

DK529470

BA-TH 1279



Université Pierre et Marie Curie



Master Pro II
Parcours Génétique et
Gestion de la Biodiversité

Territoire de Polynésie Française



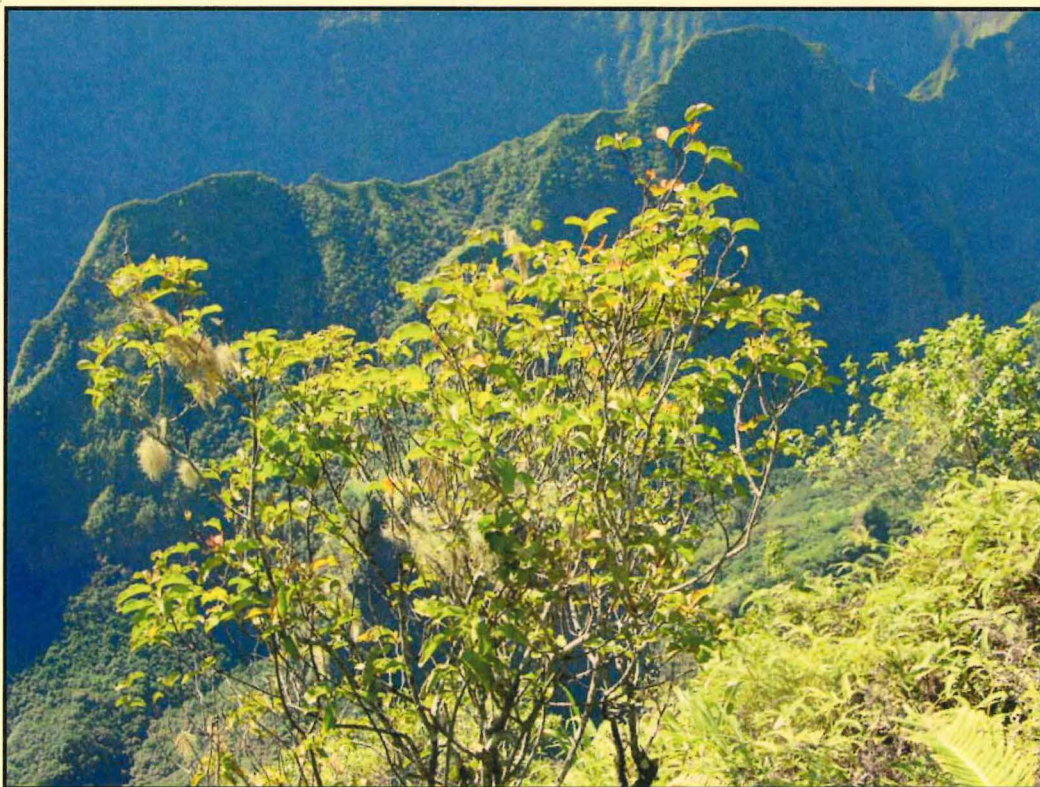
Ministère de l'Agriculture
et de l'Élevage
Service du Développement Rural



CIRAD Forêt

DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE DE *Santalum insulare*, ESPÈCE FORESTIÈRE DE POLYNÉSIE FRANÇAISE

IMPLICATIONS POUR SA CONSERVATION



MÉMOIRE DE STAGE

Responsables de stage :

- Jean-Marc Bouvet
- Jean-François Butaud

CIRAD-Dist
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE
Baillarguet

Emeline Lhuillier

Septembre 2005



CIRAD

000073013

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Jean-Marc Bouvet pour m'avoir permis de travailler sur ce projet et pour m'avoir si bien encadrée.

Un grand merci à Jean-François Butaud pour ses récits polynésiens, son enthousiasme et ses encouragements.

Merci à Alexandre Vaillant pour son soutien, ses conseils et sa disponibilité.

Merci à toutes les personnes qui ont contribué de près comme de loin à la réalisation de cette étude : Fanny Rives, Daniel Verhaegen, Nicolas Fauvet, l'équipe de biotrop...

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont entourée durant ce stage, merci pour leur soutien et leur bonne humeur : Lorraine, pour sa patience et son aide à tout moment, Leïla, Mireille, Sophie, Chantal, Inza, Daniel, Roselyne, Vincent...

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES

I - INTRODUCTION	1
II - LE SANTAL DE POLYNÉSIE FRANÇAISE : UNE ESPÈCE MENACÉE	3
II.1 - Caractéristiques et distribution de <i>Santalum insulare</i>	3
II.2 - Vulnérabilité des populations insulaires	4
II.2 - Menaces exposant le santal de Polynésie française à l'extinction	5
III - MATÉRIEL ET MÉTHODES	8
III.1 - Matériel biologique	8
III.2 - Analyse moléculaire par microsatellites nucléaires	9
III.2.1 - Extraction de l'ADN	9
III.2.2 - Mise au point des amorces microsatellites nucléaires et amplification	9
III.3 - Analyse des données	10
III.3.1 - Identification des clones et estimation de l'intensité de la clonalité	10
III.3.2 - Analyse de la diversité génétique et de la structuration des populations	11
III.3.3 - Analyse de la structuration génétique et géographique des génotypes	12
III.4 - Intégration de l'information fournie par les données quantitatives	13
IV - RÉSULTATS	14
IV.1 - Variabilité des marqueurs microsatellites	14
IV.2 - Analyse de la clonalité	14
IV.3 - Diversité génétique	16
IV.3.1 - Diversité intra-archipels	16
IV.3.2 - Diversité intra-îles	16
IV.3.3 - Diversité intra-populations	17
IV.4 - Structuration génétique	17
IV.5 - Analyse au niveau des génotypes multilocus	19
IV.5.1 - Analyse des génotypes dans les archipels	19
IV.5.2 - Analyse des génotypes à petite échelle spatiale	19
IV.6 - Analyse des données quantitatives	20
V - DISCUSSION	21
V.1 - La clonalité chez le santal : une stratégie d'adaptation	21
V.2 - Diversité génétique réduite et taille des populations	23
V.3 - Une structuration génétique marquée	25
V.3.1 - Forte différenciation inter-archipels et processus de spéciation	25
V.3.2 - Forte différenciation inter-îles	27

V.3.3 - Structuration intra-île	28
V.3.4 - Structuration intra-population	29
V.4 - Différenciation des îles sur la base des caractères morphologiques	30
V.5 - Implications pour la gestion et la conservation	30
V.5.1 - Approche théorique : définition des unités évolutives significatives	31
V.5.2 - Approche opérationnelle : gestion pratique des unités	32
VI - CONCLUSION	34
RÉFÉRENCES	35

ANNEXES

Annexe 1 : Protocole d'extraction de l'ADN pour Santalum insulare

Annexe 2 : Conditions d'amplification et de migration des microsatellites

Annexe 3 : Calcul des probabilités Pr des géotypes multilocus

Annexe 4 : Représentation de la clonalité dans les populations de Santalum insulare

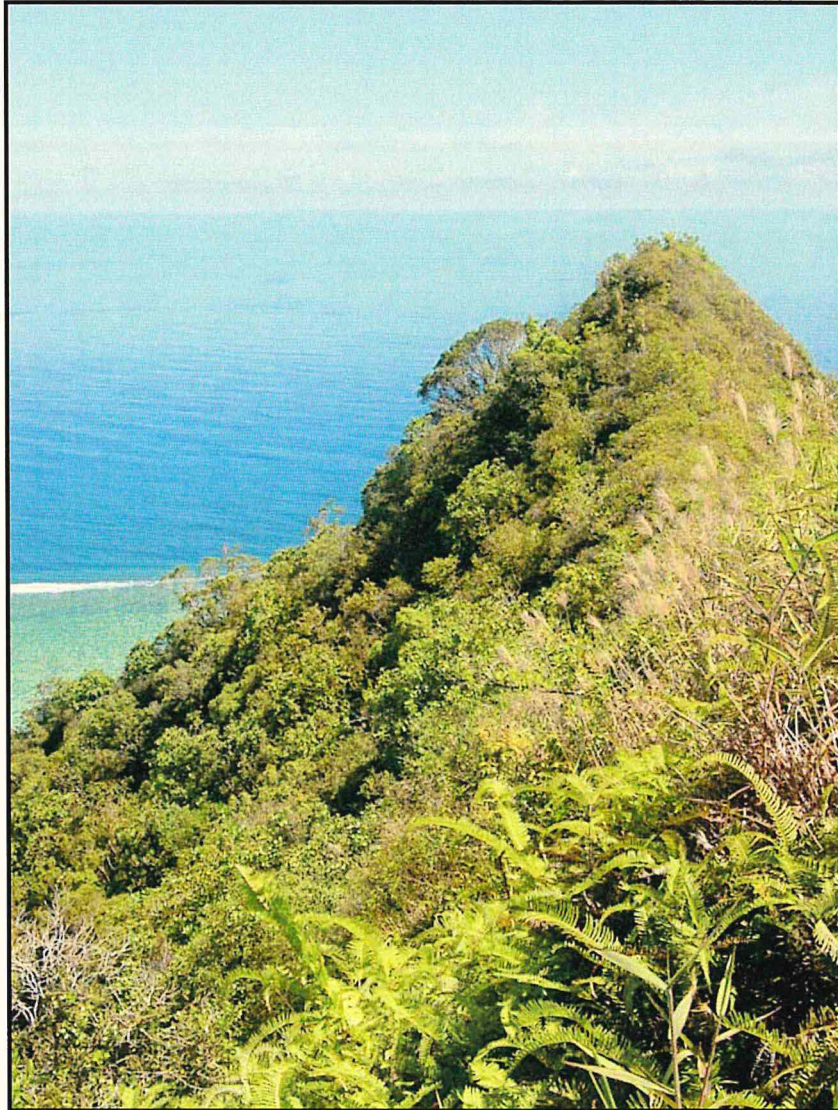
Annexe 5 : Âges des Archipels et îles de Polynésie Orientale

Annexe 6 : Cartographie des arbres et identification des clones pour quelques populations de crêtes

Annexe 7 : Données quantitatives et abiotiques par îles

I

INTRODUCTION



I - INTRODUCTION

Les systèmes insulaires ont depuis longtemps été considérés comme des modèles d'études pour comprendre l'évolution des espèces (Blondel, 1995). En effet, les îles présentent des caractéristiques particulièrement intéressantes pour analyser l'impact des forces évolutives sur les populations : isolées et de petite taille, elles comportent néanmoins une grande variété d'habitats et sont souvent encore dynamiques d'un point de vue géologique (Emerson, 2002). Cependant, les systèmes insulaires sont avant tout des systèmes vulnérables : caractérisées par une diversité génétique réduite et de petits effectifs, les populations insulaires sont soumises à d'importants processus stochastiques (Carlquist, 1980 ; Blondel, 1995). De plus, les communautés insulaires, isolées depuis longtemps, vivent dans des conditions très originales comparées à leurs homologues continentales. Elles forment ainsi des ensembles coadaptés qui les rendent sensibles à l'arrivée de toute nouvelle espèce aux rythmes de reproduction et de croissance plus performants, notamment celles introduites par l'Homme (Blondel, 1995).

La reconnaissance de la vulnérabilité de ces systèmes et la nécessité de les préserver s'inscrit dans le cadre de la Convention sur la Diversité Biologique, ratifiée en 1992 lors du Sommet de la Terre de Rio. Une de ses applications consiste à développer des programmes de protection pour des espèces présentant une valeur patrimoniale, culturelle, esthétique et potentiellement économique. Dans ce contexte, la diversité génétique est reconnue comme une information fondamentale en vue de la mise au point de stratégies de conservation (Newton *et al.*, 1999). Les biologistes de la conservation suggèrent de combiner différentes approches incluant des données moléculaires, écologiques et quantitatives, afin de définir des unités de gestion prenant en compte les changements évolutifs récents et historiques, le potentiel adaptatif des espèces, et l'intensité des flux de gènes.

La Polynésie française, Pays d'Outre-Mer caractérisé par la multitude de ses îles (près de 120), présente un taux remarquable d'endémisme (environ 50% pour les plantes vasculaires) et est considérée comme un "hotspot" de biodiversité (Myers *et al.*, 2000). Cependant, nombreuses sont les espèces menacées par les activités anthropiques directes ou indirectes : accentuant leur vulnérabilité due à leur statut insulaire, elles augmentent les risques d'extinction. L'histoire du santal de Polynésie Orientale (comprenant la Polynésie française, les îles Cook et les îles Pitcairn), *Santalum insulare* Bertero ex A. DC., est intimement liée à l'arrivée des Hommes sur les archipels. Présentant une valeur patrimoniale, culturelle, médicinale et rituelle, cette espèce emblématique pour les populations polynésiennes a suscité un fort intérêt économique pour les populations occidentales. En effet, à partir du bois de cœur de santal est fabriqué l'encens, particulièrement prisé au XIXème siècle par les

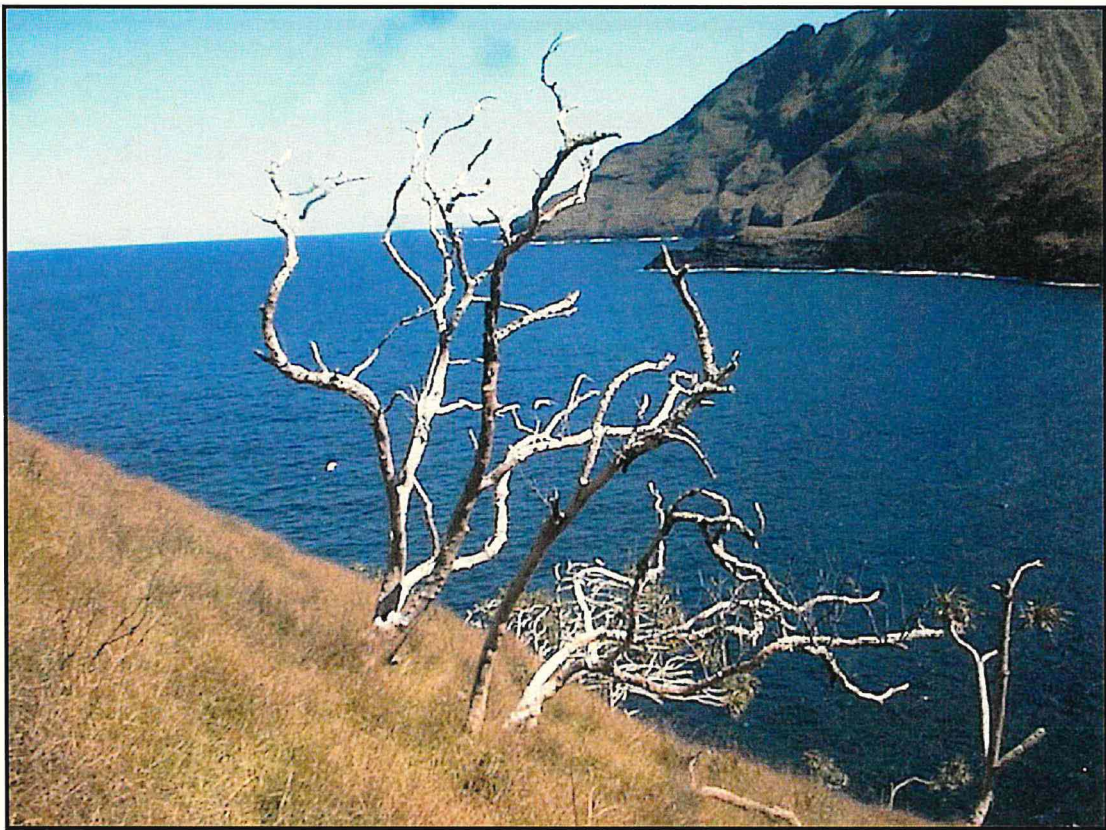
civilisations orientales, et cette nouvelle valeur économique a conduit à la surexploitation de *S. insulare*, sur toute son aire de répartition, par les santaliers (Butaud & Tetuanui, 2005). De plus, les introductions associées à l'arrivée des Hommes (rats, chèvres, pestes) ont fragilisé les populations, et aujourd'hui, six variétés parmi les neuf décrites de *S. insulare* sont considérées comme menacées par l'IUCN (2004). Des sept variétés présentes en Polynésie française, trois sont déjà protégées par la réglementation relative à la protection de la nature (arrêtés n° 256 du 18 mars 1996 et n° 471 du 10 avril 2003 en conseil des ministres de Polynésie française).

Afin d'établir une stratégie de conservation et de valorisation, le santal fait l'objet d'un projet mené en coordination entre l'Université de Polynésie française, le Service du Développement Rural de Polynésie française (SDR) et le Centre de Coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD). Dans le cadre de ce stage, nous avons analysé l'impact des forces évolutives sur la diversité génétique des populations de *Santalum insulare*. Cette étude complète le travail réalisé l'an dernier à l'aide de microsattellites chloroplastiques et de données morphologiques (Rives, 2004), et participe à une thèse en cours à l'Université de Polynésie française, portant sur la caractérisation des huiles essentielles du santal de Polynésie française et l'analyse des déterminants phytoécologiques et génétiques de sa qualité et de la variation de ses composés.

Tout d'abord, à l'aide de marqueurs microsattellites nucléaires, nous avons évalué la diversité et la structuration génétique de l'espèce, à différentes échelles géographiques. Connaissant les capacités de drageonnage du santal (Bianchini *et al.*, 2003), nous avons également estimé l'intensité du phénomène de clonalité, afin de rendre compte de l'effectif réel des populations. Compte tenu de leur taux de mutations élevé et leur hérédité biparentale, les microsattellites nucléaires semblent être des outils adaptés pour obtenir des informations plus précises sur la composante génétique intra-population. D'autre part, afin d'analyser l'impact de la sélection sur des caractères adaptatifs, nous avons intégré à l'étude des informations issues de l'analyse des caractères morphologiques. En combinant les résultats de ces études, et après avoir fait un bilan des menaces auxquelles l'espèce est exposée, nous proposerons des recommandations pour la conservation de *Santalum insulare*, et pour sa valorisation éventuelle en tant que ressource naturelle polynésienne renouvelable.

II

**LE SANTAL DE POLYNÉSIE FRANÇAISE :
UNE ESPÈCE MENACÉE**



II - LE SANTAL DE POLYNÉSIE FRANÇAISE : UNE ESPÈCE MENACÉE

II.1 - CARACTÉRISTIQUES ET DISTRIBUTION DE *SANTALUM INSULARE*

Santalum insulare est une des 16 espèces du genre *Santalum* (Santalaceae), distribué dans la zone intertropicale Indo-Pacifique de l'Inde aux îles Juan Fernandez (Chili). Ce petit arbre est une Angiosperme Dicotylédone hémiparasite racinaire, et est caractérisé par une forte capacité au rejet de souche. Les feuilles, très polymorphes, sont ovales à elliptiques et mesurent de 4 à 12 cm de long sur 1,5 et 7 cm de large. Généralement de couleur vert-jaune dans des zones plus sèches de basse altitude, elles ont une couleur vert franc à plus haute altitude. Les fleurs très odorantes comptent en moyenne 4 tépales verdâtres à blanchâtres, parfois teintés de rouge en altitude, et sont regroupées en inflorescences. Les fruits (drupes) et graines de santal de Polynésie française figurent parmi les plus grosses semences de toutes les espèces de santal existantes (jusqu'à 48 mm de longueur pour le fruit et 33 mm pour la graine). Les fruits sont en général ronds ou ovales, parfois en poire. La fructification est présente toute l'année avec une période creuse observée dans plusieurs archipels entre janvier et mars. Enfin, une fleur tout juste fécondée met entre 4 et 6 mois pour se transformer en fruit mûr. La dissémination serait assurée par des oiseaux frugivores de la famille des Columbidae (Butaud & Tetuanui, 2005), aujourd'hui rares ou éteints.

Santalum insulare est répartie sur 3 archipels de Polynésie française, les Marquises, la Société et les Australes, ainsi que sur Mitiaro (îles Cook, Nouvelle-Zélande) et Henderson (îles Pitcairn, Grande-Bretagne) (Figure 1 ; tableau 1). Cette espèce a été subdivisée selon neuf variétés botaniques qui sont actuellement remises en question suite à des récoltes et prospections plus poussées (Bianchini *et al.*, 2003).

L'archipel des îles Marquises contient le plus grand nombre de populations et de pieds de santal. Autrefois présent au moins sur les 6 îles principales, le santal n'a pu être retrouvé sur l'île de Ua Huka. Le santal est rare à Fatu Hiva et Ua Pou où les populations observées ont été victimes du feu et de la végétation concurrente comme le Toa (*Casuarina equisetifolia*). Il est plus commun dans les 3 autres îles mais ne subsiste en quantité relativement importante et sous la forme d'individus de bonne dimension qu'à Nuku-Hiva. Sur cette île, il existe des populations de haute altitude, tenues à l'écart de l'exploitation jusque dans les années 1970, et des populations de basse altitude, plus dégradées et présentant visiblement des clones. L'île de Tahuata est caractérisée par de nombreuses petites populations isolées. Sur l'île d'Hiva Oa, la population d'Hanaua est très fructifère et s'oppose aux autres populations quasiment stériles.

Figure 1 : Aire de répartition de *Santalum insulare*

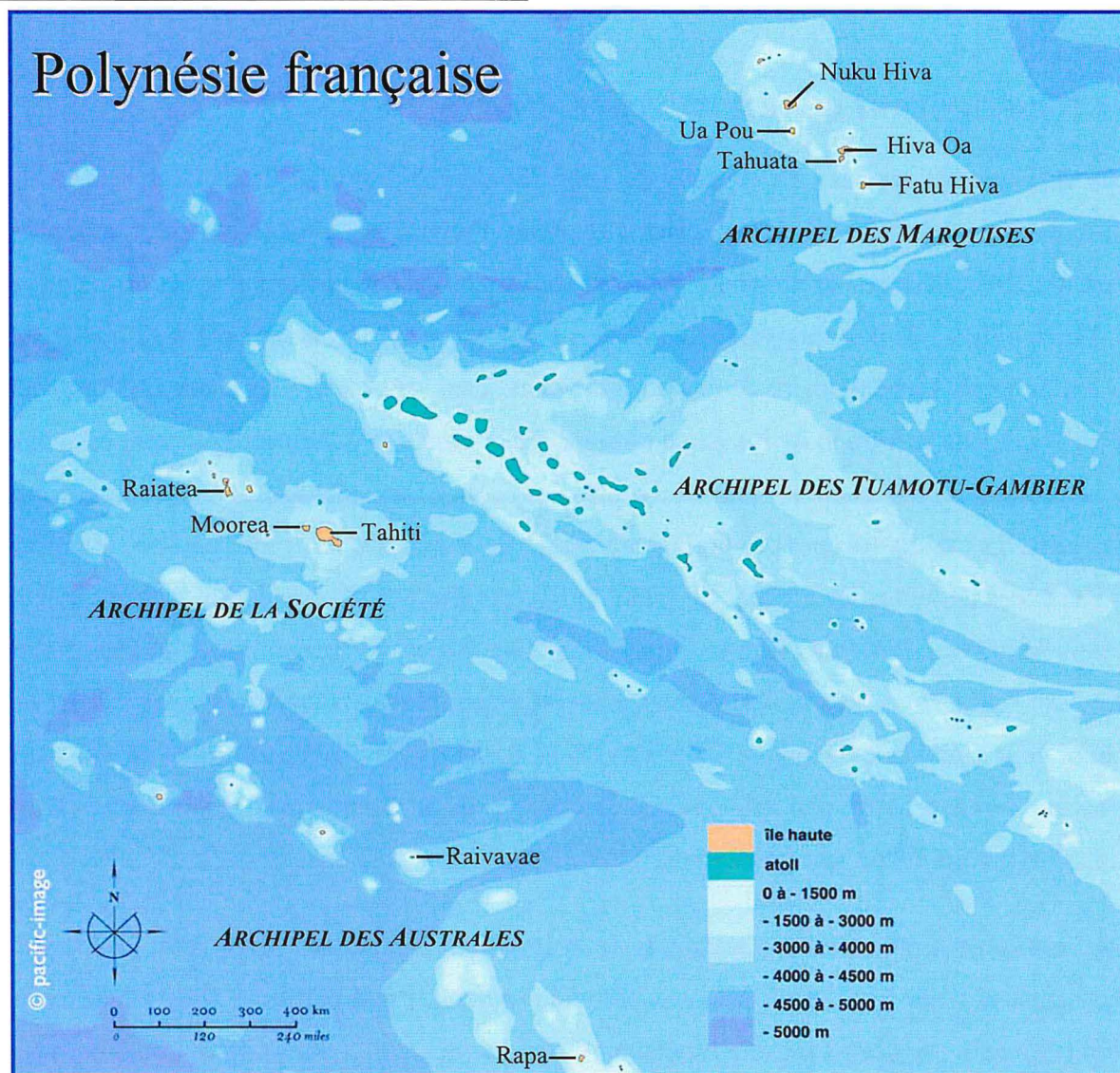


Tableau 1 : Description de l'échantillonnage de *Santalum insulare* en Polynésie française.

Le nombre de populations connues et le nombre d'arbres estimés sont indiqués entre parenthèse.

Île	Aire des îles (km ²)	Latitude Sud	Longitude Ouest	Nombre de populations	Nombre d'arbres
MARQUISES	-	-	-	28 (38)	232 (1625)
Fatu Hiva	84	10°40'	138°40'	2 (3)	4 (35)
Hiva Oa	315	9°45'	139°00'	5 (8)	51 (100)
Tahuata	69	10°00'	139°05'	8 (14)	29 (250)
Nuku Hiva	340	8°50'	140°10'	9 (9)	131 (1170)
Ua Pou	105	9°25'	140°05'	4 (4)	17 (70)
SOCIÉTÉ	-	-	-	21 (21)	258 (540)
Moorea	125	17°30'	149°50'	4 (4)	94 (200)
Tahiti	1045	17°40'	149°30'	14 (14)	133 (160)
Raiatea	171	16°45'	151°30'	3 (3)	31 (180)
AUSTRALES	-	-	-	17 (22)	78 (1914)
Rapa	40	27°38'	144°20'	2 (2)	14 (14)
Raivavae	17	23°52'	147°42'	15 (20)	64 (1900)
TOTAL POLYNÉSIE FRANÇAISE	2311	-	-	66 (81)	568 (4079)

Dans l'archipel de la Société (Tahiti, Moorea, Raiatea), le santal est restreint aux zones les plus sèches et les plus exposées, aussi bien à basse qu'à haute altitude, et se trouve uniquement sur des crêtes étroites à roche affleurante. La variété *alticola*, propre à Tahiti, est spécifique des sommets les plus hauts, difficilement accessibles (sommets de l'Aorai, crêtes de l'Orohena, Fare Ata), où elle se présente sous forme d'arbustes ou de petits arbres en fonction de la profondeur du sol et de l'exposition au vent. La variété *insulare*, aujourd'hui très rare, se rencontre principalement dans le quart Nord-Ouest plus sec de l'île de Tahiti. Enfin, la variété *raiateense*, n'est connue que de 3 populations à Raiatea où les pieds sont tous des buissons, mais est plus abondante à Moorea, plus sèche, où des populations importantes et très concentrées peuvent former de véritables "forêts de santal".

Aux Australes, Rapa présente autant de pieds vivants que de pieds morts, c'est-à-dire 14. A Raivavae, le santal se trouve aussi bien sur sol corallien au niveau des motu (petits îlots corallien situé généralement entre le lagon et la pleine mer, séparés entre par des bras de mer ou "hoa") que sur sol volcanique sur l'île principale (entre 5 et 400 m d'altitude).

II.2 - VULNÉRABILITÉ DES POPULATIONS INSULAIRES

Bien que les espèces insulaires ne représentent qu'une faible proportion des espèces mondiales, elles constituent la majorité des extinctions enregistrées depuis 1600 et des espèces listées comme menacées (Frankham *et al.*, 2002). La vulnérabilité des populations insulaires s'inscrit à la fois dans des bases génétiques et dans les aléas démographiques et environnementaux, et les pressions anthropiques pourraient aggraver la situation en accentuant l'impact des forces stochastiques.

La colonisation d'une île est inévitablement associée, durant sa phase d'établissement, à des périodes de populations de petite taille. Les forces stochastiques résultant des événements de fondation et de la dérive génétique jouent un rôle prédominant dans la détermination des caractéristiques de la variation génétique chez ces espèces. Ainsi, la perte de diversité consécutive au petit nombre de fondateurs et aux petits effectifs va inscrire les bases génétiques de l'insularité dans un régime de consanguinité. Les populations insulaires affichent souvent des taux de consanguinité qui, pour des populations captives, correspondent à un niveau d'extinction. En général, peu d'indices permettent de distinguer les effets de la consanguinité des effets dus aux facteurs non génétiques. Néanmoins, les interactions entre ces facteurs peuvent intensifier la vulnérabilité : la consanguinité peut diminuer la résistance d'une population en réduisant son taux de reproduction et de survie, la population devient alors plus sensible aux facteurs non génétiques.

Par ailleurs, l'état d'endémisme augmenterait le risque d'extinction (Frankham, 1998). Les populations insulaires endémiques ont généralement existé sur les îles en petit effectif plus longtemps que les populations non-endémiques. Elles vivent isolées depuis si longtemps et dans des conditions tellement différentes de celles du continent d'origine qu'elles constituent des ensembles coadaptés, fortement structurés, résistants aux perturbations de leur milieu (Blondel, 1995). Mais cette résistance, acquise par des processus adaptatifs, les rend vulnérables aux colonisations. L'arrivée d'espèces allochtones peut en effet avoir des conséquences désastreuses sur tout le système, en devenant des prédateurs, des compétiteurs et des parasites, et il semble que les introductions d'origine anthropique aient un impact encore plus important.

Dans le cas de *Santalum insulare*, il semble que l'effectif réduit des populations soit un élément particulièrement aggravant dans la vulnérabilité de l'espèce. En effet, la mutation, la migration la sélection et le hasard sont les 4 forces qui déterminent l'évolution des populations quelque soit leur taille, mais l'impact du hasard sera plus important et celui de la sélection moindre sur les petites populations. Les populations réduites ou déclinantes des espèces menacées ou en danger sont plus sensibles à l'extinction que les populations stables. De fait, l'effectif est le critère le plus influent des 5 critères donnés par le système IUCN pour détecter le niveau de menace qui pèse sur un taxon (UICN, 2001).

Dans les systèmes insulaires, les réductions d'effectif peuvent être dues à un goulot d'étranglement intervenant généralement lors de la colonisation. Les populations peuvent tout de même se maintenir, au prix d'une diversité génétique et d'une fitness reproductive réduites, d'une consanguinité élevée et d'une évolution compromise par rapport à la population d'origine (Frankham *et al.*, 2002). Mais sans surprise, la surexploitation est le principal facteur de réduction des effectifs des populations de nombreuses espèces, notamment chez les espèces forestières. Pour *Santalum insulare*, nous allons voir comment la vulnérabilité due à l'insularité va être accentuée à cause de menaces anthropiques.

II.2 - MENACES EXPOSANT LE SANTAL DE POLYNÉSIE FRANÇAISE À L'EXTINCTION

En plus du syndrome d'insularité, le santal est aujourd'hui exposé à de multiples menaces, principalement d'origine anthropique, conduisant à une raréfaction des populations, à la diminution de la reproduction sexuée et de la dissémination.

A l'origine du statut menacé de *Santalum insulare*, la surexploitation de l'essence forestière pour la commercialisation de son bois de cœur a débuté en 1811 aux Marquises, et a conduit à l'épuisement de la ressource en 1826 (Cherrier, 1993). Il en fut de même dans les archipels de la Société et des

Australes durant la même période. Puis, jusqu'en 1970, le santal de Polynésie n'a pas été utilisé sauf pour la fabrication locale de Monoï, pour son parfum et ses propriétés fixatrices d'autres odeurs. Mais ensuite, les coupes illégales se sont accrues, facilitées par l'ouverture de pistes vers l'intérieur des îles jusqu'alors inaccessible, et encouragées par la demande des nouveaux arrivants européens (Centre d'Expérimentation du Pacifique, Gendarmes, Enseignants...) (Butaud & Tetuanui, 2005).

D'autre part, les pratiques humaines consistant à provoquer des feux pour nettoyer les terrains sont également à l'origine de la réduction des effectifs. En effet, même si le santal a la capacité de drageonner après un feu, la répétition de ces événements a fini par affecter les populations.

L'introduction d'herbivores, caprins, bovins ou équins a conduit à la destruction des jeunes pousses, rejets ou même des arbres par écorçage, affaiblissant la régénération naturelle de l'espèce. Les chèvres sont ainsi soupçonnées d'être la cause de la disparition du santal de basse altitude à Nuku Hiva, Hiva Oa et Rapa, en s'attaquant à l'écorce des jeunes plants en période de sécheresse. Par ailleurs, ces herbivores s'attaquent également aux plantes-hôtes du santal, transformant la forêt originelle en savane dans laquelle de nombreux glissements de terrains ont lieu.

En outre, certaines populations de *S. insulare* sont victimes de la vigueur de plantes envahissantes qui étouffent les jeunes plants et les éliminent par leur ombrage. On notera particulièrement *Spathodea campanulata* et *Falcataria moluccana* dans les îles de la Société, *Syzygium jambos* à Nuku Hiva et *Syzygium cumini* à Hiva Oa.

Concernant la dissémination des fruits de *Santalum insulare* au sein et entre les îles d'un même archipel, elle serait assurée par des Columbidae frugivores des genres *Ducula* et *Ptilinopus*. Or, depuis l'arrivée de l'Homme sur les îles polynésiennes il y a 2000 ans, au moins 9 espèces de Columbidae polynésiennes se seraient éteintes sur leur aire complète de répartition, et d'autres sur certaines îles, du fait de la chasse, de la déforestation et des introductions de prédateurs, rapaces et parasites (Steadman, 1997). Sans impact humain, une île typique de Polynésie orientale devrait aujourd'hui comporter au moins 5 à 6 espèces de 3 à 4 genres de Columbidae, contre 0 à 3 espèces de 0 à 3 genres. Ainsi, les espèces du genre *Ducula* ne subsistent en nombre qu'à Nuku Hiva et Makatea. Les *Ptilinopus* sont également plus rares, confinés à basse altitude et ne peuvent disséminer qu'une partie des fruits, très gros pour eux. Mais en plus d'affecter la dissémination, la raréfaction de ces oiseaux pourrait affecter la germination. En effet, un fruit dont la pulpe n'est pas digérée aura tendance à pourrir, pulpe et amande, sous l'arbre.

Le facteur menaçant le plus la reproduction sexuée de *Santalum insulare* est la prédation des graines par les rats. Plusieurs espèces ont été introduites dans les îles de Polynésie : l'introduction du rat polynésien (*Rattus exulans*) est contemporaine de l'arrivée des Polynésiens il y a 2000 ans environ, tandis que le rat noir (*Rattus rattus*) a été introduit lors des premiers échanges avec les Européens à la fin du XVIIIème siècle. Ces deux espèces ont été observées dans les populations de santal de Polynésie. Le rat détruit le fruit ayant quasiment atteint sa maturité pour consommer l'amande déjà formée dans la graine. Il est probable que le rat noir, plus arboricole et d'introduction plus récente soit le responsable de la majorité des dégâts. La quasi-totalité des fruits sont ainsi détruits, ce qui a pour conséquence une absence de régénération par reproduction sexuée. L'utilisation de raticides semble être devenue le seul moyen de protéger les graines et d'obtenir des fruits matures.

La reproduction sexuée est également affectée dans une moindre mesure par des insectes. Les fruits sont attaqués par des mouches des fruits (*Bactrocera sp*) et des punaises (*Leptoglossus australis*), tandis que les fleurs subiraient les attaques d'un Coléoptère (*Protaetia fusca*).

Finalement, l'introduction de pathogènes pourrait également être à l'origine d'une mauvaise reproduction ou d'un mauvais développement du santal. Notamment, la fumagine a été mise en évidence à divers stades sur des santals des îles Marquises et de Tahiti. (Butaud & Tetuanui, 2005).

Les aires occupées par *Santalum insulare* sont donc aujourd'hui beaucoup plus restreintes et fragmentées. Néanmoins, il semble que les populations soient encore assez fournies et cette densité pourrait être due à une expansion par drageonnage. Il n'est donc pas improbable que les populations de santal soient constituées de clones. L'étude par les marqueurs microsatellites pourrait nous permettre de révéler ce phénomène et d'estimer son intensité, évitant ainsi un biais dans l'évaluation de la diversité et de la structuration génétique des populations, logiquement basée sur l'analyse d'individus distincts.

III

MATÉRIEL ET MÉTHODES



III - MATÉRIEL ET MÉTHODES

III.1 - MATÉRIEL BIOLOGIQUE

La récolte des feuilles de *Santalum insulare* pour l'analyse moléculaire a été effectuée sur l'ensemble de l'aire de répartition de l'espèce, à savoir les 10 îles de Polynésie française, ainsi qu'à Mitiaro (îles Cook) et à Henderson (Pitcairn). Au total, 568 échantillons ont été analysés, répartis sur 99 sites distincts. Ces sites ont été regroupés en "populations", définies à la fois sur la base de critères géographiques et topographiques, comme un ensemble d'individus échangeant des gènes sans interruption géographique majeure. Dans le cas de Raivavae (Archipel des Australes), certains motu (flot corallien entourant l'île haute volcanique) ont été rassemblés du fait de la faible distance maritime les séparant, ne représentant théoriquement pas une barrière au flux de pollen ni au transport de fruits et de graines. Certains regroupements ont également été effectués afin de pouvoir mener à bien les analyses statistiques lorsque le nombre d'échantillons était limité.

Malgré ces regroupements, l'échantillonnage reste très déséquilibré. En effet, le nombre de populations par île et les effectifs par population sont très variables et dépendent à la fois de la superficie occupée par l'essence, qui reflète souvent l'intensité d'exploitation des sites, et de l'abondance ou la rareté des habitats propices au santal. Le nombre d'individus échantillonnés varie ainsi de 4 à Fatu Hiva, à 133 à Tahiti. Le détail des provenances est indiqué dans le tableau 1.

De plus, la collecte n'a pu être réalisée de manière exhaustive ni sur toutes les îles, ni sur tous les sites, en raison de la difficulté d'accès à certains d'entre eux, et de la densité des populations les plus importantes.

Ainsi, à Rapa, les 14 arbres subsistants connus ont été échantillonnés pour l'étude. Par contraste, à Nuku Hiva, où les aires présentant du santal sont plus larges et plus nombreuses, il a été procédé à un échantillonnage sur le terrain, afin d'obtenir un nombre suffisant d'individus pour les analyses statistiques (voir tableau 1) tout en récoltant la plus grande diversité possible. L'objectif de la récolte était initialement d'échantillonner un minimum de 30 individus par île, ce qui, selon les îles, a consisté à récolter l'intégralité des individus de l'île, ou à choisir plus ou moins aléatoirement des individus, comme sur Nuku Hiva ou Raivavae.

Les spécimens échantillonnés ont été géoréférencés par GPS, et les feuilles collectées ont été séchées à l'aide de papiers absorbants (premières récoltes) ou de silica gel.

Tableau 2 : Caractéristiques des 8 locus microsatellites testés

Locus	Séquence des amorces (5'→3')	Motifs répétés	Taille du fragment	Température d'hybridation
mCIRSi 33	*GAAGTTGAAGTTGTTGATGC AAATGAGAGACCTGAGTGAAG	(TC) ₁₉	229+19 pb	58°C
mCIRSi 39	*AGTGACCCGTAGTTTGAC GGAGAGATTGTATTGGAAC	(TC) ₉ ...(AC) ₈	237+19 pb	53°C
mCIRSi 42	*CGCACAAACTAAAAACCTT TCGTAATGGATGGCTTCTA	(GA) ₁₁	223+19 pb	58°C
mCIRSi 44	*GCCTTTTTCACTTTTCGC ACACCTCACACAGTTCCT	(TG) ₈	113+19 pb	50°C
mCIRSi 139	*GTGCTACTTGATACCAGG GGACAACCAGAGGAGAAC	(CA) ₆	183+19 pb	53°C
mCIRSi 148	*CATAGAAGTAGTTGGGTTTA TTTTAGGTAGGATGTTGG	(TG) ₃ CG(TG) ₄ ...(AT) ₅	182+19 pb	50°C
mCIRSi 153	*ATGCTTTTGTGGTGATTC GCTTGGAGTATCTTGTGG	(CA) ₂ GA(CA) ₁₁	293+19 pb	58°C
mCIRSi 185CA	*ACAACAACGCATAACCCT AAAACAATGGCACTGAGAA	(CA) ₇	247+19 pb	56°C

* Séquence de l'oligo M13 (19pb) : 5'-CAC GAC GTT GTA AAA CGA C-3'

III.2 - ANALYSE MOLÉCULAIRE PAR MICROSATELLITES NUCLÉAIRES

III.2.1 - EXTRACTION DE L'ADN

L'ADN est extrait à partir de 100 mg de feuilles séchées selon le protocole donné en annexe 1, établi d'après une méthode décrite par Bousquet *et al.* (1990). La qualité et la quantité d'ADN extrait sont évaluées sur gels d'agarose 1%. Des solutions de travail ont alors été réalisées à 5 ng/ μ l.

III.2.2 - MISE AU POINT DES AMORCES MICROSATELLITES NUCLÉAIRES ET AMPLIFICATION

La banque génomique a été construite à partir de l'ADN d'un individu appartenant à la population de Maauu à Nuku Hiva (Archipel des Marquises). Trois microgrammes de l'ADN total purifié ont été utilisés pour construire une banque génomique enrichie en répétitions (GT)_n et (CT)_n, selon le protocole de Billote *et al.* (1999). Soixante-neuf clones ont été sélectionnés et séquencés à l'aide du BigDye Terminator Cycle Sequencing chemistry (Applied Biosystems), et les séquences ont été détectées sur un séquenceur ABI 3700. Parmi les clones séquencés, les doublons, les clones hybrides et ceux contenant des séquences inexploitable ou avec une région microsatellite trop en marge de la séquence, ont été éliminés. Au final, 43 clones contenant au moins une région microsatellite, avec au moins 4 répétitions de motifs ininterrompus, ont été sélectionnés. Un design d'amorces a été réalisé sur 47 séquences à l'aide du logiciel OLIGO EXPLORERTM (Gene LinkTM) et 32 couples d'amorces présentant un design satisfaisant ont été testés pour différentes conditions d'amplification (température d'hybridation, nature du tampon, concentrations en MgCl₂, Taq Polymérase, dNTPs, amorces). Ces tests ont été effectués sur gel d'agarose 1% pour 1 à 2 individus.

Les tests de polymorphisme ont été conduits sur un panel de 12 et/ou 30 individus de provenances différentes afin d'écartier les locus à profil non variable ou non interprétable, et les locus absents pour certaines provenances. Huit locus ont finalement été retenus pour l'étude : mCIRSi 33, mCIRSi 39, mCIRSi 42, mCIRSi 44, mCIRSi 137, mCIRSi 139, mCIRSi 148, mCIRSi 153 et mCIRSi 185(CA). Leurs caractéristiques sont données dans le tableau 2.

Les amplifications par PCR ont été réalisées sur le thermocycleur "Mastercycler gradient" (Eppendorf) dans les conditions indiquées en annexe 2. Les tailles des produits d'amplification ont été évaluées par migration sur séquenceur Licor IR2 4200 et à l'aide du logiciel SAGA 2.0 (détails en annexe 2).

III.3 - ANALYSE DES DONNÉES

III.3.1 - IDENTIFICATION DES CLONES ET ESTIMATION DE L'INTENSITÉ DE LA CLONALITÉ

Après analyse locus par locus, les génotypes identiques d'échantillons considérés jusqu'alors comme des individus à part entière, ont été regroupés et identifiés. La probabilité Pr que ces génotypes soient issus de la reproduction sexuée et se rencontrent n fois parmi un ensemble d'individus donnés peut être estimée par la formule suivante (Sydes and Peakall, 1998) :

$$Pr = (Pcgen)^{n-1} = [(\prod p_i) 2^h]^{n-1}$$

où - $Pcgen$ représente la probabilité, pour un marqueur codominant, d'observer un génotype multilocus donné sous l'hypothèse d'une population se reproduisant sexuellement et de manière aléatoire (équilibre d'Hardy-Weinberg) ;

- p_i est la fréquence de chaque allèle (2 par locus) observé dans le génotype multilocus ;
- h est le nombre de locus hétérozygotes du génotype multilocus donné.

Les fréquences alléliques ont été calculées pour chaque île. On choisit d'accepter l'hypothèse nulle, à savoir l'union au hasard des gamètes, si $Pr \geq 0,05$. Si $Pr < 0,05$, on choisit de rejeter l'union au hasard comme origine des motifs génétiques observés. Donc, par le calcul de la valeur de la probabilité, on accepte ou rejette l'hypothèse nulle, en se basant sur les valeurs p conventionnelles.

Une fois les clones identifiés, il est possible d'évaluer la "diversité clonale" en calculant les paramètres suivants, pour chaque population :

- N = nombre d'échantillons (ramets) ;
- G = nombre de génotypes multilocus distincts ;
- g = nombre de genets identifiés ;
- G/N = proportion de génotypes distincts ;
- D = diversité génotypique. $D = 1 - \sum [n_i(n_i - 1)/N(N - 1)]$ où n_i est le nombre d'échantillons de génotype multilocus type i (Kennington and James, 1997 ; Pielou, 1969). La diversité génétique s'étend de 0, quand la population est dominée par un clone, à 1, quand chaque échantillon de la population est un individu différent).
- N_p = nombre moyen de populations par génotype. Cet indice permet de détecter les îles dont les populations sont à genets multiples ($0 < N_p < 1$), à genet unique ($N_p = 1$) ou si les populations de l'île partagent un même genet ($N_p > 1$).

Un genet, ou individu génétique, se définit comme l'ensemble des tissus originaires d'un même zygote, tandis qu'un ramet est une entité potentiellement indépendante du genet (Torimaru *et al.*, 2003). Le pied initial à l'origine des ramets est défini comme l'ortet.

III.3.2 - ANALYSE DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE ET DE LA STRUCTURATION DES POPULATIONS

Afin de ne pas biaiser les estimations, les paramètres de diversité ont été calculés à partir des données sur les genets uniquement. Cela réduisant considérablement les effectifs de certaines populations déjà très restreintes, les paramètres ont été calculés, dans la mesure du possible, à l'échelle des archipels, des îles, et des populations.

Les fréquences alléliques, le nombre moyen d'allèles par locus (n_A), les hétérozygoties observée (H_o) et attendue (H_e) sont calculés à l'aide du logiciel GENETIX version 4.03 (Belkir *et al.*, 2001). L'indice de diversité génétique H_e sans biais de Nei (1978) est calculé selon la formule :

$$H_e = \sum_{k=1}^r h_k / r \quad \text{avec} \quad h = 2n(1 - \sum x_i^2) / (2n - 1)$$

où : h_k est la valeur de h au $k^{\text{ième}}$ locus ; r est le nombre de locus ; n est la taille de l'échantillon ; x_i est la fréquence de l'allèle i au locus k dans l'échantillon.

Le coefficient de consanguinité (F_{IS}) a été estimé aux différentes échelles spatiales, et l'écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg a été évalué à l'aide de GENETIX 4.03 par un test de permutations avec 5000 permutations.

Pour contrôler si les différences des tailles d'échantillons et les échelles spatiales variables dans lesquelles les individus ont été regroupés affectent les estimations de diversité, la richesse allélique (R) a été calculée à l'aide du logiciel FSTAT 2.9.3.2 (Goudet, 1995). Cet indice est adapté de l'indice de raréfaction de Hurlbert (1971) (in El Mousadik & Petit, 1996). Le principe est d'estimer le nombre attendu d'allèles dans un sous-échantillon de $2n$ gènes, étant donné que $2N$ gènes ont été échantillonnés ($N > n$). Dans FSTAT, n est fixé comme le nombre le plus petit d'individus génotypés pour un locus pour un échantillon.

Un test de corrélation de Pearson (test paramétrique) est effectué à l'aide du logiciel XLSTAT version 7.5.2, pour rechercher une éventuelle corrélation entre l'indice de diversité génétique de Nei H_e et la taille des îles en surface (km^2) ou en nombre de genets.

La structure génétique entre les îles a été évaluée à l'aide d'une analyse de variance moléculaire (AMOVA ; Excoffier *et al.*, 1992) conduite sur le logiciel ARLEQUIN (Schneider *et al.*, 2000) avec 1000 permutations. L'AMOVA permet de tester une structure génétique particulière en partitionnant la variance totale en composantes de covariance. Elle permet d'estimer le pourcentage de variation expliquée par la diversité intra- et inter-populations.

La différenciation entre structures a été estimée à partir de l'estimateur thêta du F_{ST} selon la méthode de Weir & Cockerham (1984) à l'aide de GENETIX 4.03. Les valeurs p associées ont été déterminées à partir de 5000 permutations. Le flux génique a été évalué entre les îles et entre les populations par le nombre de migrants par génération, Nm , estimé à partir du F_{ST} selon la formule :

$$Nm = \frac{1 - F_{ST}}{4F_{ST} \frac{n}{n-1}} \text{ où } n \text{ est la taille de l'échantillon (Wright, 1969)}$$

Afin d'évaluer les motifs de dispersion de l'espèce, un test de Mantel (Mantel, 1967) a été conduit dans ARLEQUIN sur 1000 permutations. En utilisant le thêta de Weir & Cockerham, ce test permet de détecter l'éventuelle corrélation entre la matrice de distances génétiques représentée par les estimations par paire de $F_{ST}/(1-F_{ST})$ entre îles, et la matrice de distances géographiques représentée par le logarithme des distances euclidiennes entre les barycentres des îles (Rousset, 1997).

Les distances génétiques entre paires d'îles ont été estimées à l'aide de la distance de Cavalli-Sforza (Cavalli-Sforza & Edwards, 1967), distance adaptée à la description de la structuration des populations en considérant leur histoire évolutive, et notamment les effets de dérive. La matrice de distances a été obtenue à partir du programme GENDIST de PHYLIP (PHYLIP, version 3.6, Felsenstein, 1993) et a permis, à l'aide du programme NEIGHBOR (PHYLIP) de construire un arbre de distances de type Neighbor-Joining, suivant la méthode de Saitou & Nei (1987). La robustesse des nœuds a été évaluée par 1000 bootstraps à l'aide du programme SEQBOOT (PHYLIP), et l'arbre consensus obtenu par le programme CONSENS (PHYLIP) a été dessiné à l'aide du logiciel TREEVIEW (Page, 1996).

III.3.3 - ANALYSE DE LA STRUCTURATION GÉNÉTIQUE ET GÉOGRAPHIQUE DES GÉNOTYPES

Afin d'apprécier la structuration génétique à l'échelle de la population, et vu les faibles effectifs de genets pour certaines d'entre elles, nous avons calculé un indice de dissimilarité d_{ij} entre les génotypes, par archipel. Cet indice, dérivé de l'indice de similarité ("simple matching") de Sokal & Michener (1958) pour l'adapter aux données alléliques, a été calculé à l'aide du logiciel DARWIN 5.0.84 (Perrier *et al.*, 2003), selon la formule :

$$d_{ij} = 1 - \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L \frac{m_l}{\pi}$$

où : d_{ij} est l'indice de dissimilarité entre 2 génotypes i et j ; L est le nombre de locus ; π est la ploïdie ; m_l est le nombre d'allèles identiques au locus l .

Seuls les génotypes complets (sans donnée manquante) ont été utilisés pour éviter les biais.

Des arbres utilisant la méthode de Neighbor-Joining ont ensuite été dessinés pour chacun des archipels à partir des matrices de dissimilarités entre génotypes, à l'aide de DARWIN. Les populations ont été identifiées pour observer si les distances entre génotypes peuvent correspondre aux groupes géographiques. Les valeurs de bootstraps pour 1000 tirages permettent d'évaluer la robustesse des branches des arbres construits sur les données initiales.

A petite échelle spatiale, cet indice de dissimilarité entre génotypes a également été calculé dans certaines populations assez étendues et fournies en individus (Haut de Terre Déserte et Toovii à Nuku Hiva, Rotui à Moorea, Aorai sommet et Pic Vert à Tahiti), et un test de Mantel a été conduit entre matrice de dissimilarités et matrice des distances géographiques entre les genets, afin de rechercher une corrélation, à une échelle plus fine, entre distances génétiques et répartition géographique. Ces tests ont été réalisés dans GENETIX avec 1000 permutations.

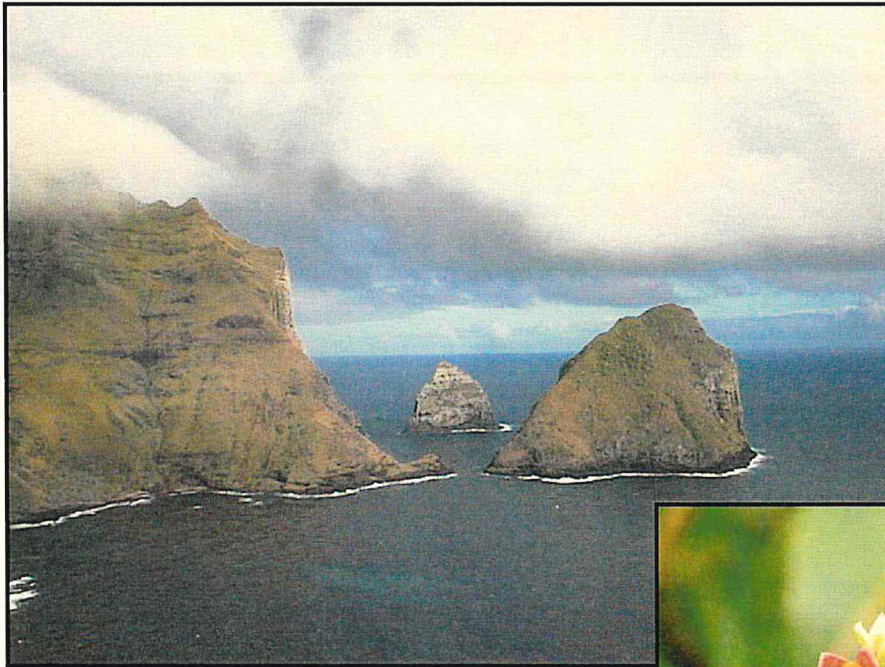
III.4 - INTÉGRATION DE L'INFORMATION FOURNIE PAR LES DONNÉES QUANTITATIVES

A l'aide des données morphologiques récoltées sur des feuilles et des graines pour l'étude réalisée antérieurement (Rives, 2004) et complétées par de nouvelles mesures, nous avons réalisé une analyse en composante principale (ACP) afin de caractériser morphologiquement les îles en utilisant les caractères suivants : largeur et longueur des feuilles, largeur et longueur des graines, ainsi que les rapports allométriques longueur sur largeur pour feuilles et graines (tableau de données en annexe 7). Leur effectif d'analyse étant trop faible, les îles de Fatu Hiva, Rapa et Ua Pou ne seront pas étudiées ici pour éviter de biaiser les résultats. L'ACP a été conduite à l'aide du logiciel XLSTAT 7.5.2 (Addinsoft, 2005). Il a été procédé à une rotation de type varimax afin de simplifier l'interprétation des facteurs en minimisant le nombre de variables qui ont des contributions élevées sur chaque facteur. Pour cette étude, les populations de haute et basse altitude ont été distinguées pour Nuku Hiva et Tahiti. Pour Nuku Hiva, les populations de basse altitude sont Vaiteheii, Maauu et Motuhee ; pour Tahiti, il s'agit de "Pic Vert basses pentes", "Aorai crêtes", et "Côte ouest" (voir annexe 6).

D'autre part, une classification ascendante hiérarchique (CAH) a été construite afin de visualiser le regroupement des îles selon des critères quantitatifs. La dissimilarité utilisée est la distance euclidienne et l'agrégation est faite selon la méthode de Ward (1963) : on agrège deux groupes de sorte que l'augmentation de l'inertie intra-classe soit la plus petite possible, afin que les classes restent homogènes. Pour effectuer une troncature du dendrogramme et obtenir une partition, on utilise une troncature automatique, c'est-à-dire que le niveau de troncature du dendrogramme, et donc le nombre de classes de la partition, est déterminé automatiquement par XLSTAT en fonction de la structure de l'histogramme des niveaux des paliers.

IV

RÉSULTATS



IV - RÉSULTATS

IV.1 - VARIABILITÉ DES MARQUEURS MICROSATELLITES

Les 8 locus microsatellites testés ont permis une amplification suffisante (minimum 5 locus sur 8) pour 384 des 568 échantillons testés. Ces 384 échantillons sont issus de 43 populations (83 sites). Concernant les échantillons manquants, c'est avant tout la qualité de l'ADN extrait qui est mis en cause. En revanche, les données manquantes des échantillons retenus s'observent parfois spécifiquement sur certaines populations, indiquant qu'il pourrait s'agir d'allèles nuls. Ainsi, la population de Kaava, à Hiva Oa, présente, pour tous ses échantillons, des données manquantes au locus mCIRSi 153 uniquement, tandis que les autres populations de l'île présentent 1 à 2 allèles par individu à ce même locus. Les 8 locus microsatellites analysés sont tous polymorphes à l'échelle de l'aire de répartition, et le nombre d'allèles détectés varie de 3 pour mCIRSi 139 à 15 pour mCIRSi 148 (voir tableau 3).

IV.2 - ANALYSE DE LA CLONALITÉ

Sur les 43 populations de *S. insulare* incluses dans l'analyse, 154 génotypes multilocus ont été identifiés, pour les 384 échantillons.

La distribution des génotypes multilocus détectés par les microsatellites nucléaires est conforme à celle obtenue avec les chlorotypes (Rives, 2004) dans le sens où un même chlorotype peut correspondre à plusieurs génotypes multilocus nucléaires, l'inverse étant probablement faux du fait que le nombre de microsatellites nucléaires utilisé est supérieur aux chloroplastiques (4 marqueurs). Un génotype nucléaire multilocus semble donc suffisant pour pouvoir différencier des individus de 2 chlorotypes différents.

Deux génotypes multilocus de Raivavae font néanmoins exception :

- Le génotype RV-P est présent sur les Motu Haha, Motu Mano iti et Motu Mano rahi, et le chlorotype du Motu Mano rahi est différent de celui des deux autres (Rives, 2004). Or le chlorotype du Motu Mano rahi est exceptionnel dans les Motu Sud Ouest. Dans ce cas, une mutation du chlorotype peut être envisagée, à moins qu'il s'agisse d'une erreur de génotypage ou de lecture. On considère donc 2 génotypes : RV-P1 sur Motu Haha et Motu Mano iti et RV-P2 sur le motu Mano Rahi. RV-P2 est donc représenté par 2 clones distincts, les motu étant séparés par un bras de mer, on sait qu'il ne s'agit pas du même genet.

Tableau 3 : Distribution des allèles par locus et par île pour les 8 locus analysés.

Le nombre d'allèles spécifiques est indiqué entre parenthèses.

	Locus mCIRSi								Total
	139	185CA	39	44	42	153	33	148	
MARQUISES	2	3	6	6	7	9	10	6	51 (6)
Fatu Hiva	1	2	1	2	3	2	1	2	14
Hiva Oa	1	1	5	3	4	4	5	1	26
Tahuata	1	1	4	3	3	4	5 (2)	3	24 (2)
Nuku Hiva	2	3	4 (1)	5 (1)	6 (1)	6 (1)	7	4	37 (4)
Ua Pou	1	1	4	4	3	2	3	3	21
SOCIÉTÉ	3	6	5	3	5	7	10	13	52 (15)
Moorea	1	4 (1)	5 (1)	3	3	4 (1)	4	1	25 (3)
Tahiti	3 (1)	4 (1)	3	2	4 (1)	4	8 (4)	13 (5)	41 (12)
Raiatea	1	3	2	2	2	2	3	2	17
AUSTRALES	1	2	3	3	6	3	4	4	26 (1)
Rapa	1	1	1	2	1	2	2	2	12
Raivavae	1	2	3	2 (1)	5	2	3	3	21 (1)
TOTAL	3	6	7	7	8	10	14	15	70

- Le génotype RV-J est présent sur les Motu Niupapa rahi et Motu Haha, sur lesquels 2 chlorotypes différents ont été observés. Dans ce cas, il est possible que le génotype établi sur 8 locus ne permette pas de distinguer les 2 individus porteurs de RV-J, pourtant différenciés par les chlorotypes. On considère donc 2 génotypes différents : RV-J1 sur Motu Niupapa rahi et RV-J2 sur Motu Haha.

On comptera donc 156 génotypes pour les 384 arbres. Hormis RV-J et RV-P, présents sur des motus différents de Raivavae, aucun génotype n'est partagé entre les îles.

Pour les 67 génotypes multilocus trouvés en plusieurs exemplaires, les probabilités Pr ont été calculées et sont toutes inférieures à 0.05, suggérant qu'il est très peu probable que ces génotypes soient issus d'un régime de reproduction sexuée panmictique (voir annexe 3).

Cependant, l'observation sur le terrain de certains groupes de ramets indiquerait la présence de plusieurs genets plutôt que d'un seul clone :

- Dans la population de Hanaavao (Hiva Oa, Marquises), un seul génotype (HO-A) a été détecté sur 14 échantillons, et sa probabilité Pr associée est de $1,88.10^{-88}$. Or, la répartition des échantillons (distance, présence d'arbres entre les groupes) indiquerait plutôt la présence de 3 groupes de clones séparés de 50 à 100 m. Nous avons donc choisi de compter pour cette population 3 genets distincts.
- Sur le Rotui (Moorea, Société), on observe 24 échantillons de génotype M-F ($Pr = 1,55.10^{-61}$), on choisit de répartir ces arbres en 2 clones.
- Sur l'Aorai (Tahiti, Société), on observe 8 échantillons de génotype T-M ($Pr = 4,00.10^{-22}$), et on distingue 2 genets.
- Sur le Motu Rani (Raivavae, Australes), on observe 5 échantillons de génotype RV-Z ($Pr = 9,29.10^{-11}$) et on distingue également 2 genets.

Les probabilités Pr recalculées pour ces nouveaux groupes de clones restent inférieures à 0.05. Néanmoins, le choix de distinguer plusieurs genets de même génotype multilocus dans un même site, en se basant sur des observations de terrain, reste discutable. En effet, la production de drageons peut s'étendre, avec le temps, à plusieurs centaines de mètres de l'ortet initial, mais avec l'exploitation humaine, les feux et les chèvres, les connections souterraines ont pu être interrompues et l'ortet avoir disparu. De nouvelles tâches clonales peuvent alors se développer à partir d'un ramet distant de l'ortet, donnant l'impression d'individus distincts.

On obtient donc finalement 162 genets sur 384 échantillons, soit un rapport g/N de 0.42 pour l'ensemble de l'aire de répartition.

Tableau 4 : Mesures de la diversité clonale dans les populations de Santalum insulare.

Population	N	G (g)	G/N	D	Np
MARQUISES	144	62 (64)	0.43	0.46	
<i>FATU HIVA</i>	3	2 (2)	0.67	0.00	1.00
Omoa	2	1 (1)	0.50	0.00	
Ouia	1	1 (1)	1.00	-	
<i>HIVA OA</i>	36	6 (8)	0.17	0.17	0.83
Hanaavao	14	1 (3)	0.07	0.00	
Hanauaua	3	2 (2)	0.67	0.67	
Kaava	7	1 (1)	0.14	0.00	
Mokoau	1	1 (1)	1.00	-	
Taaoa	11	1 (1)	0.09	0.00	
<i>TAHUATA</i>	22	9 (9)	0.41	0.48	0.44
Côte Nord Est	3	3 (3)	1.00	1.00	
Côte Sud	5	4 (4)	0.80	0.90	
Hanamiai	7	1 (1)	0.14	0.00	
Vaitahu Faanui	7	1 (1)	0.14	0.00	
<i>NUKU HIVA</i>	76	40 (40)	0.53	0.73	0.11
Haut Terre Déserte	19	12 (12)	0.63	0.94	
Maauu	18	1 (1)	0.06	0.00	
Motuhee	8	4 (4)	0.50	0.82	
Taiohae Vaioa	6	6 (6)	1.00	1.00	
Toovii	9	6 (6)	0.67	0.83	
Toovii crêtes	10	8 (8)	0.80	0.93	
Vaiteheii	6	3 (3)	0.50	0.60	
<i>UA POU</i>	7	5 (5)	0.71	0.33	0.80
Haakuti Vaihaoa	2	1 (1)	0.50	0.00	
Hakahetau	2	1 (1)	0.50	0.00	
Hohoi Teepo	1	1 (1)	1.00	-	
Poutetainui	2	2 (2)	1.00	1.00	
SOCIÉTÉ	164	58 (60)	0.35	0.51	
<i>MOOREA</i>	72	16 (17)	0.22	0.61	0.19
Fairurani	7	5 (5)	0.71	0.90	
Rotui	54	9 (10)	0.17	0.76	
Tohiea	11	2 (2)	0.18	0.18	
<i>TAHITI</i>	77	40 (41)	0.52	0.72	0.18
Aorai crêtes	4	3 (3)	0.75	0.83	
Aorai sommet	31	18 (19)	0.58	0.92	
Côte Ouest	7	1 (1)	0.14	0.00	
Ivirairai haut	1	1 (1)	1.00	-	
Orohena crêtes	5	5 (5)	1.00	1.00	
Pic Vert	24	9 (9)	0.38	0.77	
Pic Vert basses pentes	5	3 (3)	0.60	0.80	
<i>RAIATEA</i>	15	2 (2)	0.13	0.00	1.00
Fetuna	13	1 (1)	0.08	0.00	
Orotaio	2	1 (1)	0.50	0.00	
AUSTRALES	76	36 (38)	0.47	0.63	
<i>RAPA</i>	14	2 (2)	0.14	0.00	1.00
Anatakuri Nako	3	1 (1)	0.33	0.00	
Karapoo Rahi	11	1 (1)	0.09	0.00	
<i>RAIVAVAE</i>	62	34 (36)	0.58	0.81	0.21
Anatonu Est	7	3 (3)	0.43	0.67	
Anatonu Ouest	13	5 (5)	0.38	0.78	
Motu Est	8	7 (7)	0.88	0.96	
Motu Sud Ouest	8	5 (6)	0.62	0.89	
Motu Vaiamanu	8	5 (5)	0.63	0.79	
Petits Motu	10	5 (6)	0.50	0.76	
Vaianaua	8	4 (4)	0.50	0.82	
TOTAL	384	156 (162)	0.55	0.53	

N : taille de l'échantillon ; G (g) : nombre de génotypes détectés (nombre de genets identifiés) ; G/N : proportion de génotypes distincts ; Np : nombre moyen de populations par génotypes ; D : indice de diversité génotypique. Les valeurs de D et G/N pour les îles, les archipels et l'aire de répartition sont des moyennes des indices calculés sur les populations.

Tableau 5 : Tableau récapitulatif des paramètres de diversité pour *Santalum insulare*

N : taille de l'échantillon ; N_A : nombre moyen d'allèles par locus ; R : richesse allélique ; H_o : hétérozygotie observée (erreur standard) ; H_e : hétérozygotie attendue non biaisée selon Nei (erreur standard) ; F_{IS} : indice de fixation.

Populations	N	N_A	R	H_o	H_e	F_{IS}
MARQUISES	64	6.13	5.72	0.41 (0.21)	0.55 (0.24)	0.16 ***
FATU HIVA	2	1.75	1.44	0.44 (0.42)	0.44 (0.40)	0.00
HIVA OA	8	3.00	1.44	0.48 (0.44)	0.44 (0.37)	-0.10
Hanaavao	3	1.50	-	0.50 (0.53)	0.30 (0.32)	-1.00 *
Hanauaia	2	1.75	-	0.37 (0.35)	0.35 (0.31)	-0.09
TAHUATA	9	3.00	1.45	0.40 (0.30)	0.45 (0.31)	0.14
Côte Nord	3	2.25	1.43	0.33 (0.43)	0.43 (0.37)	0.27
Côte Sud	4	2.00	1.38	0.41 (0.31)	0.38 (0.29)	-0.08
NUKU HIVA	40	4.63	1.49	0.47 (0.21)	0.49 (0.23)	0.03
Haut Terre Déserte	12	3.25	1.47	0.54 (0.29)	0.47 (0.26)	-0.15 *
Motuhee	4	1.75	1.31	0.44 (0.44)	0.31 (0.29)	-0.50 *
Taiohae Vaioa	6	2.75	1.44	0.52 (0.37)	0.44 (0.29)	-0.20 *
Toovii	6	3.00	1.46	0.47 (0.25)	0.46 (0.23)	-0.03
Toovii crêtes	8	2.63	1.39	0.35 (0.27)	0.39 (0.27)	0.12
Vaiteheii	3	2.00	1.44	0.50 (0.40)	0.44 (0.21)	-0.17
UA POU	5	2.63	1.44	0.50 (0.40)	0.44 (0.33)	-0.14
SOCIÉTÉ	60	6.50	5.69	0.37 (0.17)	0.51 (0.20)	0.27 ***
MOOREA	17	3.13	1.37	0.36 (0.27)	0.37 (0.25)	0.04
Fairurani	5	2.13	1.64	0.27 (0.29)	0.30 (0.32)	0.11
Rotui	10	2.25	1.72	0.41 (0.32)	0.36 (0.26)	-0.12
Tohica	2	1.50	1.50	0.37 (0.52)	0.27 (0.38)	-0.71
TAHITI	41	5.00	1.42	0.37 (0.24)	0.42 (0.26)	0.12 **
Aorai crêtes	3	1.75	1.43	0.29 (0.37)	0.42 (0.38)	0.39
Aorai sommet	19	3.25	1.35	0.33 (0.29)	0.35 (0.29)	0.07
Orohena crêtes	5	2.25	1.37	0.40 (0.31)	0.37 (0.30)	-0.08
Pic Vert	9	3.00	1.45	0.39 (0.27)	0.45 (0.24)	0.15
Pic Vert basses pentes	3	1.75	1.43	0.54 (0.41)	0.43 (0.27)	-0.37
RAIATEA	2	2.13	1.56	0.44 (0.42)	0.56 (0.27)	0.30
AUSTRALES	38	3.25	3.23	0.29 (0.31)	0.33 (0.24)	0.12 *
RAPA	2	1.50	1.27	0.31 (0.37)	0.27 (0.29)	-0.25
RAIVAVAE	36	2.50	1.28	0.29 (0.32)	0.28 (0.25)	-0.05
Anatonu Est	3	1.63	1.63	0.29 (0.38)	0.23 (0.27)	-0.33
Anatonu Ouest	5	2.13	1.95	0.34 (0.32)	0.38 (0.28)	0.11
Motu Est	7	1.88	1.62	0.32 (0.31)	0.25 (0.22)	-0.31 *
Motu Sud Ouest	6	1.38	1.31	0.19 (0.35)	0.14 (0.27)	-0.34
Motu Vaiamanu	5	1.75	1.73	0.37 (0.45)	0.29 (0.31)	-0.29 *
Petits Motu	6	1.50	1.47	0.29 (0.42)	0.21 (0.30)	-0.46 *
Vaianaua	4	1.63	1.56	0.25 (0.35)	0.25 (0.29)	0.00
TOTAL	162	8.75	-	0.39 (0.14)	0.69 (0.15)	0.44 ***

Seuil de significativité : * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$; *** : $P < 0.001$

Les indices de diversité clonale sont donnés pour les différentes populations dans le tableau 4. Il en ressort particulièrement que seules 8 populations sur les 43 ne présentent pas de clones, et 42% des populations analysées (et 60% des sites d'échantillonnage) sont constituées d'un genet unique ($D=0$).

Certaines îles semblent particulièrement touchées par le phénomène de clonalité : le nombre moyen de populations par génotypes est supérieur à 0.80 pour Fatu Hiva, Hiva Oa et Ua Pou, avec un maximum de 1 pour Raiatea et Rapa. Sur les autres îles, où les populations de santal sont plus importantes, cet indice est inférieur à 0.30, reflétant la présence simultanée de populations à nombreux genets sans clones et de populations denses à faible nombre de genets.

IV.3 - DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE

Le nombre d'allèles par locus varie de 3 à 15, et est inégalement distribué selon les îles (Tableau 3). Les indices de diversité et les écarts à l'équilibre d'Hardy-Weinberg sont donnés dans le tableau 5.

IV.3.1 - DIVERSITÉ INTRA-ARCHIPELS

Au niveau des archipels, le nombre moyen d'allèles par locus n_A est plus faible pour les Australes (3,25) et plus important pour Marquises et Société (6,13 et 6,50). Réévaluée à l'aide de R , qui tient compte des différences d'échantillonnage, la richesse allélique est réduite à environ 5,70 pour ces 2 derniers archipels. Les hétérozygoties observées H_o (et attendues H_e) varient de 0,29 (0,33) pour l'archipel des Australes à 0,46 (0,55) pour l'archipel des Marquises. Un déficit significatif d'hétérozygotes est observé pour chacun des archipels.

IV.3.2 - DIVERSITÉ INTRA-ÎLES

Au niveau des îles, n_A varie de 1,50 pour Rapa à 5 pour Tahiti, mais l'observation de l'indice R indique une variation de 1,27 pour Rapa à 1,56 pour Raiatea. Les paramètres n_A et R ne semblent pas être corrélés, ce qui indique bien que l'échantillonnage faible de certaines îles (ou plutôt la réduction des effectifs par utilisation des individus génétiques uniquement) biaise les résultats.

Vingt-deux allèles sont spécifiques, Tahiti en détenant le plus grand nombre (12). D'autre part, seuls 2 allèles (mCIRSi 44 et mCIRSi 139) sur les 8 locus sont partagés par toutes les îles. Concernant les fréquences alléliques par île (résultats non montrés), les cas sont nombreux où des allèles rares dans certaines îles ($<0,1$) sont très fréquents dans d'autres ($>0,9$), ce qui laisse pressentir une importante différenciation entre les îles.

Tableau 6 : Résultats de l'AMOVA testant la structure génétique entre les îles sur la population de genets de *Santalum insulare*.

Source de variation	d.l	Somme des carrés	Composantes de la variance	Pourcentage de variation	F _{ST}
inter-archipels	2	254.92	0.777	26.66 %	0.50***
inter-îles intra-archipels	7	103.04	0.692	23.76 %	
intra-îles	314	453.35	1.444	49.58 %	
totale	323	811.31	2.912		

Le F_{ST} représente la différenciation entre les îles dans l'aire de répartition. *** : P<0.001.

Tableau 7 : Valeurs des F_{ST} calculés entre les îles (au-dessus de la diagonale) et estimations du flux génique par Nm (en dessous de la diagonale).

Les valeurs de F_{ST} non significatives (P>0.05) sont indiquées par ns. Les valeurs de Nm supérieures à 1 sont en gras.

	F	HO	TU	NH	UP	M	T	R	RP	RV
F	-	0.292 _{ns}	0.224 _{ns}	0.342	0.202 _{ns}	0.454 _{ns}	0.434	0.188 _{ns}	0.537 _{ns}	0.626
HO	0.605	-	0.071	0.191	0.237	0.428	0.440	0.318 _{ns}	0.381 _{ns}	0.531
TU	0.866	3.267	-	0.231	0.220	0.426	0.404	0.271 _{ns}	0.347 _{ns}	0.560
NH	0.481	1.062	0.833	-	0.277	0.460	0.402	0.350	0.340	0.525
UP	0.986	0.805	0.885	0.653	-	0.485	0.452	0.299 _{ns}	0.417 _{ns}	0.598
M	0.300	0.335	0.337	0.293	0.265	-	0.348	0.068 _{ns}	0.474	0.592
T	0.327	0.318	0.369	0.371	0.303	0.468	-	0.298	0.407	0.610
R	1.078	0.535	0.671	0.464	0.585	3.433	0.589	-	0.371 _{ns}	0.557
RP	0.215	0.406	0.470	0.486	0.350	0.278	0.365	0.424	-	0.648
RV	0.150	0.221	0.197	0.226	0.168	0.173	0.160	0.199	0.136	-

Codes : F : Fatu Hiva ; HO : Hiva Oa ; TU : Tahuata ; NH : Nuku Hiva ; UP : Ua Pou ; M : Moorea ; T : Tahiti ; R : Raiatea ; RP : Rapa ; RV : Raivavae.

Les hétérozygoties observées et attendues (entre parenthèses) s'étendent de 0,29 (0,28) pour Raivavae, à 0,50 (0,44) pour Ua Pou, l'hétérozygotie H_e la plus importante étant attendue à Raiatea (0,56).

Les variations pour n_A et H_o entre les îles ne suivent pas la même distribution, même au sein d'un archipel. Quant à la variation de l'indice de diversité génétique de Nei, H_e , elle ne présente de corrélation significative ni avec la surface des îles ($r = 0.223$; $P = 0.536$), ni avec le nombre de genets ($r = -0.144$; $P = 0.691$).

Un déficit hautement significatif d'hétérozygotes (valeur du $F_{is} = 0,122$) a été détecté pour l'île de Tahiti. D'autres îles sembleraient également s'écarter de l'équilibre d'Hardy-Weinberg, mais leurs effectifs ne permettent pas d'évaluer correctement ces paramètres.

IV.3.3 - DIVERSITÉ INTRA-POPULATIONS

Au vu des effectifs très faibles, la diversité intra-populations est difficile à évaluer et à prendre en considération (voir tableau 5). Ainsi, sur l'ensemble des 25 populations étudiées sur 6 des 10 îles (Hiva Oa, Tahuata, Nuku Hiva, Moorea, Tahiti et Raivavae), seules 4 populations d'effectif ≥ 9 individus génétiques pourraient donner des résultats "fiables" : Haut de Terre Déserte, Rotui, Aorai sommet, Pic Vert. Pour ces 4 populations, les indices de diversité tels que le n_A sont parmi les plus élevés (2,25 à 3,25) mais restent faibles. Parmi elles, la population de Haut de Terre Déserte présente un excès significatif en hétérozygotes, tout comme les populations de Hanaavao (Hiva Oa), Motuhee et Taiohae Vaioa (Nuku Hiva), Motu Est, Motu Vaiamanu et Petits Motu (Raivavae). Les autres populations ne présentent pas d'écarts significatifs à l'équilibre d'Hardy-Weinberg.

IV.4 - STRUCTURATION GÉNÉTIQUE

L'analyse de variance moléculaire sur l'ensemble des genets (tableau 6) indique qu'environ 27% de la variation totale est expliquée par la différenciation entre les archipels, 24% par la variation entre les îles et près de 50% par la variation intra-île. Le F_{ST} est de 0.50 entre les îles et est hautement significatif.

Les F_{ST} calculés par paire d'archipels sont élevés et hautement significatifs. Ils sont de 0.3 entre Marquises et Société, 0.4 entre Marquises et Australes et 0.5 entre Société et Australes. Les Nm correspondants sont tous inférieurs à 1 et s'étendent de 0.6 à 0.3 migrants par génération, respectivement.

Figure 2 : Arbre de Neighbor-Joining basé sur les distances de Cavalli-Sforza entre les îles
 Les valeurs de bootstraps sont calculées à partir de 1000 tirages.

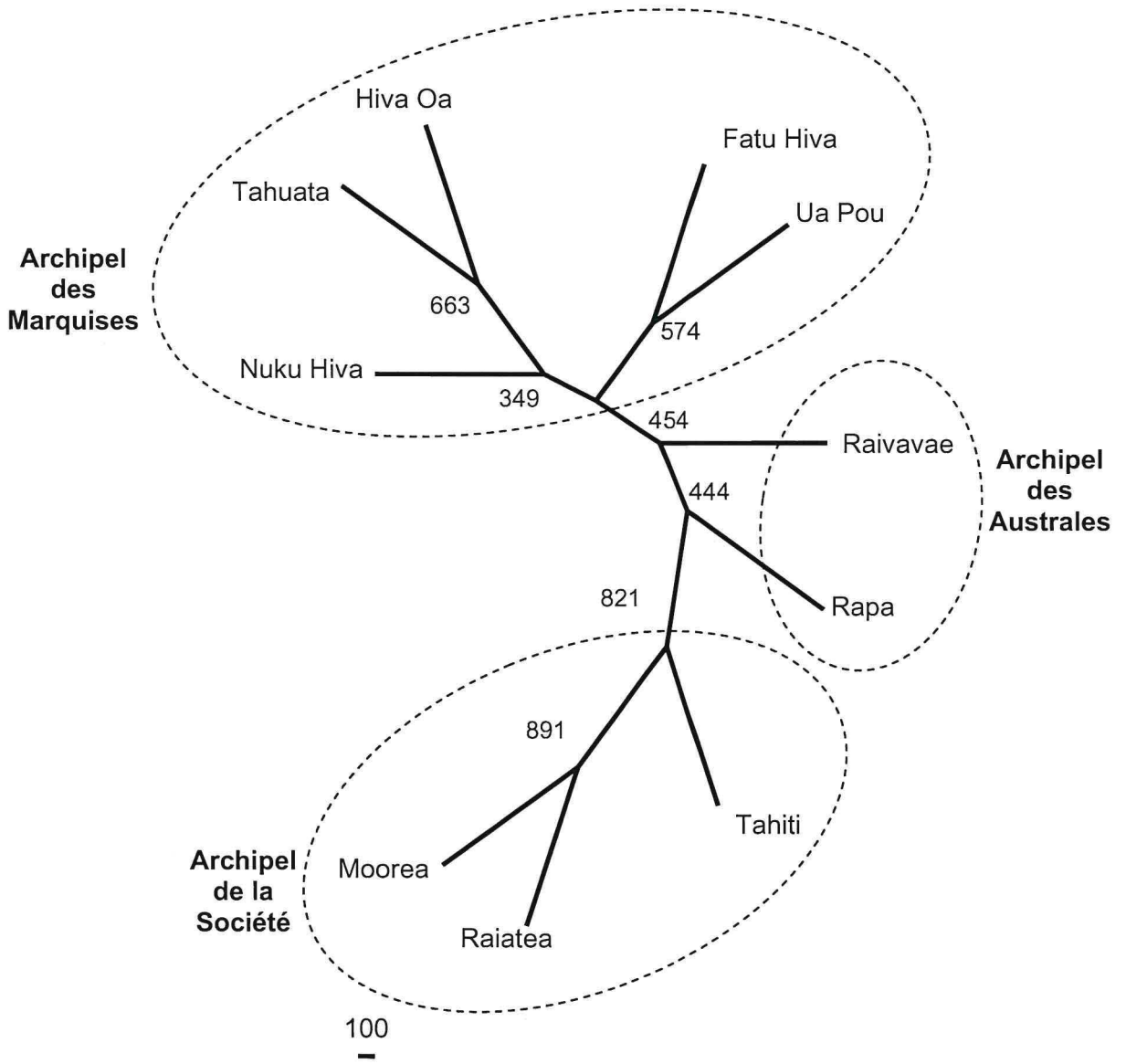
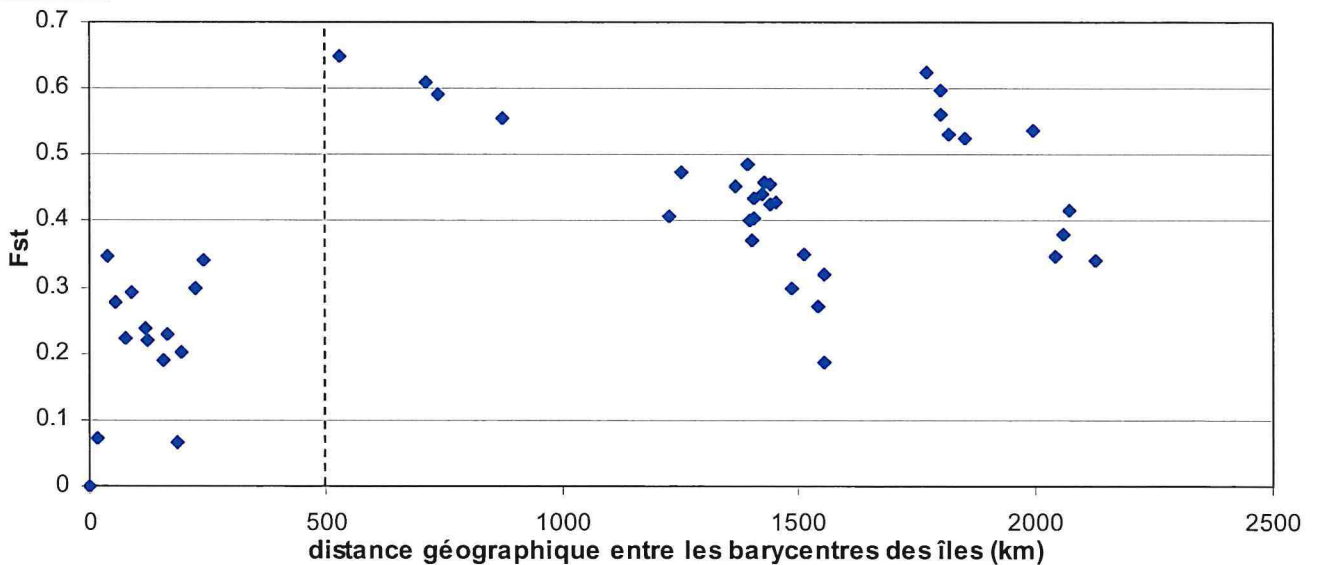


Figure 3 : Représentation de la distance génétique en fonction de la distance géographique entre les îles



Les F_{ST} calculés pour les archipels des Marquises et de la Société structurés par île sont respectivement de 0.226 et 0.333 ($P < 0.001$). La plupart des F_{ST} calculés par paire d'îles sont significatifs au niveau 0.05, exceptés pour les paires d'îles composées de trop peu d'individus (voir tableau 7). Les F_{ST} s'étendent de 0.071 entre Tahuata et Hiva Oa, à 0.648 entre Rapa et Raivavae qui font pourtant partie du même archipel. Globalement, les valeurs les plus faibles sont trouvées entre les îles des Marquises (0.071 à 0.342), mais les F_{ST} estimés restent très élevés. Ainsi, seules 2 valeurs de Nm sont supérieures à 1 : entre Hiva Oa et Tahuata (3.3), et entre Hiva Oa et Nuku Hiva (1.1). Dans les autres archipels, les valeurs entre îles sont plus élevées, le maximum étant atteint entre Rapa et Raivavae.

L'arbre de Neighbor-Joining réalisé sur les îles sépare clairement les 3 archipels (Figure 2), mais les valeurs de bootstraps ne sont fortes que pour l'archipel de la Société. Dans cet archipel, l'arbre indique une plus grande proximité entre Moorea et Raiatea, par rapport à Tahiti. En revanche, Rapa et Raivavae ne se situent pas sur une branche commune et l'archipel des Australes semble tenir une position intermédiaire entre la Société et les Marquises. Dans l'archipel des Marquises, Hiva Oa et Tahuata se distinguent sur une branche, comme attendu d'après l'analyse par les F_{ST} , tandis que Ua Pou et Fatu Hiva, îles à petit effectif, sont regroupées ensemble. Les valeurs de bootstraps ne sont pas élevées dans les archipels des Australes et des Marquises, sûrement du fait du faible échantillonnage sur certaines îles.

Le test de Mantel révèle une corrélation positive significative entre distances génétiques et distances géographiques considérant toutes les îles, avec un coefficient de corrélation r de 0,58, et une probabilité associée de 0,01. La figure 3 illustre la relation entre les F_{ST} et les distances géographiques entre les îles. Dans une distance inférieure à 500 km (soit au sein d'un même archipel pour les Marquises et les Sociétés), les distances génétiques sont toutes inférieures à 0,35, tandis que pour les îles séparées d'une distance supérieures à 500 km, les distances génétiques sont globalement plus élevées (de 0,19 à 0,65).

Les F_{ST} par paire de populations n'ont finalement pas été calculés, les effectifs étant trop faibles. Néanmoins, les F_{ST} ont été calculés pour les îles comptant plus de 2 populations de plus d'un genot, à savoir, Nuku Hiva ($F_{ST} = 0.169$; $P < 0.001$), Moorea ($F_{ST} = 0.181$; $P = 0.04$), Tahiti ($F_{ST} = 0.071$; $P = 0.08$) et Raivavae (0.162 ; $P < 0.001$). Ces îles, sauf Tahiti, présentent donc une différenciation significative de leurs populations.

Figures 4 : Arbres de Neighbor-Joining sur les génotypes multilocus de *Santalum insulare*.

Les distances sont calculées à partir de l'indice de dissimilarité type "simple matching" de DARWIN. Les valeurs de bootstraps supérieures à 50% (test sur 1000 bootstraps) sont représentées. Les populations sont indiquées en italique à côté des génotypes correspondants.

Figure 4a : Archipel des Marquises

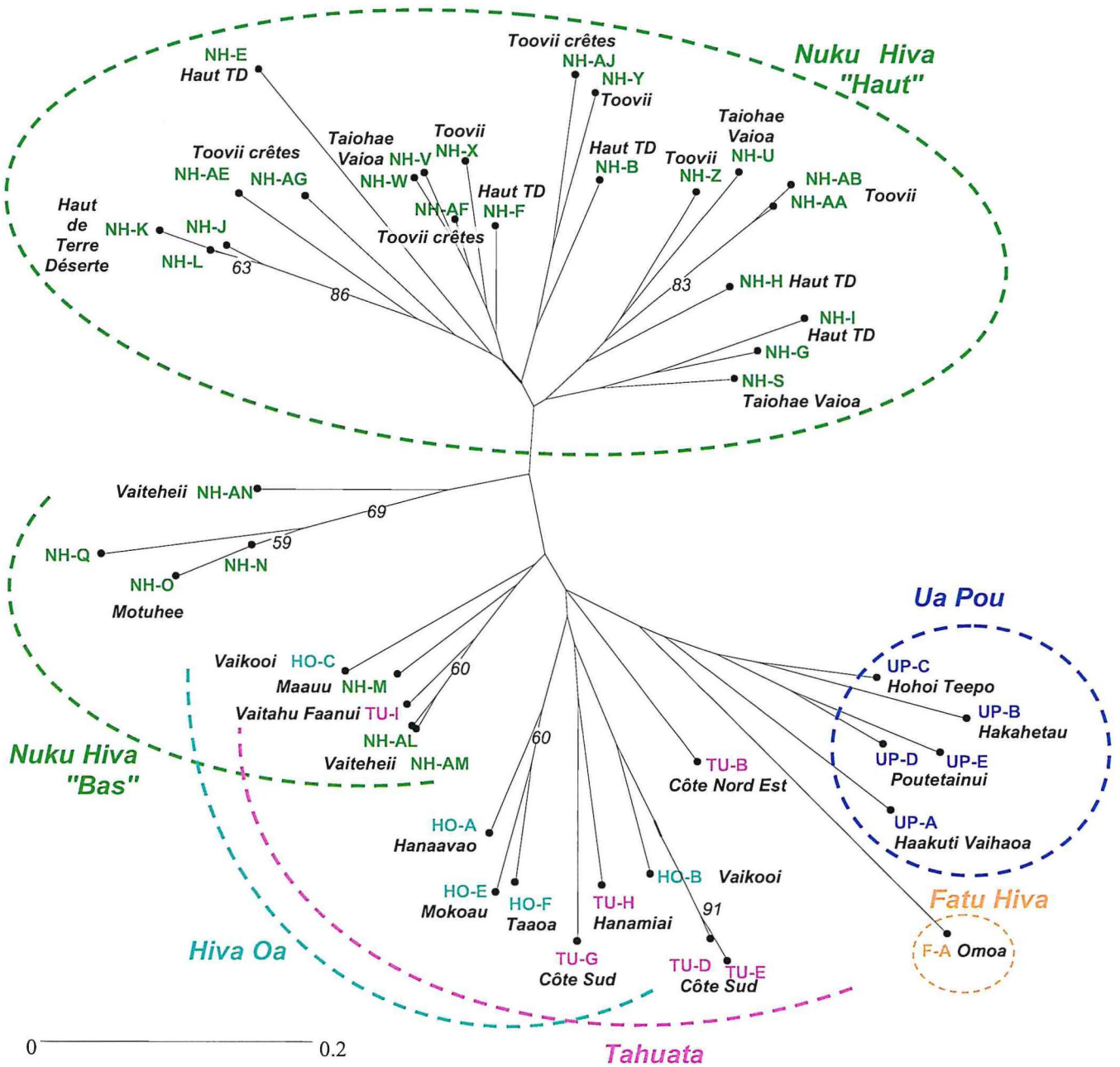


Figure 4b : Archipel de la Société

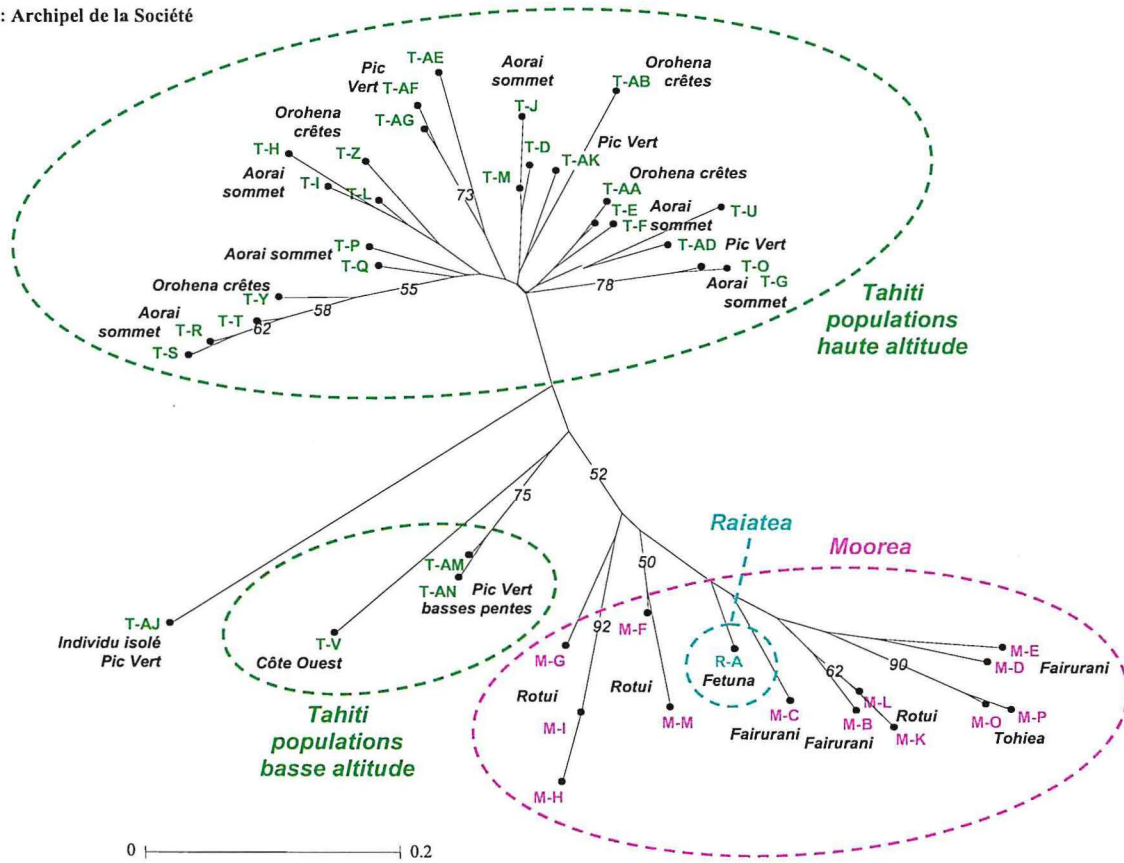


Figure 4c : Archipel des Australes

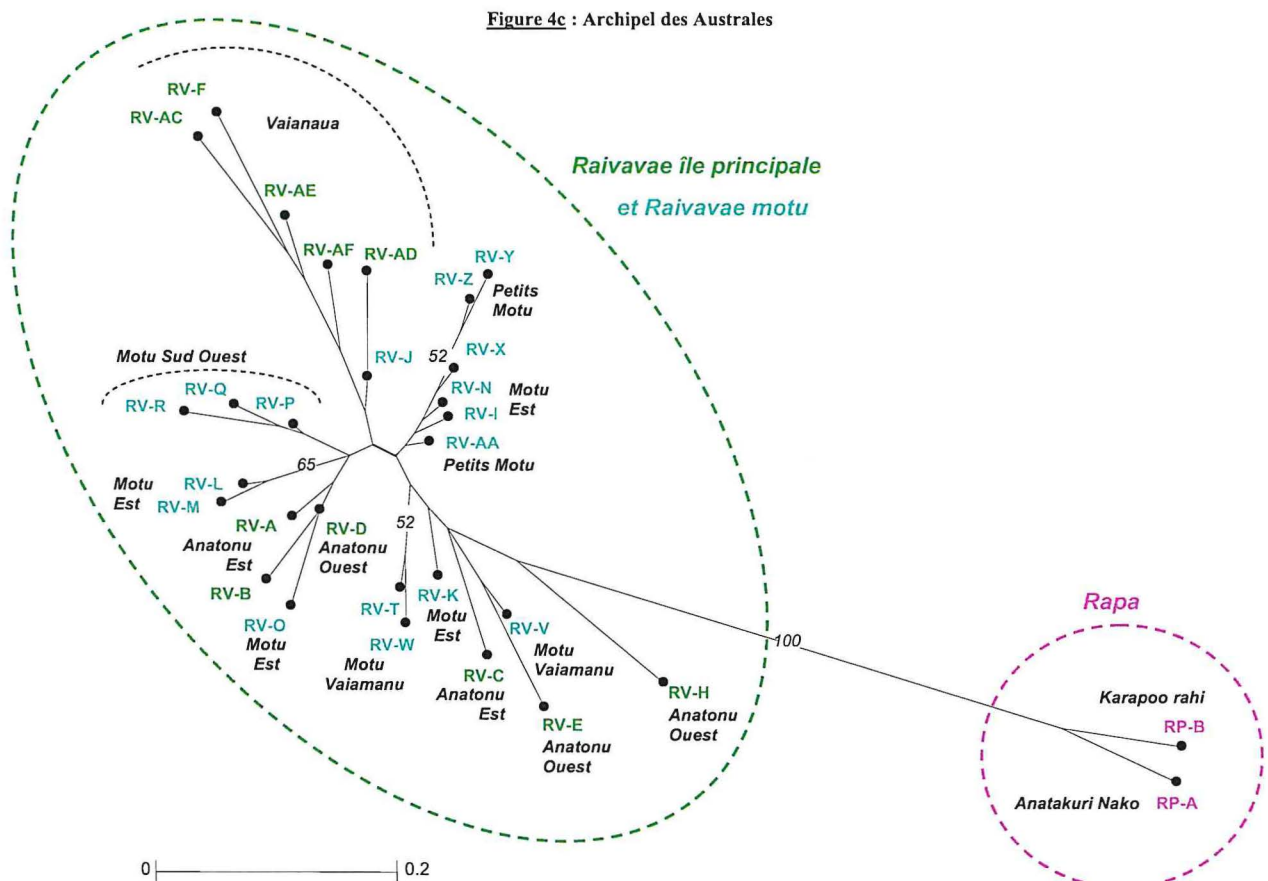


Tableau 8 : Résultats des tests de Mantel sur les distances individuelles à l'échelle de la population.

Tests réalisés entre les matrices de dissimilarités et les distances géographiques (m) entre les géotypes. Les probabilités associées au coefficient de corrélation r sont calculées sur 1000 permutations. Seuil de significativité : ns: non significatif $P>0.05$; * : $P<0.05$.

Population	Nombre de géotypes	Coefficient de corrélation r	Probabilité associée (1000 permutations)	Significativité
Haut Terre Déserte	12	0.255	0.093	ns
Toovii	6	0.304	0.090	ns
Rotui	9	0.369	0.180	ns
Sommet de l'Aorai	18	0.292	0.025	*
Pic Vert	9	-0.047	0.500	ns

IV.5 - ANALYSE AU NIVEAU DES GÉNOTYPES MULTILOCUS

IV.5.1 - ANALYSE DES GÉNOTYPES DANS LES ARCHIPELS

Les arbres de Neighbor-Joining dessinés pour chacun des archipels à partir des dissimilarités entre génotypes sont représentés dans les figures 4a (Marquises), 4b (Société) et 4c (Australes). Pour les 3 arbres, les génotypes ne peuvent généralement pas être regroupés par population, et parfois, les regroupements par île ne sont pas non plus possibles. Les valeurs de bootstraps sont très faibles, exceptées pour quelques couples de génotypes très proches géographiquement, qui ne présentent que 1 à 2 allèles de différence sur les 8 locus, ainsi que pour la branche séparant Raivavae de Rapa (fig. 4c).

Pour l'archipel des Marquises, les génotypes des îles de Ua Pou et de Fatu Hiva sont bien séparés. D'autre part, les génotypes correspondant aux populations des crêtes et plateaux de haute altitude de Nuku Hiva (Nuku Hiva "Haut") forment un groupe distinct. En revanche, les génotypes de Nuku Hiva "Bas", correspondant aux 3 populations de plaines de basse altitude (plaines de basalte), Vaitehii, Motuhee et Maauu, et les génotypes des îles de Hiva Oa et Tahuata sont entremêlés.

Pour l'archipel de la Société, on distingue tout d'abord le groupe de génotypes formant les îles de Raiatea et Moorea, confirmant la proximité observée sur l'arbre de Neighbor-Joining des îles (Figure 2). Les génotypes de Tahiti se discriminent en un groupe de haute altitude qui correspondrait aux populations de la variété *alticola* (Aorai sommet, Orohena crêtes) (Fosberg & Sachet, 1985) plus la population du Pic Vert, qui est généralement associée à la variété *insulare* de l'espèce. Les autres génotypes de Tahiti correspondant à la variété *insulare* ne sont pas regroupés sur une branche, mais se trouvent dans une position intermédiaire entre les génotypes de haute altitude et les génotypes de Moorea et Raiatea. Le seul génotype de Pic Vert ne faisant pas partie du groupe de haute altitude (T-AJ) est isolé à une extrémité de la population du Pic Vert.

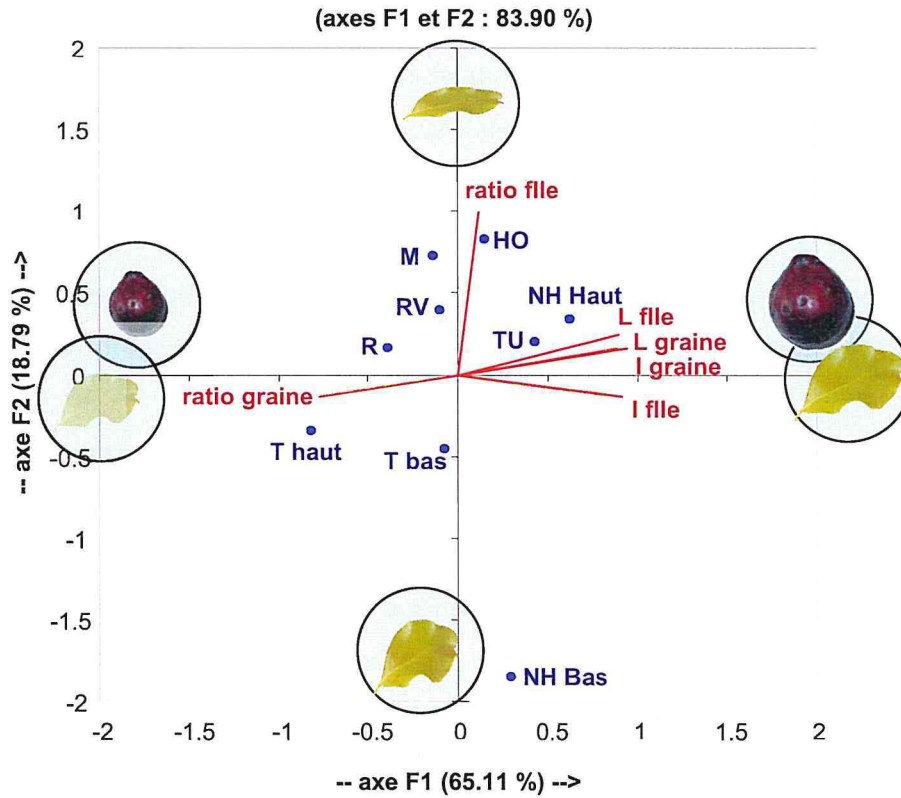
Pour l'archipel des Australes, les génotypes de Rapa se distinguent très nettement (bootstrap à 100%) des génotypes de Raivavae, comme attendu par la forte différenciation trouvée entre ces 2 îles. A l'intérieur du groupe de génotypes de Raivavae, seuls les génotypes des populations de Vaianaua et des Motu du Sud Ouest sont regroupés, mais sans former de branches distinctes. Les génotypes ne semblent se regrouper ni selon le critère île principale / motu, ni selon leur positionnement géographique (nord, sud, est, ouest).

IV.5.2 - ANALYSE DES GÉNOTYPES À PETITE ÉCHELLE SPATIALE

Les résultats des tests de Mantel entre distances génétiques (estimées par l'indice de dissimilarité entre génotypes) et distances géographiques entre génotypes indiquent qu'il n'existe pas de corrélation entre

Figure 5a : Résultat de l'Analyse en Composante Principale

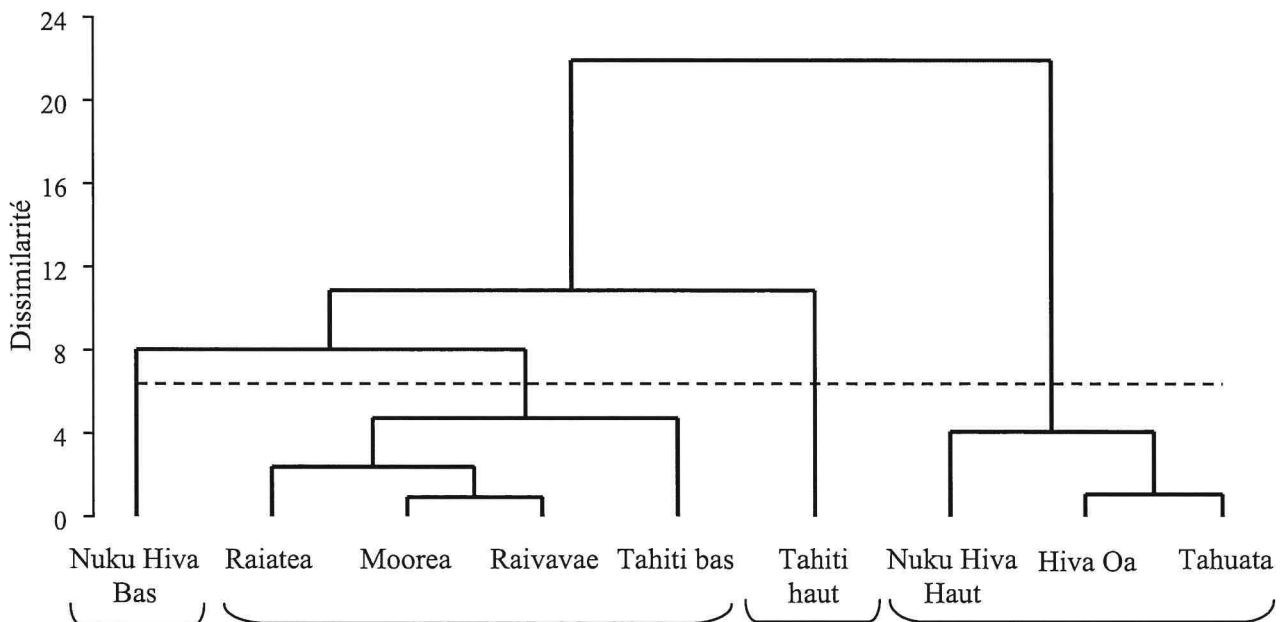
Représentation double (biplot) avec la position des îles sur les 2 premiers axes et l'explication des axes par les variables actives.



Légende : F : Fatu Hiva ; HO : Hiva Oa ; TU : Tahuata ; NH : Nuku Hiva ; UP : Ua Pou ; M : Moorea ; T : Tahiti ; R : Raiatea ; RP : Rapa ; RV : Raivavae ; L : longueur ; I : largeur ; ratio : L/l ; fle : feuille.

Figure 5b : Classification Ascendante Hiérarchique

Dissimilarités estimées par les distances euclidiennes. Agrégation par la méthode de Ward. Les pointillés représentent l'emplacement de la troncature automatique. Les accolades délimitent les différentes classes définies par les troncatures.



ces 2 distances pour les populations de Pic Vert (Tahiti), des crêtes de Toovii, des Hauts de Terre Déserte (Nuku Hiva) et de Rotui (Moorea) (voir tableau 8). En revanche, il existe une corrélation positive faible pour la population du sommet de l'Aorai ($r=0,292$; $P=0,025$).

IV.6 - ANALYSE DES DONNÉES QUANTITATIVES

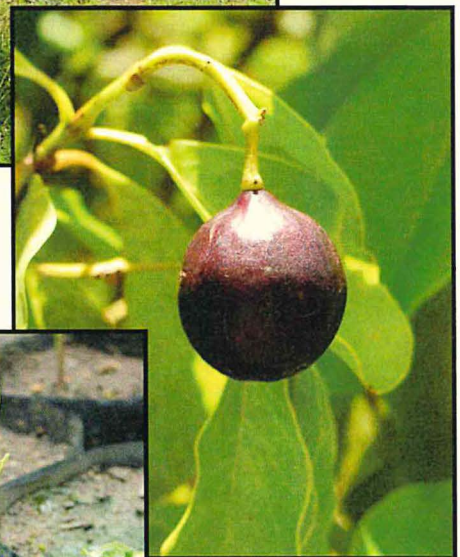
Les résultats de l'ACP et de la CAH sont donnés par les figures 5.

La matrice de corrélations (non montrée) indique des valeurs significativement positives entre les variables longueur et largeur des graines, ce qui signifie que globalement plus les graines sont grandes plus elles sont larges. La corrélation est en revanche significativement négative entre largeur et rapport allométrique des graines, ce qui indiquerait que les graines les plus petites sont plus oblongues. On observe également des corrélations significativement positives entre longueur et largeur des feuilles, et entre ces paramètres et leurs équivalents pour les graines. Autrement dit, les îles dont les arbres ont de gros fruits ont aussi de grandes feuilles.

La variation totale est expliquée à 84% par les 2 premiers axes. Le premier facteur (65% de la variation totale) est expliqué par la taille des feuilles et des graines, et le ratio longueur / largeur des graines. Il permet de contraster les îles à grandes feuilles et grosses graines plus larges, des îles à petites feuilles et petites graines plus longues. Le second axe va permettre de contraster les îles à feuilles effilées et îles à feuilles plus rondes. On peut ainsi caractériser Nuku Hiva bas avec des feuilles plus rondes, et Tahiti haut par des feuilles et des graines plus petites, et des graines plus allongées. Moorea tend à se distinguer par des feuilles plus effilées, tandis que Nuku Hiva Haut se caractérise par de grosses graines rondes et de grandes feuilles. Les autres îles sont moins bien expliquées par les 2 premiers axes (cosinus carrés directeurs faibles), et occupent des positions trop centrales être caractérisées. Les variables abiotiques (tableau annexe 7) n'ont pas été représentées comme variables supplémentaires sur les îles, car ces paramètres varient beaucoup au sein même d'une île, et leurs moyennes ou maxima ne sont pas pertinents à utiliser dans une telle analyse.

La CAH permet de discriminer 4 classes réparties en un premier ensemble regroupant les Marquises, excepté Nuku Hiva Bas, qui se retrouve dans le second ensemble. Celui-ci se partitionne en un premier sous-ensemble individuel comprenant Tahiti Haut, et un second sous-ensemble regroupant Nuku Hiva Bas dans une classe individuelle et Raivavae et les îles de la Société (excepté Tahiti Haut) dans une seconde classe. Les classes ne regroupent donc pas clairement les îles par archipel, et il semble que les groupes de Nuku Hiva Bas et Tahiti Haut aient des caractéristiques morphologiques suffisamment originales pour les distinguer dans des classes individuelles.

V
DISCUSSION



V - DISCUSSION

V.1 - LA CLONALITÉ CHEZ LE SANTAL : UNE STRATÉGIE D'ADAPTATION

Les observations de terrain durant l'échantillonnage de *Santalum insulare* avaient permis de révéler le phénomène de clonalité chez cette espèce en détectant la présence de drageons (Butaud & Tetuanui, 2005). Mais sans une technique moléculaire appropriée, l'importance de cette clonalité et l'exactitude des relations entre échantillons restaient difficiles à évaluer. L'analyse réalisée confirme l'efficacité des microsatellites dans l'évaluation de la constitution génétique de populations potentiellement clonales. Ces marqueurs semblent posséder un fort pouvoir de résolution dans la détection des clones, à la condition d'un échantillonnage adapté et d'un nombre suffisant de marqueurs. Ainsi, les études les plus récentes de diversité clonale préfèrent l'utilisation de marqueurs plus variables tels que les microsatellites nucléaires ou les RAPD, ou éventuellement des combinaisons de marqueurs (Sydes and Peakall, 1998 ; Esselman *et al.*, 1999 ; Warburton *et al.*, 2000 ; Smith *et al.*, 2003 ; Torimaru *et al.*, 2003). L'utilisation de marqueurs insuffisamment résolutifs peut en effet conduire à une surestimation de la clonalité.

Certains échantillons de *Santalum insulare* avaient été identifiés comme des drageons lors de l'échantillonnage, mais le phénomène de clonalité se révèle particulièrement intense : 58% des arbres analysés s'avèrent être des ramets.

Peu d'études sur la clonalité ont été menées pour des espèces végétales sur leur aire complète de répartition. Warburton *et al.* (2000) ont cependant étudié quelques populations menacées de *Santalum lanceolatum*, dans la région de Victoria en Australie. Les résultats, obtenus à partir d'allozymes et de RAPD, indiquent que ces populations ne sont constituées que d'un seul genet chacune, et que la croissance de la population se fait uniquement par reproduction végétative. On retrouve cette situation extrême dans les populations des îles de Fatu Hiva, Hiva Oa (sauf Hanauaua, particulièrement fructifère), Tahuata, Ua Pou, Rapa et Raiatea. Certains motu de Raivavae et la population de Maauu (Nuku Hiva) sont également composées d'un genet unique.

La comparaison des indices moyens de diversité clonale obtenus avec ceux d'autres espèces clonales forestières (*Eucalyptus spp.*) et d'autres espèces de plantes clonales (Ellstrand and Roose, 1987) confirme le haut degré de clonalité de *Santalum insulare* (voir tableau ci-dessous).

Espèces	G/N	D	Marqueur utilisé	Références
<i>Santalum insulare</i>	0.55	0.53	microsatellites nucléaires	
<i>Eucalyptus curtisii</i> (menacée)	0.53	0.72	microsatellites nucléaires	Smith <i>et al.</i> , 2003
<i>Eucalyptus argutifolia</i> (menacée)	0.20	0.41	allozymes	Kennington and James, 1997
<i>Eucalyptus obtusiflora</i>	0.54	0.91	allozymes	Kennington and James, 1997
21 espèces de plantes clonales	0.19	0.62	allozymes	Ellstrand and Roose, 1987

L'estimation de la proportion de génotypes distincts G/N de *S. insulare* est similaire à celle obtenue pour *Eucalyptus curtisii* à l'aide de marqueurs microsatellites également. Il semble que ces valeurs révèlent moins de clonalité qu'avec les études par allozymes, mais cela pourrait être dû à la plus grande capacité des microsatellites à distinguer des individus. Concernant l'indice de diversité génotypique D, la valeur obtenue pour *S. insulare* est parmi les plus faibles. Ceci traduit le fait que les populations sont représentées par peu de genets. Quant à la faible valeur de D proportionnellement à G/N, elle pourrait s'expliquer par une sous-estimation du nombre de ramets pour certaines populations dû à un échantillonnage non adapté (G/N plus élevé qu'attendu).

A l'échelle des populations, il semble que la clonalité soit particulièrement intense pour les sites les plus accessibles à l'Homme, donc anciennement exploités. Il s'agit notamment des populations à proximité des villages, et de basse altitude. L'île de Nuku Hiva figure assez bien ce phénomène, avec des populations de planèzes de basse altitude caractérisées par des indices de diversité clonale plus faibles ($G/N < 0.50$; $D < 0.82$) que les populations de plus haute altitude ($G/N > 0.63$; $D > 0.83$). D'autre part, au sein des populations d'altitude, le plateau de Toovii montre une clonalité plus importante par rapport aux crêtes de Toovii qui le surplombent et sont moins accessibles.

Par ailleurs, certaines populations de haute altitude telles que le Rotui (Moorea), ou le Pic Vert (Tahiti) présentent des indices de diversité génotypique moyen ($D \approx 0.7$) et une clonalité intense ($G/N = 0.17$ pour Rotui et 0.35 pour Pic Vert). Ces populations se situent au niveau de crêtes rocheuses sèches, caractérisées par une pente très forte et une exposition intense au soleil et au vent. Donc, même sans les rats, la germination y semble compromise. Une intensification de la clonalité est possible si les racines de surface sont mises à nues par l'érosion des sols, et endommagées par des chutes de pierre, les drageons étant émis par réaction au niveau de la blessure. Dans ce cas, la multiplication végétative par drageonnage apparaît comme une possibilité d'expansion de la population sur la crête, autrement dit une stratégie de colonisation dans un environnement inhospitalier (Smith *et al.*, 2003). Donc, même si notre étude ne possède pas un plan d'expérimentation permettant de mettre clairement en évidence les déterminants de la clonalité, il semble que l'intensité de ce phénomène chez *Santalum insulare* corresponde à une stratégie d'adaptation pour survivre dans des conditions extrêmes (feu, abrutissement par les chèvres, dégradation du milieu édaphique...), ce qui reflète le caractère

pionnier de l'espèce. L'importante clonalité détectée dans les populations, déjà petites, de *S. insulare* implique que les estimations antérieures des effectifs réels ont été largement surestimées. Cela a d'importantes conséquences sur le comportement de ces populations vis-à-vis des forces évolutives, et donc, sur les stratégies de gestion de conservation.

V.2 - DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE RÉDUITE ET TAILLE DES POPULATIONS

L'association de paramètres de diversité utilisant le nombre d'allèles (n_A et R) en plus de ceux utilisant les fréquences alléliques (H_o et H_e) est particulièrement intéressante pour les analyses traitant des problèmes de conservation d'une espèce (El Moussadik & Petit, 1996). L'utilisation de la richesse allélique R réduit distinctement la diversité donnée par n_A dans les îles et populations de plus grand effectif (l'indice R est calculé par rapport aux populations de plus faibles effectif, et certaines îles ne comptent que 2 genets). Les conclusions quant à la diversité relative entre îles ou entre populations seront donc toujours modérées par ce problème d'effectif.

L'étude de *Santalum insulare* à l'aide des microsatellites chloroplastiques avait conclu à un niveau de diversité assez équivalent à ceux d'autres espèces forestières (Rives, 2004), mais les clones n'étaient alors pas exclus de l'analyse. Or, il est généralement admis que les espèces insulaires présentent une diversité génétique plus faible que leurs homologues continentales (Blondel, 1995 ; Barrett, 1998 ; Frankham, 2002). L'effet de fondation à l'origine de la colonisation d'une île entraîne en effet souvent une perte importante de la diversité par rapport à celle présente sur le "continent-mère". Avec les microsatellites nucléaires, les paramètres de diversité sont effectivement faibles comparés à ceux d'espèces forestières continentales ou insulaires analysés par la même méthode. Le tableau ci-dessous donne des valeurs comparatives :

Espèce	type	menaces	n_A (moyen)	H_e (moyen)	Référence
<i>Melaleuca alternifolia</i>	continentale		9 - 19.4	0.50 - 0.76	Rosetto <i>et al.</i> , 1999
<i>Symphonia globulifera</i>	continentale		3.7 - 16	0.67 - 0.85	Aldrich <i>et al.</i> , 1998
<i>Vitellaria paradoxa</i>	continentale	+	3.4 - 4.2	0.38-0.44	Kelly <i>et al.</i> , 2004
<i>Grevillea macleayana</i>	continentale	++	3.2 - 4.2	0.42 - 0.53	England <i>et al.</i> , 2002
<i>Santalum insulare</i>	insulaire	+++	1.50 - 5 (2.93)	0.27 - 0.56 (0.42)	-
<i>Santalum austrocaledonicum</i>	insulaire	++	2 - 16 (7.28)	0.14 - 0.79 (0.49)	Bottin <i>et al.</i> , 2005

On observe que les paramètres de diversité de *S. insulare* se rapprocheraient davantage de ceux des espèces forestières subissant des menaces d'origine anthropique. Une autre espèce insulaire de santal, *Santalum austrocaledonicum*, endémique de Nouvelle-Calédonie, présente des niveaux de diversité supérieurs à ceux de *S. insulare*. Or, la Nouvelle-Calédonie est moins isolée que la Polynésie française, la surexploitation par les santaliers a été moins intense, et les rats ne sont pas une menace pour les graines. Cependant, sur les îles Loyauté, qui ont des caractéristiques similaires à la Polynésie française,

les paramètres de diversité sont semblables à ceux de *S. insulare*. Trois facteurs peuvent donc être à l'origine de la diversité particulièrement réduite chez *S. insulare* : l'effet de fondation lors de la phase de colonisation des archipels, la surexploitation et l'absence de régénération par reproduction sexuée. Ces facteurs ont pour conséquence commune la réduction des effectifs des populations.

En fait, l'isolement particulièrement important des archipels polynésiens implique une faible probabilité de colonisation, et donc, un nombre d'individus fondateurs très réduits. De fait, le phénomène de goulot d'étranglement est d'autant plus marqué que l'île est éloignée de la population d'origine (Blondel, 1995). La réussite de l'établissement de la nouvelle population insulaire conduit alors à un niveau de diversité plus faible que celui de la population d'origine. De plus *Santalum insulare* a subi une exploitation marquée des santaliers au XIX^{ème} siècle et le quasi épuisement des ressources (Cherrier, 1993), conduisant à un "2^{ème}" goulot démographique. Du fait de la petite taille des populations, la dérive s'est accentuée, entraînant la perte aléatoire d'allèles. Enfin, la prédation des graines par les rats ne permettant pas la régénération naturelle par reproduction sexuée, le niveau actuel de diversité pourrait refléter ce qu'il était à la fin de la période de surexploitation par les santaliers.

La comparaison entre les paramètres de diversité des archipels indique que ce sont les Marquises et la Société les plus diversifiées, en accord avec les résultats obtenus avec les microsattellites chloroplastiques (Rives, 2004). La diversité plus restreinte des Australes s'expliquerait par une superficie très réduite et des effectifs réduits. Ceci étant, les tests de Pearson ne détectent aucune corrélation entre la diversité des îles et leur taille. Cela pourrait s'expliquer, d'une part, par des échantillonnages trop faibles biaisant les estimations (ex : Raiatea, 2 genets, $n_A = 2.36$; $He = 0.56$). D'autre part, des facteurs tels que la topographie et la nature des sols, ainsi que l'intensité de l'exploitation et la présence de rats ou de chèvres, influent également sur les paramètres de diversité. Par exemple, pour Tahuata, il semble que la diversité ($n_A = 3$; $He = 0.45$), plus élevée qu'attendue pour cette petite île, soit liée à des conditions particulièrement bonnes pour la dynamique des populations de santal (crêtes et climat sec, peu de rats, et populations fructifères).

A l'échelle des populations, les effectifs sont trop faibles pour que les paramètres puissent donner des estimations fiables et être comparés. On remarquera néanmoins que les populations dont les effectifs sont supérieurs à 9 individus génétiques sont toutes des populations de haute altitude. Il est donc possible que la diversité ait pu être moins menacée en altitude, même si les conditions du milieu y sont très rudes.

Du fait des faibles effectifs et de la présence de clones, nous attendions des populations à tendance consanguine, mais aucune ne présentent de déficit significatif d'hétérozygotes par rapport aux proportions d'Hardy-Weinberg. Le manque de reproduction sexuée dans les populations de *S. insulare* pourrait expliquer ce résultat. En revanche, le calcul des F_{IS} a permis de détecter 6 populations avec un excès d'hétérozygotes. Dans des populations de taille suffisante, ce résultat s'expliquerait par une hétérogamie préférentielle pour ce qui concerne le mode de reproduction, avec, éventuellement, des mécanismes d'auto-incompatibilité. Mais chez *Santalum insulare*, de tels mécanismes ne sont pas connus. Ici, l'excès d'hétérozygotes ne semble pas devoir s'expliquer par un phénomène biologique, mais plutôt par le fait que les effectifs, trop faibles, peuvent facilement induire des biais dans les calculs. On notera que pour la seule population possédant le plus grand nombre de genets (Aorai sommet, Tahiti ; $N = 19$), le F_{IS} n'indique pas d'écart significatif aux proportions d'Hardy-Weinberg. Ceci tend à démontrer qu'en conditions normales (effectifs suffisants, reproduction sexuée présente), *S. insulare* suit un régime de reproduction panmictique.

A l'échelle des archipels, les F_{IS} montrent un défaut significatif d'hétérozygotes qui reflètent, comme attendu, un effet Wahlund. En effet, les archipels polynésiens sont le modèle exact de regroupements de populations suffisamment isolées pour posséder des fréquences alléliques différentes. A l'échelle des îles, seule Tahiti présente un F_{IS} significativement supérieur à 0, et cet écart serait imputable au même phénomène, les populations de Tahiti ne présentant pas, a priori, de consanguinité.

V.3 - UNE STRUCTURATION GÉNÉTIQUE MARQUÉE

V.3.1 - FORTE DIFFÉRENCIATION INTER-ARCHIPELS ET PROCESSUS DE SPÉCIATION

La structure génétique de *Santalum insulare* est tout d'abord révélée par une forte différenciation entre archipels : l'AMOVA révèle que 27% de la variation totale est expliquée par la variation entre archipels. En terme de flux de gènes, cette structure correspond à un nombre de migrants très limités, avec des Nm toujours inférieurs à 0.6 migrants par génération.

Du fait de ces distances extrêmes et de la barrière géographique que représente l'océan, on sait que le succès de l'établissement d'une graine sur des îles aussi isolées est un évènement particulièrement rare qui ne se produit qu'exceptionnellement sur des millions d'années (Carlquist, 1980). Soumis aux mêmes contraintes, les flux de gènes après les phases de colonisation sont aussi peu probables, favorisant la différenciation des archipels. Ainsi, la relation entre distances génétiques et géographiques représentée par la figure 3 illustre bien qu'au delà de 500 km, la distance génétique est plus importante. A la faible fréquence des flux géniques s'ajoutent l'effet de fondation et les faibles

tailles réelles accentuant le phénomène de dérive génétique, ce qui va intensifier la différenciation entre les structures les plus distantes.

Il apparaît en fait que l'état de divergence entre archipels de Polynésie française soit déjà très intense. Ainsi, au sein même de la Polynésie, les flux de gènes semblent être totalement interrompus depuis plusieurs millénaires, ce qui pourrait conduire à l'isolement reproductif puis, à la spéciation de *S. insulare* dans chacun des archipels. Deux phénomènes en particulier permettent de soutenir cette hypothèse.

Tout d'abord, un phénomène d'ordre géologique : toutes les îles de Polynésie française sont d'origine volcanique et sont destinées à disparaître en évoluant de l'état d'île haute jusqu'à celui d'atoll (barrière de corail entourant l'île haute), du fait de l'enfoncement et de l'érosion. Ainsi, l'archipel des Tuamotu, le plus ancien de Polynésie française (annexe 5) et constitué actuellement d'atolls (figure 1) était formé auparavant d'îles hautes susceptibles d'accueillir du Santal. Cet archipel aurait donc pu jouer le rôle d'intermédiaire entre les archipels de la Société et des Marquises, facilitant les migrations des disséminateurs des fruits de Santal. La disparition des îles hautes (aux Tuamotu ou ailleurs en Polynésie comme dans les Australes) a créé une barrière à la dissémination en augmentant la distance à parcourir. Un tel mécanisme pourrait se définir comme une spéciation par "pseudo-vicariance", la première phase de spéciation étant due à la dispersion d'individus vers une nouvelle aire, la seconde phase étant due à l'apparition d'une barrière géographique entre les 2 aires (vicariance) (Blondel, 1995 ; Butaud *et al.*, 2005).

Le second phénomène pouvant mener à la spéciation entre archipels est lié à la faible probabilité pour le santal d'être transporté sur de longues distances. En effet, les Columbidae frugivores du genre *Ducula* et *Ptilinopus*, observés comme des consommateurs de *Santalum insulare* sur les îles de Polynésie française, ne sont pas capables de parcourir de grandes distances. D'autre part, les oiseaux migrateurs de cette région ne sont pas des frugivores et ne consommeraient du santal que de façon occasionnelle (Butaud & Tetuanui, 2005).

Un indice moléculaire soutenant l'hypothèse de spéciation inter-archipels est l'observation, durant la mise au point des microsatellites nucléaires, de couples d'amorces amplifiant seulement Marquises et Australes, mais pas les individus de la Société. Or, les régions flanquant les séquences microsatellites étant reconnues et utilisées pour leur constance au sein d'une espèce, voire d'un genre, l'absence d'amplification dans certains archipels pourraient appuyer l'hypothèse de spéciation.

Au vu de ces informations, il est donc fort probable que *Santalum insulare* soit en cours de spéciation au moins à l'échelle des archipels polynésiens.

La position intermédiaire des Australes entre la Société et les Marquises (figure 2) est assez surprenante, ce premier archipel étant géographiquement excentré. Ce résultat rejoint néanmoins celui obtenu avec les microsatellites chloroplastiques (Butaud *et al.*, 2005). L'explication pourrait être liée à l'âge des archipels (annexe 5), le plus ancien (Australes, 30 millions d'années environ) pouvant permettre la colonisation des deux plus récents (Marquises, 8 millions d'années et Société, 6 millions d'années). Ceci dit, il n'est pas pertinent d'émettre des hypothèses plus avancées sans la connaissance de la géographie du Pacifique Sud au cours des 30 à 40 derniers millions d'années. Il est probable que des archipels ayant joué un rôle dans la spéciation du genre *Santalum* et dans la distribution de *S. insulare* aient aujourd'hui disparu. D'autre part, l'utilisation des microsatellites nucléaires pour étudier la phylogéographie d'une espèce sur plusieurs millions d'années est à considérer avec précaution, le taux élevé de mutations pouvant générer un phénomène d'homoplasie de taille qui fausserait les conclusions (Estoup *et al.*, 2002). En conséquence, les hypothèses quant aux voies de colonisation du santal demandent à être éclaircies par une phylogénie du genre *Santalum*, actuellement en cours de réalisation à l'université de Berkeley.

V.3.2 - FORTE DIFFÉRENCIATION INTER-ÎLES

Chez *Santalum insulare*, une forte différenciation entre îles est également observée, qui se traduit par le fait que 24% de la variation totale est expliquée par la variation inter-îles intra-archipel, et des F_{ST} élevés pour chaque archipel : 0.226 pour les Marquises, 0.333 pour la Société, et 0.648 pour les Australes. Ces valeurs sont très fortes comparées à celles généralement observées pour d'autres espèces forestières tropicales (voir tableau ci-dessous) :

Tableau de comparaison de la structure génétique entre espèces forestières tropicales à l'aide de microsatellites nucléaires :

Espèce	F_{ST}	Référence
<i>Grevillea macleayana</i>	0.218	England <i>et al.</i> , 2002
<i>Vouacapoua americana</i>	0.08	Dutech <i>et al.</i> , 2004
<i>Caryocar braziliense</i>	0.11	Collevatti <i>et al.</i> , 2001
<i>Melaleuca alternifolia</i>	0.072	Rossetto <i>et al.</i> , 1999
<i>Vitellaria paradoxa</i>	0.047	Sanou <i>et al.</i> , 2005
<i>Santalum austrocaledonicum</i>	0.22	Bottin <i>et al.</i> , 2005
<i>Santalum insulare</i>	0.50	-

Ainsi, les flux de gènes au sein des archipels sont restreints, les estimations des Nm étant toujours inférieures à 1 migrant par génération, sauf au sein des marqueurs entre Hiva Oa et Tahuata, distantes de moins de 5 km, et Hiva Oa et Nuku Hiva, les 2 plus grandes îles. Néanmoins, les flux de gènes n'y excèdent pas 4 migrants par génération, ce qui indique que le processus de différenciation n'est pas négligeable. Entre Rapa et Raivavae (Australes), la différenciation est extrême ($F_{ST} = 0.648$), de l'ordre

de celle trouvée inter-archipels. Cette valeur s'explique par l'effectif réduit à 2 individus sur Rapa. Néanmoins, vu la distance de 532 km qui séparent ces îles, il est probable qu'elles aient subi un processus de spéciation aussi intense que celui observé entre les archipels.

La différenciation inter-îles intra-archipel relèverait du même type de mécanismes que ceux observés inter-archipels, mais dans une moindre proportion : effet de fondation lors de la colonisation, isolation par la barrière océanique et donc, dérive génétique. Mais il ne semble pas que le seul syndrome d'insularité explique à lui seul la différenciation entre îles proches comme Tahuata et Hiva Oa. Entre des îles séparées de quelques dizaines de kilomètres, le transport de graines peut en effet être assuré par les agents disséminateurs des fruits de santal, les Columbidae des genres *Ducula* et *Ptilinopus*. Or, les populations polynésiennes de ces oiseaux étant en voie de disparition, il est probable que la dissémination des fruits du santal entre les îles soit fortement perturbée (Steadman, 1997 ; McConkey & Drake, 2002).

V.3.3 - STRUCTURATION INTRA-ÎLE

Du fait de la faiblesse des effectifs, calculer des estimations de la différenciation entre les "populations" insulaires de *Santalum insulare* n'est pas fiable. Les F_{ST} partiels obtenus pour Nuku Hiva, Moorea et Raivavae tendent néanmoins à montrer qu'il existe une différenciation au sein des îles. En effet, de nombreux obstacles sont susceptibles de s'opposer à l'homogénéisation génétique des populations malgré la petite surface des îles. En effet, avant l'arrivée des Hommes sur les îles polynésiennes, les populations de Santal devaient être à la fois plus nombreuses et plus étendues, et les flux de pollen et de graines pouvaient être assurés entre certaines d'entre elles. La disparition progressive des agents disséminateurs a provoqué un début de différenciation des populations. De plus, la prédation des graines par les rats a dû diminuer les probabilités d'en transporter d'un site à l'autre. En outre, quand l'exploitation du santal par les Occidentaux n'a pas conduit à la disparition d'une population, il est probable qu'elle l'ait fragmentée. Au vu de tous ces facteurs, il semble donc que les causes de la différenciation inter-populations ne soient pas négligeables.

Parallèlement, l'observation des arbres de Neighbor-Joining élaborés entre les génotypes (figures 4) n'indique pas de regroupement des génotypes par population, ce qui pourrait s'expliquer par la nature de l'indice et le nombre relativement faible de locus analysés (huit). Il a néanmoins été possible de délimiter des groupes de génotypes à Nuku Hiva, et dans une moindre mesure, à Tahiti. Ces îles, les plus grandes de Polynésie française, présentent 2 types de populations : des populations de basse altitude et des populations de plus haute altitude. Sur chaque île, ces types se distinguent sur la base de critères morphologiques (variétés) et écologiques (écotypes). A Nuku Hiva particulièrement, il

Tableau 9 : Valeurs des F_{ST} recalculées entre les îles (au-dessus de la diagonale) et estimations du flux génique par Nm (en dessous de la diagonale), avec discrimination des groupes de populations Nuku Hiva Haut et Bas, et Tahiti Haut et Bas.

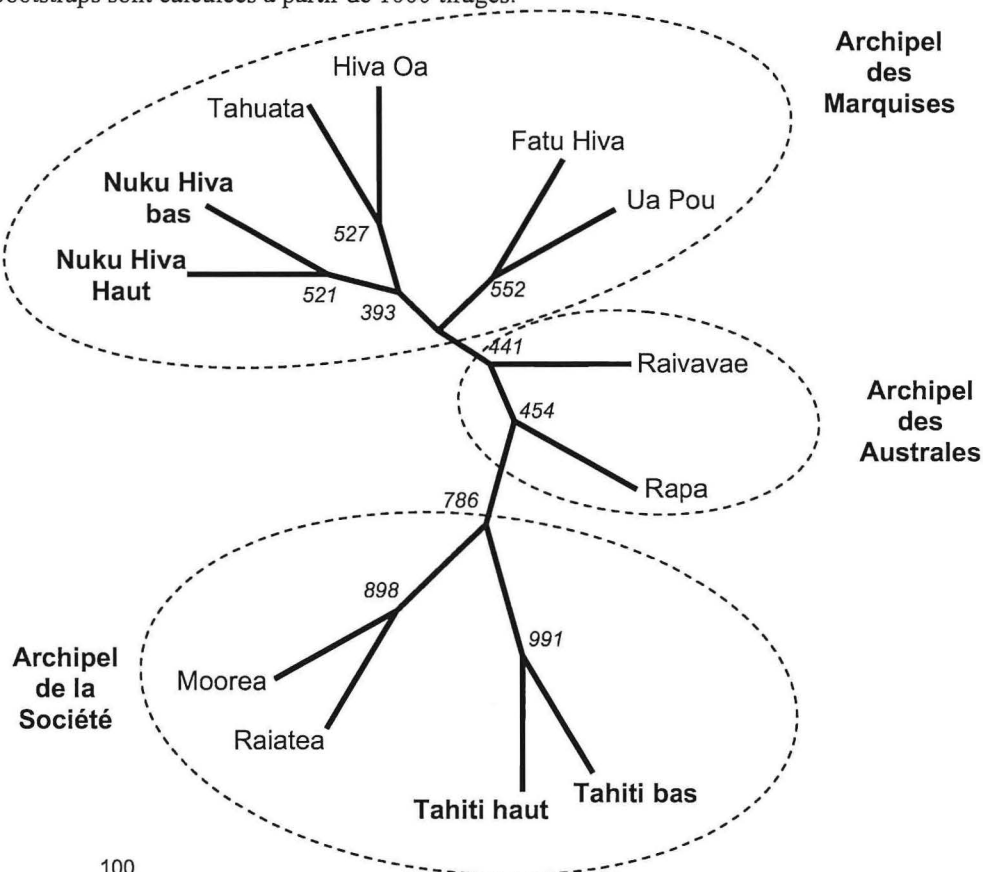
Les valeurs de F_{ST} non significatives ($P > 0.05$) sont indiquées par ns. Les valeurs de Nm supérieures à 1 sont en gras.

	F	HO	TU	NH ht	NH b	UP	M	T b	T ht	R	RP	RV
F	-	0.292 _{ns}	0.224 _{ns}	0.393	0.367 _{ns}	0.202 _{ns}	0.454 _{ns}	0.382 _{ns}	0.491	0.188 _{ns}	0.537 _{ns}	0.626
HO	0.605	-	0.071	0.237	0.204	0.237	0.428	0.388	0.491	0.318 _{ns}	0.381 _{ns}	0.531
TU	0.866	3.267	-	0.281	0.208	0.220	0.426	0.357	0.448	0.271 _{ns}	0.347 _{ns}	0.560
NH ht	0.386	0.804	0.639	-	0.202	0.342	0.490	0.397	0.445	0.398	0.373	0.563
NH b	0.431	0.974	0.953	0.988	-	0.215	0.505	0.424	0.503	0.342 _{ns}	0.439 _{ns}	0.566
UP	0.986	0.805	0.885	0.482	0.915	-	0.485	0.415	0.495	0.299 _{ns}	0.417 _{ns}	0.598
M	0.300	0.335	0.337	0.260	0.245	0.265	-	0.299	0.405	0.068 _{ns}	0.474 _{ns}	0.592
T b	0.404	0.395	0.450	0.380	0.339	0.352	0.587	-	0.060	0.215 _{ns}	0.361 _{ns}	0.602
T ht	0.260	0.259	0.308	0.311	0.247	0.255	0.367	3.913	-	0.367	0.467	0.651
R	1.078	0.535	0.671	0.379	0.482	0.585	3.433	0.912	0.432	-	0.371 _{ns}	0.557
RP	0.215	0.406	0.470	0.420	0.319	0.350	0.278	0.442	0.285	0.424	-	0.648
RV	0.150	0.221	0.197	0.194	0.192	0.168	0.173	0.166	0.134	0.199	0.136	-

Codes : F : Fatu Hiva ; HO : Hiva Oa ; TU : Tahuata ; NH : Nuku Hiva ; UP : Ua Pou ; M : Moorea ; T : Tahiti ; R : Raiatea ; RP : Rapa ; RV : Raivavae ; ht : haut ; b : bas.

Figure 6 : Arbre de Neighbor-Joining basé sur les distances de Cavalli-Sforza entre les îles avec discrimination des groupes de populations Nuku Hiva Haut et Bas et Tahiti Haut et Bas.

Les valeurs de bootstraps sont calculées à partir de 1000 tirages.



semblerait que ces populations forment des groupes bien distincts et que les populations de basse altitude soient plus proches des populations des autres îles que les populations d'altitude.

La différenciation entre ces groupes a été réévaluée à l'aide du F_{ST} de Weir & Cockerham, par paire d'îles, en discriminant les groupes Nuku Hiva "Haut" et "Bas" et Tahiti "Haut" et "Bas", et un arbre de Neighbor-Joining a été redessiné selon les mêmes critères que précédemment (tableau 9 et figure 6). Bien que les groupes Haut et Bas se situent sur la même branche, les bootstraps assez forts indiquent qu'il existe bien une structuration par population d'altitude à Nuku Hiva et Tahiti. En outre, sur Nuku Hiva, la différenciation entre "Haut" et "Bas" est significative et de même ordre qu'entre les îles des Marquises ($F_{ST}=0.202$; $Nm<1$). Pour Tahiti, la différenciation est aussi significative, mais de moins grande ampleur ($F_{ST}=0.06$). D'autre part, les F_{ST} entre Nuku Hiva Bas et les autres îles Marquises sont en moyenne moins élevés qu'avec Nuku Hiva Haut (0.248 contre 0.313), ce qui indique, comme attendu, que les flux de gènes sont plus probables entre les parties basses de Nuku Hiva et les autres îles, qu'entre les populations d'altitude et le reste de l'archipel.

Il semble donc que les populations d'altitude soient plus isolées et subiraient un processus de différenciation par rapport aux autres populations de l'île, sous l'effet de la dérive.

V.3.4 - STRUCTURATION INTRA-POPULATION

Le moyen le plus probable d'expansion des populations de santal semble être devenu la multiplication végétative par drageonnage des individus qui ont survécu à la surexploitation. Ainsi, les "populations" restantes actuelles de *Santalum insulare* consistent pour la plupart en une à plusieurs tâches clonales. La cartographie des individus analysés et des génotypes a été réalisée pour 5 populations de crêtes, qui comportaient suffisamment d'individus génétiques (annexe 6). Elle permet de visualiser la répartition des clones le long des crêtes. Mais ces résultats sont partiels et la cartographie nécessiterait d'être complétée. On aurait ainsi une estimation réaliste de la surface des tâches clonales, ce qui pourrait permettre une éventuelle datation des clones.

D'autre part, l'absence de corrélation significative entre dissimilarités calculées entre génotypes multilocus et distances géographiques entre genets (tableau 8) pour la plupart des populations de crêtes analysées tendrait à indiquer que la dissémination des fruits à l'origine s'est faite au hasard, au moins autrement que par barochorie. La faible corrélation détectée à l'Aorai pourrait refléter l'absence précoce des oiseaux disséminateurs sur cette montagne, engendrant un motif particulier de distribution. Cette approche de la structuration intra-population peut néanmoins être biaisée par la position approximative donnée aux genets, l'emplacement exact de l'ortet à l'origine du clone n'étant pas connu.

V.4 - DIFFÉRENCIATION DES ÎLES SUR LA BASE DES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES

L'analyse des données morphologiques par l'ACP et la CAH met en évidence que le regroupement des îles ne correspond pas à une structure géographique nette (figures 5a et 5b). En fait, la forte variation des facteurs abiotiques au sein des îles (températures, pluviométrie, sol, exposition, luminosité...) (Butaud, 2004) crée des environnements très différenciés, auxquels les populations de santal vont s'adapter, aboutissant ainsi à plusieurs écotypes. De là, l'observation dans un même cluster (CAH) d'îles n'appartenant pas au même archipel peut s'expliquer par un phénomène de convergence évolutive : du fait de la grande variation environnementale intra-île, il est possible de retrouver des environnements semblables sur des îles éloignées, auxquels les populations se seraient adaptées de manière similaire. L'hypothèse de convergence pourrait expliquer la position inattendue de Nuku Hiva Bas avec l'archipel de la Société, ou la similitude entre Moorea et Raivavae.

Il est donc vraisemblable que la différenciation des îles sur la base des caractères morphologiques soit due à un effet cumulé de la dérive comme nous l'avons vu plus haut (figure 6), et de la sélection naturelle. Dans le cas de *Santalum insulare*, il est difficile de déterminer quels paramètres environnementaux sont à l'origine de telle ou telle évolution morphologique, car les facteurs capables d'agir sur la taille de l'appareil végétatif et des organes floraux peuvent être très nombreux (température, pluviométrie, exposition au soleil et au vent, nature et profondeur des sols, pente, luminosité...), très variables sur de courtes distances géographiques, et leurs interactions sont complexes. Ainsi, il semble que la petite taille des graines et des feuilles caractérisant Tahiti Haut soit principalement due à l'altitude élevée des populations (environ 1900 m), mais on ne peut pas déterminer quels sont les paramètres environnementaux prépondérants parmi ceux mis en jeu par l'altitude (Cordell *et al.*, 1998 ; MacDonald *et al.*, 2003 ; Murray *et al.*, 2004).

V.5 - IMPLICATIONS POUR LA GESTION ET LA CONSERVATION

La génétique de conservation a pour objectif de diminuer le risque d'extinction d'une espèce en se référant aux facteurs génétiques intra-spécifiques (Frankham *et al.*, 2002). La préservation de la diversité génétique intra-spécifique, considérée comme l'un des trois niveaux de la biodiversité, est ainsi recommandée par l'UICN pour la conservation des espèces. L'évaluation de cette diversité est alors devenue un critère essentiel pour la gestion des espèces et le développement de plans de conservation efficaces (Newton *et al.*, 1999).

V.5.1 - APPROCHE THÉORIQUE : DÉFINITION DES UNITÉS ÉVOLUTIVES SIGNIFICATIVES

Les programmes de conservation ne permettent pas, en général, de préserver toutes les populations. Proposé par Ryder en 1986 (in Crandall *et al.*, 2000), le concept d'unité évolutive significative (Evolutionary Significant Units, ESU) aide à la définition d'unités de conservation (Moritz 1994, Moritz & Faith, 1998 ; Newton *et al.*, 1999). Initialement, le concept est appliqué aux populations isolées sur les plans historiques et reproductifs, et différenciées sur le plan adaptatif par rapport aux autres populations de l'espèce (Crandall *et al.*, 2000). Moritz a suggéré l'utilisation de marqueurs génétiques pour définir ces unités de gestion au sein d'une espèce : si les locus nucléaires présentent une divergence significative de la fréquence des allèles, alors les populations peuvent être définies comme des ESUs distinctes, et gérées séparément. Crandall *et al.* (2000) ont critiqué le fait que cette définition des ESUs ne tient pas compte des différences adaptatives, et ont proposé que les unités de gestion soient définies sur la base des possibilités d'échanges sur les plans génétiques et écologiques et à échelle de temps récente ou historique. Donc, intégrer des données moléculaires et adaptatives pour définir des unités de gestion semble être un moyen sûr d'identifier des unités de gestion pertinentes.

Considérant les arbres forestiers, Newton *et al.* (1999) suggèrent que ce concept peut être appliqué quand des données chloroplastiques et nucléaires sont disponibles. Les ESU doivent alors présenter une divergence significative pour les haplotypes, et une différence significative des fréquences alléliques aux locus nucléaires.

Adaptés à *Santalum insulare*, ces principes ont tout d'abord permis de définir 4 unités de gestion sur la base de l'étude par microsatellites chloroplastiques (Rives, 2004) : archipel des Marquises, archipel de la Société, Raivavae et Rapa. Cette définition semble concorder avec les résultats obtenus via les microsatellites nucléaires : les archipels présentent entre eux une importante différenciation, avec une estimation des flux géniques largement inférieure à 1 migrant par génération. De plus, ils sont probablement en voie de spéciation. Les mêmes résultats ayant été observés entre Rapa et Raivavae, la séparation de ces deux îles en 2 unités de gestion distinctes paraît logique et conforme avec la précédente étude.

En conservant les mêmes critères basés sur la diversité neutre, il semble logique de distinguer une unité par île, à l'exception des couples Hiva Oa - Tahuata et Moorea - Raiatea qui n'observent pas la règle de "moins d'un migrant" par génération. De plus, les îles de ces couples présentent des similitudes sur les plans morphologiques et écologiques en plus de leur proximité génétique. Dans les autres cas, la définition d'unités constituée de 2 individus génétiques pour certaines îles est néanmoins remise en question. Pour définir les unités au sein de chaque archipel, il semble donc nécessaire d'intégrer tous les types de données. Ainsi, dans les Marquises, on sait que Nuku Hiva Haut est

différencié du reste de l'archipel d'un point de vue de la diversité neutre, et Nuku Hiva Bas d'un point de vue de la sélection naturelle. Il semble alors pertinent de discriminer 3 unités, à savoir les deux écotypes de Nuku Hiva et le reste des Marquises. Dans l'archipel de la Société, on peut de même définir 3 unités : Tahiti Haut, Tahiti Bas, et l'ensemble Moorea - Raiatea. Pour les Australes, on conserverait cette seule unité, la gestion séparée de Rapa posant problème vu qu'il n'y a que deux individus génétiques sur l'île.

V.5.2 - APPROCHE OPÉRATIONNELLE : GESTION PRATIQUE DES UNITÉS

La conservation de *Santalum insulare* s'avère complexe, car elle doit, pour être efficace, intégrer un grand nombre de facteurs : statut menacé de l'espèce avec de petites populations, aire de répartition fragmentée à cause de son caractère insulaire, disparition des disséminateurs, endémisme, capacité à drageonner et perte quasi complète de la reproduction sexuée à cause des rats. Dans la situation actuelle où la reproduction sexuée est bloquée, la clonalité ne représente pas une menace en elle-même : elle favorise l'expansion et donc la persistance des populations relictuelles de santal, et permet la colonisation des milieux difficiles. Néanmoins, elle doit être prise en compte pour l'évaluation de l'effectif réel des populations, et considérée comme un facteur accentuant la consanguinité des populations dans le cas où la reproduction sexuée serait au moins partiellement rétablie.

En vue de la conservation du Santal en Polynésie Française, un ensemble d'actions de restauration devront être conduites dans chaque ESU.

Tout d'abord, il s'agit d'augmenter les effectifs réels des populations. Différentes actions peuvent permettre de reconstituer des stocks sur pied de santal :

- Replanter en milieu naturel des jeunes plants provenant de pépinières protégées. Ces plants sont issus de la germination de fruits récupérés dans des peuplements naturels. Leur provenance est donc connue.
- Favoriser la régénération naturelle sur le terrain en luttant contre les coupes illégales (application des arrêtés ministériels n° 256 du 18 mars 1996 et n° 471 du 10 avril 2003) et en luttant contre rats, chèvres et feux, de sorte à favoriser les plants issus de reproduction sexuée plutôt que les drageons.

Le problème qui se pose dans les 2 cas est l'augmentation de la consanguinité, inévitable avec des populations de si petite taille et si isolées. Il s'agit donc de rétablir un flux génique entre populations d'une même ESU :

- soit en rétablissant les échanges naturels, ce qui implique une lutte efficace contre les rats pour conserver des fruits en peuplements naturels, et la restauration des populations des agents disséminateurs en voie de disparition. Mais il semble que ce ne soit pas très envisageable, même à l'échelle d'une petite ESU ;
- soit en créant des flux géniques de manière artificielle, par exportation de jeunes plants ou par contrôle des pollinisations en plantation entre les populations d'une même ESU.

Ces échanges entre populations posent la question des mélanges entre provenances différentes. En effet, l'UICN et certains auteurs déconseillent de mélanger des populations divergentes et préconisent une conservation des adaptations locales (Moritz, 1999). De plus, les croisements entre populations en différenciation peuvent conduire à une dépression d'"outbreeding" à cause des divergences génétiques adaptatives (Moritz, 1999 ; Frankham *et al.*, 2002). Néanmoins, dans des cas extrêmes d'absence de diversité, ce qui est la situation actuelle de *Santalum insulare*, Moritz suggère une gestion qui vise à maintenir le processus évolutif global, c'est-à-dire les niveaux de flux de gènes plutôt que des entités de phénotypes intra-spécifiques. Cet argument est basé sur le principe que des processus micro-évolutifs permettront par la suite de recréer des phénotypes spécifiques à partir de la diversité mise en place (Moritz, 1999). Cependant, il s'agit ici d'une stratégie dans une perspective de gestion à long terme visant à rétablir la viabilité et le potentiel adaptatif de l'espèce, et impliquant nécessairement un lourd investissement. Ce type d'action est indispensable si l'on souhaite rétablir des populations sur les îles de Rapa, Raiatea, Fatu Hiva ou encore Ua Pou.

Dans tous les cas, rétablir la reproduction sexuée et les potentialités de régénération est indispensable pour avoir une gestion dynamique de l'espèce, même si, dans un premier temps, des problèmes de dépression de consanguinité ou d'"outbreeding" apparaissent. Dans le cas où des populations suffisantes viendraient à être rétablies, ces problèmes finiraient par disparaître (Moritz, 1999 ; Frankham *et al.*, 2002). La lutte contre les rats et les pestes pour favoriser la reproduction sexuée est donc à renforcer, aucune technique très efficace n'ayant été trouvée pour le moment. Cela implique un contrôle des populations en plantations, dans des conservatoires qui pourraient être créés au niveau de chaque archipel.

VI
CONCLUSION



VI - CONCLUSION

Au cours de cette étude, l'analyse à l'aide de marqueurs microsatellites nucléaires et d'une approche quantitative nous ont permis de mieux comprendre l'origine et l'impact des forces évolutives sur la diversité du santal de Polynésie française. Des caractéristiques essentielles en vue de la conservation de l'espèce ont ainsi été révélées. L'intensité du phénomène de clonalité a notamment été établie et a permis de rendre compte de la faiblesse des effectifs réels des populations. Cela pourrait conduire à une modification de la classification de *S. insulare* sur les listes d'espèces menacées vers un degré plus élevé de protection.

Parallèlement, il a été mis en évidence une faible diversité et une forte structuration génétiques, en relation avec le caractère insulaire de l'espèce, mais accentuées par deux pressions anthropiques : l'exploitation par les santaliers et l'introduction des rats prédateurs de graines. L'impact de ces facteurs est extrême dans le sens où la perte de reproduction sexuée a suspendu l'évolution du santal au moment où se produisait un goulot démographique.

Finalement, l'association des résultats obtenus à l'aide des marqueurs microsatellites nucléaires, chloroplastiques (Rives, 2004 ; Butaud *et al.*, 2005) et de l'analyse des caractères morphologiques a permis de définir des stratégies de gestion adaptées à la situation de *Santalum insulare*.

Néanmoins, il serait judicieux de consolider nos hypothèses en augmentant (lorsque c'est possible) et en rééquilibrant l'échantillonnage. De plus, l'étude de la variation des caractères morphologiques nécessiterait un plan d'expérimentation plus complet pour mieux comprendre l'impact de la sélection naturelle et de la dérive, comme des tests de descendance en milieu contrôlé.

Enfin, la définition des ESUs pourrait éventuellement être confirmée par une étude portant sur les caractères liés à la fitness (croissance, floraison, fructification, germination) et donc au potentiel évolutif de l'espèce.

RÉFÉRENCES

RÉFÉRENCES

- Addinsoft (2005). XLSTAT Version 7.5.3. Analyse de données et statistique avec Microsoft Excel, Paris, France. <http://www.xlstat.com>.
- Aldrich PR, Hamrick JL, Chavarriaga P, Kochert G (1998) Microsatellite analysis of demographic genetic structure in fragmented populations of the tropical tree *Symphonia globulifera*. *Molecular Ecology*, **7**, 933-944.
- Barrett SCH (1998) The reproductive biology and genetics of island plants. In *Evolution on Islands*, pp 19-34.
- Belkhir K, Borsa P, Chikhi L, Raufaste N, Bonhomme F (2001) *GENETIX 4.03, logiciel sous WindowsTM pour la génétique des populations*. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- Bianchini JP, Bouvet JM, Butaud JF, Raharivelomanana P, Verhaegen D & Baron V (2003) Caractérisation du Santal des îles Marquises. Rapport final interne. CIRAD.
- Billote N, Lagoda PJJ, Risterucci AM, Baurens FC (1999) Microsatellite-enriched libraries: applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. *Fruits*, **54**, 277-288.
- Blondel J (1995) *Biogéographie Approche écologique et évolutive*. Masson, Paris, 1995. Collection Écologie, n°27.
- Bousquet J, Simon L, Lalonde M (1990) DNA amplification from vegetative and sexual tissue of trees using polymerase chain reaction. *Canadian Journal of Forestry Research*, **20**, 254-257.
- Bottin L, Verhaegen D, Tassin J, Olivieri I, Vaillant A and Bouvet JM (2005) Genetic diversity and population structure of an insular tree, *Santalum austrocaledonicum* in New Caledonian archipelago. *Molecular Ecology*, **14**, 1979-1989.
- Butaud JF (2004) *Santalum insulare* (Bertero ex A. DC.): distribution and ecology. *Sandalwood Research Newsletter*, **19**, 1-4.
- Butaud JF & Tetanui W (2005) Sandalwood in French Polynesia. In: *Proceedings of the Regional Workshop on Sandalwood Research, Development and Extension in the Pacific Islands and Asia, 7-11 October 2002*, Noumea, New Caledonia. Ed. L. Thomson, S. Bulai, L. Sovea. SPC Forest and Trees Programme. Field document No 1. February 2005.
- Butaud JF, Rives F, Verhaegen D and Bouvet JM (2005) Phylogeography of Eastern Polynesian sandalwood (*Santalum insulare*), an endangered tree species from the Pacific: a study based on chloroplast microsatellites. *Journal of Biogeography* (in press)
- Cavalli-Sforza LL, Edwards AWF (1967) Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, **32**, 550-570.
- Carlquist S (1980) *Hawaii: a Natural History. Geology, Climate, Native Flora and Fauna above the Shoreline*. 2nd ed. Pacific Tropical Botanical Garden, Lawa'I Hawai'i.
- Cherrier JF (1993) Sandalwood in French Polynesia. In McKinnel FH. ed. : *Sandalwood in the Pacific Region. Proceedings of a symposium held on 2 June 1991 at the XVII Pacific Science Congress, Honolulu, Hawaii*. ACIAR Proceedings N°49, 24-25.
- Clouard V & Bonneville A (2001) *Ages of Seamounts, Islands and Plateaus of the Pacific Plate*, version 2.0. Jeune équipe Terre-Océan, Université de Polynésie française.

- Collevatti RG, Grattapaglia D, Day JD (2001) Population genetic structure of the endangered tropical tree species *Caryocar brasiliense*, based on variability at microsatellite loci. *Molecular Ecology*, **10**, 349–356.
- Cordell S, Goldstein G, Muellerrambois D, Webb D & Vitousek PM (1998) Physiological and morphological variation in *Metrosideros polymorpha*, a dominant Hawaiian tree species, along an altitudinal gradient – the role of phenotypic plasticity. *Oecologia*, **113**, 188–196.
- Crandall KA, Bininda-Emonds ORP, Mace GM, Wayne RK (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology & Evolution*, **15**, 290–295.
- Dutech C, Joly HI, Jarne P (2004) Gene flow, historical population dynamics and genetic diversity within French Guiana populations of a rainforest tree species, *Vouacapoua americana*. *Heredity*, **92**, 69–77.
- Ellstrand NC, Roose ML (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany*, **74**, 123–131.
- El Moussadik A, Petit RJ (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree (*Argania spinosa* (L.) Skeels) endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics*, **92**, 832–839.
- Emerson BC (2002) Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and processes. *Molecular Ecology*, **11**, 951–966.
- England P, Phillip R, Usher, Annette V, Whelan, Robert J., Ayre, David J (2002) Microsatellite diversity and genetic structure of fragmented populations of the rare, fire-dependent shrub *Grevillea macleayana*. *Molecular Ecology*, **11**, 967–977.
- Esselman EJ, Jianqiang L, Crawford DJ, Windus JL and Wolfe AD (1999) Clonal diversity in the rare *Calamagrostis porteri* ssp. *insperata* (Poaceae): comparative results for allozymes and random amplified polymorphic DNA (RAPD) and intersimple sequence repeat (ISSR) markers. *Molecular Ecology*, **8**, 443–451.
- Estoup A, Jarne P, Cornuet JM (2002) Homoplasy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology*, **11**, 1591–1604
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analyse of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**, 479–491.
- Felsenstein J (1993) *PHYLIP: Phylogenetic inference package, Version 3.573c*. University of Washington, Seattle, WA.
- Fosberg FR & Sachet MH (1985) *Santalum* in Eastern Polynesia. *Candollea* **40**: 459–470.
- Frankham R (1998) Inbreeding and Extinction: Island Populations. *Conservation Biology*, **12**, 665–675.
- Frankham R, Ballou JD & Briscoe DA (2002) *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge University Press.
- Goudet J (1995) FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, **86**, 485–486.
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversity and fixation indice (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995).

- IUCN (2004). *2004 IUCN Red List of Threatened Species*. www.redlist.org. Downloaded on 07 September 2005.
- Kelly B, Hardy O, Bouvet JM (2004) Temporal and spatial genetic structure in *Vitellaria paradoxa* (shea tree) in an agroforestry system in southern Mali. *Molecular Ecology*, **13**, 1231–1240.
- Kennington WJ, James SH (1997) Contrasting Patterns of Clonality in Two Closely Related Mallee Species from Western Australia, *Eucalyptus argutifolia* and *E. obtusiflora* (Myrtaceae). *Australian Journal of Botany*, **45**, 679–689.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and generalized regression approach. *Cancer Research*, **27**, 209–220.
- McConkey KR & Drake DR (2002) Extinct pigeons and declining bat populations: are large seeds still being dispersed in the tropical Pacific ? *In: Seed Dispersal and Frugivory: Ecology, Evolution and Conservation*. Eds D.J. Levey, W.R. Silva and M. Galetti. Wallingford: CABI Publishing. pp 381–395.
- Mc Donald PG, Fonseca CR, Overton JMcC, Westoby M (2003) Leaf-size divergence along rainfall and soil-nutrient gradients: is the method of size reduction common among clades? *Functional Ecology*, **17**: 50–57.
- Moritz C (1994) Defining significant units for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**, 373–375
- Moritz C & Faith DP (1998) Comparative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation. *Molecular Ecology*, **7**, 419–429.
- Moritz C (1999) Conservation units and translocations: strategies for conserving evolutionary processes. *Hereditas*, **130**, 217–228.
- Murray BR, Brown AHD, Dickman CR, Crowther MS (2004) Geographical gradients in seed mass in relation to climate. *Journal of Biogeography*, **31**: 379–388.
- Myers N, Mittermeyer RA, Mittermeyer CG, da Fonseca GAB, Kent G (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**, 583–590.
- Newton AC, Allnut TR, Gillies ACM, Lowe AJ, Ennos RA (1999) Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. *Trends in Ecology and Evolution*, **14**, 140–145
- Page RDM (1996) TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer applications in the biosciences*, **12**, 357–358.
- Perrier X, Flori A, Bonnot F (2003). Data analysis methods. *In: Hamon P, Seguin M, Perrier X, Glaszmann JC*. Eds. *Genetic diversity of cultivated tropical plants*. Enfield, Science Publishers. Montpellier. pp 43–76.
- Pielou EC (1969) *An Introduction to Mathematical Ecology*. Wiley-Interscience, New York.
- Rives F (2004) Diversité des populations d'une espèce forestière en Polynésie française : *Santalum insulare*, implications pour sa valorisation et sa conservation. *Mémoire de stage*. DESS Gestion de la Biodiversité, Méthodologies d'étude et de valorisation des ressources génétiques. Université Pierre et Marie Curie, Paris.

- Rousset F (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics Under Isolation by Distance. *Genetics*, **145**, 1219-1228.
- Rosetto M, Slade RW, Baverstock PR, Henry RJ and Lee LS (1999) Microsatellite variation and assessment of genetic structure in tea tree (*Melaleuca alternifolia* - Myrtaceae). *Molecular Ecology*, **8**, 633-643.
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**, 406-425.
- Sanou H, Lovett PN, Bouvet JM (2005) Comparison of quantitative and molecular variation in agroforestry populations of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn) in Mali. *Molecular Ecology*, **14**, 2601-2610.
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) *ARLEQUIN: a software for population genetics data analysis*. User manual version 2.0. Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology, University of Geneva, Switzerland. Free program distributed by the authors over internet from lfb.unige.ch/arlequin/
- Skottsberg C (1938) Ericaceae and Santalaceae of Southeastern Polynesia. *Occasional Paper of the Bernice P. Bishop Museum*, **14**, 31-43.
- Smith S, Hughes J & Wardell-Johnson G (2003) High population differentiation and extensive clonality in a rare mallee eucalypt: *Eucalyptus curtisii*. *Conservation Genetics*, **4**, 289-300.
- Sokal RR and Michener CD (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kans. Sci. Bull.*, **38**, 1409-1438.
- Steadman DW (1997) The historic biogeography and community ecology of Polynesian pigeons and doves. *Journal of Biogeography*, **24**, 737-753.
- Sydes MA, Peakall R (1998) Extensive clonality in the endangered shrub *Haloragodendron lucasii* (Haloragaceae) revealed by allozymes and RAPDs. *Molecular Ecology* **7**, 87-93.
- Torimaru T, Tomaru N, Nishimura N and Yamamoto S (2003) Clonal diversity and genetic differentiation in *Ilex leuococlada* M. patches in an old-growth beech forest. *Molecular Ecology*, **12**, 809-818.
- UICN. (2001). *Catégories et Critères de l'UICN pour la Liste Rouge : Version 3.1*. Commission de la sauvegarde des espèces de l'UICN. UICN, Gland, Suisse et Cambridge, Royaume-Uni. 32 pp.
- Warburton CL, James EA, Fripp YJ, Trueman SJ, Wallace HM (2000) Clonality and sexual reproductive failure in remnant populations of *Santalum lanceolatum* (Santalaceae). *Biological Conservation*, **96**, 45-54.
- Ward JH (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, **58**, 236-244.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**, 1358-1370.
- Wright S (1969) *Evolution and the genetics of populations*. Vol. 2. The theory of gene frequencies. University of Chicago Press, Chicago.

Pour des informations générales sur la Polynésie française, sites à consulter :

<http://www.armees-polynesie.pf/>

http://membres.lycos.fr/polynesie/formation_des_iles1.htm

<http://www.polynesie-francaise.gouv.fr/>

<http://membres.lycos.fr/polynesie/index1.htm>

ANNEXES

ANNEXE 1 : PROTOCOLE D'EXTRACTION DE L'ADN POUR *SANTALUM INSULARE*

Préparation du tampon d'extraction :

Produits	Concentrations finales	Quantité pour un litre
Tris	100 mM	12.114 g
NaCl	1.4 M	81.82 g
EDTA	20 mM	40 ml de solution à 0.5 M
MATAB	2 %	20 g
PEG 6000	1 %	10 g

- Dissoudre ces produits dans 800 ml d'eau pure ;
- Ajuster à pH 8 avec de l'HCl 37 % ;
- Compléter à un litre avec de l'eau pure ;
- Autoclaver et conserver à température ambiante.

Prélever le volume de tampon nécessaire pour le nombre d'échantillons prévus et y ajouter du Sulfite de sodium pour une concentration finale de 0,5 %.

Préchauffer le tampon à 65 °C.

Extraction :

A partir d'une pesée de 100 mg de feuilles sèches :

- broyage des feuilles dans des mortiers avec de l'azote liquide (+ sable si nécessaire) ;
- ajout de 5 ml de tampon d'extraction à 65 °C ;
- transvasement du contenu dans des tubes de 13 ml à vis stériles ;
- incubation 1h à 65 °C avec agitation au bain-marie (tubes immergés et couchés à l'horizontale) ;
- refroidissement des tubes quelques minutes ;
- ajout de 5 ml de chloroforme / alcool isoamylique en proportion 24:1 ;
- agitation des par inversion pendant environ 5 min ;
- centrifugation 15 min à 5000 rpm (Sigma 3-10, soit 4500 g) ;
- récupération des surnageants à la pipette à serum stérile et transvasement dans une nouvelle série de tubes de 13 ml stériles ;
- rajout de 5 ml de chloroforme / alcool isoamylique 24:1 ;
- agitation douce 5 min comme précédemment ;
- centrifugation 15 min à 5000 rpm (Sigma 3-10, soit 4500 g) ;
- récupération des surnageants à la pipette à serum stérile et transvasement dans une nouvelle série de tubes de 13 ml stériles ;
- ajout de 1/10ème du volume (soit environ 460 µl) d'acétate de sodium 3M pH=5 ;
- ajout de 5 ml d'isopropanol à température ambiante ;
- agitation douce jusqu'à parfaite homogénéité des solutions ;
- congélation à - 20°C pendant 15 min environ ;
- agitation douce des tubes ;
- centrifugation 5 min à 5000 rpm (Sigma 3-10, soit 4500 g) ;
- élimination de l'isopropanol en versant les tubes doucement ;
- ajout de 1ml d'éthanol 70 % froid pour rincer les culots (déchirés par agitation et/ou tapotement) ;
- transvasement dans une série de tubes stériles de 1,5 ml ;
- centrifugation 5 min à 5000 rpm (Sigma 2K15, soit 1956 g) pour attacher les culots au fond des tubes ;
- élimination de l'éthanol ;
- séchage 4 à 5 min au speed vac à température moyenne (culot bien sec) ;
- reprise dans 200 µl d'eau pure stérile ;
- passage au bain-marie à 65 °C pendant 20 minutes maximum.

ANNEXE 2 : CONDITIONS D'AMPLIFICATION ET DE MIGRATION DES MICROSATELLITES

Mélange réactionnel

Produits	mCIRSi 39, 44, 139, 153, 42, 148, 33		mCIRSi 185(CA)	
	Cf	V (µl)	Cf	V (µl)
tampon 10X *	1X	1	-	-
tampon 2X **	-	-	1X	5
MgCl ₂ 50mM	1.5 mM	0.3	-	-
dNTPs 5mM chaque	0.2 mM	0.4	-	-
amorce Upper+ queue M13, 10 µM	0.18 µM	0.18	0.18 µM	0.18
amorce Lower 10 µM	0.30 µM	0.3	0.30 µM	0.3
oligo M13 marqué 1 µM	0.15 µM	1.5	0.15 µM	1.5
Polymérase Taq 5 U/µl	0.06 U/µl	0.12	0.04 U/µl	0.08
ADN matrice 5 ng/µl	1.5 ng/µl	3	0.75 ng/µl	1.5
eau		3.2		1.44
total		10		10

Cf = concentration finale ; V = volume par échantillon

* 50mM KCl + 10mM tris-HCl pH8,3

** tampon 10X (2X final) + dNTP 0.2 mM + BSA 0.4 mg/ml + détergent W1 0.05%

Conditions PCR (Mastercycler Eppendorf)

Phase	Temps	Température		T _A °C	Amorces
dénaturation	4 min	94 °C		50	44, 148
dénaturation	30 sec	92 °C		53	39, 139
hybridation	30 sec	T _A °C	30 cycles	56	185CA
élongation	1 min	72 °C		58	33, 42, 153
élongation	5 min	72 °C			

T_A : Température d'hybridation (°C)

Conditions de migration

Gel d'acrylamide 6.5% sur plaques de 18 cm ; polymérisation : 1 heure minimum.

Dilution des produits PCR dans du bleu dénaturant :

- 1/15 pour les produits marqués avec l'oligonucléotide 700 nm ;
- 1/12 à 1/10 pour les produits marqués avec l'oligonucléotide 800 nm.

Dénaturation 3 minutes à 94°C des produits et du marqueur de taille.

Dépôt de 0.8 µl par puits (gel 64 puits)

Paramètres de migration : 1500 V ; 35 mA ; 40 W ; 45 minutes (pré-migration : 30 minutes) sur séquenceur LICOR IR2.

Lecture des gels

Sur le logiciel Saga 2.0.

ANNEXE 3 : CALCUL DES PROBABILITÉS *Pr* DES GÉNOTYPES MULTILOCUS

Les génotypes sont codifiés par le code de l'île (F-, HO-,...) et une lettre.

h : nombre de locus hétérozygotes (nombre de locus si < 8) ; *Pcgen* : probabilité d'occurrence du génotype sous l'hypothèse de reproduction sexuée panmictique; *n* : nombre de fois où le génotype est observé ; *Pr* : probabilité d'observer *n* fois le génotype sous l'hypothèse de reproduction sexuée panmictique.

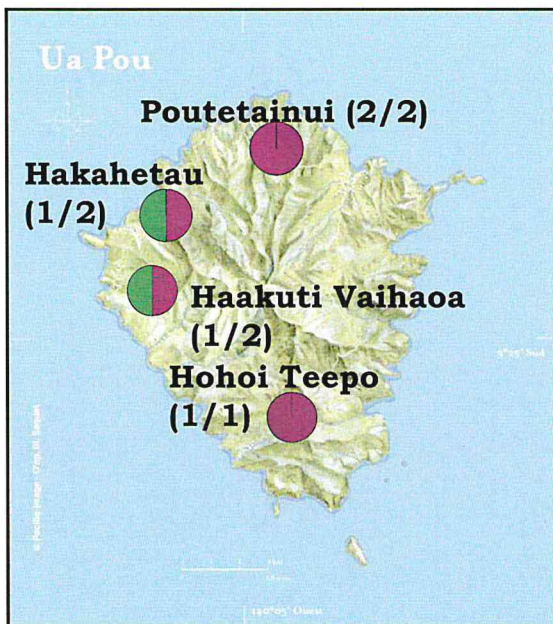
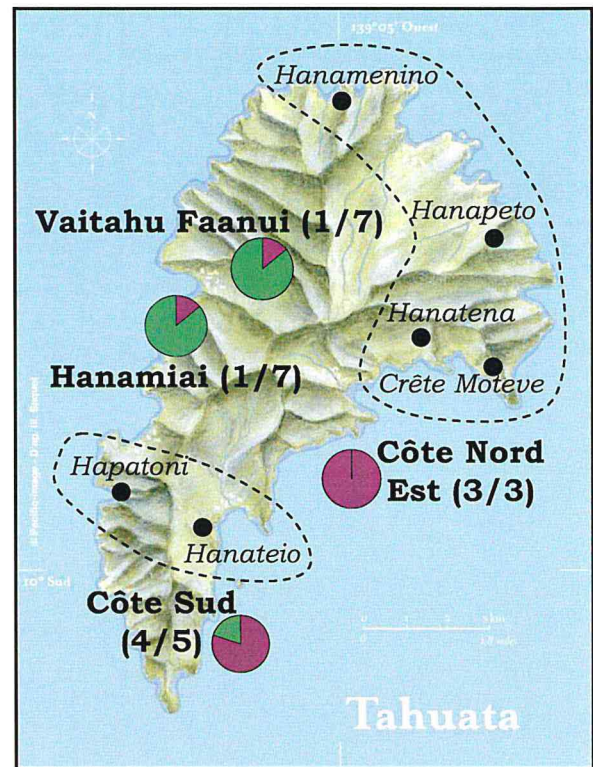
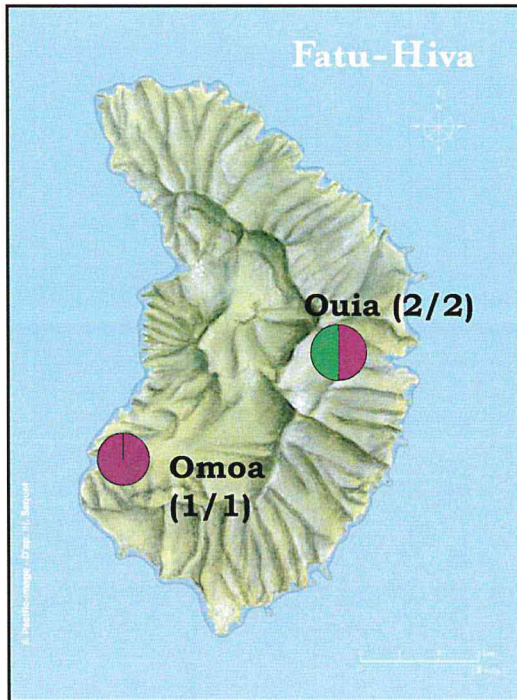
Seuil de significativité : * : Pr<0.05 ; ** : Pr<0.01 ; *** : Pr<0.001.

Îles	Génotypes	<i>h</i>	<i>Pcgen</i>	<i>n</i>	<i>Pr</i> = (<i>Pcgen</i>) ^{<i>n</i>-1}
Fatu Hiva	F-A	3	3.43x10 ⁻⁰²	2	3.43x10 ⁻⁰² *
Hiva Oa	HO-A	4	1.25x10 ⁻⁰³	14	1.88x10 ⁻³⁸ ***
	HO-C	2	2.68x10 ⁻⁰⁷	2	2.68x10 ⁻⁰⁷ ***
	HO-D	3 (7)	3.51x10 ⁻⁰⁵	7	1.88x10 ⁻²⁷ ***
	HO-F	5	1.25x10 ⁻⁰⁴	11	9.58x10 ⁻⁴⁰ ***
Tahuata	TU-D	2	3.56x10 ⁻⁰⁵	2	3.56x10 ⁻⁰⁵ ***
	TU-H	2	1.18x10 ⁻⁰⁴	7	2.66x10 ⁻²⁴ ***
	TU-I	5	4.67x10 ⁻⁰⁴	7	1.04x10 ⁻²⁰ ***
Nuku Hiva	NH-E	5	4.05x10 ⁻⁰⁹	3	1.64x10 ⁻¹⁷ ***
	NH-I	4	3.83x10 ⁻⁰⁷	2	3.83x10 ⁻⁰⁷ ***
	NH-J	4	5.18x10 ⁻⁰⁷	2	5.18x10 ⁻⁰⁷ ***
	NH-L	5	8.72x10 ⁻⁰⁸	4	6.63x10 ⁻²² ***
	NH-M	4	1.81x10 ⁻⁰⁴	18	2.46x10 ⁻⁶⁴ ***
	NH-N	5	1.89x10 ⁻⁰⁶	2	1.89x10 ⁻⁰⁶ ***
	NH-O	4	7.48x10 ⁻⁰⁷	2	7.48x10 ⁻⁰⁷ ***
	NH-P	2 (7)	6.08x10 ⁻⁰⁷	3	3.70x10 ⁻¹³ ***
	NH-Y	4	7.05x10 ⁻⁰⁶	4	3.50x10 ⁻¹⁶ ***
	NH-AG	1	1.46x10 ⁻⁰⁵	3	2.12x10 ⁻¹⁰ ***
	NH-AL	4	3.94x10 ⁻⁰⁶	4	6.09x10 ⁻¹⁷ ***
	Ua Pou	UP-A	5	5.25x10 ⁻⁰⁵	2
UP-B		4	3.10x10 ⁻⁰⁴	2	3.10x10 ⁻⁰⁴ ***
Moorea	M-A	4 (6)	7.81x10 ⁻⁰⁷	2	7.81x10 ⁻⁰⁷ ***
	M-B	2	3.64x10 ⁻⁰³	2	3.64x10 ⁻⁰³ **
	M-F	4	2.27x10 ⁻⁰³	24	1.55x10 ⁻⁶¹ ***
	M-G	0	1.30x10 ⁻⁰³	6	3.70x10 ⁻¹⁵ ***
	M-H	3	1.17x10 ⁻⁰⁴	4	1.59x10 ⁻¹² ***
	M-I	4	4.29x10 ⁻⁰⁴	2	4.29x10 ⁻⁰⁴ ***
	M-K	3	5.95x10 ⁻⁰⁵	3	3.54x10 ⁻⁰⁹ ***
	M-L	3	9.74x10 ⁻⁰⁴	3	9.48x10 ⁻⁰⁷ ***
	M-M	5	2.13x10 ⁻⁰³	10	8.92x10 ⁻²⁵ ***
	M-O	3	1.69x10 ⁻⁰⁴	10	1.12x10 ⁻³⁴ ***
	Tahiti	T-B	2 (7)	9.54x10 ⁻⁰⁷	2
T-M		2	8.77x10 ⁻⁰⁴	8	4.00x10 ⁻²² ***
T-Q		3	2.72x10 ⁻⁰⁵	3	7.38x10 ⁻¹⁰ ***
T-R		3	6.86x10 ⁻⁰⁶	2	6.86x10 ⁻⁰⁶ ***
T-S		4	1.58x10 ⁻⁰⁶	3	2.49x10 ⁻¹² ***
T-T		3	2.08x10 ⁻⁰⁵	2	2.08x10 ⁻⁰⁵ ***
T-V		5	1.04x10 ⁻⁰⁷	7	1.26x10 ⁻⁴² ***
T-AE		1	1.72x10 ⁻⁰⁴	11	2.27x10 ⁻³⁸ ***
T-AG		4	6.44x10 ⁻⁰⁵	3	4.15x10 ⁻⁰⁹ ***
T-AJ		4	1.98x10 ⁻¹⁰	4	7.74x10 ⁻³⁰ ***
T-AM		5	9.54x10 ⁻⁰⁶	2	9.54x10 ⁻⁰⁶ ***
T-AN		4	9.43x10 ⁻⁰⁶	2	9.43x10 ⁻⁰⁶ ***
Raiatea		R-A	3	3.95x10 ⁻⁰²	13
	R-B	4 (6)	2.18x10 ⁻⁰⁸	2	2.18x10 ⁻⁰⁸ ***

ANNEXE 3 (SUITE)

Îles	Génotypes	h	Pcgen	n	Pr = (Pcgen) ⁿ⁻¹
Rapa	RP-A	2	1.30x10 ⁻⁰²	3	1.69x10 ⁻⁰⁴ ***
	RP-B	3	9.07x10 ⁻⁰²	11	3.78x10 ⁻¹¹ ***
Raivavae	RV-A	3	6.62x10 ⁻⁰³	4	2.90x10 ⁻⁰⁷ ***
	RV-B	1	6.62x10 ⁻⁰³	2	6.62x10 ⁻⁰³ **
	RV-D	2	1.32x10 ⁻⁰²	2	1.32x10 ⁻⁰² *
	RV-F	3	1.41x10 ⁻⁰⁵	4	2.82x10 ⁻¹⁵ ***
	RV-H	4	8.99x10 ⁻⁰⁶	5	6.54x10 ⁻²¹ ***
	RV-M	4	3.67x10 ⁻⁰⁴	2	3.67x10 ⁻⁰⁴ ***
	RV-J2	1	2.22x10 ⁻⁰²	2	2.22x10 ⁻⁰² *
	RV-P2	2	1.11x10 ⁻⁰²	2	1.11x10 ⁻⁰² *
	RV-T	2	1.07x10 ⁻⁰³	4	1.24x10 ⁻⁰⁹ ***
	RV-X	3	7.72x10 ⁻⁰³	2	7.72x10 ⁻⁰³ **
	RV-Z	2	3.10x10 ⁻⁰³	5	9.29x10 ⁻¹¹ ***
	RV-AC	1	1.76x10 ⁻⁰⁵	2	1.76x10 ⁻⁰⁵ ***
	RV-AD	2	4.41x10 ⁻⁰³	2	4.41x10 ⁻⁰³ **
	RV-AF	1	1.79x10 ⁻⁰³	3	3.21x10 ⁻⁰⁶ ***

Annexe 4 : Représentation de la clonalité dans les populations de *Santalum insulare*



Légende des cartes :

Hanateio : site

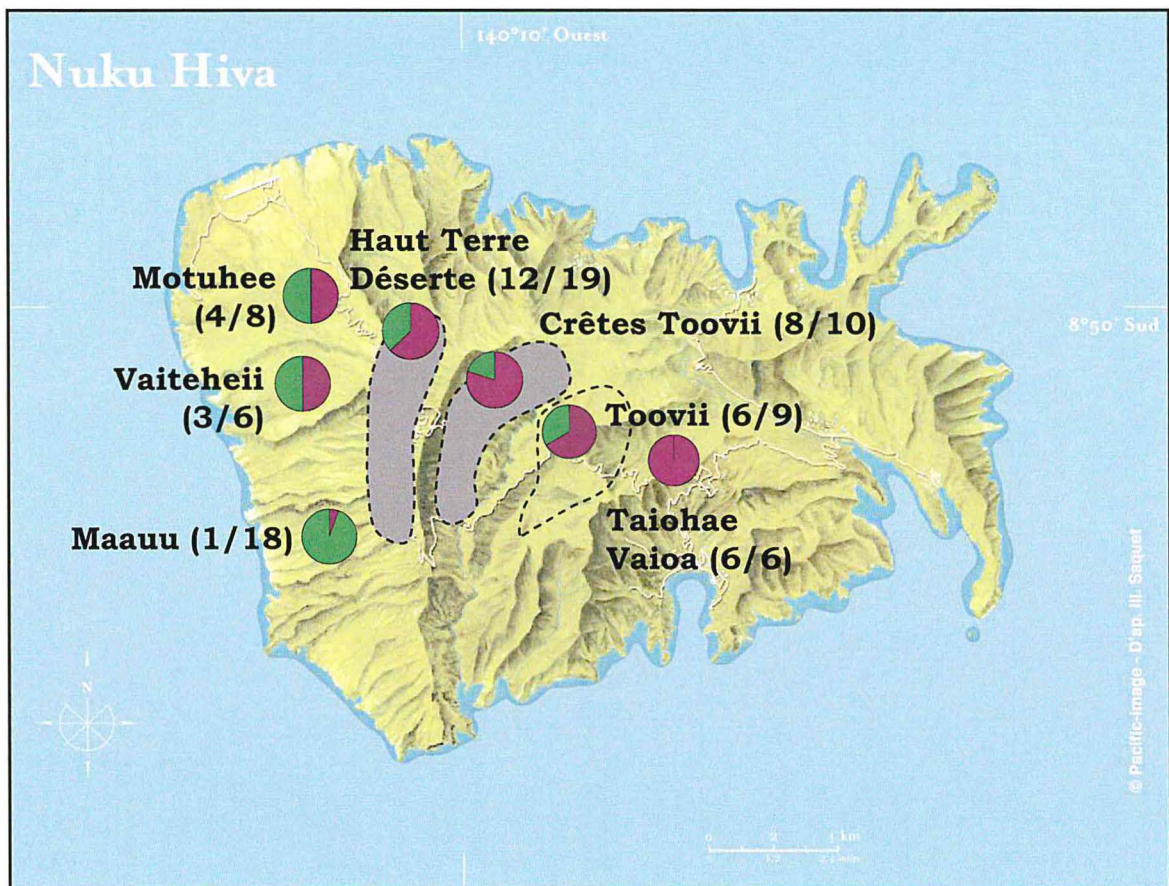
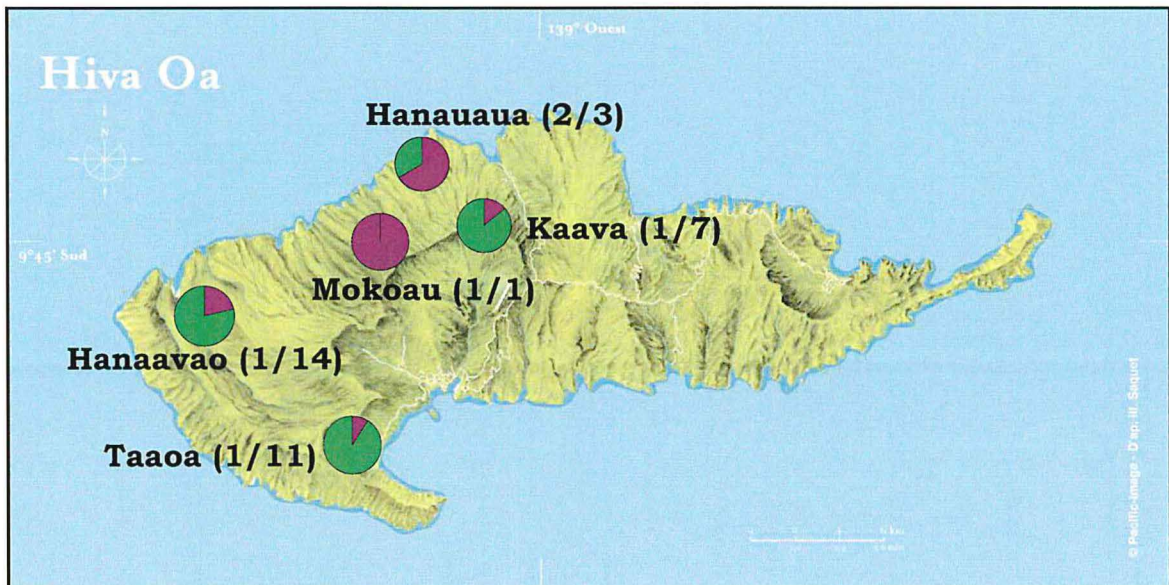
Côte Sud : population

(4/5) : genotypes / ramets

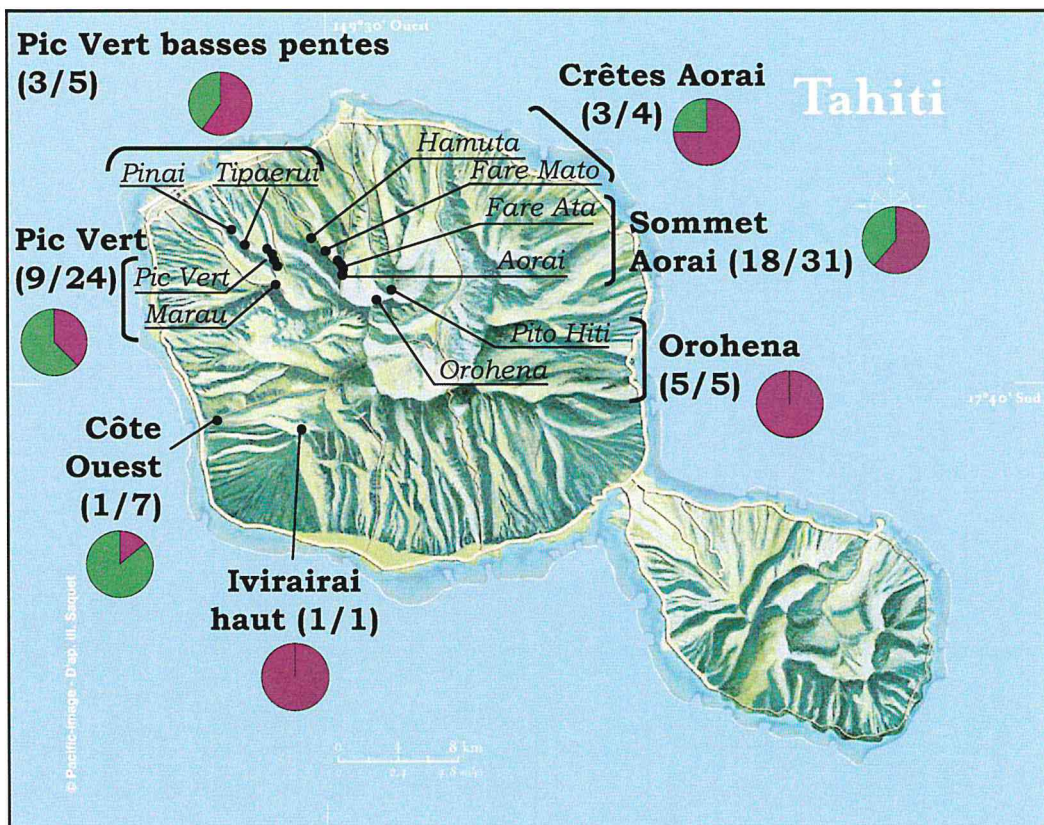
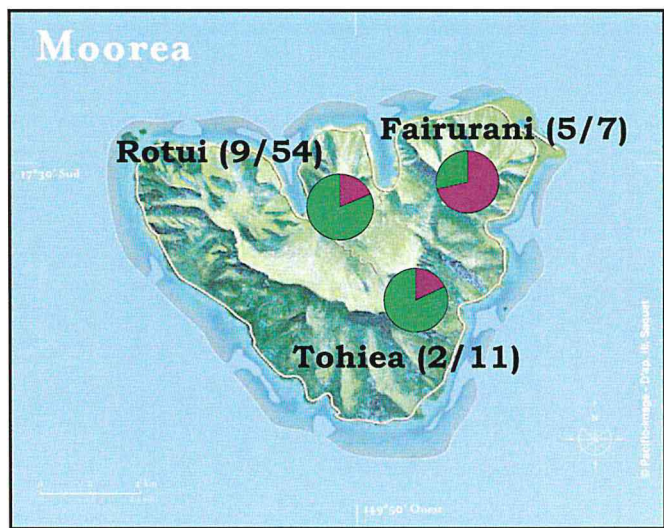
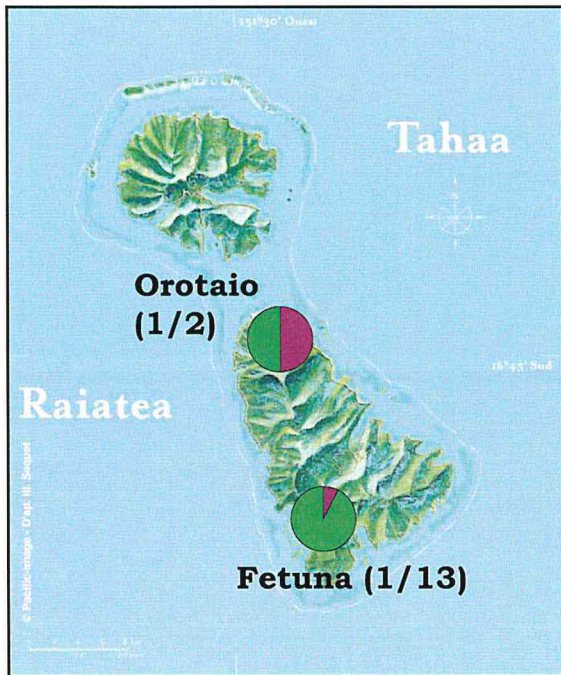
ramets

génotypes

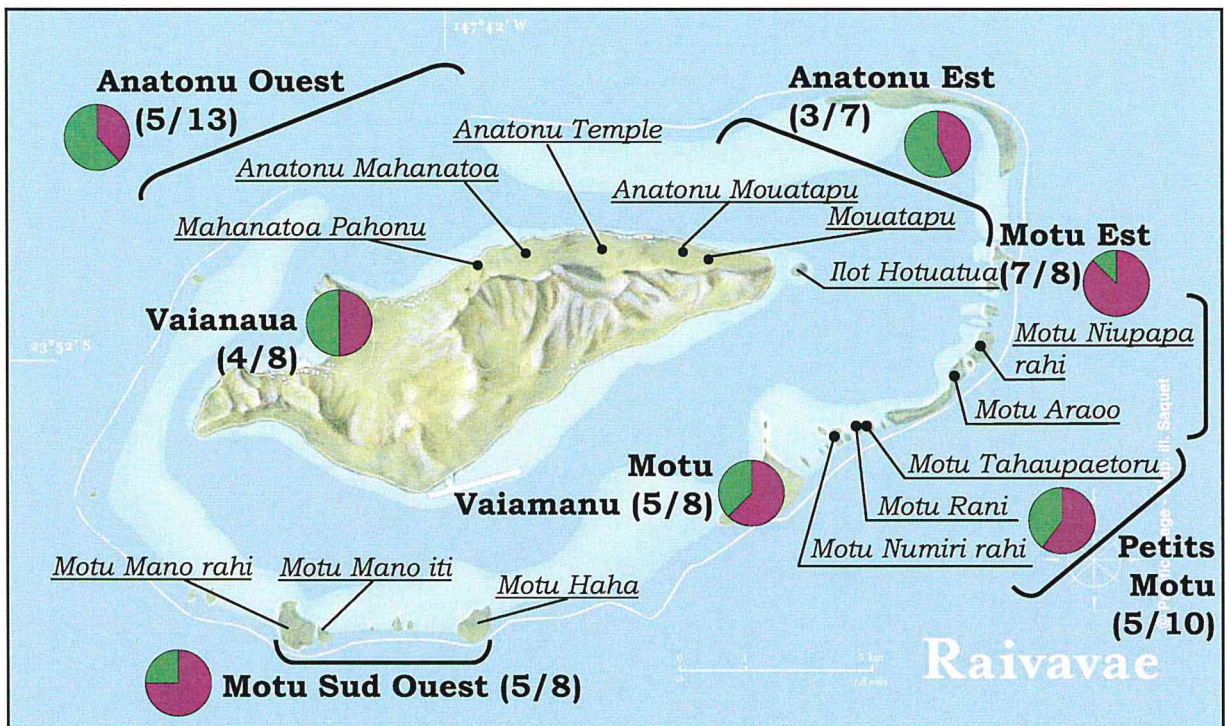
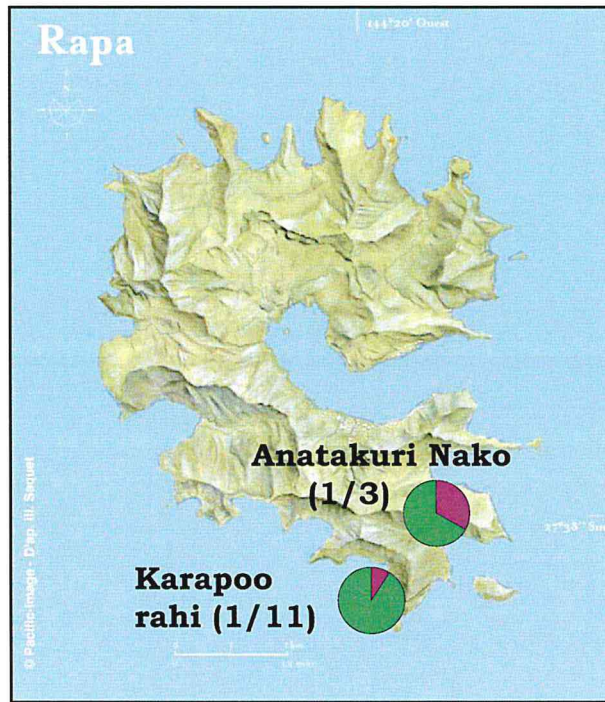
**Annexe 4 : Représentation de la clonalité
dans les populations de *Santalum insulare* (suite)**



**Annexe 4 : Représentation de la clonalité
dans les populations de *Santalum insulare* (suite)**



**Annexe 4 : Représentation de la clonalité
dans les populations de *Santalum insulare* (suite)**



ANNEXE 5 : ÂGES DES ARCHIPELS ET ÎLES DE POLYNÉSIE ORIENTALE

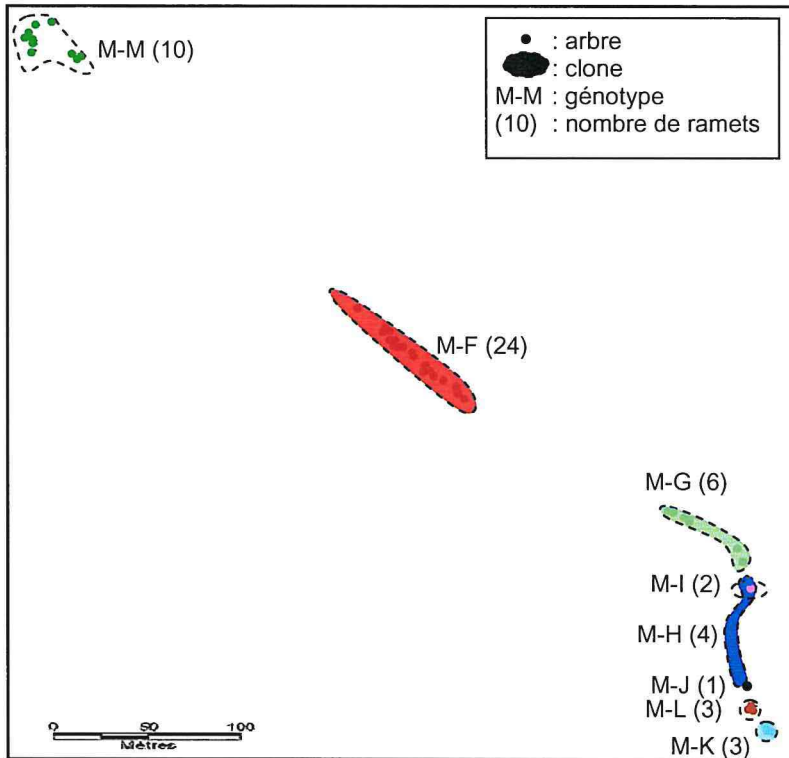
D'après Clouard & Bonneville (2001).

* Existence d'atolls plus anciens. ** peu de données.

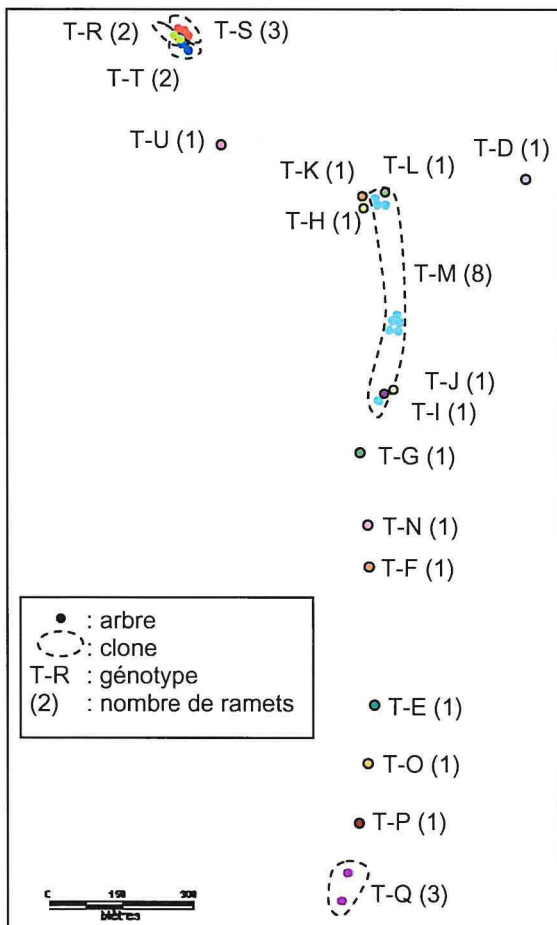
Archipels	Îles	Âges (millions d'années)
Société	<i>archipel</i>	0.03 à 6.08*
	Tahiti	0.23 à 2.29
	Moorea	1.15 à 2.45
	Raiatea	2.38 à 5.6
Tuamotu	<i>nombreux atolls</i>	25.10 à 47.40**
Marquises	<i>archipel</i>	1.30 à 8.72
	Nuku Hiva	2.10 à 4.96
	Ua Pou	1.78 à 5.61
	Hiva Oa	1.58 à 4.26
	Tahuata	1.74 à 2.86
	Fatu Hiva	1.30 à 3.72
Australes	<i>archipel</i>	0.2 à 39.60
	Rapa	4.13 à 5.2
	Raivavae	5.52 à 7.67
Îles Cook	archipel sud	0.74 à 21.90
	Mitiaro	12.30

ANNEXE 6 : CARTOGRAPHIE DES ARBRES ET IDENTIFICATION DES CLONES POUR QUELQUES POPULATIONS DE CRÊTES

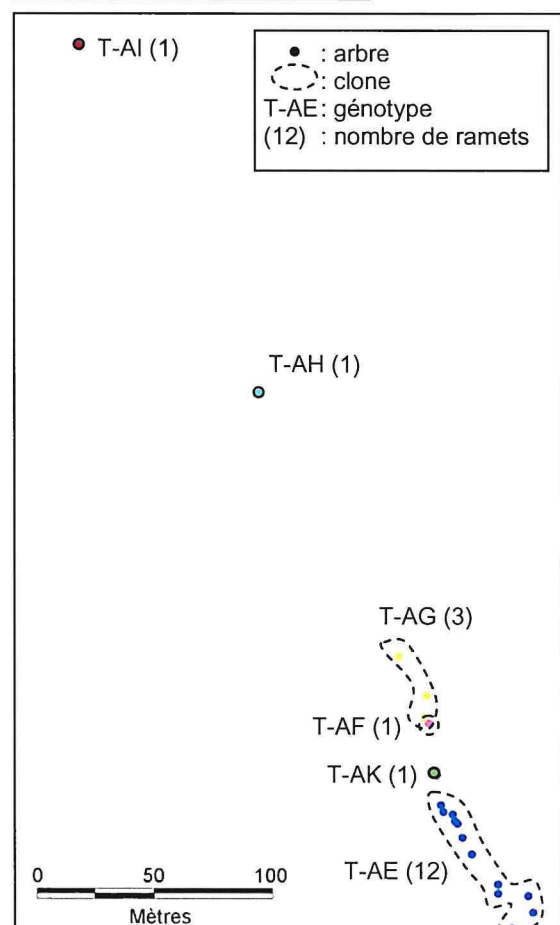
Carte du Rotui (Moorea) :



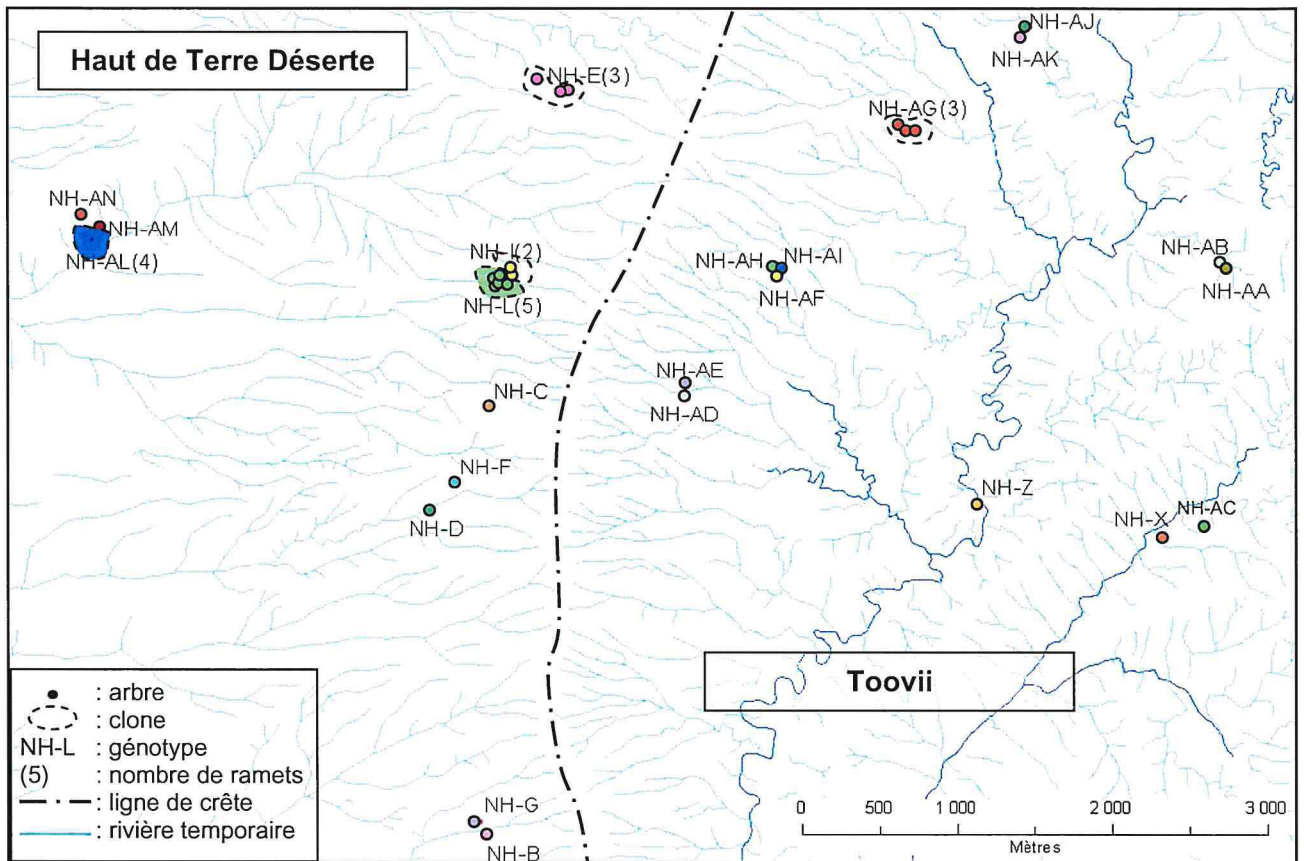
Carte de l'Aorai (Tahiti) :



Carte du Pic Vert (Tahiti) :



Carte de Haut de Terre Déserte et Toovii (Nuku Hiva) :



ANNEXE 7 : DONNÉES QUANTITATIVES ET ABIOTIQUES PAR ÎLE

Tableau des données quantitatives et abiotiques

Ng : nombre de graines analysées ; Lg : longueur moyenne des graines ; lg : largeur moyenne des graines ; Lg/lg : ratio longueur sur largeur des graines ; Nf : nombre de feuilles analysées ; Lf : longueur moyenne des feuilles ; lf : largeur moyenne des feuilles ; Lf/lf : ratio longueur sur largeur des feuilles ; Pluv. : pluviométrie moyenne ; Alt. : altitude maximale ; Lat. : latitude moyenne.

Ile	Ng	Lg (mm)	lg (mm)	Lg/lg	Nf	Lf (mm)	lf (mm)	Lf/lf	Pluv. (mm)	Alt. (m)	Lat. (°)
F	8	14.4	13.5	1.06	18	83.8	47.3	1.8	1900	400	10.5
HO	52	18.6	16.2	1.15	120	98.1	49.6	2.0	1500	350	9.7
TU	221	21.9	20.7	1.06	99	94.3	49.9	1.9	1600	200	10.0
NH ht	608	25.4	24.8	1.03	477	95.2	49.3	1.9	3000	900	9.0
NH b	74	19.0	17.3	1.10	172	81.4	50.4	1.6	1600	500	9.0
UP	1	20.0	19.0	1.05	29	88.9	56.1	1,6	1600	350	9.4
M	695	20.0	16.4	1.22	209	77.9	40.2	1.9	2000	550	17.5
T b	520	20.6	14.9	1.38	324	81.9	45.6	1.8	3000	900	17.7
T ht	23	12.0	8.7	1.37	325	57.9	32.5	1.8	5000	1900	17.7
R	59	17.4	14.8	1.18	52	61.8	33.5	1.8	2600	400	18.0
RP	1	26.0	18.0	1.44	31	70.5	34.7	2.0	2600	80	27.5
RV	174	17.1	15.5	1.11	428	79.1	41.6	1.9	1900	50	24.0

Codification : F : Fatu Hiva ; HO : Hiva Oa ; TU : Tahuata ; NH : Nuku Hiva ; UP : Ua Pou ; M : Moorea ; T : Tahiti ; R : Raiatea ; RP : Rapa ; RV : Raivavae ; ht : haut ; b : bas.

RÉSUMÉ

Cette étude porte sur l'analyse de l'impact des forces évolutives sur la diversité et la structure génétiques de *Santalum insulare*, une espèce forestière endémique de Polynésie Orientale. Cette espèce insulaire présente une forte valeur patrimoniale et un haut potentiel économique, mais est actuellement menacée suite à sa surexploitation pour son bois de cœur et à l'introduction de rats prédateurs des graines. L'analyse moléculaire à l'aide de 8 marqueurs microsatellites nucléaires a révélé une importante clonalité, des populations de petite taille, une faible diversité et une forte différenciation sur l'ensemble de la Polynésie française. Ces résultats mettent en évidence le phénomène d'insularité et la vulnérabilité des espèces insulaires face aux pressions d'origine anthropique. L'analyse des caractères morphologiques a révélé l'impact cumulé de la dérive et de la sélection, et une divergence des populations d'altitude différente. La combinaison de ces résultats nous a permis de définir des Unités Évolutives Significatives et de proposer des stratégies de gestion en vue de la restauration de la diversité de *Santalum insulare* en Polynésie française.

Mots Clés : conservation, insularité, dérive, diversité génétique, microsatellites nucléaires, *Santalum insulare*, sélection naturelle, spéciation, structure génétique.