

**Biologie et écologie d'une population isolée : exemple
d'Eryngium viviparum et perspectives pour sa
conservation en France**

Pauline Rascle

► **To cite this version:**

Pauline Rascle. Biologie et écologie d'une population isolée : exemple d'Eryngium viviparum et perspectives pour sa conservation en France. Ecologie, Environnement. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2018. Français. NNT : 2018BRES0075 . tel-02135348

HAL Id: tel-02135348

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02135348>

Submitted on 21 May 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 604

Sociétés, Temps, Territoires

Spécialité : Environnement

Par

Pauline RASCLE

Biologie et écologie d'une population isolée.
Exemple d'*Eryngium viviparum* et perspectives pour sa conservation
en France.

Thèse présentée et soutenue à Brest, le 30 novembre 2018

Unité de recherche : EA 7462 – Géoarchitecture. Territoire, Urbanisation, Biodiversité, Environnement

Rapporteurs avant soutenance : Composition du Jury :

Armin BISCHOFF	Professeur des universités, IMBE, Université d'Avignon	Armin BISCHOFF	Professeur des universités, IMBE, Université d'Avignon
John THOMPSON	Directeur de recherche CNRS, CEFE, Montpellier	John THOMPSON	Directeur de recherche CNRS, CEFE, Montpellier
		Irène TILL-BOTTRAUD	Directrice de recherche CNRS, GEOLAB, Clermont-Ferrand Présidente de jury
		Frédéric BIORET	Professeur des universités, EA7462 Géoarchitecture, UBO Directeur de thèse
		Sébastien GALLET	Maître de conférences, EA7462 Géoarchitecture, UBO Co-directeur de thèse,
		Invités Sylvie MAGNANON	Directrice scientifique, Conservatoire botanique national de Brest
		Éric IMBERT	Maître de conférences, ISEM, Université de Montpellier II

THÈSE DE DOCTORAT

En vue de l'obtention du grade
de docteur de l'Université de Bretagne Occidentale

présentée et soutenue à Brest par

Pauline Rascle

Le 30 novembre 2018

BIOLOGIE ET ÉCOLOGIE D'UNE POPULATION ISOLÉE. EXEMPLE D'*ERYNGIUM VIVIPARUM* ET PERSPECTIVES POUR SA CONSERVATION EN FRANCE.

EA 7462 – Géoarchitecture. Territoire, Urbanisation, Biodiversité, Environnement

Jury :

Irène TILL-BOTTRAUD	Directrice de recherche CNRS, GEOLAB Clermont-Ferrand	Présidente du Jury
Armin BISCHOFF	Professeur des universités, IMBE Université d'Avignon	Rapporteur
John THOMPSON	Directeur de recherche CNRS, CEFE Montpellier	Rapporteur
Sylvie MAGNANON	Directrice scientifique, Conservatoire botanique national de Brest	Invitée
Éric IMBERT	Maître de conférences, ISEM Université de Montpellier II	Invité
Frédéric BIORET	Professeur des universités, EA 7462 - Géoarchitecture Université de Bretagne Occidentale	Directeur de thèse
Sébastien GALLET	Maître de conférences, EA 7462 - Géoarchitecture Université de Bretagne Occidentale	Co-directeur de thèse

« Il y a du bon dans ce monde. Et il faut se battre pour y arriver. »,

Samsagace Gamegie,

« C'est une étrange fatalité que nous devons éprouver tant de peur et de doute pour une si petite chose ... une si petite chose... »,

Boromir,

« Mon précieux »,

Gollum,

« Fuyez pauvres fous ! »,

Gandalf,

JRR Tolkien.

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été réalisée au sein de l'équipe d'accueil EA 7462, Géoarchitecture : Territoire, Urbanisation, Biodiversité, Environnement, en partenariat avec le Conservatoire botanique national de Brest. Elle est cofinancée par l'Université de Bretagne Occidentale, ainsi que par l'Agence de l'eau Loire Bretagne et la Direction régionale de l'aménagement et du logement (DREAL) de Bretagne dans le cadre du « plan National d'Actions en faveur du Panicaut vivipare », coordonné par le CBN de Brest.

Dans ce contexte, la thèse vise à répondre aux questions scientifiques de l'écologie et de la biologie d'*Eryngium viviparum* en vue d'adapter les stratégies de conservation et de réintroduction. Parmi 18 fiches actions présentées dans le PNA, la thèse s'intéresse aux questionnements définis dans les fiches n°7,10,11&12.

Les modalités techniques et l'analyse des résultats inhérents aux études génétiques menées au cours de ce travail, ont été réalisées en partenariat avec l'institut des sciences de l'évolution de Montpellier au sein de l'équipe « Métapopulations » (Université de Montpellier II).

Tout prélèvement de l'espèce, nécessaire aux analyses génétiques et aux expérimentations de réintroduction, a fait l'objet d'une demande d'autorisation accordée par les autorités responsables en France, en Espagne, et au Portugal.

REMERCIEMENTS

J'ai toujours aimé lire les remerciements dans les thèses. On y devine le relâchement et l'émotion du « thésard » qui achève son manuscrit. Les remerciements sont en effet une bonne manière de terminer une rédaction, en permettant de se rappeler du chemin parcouru et des rencontres qui ont enrichi le travail réalisé. Beaucoup de personnes ont en effet significativement contribué et de manière plus ou moins directe à aller jusqu'au bout de cette étape.

Mes premiers remerciements vont deux rapporteurs de cette thèse, Armin Bischoff et John Thompson, ainsi qu'à l'examinatrice, Irène Till-Bottraud, qui ont accepté avec enthousiasme d'évaluer mon travail.

J'ai eu la chance de bénéficier d'un encadrement bienveillant et solide au sein de l'équipe de recherche EA 7462 : Géoarchitecture. C'est pourquoi je suis réellement redevable envers mes directeurs de thèse, Frédéric Bioret et Sébastien Gallet. Merci de m'avoir rapidement fait confiance et merci pour la liberté que vous m'avez accordée dans mes recherches.

Je remercie par ailleurs l'ensemble de l'équipe de recherche qui m'a accueillie durant ces quatre années et où j'ai pu profiter des conseils divers et variés de plusieurs membres de l'équipe. Merci à Gilbert, pour tes contrepèteries qui tombent toujours à pic (à la fin de ma rédaction c'était « Polyphénol ») ; Merci Xavier, au-delà de ta disponibilité et de tes conseils, tu auras su nous faire « décrocher » pour plusieurs soirées mythiques (au pub quiz, au cube, etc...). Merci Monique pour ton dévouement. Et merci tout particulièrement à Chantal, pour être à l'écoute des doctorants et toujours prête à nous aider, malgré ta charge de travail conséquente. On peut toujours compter sur ton efficacité redoutable !

Également aux fondements de ce projet de thèse, je souhaite remercier Sylvie Magnanon, du Conservatoire botanique national de Brest, qui a participé à mon encadrement. Merci pour les nombreuses discussions enrichissantes que nous avons eues et pour tes nombreux conseils au sujet de la thèse ou de tout autre chose. Merci aussi à Erwan Glemarec, pour ta disponibilité et pour m'avoir souvent guidée et aidée, notamment sur le terrain (dont la Galice !). Et merci à Dominique Dhervé, directeur, et au reste de l'équipe du CBN de Brest, pour leur accueil chaleureux et l'intérêt qu'ils ont manifesté pour mon sujet et mes avancements. Merci notamment à Catherine Gautier dont l'aide a été précieuse lors des expérimentations de réintroduction avec Marc, Claude et Jean-Marie.

Je remercie très sincèrement l'équipe de l'Institut des Sciences de l'Évolution de Montpellier (ISEM) qui m'a accueillie pendant plusieurs mois et m'a rapidement intégrée. Merci tout particulièrement à Éric Imbert pour son encadrement pendant ces trois mois, mais surtout pour avoir continué à suivre une partie de mon travail et pour prendre régulièrement de mes nouvelles. Ton aide m'aura été précieuse. Merci à Élodie pour m'avoir appris à « manipuler » comme une « ouf » en « BM » (même si je ne sais toujours pas garder une blouse propre...) et pour merci ta bonne humeur autour des cafés. J'ai adoré travailler avec toi.

Dans le cadre d'une thèse comme celle-ci, un partenariat très important existe autour du « précieux » *Eryngium viviparum*. Même si on ne sait pas toujours sur quel pied danser, beaucoup de personnes impliquées dans la conservation de cette espèce m'ont apporté leur aide pendant ces quatre années. Sans ce contexte multipartenarial, ce travail serait bien amoindri. Je suis tout d'abord très reconnaissante envers Yvon Guillevic gestionnaire bénévole de la réserve (l'ange gardien d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins), pour ta profonde gentillesse et pour avoir partagé tes connaissances autour d'*Eryngium viviparum*. Tu m'auras permis d'appréhender plus rapidement cette petite plante. Un merci plus large à l'association Bretagne Vivante, impliquée dans la conservation d'*Eryngium viviparum* depuis le départ, pour m'avoir suivie, et pour m'avoir autorisé à travailler sur la réserve des Quatre chemins et sur le site de Kercadoret. Merci à Charlotte Iazard, pour nos échanges et pour l'intérêt que tu portes à mon travail. Merci à Christine Montfort, pour ton accueil, pour nous avoir évoqué tes souvenirs, pour ta confiance, pour tes nombreux conseils, et pour m'avoir confié Loki. Merci également à Gilles Paillat, Sophie Bodin, Pierrick le Hen, Noël Bayer, Marc-Antoine Michau, Nathalie Morvan, Nicolas Amieux, Claire Thurin... qui contribuent, TOUS, au projet de conservation en faveur d'*Eryngium viviparum*.

Je remercie l'UBO, l'Agence de l'eau Loire Bretagne et la Direction régionale de l'aménagement et du logement (DREAL) de Bretagne pour les financements attribués à cette thèse, ce qui en a garanti le bon déroulement.

Je souhaite également remercier l'arche aux plantes qui a pu financer une partie du déplacement réalisé en Galice, pour sortir un peu de l'unique population française d'*Eryngium viviparum* et pour aller à la rencontre des équipes de recherche locales. Por eso, muchas gracias a Pablo Ramil-Rego, Javier Ferreiro Da Costa, Marco Rubinos Román, Boris Alejandro Hinojo Sánchez del Instituto del Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvimento Rural ; a Serafín González Prieto y Alejandra Couto-Vásquez de la Sociedad Gallega de Historia Natural; y a Carla Marisa Quaresma (Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas). Nos acogieron, nos acompañaron, y nos hicieron descubrir su visión de Galicia. Gracias por todo.

Je remercie l'équipe du département de biologie à l'UBO, pour la bonne ambiance générale et pour m'avoir fait confiance lors de mon monitorat, puis lors de mon poster d'ATER : Manon, Marie-Dominique, Michaël, Nathalie, Marie-Anne, Solène, Bruno, Eric, Fatemeh, Reynald, Yannick, Michèle... Merci également à l'ED SHS, et notamment Isabelle David et Rene Paul Desse, pour accompagner les doctorants tout au long de la thèse. Un autre merci tout particulier au sympathique collègue, Olivier Reverse, pour ses coups de pouce en anglais.

J'ajoute une pensée à l'attention de l'équipe des doctorants du labo., qui se serrent les coudes et profitent des accalmies pour une réunion aux fauvettes : Pauline, Kévin, Charlotte, Aurélie, Maxime (& Anne So'), et Anne. Un merci plus particulier à Clément, mon binôme de bureau, ça été trop chouette de partager ce « grand bureau », bien rangé, remplie de plantes épanouies, avec quelqu'un de pas trop insupportable. Une pensée aussi à Domitille et Baptiste qui ont nettement égayé ma vie sur Brest.

Dans la liste il y a également les stagiaires (et amis) du labo., qui ont toujours apporté avec eux leur sympathie et ont contribué à la bonne ambiance générale au « bureau » : Manon, Joseph, Léa, Pierre, Jeanne, Sarah, Marie, Adrien, Vincent, Marine, Florent, Alan... Avec des remerciements plus particuliers pour ceux que j'ai eu la chance d'encadrer et qui m'ont aidé dans mes recherches : Gwendal, Anaïs, Morgan, et Quentin. J'ai eu beaucoup de chance de tomber sur des stagiaires motivés comme vous ! Je n'oublie pas non plus Elamine pour le * degré d'énergie et de motivation dont tu as fait preuve.

Un petit clin d'œil aux discussions très enrichissantes avec Axel, dont le statut n'est pas encore défini (GCbio, stagiaire, squatteur...? mais j'espère bientôt doctorant), et à Pascaline. C'est à vous que revient la relève des cafés du Dimanche ☺.

Merci à mes amis, d'être là malgré l'éloignement géographique. Vous voir, même si c'est parfois compliqué, reste une vraie bouffée d'air. Merci donc à FloC, Kévin, FloL, Marine, Mymy, Mathilde, Gadgit, Amélie, Lucie, Laure, Alice, Adrien, Camille, Sabine, Liu-Fuei, Julie, Angélique, Clara... Merci pour votre soutien. Merci Alex, d'avoir cru en moi dès le départ, et de m'avoir facilité la vie plus d'une fois. Merci aussi à ta famille, qui s'est beaucoup intéressée à ce sujet et qui m'a permis de trouver refuge à la « perrière » lors de mes périodes de terrain. Merci ma Dinou (mon AS) d'être toujours là pour moi, et merci à Mimi, Bakoko et petit Paolo, je pourrais dorénavant venir vous voir plus souvent.

Un dernier petit clin d'œil à « Polo », increvable, tu m'as emmené sur le terrain pendant plusieurs années (en Auvergne, en Bretagne) sans trop broncher...

Merci aussi à ma super équipe de cousins, pour l'enthousiasme dont vous avez fait preuve pour venir me voir soutenir (à Brest : très très au NORD!) et pour les RDV « cousinades » !

Et Mehdi, merci à « toi », pour ce soutien non négligeable.

Pour terminer, je souhaite remercier très fort Papa, Maman, Nathalie, Mariane, Chavany, Kéo, Tevy et Mamie Christiane, qui ont compris, encouragé et soutenu ce travail depuis le début.

À vous tous et pour tout cela, sincèrement, merci.

SOMMAIRE

Introduction générale	1
Partie I. Modèle d'étude, contexte et état des lieux	7
Introduction.....	9
1. Présentation de l'espèce	10
1.1. Taxonomie.....	10
1.2. Description morphologique	10
1.3. Biologie.....	14
1.4. Usages	16
1.5. Répartition	16
1.6. Habitat	18
1.7. Atteintes, menaces et protection	21
2. Historique de conservation en France : du lancement d'alerte à la mise en place du PNA	25
2.1. Répartition historique des populations françaises d' <i>Eryngium viviparum</i>	25
2.2. Présentation de la dernière station française d' <i>Eryngium viviparum</i>	27
2.3. Mise en place de mesures pour renforcer et étudier la conservation d' <i>Eryngium viviparum</i> dans le Morbihan	33
Partie II. Contribution à l'étude de la niche écologique d'<i>Eryngium viviparum</i> et mesure de la différenciation écologique entre populations	39
Introduction.....	41
1. Biogéographie et distance écologique entre populations	44
1.1. Matériel et méthodes.....	44
1.2. Résultats	49
2. Apports complémentaires à l'écologie de la population des Quatre chemins	56
2.1. Matériel et méthodes.....	56
2.2. Résultats	59
Discussion.....	65
Partie III. Dynamique de la dernière population d'<i>Eryngium viviparum</i> en France	69
Introduction générale.....	71
Chapitre 1. Reproduction et démographie de la population française d' <i>Eryngium viviparum</i>	72
Introduction.....	72
1. Démographie	76
1.1. Matériel et méthodes.....	76
1.2. Résultats	83

2. Reproduction	92
2.1. Matériel et méthodes.....	92
2.2. Résultats	94
Discussion.....	97
Chapitre 2. Caractérisation de la structure génétique de la population d' <i>Eryngium viviparum</i> aux Quatre chemins et différenciation génétique entre populations européennes.....	103
1. Introduction.....	105
2. Material and methods	107
3. Results	112
4. Discussion	117
5. Conclusion	120
Partie IV. Expérimentations de réintroduction.....	123
Introduction.....	125
1. Mesures des facteurs influençant le succès des transplantations d' <i>Eryngium viviparum</i> sur deux sites appartenant à sa répartition historique.....	127
1.1. Introduction.....	129
1.2. Material and methods.....	133
1.3. Results	139
1.4. Discussion	141
1.5. Conclusions.....	144
2. Expérimentations d'introduction et réintroduction complémentaires au sein des Landes de Kerran et de Saint-Laurent en Ploemel	147
2.1. Matériel et méthodes.....	147
2.2. Résultats	153
Discussion.....	155
Discussion générale : Synthèse et perspectives pour la conservation d'<i>Eryngium viviparum</i> dans le Morbihan	161
1. Contribution de la recherche aux objectifs d'un plan national d'actions.....	163
2. Fonctionnement de la dernière population d' <i>Eryngium viviparum</i> en France.....	164
3. Différenciations entre populations sur l'ensemble de l'aire de répartition d' <i>Eryngium viviparum</i>	165
4. Exigences écologiques et perspectives pour la gestion d' <i>Eryngium viviparum</i> aux Quatre chemins	166
5. Perspectives pour la conservation d' <i>Eryngium viviparum</i> à l'échelle du Morbihan.....	168
6. Conclusions	170
Références.....	172

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La perte de la biodiversité, liée à l'intensification des activités humaines, n'est, à ce jour, plus une nouveauté (Butchart *et al.*, 2010 ; Rands *et al.*, 2010). L'époque géologique moderne, souvent dénommée l'« anthropocène » (Crutzen & Stoermer, 2006), montre les caractéristiques évidentes d'une « 6^e crise d'extinction » (Leakey & Lewin, 1996). Le taux de disparition des espèces, observé depuis l'expansion des populations humaines, s'accélère et apparaît comparable à ceux estimés lors des cinq grandes crises biologiques (Pimm *et al.*, 1995 ; Barnosky *et al.*, 2011).

Parmi les activités anthropiques, c'est la transformation des espaces naturels (*i.e.* urbanisation, agriculture, etc.) qui est considérée comme la cause principale des extinctions (Tilman *et al.*, 1994 ; Sala *et al.*, 2000 ; Newbold *et al.*, 2015). Elle est en effet directement responsable de la dégradation, voire de la destruction, des habitats, accentuant leur fragmentation et l'isolement géographique des populations (Forman, 1995 ; Tilman *et al.*, 2017).

De nombreuses études ont mis en évidence les effets négatifs de la fragmentation des habitats sur la biodiversité globale, ainsi que sur la structure des populations (Fahrig, 2003 ; Aguilar *et al.*, 2008). La perte de connectivité avec d'autres populations implique en effet des conséquences parfois sévères aux niveaux génétique et démographique pour les populations fragmentées, pouvant conduire à l'extinction locale, selon le degré d'isolement ou de sensibilité des espèces (Fahrig, 2002 ; Reed, 2004).

Afin de répondre aux problématiques de sauvegarde des espèces et des écosystèmes, la biologie de la conservation, en tant que discipline scientifique, s'est imposée au cours des années 1980 (Soulé, 1985 ; Robinson, 2006). Ses principaux objectifs sont d'évaluer l'impact des activités humaines sur la biodiversité, puis de trouver des alternatives viables à mettre en place pour éviter l'extinction des espèces dans leur habitat. Dans cette optique, une bonne connaissance du fonctionnement des systèmes naturels ou des espèces ciblées, est primordiale, et nécessite l'intervention d'un corpus de disciplines scientifiques variées. La biologie de la conservation associe par exemple les concepts de l'écologie, de la géographie et de l'évolution, aux dimensions sociales, culturelles et économiques (Marvier & Kareiva, 2015 ; Everard, 2017 ; Bennett *et al.*, 2017).

Ainsi, au-delà des principes théoriques sur lesquels cette discipline est basée, elle est considérée comme une science appliquée débouchant sur des actions concrètes et permettant de guider les opérations de gestion, voire de restauration (Meine *et al.*, 2006).

L'émergence de la biologie de la conservation, en tant que « discipline de crise », a également permis le lancement d'alerte et l'éveil d'une conscience collective en faveur de la protection des écosystèmes (Soulé, 1985 ; Kareiva & Marvier, 2012). Cette volonté s'est notamment affirmée politiquement à travers l'adoption de la Convention sur la diversité biologique (CBD) lors du

troisième sommet de la Terre à Rio de Janeiro en 1992, qui reconnaissait l'accélération de perte de la biodiversité comme un enjeu international (Hågvær, 1998). Depuis, la biologie de la conservation s'intègre plus souvent dans les décisions politiques et les comportements individuels, et une série d'outils juridiques et scientifiques ont été développés afin d'enrayer la perte de la biodiversité (Mace, 2014 ; Mair *et al.*, 2018). Par exemple, la création d'espaces naturels protégés, l'établissement des listes rouges, ou encore la mise en application de programmes de conservation visent à stopper les dégradations grâce à la protection, la gestion, voire la restauration des espèces et de leur habitat (Dobson *et al.*, 1997 ; Keller & Bollmann, 2004).

C'est le cas notamment des plans nationaux d'action, outils mis en place en France depuis 1996. Ils visent à mettre en œuvre, sur cinq ans, les actions nécessaires pour maintenir et/ou rétablir un état de conservation favorable aux espèces menacées (Ministère de l'Écologie, 2012). De nombreux plans d'actions ont ainsi été rédigés en faveur d'espèces "modèles" dont le statut de conservation est critique, comme dans le cas d'*Eryngium viviparum* en France.

Cette espèce a en effet récemment fait l'objet d'un programme de conservation dédié, à travers le "plan national d'actions en faveur du Panicaut vivipare" (Magnanon *et al.*, 2013) proposé et validé en 2012 par le ministère de l'écologie et le Conseil national de protection de la nature. Cet outil est le résultat de nombreux efforts, réalisés en amont durant plus de vingt ans pour la sauvegarde de l'espèce et qui ont abouti à un travail collaboratif et concerté entre acteurs locaux, régionaux et partenaires scientifiques.

Eryngium viviparum J.Gay, 1848 est une espèce végétale pionnière inféodée aux pelouses et prairies oligotrophes inondées temporairement et dépendante des pratiques agricoles traditionnelles (Jovet, 1939). Elle possède une distribution très fragmentée entre le nord-ouest de la péninsule Ibérique et le nord-ouest de la France (Romero *et al.*, 2004 ; Rivière, 2007). En France, l'espèce ne se maintient plus que dans une seule localité, tandis qu'une quarantaine de populations étaient signalées dans le Morbihan au cours des années 1980 (Rivière, *in* Magnanon *et al.*, 2013). Ce déclin rapide a principalement été attribué à l'évolution des pratiques agricoles et aux changements d'affectation des terres. Certains sites d'accueil de l'espèce se sont en effet vus dénaturés, drainés, voire même totalement détruits à des fins agricoles ou en vue d'urbanisation, tandis que d'autres ont subi un abandon, entraînant une fermeture du couvert végétal (Ralys, 1998 ; Glemarec, 2015).

Depuis sa découverte en 1848, *Eryngium viviparum* bénéficie d'une attention « particulière », qui a permis le déploiement progressif de moyens pour assurer sa conservation à l'échelle Européenne et, plus spécifiquement, en France. La rapide régression de l'espèce dans le Morbihan, conduisant à un isolement conséquent de l'unique population vis-à-vis des autres populations

européennes ont ainsi positionné *E. viviparum* comme "en danger" au niveau national et européen (Olivier, 1995 ; Bilz *et al.*, 2011).

Face à ce statut de conservation critique, plusieurs actions ont été mises en place en France dès les années 1970. Ainsi, l'établissement d'une protection légale, par Arrêté préfectoral de protection biotope en 1988, puis la mise en place d'une gestion spécifique depuis 1991, sous l'impulsion de l'association Bretagne Vivante, ont permis de maintenir l'espèce sur le site abritant la dernière population (Rebibo, 1998).

Le plan national d'actions, porté par la Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement (DREAL) de Bretagne, et coordonné techniquement par le conservatoire botanique national de Brest, constitue un tournant essentiel pour la conservation de cette espèce en Bretagne. Il vise, à travers ses 18 fiches actions à faire bénéficier l'espèce d'une conservation durable sur le long terme. Parmi ces actions, l'amélioration des connaissances est apparue primordiale afin de mieux orienter les pratiques de gestion et les actions de conservation pour le maintien de l'espèce en France. L'important isolement de cette population a notamment amené à s'interroger sur sa viabilité et sur la possibilité de restaurer une métapopulation fonctionnelle au sein de son aire de répartition Morbihannaise.

C'est dans la perspective d'une « recherche au service d'un plan d'actions » que s'inscrit cette thèse. Elle vise à travers une approche pluridisciplinaire à améliorer les connaissances de l'écologie et de la biologie d'*Eryngium viviparum*, notamment au sein de sa dernière population française qui évolue dans un contexte isolé.

La première partie dresse un état des lieux des informations disponibles pour *Eryngium viviparum* et à partir desquelles les différents questionnements sont apparus. Elle précise également l'historique des actions de conservation en faveur de l'espèce dans le Morbihan, notamment dans le but de mettre en avant la construction du réseau d'acteurs et les efforts réalisés, qui ont permis d'aboutir à la mise en œuvre du programme ambitieux qu'est le PNA.

Avec une seule station en France et le peu de données existantes pour les stations historiques, il est difficile d'évaluer les conditions écologiques optimales pour le développement de l'espèce. C'est pourquoi, à travers la deuxième partie, une caractérisation plus fine de la niche écologique d'*Eryngium viviparum* a été réalisée. Pour cela la biogéographie de l'espèce à partir de sa distribution globale a été étudiée pour caractériser l'amplitude climatique d'*E. viviparum* et la différenciation écologique entre l'unique population française et celles présentes en péninsule ibérique. Ses préférences écologiques à l'échelle de la dernière population, grâce à la distribution spatiale des individus, ont également été étudiées.

Pour cette population, l'existence d'une spécificité génétique a été supposée et le risque d'une perte de la viabilité existe. La troisième partie s'intéresse par conséquent à la viabilité de la dernière population française d'*Eryngium viviparum* grâce à l'étude de son fonctionnement démographique, incluant l'efficacité reproductive de l'espèce, puis à travers sa structure génétique et son degré de différenciation avec les populations présentes en péninsule ibérique.

Avec l'objectif de rétablir un réseau de populations interconnectées d'*Eryngium viviparum* dans son aire de répartition historique du Morbihan, des réintroductions expérimentales ont été réalisées et sont présentées dans la quatrième partie. Ces expérimentations ont pour objectif de tester diverses modalités d'implantation : sites, stade phénologique des individus, période d'implantation, topographie...

Les différentes approches développées dans cette thèse seront synthétisées dans la discussion générale, ce qui permettra de tirer des enseignements globaux en biologie de la conservation, notamment dans le cas des populations isolées, et contribuera à définir les prochaines priorités en matière de gestion et de conservation pour assurer le maintien d'*E. viviparum* sur le long terme en France.

PARTIE I. MODÈLE D'ÉTUDE, CONTEXTE ET ÉTAT DES LIEUX



Figure 1. Rosette en fleur d'*Eryngium viviparum* (Belz, Morbihan)

INTRODUCTION

Eryngium viviparum J.Gay, 1848 (Figure 1) est une espèce endémique de la région atlantique européenne, où elle se développe au sein de prairies et pelouses inondées temporairement (Jovet, 1939). Elle est actuellement protégée aux niveaux national et européen (Olivier, 1995 ; Lansdown, 2011). Ce statut s'explique par une aire de répartition discontinue, entre la Bretagne et le nord-ouest de la péninsule Ibérique, et limitée par sa dépendance aux pelouses amphibies, un milieu peu répandu et fragile. Contre une vingtaine de populations présentes en péninsule ibérique, l'espèce ne se maintient plus que dans une seule station en France, au sein du lieu-dit des Quatre chemins à Belz (Morbihan, 56). Au cours des années 1980, une quarantaine de populations y étaient pourtant répertoriées. Elles ont cependant toutes disparu suite aux changements de l'usage des terres, initiés par la modernisation de l'agriculture, particulièrement marquée en Bretagne (Rivière *in* Magnanon *et al.*, 2013).

À partir des années 1980, les botanistes locaux, qui avaient constaté la rapide et importante disparition de ses populations, ont lancé « l'alerte », permettant la mise en place des premières actions pour sa sauvegarde. Depuis, *Eryngium viviparum* fait l'objet d'une attention particulière en France. Le projet de conservation en faveur de l'espèce a débuté officiellement en 1988, à l'initiative de l'association Bretagne Vivante (SEPNB), avec la mise en application d'un arrêté préfectoral de protection biotope (APPB) sur la réserve des Quatre chemins à Belz, où se développe la dernière population. Le maintien de cette population en France est essentiellement attribué à la poursuite d'une agriculture traditionnelle pratiquée par l'ancien propriétaire exploitant. Depuis l'arrêt de l'exploitation et en accord avec l'APPB, la réserve fait l'objet d'une gestion conservatoire active, menée par Bretagne Vivante. Aujourd'hui, la population s'étend sur une surface d'environ 1000 m² et compte plus de 5000 individus (d'après les comptages de 2017 ; Yvon Guillevic, comm. pers.).

En parallèle, plusieurs outils locaux (Plan de gestion, Contrat Nature, contrat Natura 2000), ont été mis en place, afin d'enrayer la disparition d'*Eryngium viviparum* et d'améliorer son état de conservation. Ils ont conduit plus récemment à la mise en œuvre du « Plan National d'Actions (PNA) en faveur du panicaut vivipare (2013-2018) » et dans lequel s'inscrit cette thèse (Magnanon *et al.*, 2013). Animé par le Conservatoire botanique national de Brest (CBN de Brest), le PNA définit un ensemble d'actions destinées à renforcer la sauvegarde de l'espèce en France. La diversité des actions proposées engage un partenariat actif entre de nombreux acteurs locaux, régionaux et partenaires scientifiques.

1. PRÉSENTATION DE L'ESPÈCE

1.1. Taxonomie

Eryngium viviparum J.Gay, 1848 est une espèce appartenant à la famille des Apiacées et à la sous-famille des Saniculoïdées. Le genre *Eryngium*, qui désigne plus communément les « panicauts », est le plus représenté au sein de la famille avec plus de 250 espèces. Il montre une très grande variabilité morphologique et est largement réparti sur l'ensemble des continents, mais est plus répandu en zone tempérée (Pimenov & Leonov, 1993 ; Wörz, 1999 ; Calviño *et al.*, 2008). En Europe, 26 espèces sont répertoriées, dont sept en France. D'après la classification établie par Wörz (2005), *E. viviparum* est rattaché au sous-genre *Semiaquatica* qui regroupe plusieurs espèces proches écologiquement et morphologiquement. *E. galioides* Lam., *E. pusillum* L. et *E. atlanticum* Batt. & Pit., considérés comme les espèces les plus proches phylogénétiquement d'*E. viviparum* (Calviño *et al.*, 2008), se développent toutes au sein d'habitats inondés temporairement et apparaissent également dans plusieurs Listes rouges (Rhazi *et al.*, 2010 ; García Murillo *et al.*, 2016).

1.2. Description morphologique

Les individus d'*Eryngium viviparum* se présentent, comme de nombreuses hémicryptophytes bisannuelles, sous la forme d'une rosette de feuilles de petite envergure (<10 cm, Reduron, 2008). Cette morphologie « prostrée » se retrouve régulièrement parmi les espèces du genre et dans les systèmes pâturés, car elle apporte une protection à l'arrachage et au piétinement (Harper, 1969 ; Díaz *et al.*, 2007). La disposition des feuilles en rosette permet également de protéger le bourgeon en développement contre les températures extrêmes (Just & Raunkiaer, 1934). La morphologie d'*E. viviparum* est sensiblement différente entre la période inondée et la période exondée (Figure 2).

Depuis une première description réalisée par J.Gay en 1848, *Eryngium viviparum* a fait l'objet de nombreuses descriptions dont la synthèse est présentée ci-dessous, basée sur les éléments diagnostics mentionnés dans plusieurs documents (Tableau 1), complétés par des échanges avec le gestionnaire de la réserve et les observations de terrain.

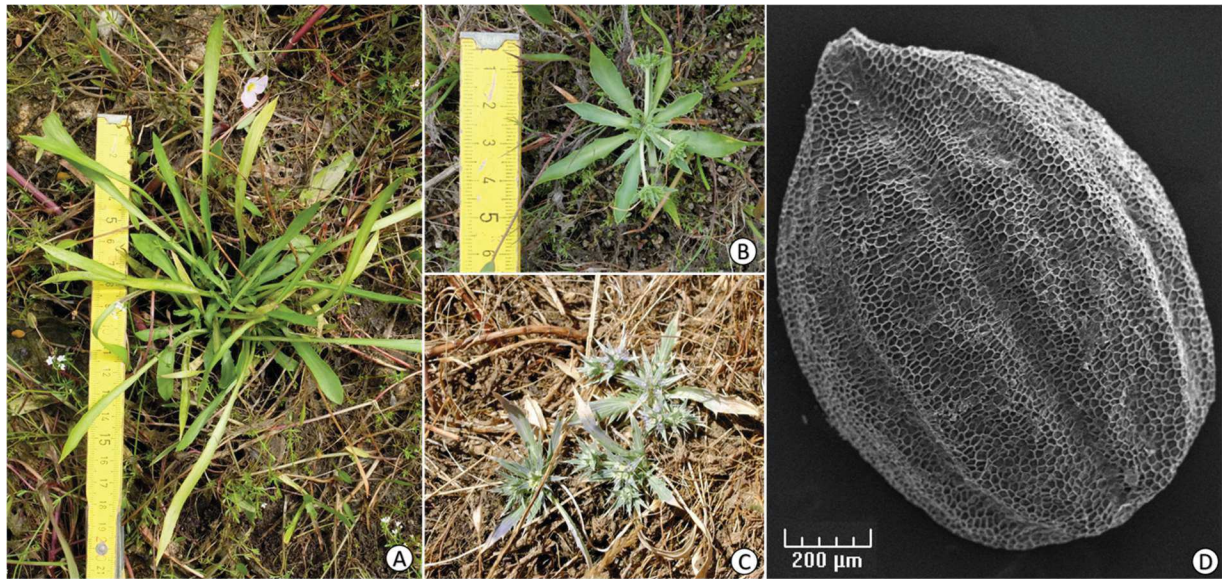


Figure 2. *Eryngium viviparum*. A. subsp. *viviparum* en fin d'inondation (Belz, Morbihan, France, juin 2016). B. subsp. *viviparum* en période exondée (Belz, Morbihan, France, août 2016). C. subsp. *bariegoi* en période exondée (Ferreira de abajos, Zamora, Espagne, août 2016). D. Graine au MEB.

Tableau 1. Documents de référence utilisés afin de réaliser la synthèse de la morphologie d'*E. viviparum*.

Flores
- Flore de l'ouest de la France (Lloyd 1886).
- Flore complète portative de la France, de la Suisse et de la Belgique (Bonnier & de Layens, 1982).
- Flore du Morbihan (Le Gall, 1852).
- Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse, et des contrées limitrophes (Coste & Flahault, 1903).
- Flore et végétation du Massif Armoricain (des Abbayes <i>et al.</i> , 1971).
- Flore de France (Rouy, 1901).
- Flora gallica (Tison & de Foucault, 2014).
Monographies et articles
- Ombellifères de France (Reduron, 2007)
- Revision of <i>Eryngium</i> L. (Apiaceae-Saniculoideae, Wörz 2012).
- Plan National d'Actions en faveur du Panicaut vivipare (Magnanon <i>et al.</i> , 2013) et article associé de la SBCO (Magnanon & Guillevic, 2012).

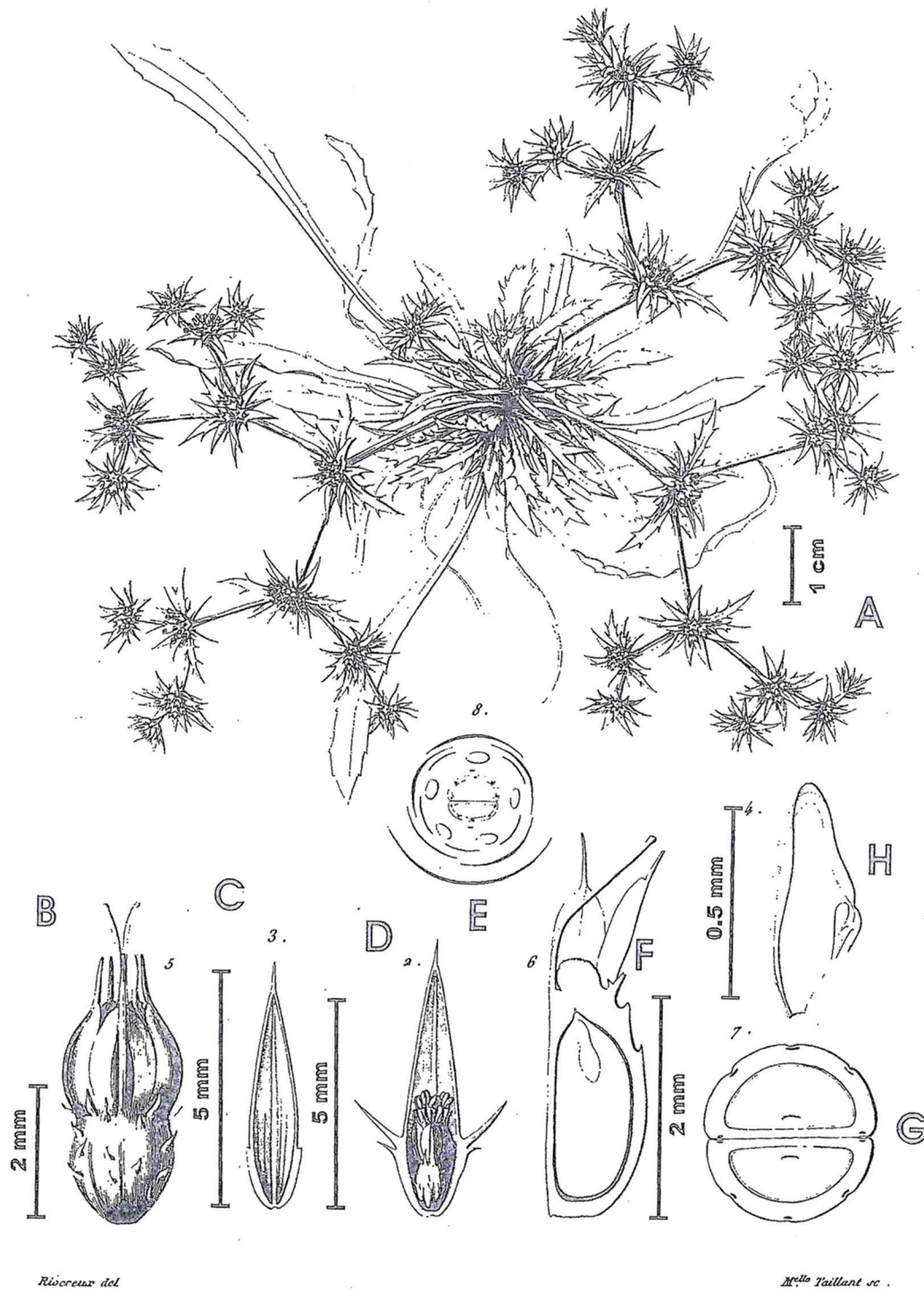
*Eryngium viviparum*, J. Gay

Figure 3. Dessin d'*Eryngium viviparum* par J. Gay (1848) repris de la monographie de Wörz (2012). A. Allure générale en période de floraison. B. Fruit. C. Bractée. D. Feuille de l'involucre avec une fleur. E. Diagramme floral. F. Coupe longitudinale du méricarpe. G. Coupe transversale du fruit. H. Pétale.

L'ensemble des documents précédents décrivent *Eryngium viviparum* comme une petite plante (4 cm de diamètre et 2 à 10 cm de hauteur lors de la floraison) en rosette, au port couché et à souche courte. Les **feuilles radicales** sont vertes bleutées, glabres, entières, lancéolées à nervation parallèle, dentées en scie sur les marges ou pinnatifides, puis atténuées en pétiole, dont la base est spinescente et élargie embrassante. Elles persistent pendant la floraison et ont été mesurées entre 20 à 80 mm de long et 3 à 5 mm de large. Les **racines** sont nombreuses, fasciculées allongées et grêles. Tandis qu'elles étaient décrites comme noirâtres par Reduron (2007), des observations plus récentes leurs attribuent une couleur crème (Yvon Guillevic, comm. pers.).

À la belle saison, très rapidement après le retrait des eaux hivernales, 1 à 5 **tiges florifères** grêles, anguleuses, légèrement striées et couchées se développent à partir d'une ombelle radicale au centre de la rosette, puis se ramifient de manière dichotome. Jusqu'à 7 niveaux de dichotomie ont ainsi pu être observés sur un seul individu (Buján & Real, 2014).

Les **feuilles caulinaires** sont sessiles, linéaires à nervures parallèles, étalées sur 5 à 6 mm, spinescentes, et lobées-pennées, comportant 3 à 5 lobes mais le plus souvent trilobées. Elles se positionnent par deux, sous chaque capitule, et peuvent ainsi être considérées comme leurs bractées.

Les **capitules** sont hémisphériques (diamètre moyen = 5 mm), sessiles, parfois faiblement pédonculés, et se développent à chaque nœud où la tige se divise en deux. Considérés pauciflores, les capitules portent 5 à 12 **fleurs** sessiles (formule florale : 5S-5P-5E-2C) aux **pétales** linéaires, glabres, bleu pâle et aux **sépales** ovoïdes terminés en pointe mucronée et parfois teintés de bleu. Les étamines exertes portent des **anthères** ovales de couleur bleue contenant le pollen blanc crème.

Les **feuilles de l'involucre** (5 à 6) étalées en étoile, dépassent d'une fois et demi les fleurs et sont entières, linéaires, lancéolées avec une marge blanche comportant 1 à 3 épines à la base. Les **bractées florales** ou **bractéoles** sont identiques aux feuilles de l'involucre mais sont inermes. La somme des bractéoles et des feuilles de l'involucre correspond généralement au nombre de fleurs. Après fécondation, chaque fleur peut produire deux **akènes** accolés, brun clair, orbiculaires à ovoïdes, munis d'écaillés et ornements de 3 canaux légèrement plus foncés sur le dos.

Les **graines** sont brunes, de très petite taille (0,8 à 0,5 mm) et de forme suborbiculaire à l'extrémité pointue (Couderc *in* Reduron 2007), plates d'un côté et convexes de l'autre. En microscopie électronique à balayage, une ornementation marquée peut être observée à leur surface (Figure 2, et voir Couderc *in* Reduron 2007). *Eryngium viviparum* est également caractérisé par une remarquable reproduction végétative (cf. §Biologie).

Au cours de la période d'inondation temporaire, alors que la plante est totalement immergée, les feuilles s'allongent, et présentent des dents plus atténuées et une couleur vert-jaune (Figure 2a). Cette morphologie est un accommodat de la plante face aux conditions aquatiques.

À l'échelle européenne, la détermination est facile et l'espèce peut difficilement être confondue avec une autre. La seule espèce susceptible d'apporter une confusion est *Eryngium galioides*, une plante annuelle proche dans la classification phylogénétique (Calviño *et al.*, 2008). Son aire de répartition rejoint celle d'*Eryngium viviparum* dans sa limite de répartition sud en péninsule Ibérique. Cette espèce présente cependant une allure plus grande, compte moins de fleurs par ombelle, et ne produit aucune rosette axillaire, contrairement à *Eryngium viviparum* (cf. §Biologie).

Eryngium viviparum peut présenter une variabilité morphologique entre ses populations. Par exemple, quelques différences avaient été observées par Buord *et al.* (1999) entre des individus provenant de Bretagne et d'autres originaires de Galice, mais cultivés *ex situ* dans des conditions similaires. Les individus galiciens possèdent des bractées plus larges. Cependant, cette étude ne portait pas sur un nombre de réplicas suffisant pour confirmer statistiquement la différence. Une étude plus récente des critères morphologiques entre les populations, à partir d'individus conservés dans les herbiers, a permis la description d'une sous-espèce, *Eryngium viviparum* subsp. *bariegoi* M. I. Romero Buján & C. Real 2014, au sein des populations présentes en limite sud de l'aire de répartition d'*E. viviparum* (Buján & Real, 2014). Dans ces populations la longueur moyenne des bractéoles est apparue plus importante, établissant un critère de détermination pour la sous-espèce. Ces populations présentent également un aspect plus denté et plus piquant qui pourrait être attribué à la génétique, mais aussi à des conditions climatiques plus sèches. Les résultats de ces deux études conduisent à s'interroger sur une possible spéciation induite par la répartition très fragmentée d'*E. viviparum* en Europe, au sein d'un habitat à faible connectivité.

1.3. Biologie

Eryngium viviparum est une espèce pluriannuelle monocarpique, classée parmi les hémicryptophytes (Raunkiaer, 1934). Elle présente un cycle de reproduction court, conditionné par la durée de la période exondée (Magnanon *et al.* 2013).

a. Reproduction sexuée

En France comme en Espagne, la floraison s'étale de juillet à septembre (M.I. Romero, comm. pers., Magnanon *et al.* 2013). Une rosette peut produire de nombreuses fleurs, hermaphrodites protandres, regroupées en capitules. Dans la majorité des cas, un individu fleurit au cours de sa deuxième année, mais certains ont pu être observés sans floraison pendant 4 ans (Yvon Guillevic comm. pers.) et d'autres fleurissent dès leur première année. Le mode de fécondation d'*Eryngium*

viviparum (i.e. allogamie et/ou autogamie) reste encore mal compris, malgré plusieurs études de pollinisation contrôlée. Une allogamie stricte a été identifiée par Buord *et al.* (1999), fait contredit plus tard par une production de graines viables après autopollinisation (Perrin & Magnanon, 2007). Buord *et al.* (1999) ont également montré que la viabilité des grains de pollen est supérieure à 80%, ce qui suppose une fécondation efficace. Cette dernière semble être favorisée par l'entomofaune et notamment par des insectes de l'ordre des hyménoptères (Buord *et al.*, 1999), notamment par des fourmis (Yvon Guillevic, comm. pers.).

À l'automne, *Eryngium viviparum* produit de nombreuses graines contenues dans des fruits schizocarpes (2 graines par fruit). Cependant peu de graines semblent viables (Gautier, 2013), comme observé chez de nombreuses Apiacées (Robinson, 1954 ; Ayuso *et al.*, 2017). Des tests de germination réalisés *ex situ* sous une température optimale (autour de 15°C) montrent un taux de germination sans traitements compris entre 5% à 25% pour des individus originaires de la dernière population française et d'une population Espagnole de la province de Lugo (Gautier, 2013). En conditions *in situ*, la majorité des graines germent rapidement après dissémination, stimulées par un taux d'humidité redevenu favorable, contre quelques-unes au printemps suivant, après l'exondation (Reduron, 2007 ; Magnanon *et al.*, 2013).

b. Reproduction végétative

Eryngium viviparum est particulièrement remarquable par sa capacité de multiplication végétative, entraînant la répartition de l'espèce par « patch », et réalisée selon deux modes. Après floraison, la rosette basale meurt, mais plusieurs rosettes clonales axiales se développent à l'aisselle des feuilles (Reduron, 2007). Plus de 10 rosettes axiales ont ainsi pu être observées pour un même individu (Yvon Guillevic, comm. pers.). Ce type de multiplication peut également, mais rarement, se produire sans que l'individu parent n'ait fleuri. Les autres propagules végétatives se développent d'une manière plus originale, sur les tiges florales, à l'aisselle des bractées, en remplaçant généralement une inflorescence avortée (Le Gall, 1852). Elles apparaissent au cours de l'été, et se développent sur la tige florifère jusqu'à l'apparition des conditions favorables pour l'enracinement. Le nom scientifique « *viviparum* », lui a été attribué en référence à ce second mode de reproduction végétative, par élargissement du terme vivipare qui, *stricto sensu*, désigne les plantes dont les graines germent alors qu'elles sont encore sur la plante-mère (Goebel, 1905).

Pour *Eryngium viviparum* ce type de reproduction se rapproche de la pseudo-viviparité, qui correspond au développement de propagules végétatives au niveau des structures destinées à la

reproduction sexuée (Elmqvist & Cox, 1996 ; Reduron, 2007). Les tiges florifères agissent alors comme des stolons (Coelho *et al.*, 2005). Ce mode de reproduction est peu courant. Il a été décrit pour une cinquantaine d'espèces d'angiospermes parmi plusieurs familles, mais aucune mention n'a été faite pour les Apiacées (Elmqvist & Cox, 1996). Certains auteurs décrivent la pseudo-viviparité comme une stratégie évolutive pour des espèces à courte période de développement, imposée par un environnement contraignant (Lee & Harmer, 1980 ; Sarapul'tsev, 2001).

Par ses trois différents modes de reproduction, *Eryngium viviparum* possède une bonne capacité à coloniser rapidement un espace favorable à sa dynamique pionnière. Le mode de dispersion des graines et des propagules végétatives est cependant mal connu. Aux Quatre chemins, elle semble cependant favorisée par l'inondation hivernale, et le pâturage (Magnanon *et al.*, 2013). Par exemple, des rosettes bien développées ont été aperçues en marge de la zone inondable, à plusieurs mètres du reste de la population, alors qu'aucune rosette n'y avait jamais été observée auparavant (Perrin & Magnanon, 2007). Les nombreuses germinations sont généralement observées à proximité des pieds ayant fleuri au cours de l'été. Le même constat est réalisé pour les propagules pseudo-vivipares, qu'on observe souvent déjà enracinées en automne, mais toujours rattachées entre elles par un axe florifère sec (Reduron, 2007 ; Magnanon *et al.*, 2013). Cette observation laisse supposer une faible dispersion à l'origine d'une répartition agrégée des individus, par « patchs » (Romero *et al.*, 2004).

1.4. Usages

Aucun usage d'*Eryngium viviparum* n'est actuellement connu. Plusieurs espèces du genre *Eryngium* étaient utilisées en médecine traditionnelle pour la création de remèdes antitussifs, diurétiques, ou même aphrodisiaques (Yeşilada *et al.*, 1995). Des recherches plus récentes ont permis d'identifier diverses nouvelles propriétés : anti-oxydantes (de la Luz Cádiz-Gurrea *et al.*, 2013 ; Motallebi Riekandeh *et al.*, 2016), anti-inflammatoires (Dawilai *et al.*, 2013 ; Conea Suciú *et al.*, 2016), antidouleurs (García *et al.*, 1999 ; Küpeli *et al.*, 2006), antidiabétiques (Paul *et al.*, 2011), etc.

1.5. Répartition

Eryngium viviparum est une espèce eu-atlantique, subendémique ibéro-armoricaine dont l'aire de répartition s'étend au niveau de la façade Atlantique européenne de manière très fragmentée (Figure 4). L'espèce est présente au N-W de la péninsule ibérique, où elle est recensée en Espagne et au Portugal, et sur une micro-aire en France, dans le Morbihan (Bretagne).

L'Espagne abrite actuellement le plus grand nombre connu de populations d'*E. viviparum* (environ 20 dont la présence est confirmée) et également les plus abondantes, comptant pour certaines plus de 100 000 individus (Pablo Ramil, comm. pers.). L'espèce y est répartie selon trois principaux groupes géographiques entre les provinces de Lugo et Ourense de la communauté autonome Galicienne, et celles de Zamora en Castille-et-Léon (Figure 4). Ce dernier groupe se situe en zone de transition entre les domaines climatiques atlantique et méditerranéen. Quelques autres populations plus isolées sont réparties dans les provinces de Léon et de Salamanca, et représentent l'extrême sud de la répartition d'*Eryngium viviparum*. Entre ces différentes régions les conditions climatiques apparaissent sensiblement différentes (cf. Partie II, chapitre 1.).

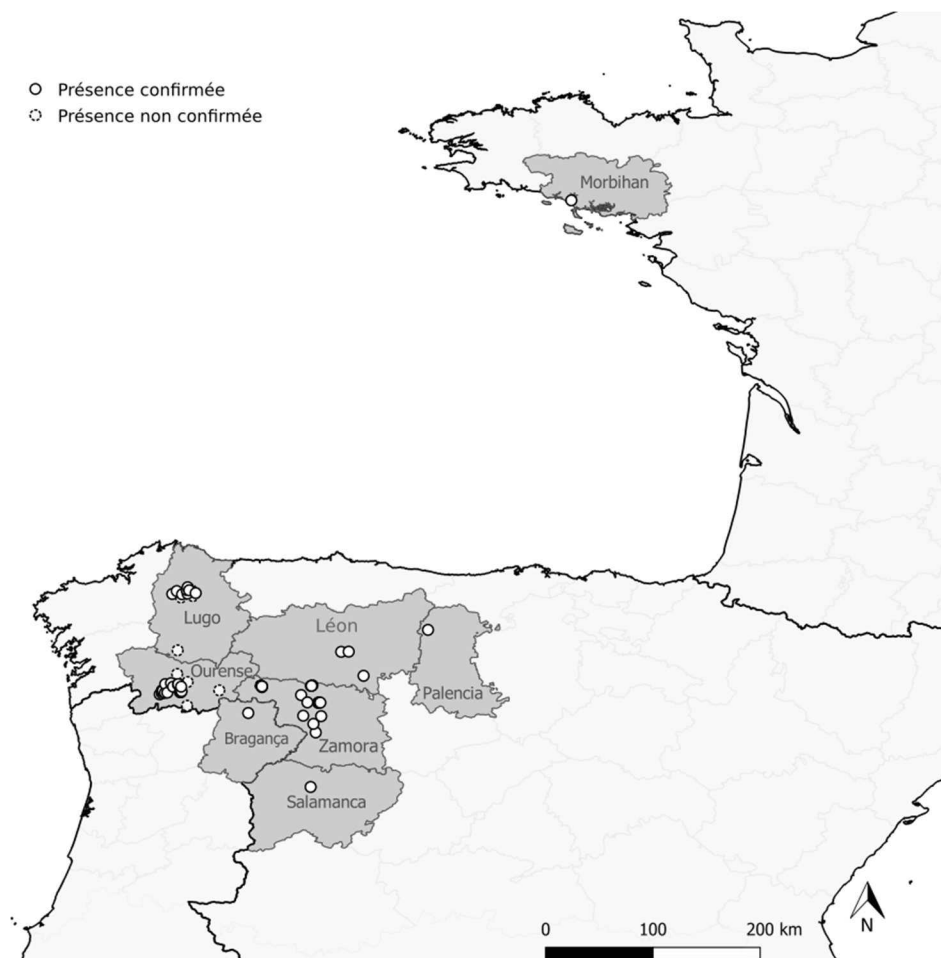


Figure 4. Répartition mondiale actuelle des populations d'*E. viviparum*.

Au Portugal, une seule localité, découverte récemment, existe dans la province de Tras-os-Montes, sur la Serra de Nogueira, dans le parc naturel de Montesinho, à proximité de Bragança (Aguar, 2003). Cette population se situe en altitude (800 m), contrairement à la majorité des autres. Géographiquement, elle est plus proche du groupe de populations situées dans la province de Zamora (50 km pour la population la plus proche). Cette population est très réduite, avec une

superficie de quelques mètres carrés seulement et moins de 200 individus (Aguiar, 2003). Elle est apparue suite à la création de deux dépressions créées par les services forestiers, et qu'elle a colonisées. Cette population est surveillée, mais ne fait pas l'objet d'une gestion conservatoire spécifique. Au cours de l'été 2016, l'espèce n'a été retrouvée que sur une seule des deux dépressions artificielles. *Eryngium viviparum* avait été précédemment cité dans trois autres populations au Portugal, localisées à la périphérie de Porto, qui ont disparu suite à l'établissement d'une raffinerie de pétrole (Aguiar, 2003).

En France, une seule population persiste, aujourd'hui, dans le Morbihan. Il y a une quarantaine d'année, l'espèce possédait encore de nombreuses populations sur une aire réduite du département, dont certaines étaient abondantes (Rivière *in* Magnanon *et al.*, 2013).

35 autres espèces présentent cette répartition eu-atlantique entre la péninsule ibérique et la France (Dupont, 1962 ; Dupont, 2015). Parmi elles, plusieurs sont des endémiques ibéro-armoricaines. Par exemple *Asphodelus macrocarpus* subsp. *arrondeaui*, est une eu-atlantique dont la répartition est proche de celle d'*Eryngium viviparum*. *Narcissus triandrus* subsp. *triandrus* peut également être cité, avec une répartition au nord-ouest de la péninsule ibérique et dans le Finistère, sur une micro-aire restreinte aux îles des Glénans. Enfin, *Thyselinum lancifolium*, possède une répartition très similaire à *E. viviparum*, mais plus étendue.

Il est difficile de retracer le lien phytogéographique existant entre les différentes populations européennes d'*Eryngium viviparum*. Plusieurs hypothèses ont toutefois été proposées pour expliquer cette répartition. Une dispersion accidentelle des graines, d'une mare à une autre, par des oiseaux est probable, sachant que les mares temporaires sont décrites comme des milieux d'intérêt pour le repos au cours des migrations (Solomeshch *et al.*, 2007). Les équipes de recherches espagnoles ont remarqué que les populations d'*E. viviparum* se situent le long des couloirs de migration des anatidés en péninsule Ibérique (Pablo Ramil, comm. pers.). L'homme pourrait également avoir été le vecteur d'un déplacement des populations au cours de la période Néolithique. En effet, il a pu être constaté de manière étonnante la proximité de sites mégalithes avec des stations d'*E. viviparum* en France comme en péninsule Ibérique (Magnanon *et al.*, 2013). Une troisième hypothèse est celle de la recolonisation post-glaciaire.

1.6. Habitat

Eryngium viviparum est inféodé aux pelouses et prairies oligotrophes saisonnièrement inondées (Jovet, 1939). Ces milieux s'apparentent aux mares temporaires, qui sont rarement

mentionnées dans le domaine atlantique, mais réparties assez largement dans le monde et particulièrement communes dans les régions soumises au climat méditerranéen (Keeley & Zedler, 1998).

Ces zones humides saisonnières, généralement isolées et de petite superficie sont caractérisées par une phase d'inondation plus ou moins prolongée en hiver, suite à l'accumulation des précipitations sur un sol peu perméable, suivi par une phase d'assèchement en été après évapotranspiration (Zedler, 2003).

L'eau de submersion des mares temporaires, provenant des eaux de pluie, donne au milieu un caractère oligotrophe. Durant la phase d'inondation, la hauteur d'eau peut atteindre jusqu'à 50 cm de profondeur et fluctue au cours de la saison et des années, selon les événements pluvieux. Cet habitat unique profite aux espèces adaptées à l'oligotrophie et à la variabilité du régime hydrologique, et limite la concurrence végétale (Zedler, 1987 ; Bauder, 1989). Le cortège floristique est composé de nombreuses espèces endémiques dont certaines sont rares, capables de survivre à la submersion et d'avoir un cycle de développement et de reproduction rapide pendant la phase d'exondation (Holland & Jain, 1981 ; Keeley & Zedler, 1998). Les communautés végétales qui se développent au sein des mares temporaires sont relativement semblables à l'échelle mondiale avec plusieurs genres en commun. Elles sont, par exemple, caractérisées par des espèces du genre *Agrostis*, *Deschampsia*, *Ranunculus*, *Eryngium*, *Eleocharis* et *Juncus* (Zedler, 2003), tel qu'observé dans la dernière station d'*Eryngium viviparum* en France.

La plupart de ces espèces présentent des adaptations leur permettant de passer l'hiver sous l'eau. Par exemple, *Eryngium vaseyi* J.M. Coult. & Rose. ou *Eryngium aristulatum* Jesp., possèdent des feuilles caractérisées par la présence de lacunes aérifères qui améliorent l'assimilation du carbone pendant la période inondée (Keeley, 1999). L'observation anatomique, des feuilles et des racines, a permis de montrer qu'*Eryngium viviparum* présente ce même type d'adaptation.

Les caractéristiques précises des prairies humides et pelouses où *Eryngium viviparum* est mentionné sont décrites par Glemarec *et al.* (2017), qui reprennent l'ensemble des relevés phytosociologiques existants (86 en tout) et dressent une synthèse des communautés végétales abritant ou ayant abrité l'espèce en France et en péninsule Ibérique (Clément & Touffet 1978 *in* Clément & Touffet, 1983 ; Géhu & Bioret, 1992 ; Magnanon 1999, Perrin 2006 et Kornec 2005 *in* Perrin & Magnanon, 2007 ; Géhu 1970 *in* Géhu & Magnanon, 2008 ; Rivière 1977 et Glemarec *et al.* 2016 *in* Glemarec *et al.*, 2017).

En France, la végétation où se développe *Eryngium viviparum* a été rattachée à trois associations appartenant à différentes classes synsystématiques (Magnanon *et al.*, 2013) :

- Classe des prairies marécageuses du *Molionio-caerulea–Juncetea acutiflori* Braun-Blanquet 1950.
 - Alliance du Juncion acutiflori Braun-Blanquet *in* Braun-Blanquet & Tüxen 1952.
 - Association du *Deschampsio setaceae-Agrostietum caninae* (Lemée 1937) de Foucault 2008. Cette association est caractérisée par la présence d'espèces de prairies hygrophiles dont *Deschampsia setacea* et *Galium debile*.

- Classe des pelouses oligotrophiles amphibies ibéro-atlantiques (*Littorelletea uniflorae* Braun-Blanquet & Tüxen *ex* Westhoff, Dijk & Passchier & Sissingh 1946).
 - Alliance de l'*Elodo palustris – Sparganion* Braun-Blanquet & Tüxen 1943 *ex* Oberdorfer 1957.
 - Association de l'*Eleocharitetum multicaulis* Allorge 1922 *ex* Tüxen 1937. Cette association peut être considérée comme un stade dynamique précédant le *Deschampsio setaceae-Agrostietum caninae*. Elle se caractérise par une végétation amphibie, mais nécessitant une période d'exondation de plusieurs mois. Elle se compose notamment d'espèces vivaces telles qu'*Eleocharis multicaulis*, *Agrostis canina* ou *Baldellia ranunculoides*.

- Classe des pelouses annuelles amphibies oligotrophiles de l'*Isoeto durieui – Juncetea bufonii* Braun-Blanquet & Tüxen *ex* Westhoff, Dijk & Passchier 1946.
 - Alliance du *Cicendion filiformis* (Rivas Goday *in* Rivas Goday & Borja 1961) Braun-Blanquet 1967.
 - Association du *Radiolo linoidis - Cicendietum filiformis* Allorge 1922. Cette association caractérise un milieu très ouvert favorisant des espèces pionnières et principalement annuelles telles qu'*Exacallum pusillum* ou *Juncus pygmaeus*. Elle se développe communément en mosaïque avec le *Juncion acutiflori*.

Les relevés des localités Morbihannaises disparues appuient les observations réalisées au sein de la dernière population française et associent principalement *Eryngium viviparum* au *Deschampsio setaceae-Agrostietum caninae*. Ils révèlent également la présence de l'espèce au sein de l'*Hyperico-elodis Sparganion* Braun-Blanquet & Tüxen *ex* Oberdorfer 1957, une association pionnière de la classe des *Littorelletea* Tüxen 1947. Toutes ces associations sont considérées d'intérêt communautaire.

Dans la péninsule Ibérique, en limite nord de sa répartition (province de Lugo, Galice), *E. viviparum* est observé dans des communautés du *Juncion acutiflori* très similaires au *Deschampsia setacea* - *Agrostietum caninae*. L'espèce y est également mentionnée au sein de l'*Hyperico-elodis Sparganion*. Plusieurs des espèces observées sont communes avec celles des végétations Morbihannaises, comme *Deschampsia setacea* ou *Eleocharis multicaulis*. D'autres espèces sont remplacées par des vicariants du même genre, comme *Agrostis hesperica* en péninsule Ibérique contre *Agrostis canina* aux Quatre chemins.

En limite sud de sa répartition (Bragança, Portugal et Zamora en Castille Léon) les communautés végétales où se développe *Eryngium viviparum* présentent des espèces à chorologie intermédiaire entre les domaines climatiques atlantique et méditerranéen. Ces communautés sont rattachées aux pelouses du *Cicendion filiformis* ainsi qu'à deux alliances de l'*Isoeto-Nanojuncetea* : les prairies annuelles de l'*Agrostion salmanticae* Rivas Goday 1958, et les pelouses inondables mediterro-atlantique du *Preslion cervinae* Braun-Blanquet ex Moor 1937. La région d'Ourense constitue un intermédiaire entre la province de Lugo et les populations du Sud, avec l'observation d'*Eryngium viviparum* au sein du *Cicendion filiformis* et de l'*Agrostion salmanticae*.

1.7. Atteintes, menaces et protection

Eryngium viviparum est aujourd'hui considéré comme l'une des espèces végétales les plus menacées de France et les plus rares d'Europe, suite à la perte de nombreuses de ses populations. Le déclin le plus sévère a été observé en France au cours des années 1980, avec la disparition très rapide de toutes les populations existantes, à l'exception de celle des Quatre chemins à Belz (Rivière, 2007 ; Magnanon *et al.*, 2013). La situation était alors plus stable en Espagne, mais au cours de la dernière décennie, environ 35% des populations espagnoles ont disparu (Romero *et al.*, 2004 ; Lansdown, 2011). Au Portugal, avant la découverte de la population présente dans le parc naturel de Montesinho, l'espèce avait été considérée comme éteinte, suite à la disparition des populations existantes aux alentours de Porto (Romero *et al.*, 2004).

La régression d'*E. viviparum* est directement liée à la perte de son habitat. Ces parcelles humides à submersion temporaire présentent peu d'intérêt pour les nouvelles pratiques agricoles développées après-guerre, conduisant à leur destruction partielle, voire totale, pour l'urbanisation. L'abandon des exploitations agricoles sur les sites, est également à l'origine d'une dynamique de fermeture naturelle par la végétation, souvent colonisée par *Molinia caerulea*, éliminant ainsi les espaces pionniers favorables à l'espèce. *Eryngium viviparum* semble, en effet, mal supporter la concurrence végétale et apparaît par conséquent très dépendant des pratiques agricoles

traditionnelles. L'application d'un pâturage sur les sites abritant *E. viviparum* est nécessaire et a été suggérée à plusieurs reprises (Annezo *et al.*, 1995 ; Olivier, 1995 ; Magnanon *et al.*, 2013). Son habitat oligotrophe est également très sensible à la qualité de l'eau de submersion et du sol. La proximité de zones industrielles ou résidentielles pour certaines populations, pourrait occasionner un enrichissement et profiter aux espèces plus compétitives. Enfin, la distribution très fragmentée, potentiellement associée aux faibles échanges génétiques entre les populations, est également une menace pour l'espèce sur le long terme.

Eryngium viviparum fait l'objet d'une protection réglementaire pour l'ensemble du territoire national et en Europe. À l'échelle nationale, *E. viviparum* est cité dans l'Annexe I de l'arrêté ministériel français du 20 janvier 1982 révisé le 23 mai 2013, qui fixe la liste des espèces végétales protégées sur le territoire. À l'échelle européenne, l'espèce est listée dans l'annexe I de la Convention de Berne (19 septembre 1979), ce qui lui attribue une protection stricte. Le taxon figure également parmi les espèces prioritaires de l'Annexe II et IV de la directive Européenne Habitats du 21 Mai 1992, imposant la désignation de zones spéciales de conservation (ZSC). L'espèce apparaît dans quatre listes rouges UICN qui classent le taxon comme en danger (EN) à l'échelle mondiale (Lansdown, 2011), vulnérable (VU) en Europe (Bilz *et al.*, 2011), et en danger critique (CR) en France (UICN, 2012) et en Bretagne (Quéré *et al.*, 2016).

En France, *E. viviparum* fait depuis 2013 l'objet du « Plan National d'Actions en faveur du panicaut vivipare » qui vise à mieux comprendre l'espèce et à améliorer son état de conservation (cf. partie 2, Magnanon *et al.* 2013). Le seul site accueillant *Eryngium viviparum* en France fait également l'objet d'une protection, principalement liée à la conservation de l'espèce, mais également à la conservation du milieu et de la mosaïque paysagère environnante. D'abord intégré dans le périmètre du site N2000 « massif dunaire Gâvres-Quiberon et zones humides associées » (ZSC FR 5300027), ce site est désormais inclus au site N2000 « Ria d'Étel » (ZSC FR 5300028). Il possède également le statut de réserve associative gérée par Bretagne Vivante et fait l'objet d'un arrêté préfectoral de protection biotope (APPB) depuis le 14 Mars 1988. Cet arrêté interdit « toutes actions et travaux susceptibles de porter atteinte à l'équilibre biologique du milieu et à la survie de l'espèce végétale protégée » (article 2) et encourage la poursuite des pratiques agricoles favorables à l'espèce (article 3). Le plan de gestion de la réserve est actuellement en cours de révision (Rebibo, 1998 ; Iazard *et al.*, 2018).

En Espagne, seules quelques populations sont présentes au sein d'aires protégées. Les populations galiciennes font l'objet du suivi le plus attentif, mené par l'Institut de la Biodiversité Agricole et du Développement Durable (IBADER), une équipe de recherche rattachée à l'université de

Santiago de Compostella. Un projet LIFE TREMEDAL pour la gestion et la restauration des zones humides continentales du nord de la péninsule Ibérique a notamment été mis en place. Il intègre dans ses objectifs l'étude et la gestion d'*Eryngium viviparum*.



Figure 5. Localisation de la population des Quatre chemins et répartition historique d'*Eryngium viviparum* dans le Morbihan d'après les cartographies réalisées par Gabriel Rivière en 1970 d'après Magnanon *et al.* (2013).

2. HISTORIQUE DE CONSERVATION EN FRANCE : DU LANCEMENT D'ALERTE À LA MISE EN PLACE DU PNA

2.1. Répartition historique des populations françaises d'*Eryngium viviparum*

Alors encore inconnu en France, *Eryngium viviparum* a été découvert en 1832 dans un pâturage inondable de Ploëmel (Morbihan), par un médecin d'Auray, le Dr Hémon. L'espèce s'est ensuite faite progressivement connaître dans le Morbihan en suscitant l'intérêt des botanistes locaux (Le Gall, 1852 ; Lloyd, 1886 ; Becquet, 1936 ; Jovet, 1939). Elle a été mentionnée au sein d'une quarantaine de localités, dont certaines étaient décrites comme abondantes (des Abbayes *et al.*, 1971 ; Rouy, 1901). Son aire de répartition historique a ainsi pu être reconstituée, notamment à l'aide des cartes réalisées par Gabriel Rivière au cours des années 1970, issues d'un travail important de recherche des sites accueillant l'espèce (Rivière *in* Magnanon *et al.*, 2013). La découverte de plusieurs populations, lui est d'ailleurs attribuée, dont celle des Quatre chemins en 1975.

Les localités historiques d'*Eryngium viviparum* étaient limitées au sud du Morbihan et concentrées entre Locmariaquer et la Ria d'Étel, à l'exception d'une station observée à l'Est du Golfe du Morbihan, sur la commune de Séné (Figure 5). *E. viviparum* s'observait alors principalement au sein de dépressions humides, les « Varquez », entourées de landes, et au sein desquelles il occupait des pelouses ou des prairies pâturées (Jovet, 1939). Plusieurs témoignages rapportent également la présence de l'espèce au niveau d'un sol retourné par le passage des troupeaux (Magnanon & Guillevic, 2012).

Eryngium viviparum a rapidement été considéré comme menacé. En effet, dès les années 1930 plusieurs populations n'étaient déjà plus retrouvées (Rivière *in* Magnanon *et al.*, 2013). Le phénomène s'est accentué après les années 1970, conduisant à la disparition de la totalité des populations début 1990, à l'exception de celle des Quatre chemins (Figure 5, Magnanon *et al.*, 2013). L'extinction des populations est principalement attribuée à l'urbanisation massive et à l'abandon progressif de l'exploitation des pelouses et prairies humides dans le Morbihan, occasionnant la destruction de l'habitat et la fermeture des milieux favorables à *E. viviparum* (Ralys, 1998 ; Magnanon *et al.*, 2013). La modification des milieux (*i.e.* drainage, mise en culture...) est également responsable de la destruction d'une partie des populations morbihannaises (Ralys, 1998 ; Perrin & Magnanon, 2007 ; Glemarec, 2015).

La population des Quatre chemins, doit sa survie au maintien des anciennes pratiques agricoles par l'agriculteur exploitant, puis à la mise en place d'une gestion conservatoire (cf. 2.2.3).



Figure 6. Localisation de la pelouse où se maintient *E. viviparum* au sein du site des « Landes du Bignac et des Quatre chemins », sur la commune de Belz. L'encadré rouge correspond au périmètre de gestion du complexe « Landes du Bignac et des Quatre chemins » (Izard *et al.*, 2018).

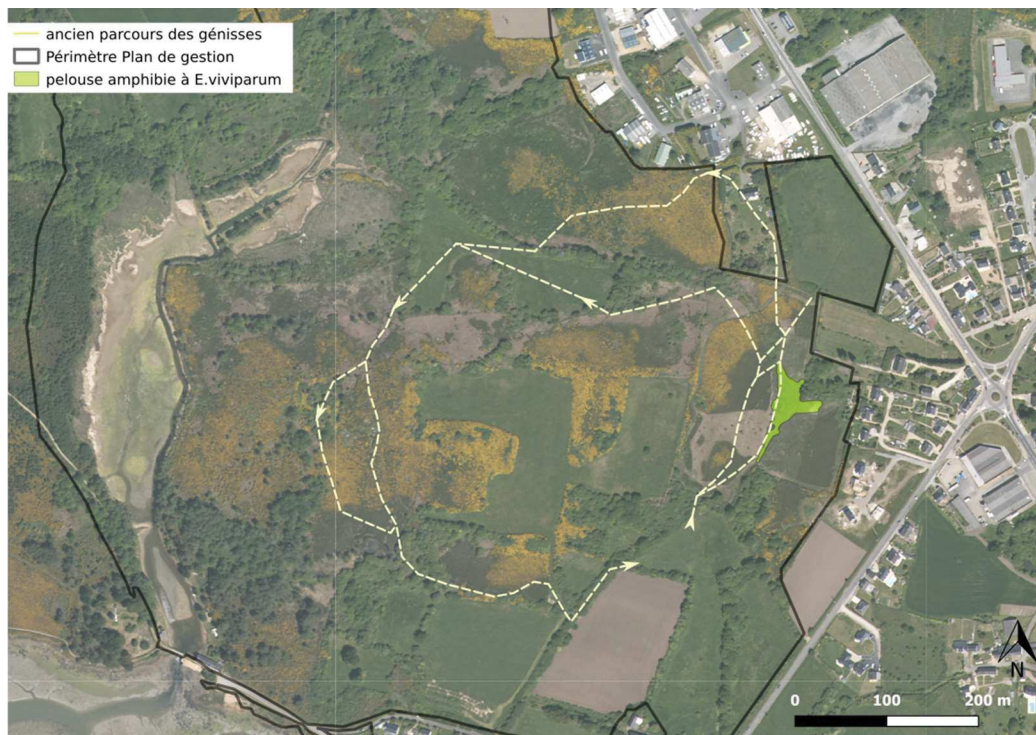


Figure 7. Parcours des génisses au cours des années 1970, interprété par témoignage (Christine Montfort, comm. pers.) et par l'analyse des photographies aériennes.

2.2. Présentation de la dernière station française d'*Eryngium viviparum*

2.2.1. Contexte

La dernière population où se développe actuellement *Eryngium viviparum* est située sur la commune de Belz (Morbihan), ville riveraine de la Ria d'Étel, au sein de la réserve associative des "Quatre chemins" (Figure 6). Cette dernière jouxte le site des « Landes du Bignac », constitué par une mosaïque de milieux naturels : landes, prairies humides, mares, boisements... Cet ensemble écologique, désormais appelé « Landes du Bignac et des Quatre chemins » (Izard *et al.*, 2018), s'étend sur 96 ha de propriétés privées et publiques, dont une partie a récemment été classée au titre des Espaces Naturels Sensibles (ENS, propriété du département). Le site est entouré par l'urbanisation avec le développement d'un Parc d'activités au nord et de plusieurs lotissements à l'est (Figure 6). L'ensemble repose sur un sous-sol constitué de roches granitiques schisteuses, imperméables, et s'élève sur environ 12 m d'altitude (source BRGM). Le site des Quatre chemins, est également situé au niveau d'un micro bassin versant (Izard, 2011). La création de sentiers de découvertes a permis de faciliter l'accessibilité du site au public. Ce sont principalement les riverains et quelques randonneurs qui empruntent de manière ponctuelle les chemins de promenade ou les pare-feux. La fréquentation est par conséquent faible et la forte valeur patrimoniale du site semble encore peu connue (Izard *et al.*, 2018).

Plus précisément, la réserve des Quatre chemins est une propriété associative gérée par Bretagne Vivante et couverte par un Arrêté Préfectoral de Protection Biotope (APPB) qui s'étend sur 5 ha. La zone est également classée en ZNIEFF de type I et intégrée depuis 2017 au site Natura 2000 de la « Ria d'Étel ». La pelouse amphibie porteuse de l'espèce s'étend cependant sur moins de 1000 m² (Magnanon *et al.*, 2013). Elle repose sur un sol caractéristique des gleys oxydés (*i.e.* sols hydromorphes), à dominante limono-argileuse avec un pH légèrement acide compris entre 6.0 et 6.5 (Perrin & Magnanon, 2007). Elle est enclavée dans un système de landes mésophiles et de landes sèches, de fourrés landicoles et de bosquets de chênes ou saules. La microtopographie du site apparaît relativement marquée et semble être à l'origine de la variation phytocœnotique du site et agir sur la répartition spatiale d'*Eryngium viviparum*. Le régime d'inondation saisonnier semble également jouer un rôle majeur sur la dynamique de la population, mais son fonctionnement reste mal connu (Magnanon *et al.*, 2013). L'inondation hivernale assure par exemple la protection de l'espèce pendant l'hiver, qui est apparue sensible au gel (Magnanon *et al.*, 2013). Les dates d'inondation et d'exondation sont attentivement suivies chaque année afin d'en vérifier l'impact sur la population d'*E. viviparum* (Magnanon *et al.*, 2013).

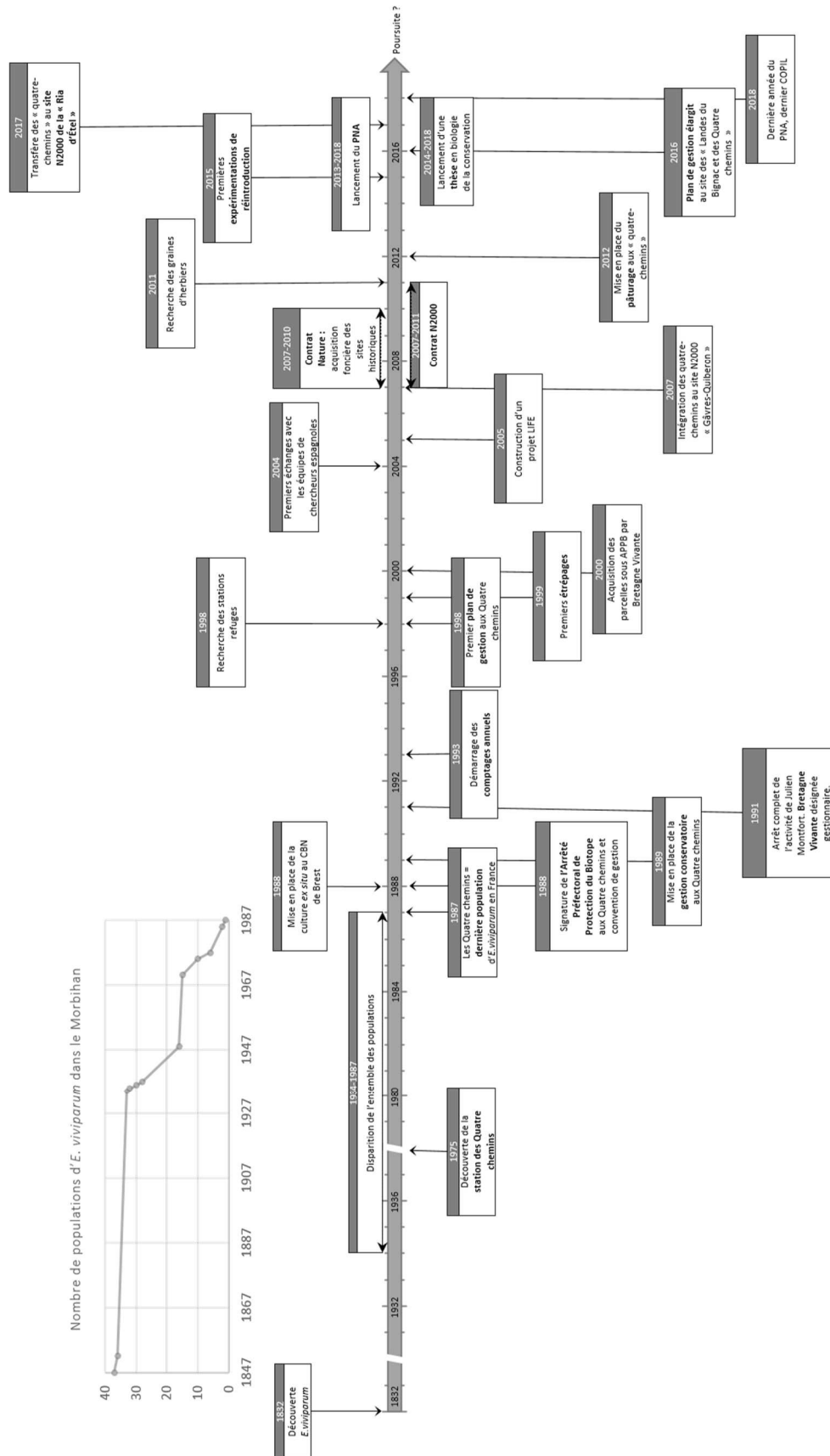


Figure 8. Chronologie des actions de conservations menées en faveur d'*E. viviparum* depuis sa découverte dans le Morbihan.

2.2.2. Enjeux

Eryngium viviparum est l'espèce prioritaire du site des Quatre chemins, justifiant l'ensemble des mesures de protection mises en place (Izard *et al.*, 2018). Néanmoins, plusieurs inventaires naturalistes ont été réalisés récemment à l'échelle de l'ensemble du site des « Landes du Bignac et des Quatre chemins » (Hirzel *et al.*, 2002 ; Hardegen *et al.*, 2011 ; Glemarec *et al.*, 2017 ; Izard *et al.*, 2018). Ceux-ci ont permis d'identifier plusieurs communautés végétales caractéristiques des zones humides oligotrophes et d'intérêt communautaire au regard de l'annexe I de la Directive habitats. D'autres espèces protégées au niveau national sont présentes : *Lurionium natans*, *Asphodelus arrondeaui* et *Littorella uniflora*. La présence de *Gentiana pneumonanthe*, *Juncus pygmaeus*, *Deschampsia setacea*, *Exaculum pusillum* et *Cicendia filiformis*, espèces de la liste rouge de Bretagne (Quéré *et al.*, 2016), renforce l'intérêt patrimonial du site.

Pour les amphibiens, la pelouse inondable des Quatre chemins constitue également une zone de ponte importante, notamment pour *Rana dalmatina* et *Hyla arborea*, espèces protégées au niveau national. Le site abrite également *Lepidurus apus*, un crustacé branchiopode dépendant des conditions oligotrophes et de la submersion temporaire.

2.2.3. Usages

Les actions de conservation et de gestion au sein de la réserve des Quatre chemins, ainsi que la construction d'une dynamique d'acteurs, se sont progressivement développés depuis l'exploitation agricole initiale jusqu'au Plan national d'Actions (Figure 8).

a. De 1940 à 1989 : une exploitation agricole familiale

La parcelle des Quatre chemins était auparavant utilisée par son ancien propriétaire agriculteur, Julien Montfort (Rebibo, 1998 ; Magnanon *et al.*, 2013). Jusqu'en 1989, il y pratiquait l'extraction de mottes d'herbe, destinées à recouvrir les silos à betteraves fourragères, et prélevait l'argile, pour la construction (*i.e.* torchis) ou la rénovation des bâtiments (Christine Montfort, comm. pers.). Pour cela, une surface d'environ 150m² était étrepée chaque année, permettant de maintenir des espaces de sol à nu, favorisant la colonisation d'*Eryngium viviparum* et celle des autres espèces pionnières au sein de la pelouse amphibie. Les landes et les fourrés à ajonc (localement appelés « landiers »), entourant la pelouse, étaient également entretenus par la coupe et le broyage annuels des ajoncs et utilisés comme fourrage pour les chevaux (Magnanon *et al.*, 2013).

Le site était parcouru par une vingtaine de génisses de la ferme de Julien Montfort (Christine Montfort, comm. pers.) qui ont très certainement participées au maintien de la population en maîtrisant la dynamique végétale. Le parcours habituel emprunté par le troupeau, a pu être identifié grâce à l'analyse d'anciennes photographies aériennes (Figure 7). Une mare creusée, au cœur de la pelouse à *E. viviparum*, présentait un lieu préférentiel pour le passage du troupeau qui circulait en parcours libre au cours de la journée (Christine Montfort, comm. pers.). Une partie du chemin se devine encore *in situ* au sud de la pelouse, où de nombreuses rosettes d'*Eryngium viviparum* sont encore observées (Figure 9). Ce constat soutient l'hypothèse d'une dispersion favorisée par l'action du piétinement.

b. De 1988 au début des années 2010 : Développement d'une gestion conservatoire aux Quatre chemins

La poursuite d'une activité agricole par l'exploitant, a permis de préserver *Eryngium viviparum* jusqu'à l'arrêt de l'exploitation en 1989 (Rebibo, 1998). Puis, en absence d'intervention sur le site, la pelouse s'est rapidement refermée, colonisée par la végétation herbacée et arbustive située en marge (saules, ajoncs...). La surface occupée par *E. viviparum* s'est alors considérablement réduite, avec un faible nombre d'individus encore observables (Yvon Guillevic, observations 1994), soulignant la nécessité de mettre en place une gestion. En parallèle, l'ensemble des autres populations connues avait déjà disparu (Ralys, 1998 ; Magnanon *et al.*, 2013).

L'arrêté préfectoral de protection biotope mis en place dès mars 1988, a été accompagné la même année, conformément à son article 2, d'une convention de gestion relative à la zone de protection, désignant la Société pour l'étude et la protection de la nature en Bretagne (SEPNB, devenue Bretagne Vivante) comme gestionnaire. Depuis cet accord, Bretagne Vivante (BV), représentée par un conservateur bénévole, Yvon Guillevic, mène une gestion favorable pour *Eryngium viviparum* sur la réserve des Quatre chemins, avec la collaboration du CBN de Brest. Au cours des années 2000, l'acquisition de plusieurs parcelles de l'APPB par BV, a permis la reconnaissance du statut de réserve associative pour le site des Quatre chemins. En 2007, l'intégration de la réserve dans le périmètre du grand site Natura 2000 « Massif dunaire de Gâvres-Quiberon et zones humides associées », transféré en 2017 à celui de la « Ria d'Étel », a permis d'ajouter à la gestion en cours, le soutien financier de l'état et la contribution technique du Syndicat Mixte de la Ria d'Étel (SMRE, opérateur N2000).

En parallèle de ces diverses mesures de protection, une collection *ex situ* a rapidement été mise en place au Conservatoire botanique national (CBN) de Brest, à partir d'individus originaires de la station des Quatre chemins, permettant de constituer des lots de sauvegarde pour d'éventuelles

réintroductions et de définir des conditions de culture favorables (Magnanon *et al.*, 2013 ; Gautier, 2013). L'espèce y est cultivée sur un mélange d'argile et de pierre ponce et se multiplie facilement grâce à sa capacité de reproduction végétative. Les graines produites, sont quant à elles conservées sur le long terme, par lots annuels, en congélateurs. Des lots de graines ont également pu être prélevés dans plusieurs herbiers dans l'espoir de régénérer des individus originaires des populations disparues (Perrin & Magnanon, 2007). Cependant, les anciens traitements employés pour la conservation des spécimens d'herbiers (mercure, arsenic...) ont probablement attaqué les tissus vivants. Malgré plusieurs tentatives, aucune approche classique n'a permis d'activer la germination des graines d'*Eryngium viviparum* issues des herbiers (Catherine Gautier, comm. pers.).

Après plusieurs années de gestion expérimentale sur le site des Quatre chemins, basée sur les pratiques de l'ancien propriétaire (*i.e.* étrépage et fauche), un premier plan de gestion a été validé en 1998 (Rebibo, 1998). L'absence d'agriculteur, suite à la disparition des activités agricoles sur la commune de Belz dans les années 1990, n'a pas permis la remise en pâturage du site avant 2012 (Magnanon *et al.*, 2013). Néanmoins, des étrépages par bandes ont été réalisés chaque automne entre 1992 et 2011 par Bretagne Vivante, après la floraison d'*Eryngium viviparum* (Figure 9). Les étrépages réalisés entre 1992 à 2002 ont permis une recolonisation importante de l'espèce, tandis que les résultats obtenus pour les étrépages postérieurs à l'année 2002 sont plus mitigés (Magnanon *et al.*, 2013).

D'autres opérations, mises en place à partir de 2006, dans le cadre notamment d'un contrat nature entre la région et le CBN de Brest et au titre de N2000 (fauche avec exportation, décapage d'une molinaie en 2007, création de plusieurs pare-feu...), ont permis d'élargir le périmètre favorable à l'espèce, d'en faciliter l'accès et de protéger la pelouse contre les incendies. Une fauche régulière, des landes et des fourrés, est également réalisée afin de prévenir l'envahissement par la végétation présente en marge de la pelouse (Izard *et al.*, 2018).

Les gestionnaires bénévoles de Bretagne Vivante ont mis en place une surveillance très régulière du site et de la population d'*Eryngium viviparum* depuis la création l'APPB (1988). Depuis 1993, la taille de la population est évaluée chaque année par un comptage exhaustif des rosettes, au niveau des anciennes bandes étrépees, et une estimation du nombre d'individus sur le reste de la surface porteuse (200m²). Un suivi démographique est également réalisé par le gestionnaire bénévole depuis 2007. L'ensemble de ces observations a permis d'améliorer la compréhension liée à la biologie et la dynamique de l'espèce.



Figure 9. Synthèse des étrépages réalisées au niveau de la pelouse des Quatre chemins depuis 1999 (Magnanon *et al.*, 2013).

c. Après les années 2010 : Confortement de la gestion conservatoire et des études scientifiques

Malgré les efforts entrepris par BV et le CBN de Brest depuis les années 1990, la situation d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins est apparue toujours critique. Les effectifs étaient faibles et les opérations de décapage après 2007 ne permettaient plus la recolonisation spontanée de l'espèce. Une démarche visant à « faire sortir *E. viviparum* de sa réserve » a donc été engagée, notamment par une tentative de restauration des populations disparues.

Dans cet objectif, différents programmes ont été mis en place, dont un Plan national d'Actions (voir §2.3). Concernant la gestion, un pâturage saisonnier a pu être ré-appliqué à partir de 2012, avec l'activité de deux vaches Bretonnes pie noir, mises à disposition par un éleveur en convention avec le Syndicat Mixte de la Ria d'Étel (opérateur N2000). En parallèle, les étrépages ont été arrêtés et les opérations de gestion et de suivis se poursuivent sous la responsabilité de Bretagne Vivante.

C'est également dans cette volonté d'entreprendre une conservation plus large de l'espèce dans le Morbihan, que les partenariats scientifiques et techniques, se sont développés sur le site des Quatre chemins. Les usages scientifiques du site ont ainsi pris de l'ampleur et cette thèse en est l'une des principales illustrations.

2.3. Mise en place de mesures pour renforcer et étudier la conservation d'*Eryngium viviparum* dans le Morbihan

2.3.1. Restauration de stations historiques d'*Eryngium viviparum*

La gestion mise en place aux Quatre chemins a permis de maintenir efficacement la dernière population d'*Eryngium viviparum*. Cependant, l'existence d'une seule population ne peut pas être considérée viable sur le long terme pour la conservation de l'espèce en France. La dernière station pourrait disparaître, suite aux aléas environnementaux. L'isolement peut également être responsable d'effets négatifs au niveau génétique, pouvant à terme affecter la viabilité de la population (Schaal & Leverich, 1996).

C'est pourquoi, en vue améliorer plus largement la conservation d'*Eryngium viviparum* en France, la proposition de mise en œuvre d'un Programme LIFE avait été déposée en 2005 par le CBN de Brest. L'objectif était d'obtenir les moyens permettant de pérenniser la population des Quatre chemins, tout en recherchant la possibilité de recréer des sites refuges en dehors de cette population. La construction du projet avait évolué de manière très positive, malgré le refus initial de certaines municipalités d'adhérer au projet, notamment celle de Belz. La protection d'*E. viviparum* était en effet perçue comme un frein au développement de la ZAC au nord de la parcelle des Quatre chemins. D'autres communes ont au contraire montré une réelle volonté de s'investir dans le projet. Ce programme LIFE n'a cependant pas été retenu par les instances européennes.

Néanmoins, les principales orientations proposées dans ce programme LIFE, ont été reprises dans un programme d'envergure régionale, par le biais d'un contrat Nature (Perrin & Magnanon, 2007). Ce programme a pu être soutenu par les financeurs initialement associés au programme LIFE (Conseil général du Morbihan, Conseil régional, DIREN, communes...) et animé par le CBN de Brest. Initié en 2007 pour une durée de quatre ans, le programme de « Conservation et restauration du Panicaut vivipare dans le Morbihan » a principalement été orienté sur la mise en œuvre des opérations de restauration des localités éteintes d'*Eryngium viviparum*, en permettant notamment l'acquisition foncière de plusieurs d'entre elles. Il a également permis de poursuivre et préciser les actions de conservation déjà mises en œuvre. En parallèle, un contrat Natura 2000 a été passé entre l'état et Bretagne Vivante, permettant de renforcer le soutien financier apporté à la gestion des Quatre chemins.

Dans le prolongement d'une étude réalisée en 1998 (Ralys, 1998), un nouvel état des lieux et le diagnostic des anciennes stations, ont été précisés en 2005 et ont permis de retrouver plusieurs sites dont les conditions écologiques étaient restées favorables (*i.e.* submersion temporaire et conditions oligotrophes) malgré la fermeture par la végétation (Perrin & Magnanon, 2007). Pour certains d'entre eux, une re-crédation d'espaces favorables à *Eryngium viviparum* est apparue envisageable. Six sites potentiels ont été retenus pour la mise en place d'opérations de restauration, par fauches et étrépages, avec l'objectif de rétablir un réseau de sites refuges pour *E. viviparum* (Perrin & Magnanon, 2007). Le succès des étrépages réalisés aux Quatre chemins avait conduit à penser qu'une réapparition spontanée de l'espèce, à partir de la banque de graines, était possible au niveau des anciennes stations restaurées. À la suite des travaux de restauration des sites menés en 2007, l'espèce n'est jamais réapparue, mais une végétation proche de celle habituellement associée à *E. viviparum* a pu se développer (Hardegen *et al.*, 2011). Depuis, chaque site est régulièrement suivi et géré (Bretagne Vivante, Conseil général du Morbihan, Monuments Nationaux), afin de conserver leur potentialité à accueillir *E. viviparum* dans le cadre d'une future réintroduction.

2.3.2. Mise en œuvre d'un Plan National d'Actions

Au début des années 2010, à l'initiative du CBN de Brest, le lancement d'un plan National d'actions, centré sur *Eryngium viviparum*, est apparu pertinent afin de poursuivre et d'élargir les actions de conservation, de restauration et de gestion, engagées depuis plus de 20 ans pour la sauvegarde de l'espèce. Approuvé à l'unanimité par les membres de la commission flore du CNPN et validé par le Ministère de l'Écologie en 2012, ce projet a été considéré comme prioritaire en terme d'enjeu et de conservation.

Le plan national d'actions en faveur du Panicaut vivipare (2013-2018) dresse un état des lieux des connaissances et vise à améliorer l'état de conservation d'*Eryngium viviparum* dans le Morbihan sur une durée de six ans. 18 fiches proposent des actions organisées selon trois grands axes caractéristiques des PNA :

- La conservation :

Les actions de conservation, dédiées au maintien de la dernière population française d'*Eryngium viviparum*, proposent en priorité le renforcement des suivis et des méthodes de gestion engagée localement aux Quatre chemins depuis plusieurs années et celui du statut de protection du site. Un renforcement de la population existante, ainsi que la restauration des stations éteintes *via* des opérations de réintroduction ont également été suggérés, afin de recréer un réseau de sites refuges pour *E. viviparum*.

- L'amélioration des connaissances :

Mieux comprendre le fonctionnement d'*Eryngium viviparum*, notamment en réponse aux modalités de gestion, s'avère crucial pour sa conservation. Pour cela, la connaissance de l'écologie de l'espèce, et de sa biologie, notamment en terme de reproduction et de génétique des populations, sont des axes forts du PNA, qui ont préconisés diverses nouvelles études scientifiques.

- La sensibilisation :

Il est effectivement apparu indispensable que les acteurs territoriaux et le public prennent conscience des enjeux majeurs que représentent *Eryngium viviparum* pour la France et plus particulièrement pour la Bretagne et le Morbihan.

Depuis l'APPB, différents projets de conservation mis en place pour *Eryngium viviparum* ont permis de mobiliser progressivement un réseau d'acteurs important (Figure 10). La mise en œuvre du PNA n'aurait pas pu se réaliser sans la participation des nombreux partenaires techniques et financiers associés aujourd'hui au projet :

La DREAL Bretagne en assure la coordination générale et veille sur la mise en œuvre et la cohérence de l'ensemble des actions du plan. Elle apporte également une aide financière majoritaire au même titre que l'Agence de l'eau Loire Bretagne. Des financements complémentaires ont été apportés par les collectivités et associations locales : Conseil général du Morbihan (CG56), Le pays d'Auray, les Fond Européens de Développement Régional (FEDER), La Région Bretagne, l'Arche aux plantes (ONG), le Syndicat Mixte de la Ria d'Étel (SMRE, opérateur N2000). Le bénévolat actif apporté par Bretagne Vivante peut également être valorisé comme une participation financière au PNA.

La rédaction du PNA a été réalisée par le CBN de Brest, en partenariat étroit avec Bretagne Vivante. Le CBN en assure la coordination technique et l'animation lors des comités de pilotage.

La gestion du site des Quatre chemins et les suivis de la population sont assurés par Bretagne Vivante depuis la mise en place de l'APPB et poursuivis dans le cadre du PNA, en partenariat avec le CBN de Brest et le Syndicat Mixte de la Ria d'Étel. L'association a également participé à l'acquisition d'un des sites historiques envisagés pour la réintroduction, et en assure la gestion. Les autres stations historiques ont fait l'objet d'une acquisition foncière par le Département du Morbihan, à l'exception d'une, qui appartient à l'état au titre des Monuments Nationaux. Le Département du Morbihan est notamment très investi dans la gestion des sites qu'il a acquis pour la réintroduction.

Sur la base des observations de Bretagne Vivante et du CBN de Brest, un partenariat scientifique a également été établi afin de répondre aux questionnements qui persistent, concernant la biologie et l'écologie d'*Eryngium viviparum*.

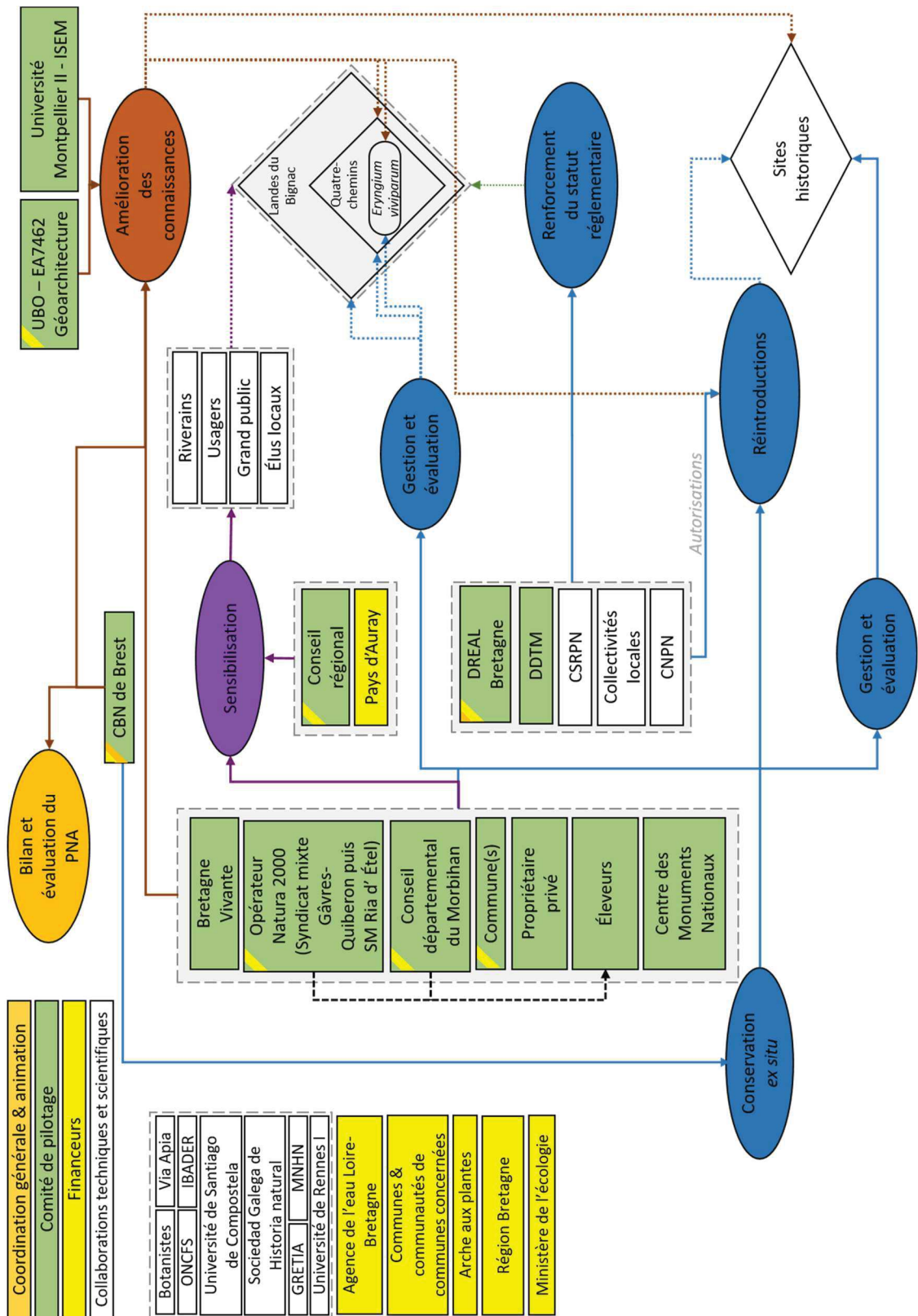


Figure 10. Acteurs impliqués dans le plan national d'actions en faveur du Panicaut vivipare et leur rôle au sein des principaux axes d'actions.

Ainsi, dans le cadre du Comité de Pilotage du PNA, il est apparu que différents éléments d'acquisition de connaissance et d'expérimentation, prévus par le plan, pouvaient constituer un programme de recherche pertinent pour une thèse de doctorat. Ce cadre de mise en œuvre permet de mobiliser une personne sur le sujet pendant un temps relativement long et d'assurer la cohérence des actions de recherche menées.

2.3.3. Études scientifiques

Différents cadres de mise en œuvre ont été envisagés avec les Universités de Bretagne Occidentale (EA 7462 – Géoarchitecture) et de Montpellier 2 (institut des sciences de l'évolution de Montpellier, ISEM) et plusieurs dossiers de co-financement ont été proposés (CIFRE, dispositif ARED de la Région Bretagne...) pour mettre en œuvre la thèse de doctorat consacrée à *Eryngium viviparum*. Cela a abouti en 2014 à un programme de thèse au sein de l'équipe de recherche EA 7462 - Géoarchitecture (UBO), cofinancé par l'UBO (bourses présidentielles) et le CBN de Brest (via les subventions de l'agence de l'eau Loire Bretagne et de la Direction régionale de l'aménagement Bretagne attribuées dans le cadre du PNA), et mené en partenariat avec l'ISEM et les différents partenaires du PNA, dont Bretagne Vivante.

Par l'organisation de rencontres, tant en Bretagne qu'en péninsule Ibérique, les relations avec les équipes de recherches galiciennes se sont également renforcées et ont permis d'échanger autour des enjeux communs et des caractéristiques propres à chacun des territoires.

Parallèlement à cette thèse, les observations et suivis menés par Bretagne Vivante ou le CBN de Brest se poursuivent. Des bilans rédigés annuellement, dans le cadre du PNA, communiquent à l'ensemble des partenaires l'état d'avancement du projet. À ce jour, le PNA a permis la réalisation d'actions majeures pour la sauvegarde d'*Eryngium viviparum*, notamment en terme d'amélioration des connaissances et de gestion, avec la rédaction récente d'un plan de gestion élargi à l'ensemble « Landes du Bignac et des Quatre chemins ». L'année 2018 marque la dernière année de mise en œuvre du PNA.

PARTIE II. CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DE LA NICHE
ÉCOLOGIQUE D'*ERYNGIUM VIVIPARUM* ET MESURE
DE LA DIFFÉRENCIATION ÉCOLOGIQUE ENTRE
POPULATIONS

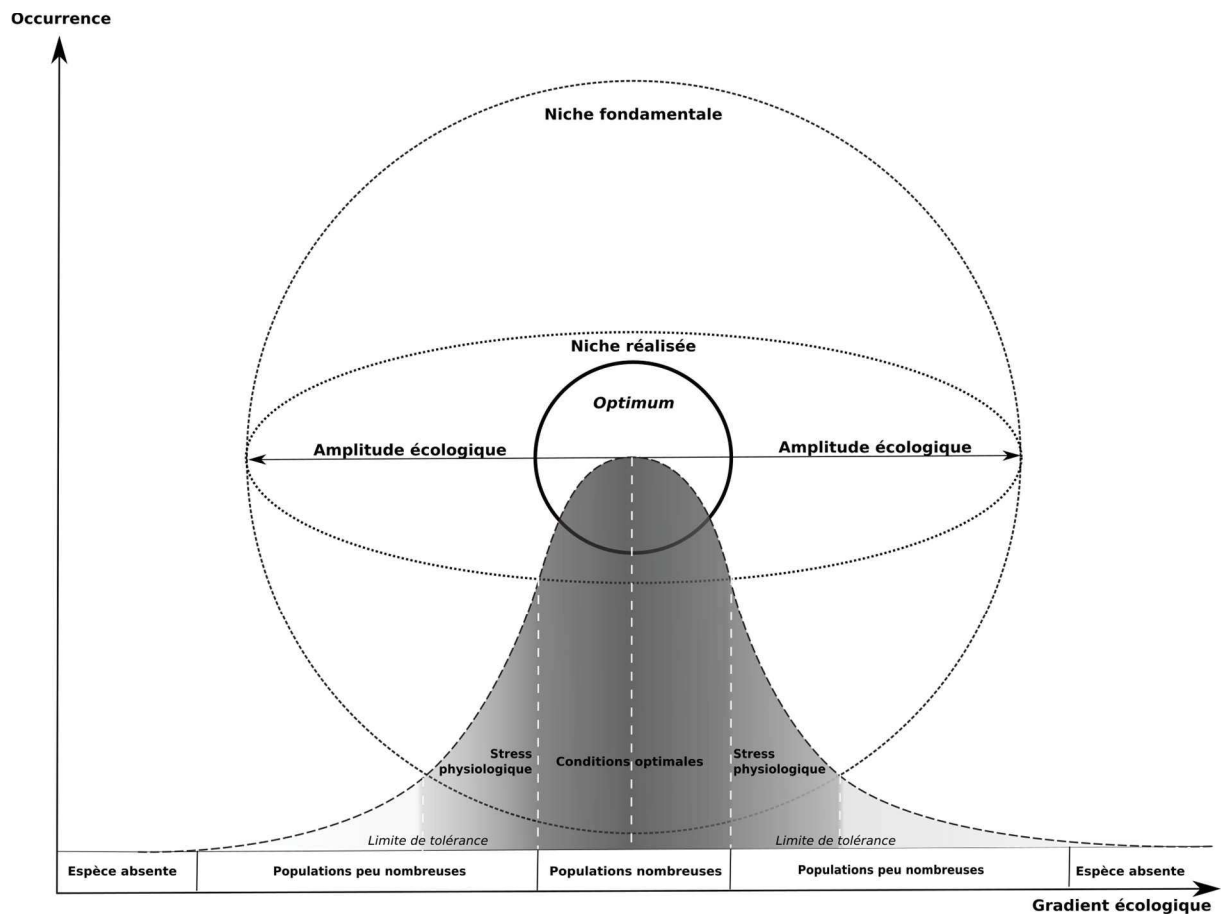


Figure 11. Représentation schématique de la niche écologique selon le concept défini par Hutchinson (1957).

INTRODUCTION

Les premières interrogations soulevées dans le cadre de la conservation d'une espèce rare, concernent les causes de sa rareté. Celles-ci sont souvent liées aux caractéristiques de son habitat et aux facteurs qui limitent sa distribution, telles qu'une faible compétitivité, une faible capacité colonisatrice ou une sensibilité aux pressions d'origine anthropique (Rabinowitz *et al.*, 1986 ; Fiedler, 1987 ; Chapin *et al.*, 1993). Par conséquent, les préférences écologiques font partie des premières modalités étudiées dans le cadre d'un programme de conservation. Leur connaissance et leur compréhension apportent les éléments centraux qui facilitent l'identification des facteurs à l'origine de la détérioration du statut de conservation de l'espèce étudiée, pour assurer la gestion des populations existantes, voire la restauration des populations éteintes (Christensen *et al.*, 1996 ; Washitani, 2001).

Dès 1866, Ernst Haeckel introduit et définit le terme « écologie » comme « la science étudiant les relations des organismes avec leur environnement » (Haeckel, 1866). Cette discipline a vu se développer plus tard le concept central de la « niche écologique », décrite comme l'ensemble des conditions biotiques et abiotiques, sous lesquelles une espèce se maintient, en y intégrant son rôle fonctionnel (Grinnell, 1917 ; Elton, 1927). Cette théorie part du principe que chaque espèce possède une niche écologique qui lui est propre. Cependant, deux notions sont distinguées : la niche fondamentale et la niche réalisée (Hutchinson, 1957). La niche fondamentale correspondant à l'espace où sont réunies l'ensemble des conditions environnementales où une espèce est capable de survivre et de se développer. La niche réalisée intègre en plus, les interactions biotiques qui limitent l'expansion géographique (*i.e.* compétition ou prédation), et correspond à l'aire réellement occupée par l'espèce.

La répartition des espèces est donc conditionnée par leur niche réalisée, selon une amplitude écologique qui varie plus ou moins largement autour d'un optimum (Figure 11). Celle-ci caractérise leur capacité d'adaptation génétique face aux variations de l'environnement (Antonovics, 1976 ; Silander, 1984). Les populations en limite d'aire, voire isolées, sont souvent considérées comme les plus vulnérables (Haeck & Hengeveld, 1981 ; Brown, 1984 ; Eckert *et al.*, 2008 ; Pironon *et al.*, 2016). Les échanges génétiques y sont en effet limités et les conditions écologiques parfois éloignées de l'optimum, occasionnant des populations de petite taille avec une variabilité génétique faible (Lawton, 1993 ; Hoffmann & Blows, 1994 ; Lesica & Allendorf, 1995 ; Martínez-Meyer *et al.*, 2013). Ces populations peuvent cependant se différencier, par le biais de la sélection directionnelle, pour se maintenir dans un nouvel environnement, aboutissant à une spéciation en cas d'isolement important (Stebbins, 1950 ; Grant, 1981 ; Price *et al.*, 2003 ; Rieseberg & Willis, 2007).

L'application de la théorie des niches est devenue populaire en biologie de la conservation (Peterson, 2006). En plus d'apporter des éléments cruciaux sur les besoins écologiques d'une espèce, elle permet de mieux appréhender sa distribution géographique et ses limites, voire de déceler l'existence de populations jusqu'alors inconnues (Hirzel *et al.*, 2002 ; Bourg *et al.*, 2005 ; Martínez-Meyer *et al.*, 2006). Elle est également utilisée pour prioriser les actions de conservation (Williams *et al.*, 2005 ; Araujo *et al.*, 2005), justifier le choix des sites lors de projets de réintroduction (Martínez-Meyer *et al.*, 2006 ; Polak & Saltz, 2011), ou encore anticiper la réponse des espèces suite aux changements climatiques ou à la destruction des habitats (Gottfried *et al.*, 1999 ; Thuiller *et al.*, 2004 ; Barve *et al.*, 2012).

Certaines espèces sont naturellement rares et possèdent une amplitude écologique faible, en partie attribuée à un comportement peu compétitif (Chapin *et al.*, 1993 ; Poorter & Garnier, 2007), et à l'origine d'une distribution limitée à un habitat spécifique et fragile (Rabinowitz *et al.*, 1986 ; Médail & Verlaque, 1997 ; Lavergne *et al.*, 2004 ; Kleijn *et al.*, 2008). C'est ce qui est observé pour *Eryngium viviparum*, avec sa dépendance aux pelouses oligotrophes et ouvertes, inondées temporairement. Ce milieu très particulier, où la concurrence végétale est faible, favorise sa dynamique pionnière. Particulièrement fragile et dépendant des activités humaines, ce milieu est actuellement en forte régression (cf. Partie I).

Dans ce contexte, étudier l'écologie d'*Eryngium viviparum* s'avère indispensable pour renforcer la stratégie de conservation visant à maintenir son habitat ou à le restaurer. Cette approche se montre également essentielle pour orienter le choix des sites pour la réintroduction envisagée dans le cadre du Plan National d'Actions en sa faveur.

Si l'écologie de l'espèce a jusqu'à présent été globalement bien étudiée sur l'ensemble de son aire de répartition, certaines interrogations persistent. Peu d'études comparatives ont été établies entre les différentes populations pour évaluer leur proximité écologique et caractériser l'amplitude environnementale d'*Eryngium viviparum*. Des similarités dans l'écologie des populations espagnoles et française ont déjà pu être identifiées, notamment par l'observation d'associations végétales proches (Elouard *et al.*, 2004 ; Glemarec *et al.*, 2017). Une différence morphologique, qui peut être attribuée à une adaptation pour des conditions écologiques variables, a été constatée entre les individus présents au sud de sa répartition et les autres, conduisant à la description d'une sous-espèce (Buján & Real, 2014). L'existence d'une seule population en France (Belz), amène également à s'interroger sur son degré de différenciation, écologique et génétique, suite à l'isolement.

Ce chapitre vise donc à répondre aux interrogations liées à l'écologie d'*Eryngium viviparum*. Dans un premier temps, la distribution biogéographique de la totalité des populations mentionnées depuis sa découverte, est étudiée, sachant qu'aucune synthèse de la totalité des populations de l'espèce n'avait encore été réalisée. La biogéographie est « l'étude de la répartition des êtres vivants et de l'organisation de leurs communautés à la surface du globe, ainsi que des facteurs et modalités de ces considérations spatiales et fonctionnelles » (Métailié & Da Lage, 2015). Les informations sur l'écologie d'*E. viviparum* ont ainsi été complétées afin d'évaluer son amplitude écologique et la distance écologique entre les populations en fonction des données climatiques et des informations floristiques. La taille de plusieurs populations a été estimée en parallèle, en tant qu'éventuel indicateur des préférences écologiques de l'espèce. D'après plusieurs études en théorie des niches, les populations situées au sein de l'optimum écologique de l'espèce sont en effet plus abondantes (Lesica & Allendorf, 1995 ; Martínez-Meyer *et al.*, 2013).

La différenciation écologique entre les populations a également été mesurée à travers l'étude de la morphologie des individus au sein de plusieurs populations géographiquement éloignées, dans l'hypothèse que la variation des traits phénotypiques est plus influencée par l'écologie que par la génétique, dû à l'éloignement entre les populations. Des corrélations entre les distances écologiques, morphologiques et génétiques ont été réalisées afin de vérifier cette hypothèse.

Ces différentes informations ont notamment pour objectif d'identifier les populations les plus proches écologiquement de la dernière population française, au cas où un renforcement génétique doit être envisagé. Utiliser des individus dont l'écologie est la plus proche des sites envisagés pour une réintroduction, est fortement recommandée pour éviter tout problème de maladaptation (Godefroid *et al.*, 2011a).

Par ailleurs, une étude de la répartition spatiale des individus, au sein de la population de Belz, a été réalisée afin de comprendre son fonctionnement écologique à plus fine échelle. Pour cela les effets de la topographie du site et des relations interspécifiques ont été évalués. Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau de submersion hivernale et du sol, ont également été mesurées. La localisation de la population dans un contexte urbanisé exige une surveillance de l'évolution trophique du milieu, afin de détecter l'apparition éventuelle d'une pollution qui pourrait favoriser une végétation compétitive.

1. BIOGÉOGRAPHIE ET DISTANCE ÉCOLOGIQUE ENTRE POPULATIONS

1.1. Matériel et méthodes

1.1.1. Répartition géographique

Une synthèse de la distribution des populations d'*Eryngium viviparum*, existantes ou éteintes, sur l'ensemble de son aire de répartition, a été réalisée à partir des données issues de la littérature produite dans le cadre du travail de conservation mené pour l'espèce en Europe (Rodriguez-Oubiña *et al.*, 1997 ; Romero *et al.*, 2004 ; Rodriguez-Gacio *et al.*, 2009 ; Rodriguez-Gacio *et al.*, 2009 ; Rivière in Magnanon *et al.*, 2013 ; Salvador *et al.*, 2014 ; Buján & Real, 2014 ; Rodríguez García *et al.*, 2015).

À partir de ces informations, une carte de répartition d'*Eryngium viviparum* a été élaborée à l'aide de QGIS v.3.2.3, en distinguant les populations éteintes et actuelles.

1.1.2. Variables environnementales

a. Variables bioclimatiques et altitudinales

Les données écologiques globales (bioclimat et altitude) de toutes les populations, actuelles ou disparues, ont été collectées selon leurs coordonnées géographiques, à partir de bases de données téléchargeables. 6 variables climatiques, moyennées sur 30 ans (1970-2000) ont ainsi été obtenues à partir de WorldClimV2 (Hijmans *et al.*, 2005 ; Trabucco & Zomer, 2009) et du Consortium for Spatial Information (CGIAR-CSI, Trabucco et Zomer, 2009) selon une résolution de 30 secondes d'arc, soit environ 1km à l'équateur. Les couches climatiques utilisées incluent : les températures moyennes annuelles (T_{MOY}), les moyennes des températures minimales au cours des mois les plus froids (T_{MIN}), les moyennes des températures maximales au cours des mois les plus chauds (T_{MAX}), le cumul de précipitations annuel (pp), ainsi que l'évapotranspiration annuelle potentielle (ETP). L'altitude de chaque population a été obtenue à partir du modèle numérique de terrain SMRT DEM v4.1 (Shuttle Radar Topography Mission, Jarvis *et al.*, 2016) selon une résolution de 3 secondes d'arc, soit environ 90m à l'équateur.

Les conditions climatiques des populations éteintes ont été considérées comme toujours favorables à la présence de l'espèce, leur disparition est récente, étant essentiellement liée à la destruction de l'habitat.

b. Analyse floristique

Sur l'ensemble des populations existantes, 9 ont fait l'objet de relevés phytosociologiques en août 2016 par Glemarec *et al.* (2017), basé sur la méthodologie sigmatiste (Guinochet, 1973 ; Géhu &

Rivas-Martínez, 1981 ; Géhu, 1986). L'échantillonnage comprend la population de Belz et plusieurs populations encore existantes de la péninsule ibérique, réparties parmi les différentes provinces (Lugo, Ourense, Bragança et Zamora). 2 à 3 relevés phytosociologiques ont été réalisés pour chacun des sites sur des aires homogènes d'un point de vue floristique, physionomique et écologique. Ces populations ont également fait l'objet d'une mesure du pH-eau du sol à l'aide d'un pH-mètre de précision 0.1.

Les données floristiques ont été complétées par des relevés plus anciens issus de la littérature scientifique (Clément & Touffet, 1983 ; Géhu & Bioret, 1992 ; Rodríguez-Oubiña *et al.*, 1997 ; Perrin & Magnanon, 2007 ; Géhu & Magnanon, 2008 ; Glemarec *et al.*, 2017). Ils concernent la station de Belz, une partie des populations ibériques prospectées ou non par Glemarec *et al.* (2017), ainsi que plusieurs populations morbihannaises aujourd'hui éteintes. Un total de 86 relevés concernant 19 populations a été analysé.

À partir de ces relevés, seules les données qualitatives de présence-absence de chaque espèce ont été utilisées car elles sont considérées, par certains auteurs, comme suffisantes pour caractériser les facteurs écologiques globaux (Gillet, 2000). De plus, les valeurs d'abondance-dominance sont influencées par la gestion des sites qui est hétérogène entre les différentes populations d'*Eryngium viviparum*. Les caractéristiques biologiques et écologiques de chaque espèce présente dans les relevés (chorologie, type biologique...) ont également été extraites, à partir de l'index botanique Baseflor (Julve, 2017), dans un objectif de comparaison entre les populations.

1.1.3. Évaluation de la taille des populations

Des comptages d'*Eryngium viviparum* sont réalisés chaque année pour la population de Belz, basés sur le nombre d'individus autonomes, tout stade confondu. Cependant aucune estimation n'a été proposée récemment pour les populations ibériques. La taille des 9 populations qui ont fait l'objet de relevés floristiques en août 2016 a été estimée en utilisant la surface occupée par *E. viviparum* et son abondance dans les relevés (Glemarec *et al.*, 2017) puis rapportée à l'une des 5 classes suivantes : 1 : <500 individus ; 2 : 500 à 2000 individus ; 3 : 2000 à 10000 individus ; 4 : 10000 à 50000 individus ; 5 : >50000 individus.



Figure 12. Caractères morphologiques mesurés pour une rosette adulte d'*Eryngium viviparum*. LM-f: Longueur maximum des feuilles. Lm-f: Largeur maximum des feuilles. LM-b : Longueur maximum des bractées. Lm-b: Largeur maximum des bractées. LM-bo : Longueur maximum des bractéoles. Lm-bo: Largeur maximum des bractéoles. NbF : Nombre de fleurs par capitule. N : niveau de dichotomie des inflorescences, avec N0 correspondant à l'inflorescence radiale.

Tableau 2. Liste des caractères mesurés par individu.

Caractères végétatifs	
Feuilles	- longueur
	- largeur
	- rapport longueur/largeur
Caractères floraux	
Bractées	- longueur
	- largeur
	- rapport longueur/largeur
Bractéoles	- longueur
	- largeur
	- rapport longueur/largeur
Inflorescences	Nombre de fleurs

1.1.4. Morphométrie

15 à 30 individus d'*Eryngium viviparum* ont été mesurés au sein des 9 populations évoquées précédemment, entre le 25 juillet et le 5 août 2016. Les individus ont été photographiés *in situ* « à plat » à côté d'une échelle millimétrée, et leurs caractères ont été mesurés à l'aide du logiciel ImageJ 1.50i (Rasband, 2012). 2 caractères végétatifs et 5 caractères floraux (Tableau 2) ont été mesurés par individu, en précisant le niveau de dichotomie (N0 à N2, Figure 12). Les individus échantillonnés étaient séparés d'au moins 2 mètres pour limiter la probabilité d'échantillonner un même individu génétique et seuls les individus matures ont été mesurés de manière à éviter un biais lié à l'âge.

1.1.5. Analyses statistiques

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée afin de visualiser les différences climatiques et morphologiques entre les groupes de populations d'*Eryngium viviparum*. Pour les données de végétation, la distribution des relevés en fonction des espèces a été étudiée à l'aide d'une analyse factorielle des correspondances (AFC).

Dans le but d'identifier les éventuelles différences morphologiques entre groupes géographiques, une comparaison multiple des caractères morphométriques a été réalisée à l'aide d'un test de Tukey.

Quatre matrices de distances par paires de populations et pour chaque modalité, ont été calculées à l'aide de la fonction « vegdist » du package « vegan » (Oksanen *et al.*, 2016 ; R Development Core Team, 2016) selon la méthode euclidienne pour les données géographiques, climatiques et morphologiques et selon la méthode de Jaccard pour les données de végétation. À partir de ces distances, les relations écologiques et morphologiques entre chaque groupe de populations ont été testées grâce à une analyse de similarité (ANOSIM) intégrée au package « vegan ». La corrélation entre chaque matrice de distance a également été testée à l'aide d'un test de Mantel.

Les populations étudiées ont également fait l'objet d'une comparaison génétique à travers l'utilisation de marqueurs microsatellites (cf. Partie III, chapitre 3), et la matrice des distances génétiques obtenues à partir des valeurs de $F_{ST}/1-F_{ST}$ a été utilisée afin de la comparer avec celle des distances morphologiques.

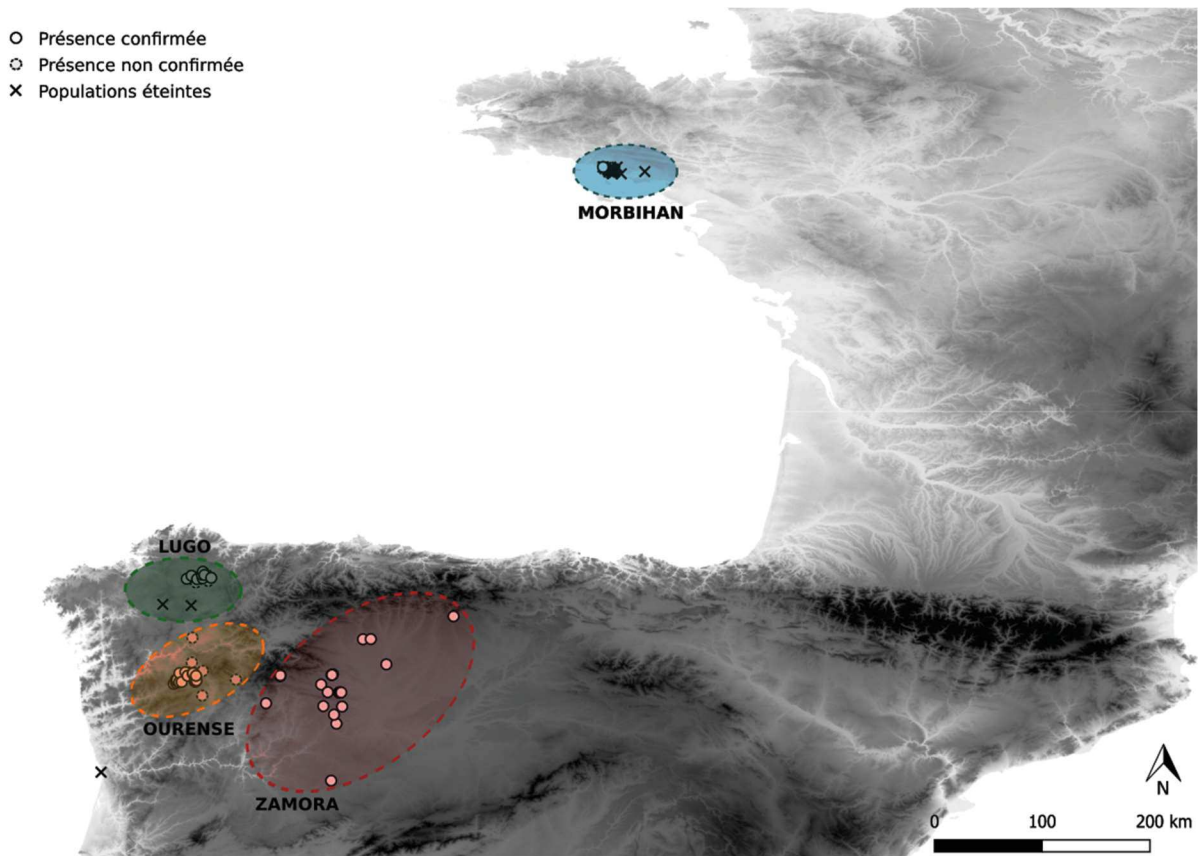


Figure 13. Localisation de l'ensemble des populations d'*Eryngium viviparum* actuelles et éteintes et groupes géographiques sur fond topographique.

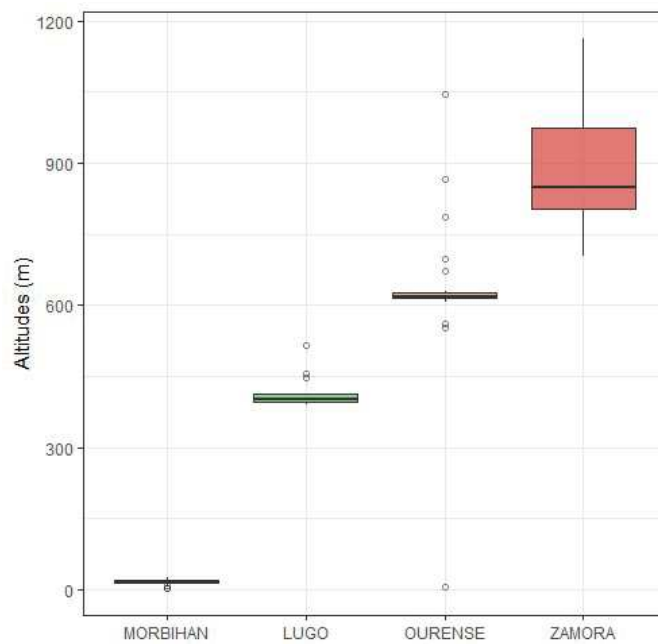


Figure 14. Amplitudes altitudinales d'*Eryngium viviparum* par groupe de populations.

1.2. Résultats

1.2.1. Biogéographie

a. Patron de répartition géographique

105 populations d'*Eryngium viviparum* ont pu être répertoriées au total, dont 50 ont été récemment confirmées comme toujours existantes. Elles sont réparties de manière fragmentée au sein de quatre groupes géographiques, séparés par une distance moyenne supérieure à 100 km (Figure 13, Tableau 3). Deux groupes apparaissent comme isolés géographiquement. Celui du MORBIHAN qui ne compte actuellement plus qu'une seule population, séparée des autres par le Golfe de Gascogne, soit à plus de 500 km. Cette population représente la limite nord absolue de la répartition d'*E. viviparum*. Le groupe de ZAMORA semble également isolé des autres par les Monts Cantabriques et Monts du Léon, et marque la limite sud de répartition de l'espèce en Europe.

Tableau 3. Caractéristiques des groupes de populations observées pour la répartition d'*Eryngium viviparum*

Groupe	Pays	Régions	Provinces	Nombre total de populations citées	Nombre de populations existantes confirmées après 2014
MORBIHAN	France	Bretagne	Morbihan	42	1
ZAMORA	Espagne, Portugal	Castille-et-Léon, Trás-os-Montes (Portugal nord)	Zamora, Bragança, León, Palencia, Salamanca	24	22
OURENSE	Espagne, Portugal	Galice, Grande Porto (Portugal nord)	Ourense, Porto	25	19
LUGO	Espagne	Galice	Lugo, A Coruña	16	8

Au sein des groupes MORBIHAN, LUGO et OURENSE les populations sont proches les unes des autres avec des moyennes de distances entre deux populations inférieures à 21 km. Au sein du groupe ZAMORA, les populations sont plus dispersées, dont certaines sont à l'écart, avec une distance moyenne de 65 km entre chaque station.

L'amplitude altitudinale où l'espèce a pu être observée est large, comprise entre 4 et 1162 m (Figure 14). Les valeurs les plus élevées s'observent à ZAMORA et les plus faibles dans le groupe du MORBIHAN.

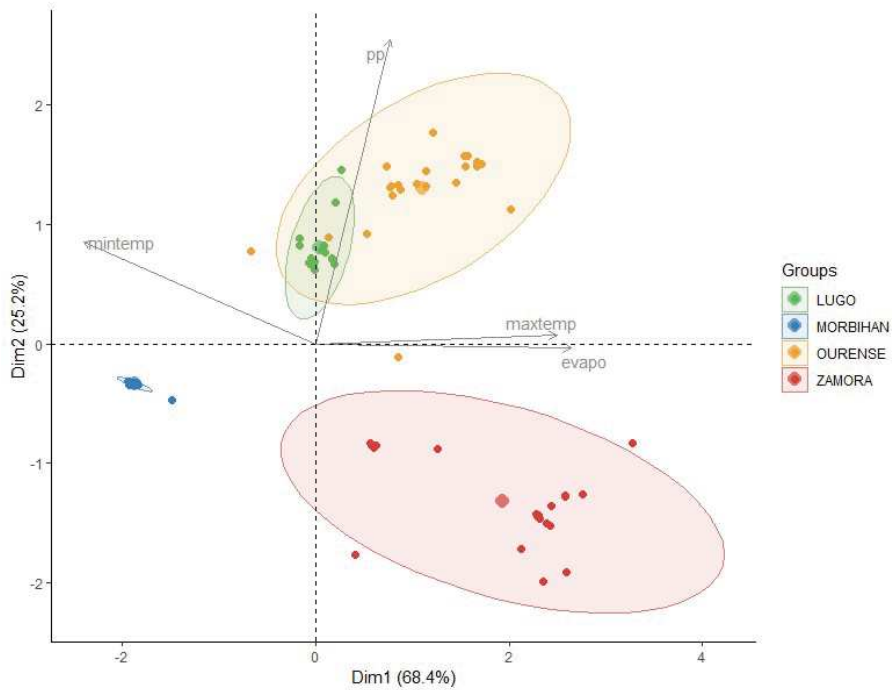


Figure 15. Répartitions des populations d'*Eryngium viviparum* en fonction des quatre variables climatiques étudiées (T_{MAX} , T_{MIN} , ETP, pp) selon les dimensions 1 et 2 de l'ACP.

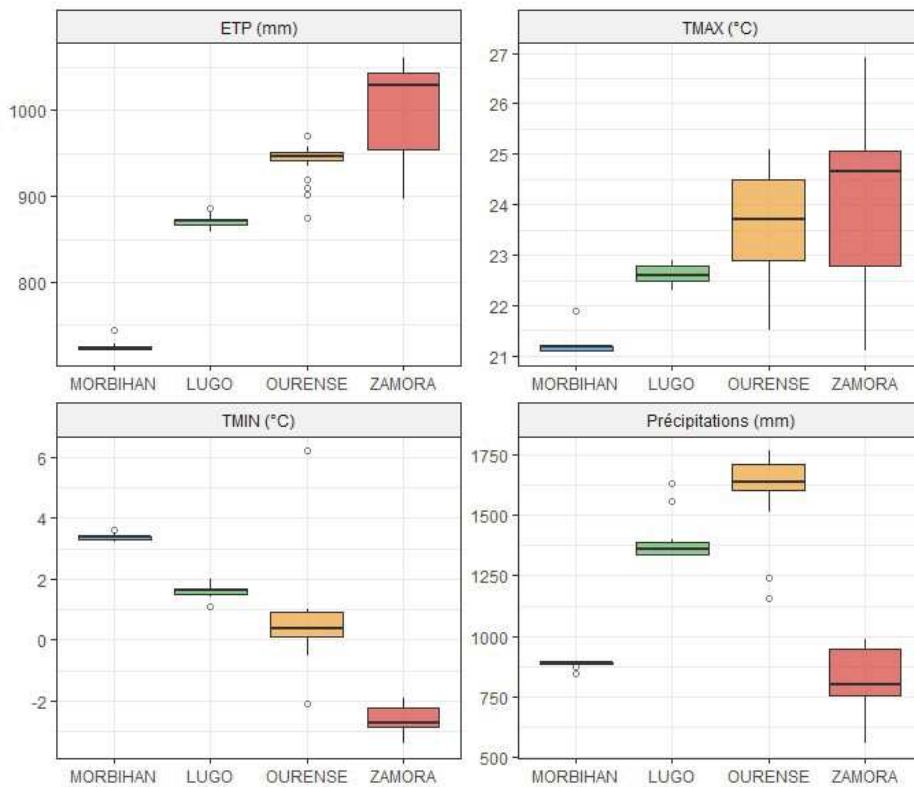


Figure 16. Amplitude des variables climatiques d'*Eryngium viviparum* par groupe de populations.

b. Amplitude climatique et distance entre populations

L'ACP réalisée à partir des données climatiques permet de distinguer les mêmes groupes que ceux définis par la distribution géographique, avec des distances significatives entre chaque groupe ($r > 0,75$; $p < 0,007$, Figure 15). Les distances écologiques entre populations sont également apparues positivement corrélées avec les distances géographiques ($r = 0,1$; $p = 0,001$).

Les deux groupes les plus éloignés géographiquement (ZAMORA et MORBIHAN) sont également les plus éloignés climatiquement. Ces populations représentent toujours une limite maximale ou minimale de l'amplitude de chacune des variables étudiées. Les groupes de LUGO et OURENSE occupent une situation intermédiaire dans l'amplitude climatique d'*Eryngium viviparum*, excepté pour le cumul des précipitations pour lesquelles ces populations présentent les valeurs maximales.

Les températures maximales des mois d'été (T_{MAX}) et l'évapotranspiration (ETP) varient respectivement entre 21,1 et 26,9°C et entre 720 et 1061mm. Leurs valeurs augmentent en fonction du gradient latitudinal nord-sud des populations. Les populations du groupe MORBIHAN représentent par conséquent la limite minimale de ces valeurs (Moyenne (T_{MAX}) = 21,2°C ; Moyenne (ETP) = 724mm), tandis que le groupe ZAMORA représente leur limite maximale (Moyenne (T_{MAX}) = 24°C ; Moyenne (ETP) = 1008mm, Figure 16). Ce groupe possède la plus large amplitude thermique annuelle, car il constitue également la limite minimale des T_{MIN} (Moyenne(T_{MIN}) = -2,6°C), dont les valeurs sont comprises entre -3,4°C et 6,2°C.

Le cumul de précipitations annuel varie de 557 à 1764 mm et les groupes MORBIHAN et ZAMORA présentent les valeurs les plus faibles (< 1000mm), tandis qu'OURENSE représente la limite maximale avec des valeurs supérieures à 1500mm (Figure 16).

1.2.2. Analyse floristique

Sur l'ensemble des populations d'*Eryngium viviparum*, 70 espèces végétales vasculaires ont été identifiées, la richesse spécifique variant de 5 à 18 selon les relevés. La matrice des distances exprimée par les données floristiques entre populations est apparue positivement corrélée avec celle des distances géographiques ($r = 0,49$; $p = 0,001$), mais non corrélée avec celle des distances climatiques ($r = 0,23$; $p = 0,02$).

L'analyse multivariée, permet d'identifier deux groupes de relevés (Figure 17). Le premier regroupe ceux réalisés au sein des populations du MORBIHAN et de LUGO, et les deux autres ceux des groupes de ZAMORA et OURENSE. Cette observation est appuyée par des distances significativement différentes entre chacun des groupes, à l'exception du couple MORBIHAN – LUGO ($r = 0,29$, $p = 0,023$).

La température semble être la variable la plus explicative de la répartition des relevés selon l'axe 1 et la pluviométrie celle de l'axe 2. Les groupements végétaux observés à ZAMORA et OURENSE sont caractérisés par l'apparition d'espèces à chorologie méditerranéenne non présentes dans les groupes de LUGO et du MORBIHAN, telles que *Lythrum borystenicum* (Schrank) Litv., *Mentha cervina* L., *Polypogon viridis* (Gouan) Breistr. ou *Pulicaria paludosa* Link.

En plus du cortège commun présent dans tous les groupes, notamment caractérisé par *Trocdaris verticillatum* (L.) Raf., *Ranunculus flammula* L., *Leontodon saxatilis* Lam., *Baldellia ranunculoides* (L.) Parl., *Juncus bulbosus* L. ou encore *Chamaemelum nobile* (L.) All., les groupes de LUGO et du MORBIHAN sont en plus caractérisés par la présence d'espèces atlantiques, telles qu'*Aristavena setacea* (Huds.) F.Albers & Butzin et *Eleocharis multicaulis* (Sm.) Desv., non observées pour les deux autres groupes.

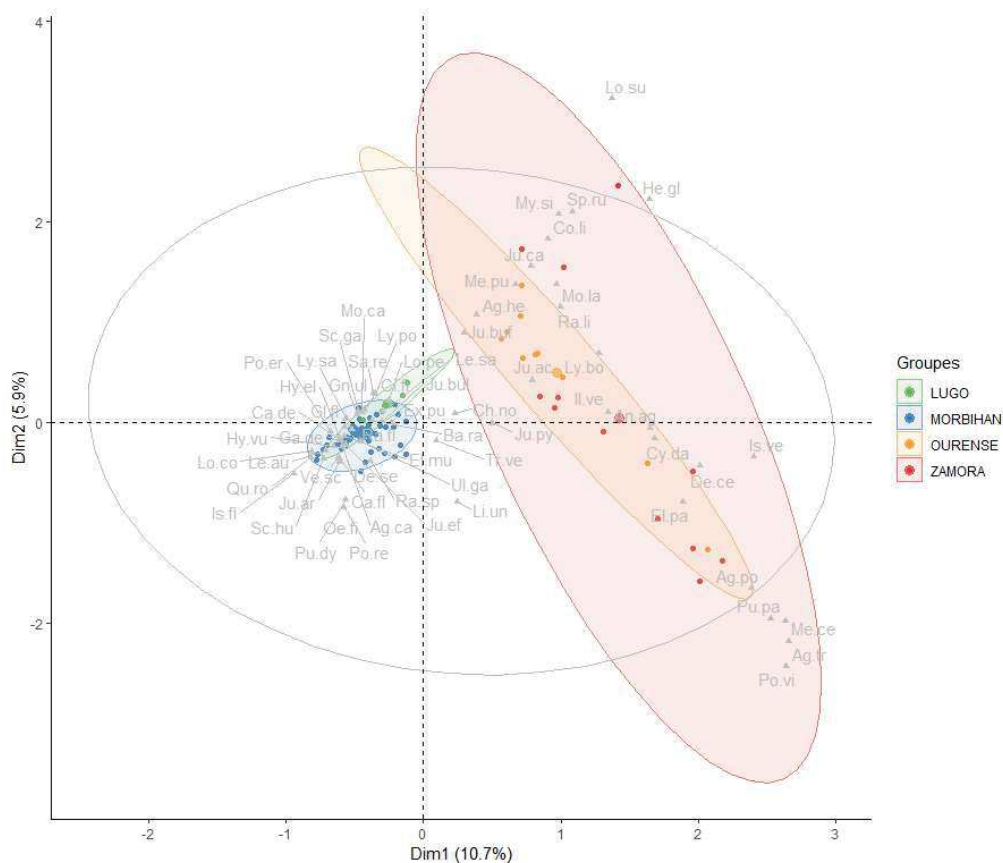


Figure 17. Distribution des relevés floristiques en fonction des espèces selon les axes 1 et 2 de l'AFC.

1.2.3. Taille des populations

La taille estimée des populations échantillonnées varie entre 500 et plus de 50 000 individus (Tableau 4). Les populations les plus abondantes sont celles de la province d'OURENSE avec toujours plus de 10 000 individus. Les deux populations les plus petites (<500 individus estimés) sont observées dans le groupe ZAMORA, qui comprend également une population dont l'effectif varie entre 2 000 et 10 000 individus. Les populations de LUGO ont des effectifs compris entre 500 et 10 000 individus, tandis que les comptages réalisés au sein de la dernière population ont permis d'évaluer ses effectifs aux alentours de 5 000 individus.

Tableau 4. Taille estimée des populations d'*Eryngium viviparum* étudiées.

Groupe	Population	Taille estimée
MORBIHAN	Belz	2 000 à 10 000 individus
LUGO	Fontefria	500 à 2 000 individus
	Lagoa Cospeito	500 à 2 000 individus
	Bexan	2000 à 10 000 individus
OURENSE	O Foxos	10 000 à 50 000 individus
	O Toxal	10 000 à 50 000 individus
	Cardeita	>50 000 individus
	Vilar de Gomareite	>50 000 individus
	Vilaseca	>50 000 individus
ZAMORA	Ferreira de abajos	2 000 à 10 000 individus
	Rio Negro del Puente	< 500 individus
	Bragança	< 500 individus

1.2.4. Morphométrie

Les longueurs et largeurs mesurées pour les bractées et les bractéoles sont apparues positivement corrélées avec le niveau de dichotomie. Seules les mesures réalisées au niveau N1 (Figure 12) ont par conséquent été prises en compte.

L'analyse multivariée réalisée sur l'ensemble des mesures morphologiques montre une agrégation des individus selon leur appartenance géographique (Figure 18). Cette observation est appuyée par l'analyse des similarités, significative entre chacun des groupes ($p < 0,002$), à l'exception des groupes de LUGO et ZAMORA ($r = 0,02$; $p = 0,33$). La proximité entre ces deux groupes semble expliquée par l'existence d'un sous-groupe d'individus originaires de LUGO présentant une morphologie proche de celle des individus de ZAMORA (Figure 18). Le groupe de LUGO, apparaît en effet comme le plus variable.

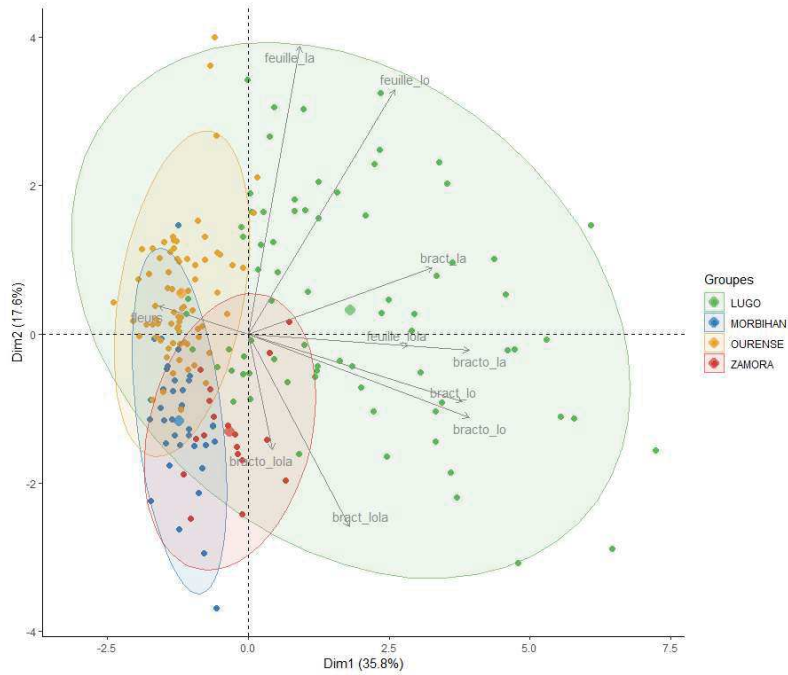


Figure 18. Variation des traits morphologiques entre les individus d'*Eryngium viviparum* parmi les quatre groupes géographiques, selon les axes 1 et 2 de l'ACP.

Tableau 5. Valeurs (en cm) des caractères morphologiques mesurés sur les individus d'*Eryngium viviparum* pour chaque groupe géographique. L. Longueur. I. largeur. L/I. rapport Longueur/largeur. Les lettres A, B, C et D, désignent les groupes statistiques par caractères, identifiés grâce au test de Tukey. Les groupes en vert correspondent aux groupes communs avec MORBIHAN pour chaque caractère.

Région	Feuilles			Bractées			Bractéoles			Fleurs
	L	I	L/I	L	I	L/I	L	I	L/I	Nb. par capitule
MORBIHAN	1,52 ±0,64 C	0,35 ±0,13 B	4,65 ±2,11 C	0,97 ±0,18 B	0,13 ±0,03 C	7,83 ±1,76 B	0,46 ±0,12 C	0,12 ±0,02 C	3,82 ±1,2 B	6,73 ±0,79 C
LUGO	2,86 ±1,67 A	0,42 ±0,15 A	7,11 ±3,96 A	2,39 ±1,55 A	0,3 ±0,15 A	8,08 ±3,76 B	0,64 ±0,26A	0,19 ±0,06A	3,48 ±0,85C	6,65 ±0,84 C
OURENSE	2,18 ±0,95 B	0,4 ±0,14 A	5,65 ±2,07 B	1,15 ±0,37 B	0,21 ±0,06 B	5,55 ±1,5C	0,4 ±0,13D	0,14 ±0,03B	2,87 ±0,72D	8,23 ±1,27A
ZAMORA	1,71 ±0,82 C	0,31 ±0,1 C	5,69 ±2,01 B	1,31 ±0,29 B	0,13 ±0,03 C	10,45 ±2,51A	0,55 ±0,14B	0,12 ±0,02 C	4,86 ±1,24A	7,14 ±1,02B

L'analyse multivariée révèle que les caractères qui contribuent majoritairement à différencier les individus pour l'axe 1 sont les largeurs et les longueurs des bractéoles (>80%), dont les valeurs moyennes par populations varient respectivement entre 0,39 à 0,89 cm et 0,11 à 0,29 cm, puis les largeurs et les longueurs des bractées (>70%), avec des valeurs comprises entre 0,99 à 3,40 cm et entre 0,12 à 0,41 cm. L'axe 2 apparaît corrélé avec les valeurs de longueur et de largeur des feuilles (>70%), dont les moyennes par populations varient de 1,47 à 3,43 cm et entre 0,26 à 0,51 cm.

Les individus originaires du MORBIHAN présentent plus de similarités morphologiques avec ceux de ZAMORA (Tableau 5). Ces deux groupes sont en effet caractérisés par des valeurs plus réduites pour la longueur et la largeur des feuilles (moyennes < 1,72 et 0,35 cm), la longueur (moyenne < 1,31 cm) et la largeur (moyenne = 0,13 cm) des bractées et pour la largeur des bractéoles (moyenne = 0,12 cm). Le groupe ZAMORA présente également le rapport longueur/largeur le plus élevé pour les bractéoles, attribué à leur faible largeur (moyenne = 0,12 cm), mais une longueur plus conséquente (moyenne = 0,55 cm). À l'inverse, le groupe de LUGO possède les valeurs les plus élevées pour les longueurs et largeurs des feuilles (moyenne = 2,86 et 0,42 cm), des bractées (moyenne = 2,39 et 0,3 cm) et des bractéoles (moyenne = 0,64 et 0,19 cm). Les individus d'OURENSE présentent une morphologie intermédiaire entre LUGO et les deux autres groupes. Ils sont cependant caractérisés par un nombre de fleurs par individu plus élevé, avec une moyenne de 8,23 entre les populations, tandis que celles des autres groupes varient entre 6,65 et 7,14 fleurs par capitule.

La matrice des distances morphologiques entre populations est apparue significativement corrélée avec celle des distances climatiques ($r=0,8$; $p=0,001$), mais non corrélée avec celles des distances basées sur les données géographiques, floristiques et génétiques ($p>0,324$).

2. APPORTS COMPLÉMENTAIRES À L'ÉCOLOGIE DE LA POPULATION DES QUATRE CHEMINS

2.1. Matériel et méthodes

2.1.1. Influence des facteurs écologiques sur la répartition des individus à l'échelle d'une population

a. Patron de distribution spatiale aux Quatre chemins

Au sein du site des Quatre chemins, la surface supposée favorable d'*Eryngium viviparum* a été parcourue selon un quadrillage de 5x5m, afin de géolocaliser les groupes d'individus. La répartition spatiale de l'espèce au sein du site a ensuite été cartographiée à l'aide du logiciel QGIS (QGIS Development Team, 2015).

b. Microtopographie

La microtopographie du site a été mesurée pendant la période d'inondation, en évaluant la hauteur du niveau d'eau tous les 25 cm le long de 50 transects parcourant le site. Le niveau zéro correspond au niveau de débordement de la mare lors de la période d'inondation. Les hauteurs de sol ont été calculées comme la différence entre la hauteur d'eau du point zéro et celles des points de mesures. Les hauteurs mesurées, associées aux coordonnées géographiques de chaque point, ont été interpolées selon la méthode du « Kriging » à l'aide du logiciel SURFER v.14, afin de générer un rendu cartographique.

c. Composition floristique et structure de la végétation

50 relevés de végétation, incluant systématiquement *Eryngium viviparum*, ont été réalisés au sein de la prairie des Quatre chemins. La liste des espèces présentes ainsi que leur pourcentage de recouvrement, le recouvrement total de la végétation et la hauteur moyenne de la végétation, ont été notés pour chaque relevé par quadrats de 20x20 cm. Les quadrats ont été répartis de manière à couvrir la majorité de l'espace colonisé et en tenant compte de la hauteur topographique.

2.1.2. Surveillance des paramètres de qualité environnementale

a. Caractéristiques physico-chimique du sol

L'analyse physico-chimique du sol a été réalisée à partir de 6 échantillons, prélevés de manière aléatoire sur le site. Chaque échantillon est composé d'un mélange de 3 points de prélèvements. Ils ont ensuite été divisés en 2 sous-échantillons lors des analyses. Les différentes variables étudiées

sont le pH, le taux de carbone organique (CO), l'azote total (N), le rapport C/N et le phosphore assimilable (P, Tableau 6).

b. Caractéristiques physico-chimique des eaux de submersion

L'analyse physico-chimique de l'eau de submersion hivernale a été réalisée au cours du printemps 2015. 10 échantillons ont été prélevés à Belz. Les variables physiques (pH, conductimétrie...) ont été mesurées directement sur le terrain à l'aide d'une sonde multiparamétrique (Multi 3430 SETG). Les analyses chimiques ont été réalisées en laboratoire après moins de 24h et ont permis de mesurer les taux d'orthophosphates, de nitrates, d'azote ammoniacal et la dureté de l'eau (Tableau 6).

Tableau 6. Paramètres physico-chimiques de l'eau de submersion et du sol, de la réserve des Quatre chemins (Belz, 56) et méthodes associées.

	Paramètres mesurés	Méthodes	Références
Sol	pH	pH-eau	<i>Mathieu et al. (2003)</i>
	Matière organique	Perte au feu	
	Phosphore "assimilable"	Extraction à l'acide citrique (Dyer, 1894)	
	Azote total	Minéralisation Kjeldhal et colorimétrie	
Eau de submersion	Orthophosphates	Dosage spectrométrique après coloration en présence de molybdate d'ammonium	<i>Rodier (1996)</i>
	Nitrates	Dosage spectrométrique après coloration en présence de salicylate de sodium	
	Dureté totale	Titrimétrie à l'EDTA	

2.1.3. Analyses statistiques

Des modèles en régression linéaire ont été appliqués afin de tester l'influence de la microtopographie sur l'ensemble des données de floristiques (diversité spécifique, hauteur de végétation, recouvrement total...), ainsi que sur l'abondance d'*Eryngium viviparum* et des autres espèces. De la même manière, les effets de la hauteur de végétation, du recouvrement ainsi que de leur interaction sur l'abondance d'*E. viviparum* ont été testés.

Les corrélations d'abondance entre chaque paire d'espèce ont été illustrées à l'aide d'une matrice et évaluées par un test de corrélation de Pearson.

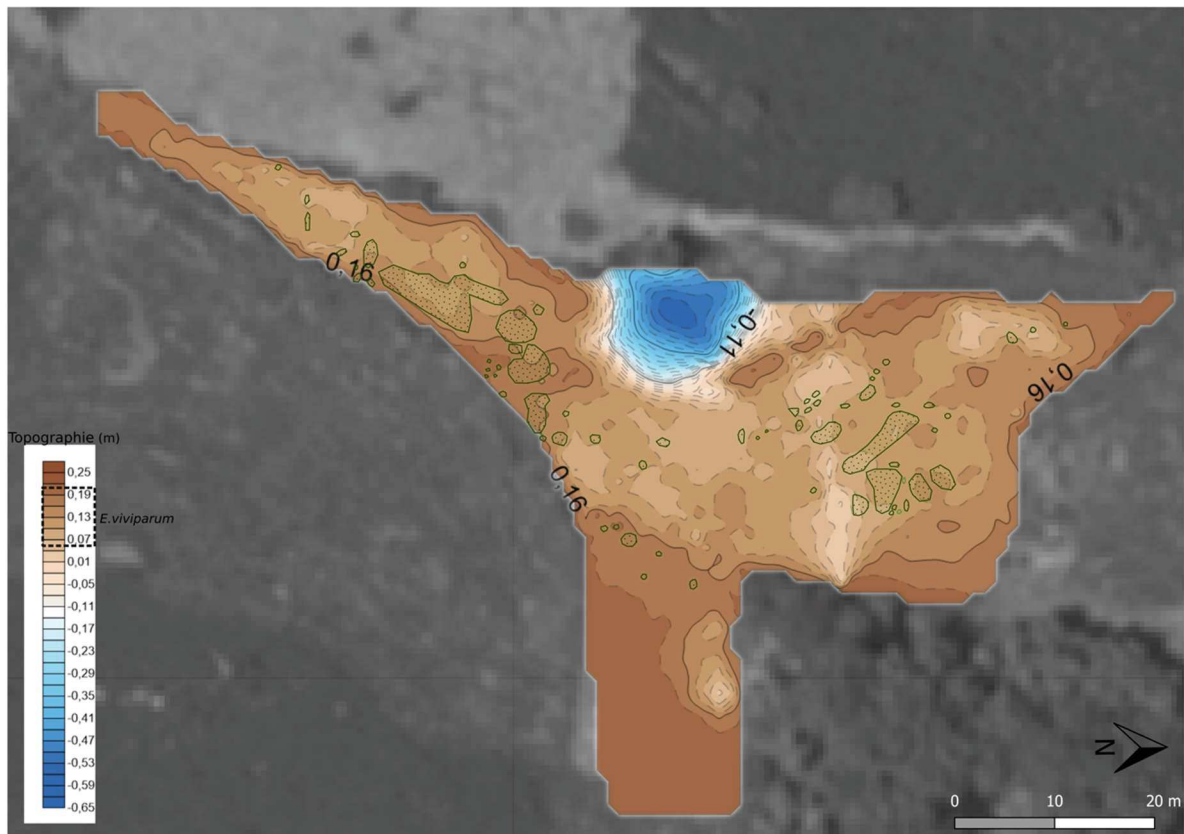


Figure 19. Répartition des patches d'*E. viviparum* (en vert) en fonction de la microtopographie au sein de la pelouse des Quatre chemins.

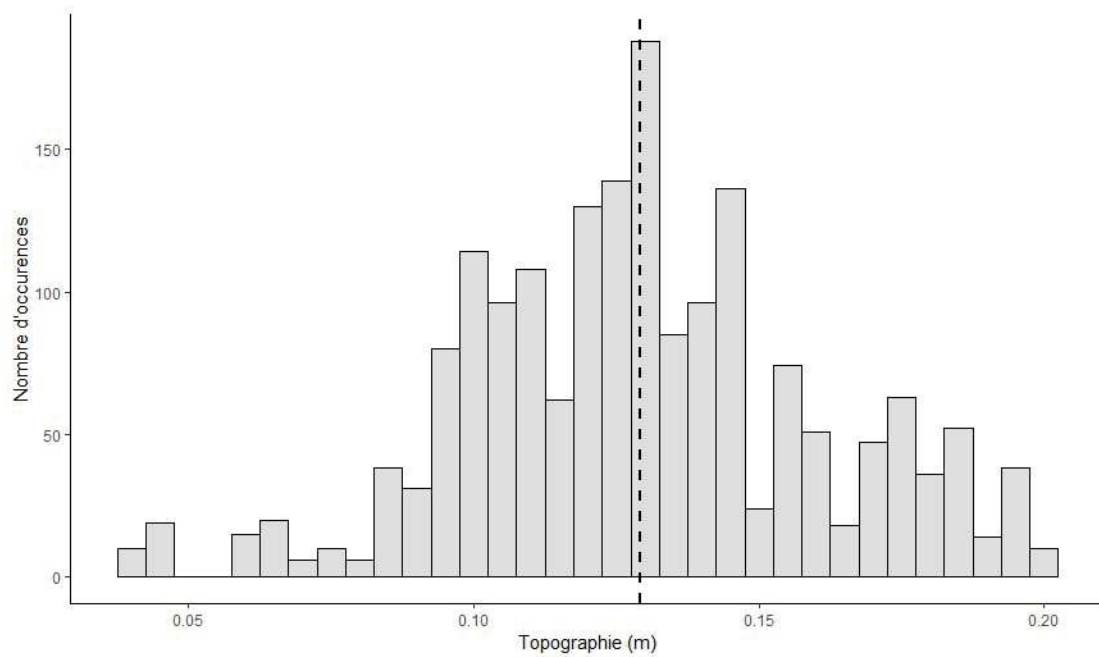


Figure 20. Occurrence des individus d'*E. viviparum* en fonction de la microtopographie.

2.2. Résultats

2.2.1. Patron de distribution aux Quatre chemins et microtopographie

Au sein du site des Quatre chemins, les individus d'*Eryngium viviparum* s'étalent sur une surface totale d'environ 113m² pour une surface favorable potentielle d'environ 1000m² (Figure 21). Ils se concentrent principalement par patchs de densité variable. Peu d'individus isolés sont observés. Les patchs s'observent en majorité sur les bandes étrepées entre 1999 à 2005, à l'exception du secteur le plus au sud, où de nombreux individus sont répartis le long d'un ancien chemin attribué au passage des génisses.

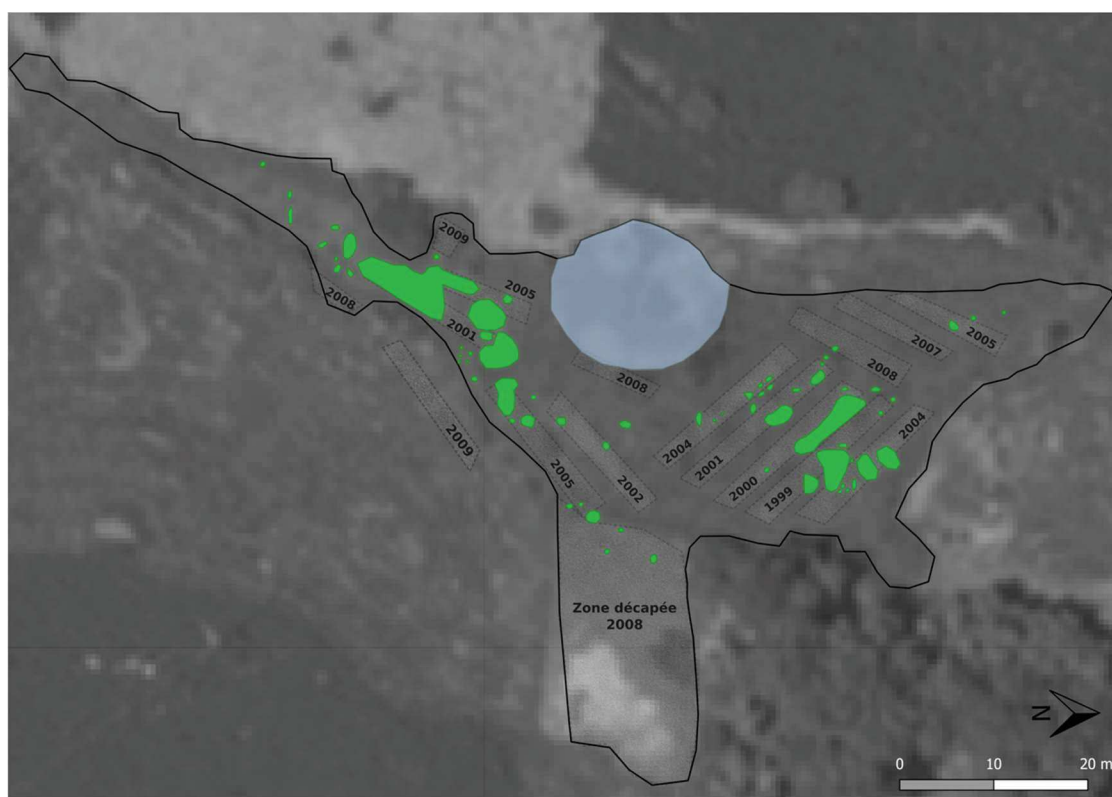


Figure 21. Distribution spatiale des patchs d'*Eryngium viviparum* (en vert) au sein des Quatre chemins et localisation des bandes étrepées créées par Bretagne Vivante d'après Magnanon *et al.* (2013) et de la zone décapée mécaniquement dans le cadre du Contrat Nature (Perrin & Magnanon, 2007).

La microtopographie du site varie de -55 cm, à partir du point le plus profond de la mare, jusqu'à 24 cm, correspondant aux limites de la pelouse où apparaissent les landes qui ne sont pas inondées l'hiver. *Eryngium viviparum* s'observe entre 4 et 20 cm, avec un pic de présence entre 9 et 15 cm (Figure 19 et Figure 20).

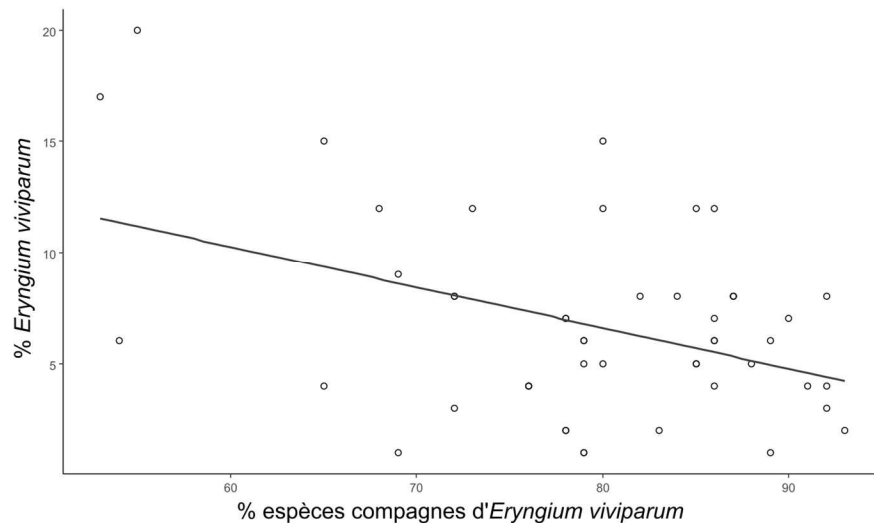


Figure 22. Abondance d'*Eryngium viviparum* en fonction du recouvrement par ses espèces compagnes aux Quatre chemins.

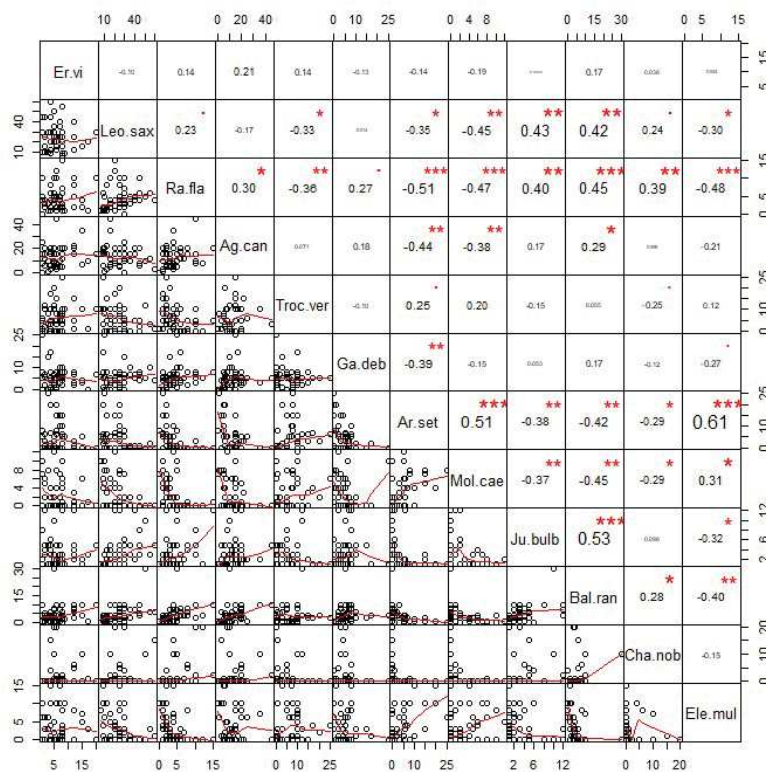


Figure 23. Matrice des corrélations d'abondances par paire d'espèces au sein des Quatre chemins. En bas à gauche : courbes de corrélation entre espèces deux par deux. En haut à droite : coefficients de corrélation associés aux courbes et niveau de significativité. * : $p < 0,5$. ** : $p < 0,01$. *** : $p < 0,001$. Er.vi. : *Eryngium viviparum*. Leo. sax. : *Leontodon saxatilis*. Ra. fla. : *Ranunculus flammula*. Ag. can. : *Agrostis canina*. Troc. ver. : *Trocdaris verticillatum*. Ga. deb. : *Galium debile*. Ar. set. : *Aristaena setacea*. Mol. cae. : *Molinia caerulea*. Ju. bulb. : *Juncus bulbosus*. Bal. ran. : *Baldellia ranunculoides*. Cha. nob. : *Chamaemelum nobile*. Ele. mul. : *Eleocharis multicaulis*.

2.2.2. Hétérogénéité spatiale de la végétation

La microtopographie n'a pas montré d'effet significatif sur le taux de recouvrement par la végétation dans les quadrats, ni sur la hauteur de végétation ($p > 0,8$). Cependant un léger effet est constaté pour de la richesse spécifique ($p = 0,015$) avec un nombre d'espèces qui augmente lorsque la microtopographie augmente.

Aucun effet linéaire significatif de la microtopographie, de la hauteur de végétation, de la richesse spécifique ou de leurs interactions n'a été décelé sur l'abondance d'*Eryngium viviparum* dans les quadrats ($p > 0,089$). Cependant, celle-ci montre une forte corrélation négative avec le recouvrement de l'ensemble des autres espèces végétales ($r = -0,42$; $p = 0,003$, Figure 22).

Les espèces compagnes d'*Eryngium viviparum* qui contribuent le plus au recouvrement sont *Leontodon saxatilis* Lam., *Ranunculus flammula* L., *Agrostis canina* L., *Trocdaris verticillatum* (L.) Raf., *Aristavena setacea* (Huds.) F.Albers & Butzin, *Molinia caerulea* (L.) Moench, *Juncus bulbosus* L., *Baldellia ranunculoides* (L.) Parl., *Chamaemelum nobile* (L.) All., et *Eleocharis multicaulis* (Sm.) Desv. Ces espèces sont présentes dans plus de 50% des quadrats et leur abondance peut dépasser 10%. Plusieurs corrélations significatives de l'abondance entre paire d'espèces ont été observées (Figure 23), ce qui permet d'identifier deux groupes.

Le premier regroupe les espèces *Leontodon saxatilis*, *Ranunculus flammula*, *Agrostis canina*, *Juncus bulbosus*, *Baldellia ranunculoides*, et *Chamaemelum nobile* qui sont toutes positivement corrélées entre elles. *Eryngium viviparum* semble s'intégrer dans ce groupe, mais son abondance n'est pas significativement corrélée avec celle des autres espèces ($p > 0,22$). Ce premier groupe d'espèces se rapporte principalement aux associations du *Deschampsio setaceae-Agrostietum caninae* (Lemée 1937) supposée la plus favorable pour *E. viviparum* (Magnanon *et al.*, 2013) et de *L'Eleocharitetum multicaulis* Allorge 1922 ex Tüxen 1937.

Le second groupe est constitué des espèces *Eleocharis multicaulis*, *Aristavena setacea*, *Molinia caerulea*, et *Trocdaris verticillatum*. L'abondance de ces quatre espèces est positivement corrélée entre elles, mais négativement corrélée avec les espèces du premier groupe. Ce groupe d'espèces se rapporte à l'association du *Deschampsio setaceae-Agrostietum caninae* (Lemée 1937), à l'exception d'*Eleocharis multicaulis* qui est habituellement caractéristique de *L'Eleocharitetum multicaulis* Allorge 1922 ex Tüxen 1937.

Cette organisation dans la végétation est en partie expliquée grâce à la microtopographie du site. L'analyse des courbes d'amplitude microtopographique de chacune des 11 espèces les plus représentées permet d'identifier à nouveau les deux groupes d'espèces (Figure 24). Les espèces du premier groupe, dont *Eryngium viviparum* montrent un pic d'abondance autour de la côte +10 cm. Les quatre autres espèces sont moins abondantes dans les quadrats, mais elles sont toutes vivaces et présentent une plus large amplitude pour le niveau topographique. *Trocdaris verticillatum* possède un pic d'abondance autour de la côte +12 cm, tandis que *Eleocharis multicaulis*, *Aristavena setacea*, et *Molinia caerulea*, possèdent un pic vers +19 cm de hauteur.

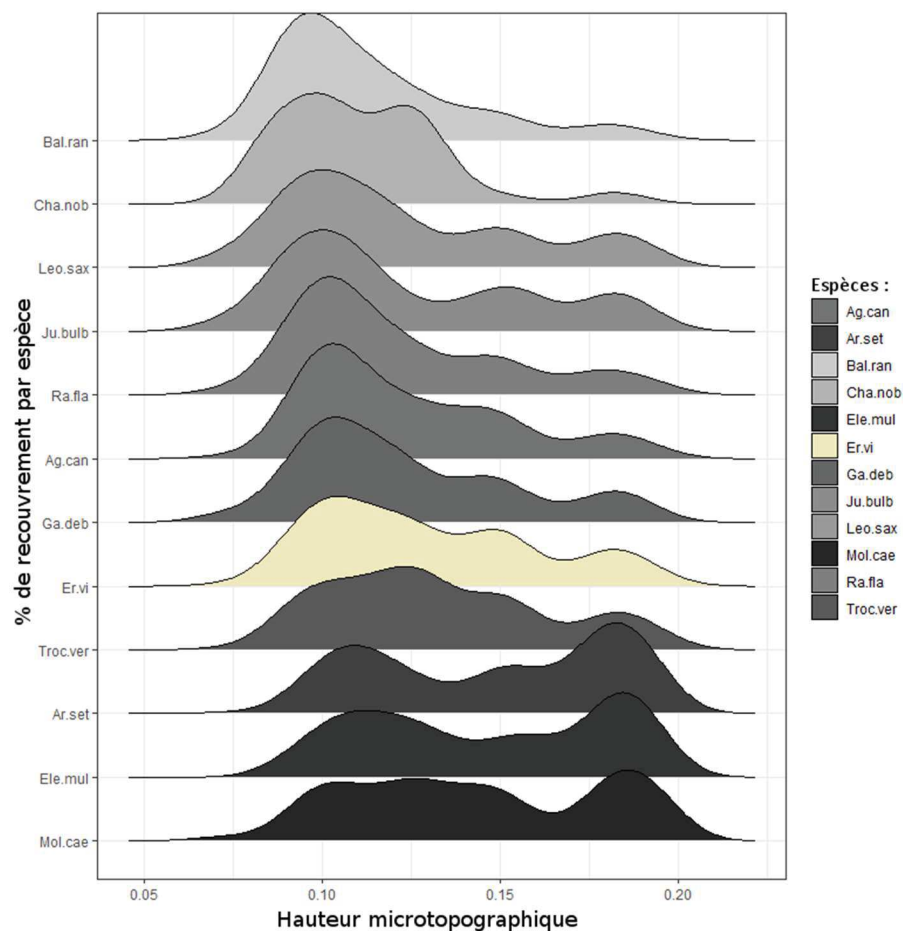


Figure 24. Répartition des espèces en fonction de la microtopographie du site des Quatre chemins. Er.vi. : *Eryngium viviparum*. Leo. sax. : *Leontodon saxatilis*. Ra. fla. : *Ranunculus flammula*. Ag. can. : *Agrostis canina*. Troc. ver. : *Trocdaris verticillatum*. Ga. deb. : *Galium debile*. Ar. set. : *Aristaena setacea*. Mol. cae. : *Molinia caerulea*. Ju. bulb. : *Juncus bulbosus*. Bal. ran. : *Baldellia ranunculoides*. Cha. nob. : *Chamaemelum nobile*. Ele. mul. : *Eleocharis multicaulis*.

2.2.3. Qualité de l'environnement

L'analyse physico-chimique de l'eau de submersion hivernale aux Quatre chemins met en évidence de faibles valeurs pour le phosphore qui varient de 0 à 0,3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (moyenne=0,21 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). L'azote total est également apparu très faible, avec des valeurs inférieures aux limites de détection.

Le pH mesuré approche la neutralité avec des valeurs comprises entre 7,14 et 7,7 (moyenne=7,4), et la dureté varie de 4 à 10 TH°F (moyenne=6TH°F), correspondant à une eau très douce.

Le sol apparaît également faible en nutriments avec des valeurs de phosphore et d'azote total qui varient respectivement entre 0 et 232 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ et entre 0,18 et 0,32%. Le taux de carbone organique est également bas avec des valeurs comprises entre 5 et 10%. Le rapport C/N montre des valeurs >20, qui indiquent une décomposition lente de la matière organique.

Les valeurs de pH mesurées pour le sol sont plus acides que celle de l'eau de submersion hivernale, avec des valeurs qui varient entre 4,92 et 5,7.

DISCUSSION

Eryngium viviparum présente une distribution naturellement fragmentée entre 4 groupes géographiques, accentuée par la destruction des habitats. Ce type de distribution est courant pour les espèces végétales rares (Bonnin *et al.*, 2002 ; Leimu & Mutikainen, 2005 ; Bossuyt, 2007 ; Dupont, 2015). D'après les distances (<100km), ainsi que les barrières géographiques (Golfe de Gascogne, Monts Cantabriques et Monts du Léon) qui séparent les groupes de populations d'*E. viviparum*, les possibilités de dispersion sont limitées, voire absentes. Ces derniers fonctionnent alors comme des métapopulations isolées (Templeton *et al.*, 1990).

L'espèce a montré une amplitude climatique large avec des conditions marquées entre chaque groupe de populations. L'isolement spatial est considéré comme le principal vecteur de différenciation génétique entre populations et métapopulations (Hutchinson & Templeton, 1999 ; Orsini *et al.*, 2013). La variation des conditions écologiques est également reconnue pour entraîner une spécialisation génétique des populations (Loveless & Hamrick, 1984a ; Doebeli & Dieckmann, 2003 ; Thompson *et al.*, 2005 ; Yardeni *et al.*, 2016). Une importante différenciation génétique est donc attendue entre les quatre groupes de populations d'*Eryngium viviparum*.

Cette observation concerne plus particulièrement la dernière population du Morbihan et celles de ZAMORA. Ces populations occupent une position périphérique dans l'aire de répartition d'*Eryngium viviparum* et sont les plus isolées géographiquement. Elles sont également soumises à des conditions climatiques et écologiques très différentes. La population du groupe MORBIHAN évolue sous un bioclimat tempéré hyperocéanique, tandis que le groupe de ZAMORA est caractérisé par un climat méditerranéen pluvieux océanique (Rivas-Martínez *et al.*, 2011). L'étude morphologique appuie cette différenciation. La population des Quatre chemins et celles de ZAMORA possèdent en effet des individus aux caractères plus réduits que ceux des autres populations (OURENSE et LUGO).

Cette différence de morphologie est apparue essentiellement corrélée avec les variables climatiques. La réduction des caractères végétatifs pourrait alors être une adaptation aux taux de précipitations plus faibles observés dans le MORBIHAN et à ZAMORA (<1000mm) entraînant une période d'inondation plus réduite. Ce type d'adaptation phénotypique est souvent observé chez les espèces végétales en réponse au stress hydrique (Levitt, 1980).

Dans le cas d'*Eryngium viviparum*, la morphologie ne serait donc pas un indicateur de différenciation génétique, contrairement à ce qui a été évoqué par Buján & Real 2014. La description d'une sous-espèce pour les populations de ZAMORA apparaît tout de même légitime vis-à-vis de la

différenciation écologique et morphologique de ces populations. Cependant en utilisant ces critères, la population des Quatre chemins pourrait également être considérée comme une sous-espèce.

Les populations de LUGO et plus particulièrement celles d'OURENSE apparaissent comme des intermédiaires pour les distances géographiques, écologiques et morphologiques. Elles sont respectivement soumises à un climat tempéré océanique et tempéré subméditerranéen (Rivas-Martínez *et al.*, 2011). Ces deux groupes de populations semblent présenter les conditions écologiques optimales d'*Eryngium viviparum*. C'est en effet dans ces populations qu'on retrouve les effectifs les plus importants, comme souvent observé pour des populations dites « centrales » (Eckert *et al.*, 2008). Cependant la taille des populations pour *E. viviparum* semble très influencée par la gestion des sites. Par exemple à OURENSE, au sein des populations les plus abondantes (>50 000 individus en 2016), les sites ont fait l'objet d'importants travaux de décapage du sol par les habitants, pour l'extraction d'argile (Glemarec, 2014). Cette mise à nu du sol sur de grandes surfaces profite à la colonisation d'*E. viviparum* qui apparaît majoritaire dans les relevés réalisés sur ces sites, jusqu'à plus de 50% (Glemarec *et al.* 2017). À l'inverse, la population des Quatre chemins présente une taille intermédiaire (>5000 individus en 2016), alors que les populations isolées et périphériques montrent généralement de faibles effectifs (Brown, 1984). Des exceptions sont tout de même mentionnées pour plusieurs espèces végétales (Van Rossum *et al.*, 2003 ; Kluth & Bruelheide, 2005). La progression et le maintien du nombre d'individus aux Quatre chemins sont potentiellement attribués à une gestion adaptée depuis 30 ans, qui pourrait avoir freiné la dynamique d'extinction attendue pour cette population isolée.

Les distances spatiales, écologiques et morphologiques observées entre les populations d'*Eryngium viviparum* laissent supposer une distance génétique équivalente. Une telle différenciation renforce la valeur conservatoire de l'espèce au sein de chaque unité géographique, et plus particulièrement celle de la population du MORBIHAN et celles de ZAMORA. Les populations périphériques constituent un fort potentiel évolutif à conserver (Lesica & Allendorf, 1995 ; Van Rossum *et al.*, 2003). Une importante différenciation peut, à terme, occasionner une spéciation (Givnish, 2010 ; Xu *et al.*, 2010).

Cependant, une forte distance entre les populations pourrait s'avérer problématique au cas où un renforcement génétique serait à prévoir dans le Morbihan. La dernière population risque de présenter un niveau de diversité génétique très faible à cause de son isolement. Les populations de LUGO sont apparues les plus proches en terme d'écologie, notamment avec la présence de communautés végétales proches de ce qui est observé aux Quatre chemins ou de ce qui était observé au sein des stations morbihannaises disparues (Glemarec *et al.*, 2017).

Sur le site des Quatre chemins, les effets du recouvrement et de la microtopographie ont été observés sur la répartition spatiale d'*Eryngium viviparum*. L'espèce n'est en effet pas présente sur toute la gamme microtopographique du site. Elle se développe majoritairement dans une gamme microtopographique comprise entre +9 et +15 cm. Aucune espèce en particulier ne semble agir de manière significative sur l'abondance d'*E. viviparum*. Cependant lorsque l'abondance des espèces *Aristavena setacea*, *Eleocharis multicaulis*, *Trocdaris verticillatum* et *Molinia caerulea* augmente, celle d'*E. viviparum* diminue. Ces espèces marquent un stade dynamique plus avancé de la pelouse, qui tend vers la prairie. Leur apparition semble expliquée par l'augmentation du niveau microtopographique qui agit également sur la durée de submersion saisonnière. Peu d'exemples de l'effet de la microtopographie d'un site sur l'assemblage de la végétation ont déjà été mentionnés dans les zone humides (Morzaria-Luna *et al.*, 2004 ; Larkin *et al.*, 2006 ; Moser *et al.*, 2009). Pour ces milieux la microtopographie reflète les conditions hydrologiques supportées par les individus (Pollock *et al.*, 1998 ; Bledsoe & Shear, 2000). Son hétérogénéité agit sur la diversité spécifique et l'abondance des espèces végétales qui montrent des préférences d'établissement en fonction de la hauteur (Vivian-Smith, 1997). Ces résultats expliquent notamment pourquoi *E. viviparum* n'est jamais réapparu sur la zone décapée créée à l'ouest de la réserve (cf. Partie I §2.2.3.b, Magnanon *et al.*, 2013) à l'exception d'une petite dépression (Sylvie Magnanon & Yvon Guillevic, comm. pers.).

En cas de restauration il apparaît donc préférable de favoriser une hétérogénéité microtopographique afin d'augmenter les chances d'obtenir des niveaux favorables à *Eryngium viviparum* et de favoriser la diversité spécifique. Les opérations de restauration habituelles par décapage génèrent souvent des conditions topographiques uniformes qui pourraient favoriser la prédominance d'espèces plus compétitives. Ces résultats confortent certains travaux de restauration de stations historiques d'*E. viviparum*, pour lesquels des marches topographiques avaient été créées dans l'objectif d'une future réintroduction (Perrin & Magnanon, 2007).

Concernant les caractéristiques physico-chimiques, les faibles teneurs en phosphore observées aux Quatre chemins confirment l'oligotrophie du milieu. Ces données suggèrent qu'aucun enrichissement n'a encore eu lieu sur le site, et serviront de référence afin de suivre son niveau trophique. Le pH du sol est cependant apparu plus acide que ce qui avait été mesuré dans le passé (Magnanon *et al.*, 2013), avec des valeurs comprises entre 4.9 et 5.7, et qui correspondent au pH mesuré pour l'ensemble des population d'*Eryngium viviparum* à l'échelle européenne, variant de 4.6 à 5.6.

PARTIE III. DYNAMIQUE DE LA DERNIÈRE
POPULATION *D'ERYNGIUM VIVIPARUM* EN FRANCE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

En complément des informations relatives à l'écologie, les questions liées à la génétique des populations ont été les premières à préoccuper les « conservationnistes » (Soulé, 1980). L'importance des facteurs démographiques a également été mise en exergue (Lande, 1988), considérant qu'ils agissent de manière plus directe sur la viabilité des populations.

Ces processus interagissent entre eux à travers des mécanismes intrinsèques et extrinsèques complexes, tel que le système de reproduction (Oostermeijer *et al.*, 2003). Leur étude simultanée s'avère primordiale pour appréhender le fonctionnement des populations et évaluer leur vulnérabilité, voire anticiper leur évolution (Frankham & Ralls, 1998 ; Menges, 2000 ; Washitani *et al.*, 2005).

Confrontée à un important isolement géographique, la seule population française d'*Eryngium viviparum* apparaît particulièrement sensible à l'extinction. Les espèces végétales dont les populations se développent dans des contextes similaires connaissent souvent une situation démographique moins stable que les populations « connectées », et ce, malgré les efforts de conservation (Peterson, 2001). Pour ces populations, les modèles théoriques prédisent une faible diversité génétique due à l'absence de flux de gènes et à la dérive génétique (Ellstrand & Elam, 1993 ; Lowe *et al.*, 2005). Une faible diversité allélique implique une diminution de la fitness des individus, occasionnée par l'augmentation des croisements consanguins et la perte d'adaptabilité face aux changements stochastiques (Lande, 1988 ; Reed & Frankham, 2003). Les populations deviennent alors plus sensibles au risque d'extinction (Gilpin & Soulé, 1986 ; Ottewell *et al.*, 2016).

Cette partie a pour principal objectif de comprendre le fonctionnement dynamique et d'évaluer la viabilité de la dernière population française d'*Eryngium viviparum*, à travers l'étude de son mode de reproduction, de sa démographie et de sa structure génétique. La combinaison de ces approches vise à apporter de nouveaux éléments sur la biologie de l'espèce ainsi qu'à contribuer à l'amélioration des actions de gestion et de conservation en sa faveur.

CHAPITRE 1. REPRODUCTION ET DÉMOGRAPHIE DE LA POPULATION FRANÇAISE D'*ERYNGIUM VIVIPARUM*

INTRODUCTION

La dynamique des populations s'intéresse d'une part aux mécanismes qui régulent les effectifs au sein d'une population, à travers les taux de recrutement (natalité, immigration) et de pertes (mortalité, émigration), et d'autre part, à l'influence des paramètres biotiques et abiotiques qui agissent sur ces événements démographiques (Figure 2, Schemske *et al.*, 1994). L'étude de la dynamique d'une population permet d'évaluer son risque d'extinction (Menges, 2000 ; Caswell, 2001), puis de guider et prioriser les mesures de gestion à appliquer pour sa conservation (Schemske *et al.*, 1994 ; Beissinger & Westphal, 1998 ; Bakker & Doak, 2009).

Les différents paramètres démographiques dépendent en premier lieu des traits d'histoire de vie propres à chaque espèce, tel que le mode de reproduction (Ohara *et al.*, 2006 ; Adler *et al.*, 2014 ; Visser *et al.*, 2016).

Les trajectoires démographiques des populations sont également très sensibles aux conditions écologiques environnantes, mais leur effet apparaît peu étudié (Crone *et al.*, 2011). La variation du climat et plus spécifiquement les épisodes climatiques extrêmes, agissent de manière importante sur la survie et la fécondité des individus chez les espèces végétales (Riba *et al.*, 2002 ; Nicolè *et al.*, 2011 ; Ulrey *et al.*, 2016). Les conditions environnementales à l'échelle d'une population agissent également sur ces paramètres, en déterminant la distribution spatiale des individus, et donc, les communautés végétales (Sterling *et al.*, 1984 ; Menges, 1992). Une influence de la compétition inter-espèces et de la topographie sur la démographie des populations, a par exemple été constatée (Fowler, 1988 ; Chambers *et al.*, 1990 ; Menges & Kimmich, 1996).

L'approche la plus employée actuellement pour l'étude de la dynamique d'une population est l'utilisation des modèles matriciels (Morris & Doak, 2002 ; Crone *et al.*, 2011). Pour les espèces végétales, plus de 400 études portant sur les modèles matriciels des populations ont été publiées, dont la moitié concernent les préoccupations liées à la gestion (Crone *et al.*, 2011). Basés sur la structure en âge, en taille, ou en stades ontogéniques (plantule, juvénile, adulte...) des individus, ces modèles permettent de déterminer le taux d'accroissement d'une population (λ) sur un pas de temps donné (Leslie, 1945 ; Lefkovitch, 1965 ; Usher, 1966 ; Caswell, 2001). Ils permettent également d'identifier les stades du cycle de vie les plus sensibles d'une espèce (analyse de sensibilité) et ceux qui ont le plus d'effet sur le taux de croissance de la population (analyse d'élasticité, Crone *et al.*,

2011; Silvertown *et al.*, 1996). Ces stades peuvent alors être considérés comme prioritaires pour les opérations de gestion.

Les modèles matriciels sont également utilisés dans le but de prédire l'évolution des populations (Brook *et al.*, 2000 ; Menges, 2000) face à un environnement aléatoire, ou en réponse aux changements environnementaux, notamment ceux induits par l'homme, tels que la destruction des habitats, le changement climatique, ou les diverses actions de gestion (Hutchings, 1991 ; Brook *et al.*, 2000). Ce type d'étude, pour être la plus informative possible, nécessite des suivis sur plusieurs années (Menges & Gordon, 1996). Elles impliquent un important effort d'échantillonnage et la mise en place de repères permanents sur le long-terme, ce qui n'est pas toujours réalisable. Les études sur le court-terme sont nombreuses (Crone *et al.*, 2011) et permettent tout de même de tester l'effet de plusieurs modalités écologiques et des régimes de gestion sur la structure dynamique et la viabilité d'une population (Bühler & Schmid, 2001 ; Hegland *et al.*, 2001 ; Hooftman & Diemer, 2002).

Dans le cas d'*Eryngium viviparum*, des informations plus précises que celles apportées par les mesures annuelles des effectifs de la population s'avèrent nécessaires. L'analyse démographique a donc été envisagée pour évaluer la viabilité de la dernière population française. Cette approche vise également à apporter une amélioration des connaissances sur la biologie et les préférences écologiques de l'espèce. Par exemple, identifier la part de la reproduction clonale dans la reproduction totale doit apporter des informations importantes sur le devenir de la diversité génétique (Ellstrand & Roose, 1987). Certaines études ont montré qu'une reproduction majoritairement clonale pouvait avoir des effets contrastés sur la démographie des populations (Pan & Price, 2001). D'une part, elle augmente la compétition intra-spécifique (Eriksson, 1992) et d'autre part elle occasionne une agrégation spatiale limitant les chances de croisements entre individus génétiquement distincts (Charpentier, 2001 ; Honnay & Bossuyt, 2005). En revanche, les individus clonaux ont généralement une capacité d'installation plus forte que les plantules issues des graines et permettent une utilisation plus efficace de l'environnement (Cook, 1985 ; Cain *et al.*, 1996 ; Silvertown, 2008).

Les facteurs écologiques exercent également un rôle déterminant sur le maintien des populations. Dans le cas d'*Eryngium viviparum*, il a rapidement été démontré l'importance d'un milieu ouvert pour sa survie (Magnanon *et al.*, 2013). La gestion apparaît donc prépondérante pour le maintien de la population aux Quatre chemins. L'effet du pâturage à l'échelle du cycle de vie d'*E. viviparum* nécessite d'être mieux compris afin d'ajuster la gestion, la pression de pâturage pouvant agir sur les paramètres de survie, de fécondité et de dispersion (Dyer *et al.*, 1993 ; Bullock *et al.*, 1994).

Par ailleurs, la reproduction constitue un des événements majeurs du cycle de vie d'une espèce végétale, notamment responsable de la structure génétique des populations (Hamrick *et al.*, 1979 ; Loveless & Hamrick, 1984b ; Hamrick & Godt, 1996). Celle-ci est en effet principalement dépendante du taux de fécondation croisée entre différents génotypes (*i.e.* allofécondation), qui affecte à la fois la diversité génétique intrapopulationnelle et la différenciation entre populations (Hamrick & Godt, 1989 ; Takebayashi & Morrell, 2001). Par exemple, les populations, dont le taux de croisements entre individus parents (*i.e.* autofécondation) devient majoritaire, subissent une diminution du taux d'hétérozygotes, susceptible d'engendrer une dépression de consanguinité (Lande & Schemske, 1985 ; Charlesworth & Charlesworth, 1987 ; Uyenoyama *et al.*, 1993). Le taux de consanguinité et le risque de dépression hybride apparaît donc étroitement dépendant du système reproducteur, associé à la capacité de dispersion de l'espèce, et agit indirectement sur la vigueur des populations (Cheptou, 2004).

Les stratégies de reproduction sont nombreuses chez les espèces végétales, et interagissent étroitement avec les facteurs biotiques et abiotiques qui affectent le succès reproducteur (Barrett, 1998). Chez les espèces auto-compatibles, l'équilibre entre autofécondation et allofécondation peut être modifié suite à des changements du contexte sous lequel la population évolue (Holsinger, 1986). Par exemple, une diminution de la taille des populations ou leur isolement augmentent les probabilités d'autofécondation et de croisement entre individus parents (Ward *et al.*, 2005 ; Aguilar *et al.*, 2006). D'autres conséquences négatives ont été observées sur le système reproducteur dans ces cas de figures, dont la limitation du flux de pollen (Aizen & Vazquez, 2006 ; Biesmeijer *et al.*, 2006 ; Steffan-Dewenter & Westphal, 2008 ; Hegland *et al.*, 2009). La diminution de l'efficacité de la pollinisation et de la reproduction sexuée peut également être associée au manque de pollinisateurs ou à leur changement de comportement dans un système réduit ou non connecté et par conséquent moins attractif (Inoue *et al.*, 1996 ; Steffan-Dewenter & Tschardtke, 1999). L'étude des modalités de reproduction et de dispersion, ainsi que des facteurs agissant sur le succès reproducteur, apparaît donc pertinente à intégrer dans les mesures de conservation (Godt & Hamrick, 1995).

Eryngium viviparum est une espèce hermaphrodite (Buord *et al.*, 1999) développant de nombreuses inflorescences, avec en moyenne 7 fleurs chacune (Magnanon *et al.*, 2013). Les fleurs comportent 5 étamines et 2 ovules, qui évoluent après fécondation et maturation en diakènes schizocarpes (Reduron, 2007 ; Wörz, 2012).

De précédentes études se sont intéressées au mode de reproduction sexuée d'*Eryngium viviparum*, démontrant l'existence d'un système autocompatible (Magnanon *et al.*, 2013). Cependant, la part de chacun des deux modes de reproduction sexuée, allofécondation et autofécondation, n'a pas encore été évaluée. Plusieurs observations ont suggéré un mécanisme de protandrie (Buord *et al.*, 1999 ; Reduron, 2007), visant à favoriser l'allo-fécondation. La répartition par patchs parfois denses, attribuée à l'importante reproduction clonale d'*E. viviparum*, peut favoriser la reproduction croisée, grâce à la proximité des individus (Karron *et al.*, 1995 ; Ramsey & Vaughton, 2000), mais aussi la limiter en augmentant la compétition entre eux (Larson & Barrett, 1999 ; Baker *et al.*, 2000).

Considérant la petite taille des fleurs d'*Eryngium viviparum*, une pollinisation anémophile semble peu probable. En revanche, chez les Apiacées, la production de nectar et la pollinisation par les insectes est régulièrement mentionnée (Bell, 1971). Ces espèces sont dans la plupart des cas autocompatibles (Bell, 1971), protandres (Lovett-Doust & Lovett-Doust, 1982 ; Perglová *et al.*, 2006) et principalement pollinisées par des hyménoptères (Reduron, 2007 ; Gaudeul & Till-Bottraud, 2008 ; Wörz, 2012). Concernant *E. viviparum* aucune étude ne s'est encore intéressée à l'identification des pollinisateurs. Des fourmis ont néanmoins été observées à plusieurs reprises sur les inflorescences (Yvon Guillevic, comm. pers.).

Dans cette partie, la démographie de la population française d'*Eryngium viviparum* a été évaluée afin d'identifier son fonctionnement global, ainsi que l'influence des caractéristiques de son habitat sur la croissance, la reproduction, et la survie des individus. Pour cela, les effets du pâturage et des hétérogénéités spatiales du site, telles que la microtopographie et le recouvrement par la végétation, ont été évalués. Une étude de la survie des graines *in situ* a été menée en parallèle, afin d'identifier la persistance des graines dans le sol.

Les résultats des évaluations annuelles d'effectifs réalisés par le gestionnaire de la réserve des Quatre chemins ont été étudiés en complément, afin de discuter de la stabilité de la population morbihannaise et d'identifier l'influence du climat et des changements majeurs (*i.e.* gestion) sur l'évolution de la population au cours des 15 dernières années.

Des pollinisations contrôlées ont ensuite été réalisées afin de compléter la compréhension du mode de reproduction sexuée d'*Eryngium viviparum*. Les insectes impliqués dans la pollinisation *in situ* ont également été identifiés.

1. DÉMOGRAPHIE

1.1. Matériel et méthodes

1.1.1. Suivis démographiques individuels aux Quatre chemins

30 quadrats permanents de 20x20 cm, séparés d'au moins 1m, ont été répartis sur la population présente aux « Quatre chemins » (Belz), à partir de juin 2015, peu après l'exondation du site. Tous les individus présents initialement ou apparus dans les quadrats ont été repérés de manière permanente et suivis individuellement de juin 2015 à juin 2017, à l'aide d'une nappe transparente. Face à l'importante reproduction clonale de l'espèce, il n'est pas possible de distinguer *in situ* les individus en tant qu'unité « génétique » (*i.e.* «genets », voir Kays & Harper, 1974 ; Cook, 1985). Pour cette étude, chaque individu suivi correspond donc à une rosette fonctionnelle indépendante ou potentiellement indépendante (*i.e.* « ramet »). Le stade de développement, la phénologie, la survie, ainsi que les différentes modalités de reproduction (nombre d'inflorescences, apparition des plantules ou des rosettes clonales) ont été relevés par individu à chaque visite.

Afin de suivre la phénologie des individus, 15 visites ont été réalisées entre juin 2015 à juin 2017, pendant la période d'exondation du site. Les relevés ont eu lieu tous les 15 jours la première année, puis une fois par mois l'année suivante.

1.1.2. Évaluation de la survie dans la banque de graines du sol

Afin d'évaluer la capacité de survie des graines d'*Eryngium viviparum* dans la banque de graines du sol, 20 sachets perméables, contenant 10 graines, ont été enterrés sous 5 cm de sol et déterrés après 6 mois, 1 an ou 2 ans. Les sachets ont été repartis à 6 endroits différents au sein des patchs de présence de l'espèce. Une fois déterrés, les fruits ont été observés sous loupe binoculaire pour en vérifier l'aspect général, puis les graines ont été mises à germer en boîte de Pétri à 15°C après plusieurs semaines de stockage au froid humide (4°C ; Gautier, 2013).

1.1.3. Mesure des variables environnementales

Afin de tester l'effet des variables stationnelles sur les paramètres démographiques, les quadrats de suivis démographiques individuels ont été répartis sur le site, de manière à pouvoir déterminer l'influence de trois principaux facteurs écologiques :

- Le niveau topographique : les quadrats ont été répartis parmi 4 classes topographiques (cf. partie II) : +6 à +10 cm ; +10 à +13 cm ; +13 à +16 cm ; et +16 à +19 cm.

- Le pâturage : un exclos expérimental a été mis en place fin 2014. Les quadrats ont ainsi été placés en zone pâturée (24 quadrats) ou non (6 quadrats), afin d'évaluer l'effet du pâturage appliqué depuis 2012 sur le fonctionnement de la population.

- La concurrence végétale : le pourcentage de recouvrement total par la végétation et celui d'*Eryngium viviparum* ont été précisés par quadrat et à chaque relevé. Trois classes de recouvrement ont été définies selon la moyenne de recouvrement annuelle : <60% ; 60 à 75% ; 75%.

L'effet du climat sur la variation des effectifs annuels d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins a également été évalué. Les données utilisées sont issues des comptages réalisés par le gestionnaire de la réserve depuis 1993 jusqu'à 2017 (Magnanon *et al.*, 2013 ; Yvon Guillevic, comm. pers.).

Les données climatiques étudiées correspondent aux moyennes annuelles entre 1993 et 2017 du cumul de précipitations, des températures minimales des mois les plus froids (T_{MIN}) et les températures maximales des mois les plus chauds (T_{MAX}). Ces données obtenues à partir de la base de données Météo France®, concernent la station météorologique d'Auray (56, n°56007001, 16 km du site d'étude et 26 m d'altitude).

1.1.4. Analyses statistiques

a. Influence des variables environnementales sur les paramètres démographiques

Les effets de l'année, de la gestion, du niveau microtopographique, et du taux de recouvrement par la végétation concurrente sur, la distribution en stades, la probabilité de survie et la reproduction, ont été testés pour chaque classe d'âge en appliquant une analyse GLM (modèle linéaire généralisé). La contribution de chaque facteur a ensuite été évaluée à l'aide d'une ANOVA (type II). L'effet « quadrat » a systématiquement été éliminé des modèles car non significatif. Toutes les autres variables ont été considérées comme des effets fixes.

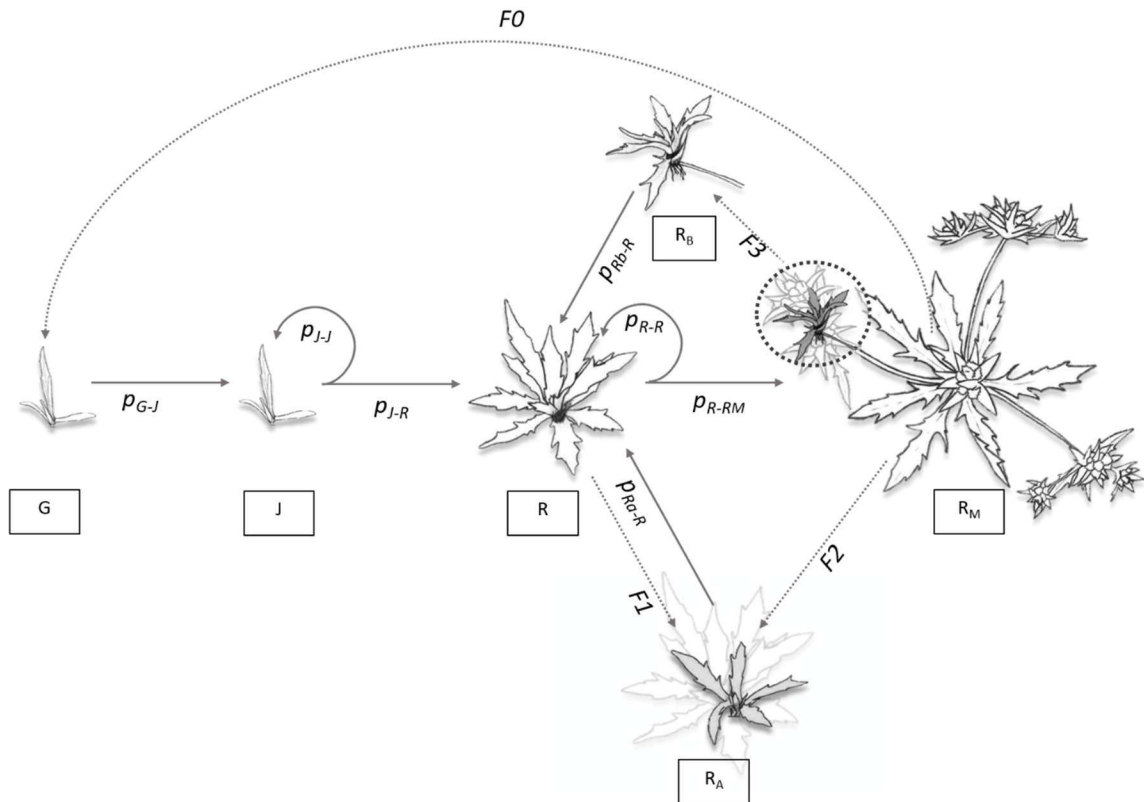


Figure 25. Cycle de vie d'*Eryngium viviparum* décomposé en 6 stades sur une période d'un an de juin n à juin $n+1$. Les flèches pleines et pointillées représentent respectivement les transitions possibles entre chaque stade, et les différents modes de reproduction. Les valeurs associées aux flèches correspondent aux probabilités de transition d'un stade à un autre, et aux indices de fécondité (voir texte pour formules). Toutes les rosettes en fleur meurent. Les 6 stades représentés sont : plantules (G), juvéniles (J), rosettes adultes (R), rosettes en fleur (R_M), rosettes clonales de type a (R_A), rosettes clonales de type b (R_B , voir texte pour détails). P. Probabilité de transition d'un stade à un autre. F_0 . Fécondité liée à la reproduction sexuée. F_1 à F_3 . Fécondités associées à la reproduction clonale.

b. Construction du cycle de vie d'*Eryngium viviparum* et analyses déterministes

Le cycle de vie d'*Eryngium viviparum* a été décrit à travers la construction d'un graphique (Figure 25), illustrant les probabilités de survie et de transition par stade des individus, ainsi que la fécondité (Hubbell & Werner, 1979). L'espèce étant considérée pérenne (Reduron, 2007), la population est apparue structurée en stades ontogéniques, facilement différenciables *in situ*. 6 stades ont ainsi été définis, aidé par les nombreuses observations réalisées *in situ* depuis 30 ans par le gestionnaire de la réserve des Quatre chemins (Yvon Guillevic, comm. pers.), et basés sur la morphologie des individus et leur maturité :

- [P] Plantules apparues au cours de l'année (2 cotylédons)
- [J] Juvéniles (<5 feuilles avec présence ou non des cotylédons)
- [R] Rosettes adultes végétatives
- [R_M] Rosettes adultes ayant fleuries dans l'année
- [R_A] Rosettes clonales se développant à l'aisselle des feuilles des pieds mères
- [R_B] Rosettes clonales se développant sur les tiges florifères (*i.e.* pseudoviviparité, Elmqvist & Cox, 1996).

Le stade « banque de graines » n'apparaît pas dans la construction du cycle de vie, celle-ci étant considérée comme transitoire. Les stades R_A, R_B ont été considérés comme pouvant soit mourir soit devenir des rosettes R non matures, avec l'hypothèse qu'ils aient la même probabilité de survivre et fleurir l'année suivante que des rosettes R issues de graines.

Le cycle s'étale sur un pas de temps de 1 an, de juin à juin. Cet intervalle de temps est apparu le plus pertinent, car il permet de prendre en compte la floraison des individus à t et $t+1$. Cependant cet intervalle n'inclut pas l'apparition des plantules et des rosettes clonales en fin de saison. Ces données ont été étudiées à part, afin d'estimer les paramètres de fécondité.

c. Calcul des probabilités de survie, transition et floraison

Une plante observée à un stade donné (G, J, R, ou R_M) peut soit rester au même stade, soit évoluer vers un autre stade, soit mourir au cours du pas de temps annuel. Aucune régression vers un stade antérieur n'a été observée pour *Eryngium viviparum*. La probabilité pour un individu de passer d'un stade à un autre, notée p , correspond à la proportion des individus d'un stade donné qui sont passés à un des stades supérieurs au cours de l'année.

d. Calcul de la fécondité sexuée et des fécondité clonales

Le taux de fécondité individuel associé à la reproduction sexuée a été calculée par quadrat comme le nombre de plantules ayant émergé en juin de l'année t+1, divisé par le nombre d'individus ayant fleuri au cours de l'année t :

$$F0 = \frac{\text{Nb de [G] en Novembre}}{\text{Nb de [Rm]}} \times \frac{\text{Nb de [G] en Juin (t+1)}}{\text{Nb de [G] en Novembre}}$$

Trois valeurs de fécondité associées à la reproduction clonale ont été calculées en considérant le nombre d'individus végétatifs présents dans les quadrats en juin de l'année t+1, divisé par le nombre d'individu parent aux stades R ou R_M :

$$F1 = \frac{\text{Nb de [Ra] en Novembre}}{\text{Nb de [R]}} \times \frac{\text{Nb de [Ra] en Juin (t+1)}}{\text{Nb de [Ra] en Novembre}} ;$$

$$F2 = \frac{\text{Nb de [Ra] en Novembre}}{\text{Nb de [Rm]}} \times \frac{\text{Nb de [Ra] en Juin (t+1)}}{\text{Nb de [Ra] en Novembre}} ;$$

$$F3 = \frac{\text{Nb de [Rb] en Novembre}}{\text{Nb de [Rm]}} \times \frac{\text{Nb de [Rb] en Juin (t+1)}}{\text{Nb de [Rb] en Novembre}}$$

e. Matrice de projection et analyses déterministes

Les 6 classes du cycle de vie d'*Eryngium viviparum* ont été représentées dans une matrice de transition de Lefkovitch, basée sur la classification des individus en stades (Lefkovitch, 1965), en regroupant les stades R, R_A et R_B (Figure 26). À partir des données démographiques collectées sur trois ans, quatre matrices ont été construites :

- M1 : Correspondant à la période de suivi entre juin 2015 et juin 2016, avec et sans pâturage.
- M2 : Correspondant à la période de suivi entre juin 2016 et juin 2017, avec et sans pâturage.
- M3 : Correspondant à la période de suivi entre juin 2015 et juin 2017, avec pâturage.
- M4 : Correspondant à la période de suivi entre juin 2015 et juin 2017, sans pâturage.

$$M = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & F_0 \\ \rho_{G-J} & \rho_{J-J} & 0 & 0 \\ \rho_{G-R} & \rho_{J-R} & \rho_{R-R} + F_1 & (F_2 + F_3) \\ 0 & \rho_{J-Rm} & \rho_{R-Rm} & 0 \end{bmatrix}$$

Figure 26. Matrice de transition de dimension 4x4 incluant les probabilités de transitions et valeurs de fécondités.

Les principaux paramètres démographiques ont été calculés pour chacune des quatre matrices à l'aide du package R « popbio » (Stubben & Milligan, 2007). Dans un premier temps, la plus grande valeur propre (λ) et ses deux vecteurs associés (\vec{w} et \vec{v}) ont été calculés. La valeur propre dominante correspond au taux fini d'accroissement de la population (λ), permettant d'évaluer la croissance démographique de la population à travers un seul paramètre. Une population est considérée comme croissante lorsque $\lambda > 1$, stable si $\lambda = 1$, et décroissante si $\lambda < 1$. Pour obtenir l'intervalle de confiance au seuil de 95% du λ , les transitions observées pour chaque individu ont été ré-échantillonnées 1 000 fois.

f. Effet des variations climatiques sur les effectifs annuels

L'effet des variables climatiques sur les effectifs a été étudié à partir de 2003. Les effectifs ayant été particulièrement influencés par les modifications dans la méthode de gestion entre 1993 et 2003.

Trois périodes critiques du développement d'*Eryngium viviparum* ont été étudiées, choisies par rapport à son cycle biologique et à plusieurs observations antérieures (Magnanon *et al.*, 2013) : le stress thermique hivernal (novembre à février) combiné à la durée d'inondation du site ; le stress hydrique estival (juin à septembre) ; et la période de germination (octobre et novembre). Pour chacune de ces périodes, l'effet des températures moyennes minimales (T_{MIN}), maximales (T_{MAX}) et le cumul des précipitations (pp) mensuelles de l'année en cours ou de l'année précédente ont été testés. L'effet de la date d'inondation hivernale a également été testé.

Une analyse de variance a été réalisée entre les variables environnementales et la variation des effectifs d'une année à l'autre, grâce à l'utilisation des modèles linéaires généralisés.

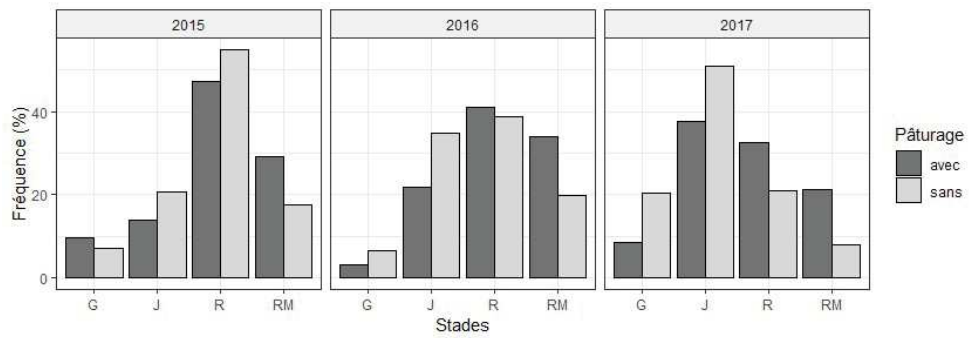


Figure 27. Distribution en stade d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins en présence et en absence de pâturage lors des mois de juin 2015, 2016 et 2017.

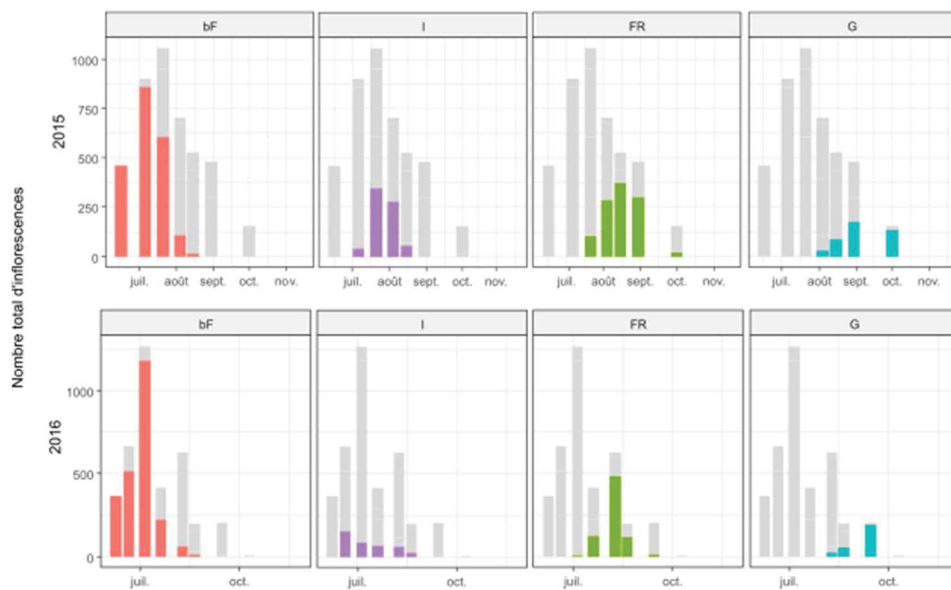


Figure 28. Nombre total d'inflorescences (barres grises) et par stades de développement floral en été 2015 et 2016. bF. Bourgeons floraux. I. Anthèse. FR. Fruits. G. Graines matures.

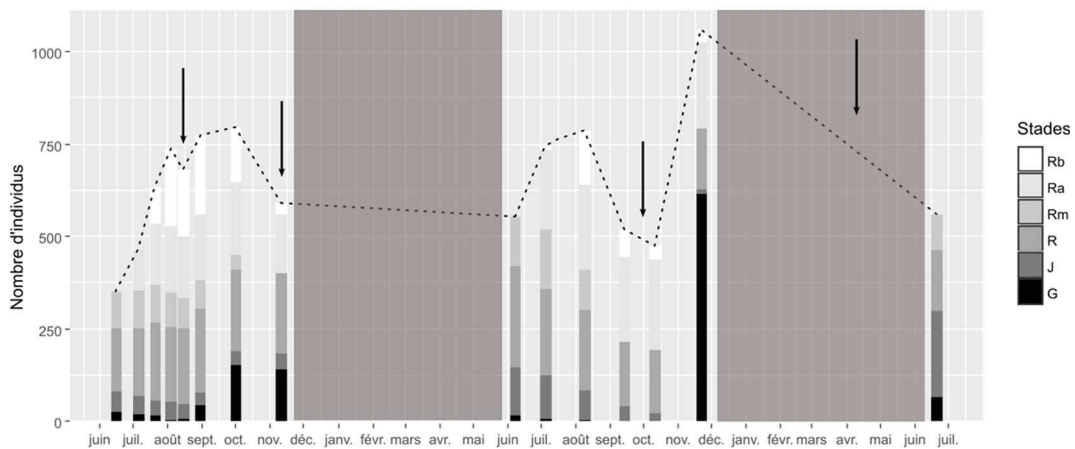


Figure 29. Variation des effectifs totaux et par stade ontogéniques d'*Eryngium viviparum* entre juin 2015 et juin 2017. Les flèches indiquent les périodes de mortalités identifiées au cours de l'étude.

1.2. Résultats

1.2.1. Distribution des stades

404 individus ont été suivis entre juin 2015 et juin 2016, puis 566 entre juin 2016 et juin 2017. L'année a montré un effet significatif sur la distribution en stades des individus ($p < 0,00002$, Figure 27). Les individus adultes, matures ou non, étaient plus abondants ($>60\%$) lors des relevés effectués en juin 2015 et 2016, tandis que les stades plus jeunes (G et J) étaient peu représentés ($<40\%$). En juin 2017, la tendance s'est inversée avec un taux d'individus aux stades G et J supérieur à 45% . Un effet significatif du pâturage a également été observé avec l'augmentation du nombre de plantules et de juvéniles en absence de pâturage ($p < 0,03$, Figure 27). Le recouvrement et le niveau topographique n'ont pas montré d'effet sur la distribution en stades de la population ($p > 0,05$).

1.2.2. Phénologie

Lors des années 2015 et 2016, les premières inflorescences se sont développées très rapidement après l'exondation. Un maximum de 1057 inflorescences ont été observées au cours de l'été 2015, puis 1250 en 2016 (Figure 28). Le stade anthèse est court, avec un pic observé à la mi-juillet sur les deux années.

Malgré le nombre important d'inflorescences qui se sont initialement développées, peu ont atteint la fructification (35% en 2015 et 38% en 2016, Figure 28). Les premières graines matures sont apparues début août, et la majorité des plantules au cours l'automne (90% en 2015 et 2016), contre quelques-unes au printemps suivant.

Les rosettes adventives qui se forment au niveau des pieds mères R_A sont apparues dès l'exondation, et celles qui se forment sur les tiges florifères R_B se sont développées à partir de juillet. En 2015 et en 2016, plus de 90% des rosettes adventives R_A se sont développées à partir des rosettes matures (R_M), tandis que la production des R_A à partir d'individus non matures R est rare ($<10\%$).

La variation des effectifs au sein de l'échantillonnage démographique (Figure 29), entre 2015 et 2016 met en évidence deux périodes de mortalité annuelles. En 2015, une légère chute des effectifs est observée au cours de l'été, et une plus importante en novembre avant l'inondation hivernale. En 2016 une importante mortalité est observée pendant l'été (juillet à septembre), puis pendant la période d'inondation, tardive cette année-là (décembre à juin).

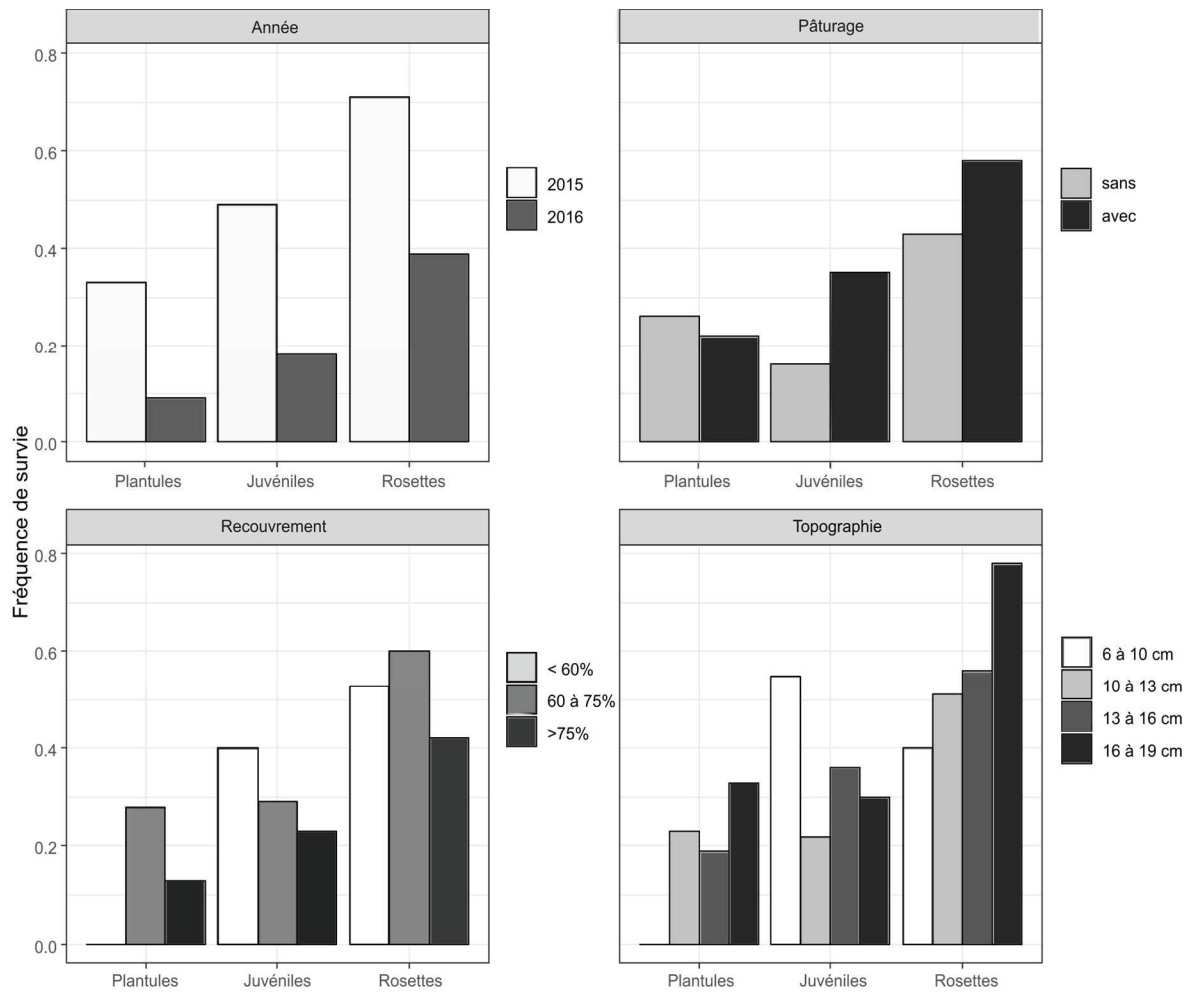


Figure 30. Survie d'*Eryngium viviparum* par stades en fonction de l'année, du pâturage, du niveau topographique, et du recouvrement végétal.

1.2.3. Effet des variables environnementales sur la survie

Le stade rosettes adultes (R) est celui qui a montré les taux de survie les plus importants pour chaque année d'étude (71% en 2015 et 31% en 2016), et les plantules ont montré les taux de survie les plus faibles (33% en 2015 et 9% en 2016, Figure 30). Un important effet de l'année a été détecté sur les taux de survie ($Pr < 0,004$, Tableau 7), avec une meilleure survie entre juin 2015 et juin 2016 (Figure 30). Le taux de recouvrement et le niveau microtopographique ont montré un effet significatif sur la survie des rosettes et des juvéniles ($Pr < 0,03$). Les taux de survie sont apparus plus faibles lorsque le recouvrement du sol par la végétation dépasse 75% (Figure 30) et plus élevés pour le niveau microtopographique le plus haut (>16cm), sauf pour le stade juvénile où la fréquence des survies est plus élevée au niveau le plus bas (<9cm). L'effet du pâturage est apparu significatif sur la survie des rosettes adultes ($Pr = 0,014$, Tableau 7), avec une meilleure survie en zone pâturée (Figure 30).

Tableau 7 : Effet des variables environnementales sur la survie des différents stades d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins. Les valeurs en gras montrent un effet significatif.

Variables	Plantules			Juvéniles			Rosettes		
	df	LR chisq	Pr	df	LR chisq	Pr	df	LR chisq	Pr
Année	1	8,13	4,37E-03	1,00	23,08	1,56E-06	1,00	63,00	2,06E-15
Recouvrement	2	4,96	0,084	2,00	7,82	0,020	2,00	10,40	5,50E-04
Pâturage	1	0,85	0,358	1,00	3,04	0,081	1,00	5,96	0,014
Microtopographie	3	2,43	0,487	3,00	8,46	0,037	3,00	24,34	2,11E-05

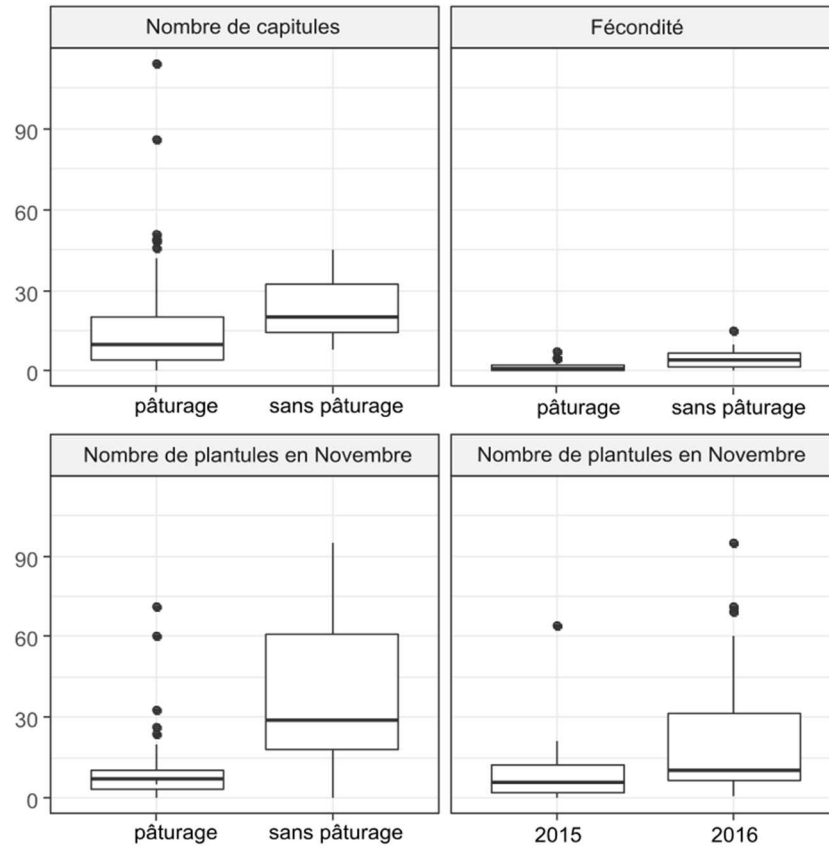


Figure 31. Variation de la fécondité F_0 , du nombre de capitules et du nombre de plantules en fonction du pâturage et de l'année.

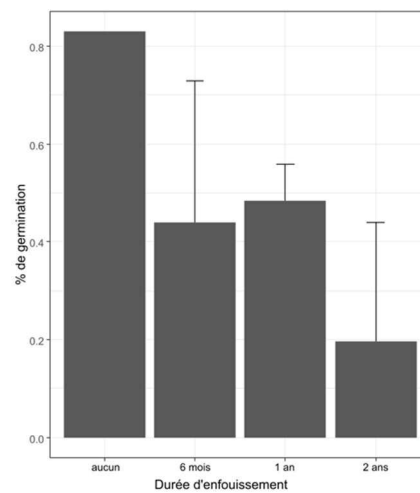


Figure 32. Taux de germination des graines d'*Eryngium viviparum* après six mois, un an, puis deux ans d'enfouissement dans le sol.

1.2.4. Reproduction

34%, 43% et 38% des rosettes adultes R ont fleuri respectivement en 2015, 2016, et 2017, sur l'ensemble de l'échantillonnage (Figure 31). Le niveau topographique, le taux de recouvrement, ou le pâturage n'influencent pas la probabilité de floraison des rosettes R ($p > 0,05$).

Un effet significatif du pâturage est apparu sur le nombre de capitules, le nombre de plantules, et les valeurs de fécondité F_0 ($p < 0,01$, Tableau 8). Une moyenne de $4,54 \pm 4,92$ plantules par quadrat est apparue en zone non pâturée contre $1,57 \pm 1,53$ en zone pâturée (Figure 31). Le nombre de capitules est également plus élevé en absence de pâturage (Figure 31).

Un effet de l'année a été détecté sur le taux de germination en automne ($p < 0,001$), avec un nombre plus important de plantules apparues en automne 2016 (Figure 31), expliquant le taux important de juvéniles observé en juin 2017 (Figure 27).

Aucun des facteurs environnementaux étudiés n'est apparu significatif sur la reproduction clonale ($p > 0,09$)

Tableau 8. Effet des variables environnementales sur les paramètres liés à la reproduction sexuée. Les valeurs en gras indiquent un effet significatif.

Variables	Fécondité (F_0)			Nombre de capitules par quadrat			Nombre de plantules observées en novembre		
	df	LR chisq	Pr	df	LR chisq	Pr	df	LR chisq	Pr
Année	1	0,11	0,73	1	0,94	0,33	1	9,90	<0,001
Recouvrement	2	0,73	0,69	2	2,83	0,24	2	2,34	0,31
Pâturage	1	14	<0,001	1	3,89	<0,05	1	28,92	<0,001
Microtopographie	3	0,59	0,90	3	4,61	0,20	3	3,21	0,36

1.2.5. Évaluation de la survie dans la banque de graines du sol

Avant l'enfouissement dans le sol au sein du site des Quatre chemins, le taux moyen de germination du lot de graines utilisées avait été évalué à 83%. Après 6 mois passées dans le sol, ce taux a chuté à $44\% \pm 28\%$ (Figure 32), puis n'a pas évolué pendant les six mois suivant ($48\% \pm 7\%$).

Après 2 ans passé dans le sol, les graines ont montré un taux moyen de germination inférieur à 20%, suggérant une banque de graines transitoire pour *Eryngium viviparum* aux Quatre chemins (Moles *et al.*, 2000).

1.2.6. Taux de croissance asymptotique

Pour la période 2015-2016, le taux de croissance de la population apparaît supérieur à 1 ($\lambda=1,09$, IC 95%=[0,96-1,33], Tableau 9). Entre 2016 et 2017, le λ est nettement plus faible avec une valeur de 0,54 (IC 95% = [0,42-0,67]), ce qui indique une chute des effectifs d'environ 50%.

Sur l'ensemble de la durée de l'étude (*i.e.* juin 2015 à juin 2017), le λ est apparu plus élevé en zone pâturée ($\lambda=0,83$, IC 95% = [0,73-0,93]) qu'en zone non pâturée ($\lambda=0,68$, IC 95% = [0,50-0,89], Tableau 9).

Tableau 9. Matrices de transitions et taux d'accroissement de la population des Quatre chemins

Modalités	Matrices de transition	λ [IC 95%]
Année 2015 (avec et sans pâturage)	$M1 = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 2,06 \\ 1,17 & 0,03 & 0 & 0 \\ 1,17 & 0,38 & 0,31 & 1,6 \\ 0 & 0,08 & 0,41 & 0 \end{bmatrix}$	1,09 [0,96-1,33]
Année 2016 (avec et sans pâturage)	$M2 = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 1,71 \\ 0 & 0,01 & 0 & 0 \\ 0,09 & 0,15 & 0,26 & 0,78 \\ 0 & 0,02 & 0,15 & 0 \end{bmatrix}$	0,54 [0,42-0,67]
Années 2015 et 2016, avec pâturage	$M3 = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 1,39 \\ 0,05 & 0,02 & 0 & 0 \\ 0,17 & 0,28 & 0,30 & 1,15 \\ 0 & 0,05 & 0,30 & 0 \end{bmatrix}$	0,83 [0,73-0,93]
Années 2015 et 2016, sans pâturage	$M4 = \begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 3,9 \\ 0,22 & 0,01 & 0 & 0 \\ 0,05 & 0,12 & 0,25 & 0,86 \\ 0 & 0,02 & 0,20 & 0 \end{bmatrix}$	0,68 [0,50-0,89]

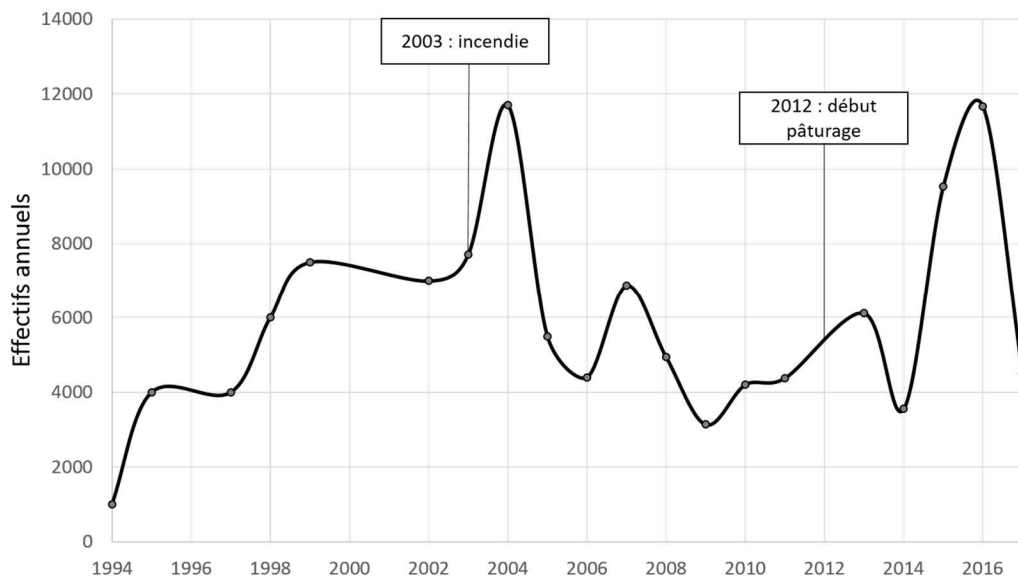


Figure 33. Évolution des effectifs annuels d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins d'après les comptages réalisés par Bretagne Vivante (Magnanon *et al.*, 2013 ; Yvon Guillevic, comm. pers.).

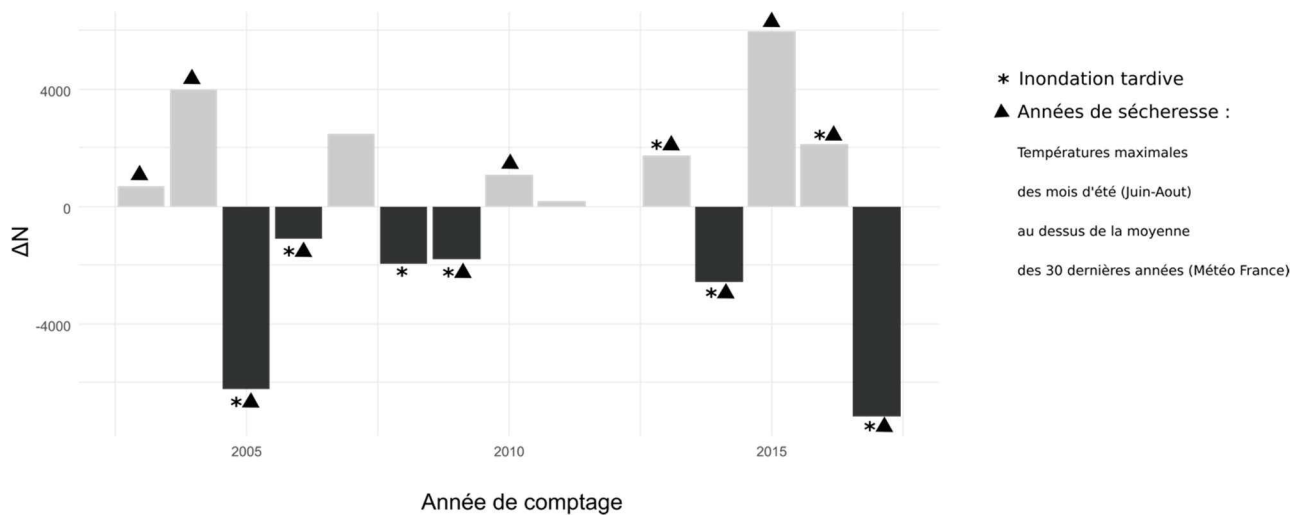


Figure 34. Variation des effectifs annuels (ΔN) depuis 2003 en fonction des variables climatiques. Les années de sécheresse correspondent aux années dont les températures maximales pour les mois les plus chauds (juin-août) sont au-dessus de la moyenne des 30 dernières années (Météo France). Les années d'inondation tardives correspondent à une inondation survenue après le mois de décembre.

1.2.7. Effet du climat sur la variation des effectifs annuels

Depuis l'initiation des comptages menés sur la réserve, les effectifs ont varié entre 1 000 (1994) et 11 700 individus (Figure 33). En considérant les 20 dernières années (1997 à 2017), on obtient une moyenne de 6 200 individus. Deux pics avoisinant les 12 000 individus ont été observés en 2004, puis en 2016. Le pic de 2004 fait suite à un incendie, provoqué par les conditions caniculaires de l'été 2003 et qui avait permis la réouverture du milieu (Magnanon *et al.*, 2013). L'augmentation des effectifs entre 2015 et 2016 est cohérente avec le λ obtenu précédemment, tandis que celle observée entre 2016 et 2017 est contredite par un $\lambda < 1$.

Un effet significatif des T_{MAX} sur la variation des effectifs annuels depuis 2003 est observé (Tableau 10). Les effectifs sont apparus plus faibles lorsque les T_{MAX} étaient plus élevées (Figure 34). Le cumul des précipitations (pp) au cours de l'automne et les T_{MAX} de l'été précédent apparaissent également significatifs et affectent positivement le ΔN (Tableau 10, Figure 34).

Au cours de l'hiver, l'effet de la date d'inondation est apparue très significatif sur l'évolution des effectifs (Tableau 10), avec un ΔN toujours négatif après une période d'inondation tardive (*i.e.* après décembre, Figure 34). Les T_{MIN} des mois de décembre et janvier, combinées à la date d'inondation, sont également apparues significatives (Tableau 10).

Tableau 10. Effets des variables climatiques sur la variation des effectifs annuels. T_{MIN} . Températures minimales au cours des mois les plus froids. T_{MAX} . Températures maximales au cours des mois les plus chauds. pp. Cumul des précipitations. Les valeurs en gras indiquent un effet significatif sur la survie des individus.

Effet des variables hivernales :	LR	Df	Pr	Effet des variables estivales :	LR	Df	Pr
T_{MIN} janvier	0,449	1	0,5	T_{MAX} été	4,79	1	0,02869
T_{MIN} février	0,146	1	0,7	pp été	0,11	1	0,74444
T_{MIN} décembre	2,857	1	0,0909	T_{MAX} été & RR été	0,06	1	0,81337
T_{MIN} janvier & date d'inondation	14,07	1	0,00017	T_{MAX} automne	0,54	1	0,4623
T_{MIN} février & date d'inondation	0,146	1	0,0026	pp automne	3,84	1	0,04994
T_{MIN} décembre & date d'inondation	5,332	1	0,02	T_{MAX} automne & RR automne	1,15	1	0,2828
Date inondation	47,219	4	1,37E-09	T_{MAX} été année (t-1)	5,47	1	0,01936
				pp été année (t-1)	2,81	1	0,09379
				T_{MAX} été année (t-1) & RR été année (t-1)	0,53	1	0,46775

2. REPRODUCTION

2.1. Matériel et méthodes

2.1.1. Identification des pollinisateurs *in situ* et fréquence des visites

Au cours de l'été 2016, une observation des insectes pollinisateurs a été réalisée dans le but de déterminer leur diversité et le taux de visite global et par insecte. Ces observations ont été réalisées par quatre observateurs le 21 juillet 2016, lors du pic de floraison d'*Eryngium viviparum* au Quatre chemins, au cours d'une journée ensoleillée et sans vent, entre 8h30 et 18h30 selon des créneaux d'observations de 20 minutes. Ce type de protocole s'intéresse classiquement à l'observation d'une seule fleur (Gaudeul & Till-Bottraud, 2004), cependant la petite taille des fleurs d'*E. viviparum* et leur densité par individu ne permet pas une observation à cette échelle. L'observation des inflorescences regroupées par patches d'individus présents dans un quadrat de 20x20 cm a donc été préférée. 47 créneaux, soit environ 15 heures d'observations, ont été réalisés au cours de la journée, au sein de 10 quadrats, répartis sur l'ensemble du site, et comportant entre 10 à 50 inflorescences.

Au cours de chaque période d'observation, le nombre total d'insectes, leur temps de visite, leur comportement et le nombre d'inflorescences visitées ont été relevés. Plusieurs représentants de chaque espèce observée ont été capturés au cours des observations, afin de les identifier. Les échantillons collectés ont été confiés au GRETIA (Groupe d'Étude des Invertébrés Armoricaains) pour une identification taxonomique la plus précise possible.

Le comportement des insectes vis-à-vis d'*Eryngium viviparum* a été réparti en 3 classes : (1) simple passage ; (2) butinage furtif ; (3) butinage avéré et transport de pollen.

2.1.2. Tests de pollinisation contrôlée

Pour déterminer le mode de reproduction sexuée d'*Eryngium viviparum*, des tests de pollinisation contrôlée ont été réalisés *ex situ* au conservatoire Botanique national de Brest, selon quatre traitements :

- Autogamie manuelle : les individus ont été ensachés de manière individuelle et, rapidement après l'ouverture des fleurs, les stigmates réceptifs ont été saturés au pinceau avec de l'auto-pollen, permettant de tester l'auto-compatibilité d'*Eryngium viviparum*.

- Autogamie spontanée : les individus ont été ensachés individuellement et n'ont subi aucune manipulation pendant la floraison afin de tester la capacité d'auto-fertilité des individus.
- Allogamie manuelle : les individus ont été ensachés ensembles et les stigmates réceptifs ont été saturés au pinceau avec le pollen provenant d'un mélange d'individus différents. La petite taille des fleurs n'a pas permis l'ablation des anthères qui aurait garanti une allofécondation stricte.
- Allogamie libre = Témoin : les individus n'ont pas été ensachés, ni manipulés, et laissés sous des conditions de pollinisation naturelle.

20 plantes ont été utilisées pour chaque traitement, dont la maturité a été surveillée afin de réaliser les pollinisations au bon moment. Les individus ont été couverts, avant l'apparition des premières inflorescences, avec du filet à mailles serrées (0.8mmx0.8mm, Biocontrol, NORTENE®), empêchant le passage des insectes pollinisateurs. Les pollinisations manuelles ont été réalisées en début d'après-midi les jours de beau temps, avec du pollen frais et tous les 3 jours pour s'assurer de la viabilité du pollen et de la maturité des stigmates récepteurs.

Pour chaque traitement, ont été évalués : le nombre d'inflorescences en fruits à l'automne, puis le nombre de graines matures récoltées. Les mauvaises conditions météorologiques à la fin de l'été 2017 ont provoqué l'avortement prématuré de nombreuses inflorescences et parfois l'inondation complète des pots en culture. Peu de graines ont ainsi pu être récoltées, plus particulièrement concernant le traitement témoin. Malgré le biais occasionné, l'étude a été menée jusqu'au bout, permettant d'apporter des informations à *minima* qualitatives. La capacité de germination des graines ayant pu être récoltées a été testée après un passage au froid humide (4°C) pendant l'hiver, à 15°C en boîte de pétri sur une double épaisseur de papier filtre humidifié, conditions favorables à la germination d'*Eryngium viviparum* en conditions *ex situ* (Gautier, 2013).

2.2. Résultats

2.2.1. Insectes pollinisateurs et taux de visite

Les premières visites sur les inflorescences d'*Eryngium viviparum* par les insectes pollinisateurs ont été observées après 11h et 105 insectes ont pu être observés au total sur la journée. Une faible diversité d'espèces a été identifiée, composée principalement par des insectes de l'ordre des hyménoptères. Ce sont plus particulièrement des abeilles de la famille des Halictidae (30% des observations), représentées par les genres *Halictus*, *Sphecodes*, et *Lasioglossum*, ainsi que des fourmis (*i.e.* Formicidae, 65% des observations) du genre *Lasius* et *Formica*, qui ont été observées. Les autres insectes observés (<5% des observations) correspondent à divers diptères du sous-ordre des brachycères.

Seules les abeilles et les fourmis du genre *Lasius* ont montré un comportement de butinage et un potentiel transport du pollen. Les autres insectes ont effectué de simples passages sur les inflorescences.

Le taux de visite est apparu faible, avec une moyenne de $2,9 \pm 2,7$ visites et une durée cumulée moyenne de $1,4 \pm 1,8$ min par patch et par créneau de 20 min. Les insectes au comportement pollinisateur ont visité entre 1 à 12 inflorescences par quadrat (moyenne $3,7 \pm 2,9$) lors de leur passage.

Tableau 11. Insectes pollinisateurs observés pour *Eryngium viviparum* aux Quatre chemins et leur activité.

Famille	Genre	Nb. total de visites	Durée moyenne d'une visite par patch (sec.)	Nb. moyen d'inflorescences visitées par patch
Halictidae	<i>Halictus</i>	5	25±20	1,5±0,6
	<i>Sphecodes</i>	6	43±44	4,2±3
	<i>Lasioglossum</i>	20	10±13	2,3±1,9
Formicidae	<i>Formica</i>	15	25±20	2,4±2,3
	<i>Lasius</i>	54	35±57	3±2,7
autres		5	17±24	1,4±0,5
Total		105	27,9±45	3,7±2,9

2.2.2. Tests de reproduction contrôlée

Des graines viables ont été obtenues après chaque traitement. Parmi les graines récoltées, 10% ont germé pour les individus témoins, 6% après l'allofécondation manuelle, puis 7 et 13% après l'autofécondation manuelle et l'autofécondation spontanée.

Ces observations confirment la coexistence de l'allofécondation et de l'autofécondation pour *Eryngium viviparum*, et supposent une contribution équivalente de chaque modalité. Cependant, le faible rendement en graines obtenu pour l'ensemble des réplicats (entre 1 à 100), suite aux mauvaises conditions lors de la culture, ne permet pas d'avoir une vision représentative de la part de chacun de ces modes de reproduction.

DISCUSSION

1. Dynamique globale et influence des facteurs climatiques

Malgré le pas de temps court qui ne permet pas d'évaluer la dynamique de la population sur le long terme, les résultats obtenus apportent des informations sur la biologie d'*Eryngium viviparum* et le fonctionnement démographique de la dernière population française. Les suivis démographiques ont montré une population relativement stable, voire croissante, sur la période 2015/2016, mais fortement décroissante pour celle de 2016/2017. Cette baisse d'effectifs n'a pas été décelée lors du comptage annuel de 2016, où un pic était au contraire observé. Une chute importante des effectifs a été observée en 2017. L'écart obtenu avec les résultats des suivis démographiques s'explique par le décalage des suivis démographiques (*i.e.* juin à juin) et celui des comptages annuels (*i.e.* chaque automne), ainsi que par l'apparition de nombreuses plantules issues de la reproduction sexuée et prises en compte dans les comptages, au cours de l'automne 2016. Cependant les stades jeunes ont un faible taux de survie et contribuent peu au taux de croissance de la population. Un important recrutement ne reflète donc pas réellement une augmentation de la population dans le cas d'*E. viviparum*.

Le comportement démographique d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins s'est montré particulièrement différent d'une année à l'autre. Le faible taux de croissance observé pour la période 2016/2017 est dû à une faible survie des individus au cours de cette période, contrairement à la période 2015/2016. Cette différence est expliquée par une année particulièrement « défavorable » en 2016, caractérisée par un été plus chaud et sec et suivi par une inondation survenue tardivement l'hiver. La variation des effectifs annuels reflète également cette vulnérabilité de la population aux conditions écologiques. La chute des effectifs est en effet liée soit à des températures importantes pendant l'été, soit à une inondation tardive (*i.e.* après décembre) combinée aux températures froides. Les températures « extrêmes », plus particulièrement en période estivale, sont connues pour affecter négativement la dynamique des populations végétales (Riba *et al.*, 2002 ; Csergő *et al.*, 2017 ; Hadjou Belaid *et al.*, 2018). Le stress hydrique peut en effet affecter la survie des individus et plus particulièrement des stades les plus jeunes (McDowell *et al.*, 2008).

Sous l'influence du changement climatique, il est attendu que les années défavorables (*i.e.* températures extrêmes et sécheresse) surviennent plus fréquemment (Meehl *et al.*, 2007). De telles conditions menacent la survie des populations (Lennartsson & Oostermeijer, 2001 ; Selwood *et al.*, 2015 ; Wiens, 2016).

Par exemple, la canicule de 2003 en Europe a montré un effet négatif à l'échelle des communautés végétales en agissant sur le comportement démographique (Ciais *et al.*, 2005 ; Andrello *et al.*, 2012 ; Hadjou Belaid *et al.*, 2018). Dans le cas d'*Eryngium viviparum* une augmentation des effectifs avait pourtant été observée à l'automne 2003, suivi par un pic en 2004.

Pour *Eryngium viviparum*, l'inondation hivernale joue un rôle majeur pour le maintien de la population. Une inondation tardive expose les individus au gel, auquel l'espèce est apparue particulièrement vulnérable (Magnanon *et al.*, 2013). L'inondation des mares temporaires étant principalement dépendante des conditions climatiques, les déficits en précipitations et l'augmentation de l'évapotranspiration, prédis par le réchauffement global, risquent d'occasionner la réduction des périodes d'inondation (Brooks, 2004 ; Brooks, 2009). Cependant, les caractéristiques hydrologiques des mares temporaires restent encore mal comprises et l'effet du réchauffement climatique sur leur fonctionnement est peu étudié (Bauder, 2005).

Plusieurs études ont montré que les populations avec des taux de croissance proches de 1, comme observé pour *Eryngium viviparum* au cours d'une année favorable sont plus vulnérables à l'extinction, et d'autant plus si celle-ci est sensible à la stochasticité environnementale (Menges, 1998). Dans ces conditions, l'existence d'une seule population est particulièrement problématique pour le maintien de l'espèce en France. L'augmentation de la fréquence des années défavorables et la survenue d'événements climatiques extrêmes, pourraient occasionner la disparition de la population. Pour une même espèce, une différence dans le comportement démographique entre plusieurs populations est souvent observée, expliqué par une différence de taille de populations, de connectivité et de contexte (Dinnézt & Nilsson, 2002 ; Noël *et al.*, 2010). Cette observation confirme l'importance de restaurer des populations pour *E. viviparum* dans le Morbihan.

L'année 2016 a également été marquée par l'apparition de nombreuses plantules en automne comparé à 2015. Ce phénomène s'explique par le nombre plus important de rosettes en fleurs, au cours de l'été, mais aussi par une phénologie plus avancée en 2016, qui augmente les chances d'une inflorescence à atteindre sa maturité complète. L'augmentation du taux de floraison est parfois associée à un stress provoqué par les conditions défavorables (Nicolè *et al.*, 2011). *Eryngium viviparum* a également montré une capacité à recoloniser son habitat au cours des années qui suivent une année de sécheresse, à condition que le cumul de précipitations soit suffisant en automne. Les principaux pics d'individus observés lors des comptages annuels succèdent en effet souvent à une année considérée comme sèche (*i.e.* températures maximales supérieures à la

moyenne calculée sur 30 ans). Ces années sèches, défavorables à la survie d'*Eryngium viviparum* engendrent probablement une diminution de l'ensemble du couvert végétal, ce qui augmente l'espace disponible.

Le taux de recouvrement, influencé par le pâturage et la topographie, a agi sur la survie d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins. Les taux de survie apparaissent plus faibles lorsque le recouvrement par la végétation dépasse 75%. Ce seuil est atteint pour les niveaux topographiques les plus faibles, et en absence de pâturage. Après seulement un an, l'espace non pâturé depuis 2014 montre déjà un effet négatif sur la survie. Le taux de croissance de la population apparaît plus important grâce au pâturage pour les deux années de suivi, et confirme son importance pour le maintien d'espaces ouverts favorables à la colonisation d'*E. viviparum*.

Néanmoins, le pâturage impacte aussi la fécondité, en réduisant le nombre d'inflorescences atteignant la maturité. En absence de pâturage, un nombre plus important de plantules issues de la reproduction sexuée a en effet été observé au cours de l'étude. Pour *Eryngium viviparum*, la diminution du nombre de plantules est apparue négligeable sur le taux de croissance de la population, mais pourrait réduire la diversité génétique sur le long terme.

Le pâturage apparaît comme un élément essentiel pour le maintien de cette dernière population. Il permet d'augmenter la surface de colonisation potentielle en contrôlant la végétation concurrente (Lennartsson & Oostermeijer, 2001 ; Hegland *et al.*, 2001). L'application du pâturage pour le maintien des espèces peu compétitives s'est souvent montré très positif (Brys *et al.*, 2004 ; Kahmen & Poschlod, 2008 ; Marage *et al.*, 2008).

Le pâturage printanier réduit le recrutement des plantules issues de la reproduction sexuée (Brys *et al.*, 2004 ; Andrello *et al.*, 2012). Démarrer le pâturage à l'automne lorsque les graines matures ont été dispersées (*i.e.* septembre/octobre) pourrait permettre d'augmenter le recrutement, tel qu'observé pour *Eryngium alpinum* (Andrello *et al.*, 2012). Maintenir des espaces sans pâturage une année sur deux peut également être envisagé.

2. Pollinisation

Le taux de visite des inflorescences d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins est apparu faible (<10 visites par heure) et par des pollinisateurs généralistes et peu diversifiés. Les espèces du genre *Eryngium* sont pourtant considérées comme attractives, grâce à leur production de nectar et leurs nombreuses fleurs (Evans *et al.*, 2003 ; Gaudeul & Till-Bottraud, 2004 ; Wörz, 2012). Cependant la faible diversité des pollinisateurs observée pour *E. viviparum* peut s'expliquer par la discrétion des

fleurs, ainsi que leur présence dans un environnement pâturé et où peu d'espèces sont en fleurs à la même période.

Les traits individuels, la diversité et la densité floristique sont connus pour agir sur l'attraction des pollinisateurs (Thomson, 1978 ; Potts *et al.*, 2003 ; Hegland & Totland, 2005).

Tandis que l'efficacité des abeilles pour la pollinisation est avérée, celle des fourmis est décrite comme moins courante et est souvent considérée comme peu efficace (Buckley & Werger, 1982 ; Beattie, 2006). Elles sont attirées par le nectar, mais ne possèdent pas de structure anatomique permettant de transporter le pollen efficacement.

Les tests de pollinisation contrôlés, réalisés *ex situ* sur les individus d'*Eryngium viviparum*, mettent en évidence la coexistence de l'autogamie et de l'allogamie, avec une faible production de graines matures (<15%). Pourtant de nombreuses plantules peuvent être observées *in situ* aux Quatre chemins selon les années (Yvon Guillevic, comm. pers.), probablement dû aux nombreuses fleurs développées par l'espèce.

Une potentiellement faible diversité génétique, liée à l'isolement pourrait être à l'origine de cette reproduction moins efficace. Les populations galiciennes, en contexte plus connecté, montrent également des taux de germination peu élevés (<37%, Ayuso *et al.*, 2017).

3. Stratégie biodémographique

Les ressources individuelles d'*Eryngium viviparum* sont apparues principalement consacrées au recrutement et à la croissance des individus. Cette stratégie est cohérente avec celles des espèces monocarpiques pérennes (*i.e.* semelpares, Dinnétz and Nilsson, 2002; Floyd and Ranker, 1998; Silvertown *et al.*, 1996), pour lesquelles la probabilité de fleurir dépend essentiellement de la croissance des individus (Metcalf *et al.*, 2003). Malgré le nombre important d'inflorescences produites, la reproduction sexuée contribue peu à la croissance des effectifs. Ceci s'explique par le fait que peu d'inflorescences atteignent une maturité complète, même en absence de pâturage, et que les individus issus de graines ont une faible probabilité de produire des individus matures. Un faible recrutement issu de la reproduction sexuée peut également être le signe d'une perte de viabilité pour la population (Menges, 1990 ; Agren, 1996 ; Damman & Cain, 1998). À l'inverse, la reproduction clonale, et plus particulièrement la production de propagules au niveau des bourgeons axillaires des feuilles, s'est montrée largement plus contributive au taux de croissance que la reproduction sexuée. La prédominance de la reproduction clonale observée pour *E. viviparum* n'est pas surprenante face aux contraintes imposées par son habitat. En effet, ce mode de reproduction est souvent attribué aux espèces végétales qui évoluent dans un environnement hétérogène et sous des conditions stressantes, et où la reproduction sexuée est généralement limitée (Abrahamson,

1980 ; Gardner & Mangel, 1999 ; Roiloa & Retuerto, 2007). Pour *Eryngium viviparum* la floraison s'effectue rapidement, dépendant de la période d'exondation, ce qui peut réduire la probabilité d'avoir les conditions optimales à la fois pour la maturation, la germination et l'établissement des graines. Le recrutement clonal permet alors de compenser la mort des individus matures après la floraison (*i.e.* monocarpie) et un éventuel faible recrutement issu de la reproduction sexuée, sans quoi la population tendrait à s'éteindre sur le long terme (Kéry *et al.*, 2000). Combiner les deux stratégies de reproduction est un avantage pour évoluer dans des conditions changeantes qui favoriseront l'une, ou l'autre, des modalités de recrutement (Bengtsson & Ceplitis, 2000). Théoriquement, la prédominance de la clonalité contribue à la perte de diversité génétique (de Kroon *et al.*, 1992 ; Eriksson, 1997 ; Rossetto *et al.*, 2004 ; Honnay & Bossuyt, 2005). Ce phénomène est accentué par l'isolement qui empêche l'apport de nouveaux allèles et accentue la dérive génétique.

Plusieurs études ont cependant montré que les populations d'espèces végétales clonales ne présentent pas forcément une faible diversité génétique (Ellstrand & Roose, 1987 ; Widen *et al.*, 1994). Au contraire, la reproduction clonale contribue à une meilleure robustesse des populations (Olivieri *et al.*, 1995 ; Piquot *et al.*, 1998). Elle permet également le maintien de la diversité, à condition que la reproduction sexuée soit efficace (Santamaría, 2002 ; Balloux *et al.*, 2003 ; Moola & Vasseur, 2009). Dans un contexte isolé, lorsque la reproduction végétative est marquée, une espèce peut, au fur et à mesure des générations, perdre sa capacité à se reproduire de manière sexuée (Eckert, 2002 ; Jacquemyn *et al.*, 2002 ; Brys *et al.*, 2003).

Finalement, la population d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins est apparue stable, à l'exception des années désignées comme « défavorables », comme en 2016. Les comptages annuels révèlent une population qui oscille autour d'une moyenne de 6 000 individus depuis plus de 20 ans. La chute des effectifs due aux conditions climatiques n'apparaît par conséquent pas alarmante à l'heure actuelle. Cependant, ne pas observer d'augmentation de la population, malgré les efforts de gestion, ainsi qu'une disponibilité encore non limitée de l'espace favorable, soulève toujours des interrogations. La majorité des individus reste en effet encore localisée au niveau de bandes étrépiées créées, pour la plupart, depuis plus de 10 ans, appuyant la faible capacité colonisatrice d'*E. viviparum*. Lors de la mise en place du pâturage il était attendu une amélioration de la dispersion, mais celle-ci ne semble pas encore optimale et s'avère difficile à évaluer.

CHAPITRE 2. CARACTÉRISATION DE LA STRUCTURE GÉNÉTIQUE DE LA POPULATION D'ERYNGIUM VIVIPARUM AUX QUATRE CHEMINS ET DIFFÉRENCIATION GÉNÉTIQUE ENTRE POPULATIONS EUROPÉENNES

L'important isolement, auquel *Eryngium viviparum* est confronté en France, a conduit à s'interroger sur la viabilité génétique des individus au sein de sa dernière population morbihannaise. Une faible diversité génétique est en effet attendue dans ce cas de figure (Ellstrand & Elam, 1993 ; Ward *et al.*, 2005), ce qui rendrait d'autant plus critique l'état de conservation de l'espèce en France.

L'éloignement géographique de cette population avec les autres populations européennes risque également d'être à l'origine d'une différenciation génétique interpopulationnelle (Pironon *et al.*, 2016), ce qui pourrait s'avérer problématique dans le cas d'une éventuelle réintroduction à partir de populations génétiquement différentes, à cause du risque de dépression hybride (Montalvo & Ellstrand, 2001).

S'interroger sur le niveau de diversité génétique de cette population isolée et sur son degré de différenciation avec les populations de l'espèce, représente donc un enjeu majeur. Dans cet objectif, l'article « Rasclé P., Flaven E., Bioret F., Magnanon S., Glemarec E., Gallet S., Imbert I. – « Genetic consequences of long term isolation for the last French population of *Eryngium viviparum* J.Gay (Apiaceae) », soumis à la revue **Botanical Journal of the Linnean Society en août 2018 (version révisée en Janvier 2019)**, présente une caractérisation de la diversité génétique d'*E. viviparum* au sein de sa dernière population française en comparaison avec celle de plusieurs populations présentes en péninsule ibérique. La différenciation entre les populations a également été évaluée, afin d'identifier quelles sont les populations les plus proches génétiquement de celle des Quatre chemins, dans l'éventualité d'une réintroduction de l'espèce dans le Morbihan. Pour cette étude des marqueurs microsatellites ont été spécifiquement développés pour *Eryngium viviparum*.

1. Introduction

Ongoing habitat destruction, mainly induced by human activities, is described as “the most serious threat to biological extinction crisis” by causing a reduction and fragmentation of species geographic range (Wilcox & Murphy, 1985; Saunders *et al.*, 1991; Sala *et al.*, 2000). Consequently, natural populations became smaller and more isolated in anthropogenic landscapes (McGarigal & Cushman, 2002; Fahrig, 2003), and more sensitive to demographic and genetic stochasticity (Young *et al.*, 1996; Lowe *et al.*, 2005; Ouborg *et al.*, 2006; Honnay & Jacquemyn, 2007).

As gene flow appears to be restricted in fragmented species, an erosion of genetic diversity within isolated populations and an increase of the genetic divergence with other populations are expected (Young & Clarke, 2000; Newman & Tallmon, 2001). In the initial stage after the isolation, both the number of polymorphic loci and the number of alleles per locus decrease, due to bottleneck and genetic drift (Ellstrand & Elam, 1993; Young *et al.*, 1996). If isolation persists, the population can experience a significant decrease of vigor and fecundity due to the increased inbreeding and the accumulation of deleterious alleles (Lynch *et al.*, 1995; Higgins & Lynch, 2001; Keller & Waller, 2002; Reed & Frankham, 2003). In the short-term, the fragmented population becomes more vulnerable face to environmental stochasticity, and population extinction risk can drastically increase (Huenneke, 1991; Young *et al.*, 1996). On the long-term, genetic depletion reduces the population ability to adapt to any environmental change (Barrett & Kohn, 1991). Genetic drift, consequent to isolation, also contributes to increase the genetic differentiation between the isolated population and populations in the core distribution of the species (Pironon *et al.*, 2016). Small populations are often more particularly affected (Leimu *et al.*, 2006; Richards, 2000), which can sometimes lead to the extinction of the population (Lande & Barrowclough, 1987; Spielman *et al.*, 2004). The species vulnerability face to these negative consequences also varies according to any life-history trait that reduces the effective population size such as a short-life cycle (Young *et al.*, 1996), and selfing (Hamrick & Godt, 1989). In contrast, the ability to reproduce clonally may buffer the genetic events (Gitzendanner & Soltis, 2000; Honnay & Bossuyt, 2005).

Integrating genetic variation has become a key element of practical conservation and adapted management (Holsinger & Gottlieb, 1991; Hamrick & Godt, 1996; Rieseberg & Swensen, 1996; Escudero *et al.*, 2003) and is particularly relevant when reintroduction or reinforcement are planned (Mistretta, 1994; Havens, 1998; Falk *et al.*, 2006; Neale, 2012). For example, genetic studies are used to identify the most appropriate source of plant material for reintroduction operations (Haig, 1998; Petit *et al.*, 1998; Lawrence & Kaye, 2011), giving the advantage to suitable level of genetic diversity (Breed *et al.*, 2013). Using the closest geographic population as source material for reinforcement is often recommended (McKay *et al.*, 2005), while using multiple source populations appears relevant

when populations exhibit a low genetic variability (Vergeer *et al.*, 2005; Maschinski *et al.*, 2013). However, it should be noted that, despite guidelines and recommendations, a few number of reintroduction success, or reinforcement, have been recorded yet in plant species (Godefroid & Vanderborght, 2011).

Eryngium viviparum J. Gay, is a *priority species* of the European Habitats Directive and the Bern Convention. It occurs in vernal pools, highly specific of these open habitats maintained by the temporary flooded system and traditional farming practices (Jovet, 1939). In the 1980's, *Eryngium viviparum* experienced a rapid population decline throughout its natural range, especially in France, leading to a highly fragmented Ibero-Armorican distribution (Fig. 1). The reduction of suitable habitats, due to change in farming practices and urbanization, is a significant threat for the survival of the species (Magnanon *et al.*, 2013). In France, it is considered as *critically endangered* (Olivier, 1995) as only one population remains. For these reasons, several protection measures has been applied since 1987, including annual monitoring, demographic studies, and conservation management of the population. More recently, a National Action Plan (NAP) was implemented, which supports the long-term conservation of *Eryngium viviparum* in France (Magnanon *et al.*, 2013). This program includes notably the restoration of extinct populations. This latter aspect implies to define the best genetic sources to be reintroduced. Despite the strong isolation of the French population and its reduced spatial distribution (0.1 ha), annual census showed an increasing population between 1994 and 2016 (from 1 500 to 10 000 individuals), including an average of 30% of flowering plants over the summer (Guillevic, unpublished data). However, considering the clonal ability of this species, the effective population size should be significantly lower than the demographic one.

The aim of this study is to investigate the genetic status of the remaining *Eryngium viviparum* French population. Using microsatellites markers, specifically designed for the study, we compared the within population genetic diversity between the French population and the Iberian populations (Spain and Portugal), to infer consequences of isolation. According to the theoretical models in population genetics, it is expected that this population has a low genetic diversity. We also identified which Iberian population is the most genetically related to the French one, in order to provide practical recommendations for the reintroduction plan. Under these objectives, ecological differentiation between *Eryngium viviparum* populations is also evaluated, based on climatic and vegetation data.

2. Material and methods

2.1. Study species

Eryngium viviparum J. Gay (Apiaceae) is a diploid species, occurring in temporary ponds. These monocarpic species combines sexual and clonal reproduction. The flowers are hermaphroditic and pollinated by insects. Numerous clonal rosettes emerge at the root plate level of the mother plants and on the flower stems. Seed germination and clonal plants development occur mostly in Autumn. The dispersion appears limited as clonal individuals and seedlings are mainly observed at the foot of the mother plants, causing a patchy distribution.

The species is distributed in the north-west of France (Brittany) and north-west part of the Iberian peninsula in three distinct geographical groups (North, Central and South, Fig. 1). Only one population is known in France, occurring in the protected area of "les Quatre-chemins" (Belz, department of Morbihan). This population is nowadays strongly isolated, whereas in the 80's, about 40 populations were known (Magnanon *et al.*, 2013). The North Iberian populations also experienced a decline in the last decades, due to habitat-modification (Romero *et al.*, 2004).

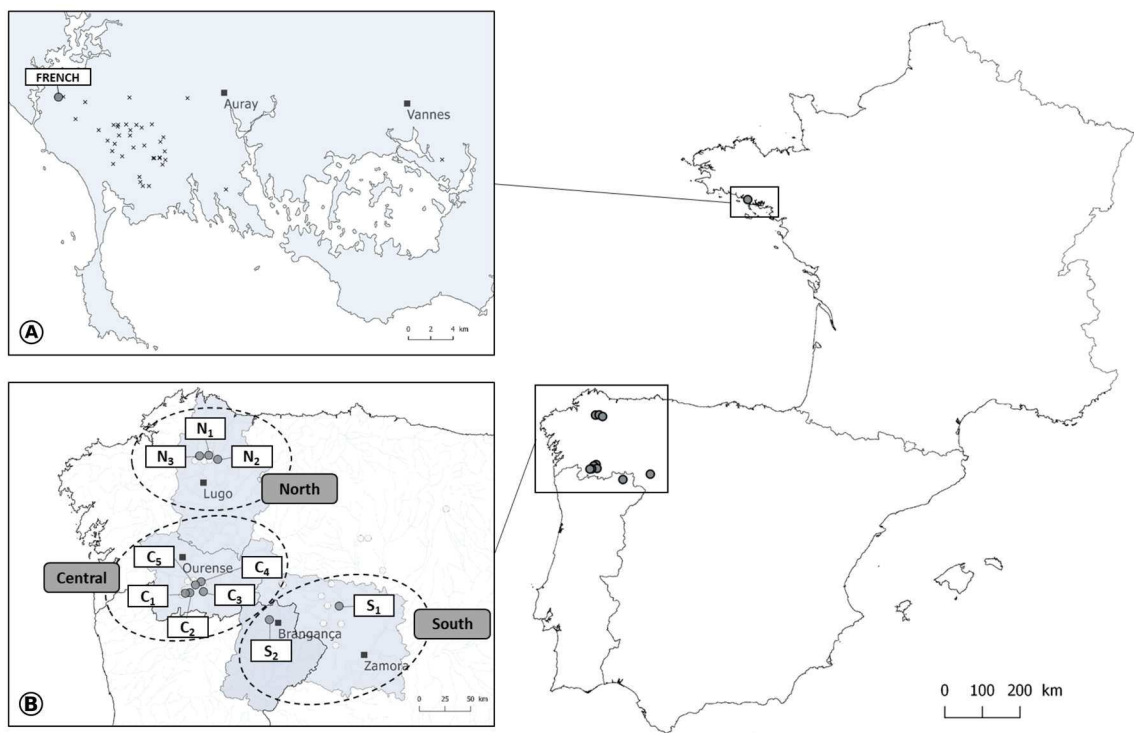


Fig. 1. Global distribution and location of the 11 sampled populations of *E. viviparum*. A. Actual and historic distribution in France. B. Actual distribution in the Iberian Peninsula. Dotted line ellipses delimit the three population geographical clusters.

Table 1. Population location, sample size and estimated size (see text for details), distance to the nearest population and ecological characteristics. The four climatic data (T_M , T_{MAX} , T_{MIN} and PP) were extracted from Worldclim 2 (Hijmans *et al.*, 2005) based on 30-years average values (from 1970 to 2000). The number of co-occurring species was extracted from Glemarec *et al.* (2017). N_3 , C_2 and C_5 were not included in this study. Exact GPS coordinates are not indicated considering the rarity of *E. viviparum*. NA notifies data are not available.

Location	Herbarium voucher	ID population	Sampled size	Population size category	Distance to the nearest existant population (km)	Elevation (m)	Climatic values from Worldclim v.2				N° of co-occurring species
							T_M (°C)	T_{MAX} (°C)	T_{MIN} (°C)	PP (mm)	
France											
Morbihan	<i>No voucher</i>										
Belz		FRENCH	37	3	516	11	12.1	21.1	3.5	893	20
NORTH (Spain, Galicia, Lugo) :											
Lagoa de Cospeito	<i>J. Amigo, P. Ramil, M. Rodriguez & J. Izco</i> 39497 [SANT 38490]	N_1	17	2	2.9	457	12.2	22.5	1.6	1357	15
Bexan	[LUGO 773]	N_2	20	3	8	401	12.4	22.4	1.5	1329	13
Fontefria	[LUGO 772]	N_3	21	2	6	413	12.4	22.4	1.9	1382	NA
CENTRAL (Spain, Galicia, Ourense) :											
O Toxal	<i>I. Pulgar</i> [SANT 45414]	C_1	25	4	2.4	613	12.2	23.1	0.9	1602	12
O Foxos		C_2	22	5	2.7	616	12.5	24.3	0.4	1638	NA
Vilaseca	<i>I. Pulgar</i> [SANT 45969]	C_3	20	5	0.6	617	12.5	24.5	0.4	1718	19
Veiga de gomareite		C_4	15	5	0.7	618	12.4	24.4	0.4	1719	17
Cardeita	<i>I. Pulgar</i> [SANT 45413]	C_5	20	4	4.6	618	12.5	24.4	0.2	1698	NA
SOUTH :											
Ferreira de abajos (Spain, Castille y León, Zamora)	<i>P. Bariego</i> 2480 [SANT 60815]	S_1	23	3	1.3	804	11.6	24.8	-2.8	750	19
Tras-o-Montes (Portugal, Bragança)	<i>No voucher</i>										
		S_2	27	1	33.3	963	11	23.2	-1.9	943	7

2.2. Sampling design and microsatellite analyses

Leaves were sampled in 2014 on 247 individuals from 11 populations (Fig. 1). Sampled individuals were sufficiently spaced from each other, to reduce the probability of sampling identical genotypes. Samples were dried and stored in silica gel. The number of samples per population ranged from 15 to 27 individuals for the Iberian populations, depending on population size, and 37 individuals were sampled from the French population (Table 1).

Genomic DNA was extracted from dried leaves using the CTAB protocol from Doyle and Doyle (1990). The genotypes of each individual were characterized using 7 operational microsatellite markers (Table 2) specifically developed for *Eryngium viviparum* by the biotechnology company "Genoscreen" (Lille, France). Microsatellites loci were isolated by Titanium pyrosequencing (Malausa *et al.*, 2011) and designed using QDD pipeline (Megléczy *et al.*, 2009). The PCR were processed performing two reactions, multiplexing markers based on size compatibility, and using fluorescent labeling of the forward primers (Applied Biosystems). The PCR were carried out in a final volume of 10 μ L, including 1 μ L of the extracted DNA, 0.2 μ L of the forward and reverse primers, and 2X QIAGEN Multiplex Master Mix (5 μ L, QIAGEN, France). All the microsatellites amplifications were performed using a thermocycler (Eppendorf Pro) under the following temperature conditions: initial denaturation at 95°C for 15 min, followed by 30 cycles of 94°C for 30 seconds (denaturation), 90 seconds at 60°C (annealing) and 60 seconds at 72°C (elongation), finished by the final extension step at 60°C during 30 min. The sizes of PCR products were analysed by electrophoresis using a 24 capillary Genetic analyser (ABI3500XL, Applied Biosystems). The raw data were visualized with GeneMapper 5.0 (Applied Biosystems).

2.4. Populations size and ecology

Individual censuses were performed each year in the French population, but no comparable estimation exists for Iberian populations. Therefore population size was estimated using the population surface and the abundance of *Eryngium viviparum* individuals evaluated by Glemarec *et al.* (2017), and was summarized in 5 classes: 1: < 500 individuals; 2: 500 to 2 000 individuals; 3: 2 000 to 10 000 individuals; 4: 10 000 to 50 000 individuals; 5: > 50 000 individuals. Geographic distance to the nearest existent population was estimated from GPS coordinates and used as connectivity indice (Table 1).

Ecological distances among populations were considered using both climatic and vegetation data. Three climatic data were extracted from WorldClim 2 database (Hijmans *et al.*, 2005; Trabucco & Zomer, 2009) with 30 arc second spatial resolution (about 1km): maximum and minimum annual temperature (T_{MAX} and T_{MIN} , respectively) and annual precipitation (PP, Table 1). Mean values between 1970 and 2000 were used for each population.

For 8 of the sampled populations (S_1 , S_2 , C_1 , C_3 , C_4 , N_1 , N_2 and FRENCH), vegetation communities have been characterized by Glemarec *et al.* (2017) according to the phytosociological approach. From this dataset, presence/absence of co-occurring species have been extracted, as they appeared relevant to characterized global ecological factors (Gillet, 2000). These qualitative data have been preferred to abundance/dominance values since species abundances vary according to the management regime which is very heterogeneous among *Eryngium viviparum* populations.

2.3. Data analysis

2.3.1. Microsatellite polymorphism and diversity parameters

The presence of null alleles was checked using Micro-Checker 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.*, 2004). Linkage disequilibrium for each pair of loci within each population and the conformity to Hardy-Weinberg equilibrium were tested using GENEPOP 4.0 (Rousset, 2008). When multiple tests were involved the sequential Bonferroni correction was applied to adjust significance values (Rice, 1989).

Several genetic diversity parameters, including average number of alleles per locus, the observed heterozygosity, the unbiased expected heterozygosity, and the fixation index were computed using GENETIX 4.05 (Belkhir *et al.*, 1996). Correlations between population size and diversity parameters, and between connectivity and diversity, were tested using Spearman ranks correlations.

2.3.4. Past demography dynamics

Demographic changes in effective population sizes were inferred using the Migraine software (Version 0.5, Leblois *et al.* 2014). A detailed procedure can be found in Zenboudji *et al.* (2016). Briefly, we estimated two parameters: the ancestral $\theta_{anc}=4N_{anc}\mu$, and the actual $\theta_{act}=4N_{act}\mu$, where N_{act} is the current effective population size, N_{anc} is the ancestral population size, and μ is the mutation rate per locus per generation.

The parameter $N_{ratio} = N_{act}/N_{anc}$ allows to detect, either a reduction (ratio <1) or an expansion (ratio >1) in population size. For each N_{ratio} estimated, its 95 % confidence intervals was used to test for significant difference with 1.

All Migraine runs were done using the pGSM model for mutation model (Leblois *et al.*, 2014), with 2000 trees per iteration and 512 points per tree and 9 iterations.

2.3.1. Differentiation among populations

Pairwise F_{ST} values were calculated with GENEPOP 4.0 (Rousset, 2008). Isolation by distance was tested using Mantel test between $F_{ST}/(1-F_{ST})$ and log (linear distance). Furthermore, we used Nei's D_A distances (Nei *et al.*, 1983), to study the relationship among populations and groups of populations. Overall genetic differentiation was evaluated using a principal components analysis (PCA) using the "ade4" R package (Jombart, 2008). Bayesian analysis of genetic structure was also applied using STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000). The admixture models were performed for eleven independent runs ($K=1$ to 11), with 10 replicates at each value of K . Each run consisted of 5 000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) repetitions following a burn-in period of 5 000 iterations. The optimum value of K was determined according to the $\Delta(K)$ method developed by Evanno *et al.* (2005) with the STRUCTURE HARVESTER tool (Earl & vanHoldt, 2012).

Ecological data were used to compute a dissimilarity matrix among the 8 concerned populations using the R "Vegan" package (Oksanen *et al.* 2016; R Development Core Team 2016). We used the Gower coefficient (Gower, 1971), since it allows to combine continuous variables (climatic data) and binary data (vegetation data).

Correlations among genetic distances ($F_{ST}/(1-F_{ST})$ and Nei's D_A), geographical distances (log-transformed, and obtained from GPS coordinates) and ecological distances were tested using Mantel tests implemented in the R "Vegan" package (R Development Core Team, 2016; Oksanen *et al.*, 2016) with 1000 permutations. Following Guillot & Rousset (2013), we did not perform partial Mantel tests.

3. Results

3.1. Microsatellite polymorphism

The number of alleles per locus varied from 5 (pmEV01) to 19 (pmEV04). Only the locus pmEV05 showed sign of null alleles with frequencies ranging from 0.08 to 0.41. This locus is the only one showing a significant heterozygote deficiency (Table 2).

Among the 231 tests used to detect for linkage disequilibrium between loci, only three were significant after the Bonferroni correction: pmEV04/pmEV17, pmEV04/pmEV09, and pmEV05/pmEV09 ($P < 0.05$). Hardy-Weinberg equilibrium was tested at each locus for each population and only three tests (out of 77) showed a significant deviation from Hardy-Weinberg expectations after Bonferroni correction for loci pmEV04 and pmEV05 in the N3 population and locus pmEV05 in N2 population. This is congruent with presence of null alleles for pmEV05.

3.2. Genetic diversity within populations

As expected, the French population showed the lowest values for the three parameters estimating the within-population diversity (Table 3). The French population was the only one with a significant heterozygote deficit ($F_{IS}=0.17$, Table 3). Genetic diversity was quite similar among the Iberian populations, with the exception of the smallest population (S_2), which had the lowest genetic diversity (Table 3), but which was nevertheless twice that in the French population. These results are congruent with the ratio between the number of multilocus genotypes and the sample size (Table 3). The French population showed the lowest value and all the Iberian populations showed high values. However, no similar multilocus genotype was detected across populations.

None of the genetic diversity parameters were correlated with population size ($P > 0.13$), with or without the French population. In contrast, distance to the closest population, used as a connectivity index, was correlated to N_A , H_{OBS} and F_{IS} ($R=-0.61$, -0.66 , and 0.69 respectively, $P < 0.04$) when considering the French population, but not anymore when excluding it ($P > 0.07$).

3.3. Past demographic dynamics

According to the N ratio estimates produced by Migraine, no population showed a significant demographic expansion. A bottleneck (N ratio > 1) was detected in most of the sampled populations, and all of them have recovered allelic diversity (Table 3). Consistent with the low diversity, a bottleneck was also detected for the French population (Table 3).

Table 2. Characteristics of the seven microsatellites primers used for genotyping *Eryngium viviparum* populations. T_a: annealing temperature. N_A: average number of alleles. H_{OBS}: observed heterozygosity. H_{EXP}: expected heterozygosity. F_{IS}: intrapopulation fixation index. F_{IS} values statistically different from zero appeared in bold.

Locus	GenBank accession number	Repeat arrays	Primer sequences (5'-3')	T _a (F/R)	Size range (bp)	Global diversity indices among all populations			
						N _A	H _{OBS}	H _{EXP}	F _{IS}
pmEv01	MK319936	ACA ₂₂	F : AGTATTACTTCTGCCTTTAATATTTCC R : CATGATTAATTAGATGCTTGAAGATG	60.7/60	219-295	5	0.19	0.24	-0.0517
pmEv02	MK319937	GT ₂₁	F : TTAGTGCCGAATGAGCAGC R : GCACCGTTTCCTGTTGGTAT	58.4	75-125	9	0.4	0.52	0.0707
pmEv04	MK319938	GA ₂₁	F : TTGGTGAGGGTTTCGATTGG R : TCACCTCGATTCTTGTGCAT	56.4	124-170	19	0.72	0.91	0.0206
pmEv05	MK319939	GT ₂₀	F : CGCAAGAAATTGCTCCATA R : TGTTGCCAATATGACAGTAACG	56.4/58.4	108-160	11	0.5	0.85	0.1195 *
pmEv09	MK319940	ATGT ₁₇	F : CCCACGATTGATCTGCATAG R : TCAGAGGATGCTCCACAA	58.4	250-340	15	0.43	0.77	0.0455
pmEv10	MK319941	CA ₁₇	F : GTTATGTACACTTCATGCTGC R : TGCTTCTGCTCCTTATCCTCA	60.3	149-178	11	0.52	0.79	-0.0132
pmEv17	MK319942	AC ₁₆	F : ATAAGAGGGGAAAAGGTGG R : TTAATTGTGATTAATGAACCTTCC	58.4	213-227	7	0.58	0.72	-0.0526

Table 3. Genetic diversity (N_A, H_{OBS}, H_{EXP}, F_{IS}) within each population of *Eryngium viviparum* and Migraine outputs of past demographic analyses expressed by N ratio (N actual /N ancient, the 95% confidence intervals are given into brackets). Populations with an N-ratio significantly different from 1 are in bold. F_{IS} values statistically different from zero are in bold.

Population	N _A	H _{OBS}	H _{EXP}	F _{IS}	No. of multilocus genotypes/ Sample size	No. of private alleles	N ratio	Demographic event
FRENCH	1.57	0.15	0.18	0.17*	16/37	0	2.2e-11 [1.64e-11 -- 5.46e-06]	bottleneck
N ₁	4.14	0.56	0.53	-0.03	15/17	0	3.69e-05 [2.66e-05 -- 72.18]	stable
N ₂	4.86	0.56	0.59	0.07	18/20	0	8.43 e-04 [9.88e-05 - 0.182]	bottleneck
N ₃	5.28	0.53	0.56	0.08	15/21	0	0.0771 [1.02e-05 -- 3.454]	stable
C ₁	5.71	0.57	0.56	-0.006	22/25	2	2.6e-11 [10e-12 -- 2.9e-9]	bottleneck
C ₂	6.00	0.69	0.63	-0.07	21/22	2	1.092 [6.22e-05 -- 1.955]	stable
C ₃	6.14	0.69	0.67	-0.005	19/20	4	0.00477 [0.000132 -- 0.816]	bottleneck
C ₄	4.00	0.48	0.50	0.005	15/15	1	0.01 [0.003 -- 0.053]	bottleneck
C ₅	4.00	0.55	0.55	0.02	20/20	0	5.88e-03 [8.07e-05 -- 0.142]	bottleneck
S ₁	5.00	0.59	0.57	-0.02	21/23	2	1.54e-19 [1.65e-20 -- 9.06e-11]	bottleneck
S ₂	2.86	0.30	0.32	0.08	25/27	3	7.14e-05 [3.16e-05 -- 0.132]	bottleneck

3.4. Differentiation among populations

3.4.1. Genetic differentiation

Global F_{ST} value (0.29) indicated high differentiation among populations. For the Iberian populations, the genetic differentiation was also high ($F_{ST}=0.24$). Pairwise F_{ST} values ranged from 0.04 to 0.6, and 26 values out 55 were > 0.25 (Table 4). Isolation by distance tested using the correlation between $F_{ST}/(1-F_{ST})$ and $\log(\text{geographical distance})$ was significant considering the 11 populations ($R=0.65$, $P=0.003$, Fig. 2), and was also significant excluding the French population ($R=0.41$, $P=0.007$).

Table 4. Pairwise F_{ST} values for seven microsatellites markers between the 11 *Eryngium viviparum* populations studied. All values are significantly different from zero at $P < 0.05$.

	FRENCH	N1	N2	N3	C1	C2	C3	C4	C5	S1
N1	0.3273									
N2	0.3476	0.0393								
N3	0.4695	0.2317	0.1946							
C1	0.5055	0.3154	0.2647	0.2393						
C2	0.4597	0.2279	0.1825	0.1925	0.1018					
C3	0.4365	0.2148	0.1696	0.2097	0.1238	0.1184				
C4	0.5053	0.2883	0.2451	0.3204	0.2622	0.1438	0.2105			
C5	0.5127	0.2254	0.1745	0.2504	0.1966	0.0822	0.1466	0.213		
S1	0.4582	0.2917	0.249	0.165	0.1627	0.1553	0.1666	0.2744	0.2241	
S2	0.6045	0.4546	0.4204	0.3973	0.3123	0.3481	0.2944	0.4274	0.4298	0.2154

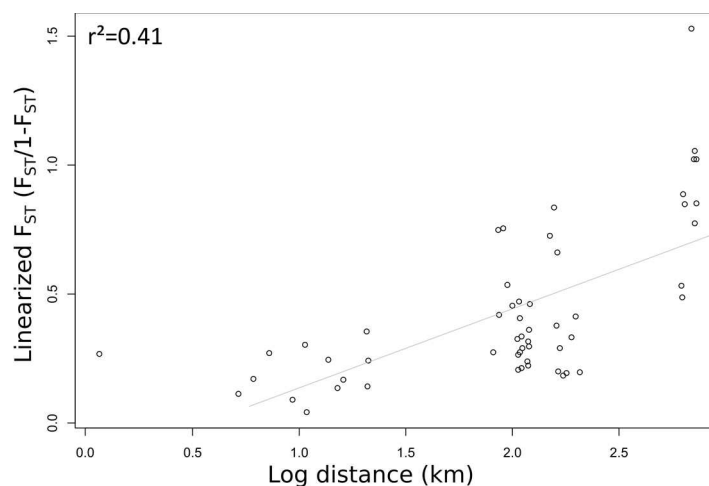


Fig. 2. Correlation between F_{ST} ($F_{ST}/1-F_{ST}$) and $\log(\text{geographical distance, in km})$ for pairwise comparisons of the ten *E. viviparum* Iberian populations. r^2 indicates the coefficient of correlation from the Mantel test.

Correlation between $Nei D_A$ and \log (geographical distance) was also significant whether the French population was included, or not, in the analysis ($R > 0.58$, $P < 0.001$).

The PCA also suggested differentiation between the FRENCH and Iberian populations (Fig. 3A). This observation is also consistent with the Structure analysis. According to the delta(K) method, the most appropriate value of K given for our data was $K=4$ (Fig. 3B). These four clusters of individuals match the four geographical regions where *Eryngium viviparum* occurs (FRENCH, North, Central and South of Iberian peninsula, Fig. 3C).

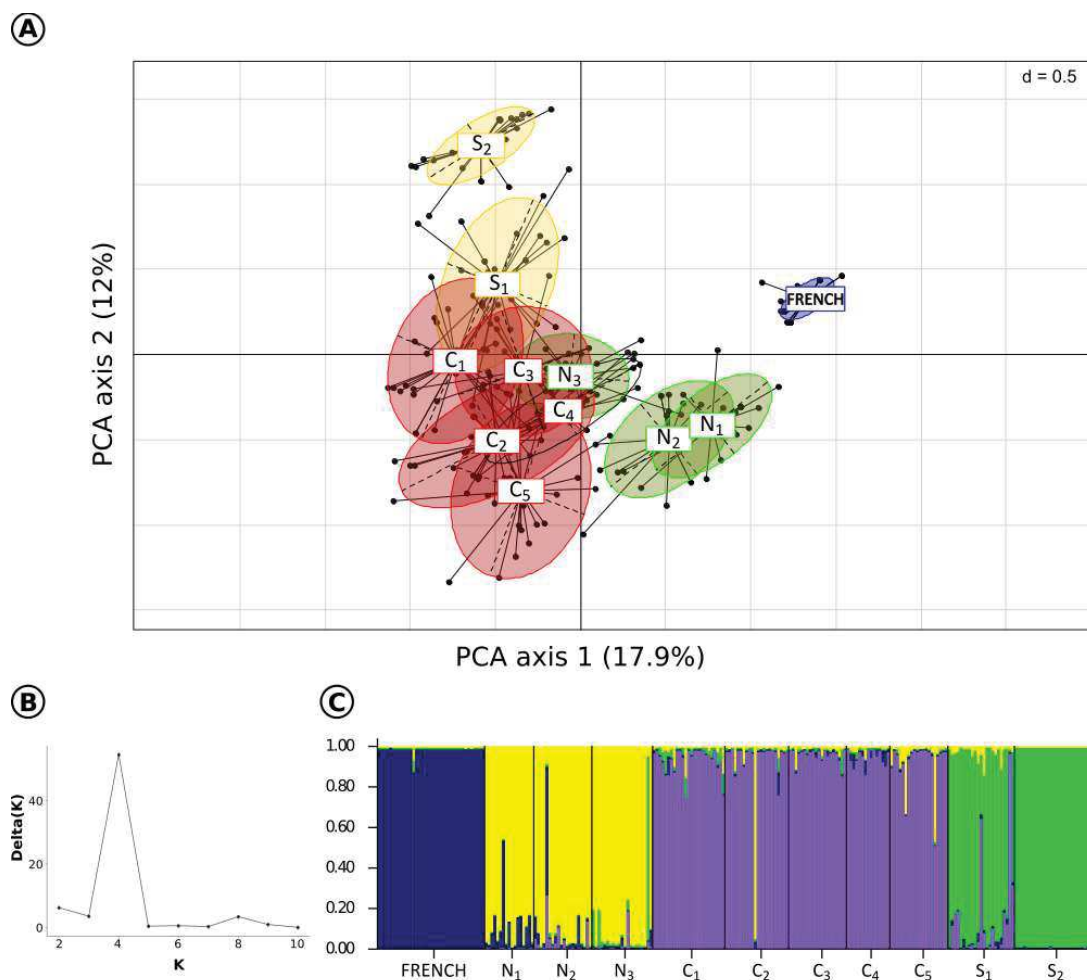


Fig. 3. Population structure analyses. a. First plan of the principal components analysis (PCA) of *Eryngium viviparum*'s genetic structure among eleven populations and based on seven microsatellites multilocus genotypes. Each point represent the individual genotypes and are connected by lines to the centroid of the 95% confidence interval ellipse of each population. b. Delta(K) values from $K=1$ to 11. c. Average assignment probability of *Eryngium viviparum* individuals for $K=4$.

3.4.2. Ecological differentiation

The plant communities appeared globally similar, characterized by pioneer species growing in seasonally flooded open habitats, such as *Exaculum pusillum*, *Chamaemelum nobile*, *Baldellia ranunculoides* and *Eleocharis multicaulis*. However some ecological vicariances were observed among *Eryngium viviparum* co-occurring species. For example, *Agrostis canina* was observed only in the French population, while *Agrostis hesperica* was identified in North and Central Iberian population, and *Agrostis pourretti* only in South Iberian populations.

Gower distances ranged from 0.19 (N_2 & N_1) to 0.67 (French & S_1). Genetic and Gower distances were positively correlated using Nei D_A values ($R=0.59$, $P=0.001$), but not when using linearized F_{ST} ($R=0.43$, $P=0.07$). These correlations, using both Nei D_A and linearized F_{ST} , were not significant when considering only the Iberian populations ($P > 0.27$).

Considering only the presence/absence of species, the French population seems closer to North Iberian populations, sharing several species, such as *Deschampsia setacea* and *Galium debile*. S_1 is the furthest population from the French one, characterized by the occurrence of Mediterranean species such as *Agrostis pourretti*, *Pulicaria paludosa* and *Mentha cervina*.

4. Discussion

4.1. Assessment of genetic diversity for the only French population

Among the 11 studied populations, a reduction of effective size was detected in eight populations. These bottlenecks are consistent with the historical data of the species, known from the botanical literature and herbarium specimens (Magnanon *et al.*, 2013). For instance, in France, since the first description of the species in 1839, 36 populations had been recorded in a limited area in Brittany, and all of them except one, have disappeared. However, the genetic consequences of these bottlenecks appear very different according to the geographic area. Indeed, all the Iberian populations, even the smallest one (<500 individuals) appear to have recovered genetic diversity. In contrast, the French population shows an extremely low level of genetic diversity and an evidence of inbreeding.

Moreover, only one rare allele was found for the French population for the pmEV09 locus (frequency <5%), and no private allele was observed, suggesting an absence of specificity for this population considering these seven microsatellites. Conversely, some Iberian populations display private alleles and a global high multi-locus allelic diversity, except for S₂, the smallest one, which appeared twice diversified than the French population. The level of genetic diversity detected in the French population appeared especially lower than those noticed in other endangered Apiaceae, such as its congeneric *Eryngium alpinum* (Gaudeul & Till-Bottraud, 2008), or other species under similar isolated context (Wiberg *et al.*, 2016; Tamaki *et al.*, 2016; Aavik *et al.*, 2017).

In this study, population size is not correlated with genetic diversity, while genetic diversity and heterozygosity are commonly expected to be positively correlated with population size (Elstrand & Elam, 1993; Frankham, 1996; Leimu *et al.*, 2006). Among the eleven populations studied, the French population showed the lowest genetic variability, despite a population size estimated to 10 000 individuals in 2016, which was considered as intermediate when compared to Iberian populations. Therefore, according to our results, isolation appeared to have more negative influence than population size on the genetic diversity for *Eryngium viviparum*, and connectivity seems to reduce the effect of bottleneck. This isolation effect has been reported in some genetic studies on other plant species (*Eucalyptus albens*, Prober & Brown, 1994; *Anthyllis vulneraria*, Honnay *et al.*, 2006), which suggest to avoid population fragmentation when possible or to reestablish population's connection. The demographic size of the French population reveals the efficiency of the management strategy to sustain the population. However, the absence of genetic diversity due to

the combined effect of bottleneck and spatial isolation could cast doubt on the long-term persistence of the population.

The species is also characterized by clonal propagation, which often contributes to decrease genetic diversity (Hamrick & Godt, 1989; Watkinson & Powell, 1993; Young *et al.*, 2002; Vallejo-Marín *et al.*, 2010). It could ultimately lead to a monoclonal genotypic pattern (Balloux *et al.*, 2003; Honnay & Bossuyt, 2005). However, in some cases, clonal propagation may profit species under isolated context, by maintaining allelic diversity, polymorphism and heterozygosity, but only on the short-term (Ellstrand & Roose, 1987; Auge *et al.*, 2001; Meloni *et al.*, 2013). The monocarpy (short-lived species) and the poor dispersal ability observed for *Eryngium viviparum* are also factors that are well-known to induce a loss of genetic diversity (Young *et al.*, 1996).

4.2. Strong structure between geographic groups

Consistent with the low dispersal ability of the species, but despite the putative contribution of genetic drift, isolation by distance revealed that geographical distance appears to be a major component of the genetic differentiation among populations. The French population appears less distant from the North Iberian populations, as suggested by Rodríguez-Gacio *et al.* (2009) with RAPD analyses. This relative genetic proximity is probably the result of a common biogeographical history. Nevertheless, the F_{ST} showed a high differentiation between the French population and the Iberian ones, which is consistent with the spatial isolation. Such high F_{ST} levels are regularly found for rare plants (Maguire *et al.*, 2000).

Ecological data also revealed that the French population is distant from all other populations. This population occurs on temperate hyperoceanic domain, while northern and central Iberian populations are located respectively under temperate oceanic and temperate submediterranean bioclimate (Rivas-Martínez *et al.*, 2011). However, Glemarec *et al.* (2017) considered that the French population and the northern Iberian populations occur under the same climatic region. The populations S_1 and S_2 located in the southern limit of the *E. viviparum* distribution range, are characterized by a mediterranean pluvioseasonal oceanic climate (Rivas-Martínez *et al.*, 2011). These two populations also appeared more genetically differentiated from the other Iberian populations.

4.3. Implications for conservation

With its strong isolation (<500 km), excluding any genetic exchange with other populations, the French population of *Eryngium viviparum* is a suitable model to discuss implications of genetic studies for conservation purposes. The very low genetic diversity, on the edge of monoclonality, can reduce the environmental adaptability of the species (Frankham, 2005). This low allelic diversity can also lead to inbreeding depression and affect the viability of individuals by fixation of deleterious alleles (Lynch *et al.*, 1995; Higgins & Lynch, 2001; Keller & Waller, 2002; Reed & Frankham, 2003). Correlation between population size and reduction in fitness is a common pattern for plants (Reed, 2005). Indeed, a decrease of the viability of both seeds and seedlings seems already to occur in the French population (Guillevic, pers. com.). Moreover, *ex situ* germination experiments show lower germination rates for seeds sampled on French individuals (30%) than seeds collected on Iberian individuals (80%, Gautier, pers. com.). These observations combined to our results imply that restoring the genetic diversity in the French population should be considered.

However, introduction of new genotypes in an endangered population always remains problematic for stakeholders concerned with the species conservation, arguing that it will alter the genetic identity of the local population (Maurice *et al.*, 2013). An alternative solution is to reestablish connectivity by restoring populations, as planned within the framework of the NAP (Magnanon *et al.*, 2013). The long-term and ambitious objective is to re-create a sustainable metapopulation of *E. viviparum* in Brittany. Nevertheless, guidelines for reintroduction suggest avoiding low genetic diversity (Montalvo *et al.* 1997; Weeks *et al.* 2011), and studies have shown that reintroducing material from multiple populations can increase translocation success (Vergeer *et al.*, 2005; Maschinski *et al.*, 2013) and restore significantly the genetic diversity (Zavodna *et al.*, 2015). This would suggest that in absence of other French sources, reintroduction could be implemented using Iberian genetic material. It is also generally recommended choosing source material from the nearest populations (Brown & Marshall, 1995; McKay *et al.*, 2005; Bottin *et al.*, 2007), in order to avoid environmental maladaptation. As the French population clearly appears strongly ecologically distant from the Iberian populations, it should be necessary to test for a possible outbreeding depression between French and Iberian populations before any reintroductions (Yardeni *et al.*, 2016). Populations from the Northern part of the Iberian distribution range should be favored, as they present the lesser distance for both ecological and genetic data. Experimental crossing should also be considered beforehand, to test the viability of first generations, and their adaptability to survive in the natural habitat of *E. viviparum*.

5. Conclusion

This study brings new elements of the genetic status of *Eryngium viviparum*, an important requirement for the French National Action Plan. Seven microsatellites markers were developed and validated specifically for the genetic characterization of *Eryngium viviparum*. Our results clearly contribute to guide management and restoration operations for the species, and suggest that the restoration of extinct populations is a priority. Experimental reintroductions, using only the French genotypes, had already occurred in order to optimize technical modalities and to identify factors that influence the success of *Eryngium viviparum* reintroductions (Rasclé *et al.*, 2018). However, the origin of the material must be clarified by some complementary studies in order to test the viability and the environmental adaptation of offspring from controlled crosses.

Aknowledgements

First, we are grateful the two anonymous reviewers for providing helpful comments. Financial support was provided by the Regional Department for the Environment of Brittany (DREAL Bretagne) and the Water Agency Loire-Bretagne, as part of the French National Action Plan in favor of *Eryngium viviparum*, and by the University of Brest. This study could not occur without the CNPN (Conseil national de la protection de la nature), the DDTM Morbihan (Direction départementale des territoires et de la mer), the IBADER (Instituto de Biodiversidade Agraria e Desenvolvimento Rural, Lugo) and the ICNF (Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas, Portugal), which authorized the sample collection. This work would also not be realized without the NGO Bretagne Vivante reserve disposal, nor without the management applied since 1991, which has allowed the conservation of *Eryngium viviparum* in France. We thank Yvon Guillevic, the reserve manager, for its assistance and its important suggestions. We are also truly grateful to: Pr Pablo Ramil-Rego, Javier Ferreiro Da Costa, Marco Rubinos Román, and Boris Alejandro Hinojo Sánchez (IBADER); Serafín González Prieto and Alejandra Couto-Vásquez (Sociedad Gallega de Historia Natural, SGHN); and to Carla Marisa Quaresma (ICNF); which accompanied us among the studied Iberian populations. Microsatellites genotyping was carried out at the Platform Genseq of the LabEx “Centre Méditerranéen Environnement Biodiversité” (ISEM, Montpellier, France) with the help of Frédérique Cerqueira and Erick Desmarais. We also thank Raphael Leblois for his help to produce Migraine results.

PARTIE IV. EXPÉRIMENTATIONS DE RÉINTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans le cadre du programme de conservation mené pour l'espèce depuis les années 1990, l'existence d'une seule population d'*Eryngium viviparum* est apparue comme une des principales problématiques pour son maintien sur le long terme dans le Morbihan. L'isolement des populations est connu pour entraîner une perte de diversité génétique et une augmentation de la consanguinité, dues à l'absence de flux de gènes (Ellstrand & Elam, 1993 ; Newman & Tallmon, 2001 ; Hensen *et al.*, 2010). Dans ces conditions, le succès reproducteur, la performance des individus et leur capacité d'adaptation face aux changements environnementaux sont fragilisés (Higgins & Lynch, 2001 ; Keller & Waller, 2002 ; Reed & Frankham, 2003).

Malgré une gestion et un suivi attentifs depuis presque 30 ans, la dernière population morbihannaise d'*Eryngium viviparum* apparaît particulièrement exposée au risque d'extinction (Huenneke, 1991 ; Ouborg *et al.*, 2006). La restauration d'un réseau de populations interconnectées est apparue indispensable pour assurer sa conservation.

Dans cet objectif, un premier programme visant au rétablissement des populations éteintes d'*Eryngium viviparum* a été mis en place en 2007 (Perrin & Magnanon, 2007). La plupart ont disparu suite aux changements des pratiques agricoles, occasionnant la fermeture naturelle des milieux (Magnanon *et al.*, 2013). Dans le cadre d'un contrat Nature, sur une sélection de sites potentiellement favorables pour l'espèce (*i.e.* habitats humides oligotrophes ayant historiquement abrités *E. viviparum*), une réhabilitation par étrépage et fauche a été réalisée dans l'espoir de voir *Eryngium viviparum* réapparaître spontanément à travers l'expression de la banque de graines.

Après plusieurs années de suivis, l'espèce n'est réapparue sur aucun des sites restaurés. Cependant une végétation proche de celle où *Eryngium viviparum* est ou a été cité, a pu s'installer grâce à la réouverture du milieu (Hardegen *et al.*, 2011 ; Glemarec *et al.*, 2017). Depuis leur restauration, ces sites sont régulièrement suivis et plusieurs semblent avoir conservé leur potentialité d'accueil pour *E. viviparum*. La mise en œuvre d'un programme de réintroduction a été envisagée dans le cadre du Plan National d'Actions (Magnanon *et al.*, 2013).

Avant le lancement des opérations de réintroduction, plusieurs interrogations sont apparues, notamment concernant les sites de réintroduction, ainsi que la source génétique et le stade de développement (*i.e.* graines, rosettes adultes, rosettes adventives,...) du matériel végétal à réintroduire.

Pour y répondre, une approche expérimentale préalable a été proposée, visant à tester l'influence des facteurs écologiques, du matériel réintroduit et des modalités techniques sur

l'efficacité et le succès des réintroductions. Quatre sites ont ainsi fait l'objet d'expérimentations de réintroductions dans le cadre de la thèse. Par mesure de précaution, seuls des individus originaires génétiquement de Belz, ont été utilisés pour ces expérimentations. Compte tenu de la disponibilité limitée du matériel végétal, les expérimentations ont été réalisées en deux phases.

Les premières transplantations expérimentales ont été réalisées à partir de l'automne 2015 sur deux sites restaurés (sites de Lann Cosquer à Plouharnel, et de Toul Chignan à Carnac). Elles ont permis de tester l'effet du site, de la microtopographie, de la saison d'implantation et du stade de développement (*i.e.* graines et propagules végétatives) des individus réintroduits, sur leur survie et leur reproduction jusqu'à l'automne 2017. Les résultats de ce travail ont fait l'objet d'une publication présentée dans la première partie de ce chapitre.

Une deuxième partie présente la poursuite des expérimentations au sein de deux autres sites (Saint-Laurent à Ploëmel et Kercadoret à Locmariaquer) à partir de l'automne 2016, et qui incluent de nouvelles modalités. L'ajout de ces deux sites a pour objectif d'évaluer l'effet d'un gradient topographique plus marqué, ainsi que l'effet du pâturage sur la survie et la dispersion des individus. L'implantation d'individus multipliés par culture *in vitro* a également été testée en parallèle sur un des deux sites (Kercadoret).

L'ensemble des résultats obtenus visent à définir les modalités optimales pour la survie des individus réintroduits et contribueront à la définition d'un protocole de réintroduction à plus large échelle.

1. MESURES DES FACTEURS INFLUENÇANT LE SUCCÈS DES TRANSPLANTATIONS D'*ERYNGIUM VIVIPARUM* SUR DEUX SITES APPARTENANT À SA RÉPARTITION HISTORIQUE.

Travail publié dans Ecological Engineering :

Rasclé, P., Bioret, F., Magnanon, S., Glemarec, E., Gautier, C., Guillevic, Y., & Gallet, S.-2018. Identification of success factors for the reintroduction of the critically endangered species *Eryngium viviparum* J. Gay (Apiaceae). Ecological Engineering, 122, 112-119.

1.1. Introduction

Over recent decades, the development of human activities has resulted in increasing pressures on natural ecosystems, leading to a worldwide biodiversity crisis (McGill *et al.*, 2015). Habitat loss, mainly due to changes in land-use practices, is the first cause for the decline of plant species (Fahrig, 2003 ; Poschlod *et al.*, 2005 ; Stoate *et al.*, 2009). Currently, about 1800 of 20-25 000 known plant species are included on the European Red List of Vascular plants, among which 500 are identified as *endangered with risk of extinction* (Bilz *et al.*, 2011 ; Pimm & Raven, 2017). In this framework, restoration ecology acts to restore fundamental properties of habitats, with the hypothesis that extinct species could recolonize spontaneously (Lipsey & Child, 2007 ; Seddon *et al.*, 2007a). However, natural recolonization is often limited by the lack of seed bank and the low dispersal ability observed for many rare plant species (Ozinga *et al.*, 2005 ; Zeiter *et al.*, 2006 ; Clark *et al.*, 2007). Thus, reintroduction programs have to be considered when habitat restoration is not sufficient, despite the reestablishment of required ecological conditions (Maschinski *et al.*, 2012).

Translocation and more precisely reintroduction have become an increasingly used tool for the conservation of plant species on the brink of extinction (Guerrant & Kaye, 2007 ; Seddon, 2010 ; Godefroid *et al.*, 2011a). This operation consists in the voluntary reestablishment of a target species into an area where it has previously occurred, but where it is now extinct (IUCN/SSC, 1998). The final aim of such an operation is to increase the number of self-sustainable populations, giving an evolutionary potential for the species and thus to reinforce its persistence ability within its natural area (Pavlik *et al.*, 1993 ; Falk *et al.*, 1996 ; Gilfedder *et al.*, 1997). Such actions required that suitable sites for the re-establishment of the species are available (IUCN/SSC, 1998 ; Osborne & Seddon, 2012) and ecological restoration may be required beforehand (Dobson *et al.*, 1997 ; Palmer *et al.*, 1997).

Implementing a reintroduction program requires some preliminary considerations (IUCN/SSC, 2013). Potential negative risks and high costs, legitimately concerned managers and conservationists and may postpone the implementation of urgent reintroductions (Gorbunov *et al.*, 2008). Paradoxically, too long reflection time before acting can increase the risk of failure than a rapid attempt of reintroduction (Maunder, 1992). In this framework, many authors addressed recommendations, based on experience feedbacks, in order to optimize protocols and increase plant reintroduction success (Falk *et al.*, 1996 ; IUCN/SSC, 1998 ; Kaye, 2008 ; Maschinski *et al.*, 2012 ; Dalrymple *et al.*, 2012 ; Maschinski & Albrecht, 2017).

Over recent decades, the number of projects has increased and reintroductions contributed to the conservation of many plant species (Bottin *et al.*, 2007 ; Colas *et al.*, 2008 ; Draper Munt *et al.*, 2016), even though they remain still scarce in scientific literature (Guerrant & Kaye, 2007 ; Seddon *et al.*, 2007b ; Menges, 2008). However, transplantation are not always successful (Maschinski & Haskins, 2012 ; Abeli & Dixon, 2016). Known failures are often linked to a lack of knowledge of the target species and its ecological requirements, leading to the selection of non-suitable sites (Aguraiuja, 2011 ; Osborne & Seddon, 2012 ; Godefroid *et al.*, 2016).

Genetic, reproductive ability and demography must also be considered, as they determine the viability of individuals face to environmental stochasticity (Menges, 2000 ; Abeli *et al.*, 2016). For example, studies have underlined the importance of the genetic source of plant material, giving the advantage to a closest geographic origin and to a sufficient level of genetic diversity (Keller *et al.*, 2000 ; Potts *et al.*, 2003 ; McKay *et al.*, 2005).

Eryngium viviparum J.Gay (Apiaceae), is an example of strongly endangered species (Lansdown, 2011), which requires reintroduction operations in the French part of its distribution, where only one last population still exists. Management efforts, since 1991, allowed the growth of the population from some hundreds of individuals to some thousands. Nevertheless, for long-term conservation, the re-establishment of several connected populations seems essential. In the 2000's, potential sites were looked for on the bases of the known historic localities (Ralys, 1998 ; Perrin & Magnanon, 2007). It appeared that most of them have been abandoned or destroyed. In 2007, a restoration program was implemented on a set of potential refuge sites in order to re-establish suitable conditions for the spontaneous reappearance of *E. viviparum* from the seedbank (Perrin & Magnanon, 2007). Unfortunately, the species did not reappear on any restored sites, although the presence of associated vegetation (Hardegen *et al.*, 2011 ; Glemarec, 2015). As a last option, reintroduction is now being considered and preliminary experimentations were initiated in order to define appropriate protocol.

The aim of this study is to determine the influence of ecological factors, methodology and individual life-history stage on the success of transplantations. On two restored sites belonging to the historical range of the species, seeds and adult rosettes were transplanted into experimental plots, according to different seasons and topographic levels. Survival and reproductive success were monitored during one annual cycle. The results of this study will inform guidelines for *Eryngium viviparum* transplantations. The final objective will be to re-create a self-sustainable metapopulation with evolutionary potentials (Seddon, 1999).

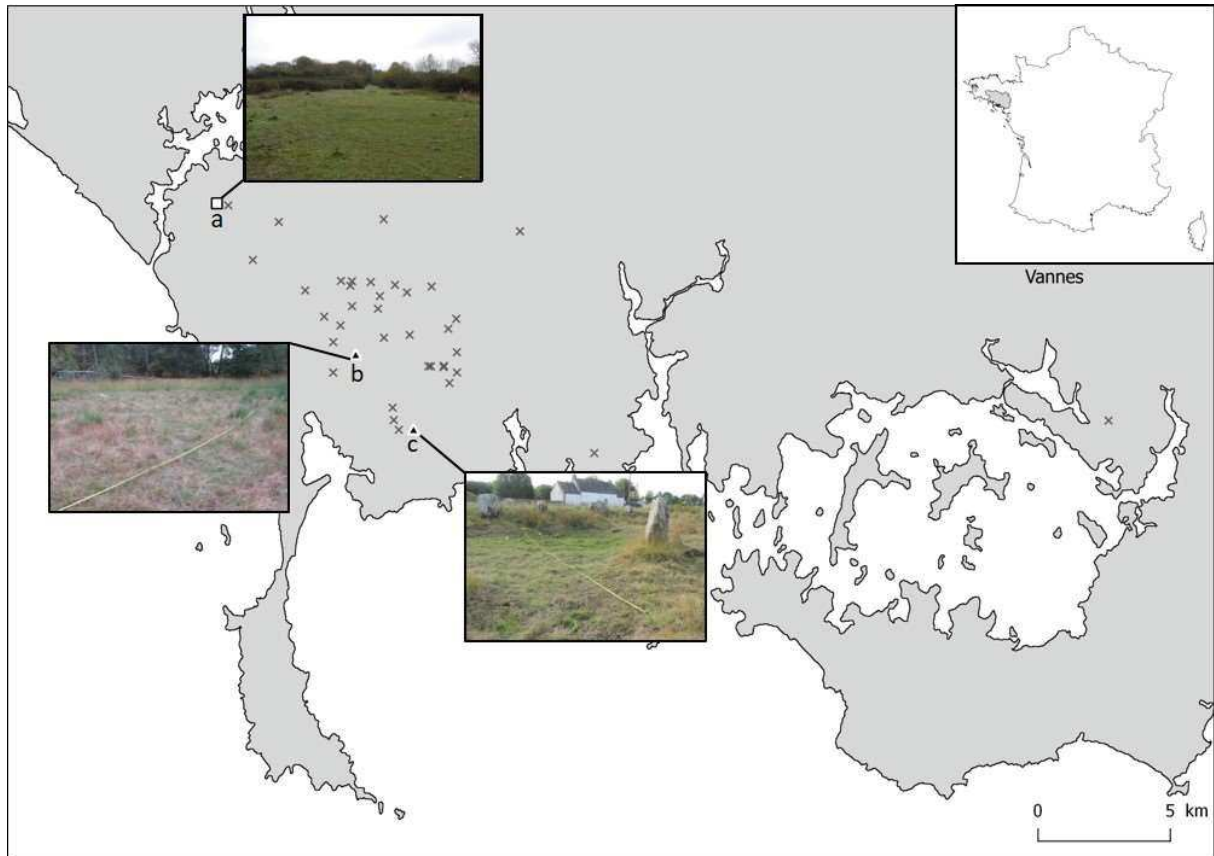


Figure 35. Current and historic distribution of *Eryngium viviparum* in Morbihan, and location of the two experimental sites. x. extinct sites. □ last natural french population (a. Belz).▲. experimental sites (b. Lann cosquer, Plouharnel; c. Toul chignan, Carnac).

1.2. Material and methods

1.2.1. Study species

a. Ecology and biology

Eryngium viviparum (Apiaceae) is a pioneer plant occurring on Atlantic vernal pools. This taxon grows on a clay loam substrate and is specific of seasonally flooded open grasslands belonging to the phytosociological communities of *Eleocharitetum multicaulis* Allorge 1922 ex Tüxen 1937, *Radiolo linoidis-Cicendietum filiformis* Allorge 1922, and *Deschampsio setaceae-Agrostietum caninae* (Lemée 1937) de Foucault 1980 (Magnanon *et al.*, 2013).

The species combines sexual and clonal reproduction. This last occurs in two ways: (1) Adventitious rosettes emerging at the root plate level. (2) Plantlets developing at the level of the floral stems (Le Gall, 1852), suggesting “pseudovivipary” (Elmqvist & Cox, 1996). Fruits and clonal rosettes dispersal appear to be limited, as they are essentially founded around the mother plants. The seeds germinate in most cases in early autumn when humidity increases, but sometimes also during spring, after soil drying out (Guillevic, unpublished data).

b. Distribution

Eryngium viviparum presents a fragmented Ibero-Armorican distribution. In the 80's, about forty populations still existed in France (Figure 35). The intensification of agriculture and, more recently, urbanization and changes of land use have led to a sharp decline of wetlands (Dugan, 1990). This led to the disappearance of the suitable habitat for the species, particularly dependent on traditional usages as extensive grazing and soil stripping (Magnanon *et al.*, 2013). Nowadays, only one last natural French population remains in a 1000 m² area in the Bretagne Vivante NGO natural reserve of "les Quatre chemins" (Belz, Morbihan : N47.665474 W-3.178528).

c. Conservation

Eryngium viviparum is listed as *priority species* in Annexes II and IV of the European Habitats Directive and under the Appendix I of the Bern Convention. In France it is considered as *critically endangered* (Olivier, 1995) and is the object of a National Action Plan (NAP) coordinated by the “Conservatoire Botanique National” of Brest (CBNB, Magnanon *et al.* 2013). This action plan is organized around three main axes: (1) Conservation of *Eryngium viviparum* on its current locality and restoration of a functional metapopulation. (2) Improvement of the knowledge of the biology and ecology of the species. (3) Information and education of the public about the conservation value of the species.

The area where *E. viviparum* remains is protected by official decree since 1987 and is managed since 1991 by the regional NGO "Bretagne Vivante". Since 1987, the species is also conserved in ex situ conditions in the CBNB's premises. Seeds are frozen for long-term storage and plants are cultivated and propagated.

1.2.2. Experimental sites

Experimental reintroduction of *Eryngium viviparum* was conducted into two known historical localities in south Brittany (Morbihan):

Lann cosquer (LC, Plouharnel): N47.618556 W-3.106677. This site is a property of the Departmental Council of Morbihan and is classified as sensitive natural area. *E. viviparum* had been observed on the site for the last time in 1985 (Magnanon *et al.*, 2013). The abandonment of agricultural exploitation by grazing, had led to a major overgrowth by *Molinia caerulea*. Restoration work carried out in 2007 allowed the re-establishment of the supposed favorable habitat of *E. viviparum* (Hardegen *et al.*, 2011).

Toul Chignan (TC, Carnac): N47.594415 W-3.074666. This site belongs to the megalithic alignment of Carnac, property of the French State and managed by the "National Monuments". The location consists of two temporary ponds, where the species could be observed at least until 1948 (Magnanon *et al.*, 2013). The habitat of *E. viviparum* reappeared following the ecological restoration in 2007 (Hardegen *et al.*, 2011). The site is grazed by sheep.

These two sites were selected according to the following criteria: they were part of the former distribution area of *Eryngium viviparum* and were the subject of restoration works; their public land statuses allow the establishment of a future sustainable management and prevent any urbanization. Both sites present an observable microtopographic gradient, implying variations in flooding time and vegetation.

Physico-chemical characteristics (total nitrogen, phosphorus, pH...) were measured in the Belz site and in the two experimental sites (Table 12). The soils appear to be nutrient poor and acidic, with lower levels of organic carbon, phosphorus and nitrogen at LC. The submersion waters show a pH close to neutrality and overall phosphorus and nitrogen levels are low for each site. LC has a higher water hardness and conductivity, potentially explained by a slight trace of salinity.

Table 12. Physico-chemical properties of soil and submersion water of Belz and experimental sites.

Site	Water quality						Soil properties			
	Total P (%)	Total N (%)	Hardness (°fH)	Salinity (psu)	pH	Conductivity (µs/cm)	pH	Organic C (%)	PO4-P (ppm)	Total N (%)
LC	0.75	0.00	6.50	0.25	6.44	638	5.26	4.45	44.50	0.19
TC	1.25	0.00	2.50	0.00	6.73	135	4.79	10.23	162.00	0.40
Belz	0.21	0.00	6.00	0.00	7.40	272	5.35	8.66	72.00	0.24

1.2.3. Experimental design

As microtopographic levels affect submersion length, and consequently vegetation dynamics (Vivian-Smith, 1997 ; Pollock *et al.*, 1998 ; Morzaria-Luna *et al.*, 2004), 10 experimental 1*1m plots in TC and 12 1*1m plots in LC were carried out along a topographic gradient. Due to the small size and to the heterogeneity of the two studied sites, it was not possible to establish fully factorial design.

Three topographic levels were tested on the two experimental sites:

- LOW: characterized by the lowest height of vegetation (mean of 20cm) and prolonged humidity. A majority of perennial macrophytes like *Litorea uniflora* and *Baldellia ranunculoides* is observed.

- MEDIUM: characterized by a higher vegetation (mean of 30 cm) and the dominance by two perennial species: *Eleocharis multicaulis* and *Agrostis canina*.

- HIGH: characterised by the tallest vegetation (mean height = 45 cm) and lowest humidity. The vegetation is very dense, dominated by *Molinia caerulea* and presents a low species diversity.

As a pioneer plant, it is assumed that *E. viviparum* is very vulnerable to interspecific competition. In consequence, the soil of experimental plots was superficially stripped (5cm).

Each experimental plot was subdivided into four treatments crossing material source and translocation season (figure 2). A control band is carried out for each quadrat to ensure that no spontaneous recovery occurs following soil stripping.

Two material sources were tested: (1) seeds (without pre-treatment) whose germination rate, under controlled conditions, is close to 50%; (2) rosettes produced by pseudovivipary.

Two transplantation seasons were tested: (1) Autumn 2015, when moisture rises, during seed production in the natural population. (2) Spring 2016, at the end of the flood period, but when the soil was still damp.

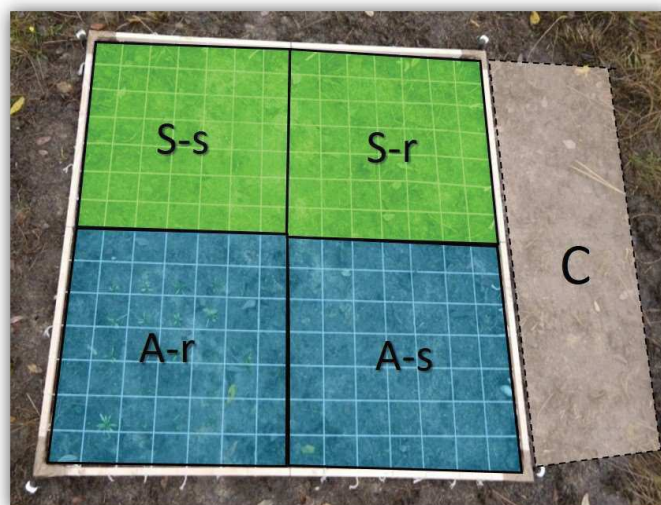


Figure 36. 1*1m plot translocation subdivided into four modalities. A: autumn transplantations. S: spring transplantations. -s: seeds. -r: clonal rosettes. C: control.

Table 13. Transplantations modalities and number of replicates

Recipient site	Season of transplantation	Microtopographic level	Nb. of replicates	Nb. of rosettes per replicates (total Nb.)	Nb. of fruits
Toul Chignan (10 plots)	Autumn	LOW	2	22 (44)	22 (44)
		MEDIUM	5	22 (110)	22 (110)
		HIGH	3	22 (66)	22 (66)
	Spring	LOW	2	17 (34)	22 (44)
		MEDIUM	5	17 (85)	22 (110)
		HIGH	3	17 (51)	22 (66)
Lann Cosquer (12 plots)	Autumn	LOW	3	22 (66)	22 (66)
		MEDIUM	6	22 (132)	22 (132)
		HIGH	3	22 (66)	22 (66)
	Spring	LOW	3	17 (51)	22 (66)
		MEDIUM	6	17 (102)	22 (132)
		HIGH	3	17 (51)	22 (66)

The rosettes were harvested in autumn, when they easily develop roots in water, which avoids stress during autumn translocation. Individuals for spring reintroduction, were conserved in pots during winter with a mix of clay and pumice stone. They were dug-up and the roots were cleaned before transplantations to avoid soil transfer. All material was collected from the *ex situ* cultivation of the CBN of Brest and is genetically originated from the natural population of Belz.

22 rosettes and 22 fruits (*i.e* 44 seeds) were transplanted in each plot in october 2015 (Table 13). The amount of individual was chosen according to the material available in *ex situ* culture limited by the rarity of the species. Due to lower material availability in june 2016, only 17 rosettes and 22 fruits were transplanted by plot. Introduced individuals were precisely mapped using a grid of 5*5cm in each plot (

Figure 36) and were numbered and labelled. Plants were watered once after transplanting and then left under natural conditions.

1.2.4. Surveys and statistical analysis

After the transplantations, seedling emergence, survival, phenology and recruitment were monitored every month, except during the winter submersion.

Two-way ANOVAs were performed, within the framework of general linear models (GLM), to check for significance of site, microtopographic level, season and their interactions on rosette survival, flowering probability and recruitment modalities (Fox, 2015).

Rosette survival were analysed among two critical periods of *E. viviparum* life-cycle: winter submersion (december 2015 to june 2016), and summer (june to september 2016).

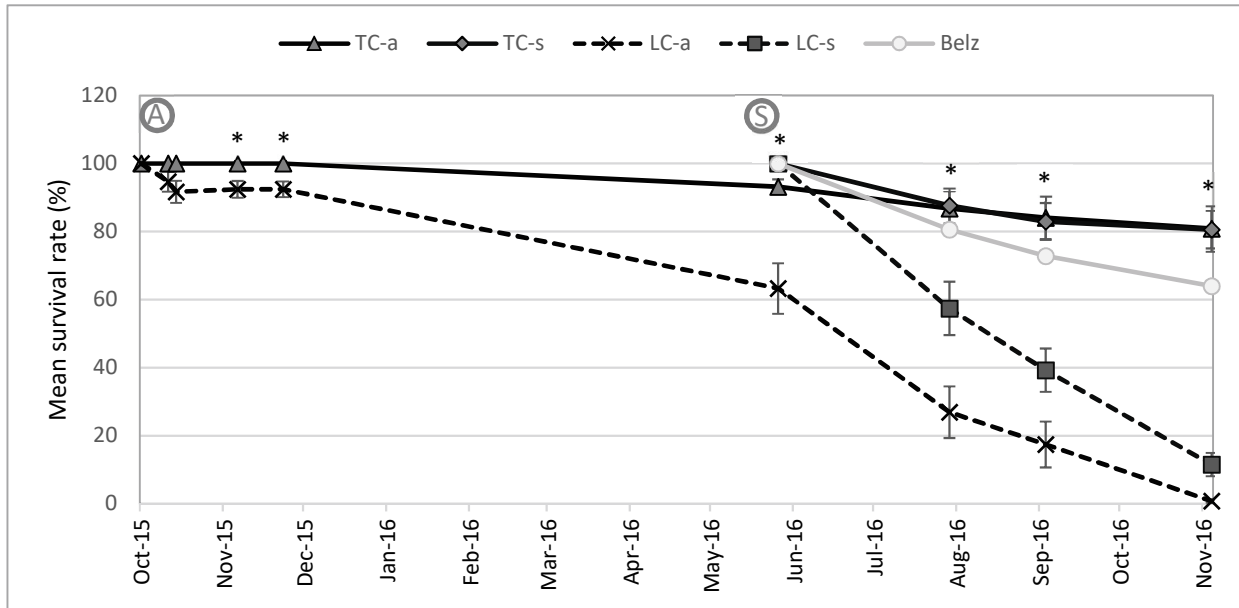


Figure 37. Survival rates of transplanted rosettes on the two experimental sites and survival rates of individuals in Belz. TC: Toul Chignan, LC: Lann Cosquer, -a: autumn transplantations, -s: spring transplantations. Bars represent the standard error (SE mean). * indicates a significant difference in survival rates between sites.

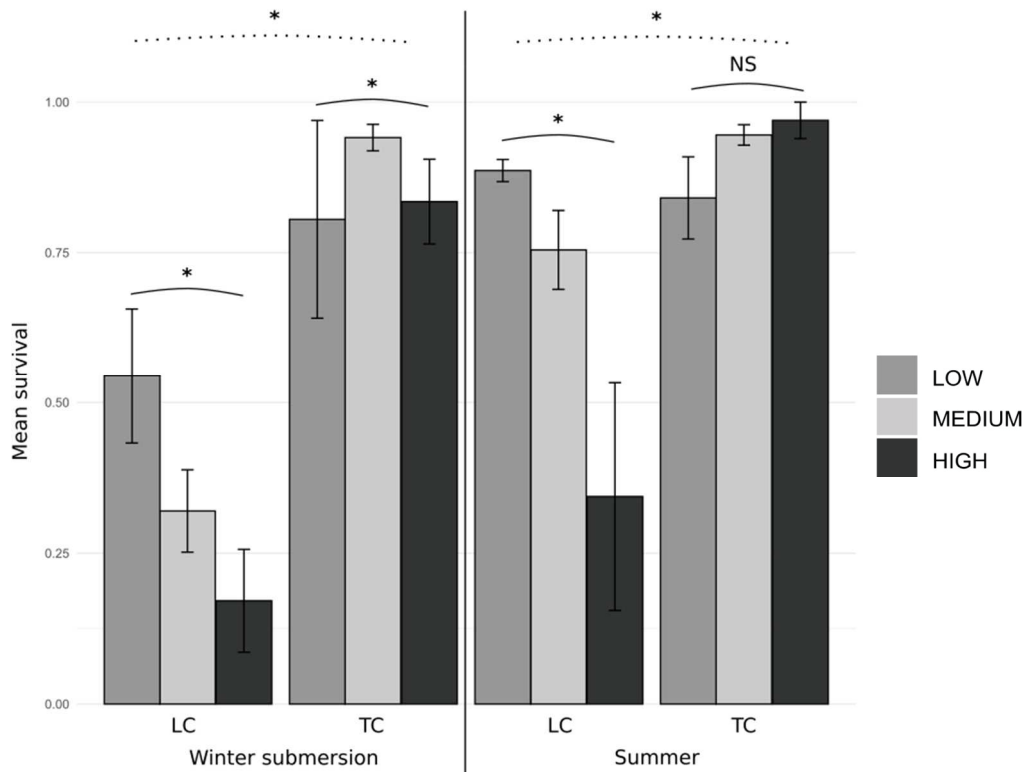


Figure 38. Mean survival rates by microtopogaphic level in Lann Cosquer (LC) and Toul Chignan (TC) during winter submersion (december 2015 to june 2016) and summer 2016 (june to september). The survival rates measured during winter submersion only concern survival of rosettes transplanted during autumn 2015. Survival rates during summer 2016 combine survival of rosettes implanted during autumn 2015 and during spring 2016. Bars represent the standard error.

1.3. Results

1.3.1. Seedling emergence

In LC, of 528 seeds sown in autumn 2015, only 21 (4%) germinated and none had survived until spring 2017. Of 264 seeds sown in spring 2016, none germinated.

In TC, of 440 seeds sown in autumn 2015, only 22 (5%) germinated. 7 of these seedlings survived until June 2017 and reproduced with 2 individuals flowering and 31 adventitious rosettes developing at the root plate level. Of 220 seeds sown during spring in TC, only one germinated but did not survive until June 2017.

Due to these very low germination rates, it has not been possible to analyze treatment effects.

1.3.2. Survival of transplanted rosettes

a. Site effect

Multivariate analyzes revealed a strong site effect, with higher mortality in LC (p-value < $8.9e^{-05}$). Indeed, of 264 transplanted rosettes in autumn 2015, only 2 survived until November 2016 (mean = $0.75\% \pm 0.5$) and of 204 rosettes implanted in spring 2016, 24 survived (mean = $11.7\% \pm 3.5$, **Figure 37**). In TC, mean survival rates are always higher than 80%.

Low mortality is observed during the first months following autumnal reintroductions in both sites (mean of 0% in TC, and 8% in LC, **Figure 37**). The highest mortality rate is observed after the drying out from June 2016 to August 2016. This marked mortality is also observed in the natural population, and is linked to the drought period occurring in summer 2016 (mean maximal temperature = 22.9°C and mean precipitation = 0.91 mm, Météo-France 2016).

b. Season and microtopography effect

Due to the importance of site effect, the influence of season and microtopographic level on rosettes survival was investigated separately for each site.

Only one significant effect of the transplantation season in survival rates was found in LC after summer 2016 (p-value = 0.006). In LC, survival rates appear also significantly influenced by microtopography during the two studied periods (p-value < 0.002, **Figure 38**), with the highest mean survival rates observed for the LOW topographic level (54.4% and 88%).

In TC, differences between microtopographic levels appear marginally significant during winter submersion (p-value < 0.016, **Figure 38**) and the highest mean survival rate is observed for the MEDIUM level. However, no significant topographic effect is observed during summer.

1.3.3. Reproduction and new generation establishment

a. Flowering rates

The number of flowering individuals was evaluated during August 2016. The two sites show higher flowering rates (> 60%) than in the last natural population (33%). Flowering levels in TC appear to be affected by season of transplantation with highest mean values for autumnal transplants (0.8 ± 0.04 , p -value = 0.004, Table 14). Conversely, flowering rates in LC are more important for spring transplant, while not significant. However, a microtopographic effect is observed (p -value = 0.004), but it must be considered cautiously due to the low level of survival in August 2016.

Table 14. Flowering rates and new generation appearance in each site and for each transplant period (mean \pm SE)

Site	season	Mean flowering rate (summer 2016)	Recruitment (november 2016)			Total population size		
			Mean number of seedlings	Mean number of clones from root plate	Mean number of clones from pseudovivipary	november 2016	June 2017	october 2017
LC	Autumn	0.5 ± 0.1	11.7 ± 3.5	0	0.8 ± 0.7			
	Spring	0.7 ± 0.1	33.4 ± 13	1.8 ± 1.1	2.3 ± 1.5	626	44	249
	Total	0.6 ± 0.1	22.5 ± 6.9	0.9 ± 0.6	1.55 ± 0.85			
TC	Autumn	0.8 ± 0.04	1.3 ± 0.7	11.9 ± 2.1	23.9 ± 8.15			
	Spring	0.5 ± 0.1	8.6 ± 4	12.9 ± 4.5	23.7 ± 7.8	1095	755	1443
	Total	0.6 ± 0.06	5 ± 2.2	12.4 ± 2.4	23.8 ± 5.5			

b. Seedlings and clones recruitment

Seedling emergence started in october 2016. No seedlings or rosettes are founded in the controls or outside the plots for both sites. A site effect is detected for each recruitment modality (p -value < 0.02).

In LC, a high number of seedlings are found per plot in november 2016 (22.5 ± 6.9 , Table 14). However, few clonal individuals are observed. Conversely, in TC, few seedlings have emerged (mean = 5 ± 2.2) when many clonal individuals are inventoried in each plots (12.4 and 23.8, Table 14). In each site the establishment of seedlings and clonal rosettes is more important in spring plots, but not significant.

Population size in november 2016 consists of 626 individuals in LC and 1095 in TC, representing an increase from initially introduced individuals. An important mortality rate is observed in LC during the inundation period in winter 2016-2017 with only 44 individuals remaining in june 2017. In october 2017, 249 individuals are founded consisting of a majority of seedlings (95%). In june 2017, a decrease is also observed in TC, but the population has then doubled (1443 individuals) in october 2017, thanks to the establishment of a third generation.

1.4. Discussion

1.4.1. Seedling emergence and survival of transplanted rosettes

In this study, as observed in several reintroduction trials, the transplantation of vegetative adults was more effective than seed sowing (Alley & Affolter, 2004 ; Godefroid *et al.*, 2011a).

Seedling emergence rates from sown seeds appeared very low in the two experimental sites, whereas they present a germination rate of 50% in controlled conditions (Gautier, 2013). It can be assumed that seed germination of *Eryngium viviparum* requires specific environmental conditions, which were not met at the transplantation periods. In situ success of establishment from seeds in reintroduction trials are generally known as low (sometimes less than 1%, Milton *et al.*, 1999; Fahselt, 2007; Dollard & Carrington, 2013). This assumes that in situ dormancy process and timing must be better understood for target species to envisage mass propagation by sowing (Maschinski *et al.*, 2004 ; Young *et al.*, 2007 ; Godefroid *et al.*, 2010). Pre-treatment of seeds could also be considered to break dormancy (Merritt *et al.*, 2007 ; Baskin & Baskin, 2014).

On the contrary, transplanted rosettes showed high survival rates on the two sites during the first weeks after transplantation and suggest a good capacity of the individuals to acclimatize. Season of reintroduction does not seem to be a determining factor in rosette survival, but autumn implantation was easier to perform as it avoids wintry storage. Furthermore, this is consistent with the natural process of dispersion that occurs in the late summer, related to the recruitment of young rosettes through asexual propagation. Considering the natural timing of species recruitment in the experimental design is an effective method (Guerrant & Kaye, 2007).

An important site effect was observed on the survival of reintroduced individuals. Indeed, while LC population showed difficulties in maintaining, the population of TC has drastically increased. As for many reintroduction experiments, it is difficult to determine why transplanted adults or seedlings died out in LC (Godefroid *et al.*, 2011a). Conditions in this site seem to be not suitable to the establishment of a population of *E. viviparum*. In both site the previous ecological restoration allowed the recovery of a vegetation considered suitable for *E. viviparum*.

However, the contrasted survival rates between the two experimental sites can be explained by a different environmental context (Ren *et al.*, 2010 ; Godefroid *et al.*, 2011a). LC is located in a more closed context than TC (willows and pine plantations), associated with a longer humidity retention. The small differences of physico-chemical characteristics of the water and soil appearing in LC can also partly explain the difference in survival rates between the two sites.

In LC a high mortality was observed on the whole site but was accelerated in the HIGH level. This can be linked to the faster recovery of vegetation at this level (mean of 60% in June 2017), compared to LOW and MEDIUM levels which presented less than 20 % of vegetation cover per plot. In TC the distinction between topographic levels was less evident, and no clear effect was observed in survival rates. The LOW and MEDIUM levels also experience a fast recovery of vegetation (>60 %) composed of herbaceous annuals which disappear after the summer. Conversely, in LC the HIGH level was predominantly colonized by the competitive perennial *Molinia caerulea*. These observations suggest that topographic levels between LC and TC must not be compared. The topography is regularly mentioned to play a role in the development of vegetal communities (Maschinski *et al.*, 2004 ; Larkin *et al.*, 2006 ; Biederman & Whisenant, 2011).

1.4.2. Reproduction and new generation establishment

An important flowering rate, higher than in the French natural population, was observed for both experimental sites. Flowering is often considered as a good indicator of the short-term establishment success during reintroductions that allowed the installation of a new generation with genetic exchanges (Pavlik, 1996 ; Sutter, 1996). Recruitment of new individuals, from seeds or clonal propagation, is also considered as a reliable indicator, as it reflects survival, plant vigor, flowering and efficient pollination (Pavlik, 1996 ; Sutter, 1996). In LC, the important number of seedlings shows that individuals were able to go up to the end of their flowering cycle. This high value of seedlings may imply better conditions for germination process in LC than in TC, where far less seedlings had been observed. This high germination rate of seeds produced by the transplanted individuals supports the hypothesis that there is a set of conditions that will promote germination, but which were not gathered during reintroduction sowing. A higher number of seedlings were observed in the spring transplantations plots on the two sites, explained by more advanced phenology of the individuals transplanted during spring. In addition to high survival rate, experimental reintroductions in TC are characterized by the development of a high number of clonal rosettes. In LC few clonal rosettes were observed due to the high mortality. The individuals of the new generation remain globally localized around the mother plant. These results reinforce the idea that *Eryngium viviparum* has a low dispersal ability like many rare plant species (Ozinga *et al.*, 2005 ; Zeiter *et al.*, 2006 ; Clark *et al.*, 2007).

1.4.3. Implications for conservation and reintroductions

The two experimental populations showed good flowering and recruitment rates, leading to a growth of the reintroduced populations. In October 2017 the population of TC was well maintained

and even increased (1443 individuals against 1095 in november 2016), but the population of LC strongly collapsed (60% of loss). This population consists mainly of seedlings (95%), stage of development with the lowest survival rate for this species, considering Belz population (Guillevic, unpublished data). Results obtained in TC are optimistic, according to the criteria (survival, flowering, recruitment...) proposed by several authors (Menges, 2008 ; Godefroid *et al.*, 2011a). Despite these results, it seems still too early to confirm the failure or success of these experimental reintroductions. Monitoring should continue over several years (Hall, 1987 ; Falk *et al.*, 1996 ; Guerrant & Kaye, 2007 ; Drayton & Primack, 2012), especially to define a number of individuals to reintroduce. Previous studies have revealed that reintroduction with too low effective can lead to a decline in fitness over the long-term (Robichaux *et al.*, 1997 ; Friar *et al.*, 2000). Based on a review of many reintroduction experiments, Godefroid *et al.* (2011a) recommend the implantation of 500 to 5000 individuals. This implies that the number of *Eryngium viviparum* individuals transplanted for this experimental reintroduction might be sufficient.

Guidelines for reintroduction also suggest avoiding low heritable genetic diversity (Montalvo *et al.*, 1997 ; Weeks *et al.*, 2011). For this study, it was selected individuals from the ecologically closest population of the reintroduction sites. However, the isolation of this population led to a significant decrease in polymorphism, confirmed by a recent microsatellite study (Rasclé *et al. in prep.*). Increasing genetic diversity, using another population source, could be considered as a last-resort solution, at least for some reintroduced populations. Some studies have shown that using material originated from multiple population sources can increase the translocation success (Vergeer *et al.*, 2005 ; Maschinski *et al.*, 2013). For example, in a context such as *Eryngium viviparum*, seeds from herbaria present an opportunity for the restoration of genetic diversity (Bowles *et al.*, 1993 ; Magrini, 2011). However, most herbaria were treated and harvested in the 1980s, inhibiting the seed germination capacity (Hay & Probert, 1995 ; Hay *et al.*, 1997 ; Godefroid *et al.*, 2011b). No solution to germinate *E. viviparum* seeds from herbaria had yet been found despite several trials. Another possible solution to improve genetic diversity and local adaptation is crossing individuals from Belz with Iberian populations. Some studies have shown great reintroduction success using individuals from distant population source (Bottin *et al.*, 2007 ; Orsenigo *et al.*, 2017). However, authors generally recommend choosing source material from the nearest population, in order to avoid environmental maladaptation (Brown & Marshall, 1995 ; McKay *et al.*, 2005). Studies are currently underway to analyze the genetic and ecological proximity, and the feasibility of genetic crosses between *E. viviparum* populations.

1.5. Conclusions

With only one remaining population in France, there is an urgent need of recreating populations for *Eryngium viviparum*. Because the species did not reappear after restoration works, the reintroduction became the last solution. The isolation could have important negative consequences for the survival of this population, especially at the genetic level. Increasing the number of populations is essential to restore genetic diversity in a functional metapopulation.

The experimental approach of this study contributes to the design of a protocol for *E. viviparum* reintroductions planned on the NAP. The first results indicate some degree of success during the first year of monitoring in relation to the survival and reproduction rates. Sowing was not effective and would require too many seeds to allow the establishment of a population. However, the available viable number of seeds is strongly limited for *E. viviparum*. Quite the opposite, the transplantation of individuals produced by pseudovivipary is very effective when the ecological conditions are favorable to the installation, but request more effort than sowing seeds. The recommended period of reintroduction is during autumn, before flooding.

Contrasted results between recipient sites underlines that the re-establishment of the commonly *E. viviparum*'s associated vegetation does not guarantee suitable conditions for the species. In the first place, it may be assumed that TC is more suitable for survival and development of *E. viviparum*. However, as some plots were partially covered by the vegetation, management effort on the two experimental is now highly recommended, in order to avoid a possible reintroduction failure (Drayton & Primack, 2012). Establish a grazing on recipient sites could maintain favorable ecological conditions and help the dispersion of the species (Fischer *et al.*, 1996 ; Poschlod *et al.*, 1998 ; Butaye *et al.*, 2007).

Acknowledgments

This study was financially supported by the Regional Department for the Environment of Brittany (DREAL Bretagne) and the Water Agency Loire-Bretagne. This work would not be realized without the NGO Bretagne Vivante reserve disposal, nor without the management applied since 1991, which has permitted the conservation of the species in France. This project could also not occur without the assistance of the members of the « Plan National d'Actions en faveur du Panicaut vivipare » committee who agreed and assisted in the re-introduction work: Sophie Bodin (Département du Morbihan) ; Charlotte Izard (SM Ria d'Étel) ; Marc-Antoine Michau (Monuments nationaux); Nathalie Morvan (DDTM, Morbihan); Serge Muller (CNPN); and Gilles Paillat (DREAL Bretagne).

Much help was provided during these field experiments and the authors are truly grateful to the other partners and all the “little hands” that have manually stripped soil or planted *Eryngium viviparum* : Nicolas Amieux and Claire Thurin (NGO Bretagne vivante) ; Marc Gillot, Claude Lesaout and Jean-Marie Toullec (Brest métropole); Maxime, Anne, Léa, Quentin, Anais (Université de Bretagne Occidentale),...

2. EXPÉRIMENTATIONS D'INTRODUCTION ET RÉINTRODUCTION COMPLÉMENTAIRES AU SEIN DES LANDES DE KERRAN ET DE SAINT-LAURENT EN PLOEMEL

Cette deuxième partie présente l'expérimentation au sein de deux nouveaux sites, réalisées à partir de l'automne 2016. Ces expérimentations visent à évaluer l'effet d'un gradient topographique plus marqué, ainsi que l'effet du pâturage sur la survie et la dispersion des individus. L'implantation d'individus multipliés par culture *in vitro* a également été testée sur un de ces deux sites.

2.1. Matériel et méthodes

2.2.1. Sites expérimentaux

Deux sites supplémentaires (Figure 39) appartenant à l'aire de répartition historique d'*Eryngium viviparum* dans le Morbihan et présentant des conditions écologiques supposées favorables, ont été sélectionnés parmi les sites restaurés au cours du contrat Nature (Perrin & Magnanon, 2007), selon les mêmes critères que les deux sites précédents :

(1) Saint-Laurent (SL, Ploëmel) :

Ce site est une propriété du conseil départemental du Morbihan, et classé Espace Naturel Sensible (ENS). Il avait été mentionné, dans les années 1980, comme le site abritant la population la plus abondante d'*Eryngium viviparum* dans le Morbihan jusqu'au début des années 1990. Sa disparition est associée à la fermeture du milieu suite à l'abandon du pâturage, ayant favorisé le développement de *Molinia caerulea*. Les travaux de décapage du sol ont permis la réapparition d'une végétation caractéristique des pelouses amphibies vivaces, considérée favorable à *E. viviparum* (Hardegen *et al.*, 2011), et un pâturage a été remis en place en 2015 dans le cadre du PNA.

(2) Landes de Kercadoret-Kerran (LK, Saint-Philibert) :

Ce site est une propriété privée sous convention avec le CBN de Brest et l'association Bretagne Vivante. Il est caractérisé par la présence de deux mares restaurées en 2007, avec la création de paliers topographiques marqués en bordure. La présence de l'espèce au sein des mares n'a pas été citée, mais elle avait été observée en 1948, à proximité immédiate, dans un site intégralement détruit. Il convient donc pour cette station d'évoquer une

expérimentation d'introduction plutôt que de réintroduction. Depuis les travaux de restaurations réalisées dans le cadre du contrat Nature, les mares ont été peu recolonisées par la végétation. Plusieurs espèces compagnes, telles qu'*Agrostis canina*, *Exaculum pusillum* ou *Juncus bulbosus*, sont réapparues, et le contexte environnant a été supposé favorable pour l'établissement d'*Eryngium viviparum*.

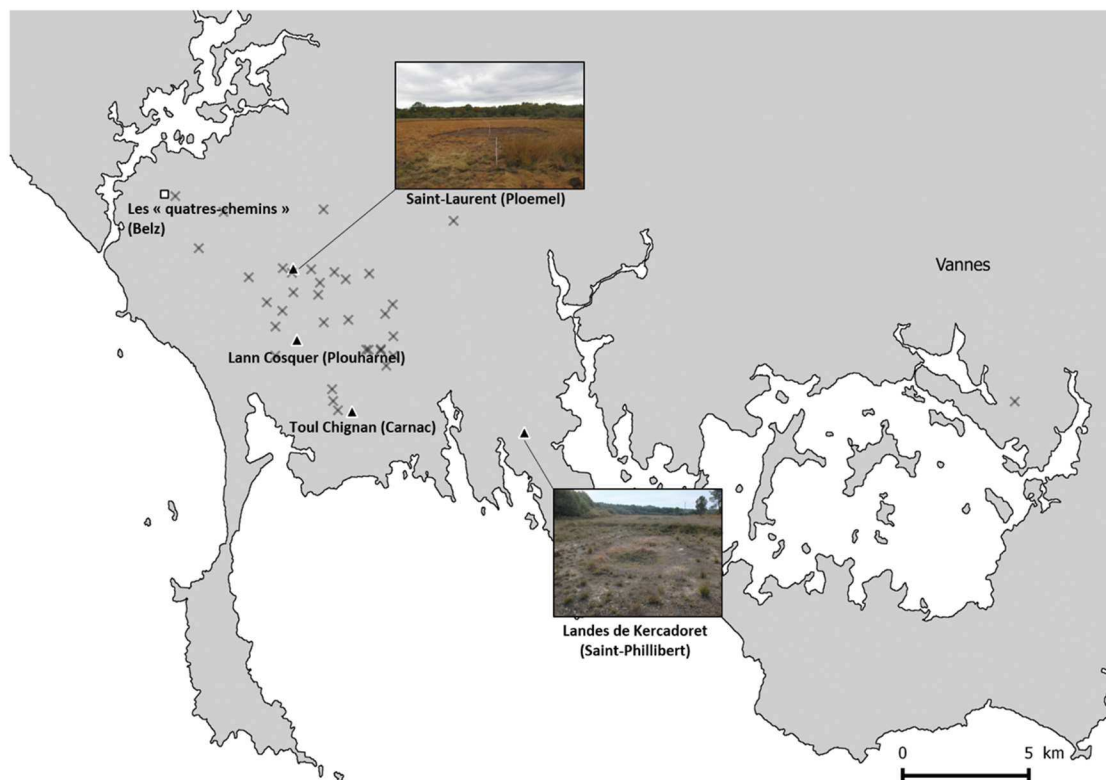


Figure 39. Localisation des sites expérimentaux supplémentaires. x. populations disparues. ◻ Dernière population naturelle. ▲. Sites expérimentaux pour la réintroduction ou l'introduction.

Les caractéristiques physico-chimiques mesurées pour ces sites sont proches de celles de Belz et des autres sites d'expérimentation (Tableau 15), avec un sol pauvre en nutriments, qui confirme leur oligotrophie, et acide. Des taux de carbone organique, de phosphore et d'azote faibles ont en effet été mesurés. L'eau de submersion n'a été analysée que pour le site de Saint-Laurent, et montre des teneurs en phosphore et en azote total aussi faibles qu'à Belz et que pour les autres sites d'expérimentations, avec un pH proche de la neutralité.

Tableau 15. Caractéristiques physico-chimiques des sites d'expérimentations.

Site	Qualité de l'eau de submersion						Propriétés du sol			
	Total P (%)	Total N (%)	Dureté (°fH)	Salinité (psu)	pH	Conductivité (µs/cm)	pH	C Organique (%)	PO4-P (ppm)	Total N (%)
SL	1.5	0.00	2	0	6.7	167.7	5.02	6.70	128.7	0.30
LK	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.25	1.29	28.2	0.24
Belz	0.21	0.00	6.00	0.00	7.40	272	5.35	8.66	72.00	0.24

2.2.1. Dispositif expérimental

a. Source des propagules et période des transplantations

Le dispositif expérimental est similaire à celui mis en place pour Toul Chignan et Lann Cosquer (Rasclé *et al.*, 2018). Chaque quadrat expérimental a été subdivisé en quatre traitements croisant la source du matériel et la période de transplantation. Une bande témoin a été étrepée à côté de chaque quadrat pour s'assurer que l'espèce ne réapparaisse pas spontanément.

L'introduction de matériel végétal selon deux stades de développement a été testé : (1) graines sans prétraitement, originaires d'un même lot, dont le taux de germination en conditions contrôlées approche les 50% ; (2) rosettes produites par pseudoviviparité. Pour le site des landes de Kerran, l'introduction de rosettes multipliée par culture *in vitro* a également été expérimentée.

Deux périodes d'implantation ont été testées : (1) en automne 2016 et (2) au printemps 2017, après l'exondation des sites.

Les rosettes pseudovivipares, originaires de la culture *ex-situ* du CBN de Brest, ont été prélevées au début de l'automne 2016. Elles développent rapidement leurs racines en étant simplement conservées dans de l'eau, ce qui évite un stress lors des transplantations en automne. Les individus transplantés au printemps 2017 ont été conservés en serre pendant l'hiver, dans des pots contenant un mélange de pierre-ponce et d'argile. Lors des transplantations, ils ont été déterrés, et leurs racines nettoyées, pour éviter le transfert de sol et d'éventuels contaminants.

Les rosettes issues de culture *in vitro* proviennent de graines originaires de la population de Belz. Ces graines ont été désinfectées selon un protocole qui leur a été adapté, grâce à une première étape de pré-trempage d'une nuit en présence d'un anti-fongique (ppm, concentré à 2%), suivi d'une décontamination de 15 secondes à l'éthanol 70%, puis de 7 minutes dans une solution d'hypochlorite de calcium, concentrée à 4%. Après un rinçage à l'eau stérile, les graines ont été ensemencées en tubes sur du milieu MS ½ 25g et mises en culture à 15°C. Après germination, les individus ont été

multipliés par divisions et repiquages successifs et conservés en culture à 25°C. Les individus ont été acclimatés un mois avant leur transplantation *in situ* en les conservant en pots avec un mélange de terreau (1/3), de sable (1/3) et de perlite-vermiculite (1/3), en diminuant progressivement le niveau d'hygrométrie.

20 rosettes et 15 fruits (*i.e.* 30 graines) ont été transplantées par quadrat (Tableau 16). À Kercadoret, parmi les 20 rosettes, 12 étaient originaires de la culture *ex situ* du CBN de Brest et 8 de la culture *in vitro* pour les transplantations d'automne 2016, puis 10 de chaque pour les transplantations du printemps 2017. Chaque individu a été repéré de manière précise dans les quadrats grâce à une grille de 5x5cm. Les individus ont été arrosés une fois, juste après les implantations.

b. Modalités d'implantation

L'expérimentation sur le site des Landes de Kercadoret permet de tester un gradient microtopographique plus marqué qu'à Toul Chignan et Lann Cosquer. 11 quadrats expérimentaux de 1x1m ont été répartis sur ce site selon trois niveaux topographiques :

LOW' : caractérise le niveau topographique le plus bas avec une humidité prolongée au cours de l'année. Plusieurs espèces caractéristiques des pelouses amphibies s'y sont établies, telles que *Juncus bulbosus* et *Exaculum pusillum*.

MEDIUM' : correspond à un niveau intermédiaire peu recolonisé par la végétation, mais au sein duquel les espèces de prairies humides, telles qu'*Agrostis stolonifera*, apparaissent.

HIGH' : caractérise le niveau topographique le plus élevé, peu inondé au cours de l'hiver. Le couvert végétal est resté très ouvert à ce niveau, mais est marqué par la présence de quelques pieds de *Molinia caerulea*.

Le niveau MEDIUM' est voulu similaire à celui testé pour les précédents sites, mais il est difficile d'affirmer qu'ils sont comparables, compte tenu de la faible reprise de végétation observée sur le site.

L'expérimentation réalisée sur le site de Saint-Laurent ne teste pas de gradient microtopographique, mais les individus ont été transplantés à un niveau recolonisé par *Eleocharis multicaulis* et *Baldellia ranunculoides* plutôt caractéristiques des pelouses amphibies. Ce niveau s'apparente aux niveaux LOW et MEDIUM, identifiés précédemment comme les plus favorables à l'installation d'*Eryngium viviparum* (Rasclé *et al.*, 2018). Cette expérimentation vise à tester l'effet du

pâturage sur la survie des individus et leur dispersion. 4 quadrats expérimentaux de 1x1m ont été répartis en zone prochainement pâturée, et 4 autres en zone non pâturée. Au cours de la première année d'expérimentation, l'ensemble des quadrats a été protégé du pâturage afin de faciliter l'implantation des individus au cours des premiers mois. L'effet du pâturage n'a pas pu être testé à ce jour, mais le sera pour les prochaines années.

Pour les deux sites, le sol a été étrepé afin de limiter la compétition interspécifique pour les premiers mois d'expérimentations.

Tableau 16. Modalités expérimentales par site et nombre de réplicats.

Site	Saison	Niveau topographique/Pâturage	Nb. de réplicats	Nb. de rosettes pseudovivipares + rosettes <i>in vitro</i> par réplicats (Nb. total)	Nb. de fruits
Kercadoret (11 quadrats)	Automne	LOW'	3	12+8 (60)	15 (45)
		MEDIUM'	5	12+8 (100)	15 (75)
		HIGH'	3	12+8 (60)	15 (45)
	Printemps	LOW'	3	10+10 (60)	15 (45)
		MEDIUM'	5	10+10 (100)	15 (75)
		HIGH'	3	10+10 (60)	15 (45)
Saint-Laurent (8 quadrats)	Automne	Pâturage	4	20 (80)	15 (60)
		Sans pâturage	4	20 (80)	15 (60)
	Printemps	Pâturage	4	20 (80)	15 (60)
		Sans pâturage	4	20 (80)	15 (60)

2.2.1. Suivis et analyses statistiques

Le taux de germination des graines semées, la survie et la phénologie des rosettes implantées, puis les modalités de recrutement ont été évalués au cours des mois suivant les implantations.

L'application d'un modèle linéaire généralisé a permis de tester l'influence de la microtopographie, de la période d'implantation, et de leur provenance (*i.e.* culture *ex situ* ou *in vitro*) sur la survie des rosettes, leur probabilité de fleurir et les modalités de recrutement jusqu'en octobre 2017 à LK. Pour SL, seule la période d'implantation a été testée.

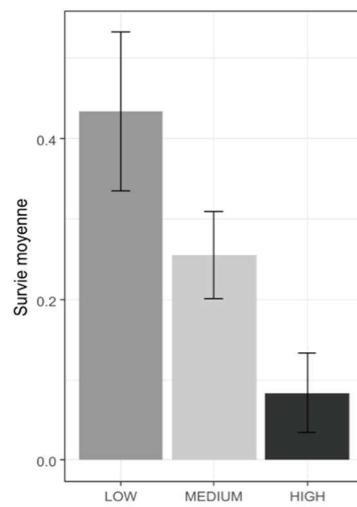


Figure 40. Taux de survie moyens par niveaux topographiques à Kercadoret (LK) en octobre 2017 de l'ensemble des rosettes implantées (octobre 2016 et juin 2017). Les barres représentent l'erreur standard.

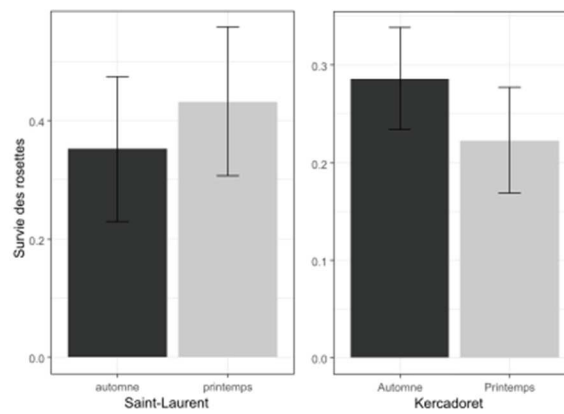


Figure 41. Effet de la période d'implantation sur la survie moyenne des rosettes à Kercadoret et Saint-Laurent jusqu'en octobre 2017. Les barres représentent l'erreur standard.

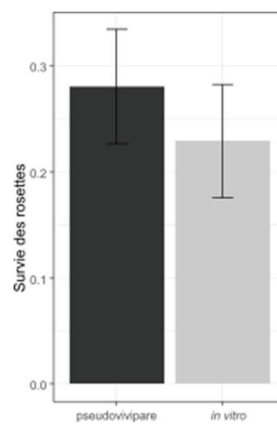


Figure 42. Effet de la provenance des rosettes (*i.e.* culture *in vitro* ou en pot) sur leur survie moyenne *in situ* à Kercadoret jusqu'en octobre 2017. Les barres représentent l'erreur standard.

2.2. Résultats

2.2.1. Taux de germination des graines réintroduites

Au sein du site SL, parmi les 240 graines semées en automne 2016, seulement 13 (5%) ont germé et survécu jusqu'en octobre 2017. Parmi les 240 graines semées au printemps 2017, 32 (13%) plantules ont été observées en octobre 2017.

Au sein du site LK, parmi les 330 graines semées en automne 2016, seulement 6 (<2%) ont germé et survécu jusqu'en octobre 2017. Parmi les 330 semées au printemps 2017, 10 (3%) plantules ont été observées en octobre 2017.

Suite aux faibles taux de germination obtenus, l'effet de la période d'implantation et du niveau topographique n'ont pas pu être évalués.

2.2.2. Survie des rosettes

À LK, sur 220 rosettes transplantées en automne 2016, 64 (moyenne=28%±24) ont survécu jusqu'en octobre 2017, et sur 220 rosettes transplantées au printemps 2017, 49 ont survécu (moyenne=22%±25). L'analyse GLM a permis de détecter un effet important de la topographie sur la survie des rosettes ($p=0.0002$), avec une diminution des taux de survie lorsque le niveau topographique augmente (Figure 40). La période d'implantation (Figure 41) et le type de culture (*i.e.* *in vitro* ou en pots, Figure 42) n'ont pas montré d'effet sur la survie.

À SL, aucun effet de la période d'implantation n'a été détecté ($p>0.5$, Figure 41). Sur 160 rosettes transplantées en automne 2016, 104 (moyenne=65%±21) ont survécu jusqu'en octobre 2017, et sur 160 rosettes transplantées au printemps 2017, 117 ont survécu (moyenne=73%±22).

2.2.3. Reproduction et recrutement

2.2.3.1. Taux de floraison

Le nombre de fleurs par individu a été compté en août 2017. Les deux sites montrent des taux de floraison entre 40% et 60% pour LK et entre 60% et 70% pour SL (Tableau 17), supérieurs à ceux observés aux Quatre chemins la même année (38%). Aucun effet de la période d'implantation ou de la topographie n'a été détecté sur les taux de floraison au sein des sites.

2.2.3.2. Recrutement

Un total de 222 plantules (moyenne=10.6±28), et de 346 rosettes clonales (moyenne=16.4±23.5) ont été observées à LK en octobre 2017 (Tableau 17). Aucun effet significatif de la saison, de la provenance des individus ou de la topographie n'a été détecté sur les modalités de recrutement.

Un total de 129 plantules (moyenne=8±17.9), et de 880 rosettes clonales (moyenne=55±50.6) ont été observées à SL en octobre 2017. Aucun effet de la saison n'est apparu sur les modalités de recrutement.

Pour les deux sites, aucune germination ou rosette n'a été observée en dehors des quadrats. La taille des populations expérimentales a augmenté pour les deux sites par rapport au nombre d'individus implantés. 689 individus ont été observés à LK, et 1277 à SL en octobre 2017.

Tableau 17. Taux de floraison et de recrutement pour les deux sites et les périodes de transplantation.

Site	Saison	Taux de floraison (été 2017)	Recrutement (octobre 2017)		Taille de la population octobre 2017
			nombre moyen de plantules	nombre moyen de rosettes clonales	
LK	automne	0,4 ± 0,1	19,8 ± 40	25,5 ± 22,2	689
	printemps	0,6 ± 0,2	2,2 ± 4,4	22,6 ± 8,3	
	Total	0,5 ± 0,15	10,6 ± 28,8	16,5 ± 23,6	
SL	automne	0,6 ± 0,1	0,6 ± 1,7	72,5 ± 62,5	1277
	printemps	0,7 ± 0,05	15,5 ± 23,7	37,5 ± 29,8	
	Total	0,65 ± 0,07	8 ± 17,9	63 ± 51,4	

DISCUSSION

Les réintroductions sont de plus en plus encouragées dans le cadre de la conservation d'espèces végétales menacées (Maunder, 1992 ; Rout *et al.*, 2009 ; Godefroid *et al.*, 2011a). En France, plusieurs programmes ont permis l'établissement, après plusieurs années, de populations réintroduites, comme dans le cas des espèces *Centaurea corymbosa* (Colas *et al.*, 2008) ou *Arenaria grandiflora* (Zavodna *et al.*, 2015). Pour *Eryngium viviparum* la réintroduction est devenue une mesure indispensable pour sa conservation en France. L'établissement d'un projet de réintroduction nécessite cependant d'identifier quels sont les facteurs qui influencent le succès d'établissement de l'espèce cible. Une bonne compréhension de l'écologie et de la biologie de l'espèce ciblée, ainsi que le choix du matériel réintroduit, ou les modalités techniques, ont un rôle clef pour le succès des opérations de réintroductions chez les espèces végétales (Falk *et al.*, 1996 ; Godefroid *et al.*, 2011a ; Maschinski & Haskins, 2012).

a. Facteurs écologiques

Plusieurs retours d'expériences faisant suite à des opérations de réintroductions soulignent l'importance de maîtriser l'écologie de l'espèce ciblée pour augmenter le succès des transplantations (Aguraiuja, 2011 ; Osborne & Seddon, 2012). Pour *Eryngium viviparum*, l'approche expérimentale a montré que la microtopographie est un facteur important agissant sur la survie des rosettes transplantées. Cette observation rejoint celle réalisée aux Quatre chemins, où l'espèce présente une distribution influencée par le niveau topographique (cf. chapitre II). Dans le cadre des expérimentations de réintroduction, une meilleure survie a été notée pour les niveaux topographiques les plus bas, en particulier pour les sites de Lann Cosquer (Plouharnel) et de Kercadoret (Saint-Philibert).

La microtopographie agit sur la structuration végétale au sein des sites, en influençant, par exemple, le degré d'inondation (Vivian-Smith, 1997 ; Pollock *et al.*, 1998 ; Morzaria-Luna *et al.*, 2004). La reprise de végétation au sein des placettes peut donc en partie expliquer la différence de survie entre les niveaux topographiques, en particulier pour une espèce sensible à la compétition telle qu'*Eryngium viviparum*. Les quadrats situés au niveau topographique le plus élevé sont pour la plupart caractérisés par une reprise de végétation plus rapide et plus dense. Mais la survie des individus transplantés semble plus particulièrement affectée lorsque le recouvrement est dominé par des espèces compétitrices, reliées à une dynamique de prairie humide, telle que *Molinia caerulea* (Chambers *et al.*, 1999).

En effet, les quadrats colonisés par cette espèce à Lann cosquer (Plouharnel) et à Toul Chignan (Carnac) sont ceux pour lesquels la survie des rosettes d'*Eryngium viviparum* a été la plus faible. Lorsque la végétation est composée d'espèces moins compétitives, même lorsque leur recouvrement est important, la survie d'*E. viviparum* est moins affectée sur le court terme. C'est ce qui a pu être observé à Toul Chignan où certaines placettes ont présenté des recouvrements dépassant les 60%, mais essentiellement constitué par *Galium debile*, une espèce peu compétitive.

En absence de reprise par la végétation, l'effet de la microtopographie sur la survie a tout de même été observé. Par exemple sur le site de Kercadoret, le rétablissement de la végétation est apparu lent après les étrépages, mais la survie des rosettes d'*Eryngium viviparum* est quand même apparue plus faible avec l'augmentation du niveau topographique. Pour ces quadrats, une période d'inondation plus courte pendant l'hiver 2016-2017 a été observée, exposant les individus au gel, auquel l'espèce apparaît sensible.

L'ensemble de ces observations confirment une affinité plus forte d'*Eryngium viviparum* pour les niveaux topographiques habituellement caractérisés par des espèces de pelouses amphibies annuelles ou vivaces (*i.e.* espèces de la classe des *Isoeto durieui - Juncetea bufonii* Br.-Bl. & Tüxen ex Westhoff, Dijk & Passchier 1946 et des *Littorelletea uniflorae* Br.-Bl. & Tüxen ex Westhoff, Dijk & Passchier 1946) telles que *Galium debile*, *Baldellia ranunculoides*, ou *Eleocharis multicaulis* (Magnanon *et al.*, 2013).

Globalement, les préférences écologiques d'*Eryngium viviparum* avaient été bien identifiées en amont des expérimentations de réintroduction, notamment à travers l'étude de sa végétation compagne à Belz et celle qui avait été citée au sein des anciennes populations. La végétation réapparue suite aux travaux de restauration menés sur plusieurs stations historiques, a donc permis de cibler des sites potentiellement favorables pour sa réintroduction.

Cependant, les résultats des expérimentations montrent que la végétation n'est pas toujours indicatrice des conditions favorables à l'établissement d'*Eryngium viviparum*. En effet, une chute importante du nombre de rosettes réintroduites à Lann cosquer a été observée après deux ans, alors que le site avait été désigné comme l'un des plus prometteur (Hardegen *et al.*, 2011). De nombreux juvéniles étaient encore observés sur le site en automne 2017, mais très peu ont été revus en 2018 (Hardegen, comm. pars.).

D'autres facteurs propres au site et non étudiés semblent donc agir sur le maintien d'*Eryngium viviparum*, mais sont difficiles à identifier. Ce problème est d'ailleurs souvent mentionné dans le cadre d'expérimentations de réintroduction (Godefroid *et al.*, 2011a). L'influence du contexte environnant a été suggérée (Rasclé *et al.*, 2018), mais le fonctionnement global du site serait à mieux appréhender afin de comprendre pourquoi les individus s'y maintiennent difficilement.

b. Type de matériel et période d'implantation

Le type de matériel végétal à réintroduire est également une des premières interrogations posées en amont d'un projet de réintroduction. En premier lieu, il convient d'identifier le stade du cycle de vie le plus pertinent à utiliser pour maximiser la réussite des transplantations (Maunder *et al.*, 2004).

De nombreuses études ont par exemple montrées que les réintroductions par graines montraient peu de succès (Maschinski & Quintana-ascencio, 2006 ; Fahselt, 2007 ; Dollard & Carrington, 2013). L'utilisation d'individus adultes ou de boutures est donc souvent recommandée (Maschinski & Wright, 2006 ; Davy, 2008). Dans le cas d'*Eryngium viviparum*, la réintroduction a montré des taux de germination inférieurs à 15% sur l'ensemble des sites expérimentaux. À l'inverse, l'implantation des rosettes pseudovivipares est apparue efficace avec une bonne capacité d'acclimatation *in situ* des plants au cours des premières semaines. Leur utilisation est donc à privilégier en ciblant la période automnale, plus cohérente avec le cycle de vie de l'espèce. Les réintroductions réalisées à l'automne se sont également montrées plus simples d'un point de vue technique puisque les rosettes adventives peuvent être transplantées directement après avoir développé leurs racines, ce qui évite le stockage en pot pendant l'hiver, le stress des plants ou encore le transfert de sol.

La provenance génétique des individus réintroduits est souvent débattue (Hufford & Mazer, 2003 ; Godefroid *et al.*, 2011a). Idéalement, il est conseillé d'utiliser des individus provenant d'une seule population, dont l'écologie est proche de celle des sites de réintroduction, et qui présente un bon niveau de diversité génétique (Keller *et al.*, 2000 ; Potts *et al.*, 2003 ; McKay *et al.*, 2005). Dans le cas d'*Eryngium viviparum*, la faible diversité génétique observée aux Quatre chemins amène à s'interroger sur la pertinence d'utiliser cette population pour la restauration des populations disparues. Si la population source est peu diversifiée, les possibilités d'adaptations dans un nouvel environnement et le potentiel évolutif de la population restaurée seront limités (Krauss *et al.*, 2002). Dans ce cas de figure, l'utilisation d'un mélange d'individus originaires de plusieurs populations a montré un meilleur succès chez plusieurs espèces végétales (Vergeer *et al.*, 2005 ; Godefroid *et al.*, 2011a). Cependant, la dernière population d'*E. viviparum* en France a montré une importante différenciation génétique et écologique avec les populations ibériques. L'utilisation, pour les réintroductions, d'une source génétique trop éloignée pourrait exposer les futures générations au risque de dépression hybride (Montalvo *et al.*, 1997).

c. Critères de succès et perspectives

Il est généralement observé que plus la taille d'une population est importante, plus ses chances de survie augmentent (Reed & Frankham, 2003). Les projets de réintroductions doivent donc prévoir la transplantation de nombreux individus (Bottin *et al.*, 2007 ; Cogoni *et al.*, 2013). Les expérimentations de réintroduction d'*Eryngium viviparum* se sont basés sur la transplantation 320 à 460 rosettes par site. Aujourd'hui ce nombre apparaît suffisant vis-à-vis de la surface disponible pour accueillir l'espèce sur les sites restaurés.

D'après les critères définis par plusieurs auteurs, le succès d'une réintroduction s'évalue par un bon taux de floraison et de fructification suivi par la croissance de la population réintroduite grâce l'apparition d'une nouvelle génération (Bronfenbrenner, 1976 ; Menges, 2008 ; Godefroid *et al.*, 2011a). Vis-à-vis de ces critères, les expérimentations de réintroduction pour *Eryngium viviparum* montrent des résultats encourageant. Des taux importants de floraison ont notamment été observés sur l'ensemble des sites et, après un an de suivi, le nombre total d'individus a augmenté par rapport au nombre initialement transplanté, à l'exception du site de Lann Cosquer.

Les populations expérimentales d'*Eryngium viviparum* peuvent alors être considérées comme des populations réintroduites, en particulier à Toul Chignan et Saint-Laurent où les effectifs atteignent actuellement plus de 1 000 individus, soit 20% des effectifs évalués aux Quatre chemins. Pour le site de Kercadoret, un renforcement des individus réintroduits pourrait être envisagé en ciblant les niveaux topographiques identifiés comme favorables lors des expérimentations.

Les populations réintroduites doivent cependant être suivies sur encore 5 à 10 ans avant de pouvoir conclure du réel succès ou de l'échec de la réinstallation d'*Eryngium viviparum* sur les sites (Guerrant & Kaye, 2007 ; Drayton & Primack, 2012). Certaines études ont en effet montré qu'une chute rapide des effectifs était possible après plusieurs années, alors que les populations réintroduites avaient initialement des taux de survie importants (Drayton & Primack, 2012).

Godefroid *et al.* (2011a) dans leur synthèse portant sur 250 tentatives de réintroductions, ont également mis en évidence un meilleur succès lorsque les populations sont réintroduites au sein de sites protégés, notamment grâce à la gestion qui y est appliquée. La mise en place d'un pâturage sur les sites expérimentaux d'*Eryngium viviparum* qui n'en bénéficient pas encore doit être rapidement envisagée pour limiter la dynamique de végétation. Cette observation concerne plus particulièrement le site de Toul Chignan où d'importants recouvrements ont été observés, provoquant l'étiollement des individus réintroduits.

Le statut des quatre sites expérimentaux permet d'envisager la pérennité des opérations de gestion et la surveillance des populations réintroduites.

DISCUSSION GÉNÉRALE : SYNTHÈSE ET
PERSPECTIVES POUR LA CONSERVATION
D'*ERYNGIUM VIVIPARUM* DANS LE MORBIHAN

1. Contribution de la recherche aux objectifs d'un plan national d'actions

Le Plan National d'Actions (PNA) mis en œuvre entre 2013 et 2018 marque une avancée importante pour la conservation d'*Eryngium viviparum* en France. Un bilan positif a été dressé à l'issue de la dernière année du programme : presque toutes les actions proposées initialement ont pu être mises en place. La constitution d'un réseau d'acteurs multiples et très impliqués est notamment un élément-clé de ce plan de sauvegarde ambitieux.

À ce jour, aucun projet succédant au PNA n'est pour l'instant défini, mais tous les acteurs sont volontaires pour engager une poursuite des actions en faveur d'*E. viviparum*. Un plan de gestion élargi au site des Landes du Bignac a récemment été validé, et permettra d'assurer, *a minima*, la poursuite de la gestion favorable à l'espèce au sein de sa dernière population naturelle (Izard *et al.*, 2018). Évaluer l'état de conservation d'*E. viviparum*, suite aux cinq années du PNA, permettra de définir les prochaines orientations en matière de conservation.

La réalisation de cette thèse, dans le cadre du PNA a contribué à la réussite des objectifs, grâce à la consolidation des connaissances sur *Eryngium viviparum*, et plus particulièrement concernant sa dernière population française. L'étude du fonctionnement de cette population, à travers sa structure génétique, sa démographie et son comportement reproducteur, participe à l'évaluation de son état de conservation actuel.

L'effet de l'isolement géographique sur l'adaptation locale et la structure génétique aux Quatre chemins a également été démontré, en mesurant sa différenciation écologique, morphologique et génétique par rapport aux autres populations de l'espèce.

En parallèle, un protocole de réintroduction a été mis en œuvre à travers une approche expérimentale, afin d'optimiser le succès des potentielles opérations de réintroduction évoquées dans le PNA (Magnanon *et al.*, 2013). Certaines populations (re)créées expérimentalement ont montré des effectifs croissants depuis la transplantation des individus et pourraient être considérées comme des populations potentiellement pérennes.

L'ensemble des résultats issus de ce travail de recherche apporte plusieurs éléments de discussion et soulève de nouvelles questions aidant à définir les prochaines priorités en matière de gestion et de conservation pour assurer le maintien d'*E. viviparum* sur le long terme.

2. Fonctionnement de la dernière population d'*Eryngium viviparum* en France

Actuellement, la principale menace pour la conservation d'*Eryngium viviparum* en France est son isolement géographique. Exposées aux processus aléatoires, les populations isolées perdent leur diversité génétique en l'absence de flux de gènes (Ellstrand & Elam, 1993 ; Young *et al.*, 1996). La faible diversité génétique et l'augmentation des croisements entre individus parents qui en découlent, menacent la survie en affectant les processus démographiques et le succès reproducteur (Higgins & Lynch, 2001 ; Keller & Waller, 2002 ; Reed & Frankham, 2003).

Ces principes généraux se vérifient dans le cas d'*Eryngium viviparum*. Même si l'isolement de la population des Quatre chemins, dans le cas où elle aurait été connectée avec les populations éteintes, semble récent (environ 30 ans) et la taille de la population moyenne (5 000 individus), elle est déjà marquée par une diversité génétique très réduite. À l'inverse, les populations centrales de l'espèce (*i.e.* ibériques), caractérisées par d'importants effectifs, ont démontré une diversité génétique élevée. La faible capacité de dispersion, l'importante reproduction clonale et la contribution équivalente de l'allofécondation et de l'autofécondation dans la reproduction sexuée, peuvent avoir contribué à accélérer la perte de la diversité génétique (Young *et al.*, 2002 ; Vallejo-Marín *et al.*, 2010).

Finalement, aucune information ne permet d'indiquer la rapidité avec laquelle la diversité génétique a chuté aux Quatre chemins. La colonisation par l'espèce dans le Morbihan peut être relativement récente et issue de peu d'individus fondateurs. Dans ce cas, la diversité génétique peut, par effet de fondation, avoir toujours été faible (Nei *et al.*, 1975 ; Finlay *et al.*, 2017). Analyser les échantillons prélevés en herbiers pourrait apporter des informations intéressantes concernant le niveau de diversité génétique aux Quatre chemins et pour les populations éteintes il y a trente ans (Cozzolino *et al.*, 2007 ; Wandeler *et al.*, 2007 ; Bieker & Martin, 2018).

Une très faible diversité génétique est peu encourageante pour le maintien de la population sur le long terme (Ellstrand & Elam, 1993 ; Frankham, 2005a). Les risques de fixation d'allèles délétères et de dépression de consanguinité sont élevés (Keller & Waller, 2002 ; Reed & Frankham, 2003). Un déficit en hétérozygotes important est notamment observé aux Quatre chemins, signe d'un important degré de consanguinité. Souvent mentionnée pour son effet sur la viabilité démographique (Husband & Schemske, 1996 ; Oostermeijer, 2000), aucune dépression de consanguinité n'a néanmoins été détectée sur le fonctionnement global de la population d'*Eryngium viviparum*.

Celle-ci s'est en effet montrée démographiquement stable sur le court terme, bien que sensible aux changements environnementaux. Un taux de germination équivalent a été récemment

mesuré en conditions expérimentales entre des lots de graines galiciennes et ceux originaires des Quatre chemins (Ayuso *et al.*, 2017). Étudier la démographie des populations d'*Eryngium viviparum* génétiquement diversifiées permettrait de préciser l'effet de l'isolement sur la viabilité de la population isolée.

La restauration de la diversité génétique, grâce à l'apport d'individus originaires d'autres populations, pourrait être envisagée pour augmenter la viabilité et le potentiel évolutif de la population et éviter l'extinction d'*Eryngium viviparum* en France. Cependant recourir au renforcement génétique est souvent controversé, exposant les populations au risque de dépression hybride (Edmands, 2007 ; Frankham *et al.*, 2011). Cela n'apparaît d'ailleurs pas nécessaire pour la population des Quatre chemins puisqu'elle ne montre pas de signe de perte de viabilité. Par précaution, tant que la population des Quatre chemins ne semble pas en danger immédiat d'extinction, les renforcements génétiques doivent être évités. Ils pourraient être envisagés, à titre expérimental, au sein des populations réintroduites les plus éloignées (Godefroid *et al.*, 2011a).

3. Différenciations entre populations sur l'ensemble de l'aire de répartition d'*Eryngium viviparum*

La différenciation écologique entre populations et l'éloignement géographique sont considérés comme de bons indicateurs de la divergence adaptative entre populations, et peuvent jouer un rôle important dans les processus de spéciation (Rieseberg & Willis, 2007 ; Schluter & Conte, 2009 ; Sexton *et al.*, 2014). Les populations éloignées géographiquement ou écologiquement peuvent en effet montrer un degré de différenciation génotypique et phénotypique important (Shafer & Wolf, 2013 ; Wang *et al.*, 2013 ; Sexton *et al.*, 2014).

Dans le cas d'*Eryngium viviparum*, une nette différenciation génétique, climatique et morphologique a été observée entre les quatre groupes de populations définis à l'échelle européenne (cf. chapitre II).

Cette importante différenciation indique que les échanges génétiques entre les groupes géographiques sont naturellement limités par la distance et témoignent d'une faible capacité de dispersion de l'espèce sur de longues distances (Hamrick & Godt, 1996). Ce constat amène d'ailleurs à s'interroger sur les mécanismes ayant permis la dispersion actuelle de l'espèce entre la péninsule Ibérique et le Morbihan.

Plusieurs études ont mis en évidence une plus faible diversité génétique et une importante différenciation pour des populations en limites de l'aire de répartition (Eckert *et al.*, 2008).

La population des Quatre chemins se comporte ainsi comme une population « marginale » du point de vue génétique, mais aussi à travers ses conditions climatiques éloignées de celles des populations situées plus au centre de la répartition de l'espèce (Hardie & Hutchings, 2010 ; Pironon *et al.*, 2015). Cette situation favorise habituellement l'adaptation locale pour un environnement qui évolue à la limite de l'amplitude écologique d'une espèce (Sobel *et al.*, 2010). La spéciation (*i.e.* l'isolement reproducteur) peut être attendue (Wiens, 2004 ; Funk *et al.*, 2006). Cependant, la faible diversité génétique observée aux Quatre chemins limite fortement son potentiel évolutif (Frankham, 2005a). Toutefois, mesurer la spéciation entre les groupes géographiques peut s'avérer utile dans le cas d'*Eryngium viviparum*.

Il apparaît donc, au même titre que les populations du groupe de Zamora (Buján & Real, 2014), que chacun des groupes géographiques identifiés pourrait faire l'objet de la description d'une sous espèce sur les critères d'une différenciation génétique et écologique. Concernant leur morphologie, les individus des Quatre chemins sont également apparus différenciés, caractérisés par des mesures de longueurs et de largeurs plus réduites au niveau des feuilles, des bractées et des bractéoles. Ces caractères se rapprochent de ceux observés à Zamora, mais semblent principalement dépendre des variations climatiques.

4. Exigences écologiques et perspectives pour la gestion d'*Eryngium viviparum* aux Quatre chemins

À l'image de la plupart des espèces pionnières, *Eryngium viviparum* est une faible compétitrice. L'étude de la démographie et de la distribution fine des individus au sein des Quatre chemins a confirmé sa sensibilité face à la concurrence, notamment lors de l'apparition dans son habitat, au cours de la succession végétale, des espèces prairiales compétitives telles que *Molinia caerulea* ou *Agrostis canina*. Ces observations confirment l'importance de la gestion active de l'habitat d'*E. viviparum* pour limiter la concurrence et favoriser sa croissance démographique. Le maintien d'*Eryngium viviparum* est en effet clairement dépendant de la mise en place d'une gestion. Celle appliquée aux Quatre chemins semble avoir contribué au maintien des effectifs, permettant d'éviter la dépression de consanguinité (Picó *et al.*, 2009).

Depuis 2012, la pelouse où se développe *Eryngium viviparum* est pâturée par deux vaches pie noir, dont l'activité a permis de contrôler l'ouverture du milieu et a montré un effet positif sur le maintien de la population. Celles-ci pourraient également, directement ou indirectement, favoriser sa dispersion (Poschlod *et al.*, 1995), même si à ce jour, aucune observation n'appuie cette hypothèse.

Cependant, la pauvreté du milieu pour les deux bêtes a vite été constatée, nécessitant de les déplacer sur une autre prairie pour une partie de la saison. Le pâturage appliqué sur plusieurs mois consécutifs au sein de l'ensemble de la pelouse « à *Eryngium* », ajouté aux conditions sèches estivales, est récemment apparu trop intensif. Le pâturage s'est pourtant avéré favorable pour la survie de l'espèce, mais une prédation des fleurs a été observée, diminuant la production des plantules issues de la reproduction sexuée.

L'ensemble de ces observations suggère que les modalités du pâturage doivent être adaptées afin de contrôler le développement de la végétation, tout en permettant à la plante de réaliser son cycle de reproduction. Appliquer le pâturage une année sur deux pour l'ensemble du site, ou de manière rotative par secteurs, peut être envisagé. Dans cette configuration, l'ouverture du milieu sera maintenue et la production des graines favorisée. Favoriser la production des graines est notamment très pertinent pour maintenir le niveau de diversité génétique au sein d'une population (Oostermeijer *et al.*, 1994 ; Bühler & Schmid, 2001 ; Picó *et al.*, 2009). La période du pâturage est également un élément important à considérer.

Au sein des Quatre chemins un pâturage automnal, à la fin de la période de fructification, est une autre option, qui intégrerait en plus, la création de conditions favorables à l'implantation des graines, voire la possibilité de dispersion des graines par le piétinement avant leur germination (Magnanon & Guillevic, 2012).

Le rétablissement d'un pâturage par parcours, comme celui appliqué par l'agriculteur au cours des années 1980, pourrait répondre à ce besoin, en incluant la dispersion de l'espèce entre plusieurs zones favorables observées au sein des Landes du Bignac (Izard *et al.*, 2018). Deux autres zones humides, dont une à proximité immédiate, présentent en effet des végétations considérées favorables (Magnanon *et al.*, 2013), même si la présence d'*Eryngium viviparum* n'y a jamais été citée. Cette option ne paraît cependant pas réalisable pour l'instant, car elle nécessite plus de moyens pour sa mise en œuvre, mais elle est toutefois évoquée dans le plan de gestion récemment validé (Izard *et al.*, 2018).

La microtopographie est un autre facteur agissant sur la structure et la densité de la végétation des Quatre chemins, comme régulièrement noté pour les milieux humides (Morzaria-Luna *et al.*, 2004 ; Larkin *et al.*, 2006 ; Moser *et al.*, 2009). Elle agit donc de manière directe et indirecte sur la survie des individus d'*Eryngium viviparum*, à travers le temps de submersion, et conditionne sa répartition à l'échelle du site.

Le décapage du sol apparaît comme une méthode intéressante pour augmenter la surface microtopographique favorable à *Eryngium viviparum*, tout en éliminant la concurrence végétale.

Cibler une profondeur spécifique peut cependant s'avérer délicat, surtout si le décapage est envisagé pour la restauration de nouveaux sites potentiels, en raison d'un comportement hydrologique probablement différent de celui observé aux Quatre chemins. Favoriser des profils topographiques hétérogènes, notamment grâce à la réalisation d'une pente, voire d'une cuvette, est un compromis idéal (Deák *et al.*, 2015 ; Doherty & Zedler, 2015).

5. Perspectives pour la conservation d'*Eryngium viviparum* à l'échelle du Morbihan

La situation génétique critique de la dernière population française d'*Eryngium viviparum* encourage le rétablissement d'un réseau de populations, notamment pour pallier une éventuelle disparition de l'espèce aux Quatre chemins. Pour cela la réintroduction, devenue une pratique courante en biologie de la conservation, est particulièrement recommandée (Seddon, 2010 ; Godefroid *et al.*, 2011a).

En ce sens, les premières expérimentations de réintroduction ont montré des résultats très encourageants, même s'il importe de poursuivre les suivis et de mettre en place une gestion adaptée sur les sites concernés. Une gestion semble pouvoir facilement être mise en œuvre sur plusieurs des sites de réintroduction, grâce à leur acquisition foncière par des organisations partenaires du PNA. Ainsi, deux vaches pie noir ont été installées sur le site de Saint-Laurent en Ploëmel, propriété du Conseil Départemental du Morbihan, depuis 2015. Le site de Toul Chignan situé au sein des alignements de Carnac, bénéficie de façon courante d'une gestion par pâturage ovin (Gallet, 2010). L'établissement d'une gestion sur ces sites permettra de tester de nouveaux paramètres, tels que l'effet du pâturage sur la dispersion d'*Eryngium viviparum* (*i.e.* modalité testée à Saint-Laurent), ou l'effet d'un pâturage par les moutons sur la dynamique de la population réintroduite à Carnac.

Finalement, ces expérimentations ont permis de définir un ensemble de modalités pour maximiser l'efficacité des techniques de réintroduction pour *Eryngium viviparum* et leur succès, au moins sur le court terme. Les quatre sites choisis selon des critères principalement fonciers et phytosociologiques (Hardegen *et al.*, 2011) ont globalement permis d'obtenir des conditions favorables à l'installation d'*Eryngium viviparum*, à l'exception du site de Lann Cosquer à Plouharnel (sous-réserve de suivis ultérieurs). Comme souvent souligné lors d'opérations de réintroductions (Godefroid *et al.*, 2011a), les raisons pour lesquelles l'espèce n'a pas pu se réinstaller sur le site n'ont pas pu être clairement comprises (Rasclé *et al.*, 2018).

Dans le but de renforcer le réseau de populations, la réintroduction pourrait également être poursuivie sur un échantillon plus large de sites. La contrainte foncière est souvent évoquée lors d'opérations de réintroduction (Maunder, 1992), mais dans le cas d'*Eryngium viviparum* celle-ci a été

anticipée, puisque plusieurs autres sites ont déjà fait l'objet d'une acquisition foncière pour sa réintroduction, et présentent aujourd'hui encore, un potentiel d'accueil pour l'espèce (Perrin & Magnanon, 2007 ; Hardegen *et al.*, 2011). La réintroduction sur de nouveaux sites peut cependant s'avérer être une contrainte puisqu'elle implique de mettre en place un suivi régulier des populations réintroduites, ainsi qu'une gestion.

Au vu des risques de dépression hybride, la seule source génétique actuellement envisageable, reste celle de la population des Quatre chemins. Or, la faible diversité génétique de cette population amène à s'interroger sur le maintien démographique des populations réintroduites.

Celles-ci pourraient en effet, du fait d'une taille plus petite, rencontrer plus rapidement les mêmes risques que la population des Quatre chemins. L'effet négatif de la petite taille des populations sur la génétique est reconnu (Ellstrand & Elam, 1993). Dans le cas d'*Eryngium viviparum* les quelques populations ibériques de petite taille, en contexte pourtant plus connecté que les Quatre chemins, ont effectivement montré une diversité génétique réduite par rapport à des populations abondantes.

La dépression de consanguinité pourrait être évitée par l'introduction d'un mélange entre les individus originaires des Quatre chemins et de populations ibériques. Dans cet objectif, Godefroid *et al.* (2011) suggèrent que les populations recrées à partir de plusieurs sources génétiques soient éloignées géographiquement des populations naturelles. Le risque de dépression hybride reste cependant présent vis-à-vis de l'importante différenciation observée entre la dernière population morbihannaise et les populations galiciennes (Weeks *et al.*, 2011).

Augmenter le nombre de populations reste malgré tout pertinent pour augmenter les chances de maintien de l'espèce dans le Morbihan. Mais, les résultats de la thèse amènent à s'interroger sur la possibilité de rétablir une métapopulation fonctionnelle. Rétablir une connectivité entre les populations apparaît difficilement réalisable, compte tenu de l'éloignement entre les habitats disponibles, limitant la dispersion des graines et du pollen, ajouté à la faible capacité colonisatrice de l'espèce. Aucun lien écologique ou biologique ne semble, à ce jour, lier les sites entre eux.

Les populations d'*Eryngium viviparum* apparaissent naturellement isolées sur l'ensemble de son aire de répartition. Les espèces dont l'aire géographique est naturellement fragmentée présentent généralement une capacité à se maintenir dans un contexte isolé, à condition que le niveau de diversité génétique reste suffisant (Gillespie *et al.*, 2008 ; Gordon *et al.*, 2012). Néanmoins, préserver la population des Quatre chemins dans son état actuel apparaît primordial afin de conserver sa spécificité génétique, même si ses individus n'ont pas montré d'allèles exclusifs à la population avec l'utilisation des microsatellites.

6. Conclusions

Concernant la conservation d'*Eryngium viviparum* en France, les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse sont encourageants quant au maintien de la dernière population, à condition que la gestion actuelle soit maintenue. Malgré une faible diversité génétique elle ne montre en effet pas encore les signes d'une perte de viabilité. Elle reste néanmoins fragile aux modifications de l'environnement à venir, avec un potentiel évolutif faible. Le statut de l'espèce en France reste donc critique et la poursuite des actions de conservation est nécessaire.

Le cas particulier d'*Eryngium viviparum* s'est révélé être un bon modèle d'étude en biologie de la conservation. La complémentarité des approches utilisées s'est montrée indispensable pour évaluer le statut de l'espèce au sein de sa dernière population. Il permet d'appuyer les théories relatives à l'effet de l'isolement sur la dynamique des populations.

Une des difficultés en biologie de la conservation, est de légitimer la conservation d'une espèce telle qu'*Eryngium viviparum*, pour laquelle aucun rôle écologique fonctionnel ni aucune caractéristique esthétique ou économique ne sont connus. Cependant, à travers son historique de conservation et en tant que témoin des pratiques agricoles traditionnelles, *E. viviparum* montre les caractéristiques d'une espèce « porte-drapeau » (Magnanon *et al.*, 2013), mais également d'une espèce « charismatique ». Ce dernier concept est utilisé depuis l'émergence de la biologie de la conservation, au cours des années 1980, et évoque alors des espèces « populaires, charismatiques, servant de symbole et de point de ralliement pour stimuler la sensibilisation et l'action de conservation » (Heywood & Watson, 1995). Leur protection permet de protéger également l'habitat et les espèces compagnes, comme dans le cas d'*E. viviparum* (Magnanon & Guillevic, 2012).

Les espèces charismatiques bénéficient *a priori* plus facilement d'un soutien financier pour leur conservation car elles « suscitent l'intérêt et la sympathie », et deviennent généralement « l'élément central d'un programme de conservation » (Simberloff, 1998 ; Bowen-Jones & Entwistle, 2002). Ce terme est ordinairement attribué pour les grands mammifères à l'échelle internationale, tels que le grand Panda, l'Ours polaire ou les Tigres (Caro *et al.*, 2005 ; Clucas *et al.*, 2008). Il correspond à ce qui est observé pour *Eryngium viviparum* à une échelle locale.

L'intérêt porté à cette espèce se retrouve dans la volonté des acteurs à poursuivre le projet de conservation mis en place depuis l'application de l'arrêté préfectoral de protection de biotope mis en œuvre à Belz, soit depuis trois décennies, période au cours de laquelle la mise en œuvre du PNA s'est

révélée être un tournant essentiel. Sans l'ensemble de ces actions, la population actuelle n'existerait probablement plus, et le rétablissement de nouvelles populations n'aurait pas débuté.

S'il y a un demi-siècle, cette espèce discrète aux exigences écologiques peu communes, récemment découverte et encore méconnue, risquait de disparaître, aujourd'hui il est envisagé de l'utiliser comme un emblème local dans le Morbihan (Izard *et al.*, 2018), dans le but de favoriser la perception du site des Quatre chemins par ses usagers.

Néanmoins, la conservation d'*Eryngium viviparum* sur le long terme nécessitera la pérennisation de la mobilisation des acteurs actuellement engagés : associations, gestionnaires, services de l'état, financeurs, scientifiques, experts, propriétaires...

RÉFÉRENCES

- Aavik T., Talve T., Thetloff M., Uuemaa E. & Oja T. 2017. Genetic consequences of landscape change for rare endemic plants – A case study of *Rhinanthus osiliensis*. *Biological Conservation* 210, 125–135.
- des Abbayes H., Claustres G., Corillon R. & Dupont P. 1971. *Flore et végétation du Massif armoricain*. Tome 1, Flore vasculaire, Editions d'art Henry des Abbayes. Saint-Brieuc, 1226p.
- Abeli T. & Dixon K. 2016. Translocation ecology: the role of ecological sciences in plant translocation. *Plant Ecology* 217(2), 123–125.
- Abeli T., Cauzzi P., Rossi G., Adorni M., Vagge I., Parolo G. & Orsenigo S. 2016. Restoring population structure and dynamics in translocated species: learning from wild populations. *Plant Ecology* 217(2), 183–192.
- Abrahamson W.A. 1980. Demography and vegetative reproduction. In Solbrig, O. T. (eds). *Demography and evolution in plant populations*. Blackwell Scientific Publications, California. p. 89–106.
- Adler P.B., Salguero-Gómez R., Compagnoni A., Hsu J.S., Ray-Mukherjee J., Mbeau-Ache C. & Franco M. 2014. Functional traits explain variation in plant life history strategies. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* 111(2), 740–745.
- Agren J. 1996. Population size, pollinator limitation, and seed set in the self- incompatible herb *Lythrum Salicaria*. *Ecology* 77(6), 1779–1790.
- Aguiar C. 2003. 1. De Novarum Flora Lusitana Commentarii - I: 9. O *Eryngium viviparum* Gay afinal não está extinto em Portugal. *Silva Lusitana* 11(2), 231–232.
- Aguilar R., Ashworth L., Galetto L. & Aizen M.A. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: Review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters* 9(8), 968–980.
- Aguilar R., Quesada M., Ashworth L., Herrerias-Diego Y. & Lobo J. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: Susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology* 17(24), 5177–5188.
- Agurajua R. 2011. Reintroduction of the endangered fern species *Woodsia ilvensis* to Estonia: A long-term pilot study. *Biodiversity and Conservation* 20(2), 391–400.
- Aizen M. a & Vazquez D.P. 2006. Flower performance in human-altered habitats. *Evolution and Ecology of Flowers*, 159–180.
- Alley H. & Affolter J.M. 2004. Experimental comparison of reintroduction methods for the endangered *Echinacea laevigata* (Boynton and Beadle) Blake. *Natural Areas Journal* 24(4), 345–350.
- Andrello M., Bizoux J.P., Barbet-Massin M., Gaudeul M., Nicolè F. & Till-Bottraud I. 2012. Effects of management regimes and extreme climatic events on plant population viability in *Eryngium alpinum*. *Biological Conservation* 147(1), 99–106.

- Annezo N., Lesouef J.Y. & Rivière G. 1995. *Eryngium viviparum* Gay. In Olivier, L., Galland, J.-P ; & Maurin, H. (eds). *Livre Rouge de la Flore Menacée de France. Muséum National d'Histoire Naturelle, IEGB, Paris*. p. 181.
- Antonovics J. 1976. The Input from Population Genetics: 'The New Ecological Genetics'. *Systematic Botany* 1(3), 233–245.
- Araujo M.B., Thuiller W., Williams P.H. & Reginster I. 2005. Downscaling European species atlas distributions to a finer resolution: Implications for conservation planning. *Global Ecology and Biogeography* 14(1), 17–30.
- Auge H., Neuffer B., Erlinghagen F., Grupe R. & Brandl R. 2001. Demographic and random amplified polymorphic DNA analyses reveal high levels of genetic diversity in a clonal violet. *Molecular Ecology* 10(7), 1811–1819.
- Ayuso M., Ramil-Rego P., Landin M., Gallego P.P. & Barreal M.E. 2017. Computer-Assisted Recovery of Threatened Plants: Keys for Breaking Seed Dormancy of *Eryngium viviparum*. *Frontiers in Plant Science* 8. 2092.
- Baker A.M., Barrett S.C.H. & Thompson J.D. 2000. Variation of pollen limitation in the early flowering Mediterranean geophyte *Narcissus assoanus* (Amaryllidaceae). *Oecologia* 124(4), 529–535.
- Bakker V.J. & Doak D.F. 2009. Population viability management: Ecological standards to guide adaptive management for rare species. *Frontiers in Ecology and the Environment* 7(3), 158–165.
- Balloux F., Lehmann L. & De Meeûs T. 2003. The population genetics of clonal and partially clonal diploids. *Genetics* 164(4), 1635–1644.
- Barnosky A.D., Matzke N., Tomiya S., Wogan G.O.U., Swartz B., Quental T.B., Marshall C., McGuire J.L., Lindsey E.L., Maguire K.C., Mersey B. & Ferrer E. a 2011. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature* 471(7336), 51–57.
- Barrett S.C.H. 1998. The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science* 3(9), 335–341.
- Barrett S.H. & Kohn J. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In Falk, D. A. and Holsinger, K. E. (eds) *Genetics and Conservation of Rare Plants*, Oxford University Press, Oxford. pp. 3–30.
- Barve N., Bonilla A.J., Brandes J., Brown J.C., Brunzell N., Cochran F. V., Crosthwait R.J., Gentry J., Gerhart L.M., Jackson T., Kern A.J., Oberhauser K.S., Owens H.L., Peterson A.T., Reed A.S., Soberón J., Sundberg A.D. & Williams L.M. 2012. Climate-change and mass mortality events in overwintering monarch butterflies. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 83(3), 817–824.
- Baskin C.C. & Baskin J.M. 2014. *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Elsevier. 1600p.
- Bauder E.T. 1989. Drought stress and competition effects on the local distribution of *Pogogyne abramsii*. *Ecology* 70(4), 1083–1089.

- Bauder E.T. 2005. The effects of an unpredictable precipitation regime on vernal pool hydrology. *Freshwater Biology* 50(12), 2129–2135.
- Beattie A.J. 2006. The evolution of ant pollination systems. *Botanische Jahrbücher* 127(1). 43–55.
- Becquet L. 1936. Au pays de *Eryngium viviparum*. *Bulletin de la société botanique du Centre-Ouest* 6, 157–158.
- Beissinger S.R. & Westphal M.I. 1998. On the use of demographic models of population viability in endangered species management. *Journal of Wildlife Management* 62(3), 821–841.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F. 1996. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire génome, populations, interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France. URL: <http://www.genetix.univmontp2.fr/genetix/intro.htm>.
- Bell C.R. 1971. Breeding systems and floral biology of the Umbelliferae or evidence for specialization in unspecialized flowers. *Botanical Journal of the Linnean Society* 64(4), 1–7.
- Bengtsson B.O. & Ceplitis A. 2000. The balance between sexual and asexual reproduction in plants living in variable environments. *Journal of Evolutionary Biology* 13(3), 415–422.
- Bennett N.J., Roth R., Klain S.C., Chan K., Christie P., Clark D.A., Cullman G., Curran D., Durbin T.J., Epstein G., Greenberg A., Nelson M.P., Sandlos J., Stedman R., Teel T.L., Thomas R., Veríssimo D. & Wyborn C. 2017. Conservation social science: Understanding and integrating human dimensions to improve conservation. *Biological Conservation* 205. 93–108.
- Biederman L.A. & Whisenant S.G. 2011. Using mounds to create microtopography alters plant community development early in restoration. *Restoration Ecology* 19(101), 53–61.
- Bieker V.C. & Martin M.D. 2018. Implications and future prospects for evolutionary analyses of DNA in historical herbarium collections. *Botany Letters*. 1-10.
- Biesmeijer J.C., Roberts S.P.M., Reemer M., Ohlemüller R., Edwards M., Peeters T., Schaffers A.P., Potts S.G., Kleukers R., Thomas C.D., Settele J. & Kunin W.E. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313(5785), 351–354.
- Bilz M., Kell S.P., Maxted N. & Lansdown R.V. 2011. European Red List of Vascular Plants. *Publications Office of European Union*. 130p.
- Bledsoe B.P. & Shear T.H. 2000. Vegetation along hydrologic and edaphic gradients in a North Carolina coastal plain creek bottom and implications for restoration. *Wetlands* 20(1), 126–147.
- Bonnier G. & de Layens G. 1982. *Flore complète portative de la France, de la Suisse et de la Belgique*. Librairie générale de l'Enseignement. 425p.

- Bonnin I., Colas B., Bacles C., Holl A.C., Hendoux F., Destiné B. & Viard F. 2002. Population structure of an endangered species living in contrasted habitats: *Parnassia palustris* (Saxifragaceae). *Molecular Ecology* 11(6), 979-990
- Bossuyt B. 2007. Genetic rescue in an isolated metapopulation of a naturally fragmented plant species, *Parnassia palustris*. *Conservation Biology* 21(3), 832-841.
- Bottin L., Le Cadre S., Quilichini A., Bardin P., Moret J. & Machon N. 2007. Re-establishment trials in endangered plants: A review and the example of *Arenaria grandiflora*, a species on the brink of extinction in the Parisian region (France). *Ecoscience* 14(4), 410-419.
- Bourg N.A., Mcshea W.J. & Gill D.E. 2005. Putting a CART before the search: Successful habitat prediction for a rare forest herb. *Ecology* 86(10), 2793-2804.
- Bowen-Jones E. & Entwistle A. 2002. Identifying appropriate flagship species: The importance of culture and local contexts. *ORYX* 36(2), 189-195.
- Bowles M.L., Betz R.F. & DeMauro M.M. 1993. Propagation of rare plants from historic seed collections: Implications for species restoration and herbarium management. *Restoration Ecology* 1(2), 101-106.
- Breed M.F., Stead M.G., Ottewell K.M., Gardner M.G. & Lowe A.J. 2013. Which provenance and where? Seed sourcing strategies for revegetation in a changing environment. *Conservation Genetics* 14(1), 1-10.
- Bronfenbrenner U. 1976. The Experimental Ecology of Educatim. *Educational Researcher* 5(9), 5-15.
- Brook B.W., O'Grady J.J., Chapman A.P., Burgman M.A., Akçakaya H.R. & Frankham R. 2000. Predictive accuracy of population viability analysis in conservation biology. *Nature* 404(6776), 385-7.
- Brooks R.T. 2004. Weather-Related Effects on Woodland Vernal Pool Hydrology and Hydroperiod. *Wetlands* 24(1), 104-114.
- Brooks R.T. 2009. Potential impacts of global climate change on the hydrology and ecology of ephemeral freshwater systems of the forests of the northeastern United States. *Climatic Change* 95(3-4), 469-483.
- Brown A.H.D. & Marshall D.R. 1995. A basic sampling strategy: theory and practice. In *Collecting plant genetic diversity: Technical guidelines*. CAB International. pp. 75-91.
- Brown J.H. 1984. On the Relationship between Abundance and Distribution of Species. *The American Naturalist* 124(2), 255-279.
- Brys R., Jacquemyn H., Endels P., Hermy M. & De Blust G. 2003. The relationship between reproductive success and demographic structure in remnant populations of *Primula veris*. *Acta Oecologica* 24(5-6), 247-253.
- Brys R., Jacquemyn H., Endels P., De Blust G. & Hermy M. 2004. The effects of grassland management on plant performance and demography in the perennial herb *Primula veris*. *Journal of Applied Ecology* 41(6), 1080-1091.

- Buckley R.C. & Werger M.A.J. 1982. Ant-plant interactions: a world review. In *Ant-plant interactions in Australia*. Springer, Dordrecht. pp. 111-141.
- Bühler C. & Schmid B. 2001. The influence of management regime and altitude on the population structure of *Succisa pratensis*: Implications for vegetation monitoring. *Journal of Applied Ecology* 38(4), 689–698.
- Buján M.I.R. & Real C. 2014. Morphometric characterization of *Eryngium viviparum* (Umbelliferae): Description of a new subspecies from the Iberian Peninsula. *Phytotaxa* 158(3), 245–254.
- Bullock J.M., Hill B.C. & Silvertown J. 1994. Demography of *Cirsium vulgare* in a grazing experiment. *Journal of Ecology* 82(1), 101–111.
- Buord S., Couderc M., Couderc H. & Reduron J.P. 1999. Incidences conservatoires et systématiques d'une étude morphologique, biologique et cytogénétique de l'*Eryngium viviparum* Gay, taxon au bord de l'extinction. *Bulletin de la société botanique du Centre-Ouest* (Numéro spéc. 19), 197–208.
- Butaye J., Adriaens D. & Honnay O. 2007. Conservation and restoration of calcareous grasslands: a concise review of the effects of fragmentation and management on plant species. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 9(2), 111-118.
- Butchart S.H.M., Walpole M., Collen B., Van Strien A., Scharlemann J.P.W., Almond R.E.A., Baillie J.E.M., Bomhard B., Brown C., Bruno J., Carpenter K.E., Carr G.M., Chanson J., Chenery A.M., Csirke J., Davidson N.C., Dentener F., Foster M., Galli A., Galloway J.N., Genovesi P., Gregory R.D., Hockings M., Kapos V., Lamarque J.F., Leverington F., Loh J., McGeoch M.A., McRae L., Minasyan A., Morcillo M.H., Oldfield T.E.E., Pauly D., Quader S., Revenga C., Sauer J.R., Skolnik B., Spear D., Stanwell-Smith D., Stuart S.N., Symes A., Tierney M., Tyrrell T.D., Vié J.C. & Watson R. 2010. Global biodiversity: Indicators of recent declines. *Science*, 1187512.
- Cain M.L., Dudle D.A. & Evans J.P. 1996. Spatial models of foraging in clonal plant species. *American Journal of Botany* 83(1), 76–85.
- Calviño C.I., Martínez S.G. & Downie S.R. 2008. The evolutionary history of *Eryngium* (Apiaceae, Saniculoideae): Rapid radiations, long distance dispersals, and hybridizations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 46(3), 1129–1150.
- Caro T., Eadie J. & Sih A. 2005. Use of substitute species in conservation biology. *Conservation Biology* 19(6), 1821–1826.
- Caswell H. 2001. *Matrix population models*. Sinauer. 722p.
- Chambers F.M., Mauquoy D. & Todd P.A. 1999. Recent rise to dominance of *Molinia caerulea* in environmentally sensitive areas: New perspectives from palaeoecological data. *Journal of Applied Ecology* 36(5), 719-733.
- Chambers J.C., Macmahon J.A. & Brown R.W. 1990. Alpine seedling establishment: the influence of disturbance type. *Ecology* 71(4), 1323–1341.
- Chapin F.S., Autumn K. & Pugnaire F. 1993. Evolution of Suites of Traits in Response to Environmental Stress. *The American Naturalist* 142, S78–S92.

- Charlesworth D. & Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18(1), 237–268.
- Charpentier A. 2001. Consequences of clonal growth for plant mating. In *Evolutionary Ecology*, pp. 521–530.
- Cheptou P.O. 2004. Allee effect and self-fertilization in hermaphrodites: reproductive assurance in demographically stable populations. *Evolution* 58(12), 2613–2621.
- Christensen N.L., Bartuska A.M., Brown J.H., Carpenter S., D’Antonio C., Francis R., Franklin J.F., MacMahon J.A., Noss R.F., Parsons D.J., Peterson C.H., Turner M.G. & Woodmansee R.G. 1996. The report of the ecological society of america committee on the scientific basis for ecosystem management. *Ecological Applications* 6(3), 665–691.
- Ciais P., Reichstein M., Viovy N., Granier A., Ogée J., Allard V., Aubinet M., Buchmann N., Bernhofer C., Carrara A., Chevallier F., De Noblet N., Friend A.D., Friedlingstein P., Grünwald T., Heinesch B., Keronen P., Knohl A., Krinner G., Loustau D., Manca G., Matteucci G., Miglietta F., Ourcival J.M., Papale D., Pilegaard K., Rambal S., Seufert G., Soussana J.F., Sanz M.J., Schulze E.D., Vesala T. & Valentini R. 2005. Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature* 437(7058), 529–533.
- Clark C.J., Poulsen J.R., Levey D.J. & Osenberg C.W. 2007. Are plant populations seed limited? A critique and meta-analysis of seed addition experiments. *The American naturalist* 170(1), 128–42.
- Clément B. & Touffet J. 1983. Des éléments de la classe des Littorelletea en Bretagne. *Coll. Phytosociol* 10, 295–317.
- Clucas B., McHugh K. & Caro T. 2008. Flagship species on covers of US conservation and nature magazines. *Biodiversity and Conservation* 17(6), 1517–1528.
- Coelho F.F., Neves A.C.O., Capelo C. & Figueira J.E.C. 2005. Pseudovivipary in two rupestrian endemic species (*Leiothrix spiralis* and *Leiothrix vivipara*). *Current Science* 88(8), 1225–1226.
- Cogoni D., Fenu G., Concas E. & Bacchetta G. 2013. The effectiveness of plant conservation measures: the *Dianthus morisianus* reintroduction. *Oryx* 47(02), 203–206.
- Colas B., Kirchner F., Riba M., Olivieri I., Mignot A., Imbert E., Beltrame C., Carbonell D. & Fréville H. 2008. Restoration demography: A 10-year demographic comparison between introduced and natural populations of endemic *Centaurea corymbosa* (Asteraceae). *Journal of Applied Ecology* 45(5), 1468–1476.
- Conea Suciú S., Pârvu A.E. & Bolboacă S. 2016. Anti-inflammatory effects of *Eryngium planum* L. and *E. maritimum* L. (Apiaceae) extracts in turpentine-oil induced acute inflammation in rats. *Farmacía* 64(2), 291–293.
- Cook E.R. 1985. Growth and Development in clonal Plant populations. *EIGHT*, 259–296.
- Coste l’abbé H. & Flahault C. 1903. *Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse, et des contrées limitrophes*, tome II. Klincksieck, Paris. 627p.

- Cozzolino S., Cafasso D., Pellegrino G., Musacchio A. & Widmer A. 2007. Genetic variation in time and space: The use of herbarium specimens to reconstruct patterns of genetic variation in the endangered orchid *Anacamptis palustris*. *Conservation Genetics* 8(3), 629-639.
- Crone E.E., Menges E.S., Ellis M.M., Bell T., Bierzychudek P., Ehrlén J., Kaye T.N., Knight T.M., Lesica P. & Morris W.F. 2011. How do plant ecologists use matrix population models? *Ecology Letters* 14(1), 1–8.
- Crutzen P.J. 2006. The « Anthropocene ». In *Earth system science in the anthropocene* Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 13-18.
- Csergő A.M., Salguero-Gómez R., Broennimann O., Coultts S.R., Guisan A., Angert A.L., Welk E., Stott I., Enquist B.J., McGill B., Svenning J.C., Violle C. & Buckley Y.M. 2017. Less favourable climates constrain demographic strategies in plants. *Ecology Letters* 20(8), 969–980.
- Dalrymple S.E., Banks E., Stewart G.B. & Pullin A.S. 2012. A Meta-Analysis of the threatened plant reintroductions from across the globe. In *Plant Reintroduction in a Changing Climate: Promises and perils* (eds. J. Maschinski & K. E. Haskins). Island Press, Washington D.C., U.S.A. pp.31-50.
- Damman H. & Cain M.L. 1998. Population growth and viability analyses of the clonal woodland herb, *Asarum canadense*. *Journal of Ecology* 86(1), 13–26.
- Davy A.J. 2008. 12 Establishment and manipulation of plant populations and communities in terrestrial systems. In *Handbook of ecological restoration*, Cambridge University Press. Pp. 223-238.
- Dawilai S., Muangnoi C., Praengamthanachoti P. & Tuntipopipat S. 2013. Anti-inflammatory activity of bioaccessible fraction from *eryngium foetidum* leaves. *BioMed Research International* 2013. 958567.
- Deák B., Valkó O., Török P., Kelemen A., Miglécz T., Szabó S., Szabó G. & Tóthmérész B. 2015. Micro-topographic heterogeneity increases plant diversity in old stages of restored grasslands. *Basic and Applied Ecology* 16(4), 291-299.
- Díaz S., Lavorel S., McIntyre S., Falczuk V., Casanoves F., Milchunas D.G., Skarpe C., Rusch G., Sternberg M., Noy-Meir I., Landsberg J., Zhang W., Clark H. & Campbell B.D. 2007. Plant trait responses to grazing - A global synthesis. *Global Change Biology* 13(2), 313–341.
- Dinnézt P. & Nilsson T. 2002. Population viability analysis of *Saxifraga cotyledon*, a perennial plant with semelparous rosettes. *Plant Ecology* 159(1), 61–71.
- Dobson A.P., Bradshaw A.D. & Baker A.J.M. 1997. Hopes for the future : Restoration ecology and conservation biology. *Science* 277, 515–522.
- Doebeli M. & Dieckmann U. 2003. Speciation along environmental gradients. *Nature* 421(6920), 259.
- Doherty J.M. & Zedler J.B. 2015. Increasing substrate heterogeneity as a bet-hedging strategy for restoring wetland vegetation. *Restoration Ecology* 23(1), 15-25.

- Dollard J.J. & Carrington M.E. 2013. Experimental Reintroduction of Beach Pea (*Lathyrus japonicus*) to the Indiana Dunes National Lakeshore. *Ecological Restoration* 31(4), 368–377.
- Doyle J.J. & Doyle J.L. 1990. Isolation of Plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12, 13–15.
- Draper Munt D., Marques I. & Iriondo J.M. 2016. Acquiring baseline information for successful plant translocations when there is no time to lose: the case of the neglected Critically Endangered *Narcissus cavanillesii* (Amaryllidaceae). *Plant Ecology* 217(2), 193–206.
- Drayton B. & Primack R.B. 2012. Success rates for reintroductions of eight perennial plant species after 15 years. *Restoration Ecology* 20(3), 299–303.
- Dugan P.J. 1990. *Wetland Conservation: a review of current issues and required action*. Gland, Switzerland: IUCN, 96p.
- Dupont P. 1962. *La flore atlantique Européenne. Introduction a l'étude du secteur Ibero-Atlantique*. Faculté des sciences de Toulouse. 414p.
- Dupont P. 2015. *Les plantes vasculaires atlantiques, les pyrénéo-cantabriques et les éléments floristiques voisins dans la Péninsule ibérique et en France*. Bulletin de la Société botanique du centre-ouest, numéro spécial 45. 494 p.
- Dyer M.I., Turner C.L. & Seastedt T.R. 1993. Herbivory and its consequences. *Ecological Applications* 3(1), 10–16.
- Earl D.A. & VanHoldt B.M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4(2), 359–361.
- Eckert C.G. 2002. The loss of sex in clonal plants. *Evolutionary Ecology* 15, 501–520.
- Eckert C.G., Samis K.E. & Loughheed S.C. 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: The central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology* 17(5), 1170–1188.
- Edmands S. 2007. Between a rock and a hard place: Evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. *Molecular Ecology* 16(3), 463–475.
- Ellstrand N.C. & Roose M.L. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany* 74(1), 123.
- Ellstrand N.C. & Elam D.R. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24(1), 217–242.
- Elmqvist T. & Cox P.A. 1996. The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos* 77(1), 3–9.
- Elouard E., Guillevic Y., Magnanon S. & Montfort C. 2004. *Vers un programme international de conservation du Panicaut Vivipare (Eryngium viviparum)*. *Compte-rendu de la visite des stations ibériques d' Eryngium viviparum*. Brest, 17p.
- Elton C. 1927. Animal Ecology. *Animal Ecology*, 207.

- Eriksson O. 1992. Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. *Oikos* 63(3), 439–448.
- Eriksson O. 1997. Clonal life histories and the evolution of seed recruitment. In *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*. Blackhuys Publishers, Leiden. pp. 211–226.
- Escudero A., Iriondo J.M. & Torres M.E. 2003. Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. *Biological Conservation* 113(3), 351–365.
- Evanno G., Regnaut S. & Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology* 14(8), 2611–2620.
- Evans M.E.K., Menges E.S. & Gordon D.R. 2003. Reproductive biology of three sympatric endangered plants endemic to Florida scrub. *Biological Conservation* 111(2), 235–246.
- Everard M. 2017. *Ecosystem services: key issues*. Routledge, 188p.
- Fahrig L. 2002. Effect of habitat fragmentation on the extinction threshold: A synthesis. *Ecological Applications* 12(2). 346–353.
- Fahrig L. 2003. Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34(1), 487–515.
- Fahselt D. 2007. Is transplanting an effective means of preserving vegetation? *Canadian Journal of Botany* 85(10), 1007–1017.
- Falk A.I.D. & Holsinger K.E. 1991. Conservation of rare and endangered plants: Principles and prospects. In *Genetics and Conservation of Rare Plants*, pp. 304.
- Falk D.A., Millar C.I. & Olwell M. 1996. *Restoring Diversity: Strategies for Reintroduction of Endangered Plants*, 2nd ed. Washington, D.C.: Island Press, 505p.
- Falk D.A., Richards C.M., Montalvo A.M. & Knapp E.E. 2006. Population and ecological genetics in restoration ecology. *Foundations of Restoration Ecology*, 14–41.
- Fiedler P.L. 1987. Life History and Population Dynamics of Rare and Common Mariposa Lilies (*Calochortus* Pursh: Liliaceae). *The Journal of Ecology* 75(4), 977.
- Finlay C.M.V., Bradley C.R., Jane Preston S. & Provan J. 2017. Low genetic diversity and potential inbreeding in an isolated population of alder buckthorn (*Frangula alnus*) following a founder effect. *Scientific Reports* 7(1), 3010.
- Fischer S.F., Poschlod P. & Beinlich B. 1996. Experimental studies on the dispersal of plants and animals on sheep in calcareous grasslands. *Journal of Applied Ecology* 33(5), 1206–1222.
- Floyd S.K. & Ranker T.A. 1998. Analysis of a transition matrix model for *Gaura neomexicana* ssp. *coloradensis* (Onagraceae) reveals spatial and temporal demographic variability. *International Journal of Plant Sciences* 159(5), 853–863.
- Forman R.T.T. 1995. Some general principles of landscape and regional ecology. *Landscape Ecology* 10(3), 133–142.
- Fowler N.L. 1988. What is a safe site?: neighbor, litter, germination date, and patch effects. *Ecology* 69(4), 947–961.

- Fox J. 2015. *Applied regression analysis and generalized linear models*. Sage Publications. 665p.
- Frankham R. 1996. Relationship of Genetic Variation to Population Size in Wildlife. *Conservation Biology* 10(6), 1500–1508.
- Frankham R. 2005a. Genetics and extinction. *Biological Conservation* 126(2), 131–140.
- Frankham R. 2005b. Stress and adaptation in conservation genetics. In *Journal of Evolutionary Biology*, pp. 750–755.
- Frankham R. & Ralls K. 1998. Inbreeding leads to extinction. *Nature* 392(6675), 441–442.
- Frankham R., Ballou J.D., Eldridge M.D.B., Lacy R.C., Ralls K., Dudash M.R. & Fenster C.B. 2011. Predicting the Probability of Outbreeding Depression. *Conservation Biology* 25(3), 465–475.
- Friar E.A., Ladoux T., Roalson E.H. & Robichaux R.H. 2000. Microsatellite analysis of a population crash and bottleneck in the Mauna Kea silversword, *Argyroxiphium sandwicense* ssp. *sandwicense* (Asteraceae), and its implications for reintroduction. *Molecular Ecology* 9(12), 2027–2034.
- Funk D.J., Nosil P. & Etges W.J. 2006. Ecological divergence exhibits consistently positive associations with reproductive isolation across disparate taxa. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(9), 3209–3213.
- Le Gall M.N.J. 1852. *Flore du Morbihan*, ed. J.-M. Galles, Vannes. 838p.
- Gallet S. 2010. Combiner tourisme et conservation patrimoniale: Exemple d'une gestion écologique de la fréquentation sur le site mégalithique de Carnac. *Téoros: Revue de recherche en tourisme* 29(2), 139–146.
- García M.D., Sáenz M.T., Gómez M.A. & Fernández M.A. 1999. Topical antiinflammatory activity of phytosterols isolated from *Eryngium foetidum* on chronic and acute inflammation models. *Phytotherapy Research* 13(1), 78–80.
- García Murillo P., Molina J. & Pinto Cruz C. 2016. *Eryngium galioides*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T167933A86519817*.
- Gardner S.N. & Mangel M. 1999. Modeling investments in seeds, clonal offspring, and translocation in a clonal plant. *Ecology* 80(4), 1202–1220.
- Gaudeul M. & Till-Bottraud I. 2004. Reproductive ecology of the endangered alpine species *Eryngium alpinum* L.(Apiaceae): phenology, gene dispersal and reproductive success. *Annals of Botany* 93(6), 711–721.
- Gaudeul M. & Till-Bottraud I. 2008. Genetic structure of the endangered perennial plant *Eryngium alpinum* (Apiaceae) in an alpine valley. *Biological Journal of the Linnean Society* 93(4), 667–677.
- Gautier C. 2013. *Optimisation des conditions de germination d'Eryngium viviparum en laboratoire*. Conservatoire botanique national de Brest, Brest. 94p.

- Géhu J.-M. & Rivas-Martínez S. 1981. Notions fondamentales de phytosociologie. *Berichte der Internationalen Symposien der Internationalen Vereinigung für Vegetationskunde. Syntaxonomie*, 5–33.
- Géhu J.M. 1986. Des complexes de groupements végétaux à la phytosociologie paysagère contemporaine. *Informatore botanico italiano* 18(1–2–3), 53–83.
- Géhu J.M. & Bioret F. 1992. Étude synécologique et phytocoenotique des communautés à Salicornes des vases salées du littoral breton. *Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest. Numéro Spécial* 23, 347–419.
- Géhu J.M. & Magnanon S. 2008. Données archéophytosociologiques sur une station morbihannaise d'*Eryngium viviparum*. *Erica* 21, 31–34.
- Gilfedder L., Kirkpatrick J.B. & Wells S. 1997. The endangered Tunbridge buttercup (*Ranunculus prasinus*): Ecology, conservation status and introduction to the Township Lagoon Nature Reserve, Tasmania. *Austral Ecology* 22(3), 347–351.
- Gillespie R.G., Claridge E.M. & Roderick G.K. 2008. Biodiversity dynamics in isolated island communities: Interaction between natural and human-mediated processes. *Molecular Ecology* 17(1), 45–57.
- Gillet F. 2000. La phytosociologie synusiale intégrée: guide méthodologique. *Documents du laboratoire d'écologie végétale*. Université de Neuchâtel. 68 p.
- Gilpin M. & Soulé M. 1986. Minimum viable populations: processes of species extinction. *Conservation Biology: The Science of Scarcity and Diversity* 69, 86.
- Gitzendanner M.A. & Soltis P.S. 2000. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. *American Journal of Botany* 87(6), 783–792.
- Givnish T.J. 2010. Ecology of plant speciation. *Taxon* 59(5), 1326–1366.
- Glemarec E. 2014. *Compte rendu de la mission de prélèvements d'échantillons sur des individus des populations ibériques*. Conservatoire botanique national de Brest, Brest. 32p.
- Glemarec E. 2015. *Compte-rendu des visites de sites historiques d'Eryngium viviparum dans le pays d'Auray - Travail préalable à la constitution d'un réseau de sites refuge*. Conservatoire botanique national de Brest, Brest. 49p.
- Glemarec E., Magnanon S., Rasclé P., Ramil-Rego P., Rodríguez Guitián M.A., Ferreiro Da Costa J., Bioret F. & Gallet S. 2017. La phytosociologie, un outil d'aide à la conservation d'*Eryngium viviparum*, J.Gay. *Actes du colloque 'Vegetation and Nature conservation'*, 2016 Saint-Brieuc. Sous presse.
- Godefroid S. & Vanderborcht T. 2011. Plant reintroductions: The need for a global database. *Biodiversity and Conservation* 20(14), 3683–3688.
- Godefroid S., van de Vyver A. & Vanderborcht T. 2010. Germination capacity and viability of threatened species collections in seed banks. *Biodiversity and Conservation* 19(5), 1365–1383.

- Godefroid S., Piazza C., Rossi G., Buord S., Stevens A.D., Agurauja R., Cowell C., Weekley C.W., Vogg G., Iriondo J.M., Johnson I., Dixon B., Gordon D., Magnanon S., Valentin B., Bjureke K., Koopman R., Vicens M., Virevaire M. & Vanderborght T. 2011a. How successful are plant species reintroductions? *Biological Conservation* 144(2), 672–682.
- Godefroid S., van de Vyver A., Stoffelen P., Robbrecht E. & Vanderborght T. 2011b. Testing the viability of seeds from old herbarium specimens for conservation purposes. *Taxon* 60(2), 565–569.
- Godefroid S., Le Pajolec S. & Van Rossum F. 2016. Pre-translocation considerations in rare plant reintroductions: implications for designing protocols. *Plant Ecology* 217(2), 169–182.
- Godt M.J.W. & Hamrick J.L. 1995. The mating system of *Liatris helleri* (Asteraceae), a threatened plant species. *Heredity* 75(4), 398–404.
- Goebel K. 1905. *Organography of plants, Especially of the Archegoniatae and Spermophyta. Part II*. Clarendon. Oxford. 707p.
- Gorbunov Y.N., Dzybov D.S., Kuzmin Z.E. & Smirnov I.A. 2008. *Methodological recommendations for botanic gardens on the reintroduction of rare and threatened plants* Botanic Gardens Conservation International (BGCI). 53p.
- Gordon S.P., Sloop C.M., Davis H.G. & Cushman J.H. 2012. Population genetic diversity and structure of two rare vernal pool grasses in central California. *Conservation Genetics* 13(1), 117–130.
- Gottfried M., Pauli H., Reiter K. & Grabherr G. 1999. A fine-scaled predictive model for changes in species distribution patterns of high mountain plants induced by climate warming. *Diversity and Distributions* 5(6), 241–251.
- Gower J.C. 1971. A General Coefficient of Similarity and Some of Its Properties. *Biometrics* 27(4), 857.
- Grant V. 1981. *Plant speciation*. Columbia University Press. 432p.
- Grinnell J. 1917. The Niche-Relationships of the California Thrasher. *The Auk* 34(4), 427–433.
- Guerrant E.O. & Kaye T.N. 2007. Reintroduction of rare and endangered plants: Common factors, questions and approaches. *Australian Journal of Botany* 55(3), 362–370.
- Guillot G. & Rousset F. 2013. Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution* 4(4), 336–344.
- Guinochet M. 1973. *Phytosociologie*. Masson. 227p.
- Hadjou Belaid A., Maurice S., Fréville H., Carbonell D. & Imbert E. 2018. Predicting population viability of the narrow endemic Mediterranean plant *Centaurea corymbosa* under climate change. *Biological Conservation* 223, 19–33.
- Haack J. & Hengeveld R. 1981. Changes in the occurrences of Dutch plant species in relation to geographical range. *Biological Conservation* 19(3), 189–197.

- Haeckel E. 1866. Generelle Morphologie der Organismen. *Allgemeine Grundzüge der organischen Formen-Wissenschaft, mechanisch begründet durch die von Charles Darwin reformirte Descendenz-Theorie*, 2.
- Hågvar S. 1998. The relevance of the Rio-Convention on biodiversity to conserving the biodiversity of soils. *Applied Soil Ecology* 9(1-3), 1-7.
- Haig S.M. 1998. Molecular contributions to conservation. *Ecology* 79(2), 413–425.
- Hall L.A. 1987. Transplantation of sensitive plants as mitigation for environmental impacts. In *Conservation and Management of Rare and Endangered Plants* (ed. T. S. Elias), California Native Plant Society. pp. 413–420.
- Hamrick J.L. & Godt M.J.W. 1989. Allozyme diversity in plant species. *Plant population genetics, breeding and genetic resources*, 43–64.
- Hamrick J.L. & Godt M.J.W. 1996. Conservation genetics of endemic plant species. In *Conservation Genetics: Case Histories from Nature* (eds. J. C. Avise & J. L. Hamrick). Chapman & Hall, New York. pp. 281–304.
- Hamrick J.L., Linhart Y.B. & Mitton J.B. 1979. Relationships Between Life History Characteristics and Electrophoretically Detectable Genetic Variation in Plants. *Source: Annual Review of Ecology and Systematics* 10, 173–200.
- Hardegen M., Magnanon S., Ragot R. & Gautier C. 2011. *Conservation et restauration du panicaut vivipare (Eryngium viviparum) dans le Morbihan. Contrat nature 2007-2010 – Bilan des actions*. Conservatoire botanique national de Brest, Brest. 72p.
- Hardie D.C. & Hutchings J.A. 2010. Evolutionary ecology at the extremes of species' ranges. *Environmental Reviews* 18, 1-20.
- Harper J.L. 1969. The role of predation in vegetational diversity. *Brookhaven symposia in biology* 22, 48–62.
- Havens K. 1998. The Genetics of Plant Restoration. *Restoration and Management Notes* 16(1), 68–72.
- Hay F.R. & Probert R.J. 1995. Seed maturity and the effects of different drying conditions on desiccation tolerance and seed longevity in foxglove (*Digitalis purpurea* L.). *Annals of Botany* 76(6), 639–647.
- Hay F.R., Probert R.J. & Smith R.D. 1997. The effect of maturity on the moisture relations of seed longevity in foxglove (*Digitalis purpurea* L.). *Seed Science Research* 7(4), 341–350.
- Hegland S.J. & Totland Ø. 2005. Relationships between species' floral traits and pollinator visitation in a temperate grassland. *Oecologia* 145(4), 586-594.
- Hegland S.J., Van Leeuwen M. & Oostermeijer J.G.B. 2001. Population structure of *Salvia pratensis* in relation to vegetation and management of Dutch dry floodplain grasslands. *Journal of Applied Ecology* 38(6), 1277–1289.
- Hegland S.J., Nielsen A., Lázaro A., Bjerknes A.L. & Totland Ø. 2009. How does climate warming affect plant-pollinator interactions? *Ecology Letters* 12(2), 184–195.

- Hensen I., Kilian C., Wagner V., Durka W., Pusch J. & Wesche K. 2010. Low genetic variability and strong differentiation among isolated populations of the rare steppe grass *Stipa capillata* L. in Central Europe. *Plant Biology* 12(3), 526-536.
- Heywood V.H. & Watson R.T. 1995. *Global biodiversity assessment*. Cambridge University Press, Cambridge. 1140p.
- Higgins K. & Lynch M. 2001. Metapopulation extinction caused by mutation accumulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(5), 2928–2933.
- Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G. & Jarvis A. 2005. The WorldClim interpolated global terrestrial climate surfaces. <http://www.worldclim.org>.
- Hirzel A.H., Hausser J., Chessel D. & Perrin N. 2002. Ecological-niche factor analysis: How to compute habitat-suitability maps without absence data? *Ecology* 83(7), 2027–2036.
- Hoffmann A.A. & Blows M.W. 1994. Species borders: ecological and evolutionary perspectives. *Trends in Ecology and Evolution* 9(6), 223–227.
- Holland R.F. & Jain S.K. 1981. Insular Biogeography of Vernal Pools in the Central Valley of California. *The American Naturalist* 117(1), 24.
- Holsinger K.E. 1986. Dispersal and plant mating systems: the evolution of self-fertilization in subdivided populations. *Evolution* 40(2), 405–413.
- Holsinger K.E. & Gottlieb L.D. 1991. Conservation of rare and endangered plants: principles and prospects. In Falk D.A. & Holsinger K.E. (eds). *Genetics and conservation of rare plants*. New York: Oxford University Press. pp : 195-208.
- Honnay O. & Bossuyt B. 2005. Prolonged clonal growth: Escape route or route to extinction? *Oikos* 108(2), 427–432.
- Honnay O. & Jacquemyn H. 2007. Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. *Conservation biology : the journal of the Society for Conservation Biology* 21(3), 823–31.
- Honnay O., Coart E., Butaye J., Adriaens D., Van Glabeke S. & Roldán-Ruiz I. 2006. Low impact of present and historical landscape configuration on the genetics of fragmented *Anthyllis vulneraria* populations. *Biological Conservation* 127(4), 411–419.
- Hooftman D.A.P. & Diemer M. 2002. Effects of small habitat size and isolation on the population structure of common wetland species. *Plant Biology* 4(6), 720–728.
- Hubbell S.P. & Werner P.A. 1979. On measuring the intrinsic rate of increase of populations with heterogeneous life histories. *The American Naturalist* 113(2), 277–293.
- Huenneke L.F. 1991. Ecological implications of genetic variation in plant populations. In *Genetics and Conservation of Rare Plants*, pp. 31–44.
- Hufford K.M. & Mazer S.J. 2003. Plant ecotypes: Genetic differentiation in the age of ecological restoration. *Trends in Ecology and Evolution* 18(3), 147–155.

- Husband B.C. & Schemske D.W. 1996. Evolution of the Magnitude and Timing of Inbreeding Depression in Plants. *Evolution* 50(1), 54.
- Hutchings M.J. 1991. Monitoring plant populations: census as an aid to conservation. In *Monitoring for conservation and ecology*, Springer. pp. 61–76.
- Hutchinson D.W. & Templeton A.R. 1999. Correlation of Pairwise Genetic and Geographic Distance Measures: Inferring the Relative Influences of Gene Flow and Drift on the Distribution of Genetic Variability. *Evolution* 53(6), 1898-1914.
- Hutchinson G.E. 1957. Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 22, 415–427.
- Inoue K., Maki M. & Masuda M. 1996. Evolution of Campanula flowers in relation to insect pollinators on islands. In *Floral biology*. Springer. pp. 377–400.
- IUCN/SSC 1998. *Guidelines for Reintroduction*. Gland, Switzerland and Cambridge, United Kingdom. 10p.
- Izard C. 2011. *Document d'objectifs du site Natura 2000 « Ria d'Étel »*. Syndicat Mixte de la Ria d'Étel, Belz. 157p.
- Izard C., Glemarec E., Bodin S., David J., Gélinaud G., Guillevic Y. & Rasclé P. 2018. *Plan de gestion des landes du Bignac et Quatre chemins*. 193p.
- Jacquemyn H., Brys R. & Hermy M. 2002. Patch occupancy, population size and reproductive success of a forest herb (*Primula elatior*) in a fragmented landscape. *Oecologia* 130(4), 617–625.
- Jarvis A., H.I., Reuter A., Nelson A. & Guevara E. 2016. Hole-filled SRTM for the globe Version 4, available from the CGIAR-CSI SRTM 90m Database. *CGIAR CSI Consortium for Spatial Information*, 1–9.
- Jombart T. 2008. ADEGENET: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24(11), 1403-1405.
- Jovet P. 1939. Notes sur quelques plantes de Carnac (Morbihan). *Bulletin de la société française d'échanges de plantes*, 1–6.
- Julve P. 2017. Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version 2017. *Programme Catminat*.
- Just T. & Raunkiaer C. 1934. The Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography. *American Midland Naturalist* 15(6), 786.
- Kahmen S. & Poschlod P. 2008. Does germination success differ with respect to seed mass and germination season? Experimental testing of plant functional trait responses to grassland management. *Annals of Botany* 101(4), 541–548.
- Kareiva P. & Marvier M. 2012. What Is Conservation Science? *BioScience* 62(11), 962-969.
- Karron J.D., Thumser N.N., Tucker R. & Hessenauer A.J. 1995. The influence of population density on outcrossing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity* 75(2), 175–180.

- Kaye T.N. 2008. Vital steps toward success of endangered plant reintroductions. *Native Plants Journal* 9(3), 313–322.
- Kays S. & Harper J.L. 1974. The regulation of plant and tiller density in a grass sward. *Journal of Ecology* 62(1), 97–105.
- Keeley J.E. 1999. Photosynthetic pathway diversity in a seasonal pool community. *Functional Ecology* 13(1), 106–118.
- Keeley J.E. & Zedler P.H. 1998. Characterization and Global Distribution of Vernal Pools. *Ecology, Conservation, and Management of Vernal Pool Ecosystems – Proceedings from a 1996 Conference. California Native Plant Society, Sacramento, CA. 1998. 22230, 1–14.*
- Keller L.F. & Waller D.M. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology and Evolution* 17(5), 230–241.
- Keller M., Kollmann J. & Edwards P.J. 2000. Genetic introgression from distant provenances reduces fitness in local weed populations. *Journal of Applied Ecology* 37(4), 647–659.
- Keller V. & Bollmann K. 2004. From red lists to species of conservation concern. *Conservation Biology* 18(6), 1636–1644.
- Kéry M., Matthies D. & Spillmann H.H. 2000. Reduced fecundity and offspring performance in small populations of the declining grassland plants *Primula veris* and *Gentiana lutea*. *Journal of Ecology* 88(1), 17–30.
- Kleijn D., Bekker R.M., Bobbink R., De Graaf M.C.C. & Roelofs J.G.M. 2008. In search for key biogeochemical factors affecting plant species persistence in heathland and acidic grasslands: A comparison of common and rare species. *Journal of Applied Ecology* 45(2), 680–687.
- Kluth C. & Bruelheide H. 2005. Central and peripheral *Hornungia petraea* populations: Patterns and dynamics. *Journal of Ecology* 93(3), 584–595.
- Krauss S.L., Dixon B. & Dixon K.W. 2002. Rapid genetic decline in a translocated population of the endangered plant *Grevillea scapigera*. *Conservation Biology* 16(4), 986–994.
- de Kroon H., Hara T. & Kwant R.R. 1992. Size hierarchies of shoots and clones in clonal herb monocultures: Do clonal and non-clonal plants compete differently? *Oikos* 63(3), 410.
- Küpeli E., Kartal M., Aslan S. & Yesilada E. 2006. Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species. *Journal of Ethnopharmacology* 107(1), 32–37.
- de la Luz Cádiz-Gurrea M., Fernández-Arroyo S., Joven J. & Segura-Carretero A. 2013. Comprehensive characterization by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS from an *Eryngium bourgatii* extract and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Research International* 50(1), 197–204.
- Lande R. 1988. Genetics and demography in biological conservation. *Science* 241(4872), 1455–1460.

- Lande R. & Schemske D.W. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. *Evolution* 39(1), 24–40.
- Lande R. & Barrowclough G.F. 1987. Effective population size, genetic variation, and their use in population management. In *Viable Populations for Conservation*, pp. 87–124.
- Lansdown R. V 2011. *Eryngium viviparum*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2011: e.T161835A5502083*.
- Larkin D., Vivian-Smith G. & Zedler J.B. 2006. Topographic heterogeneity theory and ecological restoration. In *Foundations of restoration ecology* (eds. M. A. Palmer, J. B. Zedler, & D. A. Falk),. Island Press, Washington, DC, USA. pp. 142–164.
- Larson B.M.H. & Barrett S.C.H. 1999. The ecology of pollen limitation in buzz-pollinated *Rhexia virginica*. *Journal of Ecology* 86(4), 502–511.
- Lavergne S., Thompson J.D., Garnier E. & Debussche M. 2004. The biology and ecology of narrow endemic and widespread plants: A comparative study of trait variation in 20 congeneric pairs. *Oikos* 107(3), 505–518.
- Lawrence B.A. & Kaye T.N. 2011. Reintroduction of *Castilleja levisecta*: Effects of Ecological Similarity, Source Population Genetics, and Habitat Quality. *Restoration Ecology* 19(2), 166–176.
- Lawton J.H. 1993. Range, population abundance and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 8(11), 409–413.
- Leakey R. & Lewin R. 1996. *The sixth extinction: biodiversity and its survival*. Doubleday, New York. 298p.
- Leblois R., Pudlo P., Néron J., Bertaux F., Reddy Beeravolu C., Vitalis R. & Rousset F. 2014. Maximum-likelihood inference of population size contractions from microsatellite data. *Molecular Biology and Evolution* 31(10), 2805–2823.
- Lee J.A. & Harmer R. 1980. Vivipary, a reproductive strategy in response to environmental stress? *Oikos*, 254–265.
- Lefkovich L.P. 1965. The Study of Population Growth in Organisms Grouped by Stages. *Biometrics* 21(1), 1.
- Leimu R. & Mutikainen P. 2005. Population history, mating system, and fitness variation in a perennial herb with a fragmented distribution. *Conservation Biology* 19(2), 349–356.
- Leimu R., Mutikainen P., Koricheva J. & Fischer M. 2006. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? *Journal of Ecology* 94(5), 942–952.
- Lennartsson T. & Oostermeijer J.G.B. 2001. Demographic variation and population viability in *Gentianella campestris*: Effects of grassland management and environmental stochasticity. *Journal of Ecology* 89(3), 451–463.
- Lesica P. & Allendorf F.W. 1995. When Are peripheral valuable populations for conservation? *Conservation Biology* 9(4), 753–760.

- Leslie P.H. 1945. On the use of matrices in certain population mathematics. *Biometrika* 33(3), 183–212.
- Levitt J. 1980. *Responses of Plants to Environmental Stress, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses*. Academic Press, New York. 698p.
- Lipsey M. & Child M. 2007. Combining the fields of reintroduction biology and restoration ecology. *Conservation Biology* 21, 1387–1388.
- Lloyd J. 1886. *Flore de l'ouest de la France*. Veloppé, Nantes. 540 p.
- Loveless M.D. & Hamrick J.L. 1984a. Ecological Determinants of Genetic Structure in Plant Populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15(1), 65–95.
- Loveless M.D. & Hamrick J.L. 1984b. Ecological Determinants of Genetic Structure in Plant Populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15, 65–95.
- Lovett-Doust J. & Lovett-Doust L. 1982. Life-history patterns in British Umbelliferae: a review. *Botanical Journal of the Linnean Society* 85(3), 179–194.
- Lowe A.J., Boshier D., Ward M., Bacles C.F.E. & Navarro C. 2005. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity* 95(4), 255–273.
- Lynch M., Conery J. & Burger R. 1995. Mutation Accumulation and the Extinction of Small Populations. *The American Naturalist* 146(4), 489–518.
- Mace G.M. 2014. Whose conservation? *Science* 345(6204), 1558-1560.
- Magnanon S. & Guillevic Y. 2012. *Eryngium viviparum* J.Gay en France : bilan et perspectives. *Bulletin de la société botanique du Centre-Ouest* 44, 3–42.
- Magnanon S., Hardegen M. & Guillevic Y. 2013. *Plan national d'actions en faveur du panicaut vivipare, Eryngium viviparum J. Gay. 2012-2017*. Paris, 92p.
- Magrini S. 2011. Herbaria as useful spore banks for integrated conservation strategies of pteridophytic diversity. *Plant Biosystems* 145(3), 635–637.
- Maguire T.L., Saenger P., Baverstock P. & Henry R. 2000. Microsatellite analysis of genetic structure in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae). *Molecular Ecology* 9(11), 1853–1862.
- Mair L., Mill A.C., Robertson P.A., Rushton S.P., Shirley M.D.F., Rodriguez J.P. & McGowan P.J.K. 2018. The contribution of scientific research to conservation planning. *Biological Conservation* 223, 82–96.
- Malausa T., Gilles A., Megléc E., Blanquart H., Duthoy S., Costedoat C., Dubut V., Pech N., Castagnone-Sereno P., Délye C., Feau N., Frey P., Gauthier P., Guillemaud T., Hazard L., Le Corre V., Lung-Escarmant B., Malé P.J.G., Ferreira S. & Martin J.F. 2011. High-throughput microsatellite isolation through 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing of enriched DNA libraries. *Molecular Ecology Resources* 11(4), 638–644.

- Marage D., Garraud L. & Rameau J.C. 2008. The influence of management history on spatial prediction of *Eryngium spinalba*, an endangered endemic species. *Applied Vegetation Science* 11(1), 139–148.
- Martínez-Meyer E., Peterson A.T., Servín J.I. & Kiff L.F. 2006. Ecological niche modelling and prioritizing areas for species reintroductions. *Oryx* 40(04), 411.
- Martínez-Meyer E., Díaz-Porras D., Peterson A.T. & Yáñez-Arenas C. 2013. Ecological niche structure and rangewide abundance patterns of species. *Biology Letters* 9(1). 20120637.
- Marvier M. & Kareiva P. 2015. *Conservation science: Balancing the needs of people and nature* Roberts & Co., Greenwood Village. 642p.
- Maschinski J. & Quintana-ascencio P.F. 2006. Implication of population dynamics and metapopulation theory for restoration. In *Foundations of Restoration Ecology* (eds. D. A. Falk, M. A. Palmer, & J. B. Zedler). Island Press, Washington, D.C. pp. 59-87.
- Maschinski J. & Wright S.J. 2006. Using ecological theory to plan restorations of the endangered Beach jacquemontia (Convolvulaceae) in fragmented habitats. *Journal for Nature Conservation* 14(3-4), 180-189.
- Maschinski J. & Haskins K.E. 2012. *Plant reintroduction in a changing climate: Promises and perils* (eds. J. Maschinski & K. E. Haskins). Island Press, Washington D.C., U.S.A. 432p.
- Maschinski J. & Albrecht M. 2017. Center for Plant Conservation's Best Reintroduction Practice Guidelines for the reintroduction of rare plants. *Plant Diversity* 39(6), 330-395.
- Maschinski J., Baggs J.E. & Sacchi C.F. 2004. Seedling recruitment and survival of an endangered limestone endemic in its natural habitat and experimental reintroduction sites. *American Journal of Botany* 91(5), 689–698.
- Maschinski J., Albrecht M., Monks L. & Haskins K. 2012. Appendix 1: Center for Plant Conservation best reintroduction practice guidelines. In *Plant reintroduction in a changing climate: Promises and perils* (eds. J. Maschinski & K. E. Haskins). Island Press, Washington D.C., U.S.A. pp. 277–306.
- Maschinski J., Wright S.J., Koptur S. & Pinto-Torres E.C. 2013. When is local the best paradigm? Breeding history influences conservation reintroduction survival and population trajectories in times of extreme climate events. *Biological Conservation* 159, 277–284.
- Mathieu C., Pieltain F. & Jeanroy E. 2003. *Analyse chimique des sols: Méthodes choisies*. Tec & doc, Lavoisier, Paris. 386p.
- Maunder M. 1992. Plant reintroduction: an overview. *Biodiversity and Conservation* 1(1), 51–61.
- Maunder M., Havens K., Guerrant Jr E.O. & Falk D. 2004. *Ex situ* methods: a vital but underused set of conservation resources. *Ex Situ plant conservation: supporting species survival in the wild*, 3–20.
- Maurice A.C., Abdelkrim J., Cisel M., Zavodna M., Bardin P., Matamoro A., Dumez R. & Machon N. 2013. Mixing Plants from Different Origins to Restore a Declining Population: Ecological Outcomes and Local Perceptions 10 Years Later. *PLoS ONE* 8(1), e50934.

- McDowell N., Pockman W.T., Allen C.D., Breshears D.D., Cobb N., Kolb T., Plaut J., Sperry J., West A., Williams D.G. & Yezzer E.A. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: Why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* 178(4), 719–739.
- McGarigal K. & Cushman S.A. 2002. Comparative evaluation of experimental approaches to the study of habitat fragmentation effects. *Ecological Applications* 12(2), 335–345.
- McGill B.J., Dornelas M., Gotelli N.J. & Magurran A.E. 2015. Fifteen forms of biodiversity trend in the anthropocene. *Trends in Ecology and Evolution* 30(2), 104.
- McKay J.K., Christian C.E., Harrison S. & Rice K.J. 2005. 'How local is local?' - A review of practical and conceptual issues in the genetics of restoration. *Restoration Ecology* 13(3), 432–440.
- Médail F. & Verlaque R. 1997. Ecological characteristics and rarity of endemic plants from Southeast France and Corsica: Implications for biodiversity conservation. *Biological Conservation* 80(3), 269–281.
- Meehl G.A., Stocker T.F., Collins W.D., Friedlingstein P., Gaye A.T., Gregory J.M., Kitoh A., Knutti R., Murphy J.M., Noda A., Raper S.C.B., Watterson I.G., Weaver A.J. & Zhao Z.-C. 2007. Global Climate Projections. In *Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, pp. 747–846.
- Meglécz E., Costedoat C., Dubut V., Gilles A., Malausa T., Pech N. & Martin J.F. 2009. QDD: A user-friendly program to select microsatellite markers and design primers from large sequencing projects. *Bioinformatics* 26(3), 403–404.
- Meine C., Soulé M. & Noss R.F. 2006. 'A mission-driven discipline': The growth of conservation biology. *Conservation Biology* 20(3), 631–651.
- Meloni M., Reid A., Caujapé-Castells J., Marrero Á., Fernández-Palacios J.M., Mesa-Coelo R.A. & Conti E. 2013. Effects of clonality on the genetic variability of rare, insular species: The case of *Ruta microcarpa* from the Canary Islands. *Ecology and Evolution* 3(6), 1569–1579.
- Menges E.S. 1990. Population viability analysis for an endangered plant. *Conservation Biology* 4(1), 52–62.
- Menges E.S. 1992. Habitat Preferences and Response to Disturbance for *Dicerandra frutescens*, a Lake Wales Ridge (Florida) Endemic Plant. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 119(3), 308.
- Menges E.S. 1998. Evaluating Extinction Risks in Plant Populations. In *Conservation Biology*. Springer, Boston, MA. pp. 49–65.
- Menges E.S. 2000. Population viability analyses in plants: Challenges and opportunities. *Trends in Ecology and Evolution* 15(2), 51–56.
- Menges E.S. 2008. Restoration demography and genetics of plants: When is a translocation successful? *Australian Journal of Botany* 56(3), 187–196.

- Menges E.S. & Kimmich J. 1996. Microhabitat and time-since-fire: Effects on demography of *Eryngium cuneifolium* (apiaceae), a Florida scrub endemic plant. *American Journal of Botany* 83(2), 185–191.
- Menges E.S. & Gordon D.R. 1996. Three levels of monitoring intensity for rare plant species. *Natural Areas Journal* 16(3), 227–237.
- Merritt D.J., Turner S.R., Clarke S. & Dixon K.W. 2007. Seed dormancy and germination stimulation syndromes for Australian temperate species. *Australian Journal of Botany* 55(3), 336–344.
- Métailié G. & Da Lage A. 2015. *Dictionnaire de biogéographie végétale (NE): Nouvelle édition encyclopédique et critique*. CNRS, Paris. 962p.
- Metcalf J.C., Rose K.E. & Rees M. 2003. Evolutionary demography of monocarpic perennials. *Trends in Ecology and Evolution* 18(9), 471–480.
- Milton S.J., Bond W.J., Du Plessis M.A., Gibbs D., Hilton-Taylor C., Linder H.P., Raitt L., Wood J. & Donaldson J.S. 1999. A protocol for plant conservation by translocation in threatened lowland Fynbos. *Conservation Biology* 13(4), 735–743.
- Ministère de l'Écologie 2012. *Plans Nationaux d'actions en faveur des espèces menacées - Objectifs et exemples d'actions*. Paris. 44p.
- Mistretta O. 1994. Genetics of species re-introductions: applications of genetic analysis. *Biodiversity and Conservation* 3(2), 184–190.
- Moles A.T., Hodson D.W. & Webb C.J. 2000. Seed size and shape and persistence in the soil in the New Zealand flora. *Oikos* 89(3), 541–545.
- Montalvo A.M. & Ellstrand N.C. 2001. Nonlocal transplantation and outbreeding depression in the subshrub *Lotus scoparius* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 88(2), 258–269.
- Montalvo A.M., Williams S.L., Rice K.J., Buchmann S.L., Cory C., Handel S.N., Nabhan G.P., Primack R. & Robichaux R.H. 1997. Restoration biology: A population biology perspective. *Restoration Ecology* 5(4), 277–290.
- Moola F.M. & Vasseur L. 2009. The importance of clonal growth to the recovery of *Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae) after forest disturbance. In *Forest Ecology: Recent Advances in Plant Ecology*, pp. 319–337.
- Morris W.F. & Doak D.F. 2002. *Quantitative conservation biology*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA. 480p.
- Morzaria-Luna H., Callaway J.C., Sullivan G. & Zedler J.B. 2004. Relationship between topographic heterogeneity and vegetation patterns in a Californian salt marsh. *Journal of Vegetation Science* 14(4), 523–530.
- Morzaria-Luna L., Callaway J.C., Sullivan G. & Zedler J.B. 2004. Relationship between topographic heterogeneity and vegetation patterns in a Californian salt marsh. *Journal of Vegetation Science* 15(4), 523–530.

- Moser K.F., Ahn C. & Noe G.B. 2009. The influence of microtopography on soil nutrients in created mitigation wetlands. *Restoration Ecology* 17(5), 641–651.
- Motallebi Riekandeh S., Mazandarani M., Ebrahimzadeh M.A. & Zargari M. 2016. Antioxidant activities of *Eryngium caucasicum* inflorescence. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 20(5), 946–949.
- Neale J.R. 2012. Genetic Considerations in Rare Plant Reintroduction: Practical Applications (or How Are We Doing?). In *Plant Reintroduction in a Changing Climate: Promises and perils* (eds. J. Maschinski & K. E. Haskins). Island Press, Washington D.C., U.S.A. pp. 71–88.
- Nei M., Maruyama T. & Chakraborty R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29(1), 1-10.
- Nei M., Tajima F. & Tateno Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *Journal of molecular evolution* 19(2), 153–170.
- Newbold T., Hudson L.N., Hill S.L., Contu S., Lysenko I., Senior R. a, Börger L., Bennett D.J., Choimes A., Collen B., Day J., De Palma A., Diáz S., Echeverria-Londoño S., Edgar M.J., Feldman A., Garon M., Harrison M.L.K., Alhousseini T., Ingram D.J., Itescu Y., Kattge J., Kemp V., Kirkpatrick L., Kleyer M., Laginha Pinto Correia D., Martin C.D., Meiri S., Novosolov M., Pan Y., Phillips H.R.P., Purves D.W., Robinson A., Simpson J., Tuck S.L., Weiher E., White H.J., Ewers R.M., Mace G.M., Scharlemann J.P. & Purvis A. 2015. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. *Nature* 520(7545), 45.
- Newman D. & Tallmon D.A. 2001. Experimental evidence for beneficial fitness effects of gene flow in recently isolated populations. *Conservation Biology* 15(4), 1054–1063.
- Nicolè F., Dahlgren J.P., Vivat A., Till-Bottraud I. & Ehrlén J.. 2011. Interdependent effects of habitat quality and climate on population growth of an endangered plant. *Journal of Ecology* 99(5), 1211–1218.
- Noël F., Maurice S., Mignot A., Glémin S., Carbonell D., Justy F., Guyot I., Olivieri I. & Petit C. 2010. Interaction of climate, demography and genetics: A ten-year study of *Brassica insularis*, a narrow endemic Mediterranean species. *Conservation Genetics* 11(2), 509–526.
- Ohara M., Tomimatsu H., Takada T. & Kawano S. 2006. Importance of life history studies for conservation of fragmented populations: A case study of the understory herb, *Trillium camschatcense*. *Plant Species Biology* 21(1), 1–12.
- Oksanen J., Blanchet F.G., Kindt R., Legendre P., Minchin P.R., O’Hara R.B., Simpson G.L., Solymos P., Henry M., Stevens H. & Wagner H. 2016. Vegan: community ecology package. *R package version 2.4-1*. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>, 280.
- Olivier L. 1995. *Livre rouge de la flore menacée de France. Tome 1 : espèces prioritaires*. Muséum National d’Histoire Naturelle, Paris. 486p.
- Olivieri I., Michalakis Y. & Gouyon P.H. 1995. Metapopulation genetics and the evolution of dispersal. *American Naturalist* 146(2), 202–228.

- van Oosterhout C., Hutchinson W.F., Wills D.P.M. & Shipley P. 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Resources* 4(3), 535–538.
- Oostermeijer J. 2000. Population viability analysis of the rare *Gentiana pneumonanthe*: importance of genetics, demography, and reproductive biology. *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations*, 313–334.
- Oostermeijer J.G.B., Oostermeijer J.G.B., Van't Veer R., Van't Veer R., Den Nijs J.C.M. & Den Nijs J.C.M. 1994. Population structure of the rare, long-lived perennial *Gentiana pneumonanthe* in relation to vegetation and management in the Netherlands. *Journal of Applied Ecology* 428–438.
- Oostermeijer J.G.B., Luijten S.H. & den Nijs J.C.M. 2003. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. *Biological Conservation* 113(3), 389–398.
- Orsenigo S., Gentili R., Smolders A.J.P., Efremov A., Rossi G., Ardenghi N.M.G., Citterio S. & Abeli T. 2017. Reintroduction of a dioecious aquatic macrophyte (*Stratiotes aloides* L.) regionally extinct in the wild. Interesting answers from genetics. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 27(1), 10–23.
- Orsini L., Vanoverbeke J., Swillen I., Mergeay J. & De Meester L. 2013. Drivers of population genetic differentiation in the wild: Isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Molecular Ecology* 22(24), 5983–5999.
- Osborne P.E. & Seddon P.J. 2012. Selecting suitable habitats for reintroductions: variation, change and the role of species distribution modelling. In *Reintroduction Biology: Integrating Science and Management*, pp. 73–104.
- Ottewell K.M., Bickerton D.C., Byrne M. & Lowe A.J. 2016. Bridging the gap: a genetic assessment framework for population-level threatened plant conservation prioritization and decision-making. *Diversity and Distributions* 22(2), 174–188.
- Ouborg N.J., Vergeer P. & Mix C. 2006. The rough edges of the conservation genetics paradigm for plants. *Journal of Ecology* 94(6), 1233–1248.
- Ozinga W.A., Schaminée J.H.J., Bekker R.M., Bonn S., Poschlod P., Tackenberg O., Bakker J. & Van Groenendael J.M. 2005. Predictability of plant species composition from environmental conditions is constrained by dispersal limitation. *Oikos* 108(3), 555–561.
- Palmer M.A., Ambrose R.F. & Poff N.L. 1997. Ecological Theory and Community Restoration Ecology. *Restoration Ecology* 5(4), 291–300.
- Pan J.J. & Price J.S. 2001. Fitness and evolution in clonal plants: The impact of clonal growth. *Evolutionary Ecology* 15(4–6), 583–600.
- Paul J.H.A., Seaforth C.E. & Tikasingh T. 2011. *Eryngium foetidum* L.: A review. *Fitoterapia* 82(3), 302–308.
- Pavlik B. 1996. Defining and measuring success in rare plant reintroductions. In *Restoring Diversity Strategies for Reintroduction of Endangered Plants*, pp. 127–155.

- Pavlik B.M., Nickrent D.L. & Howald A.M. 1993. The Recovery of an Endangered Plant. I. Creating a New Population of *Amsinckia grandiflora*. *Conservation Biology* 7(3), 510–526.
- Perglová I., Pergl J. & Pyšek P. 2006. Flowering phenology and reproductive effort of the invasive alien plant *Heracleum mantegazzianum*. *Preslia* 78(3), 265–285.
- Perrin G. & Magnanon S. 2007. *Conservation et restauration du Panicaut vivipare (Eryngium viviparum) dans le Morbihan - Contrat Nature 2007-2010 : bilan 2007*. Conservatoire botanique national de Brest, Brest. 176p.
- Peterson A. 2001. Endangered Species and Peripheral Populations: Cause for Reflection. *Endangered Species UPDATE* 18(2), 30–31.
- Peterson A.T. 2006. Uses and Requirements of Ecological Niche Models and Related Distributional Models. *Biodiversity Informatics* 3(0).
- Petit R.J., Mousadik A.E.L. & Pons O. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* 12(4), 844–855.
- Picó F.X., Quintana-Ascencio P.F., Mildén M., Ehrlén J. & Pflingsten I. 2009. Modelling the effects of genetics and habitat on the demography of a grassland herb. *Basic and Applied Ecology* 10(2), 122–130.
- Pimenov M.G. & Leonov M.V. 1993. The genera of the Umbelliferae: a nomenclator. London Royal Botanic Gardens, Kew and Botanical Garden of Moscow University, Russia. 156p.
- Pimm S.L. & Raven P.H. 2017. The Fate of the World's Plants. *Trends in Ecology and Evolution* 32(5), 317–320.
- Pimm S.L., Russell G.J., Gittleman J.L. & Brooks T.M. 1995. The future of biodiversity. *Science*. 269(5222), 347–350.
- Piquot Y., Petit D., Valero M., Cuguen J., de Laguerie P., Vernet P. & Cuguen J. 1998. Variation in Sexual and Asexual Reproduction among Young and Old Populations of the Perennial Macrophyte *Sparganium erectum*. *Oikos* 82(1), 139.
- Pironon S., Villellas J., Morris W.F., Doak D.F. & García M.B. 2015. Do geographic, climatic or historical ranges differentiate the performance of central versus peripheral populations? *Global Ecology and Biogeography* 24(6), 611–620.
- Pironon S., Papuga G., Villellas J., Angert A.L., García M.B. & Thompson J.D. 2016. Geographic variation in genetic and demographic performance: New insights from an old biogeographical paradigm. *Biological Reviews* 1879, 1877–1909.
- Polak T. & Saltz D. 2011. Reintroduction As an Ecosystem Restoration Technique. *Conservation Biology* 25(3), 424.
- Pollock M.M., Naiman R.J. & Hanley T.A. 1998. Plant species richness in riparian wetlands: a test of biodiversity theory. *Ecology* 79(1), 94–105.
- Poorter H. & Garnier E. 2007. Ecological Significance of Inherent Variation in Relative Growth Rate and Its Components. In *Functional Plant Ecology*, pp. 67–100.

- Poschlod P., Kiefer S. & Fischer S. 1995. Die potentielle Gefährdung von Pflanzenpopulationen in Kalkmagerrasen der Mittleren Schwäbischen Alb durch Sukzession (Brache) und Aufforstung—ein Beispiel für eine Gefährdungsanalyse von Pflanzenpopulationen. Beih. Veröff. Naturschutz Landschaftspflege B. *Württ.* 83: 199–228.
- Poschlod P., Kiefer S., Tränkle U., Fischer S. & Bonn S. 1998. Plant species richness in calcareous grasslands as affected by dispersability in space and time. *Applied Vegetation Science* 1(1), 75–90.
- Poschlod P., Bakker J.P. & Kahmen S. 2005. Changing land use and its impact on biodiversity. *Basic and Applied Ecology* 6(2), 93–98.
- Potts B.M., Barbour R.C., Hingston A.B. & Vaillancourt R.E. 2003. Genetic pollution of native eucalypt gene pools - Identifying the risks. *Australian Journal of Botany* 51(1), 1–25.
- Price T.D., Qvarnström A. & Irwin D.E. 2003. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society - Biological sciences* 270(1523), 1433–1440.
- Pritchard J., Stephens M. & Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155(2), 945–959.
- Prober S. & Brown A.H.D. 1994. Conservation of the Grassy White Box Woodlands: Population Genetics and Fragmentation of *Eucalyptus albens*. *Conservation Biology* 8(4), 1003–1013.
- QGIS Development Team 2015. QGIS Geographic Information System. *Open Source Geospatial Foundation Project*.
- Quééré E., Magnanon S., Brindejone O. & Dissez C. 2016. *Liste rouge de la flore vasculaire de Bretagne. Evaluation des menaces selon la méthodologie et la démarche de l'UICN*. Conservatoire botanique national de Brest: Conservatoire botanique national de Brest, Brest. 20p.
- R Development Core Team 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing Vienna Austria* 0, {ISBN} 3-900051-07-0.
- Rabinowitz D., Cairns S. & Dillon T. 1986. Seven forms of rarity and their frequency in the flora of the British Isles. In *Conservation Biology. The science of scarcity and diversity*, pp. 182–204.
- Ralys B. 1998. *Répertoire et état des sites à Eryngium viviparum dans le Morbihan*. Conservatoire botanique national de Brest, Brest. 6p.
- Ramsey M. & Vaughton G. 2000. Pollen quality limits seed set in *Burchardia umbellata* (Colchicaceae). *American Journal of Botany* 87(6), 845–852.
- Rands M.R.W., Adams W.M., Bennun L., Butchart S.H.M., Clements A., Coomes D., Entwistle A., Hodge I., Kapos V., Scharlemann J.P.W., Sutherland W.J. & Vira B. 2010. Biodiversity conservation: challenges beyond 2010. *Science* 329(5997), 1298–1303.
- Rasband W. 2012. ImageJ. *U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA*, <http://imagej.nih.gov/ij/>.

- Rasclé P., Bioret F., Magnanon S., Glemarec E., Gautier C., Guillevic Y. & Gallet S. 2018. Identification of success factors for the reintroduction of the critically endangered species *Eryngium viviparum* J. Gay (Apiaceae). *Ecological Engineering* 122, 112–119.
- Raunkiaer C. 1934. *The life forms of plants and statistical plant geography being the collected papers of C. Raunkiaer*. Clarendon Press, Oxford. 632p.
- Rebibo E. 1998. *Projet de plan de gestion du site des Quatre chemins - Morbihan (56)*. Bretagne vivante, Belz. 40p.
- Reduron J.-P. 2007. *Ombellifères de France : Monographie des Ombellifères (Apiaceae) et plantes alliées, indigènes, naturalisées, subspontanées, adventices ou cultivées de la flore française*. Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest, numéro spécial 30, 2349-3004.
- Reed D.H. 2004. Extinction risk in fragmented habitats. In *Animal Conservation*. Cambridge University Press. pp. 181-191.
- Reed D.H. 2005. Relationship between population size and fitness. *Conservation biology* 19(2), 563–568.
- Reed D.H. & Frankham R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* 17(1), 230–237.
- Ren H., Zhang Q., Wang Z., Guo Q., Wang J., Liu N. & Liang K. 2010. Conservation and possible reintroduction of an endangered plant based on an analysis of community ecology: A case study of *Primulina tabacum* Hance in China. *Plant Species Biology* 25(1), 43–50.
- Rhazi L., Grillas P. & Rhazi M. 2010. *Eryngium atlanticum*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T164137A5746495*.
- Riba M., Picó F.X. & Mayol M. 2002. Effects of regional climate and small-scale habitat quality on performance in the relict species *Ramonda myconi*. *Journal of Vegetation Science* 13(2), 259–268.
- Rice W.R. 1989. Analyzing Tables of Statistical Tests. *Evolution* 43(1), 223.
- Richards C.M. 2000. Inbreeding Depression and Genetic Rescue in a Plant Metapopulation. *The American Naturalist* 155(3), 383–394.
- Rieseberg L.H. & Swensen S.M. 1996. Conservation genetics of endangered island plants. In *Conservation Genetics: Case Histories from Nature* (eds. J. C. Avise & J. L. Hamrick). Chapman & Hall., New York. pp. 305–345.
- Rieseberg L.H. & Willis J.H. 2007. Plant speciation. *Science* 317(5840), 910–914.
- Rivas-Martínez S., Rivas-Sáenz S. & Penas-Merino A. 2011. Worldwide bioclimatic classification system. *Global Geobotany* 1(1), 1–638.
- Rivière G. 2007. *Atlas de la flore du Morbihan: flore vasculaire* Siloë, Nantes. 654p.

- Robichaux R.H., Friar E.A. & Mount D.W. 1997. Molecular genetic consequences of a population bottleneck associated with reintroduction of the Mauna Kea silversword (*Argyroxiphium sandwicense* ssp. *sandwicense* [Asteraceae]). *Ecology and Evolutionary Biology* 11(5), 1140–1146.
- Robinson J.G. 2006. Conservation biology and real-world conservation. *Conservation Biology* 20(3), 658–669.
- Robinson R.W. 1954. Seed germination problems in the Umbelliferae. *The Botanical Review* 20(9), 531–550.
- Rodier J. 1996. *L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, 8ème édition*. Dunod, Paris. 1381p.
- Rodríguez-Gacio M.C., De Jesús J., Romero M.I. & Herrera M.T. 2009. Genetic diversity among genotypes of *Eryngium viviparum* (Apiaceae): A plant threatened throughout its natural range. *Botanical Journal of the Linnean Society* 159(2), 237–244.
- Rodríguez-Oubiña J., Romera M.I. & Ortiz S. 1997. Communities of the class Littorelletea uniflorae in the northwest iberian Peninsula. *Acta Botanica Gallica* 144(1), 155–169.
- Rodríguez-Oubiña J., Romero M.I. & Ortiz S. 1997. Communities of the class Littorelletea uniflorae in the northwest iberian Peninsula. *Acta Botanica Gallica* 144(1), 155–169.
- Rodríguez García A., Alfaro-Saiz E., Alonso-Redondo R. & García-González M.E. 2015. Plants from dams and wetlands of Palencia (N Spain), II | Aportaciones a la flora de las zonas húmedas de la provincia de Palencia, II. *Flora Montiberica* 61, 124–130.
- Roiloa S.R. & Retuerto R. 2007. Responses of the clonal *Fragaria vesca* to microtopographic heterogeneity under different water and light conditions. *Environmental and Experimental Botany* 61(1), 1–9.
- Romero M.I., Ramil P. & Rubinos M. 2004. Conservation status of *Eryngium viviparum* Gay. *Acta Botanica Gallica* 151(1), 55–64.
- Rossetto M., Gross C.L., Jones R. & Hunter J. 2004. The impact of clonality on an endangered tree (*Elaeocarpus williamsianus*) in a fragmented rainforest. *Biological Conservation* 117(1), 33–39.
- van Rossum F., Vekemans X., Gratia E. & Meerts P. 2003. A comparative study of allozyme variation of peripheral and central populations of *Silene nutans* L. (Caryophyllaceae) from Western Europe: Implications for conservation. *Plant Systematics and Evolution* 242(1-4), 49–61.
- Rousset F. 2008. GENEPOP'007: A complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8(1), 103–106.
- Rout T.M., Hauser C.E. & Possingham H.P. 2009. Optimal adaptive management for the translocation of a threatened species. *Ecological Applications* 19(2), 515–526.
- Rouy G. 1901. *Flore de France*. Tome VII. Société des Sciences naturelles de la Charente-Inférieure, Tours. 440p.

- Sala O.E., Chapin F.S., Armesto J.J., Berlow E., Bloomfield J., Dirzo R., Huber-Sandwald E., Huenneke L.F., Jackson R.B., Kinzig A., Leemans R., Lodge D.M., Mooney H.A., Oesterheld M., Leroy Poff N., Sykes M.T., Walker B.H., Walker M. & Wall D.H. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287(5459), 1770-1774.
- Salvador V., Bengoa J., Molina C. & del Egido Mazuelas F. 2014. Monitorización del estado de conservación de los valores Red Natura 2000 en Castilla y León. Junta de Castilla y León. 25p.
- Santamaría L. 2002. Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta Oecologica* 23(3), 137–154.
- Sarapul'tsev I.E. 2001. The phenomenon of pseudoviviparity in alpine and arctomontane grasses (*Deschampsia* Beauv., *Festuca* L., and *Poa* L.). *Russian Journal of Ecology* 32(3), 170–178.
- Saunders D.A., Hobbs R.J. & Margules C.R. 1991. Biological Consequences of Ecosystem Fragmentation: A Review. *Conservation Biology* 5(1), 18–32.
- Schaal B.A. & Leverich W.J. 1996. Molecular variation in isolated plant populations. *Plant Species Biology* 11(1), 33–40.
- Schemske D.W., Husband B.C., Ruckelshaus M.H., Goodwillie C., Parker I.M. & Bishop J.G. 1994. Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. *Ecology* 75(3), 584–606.
- Schluter D. & Conte G.L. 2009. Genetics and ecological speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(Supplement 1), 9955-9962.
- Seddon P.J. 1999. Persistence without intervention: assessing success in wildlife reintroductions. *Trends in Ecology and Evolution* 14(12), 503.
- Seddon P.J. 2010. From Reintroduction to Assisted Colonization: Moving along the Conservation Translocation Spectrum. *Restoration Ecology* 18(6), 796–802.
- Seddon P.J., Armstrong D.P. & Maloney R.F. 2007a. Combining the fields of reintroduction biology and restoration ecology. *Conservation Biology* 21(6), 1388–1390.
- Seddon P.J., Armstrong D.P. & Maloney R.F. 2007b. Developing the science of reintroduction biology. *Conservation Biology* 21(2), 303–312.
- Selwood K.E., Mcgeoch M.A. & Mac Nally R. 2015. The effects of climate change and land-use change on demographic rates and population viability. *Biological Reviews* 90(3), 837–853.
- Sexton J.P., Hangartner S.B. & Hoffmann A.A. 2014. Genetic isolation by environment or distance: Which pattern of gene flow is most common? *Evolution* 68(1), 1-15.
- Shafer A.B.A. & Wolf J.B.W. 2013. Widespread evidence for incipient ecological speciation: A meta-analysis of isolation-by-ecology. *Ecology Letters* 16(7), 940-950.
- Silander J.J. a. 1984. The Genetic Basis of the Ecological Amplitude of *Spartina patens*. III. Allozyme Variation. *Botanical Gazette* 145, 569.

- Silvertown J. 2008. The Evolutionary Maintenance of Sexual Reproduction: Evidence from the Ecological Distribution of Asexual Reproduction in Clonal Plants. *International Journal of Plant Sciences* 169(1), 157–168.
- Silvertown J., Franco M. & Menges E. 1996. Interpretation of Elasticity Matrices as an Aid to the Management of Plant Populations for Conservation. *Conservation Biology* 10(2), 591–597.
- Simberloff D. 1998. Flagships, umbrellas, and keystones: Is single-species management passe in the landscape era? *Biological conservation*, 83(3), 247-257.
- Sobel J.M., Chen G.F., Watt L.R. & Schemske D.W. 2010. The biology of speciation. *Evolution*. 64(2), 295-315.
- Solomeshch A.I., Barbour M.G. & Holland R.F. 2007. *Vernal pools*. In *Terrestrial vegetation of California, 3rd edn*. University of California Press, California. pp. 394–424.
- Soulé M.E. 1980. *Thresholds for survival: maintaining fitness and evolutionary potential*. In *Conservation biology: an evolutionary-ecological perspective*. Sinauer Associates Inc., U.S. pp. 151-169.
- Soulé M.E. 1985. What is Conservation Biology? *BioScience* 35(11), 727-734.
- Spielman D., Brook B.W. & Frankham R. 2004. Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(42), 15261–15264.
- Stebbins C. 1950. *Variation and evolution in plants*. Cambridge University Press. 643p.
- Steffan-Dewenter I. & Tschardt T. 1999. Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia* 121(3), 432–440.
- Steffan-Dewenter I. & Westphal C. 2008. The interplay of pollinator diversity, pollination services and landscape change. *Journal of Applied Ecology* 45(3), 737–741.
- Sterling A., Peco B., Casado M.A., Galiano E.F. & Pineda F.D. 1984. Influence of microtopography on floristic variation in the ecological succession in grassland. *Oikos* 42(3), 334–342.
- Stoate C., Báldi A., Beja P., Boatman N.D., Herzog I., van Doorn A., de Snoo G.R., Rakosy L. & Ramwell C. 2009. Ecological impacts of early 21st century agricultural change in Europe - A review. *Journal of Environmental Management* 91(1), 22–46.
- Stubben C.J. & Milligan B.G. 2007. Estimating and analyzing demographic models using the popbio package in R. *Journal of Statistical Software* 22(11), 1–23.
- Sutter R.D. 1996. Monitoring. In *Restoring diversity: strategies for reintroduction of endangered plants*. Island Press, Washington, DC. pp. 235–265.
- Takebayashi N. & Morrell P.L. 2001. Is self-fertilization an evolutionary dead end? Revisiting an old hypothesis with genetic theories and a macroevolutionary approach. *American Journal of Botany* 88(7), 1143–1150.

- Takezaki N., Nei M. & Tamura K. 2010. POPTREE2: Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with windows interface. *Molecular Biology and Evolution* 27(4), 747–752.
- Tamaki I., Setsuko S. & Tomaru N. 2016. Genetic diversity and structure of remnant *Magnolia stellata* populations affected by anthropogenic pressures and a conservation strategy for maintaining their current genetic diversity. *Conservation genetics* 17(3), 715–725.
- Templeton A.R., Shaw K., Routman E. & Davis S.K. 1990. The Genetic Consequences of Habitat Fragmentation. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 77(1), 13–27.
- Thompson J.D., Lavergne S., Affre L., Gaudeul M. & Debussche M. 2005. Ecological differentiation of Mediterranean endemic plants. *Taxon* 54(4), 967–976.
- Thomson J.D. 1978. Effects of stand composition on insect visitation in two-species mixtures of *Hieracium*. *American Midland Naturalist*, 431–440.
- Thuiller W., Araújo M.B. & Lavorel S. 2004. Do we need land-cover data to model species distributions in Europe? *Journal of Biogeography* 31(3), 353–361.
- Tilman D., May R.M., Lehman C.L. & Nowak M.A. 1994. Habitat destruction and the extinction debt. *Nature* 371(6492), 65.
- Tilman D., Clark M., Williams D.R., Kimmel K., Polasky S. & Packer C. 2017. Future threats to biodiversity and pathways to their prevention. *Nature* 546(7656), 73.
- Tison J.-M. & de Foucault B. 2014. *Flora gallica: flore de France*. Biotope, Mèze. 1196p.
- Trabucco A. & Zomer R.J. 2009. Global aridity index (global-aridity) and global potential evapotranspiration (global-PET) geospatial database. *CGIAR Consortium for Spatial Information, CGIAR-CSI GeoPortal*.
- UICN/SSC 2013. *Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0*. Gland, Switzerland. 57p.
- UICN, FCBN & MNHN 2012. La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Flore vasculaire de France métropolitaine : premiers résultats pour 1000 espèces, sous-espèces et variétés. Comité français de l'UICN et le Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN/SPN), Paris. 34p.
- Ulrey C., Quintana-Ascencio P.F., Kauffman G., Smith A.B. & Menges E.S. 2016. Life at the top: Long-term demography, microclimatic refugia, and responses to climate change for a high-elevation southern Appalachian endemic plant. *Biological Conservation* 200, 80–92.
- Usher M.B. 1966. A Matrix Approach to the Management of Renewable Resources, with Special Reference to Selection Forests. *Journal of Applied Ecology* 3132214(2), 355–367.
- Uyenoyama M.K., Holsinger K.E. & Waller D.M. 1993. Ecological and genetic factors directing the evolution of self-fertilization. *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* 9(July 2016), 327–381.

- Vallejo-Marín M., Dorken M.E. & Barrett S.C.H. 2010. The Ecological and Evolutionary Consequences of Clonality for Plant Mating. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41(1), 193–213.
- Vergeer P., Van Den Berg L.J.L., Roelofs J.G.M. & Ouborg N.J. 2005. Single-family versus multi-family introductions. *Plant Biology* 7(5), 509–515.
- Visser M.D., Bruijning M., Wright S.J., Muller-Landau H.C., Jongejans E., Comita L.S. & de Kroon H. 2016. Functional traits as predictors of vital rates across the life cycle of tropical trees. *Functional Ecology* 30(2), 168–180.
- Vivian-Smith G. 1997. Microtopographic heterogeneity and floristic diversity in experimental wetland communities. *Journal of Ecology* 85(1), 71–82.
- Wandeler P., Hoeck P.E.A. & Keller L.F. 2007. Back to the future: museum specimens in population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* 22(12), 634–642.
- Wang I.J., Glor R.E. & Losos J.B. 2013. Quantifying the roles of ecology and geography in spatial genetic divergence. *Ecology Letters* 16(2), 175–182.
- Ward M., Dick C.W., Gribel R. & Lowe A.J. 2005. To self, or not to self... A review of outcrossing and pollen-mediated gene flow in neotropical trees. *Heredity* 95(4), 246–254.
- Washitani I. 2001. Plant conservation ecology for management and restoration of riparian habitats of lowland Japan. *Population Ecology* 43(3), 189–195.
- Washitani I., Ishihama F., Matsumura C., Nagai M., Nishihiro J. & Nishihiro M.A. 2005. Conservation ecology of *Primula sieboldii*: Synthesis of information toward the prediction of the genetic/demographic fate of a population. *Plant Species Biology* 20(1), 3–15.
- Watkinson A.R. & Powell J.C. 1993. Seedling Recruitment and the Maintenance of Clonal Diversity in Plant Populations--A Computer Simulation of *Ranunculus Repens*. *Journal of Ecology* 81(4), 707–717.
- Weeks A.R., Sgro C.M., Young A.G., Frankham R., Mitchell N.J., Miller K.A., Byrne M., Coates D.J., Eldridge M.D.B., Sunnucks P., Breed M.F., James E.A. & Hoffmann A.A. 2011. Assessing the benefits and risks of translocations in changing environments: A genetic perspective. *Evolutionary Applications* 4(6), 709–725.
- Wiberg R.A.W., Scobie A.R., A'Hara S.W., Ennos R.A. & Cottrell J.E. 2016. The genetic consequences of long term habitat fragmentation on a self-incompatible clonal plant, *Linnaea borealis* L. *Biological Conservation* 201, 405–413.
- Widen B., Cronberg N. & Widen M. 1994. Genotypic diversity, molecular markers and spatial-distribution of genets in clonal plants, a literature survey. *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica* 29(2), 245–263.
- Wiens J.J. 2004. What Is Speciation and How Should We Study It? *The American Naturalist* 163(6), 914–923.
- Wiens J.J. 2016. Climate-Related Local Extinctions Are Already Widespread among Plant and Animal Species. *PLoS Biology* 14(12), e2001104.

- Wilcox B.A. & Murphy D.D. 1985. Conservation Strategy: The Effects of Fragmentation on Extinction. *The American Naturalist* 125(6), 879–887.
- Williams P., Hannah L., Andelman S., Midgley G., Araújo M., Hughes G., Manne L., Martinez-Meyer E. & Pearson R. 2005. Planning for climate change: Identifying minimum-dispersal corridors for the cape proteaceae. *Conservation Biology* 19(4), 1063–1074.
- Wörz A. 1999. A taxonomic index of the species of *Eryngium* L.(Apiaceae, Saniculoideae). Stuttgart Beitr. *Nature.*, Ser. A Nr. 596, 1–48.
- Wörz A. 2005. A new subgeneric classification of the genus *Eryngium* L.(Apiaceae, Saniculoideae). *Botanische Jahrbücher* 126(2), 253–259.
- Wörz A. 2012. Revision of *Eryngium* L.(Apiaceae-Saniculoideae):-General part and Palaeartic species. *TAXON* 61(81), 265–266.
- Xu T., Abbott R.J., Milne R.I., Mao K., Du F.K., Wu G., Ciren Z., Miehle G. & Liu J. 2010. Phylogeography and allopatric divergence of cypress species (*Cupressus* L.) in the Qinghai-Tibetan Plateau and adjacent regions. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1), 194.
- Yardeni G., Tessler N., Imbert E. & Sapir Y. 2016. Reproductive isolation between populations of *Iris atropurpurea* is associated with ecological differentiation. *Annals of Botany* 118(5), 971–982.
- Yeşilada E., Honda G., Sezik E., Tabata M., Fujita T., Tanaka T., Takeda Y. & Takaishi Y. 1995. Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology* 46(3), 133–152.
- Young A., Boyle T. & Brown T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology & Evolution* 11(10), 413–418.
- Young A.G. & Clarke G.M. 2000. *Genetics, demography and viability of fragmented populations*. Cambridge University Press. 460
- Young A.G., Hill J.H., Murray B.G. & Peakall R. 2002. Breeding system, genetic diversity and clonal structure in the sub-alpine forb *Rutidosia leiolepis* F. Muell. (Asteraceae). *Biological Conservation* 106(1), 71–78.
- Young A.S., Chang S.M. & Sharitz R.R. 2007. Reproductive ecology of a federally endangered legume, *Baptisia arachnifera*, and its more widespread congener, *B. lanceolata* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 94(2), 228–236.
- Zavodna M., Abdelkrim J., Pellissier V. & Machon N. 2015. A long-term genetic study reveals complex population dynamics of multiple-source plant reintroductions. *Biological Conservation* 192, 1–9.
- Zedler P.H. 1987. *The ecology of southern California vernal pools: a community profile*. National Wetlands Research Center, San Diego State University, CA (USA). 152p.
- Zedler P.H. 2003. Vernal pools and the concept of “isolated wetlands”. *Wetlands* 23(3), 597–607.

- Zeiter M., Stampfli A. & Newbery D.M. 2006. Recruitment limitation constrains local species richness and productivity in dry grassland. *Ecology* 87(4), 942–951.
- Zenboudji S., Cheylan M., Arnal V., Bertolero A., Leblois R., Astruc G., Bertorelle G., Pretus J.L., Lo Valvo M., Sotgiu G. & Montgelard C. 2016. Conservation of the endangered Mediterranean tortoise *Testudo hermanni hermanni*: The contribution of population genetics and historical demography. *Biological Conservation* 195, 279–291.

Titre : Biologie et écologie d'une population isolée. Exemple d'*Eryngium viviparum* et perspectives pour sa conservation en France.

Mots clés : biologie de la conservation, écologie, dynamique des populations, génétique des populations, restauration écologique

Résumé : L'isolement géographique est une menace élevée pour le maintien des populations sur le long terme. Il est donc primordial de comprendre selon quel degré la viabilité des populations est affectée par leur isolement, notamment en vue de définir des priorités en terme de conservation.

Eryngium viviparum J.Gay (Apiaceae) est une des espèces végétales les plus menacées d'Europe avec une distribution ibéro-armoricaine très fragmentée. En France, son statut de conservation est devenu particulièrement critique avec la disparition de la presque totalité de ses populations au cours des années 1980, à l'exception d'une seule, suite à la destruction de son habitat par les activités humaines. Cette unique population fait depuis plusieurs années l'objet d'une conservation et d'une gestion attentives au sein d'une réserve protégée. Malgré ces actions, l'isolement de cette population soulève des interrogations quant à sa viabilité sur le long terme.

Dans ce cadre, et à travers une approche multidisciplinaire, la thèse propose un renforcement des connaissances sur les caractéristiques écologiques et biologiques d'*E. viviparum*, et plus particulièrement concernant sa dernière population française.

Title : Biology and ecology of an isolated population. Example of *Eryngium viviparum* and perspectives for its conservation in France

Keywords : conservation biology, ecology, population dynamics, population genetics, ecological restoration

Abstract : The geographical isolation is an important threat for the long term preservation of populations. It is crucial to understand how the viability of populations is affected in such context, in particular to define conservation priorities.

Eryngium viviparum J.Gay (Apiaceae) is one of the most endangered plant in Europe, with a fragmented distribution between the NW of the Iberian peninsula and Brittany. In France, the species is maintained only on a single locality, after the destruction of its habitat by human activities during 1980s. Despite a conservation program and an attentive management within a protected area, the strong isolation experimented by this population bring up questions about its long-term viability.

In this context, through a multidisciplinary approach, this thesis aims to improve the biological and ecological knowledge of *E. viviparum*, and more particularly within its last French population.

Elle s'articule selon trois axes principaux :

- (1) L'étude de l'amplitude écologique de l'espèce, puis la caractérisation de ses préférences écologiques à fine échelle au sein de la dernière population française.
- (2) L'évaluation de la viabilité de la population isolée d'après ses paramètres démographiques, son niveau de diversité génétique et son degré de différenciation avec d'autres populations.
- (3) L'expérimentation des modalités de réintroduction en France.

Les résultats apportés par ce travail contribueront à définir les prochaines priorités en matière de gestion et de conservation pour assurer le maintien d'*E. viviparum* sur le long terme en France.

Le cas d'*E. viviparum* fournit un bon modèle d'étude pour évaluer l'effet de l'isolement sur la dynamique d'une population isolée et pour appliquer une conservation adaptée à cette problématique.

This thesis is organized according three main axes :

- (1) The study of large-scale *E. viviparum* ecological amplitude, and the characterization of its fine scale ecological preferences within the last french population.
- (2) The viability evaluation of the isolated population according to its demographic modalities, and to its genetic structure in comparison with Iberian populations.
- (3) The experiment of its reintroduction modalities in France

The results of this study will contribute to define the long-term conservation priorities of *E. viviparum* in France.

Finally, the case of *E. viviparum* is a good model to study the effect of the isolation on an isolated population dynamic, and to apply adapted conservation for species in a similar context.