot	Total	Shoot	Total	Shoot	Total	Shoot	Total	Shoot	Total
Ca	36,5	25,7	43,6	30,5	41,1	27,7	36,6	25,7	70,6	50,2
Fe	0,072	2,38	0,073	2,48	0,082	2,42	0,062	1,93	0,047	1,95
K	49,0	60,2	41,3	54,9	45,3	58,9	54,5	64,2	14,4	34,7
Mg	11,4	9,18	11,2	9,20	10,3	8,62	8,10	7,14	14,1	11,7
Na	0,181	0,342	0,178	0,403	0,244	0,400	0,308	0,443	0,189	0,407
Cd	0,586	0,473	0,279	0,245	0,207	0,179	0,041	0,094	0,083	0,097
Cu	0,006	0,473	0,005	0,245	0,007	0,179	0,004	0,094	0,006	0,097
Mn	0,218	0,220	0,076	0,097	0,085	0,106	0,047	0,096	0,077	0,104
Ni	0,059	0,053	0,11	0,09	0,081	0,062	0,009	0,016	0,007	0,034
Zn	1,98	0,988	3,16	1,87	2,56	1,45	0,371	0,363	0,21	0,719
Major elements	97,2	97,8	96,4	97,5	97,1	98,0	99,5	99,4	99,6	99,0
Trace elements	2,85	2,21	3,63	2,55	2,94	1,97	0,74	0,66	0,38	1,05

Tableau S8. Means and coefficients of variation (cv, %) of quantities in shoots and roots (mmol per plant) and allocation factors of trace elements in 22 *Noccaea caerulea* populations from three edaphic groups (CAL: calamine; NMET: non metalliferous; SERP: serpentine), in *Arabidopsis thaliana* and in *N. montana*. For population codes, see table 1.

Ecotype	Population	Total Cd shoot		Total Cd root		Total Cd shoot/root		Total Cu shoot		Total Cu root		Total Cu shoot/root		Total Mn shoot		Total Mn root	
		mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv
CAL	AUX	2,43	62,1	0,573	62,0	5,31	91,3	0,036	44,4	0,055	60,0	0,83	69,9	0,89	70,6	0,278	119
	DUR	2,35	49,4	0,444	53,6	10,1	158	0,024	33,3	0,034	52,9	1,13	113	0,935	39,6	0,346	63,0
	GA	3,54	33,1	0,373	59,2	14,8	78,3	0,03	33,3	0,030	60,0	1,34	67,9	1,34	30,0	0,372	67,7
	LAR	3,26	39,6	0,515	63,7	9,43	88,0	0,04	47,5	0,038	65,8	1,81	104,4	1,19	37,6	0,445	66,3
	MAL	3,02	38,7	0,427	79,6	10,2	61,6	0,029	37,9	0,044	88,6	1,00	74,0	1,13	37,9	0,444	63,7
	RAM	3,31	73,4	0,430	70,2	9,42	65,4	0,026	61,5	0,033	63,6	0,98	60,2	1,01	66,2	0,437	68,0
	SFP	3,28	35,7	0,278	68,3	17,6	82,4	0,037	56,8	0,022	63,6	2,78	117	1,38	39,3	0,196	64,3
	SML	1,95	47,2	0,313	60,1	7,76	59,9	0,02	35,0	0,028	89,3	1,03	46,6	0,772	43,9	0,212	82,1
	VIV	3,25	47,4	0,422	47,9	10,0	80,2	0,037	43,2	0,055	43,6	0,80	47,5	1,07	52,0	0,171	109
NMET	BES	2,27	49,3	0,448	92,2	7,05	50,8	0,038	34,2	0,082	40,2	0,48	27,1	0,647	40,0	0,155	87,7
	CHA	2,28	36,0	0,442	60,6	7,15	73,7	0,025	40,0	0,059	49,2	0,47	44,7	0,445	44,5	0,389	94,6
	HER	1,86	34,9	0,376	68,1	6,56	55,5	0,02	35,0	0,061	55,7	0,45	62,2	0,571	33,3	0,34	87,4
	LAS	0,877	56,1	0,211	70,1	6,07	68,5	0,019	42,1	0,044	77,3	0,56	53,6	0,306	49,7	0,214	67,3
	MEZ	0,589	70,1	0,173	72,8	4,22	48,1	0,034	58,8	0,081	56,8	0,47	29,8	0,182	54,4	0,082	69,5
	NOU	2,12	27,4	0,420	59,5	6,40	46,4	0,020	30,0	0,045	37,8	0,50	44,0	0,513	40,4	0,199	40,2
	PC	1,46	52,7	0,154	71,4	10,0	37,9	0,018	27,8	0,045	100,0	0,58	46,6	0,217	39,6	0,157	95,5
	SAL	1,97	56,3	0,586	46,9	3,83	65,8	0,022	45,5	0,077	54,5	0,32	56,3	0,539	39,3	0,330	99,7
	SEU	0,636	67,0	0,191	56,0	3,96	75,8	0,026	76,9	0,046	65,2	0,75	70,7	0,341	59,2	0,211	75,8
	WIN	2,32	24,1	0,445	60,4	7,12	62,8	0,039	48,7	0,058	50,0	0,93	90,3	0,575	36,7	0,264	65,5
SERP	BER	1,00	57,0	0,184	61,4	7,46	69,2	0,021	47,6	0,028	50,0	0,92	69,6	0,309	52,1	0,158	68,4
	MON	0,267	70,4	0,089	112	5,91	103	0,013	61,5	0,023	91,3	0,79	65,8	0,130	79,2	0,096	115
	PW	0,742	34,6	0,218	72,9	6,15	101	0,021	33,3	0,024	54,2	1,25	80,8	0,408	48,5	0,186	94,6
CAL	All	2,93	50,3	0,418	65,1	10	95,1	0,031	49,9	0,038	70,2	1,28	114,1	1,08	47,8	0,321	81,1
NMET		1,63	59,8	0,344	79,0	6,21	63,4	0,026	56,6	0,060	61,1	0,55	72,9	0,434	55,1	0,234	95,9
SERP		0,66	70,4	0,161	83,0	6,49	87,7	0,018	49,6	0,025	64,7	0,98	76,3	0,285	68,6	0,145	93,3
N. caerulescens		2,04	45,4	0,35	64,3	8,02	75,5	0,03	45,1	0,046	59,4	0,92	76,2	0,68	44,7	0,26	78,3
Arabidopsis thaliana		1,76	117	0,08	126	63,4	121	0,119	101	0,020	85,0	17,6	165	1,77	123	0,094	109
Noccaea montana		0,075	155	0,516	164	0,512	137	0,011	93,0	0,053	140	0,457	92,0	0,130	82,0	0,417	129

Table S8 suite

Ecotype	Population	Total Mn shoot/root		Total Ni shoot		Total Ni root		Total Ni shoot/root		Total Zn shoot		Total Zn root		Total Zn shoot/root	
		mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv	mean	cv
CAL	AUX	5,55	78,6	0,469	102	0,075	92,0	8,26	65,6	12,3	80,4	0,603	82,6	25,2	65,8
	DUR	5,37	152	0,266	86,1	0,073	68,5	5,37	108	7,00	42,1	1,546	47,0	5,90	86,6
	GA	5,76	78,0	0,240	60,4	0,054	46,3	5,89	65,7	9,82	37,9	0,877	66,9	15,9	66,4
	LAR	3,56	62,9	0,369	68,0	0,074	66,2	6,40	57,5	13,0	36,4	1,044	66,1	18,2	73,9
	MAL	3,25	51,4	0,274	47,1	0,092	91,3	4,90	78,8	9,15	38,0	0,663	71,5	18,3	53,6
	RAM	3,85	95,6	0,296	64,9	0,080	63,8	4,31	56,8	11,14	81,0	1,027	72,8	13,7	58,2
	SFP	12,23	102	0,295	106	0,038	89,5	11,6	100	10,14	38,1	1,127	69,6	14,4	81,8
	SML	5,71	64,4	0,158	66,5	0,046	63,0	3,64	46,2	6,70	46,9	0,667	73,2	14,1	75,1
	VIV	11,0	59,8	0,280	90,7	0,068	70,6	4,82	67,6	12,5	51,2	0,744	83,3	21,9	54,9
NMET	BES	7,90	69,7	0,980	61,9	0,106	167	17,1	74,4	28,3	36,8	0,757	135	57,7	40,9
	CHA	1,91	69,6	1,055	45,7	0,133	39,8	8,81	55,3	21,8	38,5	1,046	49,5	24,4	55,6
	HER	3,08	99,0	0,950	28,1	0,152	65,1	10,1	84,3	17,8	27,5	0,804	62,2	30,5	65,9
	LAS	2,59	81,9	0,446	55,6	0,120	89,2	4,86	61,9	13,4	50,9	0,554	53,1	29,6	61,8
	MEZ	3,20	58,1	0,054	66,7	0,020	55,0	2,89	50,5	9,13	65,8	0,901	58,2	11,2	33,1
	NOU	3,24	79,9	1,006	26,7	0,152	46,1	8,86	74,2	23,8	28,0	0,726	44,9	38,9	61,5
	PC	2,63	79,5	0,338	59,2	0,084	73,8	4,80	61,0	9,09	48,6	1,055	97,2	10,4	40,0
	SAL	3,33	94,9	0,778	51,4	0,131	56,5	7,73	64,8	21,9	50,3	0,770	41,2	31,7	55,3
	SEU	2,38	79,8	0,199	70,4	0,055	58,2	4,67	65,5	12,4	69,4	0,530	62,5	33,0	73,4
	WIN	3,60	108	0,962	49,4	0,138	66,7	9,19	67,5	27,9	41,3	0,936	71,0	39,3	60,5
SERP	BER	2,65	57,0	0,421	52,7	0,061	73,8	9,71	69,5	11,9	57,1	0,377	59,4	37,2	48,3
	MON	2,70	78,5	0,084	65,5	0,026	112	14,0	150	5,43	72,4	0,327	104,9	36,5	117
	PW	4,74	112	0,345	44,3	0,034	58,8	14,19	70,7	5,93	30,4	0,611	49,3	12,1	66,8
CAL	All	6,27	105,9	0,293	87,8	0,067	78,9	6,06	92,7	10,2	58,4	0,922	73,1	16,3	73,3
NMET		3,40	96,9	0,673	74,0	0,109	87,6	7,86	90,6	18,5	57,1	0,806	75,8	30,7	72,6
SERP		3,34	102,1	0,281	74,5	0,040	87,9	12,7	110	7,58	69,1	0,435	71,7	28,8	102
N. caerulea		4,56	83,6	0,467	55,0	0,082	72,2	7,82	77,7	13,6	46,1	0,804	67,8	24,6	62,9
Arabidopsis thaliana		56,2	129	0,142	94,9	0,056	88,1	9,33	177	4,57	115	1,09	100	15,1	159
Noccaea montana		1,74	135	0,025	89,2	0,085	131	1,04	120	1,08	102	0,765	124	4,03	141

Annexe C figures et tableaux
supplémentaires du chapitre 4

Tableau S1: Localisation des 23 individus tests pour la mise au point des marqueurs chloroplastiques et le test des marqueurs nucléaires et chloroplastiques

Pays	Localisation	Coordonnées	Haplotype
Belgique	Prayon	50°35'3.31"N 5°40'23.69"E	D
Belgique	Angleur*	50°36'44.61"N 5°36'38.74"E	D
Luxembourg	Goebelsmühle	49°55'22.07"N 06°3'44.08"E	D
Espagne	Esterri d'Aneu	42°35'51.50"N 01°04'23.82"E	G
France	Col du Lautaret	45°02'07"N 06°24'20" E	H
France	Ramponenche*	44°20'18.25"N 03°40'05.45"E	C
France	Auxelles-Haut*	47°44'21.52"N 06°46'35.84"E	A
France	Bergenbach*	47°54'22.90"N 06°57'25.50"E	C
France	Auxy*	46°57'44.13"N 04°23'47.05"E	I
France	Ganges*	43°56'10.98"N 03°40'19.88"E	E
Grande Bretagne	Somerset	51°15'39.06"N 02°39'02.12"W	K
Allemagne	Breining	50°44'12.73"N 06°14'30.92"E	D
Allemagne	Saint Jost	50°21'08.95"N 07°06'33.65"E	D
Allemagne	Silberggerg	52°12'38.72"N 07°56'46.13"E	P
Allemagne	Dresden	51°06'04.48"N 13°47'17.61"E	P
Allemagne	Blankenrode	51°32'0.34"N 08°54'17.02"E	D
Norvège	Hovedoya	59°53'39"N 10°43'44"E	P
Suède	Uppsala	59°50'40.68"N 17°44'54.18"E	A
Islande	Husavik	66°01'38.89"N 17°17'21.71"W	P
Autriche	Mostviertel	47°51'08.70"N 15°17'13.20"E	nd
Slovaquie	Bakomi	48°26'0.48"N 18°51'29.86"E	P
Slovaquie	Bakomi	48°48'29.87"N 19°08'14.65"E	P
Slovaquie	Bakomi	48°26'05.48"N 18°55'09.43"E	Q

* station étudiée dans notre étude

Tableau S2 : Séquences nucléotidiques des 20 paires d'amorces utilisées

Région	Amorces sens	séquences	amorces anti-sens	séquences
TF	Ath_TF_F	CATTACAAATGCGATGCTCT	Ath_TF_R	ATTTGAACTGGTGACACGAG
	Ath_TF_F	CATTACAAATGCGATGCTCT	Ath_TF851_R	CAGCTTCCATTGAGTCTCTGC
	Ath_TF1215_F	AATCGTGAGGGTTCAAGTCC	Ath_TF_R	ATTTGAACTGGTGACACGAG
	Ath_TFint660F_F	GGAATTGGTAGACGCTACGG	Ath_TFint1382R_R	GACCGGGAATTTCTTGGATT
QS	Ath_QS_F	GGGACGGAAGGATTCTGAACC	Ath_QS_R	GGACTAAAGCGTTGGATTGC
	Ath_QS_F	GGGACGGAAGGATTCTGAACC	Ath_QS680_R	TTGAGAGTTCGTTTCATACGTCAA
	Ath_QS563_F	GCAAGCCGCTGTAAGTTTTC	Ath_QS_R	GGACTAAAGCGTTGGATTGC
K2Q	Ath_K2Q_F	TAAAAGCCGAGTACTCTACCGTTG	Ath_K2Q_R	CTATTCGGAGGTTCTGAATCCTTCC
	Ath_K2Q_F	TAAAAGCCGAGTACTCTACCGTTG	Ath_K2Q982R	CTATCCCAACGAGCCGTTTA
	Ath_K2Q1421F	GCAACAAGCCCCTTATTTTG	Ath_K2Q_R	CTATTCGGAGGTTCTGAATCCTTCC
	Ath_K2QintF778	CCGTAAAAATCCCAGCCTTC	Ath_K2QintR1760	GTGCTCTTGGCTCGACATTT
DT	Ath_DT_F	ACCAATTGAACTACAATCCC	Ath_DT_R	CTACCACTGAGTTAAAAGGG
	Ath_DT_F	ACCAATTGAACTACAATCCC	Ath_Dt704_R	GATGGCGGTTGAGCAAGTAT
	Ath_DT583_F	GCATCGACCCAGGAAGAAT	Ath_DT_R	CTACCACTGAGTTAAAAGGG

Tableau S3 : Distribution des haplotypes dans les 62 populations et pourcentage totale sur l'ensemble du génotypage

Station	Hap A	Hap B	Hap C	Hap D	Hap E	Hap F	Hap G	Hap H	Hap I	Hap J	Hap K	Hap P	n
F03	22												22
F04			23										23
F06			20										20
F07			19										19
F08			17										17
F09	1		15										16
F21			23										23
F22			21										21
F23			5		19								24
F24					4				6		12		22
F25					19					3			22
F27			22										22
F28	1	6	3			10					2		22
F29	1		1			16	1			1	2		22
F30	2					13				1	6		22
F31			15							4			19
F32			9							13			22
F33					23								23
F34			22	1									23
F35			1	22									23
F36			1		1	16					5		23
F37			2	5	6						10		23
F38					10						11		21
F39				6							16		22
F40					18						4		22
F41					23								23
F42											19		19
F43					6						16		22
F44					23								23
F45			19										19
F46			2		18						1		21
F47			17			4							21
F48			10		13								23
F49			23										23
F50			21		1								22
F51					23								23
F52			7		16								23
F54			23										23
F55			23										23
F65			23										23
F66			21										21
F67			13										13
F68			14										14
F69			23										23
F70			23										23
F71			18										18
F72											14		14
F73			17										17
F75			14										14
Sw02			16										16
Sw06			16										16
Sw15			13		3								16
B02			1	12								9	22
B03				15								2	17
F05									16				16
F13					20								20
F15			3							5	7		15
F19					3						19		22
F57								10					10
F58												12	12
F61					7								7
L02				20									20
Pourcentage	2,19%	0,49%	46,9%	6,56%	20,7%	4,78%	0,08%	0,81%	1,78%	2,19%	11,7%	1,86%	

Tableau S4: Coefficient d'appartenance aux différents clusters sous STRUCTURE Ks1, Ks2 et Ks3 et sous ADEGENET Kd1, Kd2 et Kd3 au sein des 62 stations de *N. caerulea*.

station	K _{3s1}	K _{3s2}	K _{3s3}	K _{3d1}	K _{3d2}	K _{3d3}
F27	0,97	0,01	0,02	1,00	0,00	0,00
F44	0,98	0,01	0,01	1,00	0,00	0,00
F54	0,98	0,02	0,01	1,00	0,00	0,00
F45	0,91	0,08	0,01	0,95	0,05	0,00
F46	0,93	0,05	0,02	1,00	0,00	0,00
F48	0,94	0,05	0,01	1,00	0,00	0,00
F49	0,97	0,02	0,01	1,00	0,00	0,00
F51	0,96	0,03	0,02	1,00	0,00	0,00
F52	0,99	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
F61	0,99	0,01	0,00	1,00	0,00	0,00
F47	0,99	0,01	0,00	1,00	0,00	0,00
F50	0,99	0,01	0,00	1,00	0,00	0,00
F19	0,00	0,97	0,02	0,00	0,90	0,10
F28	0,01	0,99	0,01	0,00	1,00	0,00
F29	0,02	0,98	0,00	0,00	1,00	0,00
F30	0,01	0,99	0,01	0,00	1,00	0,00
F36	0,01	0,97	0,02	0,00	1,00	0,00
F42	0,01	0,98	0,01	0,00	0,95	0,05
F43	0,02	0,97	0,01	0,00	1,00	0,00
F23	0,08	0,73	0,19	0,08	0,58	0,33
F31	0,02	0,87	0,11	0,05	0,64	0,32
F32	0,01	0,97	0,02	0,00	1,00	0,00
F33	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00	0,00
F34	0,00	0,95	0,05	0,00	0,96	0,04
F35	0,00	0,93	0,07	0,00	0,96	0,04
F37	0,01	0,98	0,01	0,00	1,00	0,00
F38	0,00	0,99	0,01	0,00	0,96	0,04
F39	0,01	0,98	0,02	0,00	0,95	0,05
F40	0,00	0,99	0,01	0,00	1,00	0,00
F41	0,00	0,99	0,01	0,00	1,00	0,00
F03	0,00	0,64	0,36	0,00	0,61	0,39
F57	0,00	0,99	0,00	0,00	1,00	0,00
F15	0,03	0,88	0,09	0,00	0,88	0,13
F55	0,00	0,99	0,01	0,00	1,00	0,00
F58	0,00	0,96	0,04	0,00	0,93	0,07
F09	0,00	0,04	0,96	0,00	0,06	0,94
F65	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F66	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F67	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F68	0,00	0,02	0,98	0,00	0,08	0,92
F69	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F70	0,01	0,03	0,96	0,00	0,00	1,00
Sw02	0,00	0,94	0,06	0,00	1,00	0,00
Sw06	0,01	0,02	0,97	0,00	0,13	0,88
F06	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F07	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F08	0,00	0,01	0,98	0,00	0,00	1,00
F21	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F22	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F73	0,01	0,00	0,99	0,00	0,00	1,00
F75	0,01	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F04	0,00	0,01	0,99	0,00	0,00	1,00
F71	0,01	0,04	0,95	0,00	0,06	0,94
F72	0,01	0,09	0,90	0,00	0,00	1,00
Sw15	0,01	0,19	0,80	0,00	0,19	0,81
B02	0,49	0,03	0,48	0,14	0,09	0,77
B03	0,13	0,02	0,85	0,00	0,00	1,00
L02	0,08	0,71	0,22	0,00	0,00	1,00
F05	0,01	0,76	0,23	0,00	0,06	0,94
F13	0,01	0,63	0,37	0,00	0,00	1,00
F24	0,15	0,55	0,30	0,00	0,39	0,61
F25	0,02	0,08	0,90	0,00	0,00	1,00

Tableau S5: Nombre d'individus appartenant aux 10 groupes $K_{10d}1$ à $K_{10d}10$ sous DAPC au sein des 62 stations de *N. caeruleus*.

station	$K_{10d}1$	$K_{10d}4$	$K_{10d}6$	$K_{10d}2$	$K_{10d}5$	$K_{10d}9$	$K_{10d}7$	$K_{10d}3$	$K_{10d}8$	$K_{10d}10$
F27	22									
F44	23									
F54				23						
F45		18					1			
F46		21								
F48		22								
F49		23								
F51		2								
F52		2	3							
F61		7								
F47			21							
F50		7	15							
F19					19					
F28					22					
F29					23					
F30					23					
F36					23					
F42					19					
F43					23					
F23		2			2			1		1
F31		1			2			1		
F32					17	4	1			
F33					8	15				
F34					7	15				1
F35					1	21				1
F37						23				
F38						22				
F39					3	18				
F40						23				
F41						23				
F03						2			9	
F57						9				
F15					1		15			
F55							23			
F58					1		13			
F09									15	1
F65									23	
F66									21	
F67									13	
F68									12	1
F69									23	
F70									23	1
Sw02									16	
Sw06									16	
F06								2		
F07								19		
F08								16		
F21								23		
F22								21		
F73								17		
F75								15		
F04										3
F71										18
F72							2			12
Sw15						3			3	1
B02				2			1			18
B03										15
L02							1			16
F05									1	14
F13										18
F24					3	1			3	15
F25										23

La correspondance des couleurs est donnée en figure 11 du chapitre 4.

Tableau S6: Estimation des paramètres a postériori sous les scénarios 5 et 6

Paramètres	Scénario 5		Scénario 6	
	mode	IC à 95%	mode	IC à 95%
N1	37 400	[17 200-49 200]	31 400	[12 900-48 600]
N2	38 000	[15 700-48 000]	42 500	[22 400-49 200]
N3	10 100	[3 280-38 900]	13 100	[3 930-36 100]
Na	13 100	[568-81 500]	7 990	[753-88 000]
t	14 700	[5 580-88 500]	11 400	[3 440-83 800]
ta	2 860	[1 020-20 500]	4 370	[1 550 – 25 000]
ra	0,101	[0,010-0,712]	0.131	[0.009 - 0.644]
μ	$5,26 \cdot 10^{-5}$	$[2,95 \cdot 10^{-5} - 1,73 \cdot 10^{-4}]$	$7.88 \cdot 10^{-5}$	$[3,61 \cdot 10^{-5} - 2,08 \cdot 10^{-4}]$

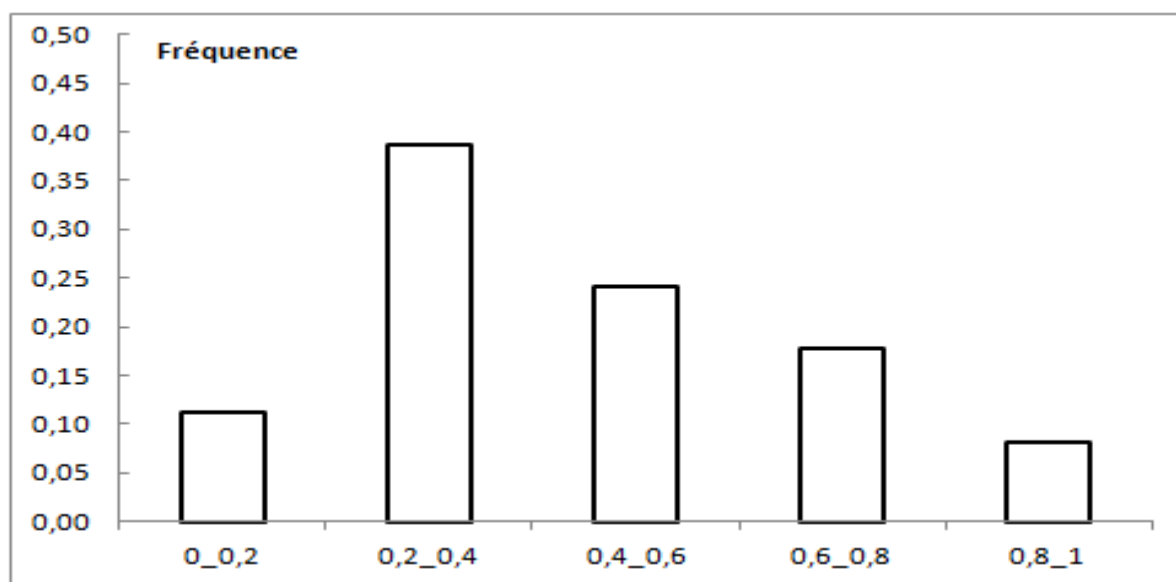


Figure S1: Distribution des fréquences du F_{1s} sur l'ensemble des stations.

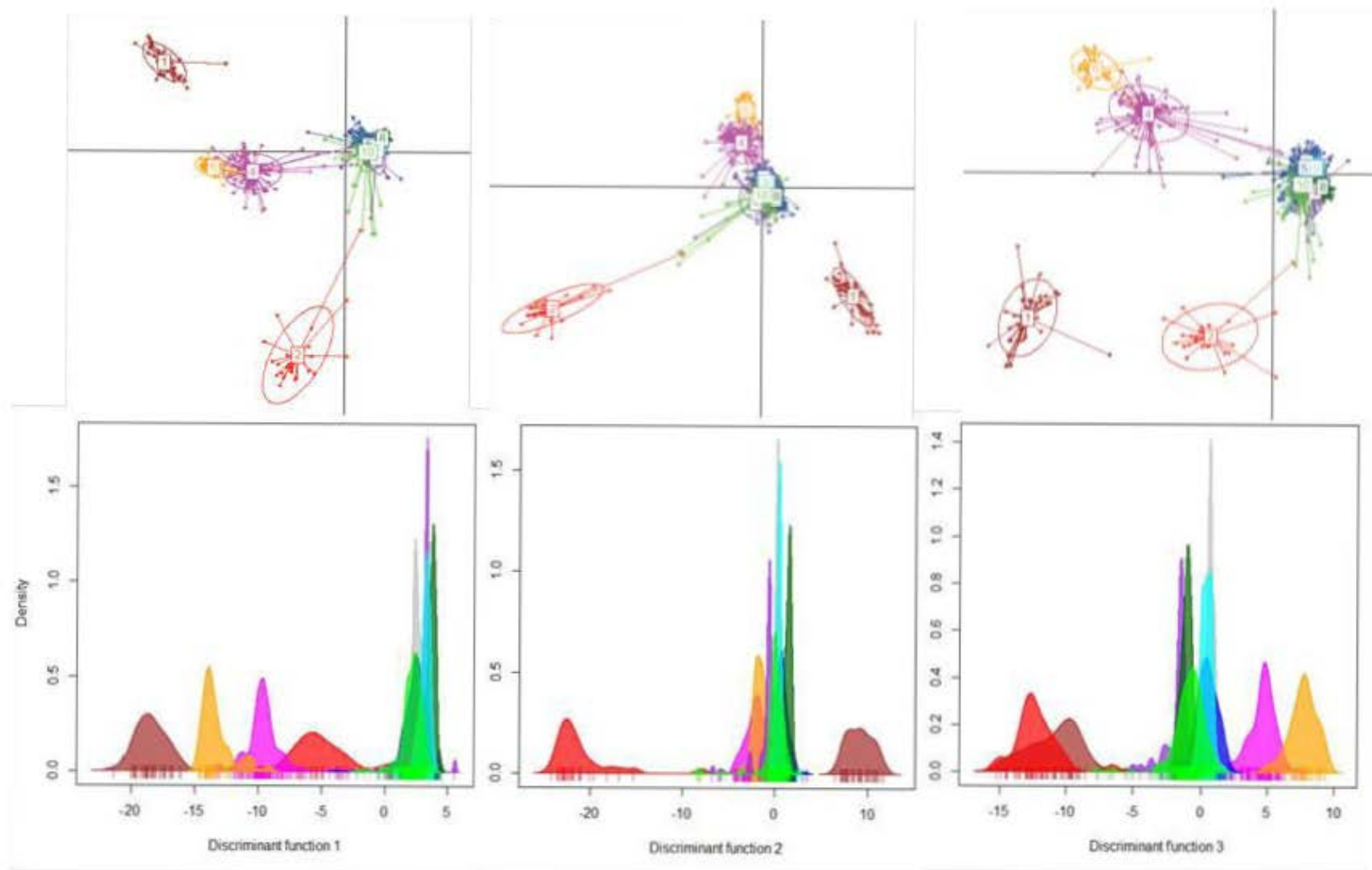


Figure S2: Analyse discriminante en composante principale (a, b, c) et analyse discriminante (d, e, f) à $K = 10$. Les axes de l'analyse sont (a) 1 et 2 ; (b) 1 et 3, (c) 2 et 3. Les stations appartenant à chacun des groupes sont données en annexe 5

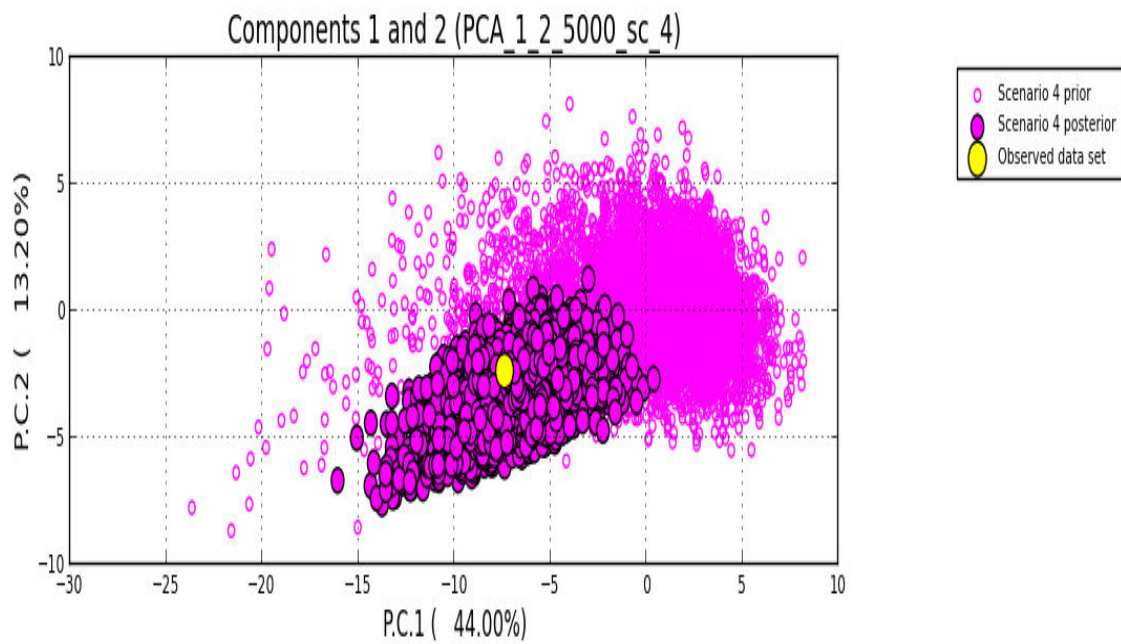


Figure S3 : Analyse en composante principale des 22 variables résumées de l'analyse 'model checking' sous le scénario 4. Les composantes principales sont calculées en considérant 15 000 jeux de données simulés où les valeurs de paramètres issues de la distribution à priori. Le jeu de donnée observé, de même que 5 000 jeux de données simulés à partir de la distribution postérieure des paramètres sont ajoutés à l'analyse. Ici, seules les deux premiers axes sont présentés.

Résumé

Noccaea caerulescens est la principale Brassicacée hyperaccumulatrice de Cd, Ni et Zn, candidate pour la phytoremédiation des sols contaminés. La distribution de l'espèce se caractérise par une importante hétérogénéité des facteurs environnementaux, et plus particulièrement en ce qui concerne la nature des sols. En outre, des variations importantes de la capacité d'hyperaccumulation entre les populations de l'espèce ont déjà été observées. Dès lors, à partir d'un vaste échantillonnage en France et ses régions limitrophes, représentatifs de la partie ouest de l'aire de distribution de l'espèce, l'objectif de cette thèse était de : i) mieux appréhender l'écologie de *N. caerulescens* notamment les composantes édaphiques de son habitat, iii) comparer les capacités d'accumulation en Cd, Ni et Zn des populations et, iii) déterminer les relations génétiques entre les populations pour comprendre l'évolution démographique de l'espèce.

Nos résultats montrent que *N. caerulescens* est très largement répandue dans les massifs montagneux français et que l'espèce n'est pas inféodée aux sites métallifères vu le grand nombre de stations explorées en milieu non minier. Par ailleurs, les stations prospectées se caractérisent par une très large amplitude des paramètres édaphiques conduisant à proposer une nouvelle classification des stations à *N. caerulescens* définissant quatre types édaphiques sur la base de la disponibilité des métaux et du pH des sols : calaminaire, à serpentines, non minières acides et non minières neutrophiles. Concernant l'accumulation des éléments en traces *in situ*, nous avons démontré que la biodisponibilité ne permettait pas d'expliquer seule les concentrations observées dans la plante. Nous avons également mis en évidence pour la première fois que l'hyperaccumulation du Ni par *N. caerulescens* n'était pas restreinte aux seules stations à serpentine. Par ailleurs, des cultures en hydroponie ont mis en évidence un compromis entre l'allocation du carbone et l'accumulation des éléments en traces en particulier chez les populations sur serpentines. Enfin, l'analyse de la structure génétique neutre a fait ressortir trois zones géographiques fortement différenciées, sans cohérence avec le type de milieu. Ainsi, l'appartenance à différents groupes génétiques des populations de types édaphiques calaminaire et à serpentine supportent l'hypothèse d'évolutions adaptatives multiples, indépendantes et convergente vers le phénotype observée en milieux métallifères c'est-à-dire une tolérance accrue et l'hyperaccumulation des métaux.

Mots clefs: *Noccaea caerulescens*, hyperaccumulation, éléments en traces, composition édaphique, structure génétique, phytoremédiation.

Summary

Noccaea caerulescens (Brassicaceae) is the main hyperaccumulator of Cd, Ni and Zn, candidate for phytoremediation of contaminated soils. The distribution of the species is characterized by a high degree of heterogeneity of environmental factors, especially concerning the soil composition. In addition, significant variations in the hyperaccumulation ability between populations of the species have been observed. Therefore, from a broad sampling in France and its neighboring regions, representing the western part of the distribution area of the species, the aim of this thesis was: i) a better understanding of the ecology of *N. caerulescens* including soil habitat components, iii) a comparison of the ability of populations to accumulate Cd, Ni and Zn and iii) the assessment of the genetic structure among populations to understand the demographic evolution of the species.

Our results show that *N. caerulescens* is widespread in the French mountains and not restricted to the metalliferous sites given the large number of non- metalliferous stations explored. In addition, the prospected stations are characterized by a wide range in the soil composition leading to propose a new classification of *N. caerulescens* stations, defining four edaphic types, based on the soil availability of metals and pH: calamine, serpentines, non-mining acids and non-mining neutrophils. On the accumulation of trace elements *in situ*, we have shown that the bioavailability of trace elements was not the only factor explaining the observed concentrations in the plant. We also demonstrated for the first time that Ni hyperaccumulation by *N. caerulescens* was not restricted to serpentine stations. Moreover, hydroponic cultures highlighted a compromise between carbon allocation and accumulation of trace elements especially in serpentine populations. Finally, the analysis of the neutral genetic structure highlighted three geographic regions highly differentiated, but not consistent with the edaphic type. Thus, the belonging of calamine and serpentine populations to different genetic groups support the hypothesis of an adaptive evolution, multiple, independent but convergent toward higher tolerance and hyperaccumulation of trace elements in metalliferous sites.

Keywords: *Noccaea caerulescens*, hyperaccumulation, trace elements, edaphic composition, genetic structure, phytoremediation.