

50376
1987
347

T H E S E

présentée à

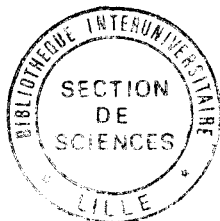
L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE LILLE FLANDRES ARTOIS

pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'ETAT ES SCIENCES

par

MYRIAM VALERO



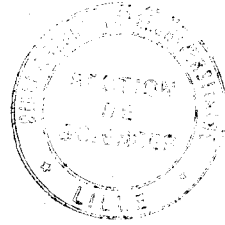
SYSTEME DE REPRODUCTION ET FONCTIONNEMENT
DES POPULATIONS CHEZ DEUX ESPECES DE
LEGUMINEUSES DU GENRE LATHYRUS

soutenue le 27 Novembre 1987 devant la Commission d'examen

Philippe VERNET,
Chris GLIDDON
Pierre-Henri GUYON
Raymond JEAN
Vincent LABEYRIE

Rapporteur, Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur

REMERCIEMENTS



Je voudrais tout d'abord remercier Philippe Vernet pour la confiance qu'il m'a toujours témoignée depuis qu'il m'a accueillie dans son laboratoire. Je voudrais lui dire combien il a su rendre l'ambiance du laboratoire agréable, enrichissante et propice à des discussions scientifiques stimulantes, de telle sorte que je ne regrette pas d'avoir quitté le soleil de Montpellier pour les brumes de Lille, bien qu'il n'y ait du bon saucisson qu'à Lyon.

Mon entière gratitude va à Pierre Henri Gouyon qui a toujours veillé paternellement à l'avancement de mes travaux scientifiques. Je le remercie pour l'aide qu'il m'a apportée tout au long de ce travail, ainsi que pour le temps qu'il a consacré à la lecture et à la critique de ce manuscrit.

Je remercie Chris Gliddon, Raymond Jean et Vincent Labeyrie d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements vont aux chercheurs du Laboratoire de Génétique Ecologique de Lille pour leurs collaborations sympathiques et les nombreuses discussions que nous avons eues. Je mentionnerais Monique Acheroy, Véronique Boutin, Brigitte Caron, Joël Cuguen, Jean Delay, Christophe Destombe, Alexis Ducouso, Daniel Petit, Pierre Saumitou-Laprade et Alida Youssef.

Je voudrais remercier les personnes de l'I.B.E.A.S. de Pau avec lesquelles la collaboration a été fructueuse et en particulier Martine Hossaert pour son aide morale et pour toutes les discussions passionnantes que nous avons eues, dans le travail et par ailleurs.

Je voudrais remercier les personnes sans qui ce travail n'aurait pu être présenté aujourd'hui, Michèle Maetie, Raymond Maerten, Florence Petit et Bernard Plancq qui ont assumé tous les aspects techniques.

Enfin j'aimerais remercier ma famille et mes amis pour le soutien moral qu'ils m'ont apporté. Je pense à Jean Marc Labrosse, Francis Lambert, Isabelle Olivieri, Christophe Destombe, Denis Couvet, Joël Cuguen, Véronique Boutin, Brigitte Caron, Alida Youssef...

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
REFERENCES	13
CHAPITRE I. POSITION SYSTEMATIQUE DES DEUX ESPECES ETUDIEES	17
QUELS SONT LES BONS CRITERES POUR DIFFERENCIER DES ESPECES AFFINES ? Valéro M. et Hossaert M., en prép.....	19
INTRODUCTION	19
MATERIEL ET METHODES	25
RESULTATS	30
DISCUSSION	50
REFERENCES	57
CHAPITRE II. ALLOCATION DES RESSOURCES: BALANCE MULTIPLICATION VEGETATIVE <u>VS</u> REPRODUCTION SEXUEE ET FONCTION MALE <u>VS</u> FONCTION FEMELLE	61
2-1 SUIVI DANS LE TEMPS DE DEUX TRANSECTS	65
VEGETATIVE PROPAGATION AND SEXUAL REPRODUCTION IN TWO PERENNIAL <u>LATHYRUS</u> SPECIES (Hossaert M. et Valéro M. 1986, Kaul A.K., Combes D. (eds) Lathyrus and lathyrism Colloque Lathyrus Pau).....	67
INTRODUCTION	67
STUDY SITES AND METHODS	67
RESULTS	68
DISCUSSION	69
CONCLUSION	72
REFERENCES	75
2-2 ETUDE DES CARACTERISTIQUES REPRODUCTRICES DES DEUX ESPECES	77
COMPARAISON DU SUCCES REPRODUCTEUR DE DEUX ESPECES AFFINES DE <u>LATHYRUS</u> : <u>L. LATIFOLIUS</u> ET <u>L. SYLVESTRIS</u> (Valéro M. et Hossaert M., en prép.).....	79
INTRODUCTION	79
MATERIEL ET METHODES	85
RESULTATS	89
DISCUSSION	105
REFERENCES	111

2-3 ETUDE DE LA POSITION DES GRAINES DANS LES FRUITS	115
EFFECT OF OVULE POSITION IN THE POD ON PATTERNS OF SEED FORMATION IN TWO SPECIES OF <u>LATHYRUS</u> (LEGUMINOSAE: PAPILIONOIDEAE) (Valéro M. et Hossaert M., à paraître dans American Journal of Botany).....	
ABSTRACT	119
INTRODUCTION	121
MATERIAL AND METHODS	122
RESULTS	129
DISCUSSION	151
CONCLUSION	161
LITERATURE CITED	163
CHAPITRE III. ETUDE DU REGIME DE LA REPRODUCTION	169
3-1 ETUDE DES CROISEMENTS CHEZ <u>L. LATIFOLIUS</u>	173
IS THERE A POLYMORPHISM IN THE BREEDING SYSTEMS OF <u>LATHYRUS LATIFOLIUS</u> ? (Valéro M. et al., 1986, Kaul A.K. Combes D. (eds) Lathyrus and lathyrism, Colloque Lathyrus Pau).....	
INTRODUCTION	175
MATERIAL AND METHODS	175
RESULTS	177
DISCUSSION	183
CONCLUSION AND SUMMARY	186
REFERENCES	187
3-2 ETUDE DES CROISEMENTS CHEZ LES DEUX ESPECES	189
ETUDE DES CROISEMENTS, DE LA VIABILITE POLLINIQUE ET DE LA RECEPTIVITE STIGMATIQUE CHEZ LES DEUX ESPECES	
INTRODUCTION	191
MATERIEL ET METHODES	192
RESULTATS	197
DISCUSSION ET CONCLUSION	205
REFERENCES	209
ANNEXE A : DIFFERENTS TYPES DE CROISEMENTS EFFECTUES SUR LES PLANTES DES DEUX ESPECES	211
3-3 ETUDE DE LA STRUCTURE GENOTYPIQUE DES POPULATIONS.....	215
STRUCTURE SPATIALE ET REGIME DE LA REPRODUCTION CHEZ DEUX ESPECES DE LEGUMINEUSES: <u>L.LATIFOLIUS</u> ET <u>L. SYLVESTRIS</u> (Valéro M. et al., en prép.)	
INTRODUCTION	217
MATERIEL ET METHODES	223
RESULTATS	233
DISCUSSION	257

REFERENCES	269
ANNEXE B : CARTOGRAPHIE DES DIFFERENTES POPULATIONS ETUDIEES	275
CONCLUSION GENERALE	297
REFERENCES	309
ANNEXES	313
ANNEXE 1 : DIFFERENCES IN POPULATION BIOLOGY WITHIN THE <u>LATHYRUS SYLVESTRIS</u> GROUP (Leguminosae : Papilionaceae), Hossaert M. & Valéro M., 1985, Haeck J., Woldendorp J. W. (eds), Structure and functioning of plant population, vol.2. PUDOC, Wageningen	
ANNEXE 2 : ALLOCATION DES RESSOURCES CHEZ DEUX ESPECES DE LEGUMINEUSES <u>LATHYRUS LATIFOLIUS</u> ET <u>LATHYRUS SYLVESTRIS</u> . Valéro et al., 1986, Coll. Nat. CNRS, Biologie des Populations".	
ANNEXE 3 : <u>BRUCHUS AFFINIS</u> AND THE FLOWERS OF <u>LATHYRUS LATIFOLIUS</u> : AN EXAMPLE OF THE COMPLEXITY OF RELATIONS BETWEEN PLANTS AND PHYTOPHAGOUS INSECTS. Bashar A. et al., 1987, Labeyrie V., Fabres G., Lachaise D., (eds). Insects. Plants.	
ANNEXE 4 : DETERMINISME GENETIQUE DES SYSTEMES ENZYMATIQUES ETUDIES.	
ANNEXE 5 : CONSOMMATION DES FLEURS PAR LES HERBIVORES.	

INTRODUCTION GENERALE

Le système de la reproduction détermine la manière selon laquelle les gamètes s'associent pour constituer le zygote et plus généralement la manière selon laquelle l'information génétique est transmise d'une génération à l'autre, au sein d'une population et même de l'espèce. Il est donc fortement soumis à la sélection et de ce fait, devrait être peu variable au moins à l'intérieur d'une même espèce. Or les plantes présentent une remarquable diversité dans leur système de reproduction (Darwin, 1877; Fryxell, 1957 et Bawa and Beach, 1981) allant de l'autogamie (où l'individu se croise avec lui-même, transmettant ainsi la totalité de ses gènes à sa descendance) jusqu'à l'allogamie préférentielle (croisement avec un autre individu, de telle sorte que seule la moitié du génome est transmise à la descendance). Toute une série de mécanismes morphologiques (hétérostylie, chasmogamie, cléïstogamie, monoécie, dioécie...) et temporels (protandrie, protogynie) influencent le niveau d'allofécondation et permettent dans certain cas le maintien d'un régime de reproduction mixte (un mélange d'autofécondation et d'allofécondation) à l'intérieur d'une même espèce.

Le maintien de l'allogamie ou d'un régime de reproduction mixte est une des questions majeures qui se pose aux évolutionnistes. C'est en fait un problème similaire à celui du maintien du sexe dans l'évolution (Williams, 1975; Maynard-Smith 1978 et 1986). La question est de comprendre pourquoi un mécanisme comme le sexe ou la fécondation croisée, présentant un

désavantage de deux pour les individus qui le possèdent (car ils ne transmettent que la moitié de leur gènes à leur descendants) ait pu se répandre dans la majorité des espèces alors que les individus asexués ou autoféconds présentent l'avantage de transmettre la totalité de leurs gènes à leur descendants? Ce coût génétique de 2 a été appelé coût de la méiose (par comparaison des organismes sexués et asexués, Williams 1975) et coût de l'allofécondation en ce qui concerne les plantes autogames et allogames (Maynard-Smith, 1978; Uyenoyama, 1986). Cependant le coût de la méiose diffère du coût de l'allofécondation par le fait que les gènes délétères sont éliminés par la recombinaison méiotique chez les autogames alors qu'ils s'accumulent chez les organismes à reproduction asexuée. Il semble donc qu'il doit exister un bénéfice au sexe ou à l'allofécondation qui compense le coût génétique. La recherche de ce bénéfice a suscité un nombre de travaux et de publications considérable donnant naissance à des courants d'idées différents et considérés comme contradictoires. Pour résumer, des divergences existent quant à la définition de l'unité de sélection qui ne peut être que l'individu (ou plutôt le gène) dans l'hypothèse de la sélection individuelle alors que dans l'hypothèse alternative (sélection de groupe) la sélection pourrait opérer au niveau d'un groupe comme la population ou l'espèce. Ainsi, l'hypothèse la plus ancienne sur le maintien du sexe fait intervenir des forces agissant à long terme dans un contexte de sélection de groupe: elle suppose que le sexe en favorisant la recombinaison, permettrait une évolution plus rapide des populations et notamment une plus grande survie de

l'espèce en cas de changements du milieu. On remarque, que le concept d'évolution darwinienne s'applique non plus à l'individu mais à la population qu'on prend comme entité. Cette explication du maintien du sexe est fallacieuse car on ne voit pas comment il est possible qu'un caractère qui pourrait être avantageux dans le futur ait été sélectionné alors qu'il présente un désavantage immédiat de 2 pour l'individu qui le porte. Il doit donc exister des forces agissant à court terme. Gouyon et al. (1987) ont effectué récemment une revue des différentes hypothèses rendant compte du maintien du sexe. Ils montrent que différents auteurs ont trouvé différentes raisons conférant un avantage à court terme au sexe suivant les espèces étudiées. Ces études montrent qu'il existe une diversité de causes agissant à court terme (sélection individuelle) amenant toutes au même résultat: le maintien du sexe, mais elles ne permettent pas d'invoquer une causalité générale applicable à l'ensemble des espèces.

Etant donné qu'aucune des deux théories précédentes n'est capable de rendre compte de façon satisfaisante du maintien du sexe, Gouyon et al. (1987) émettent une nouvelle hypothèse: au cours de l'évolution, la fabrication des espèces pouvait ou pouvait ne pas leur conférer un avantage à court terme du sexe. Les espèces qui bénéficiaient de cet avantage à court terme ont eu incidemment un avantage à long terme. La plupart des autres ont disparu. Ils supposent donc que la sélection de groupe a trié les groupes dans lesquels la sélection individuelle avait un effet bénéfique. La sélection de groupe dirige la voie dans laquelle la sélection individuelle pourra agir. Ils insistent bien sur les différences entre cette nouvelle définition de la

sélection de groupe et la précédente. Ici, ils tiennent compte de la "hiérarchie des causes qui est un élément essentiel de l'évolution" (Gouyon et al., 1987). Gouyon and Gliddon (1987) expliquent leur nouvelle théorie de l'information génétique et de l'évolution des avatars de la manière suivante: "The time constants often differ considerably at different levels in the hierarchy, that is, there is a type of priority with the shortest time constants being associated with the lower levels of the hierarchy. In order to become fixed at a particular level, a trait must first have been successful at all lower levels in the hierarchy and, in order to be maintained, it must not be eliminated at any higher level".

Ainsi, pour comprendre la variation du régime de la reproduction à l'intérieur d'une espèce, il faudrait s'intéresser aux causes proximales mais aussi aux causes finales qui peuvent expliquer le maintien d'un polymorphisme. La plupart des modèles effectués sur le maintien de l'allofécondation prédisent que les individus allogames doivent avoir un avantage immédiat pour contrebalancer le coût de l'allofécondation (Fisher, 1941; Lloyd, 1979; Lande and Schemske, 1985). Ces auteurs montrent que l'allogamie ne se maintient dans les populations que si les descendants issus d'autofécondation présentent une dépression de consanguinité compensant le coût de l'allofécondation. En plus du coût de l'allofécondation, d'autres facteurs sélectifs montrent un avantage à court terme à l'autofécondation tels que le manque de pollinisateurs, la colonisation de nouveaux sites à partir d'un faible nombre d'individus, une forte sélection pour

maintenir des adaptations locales (Stebbins, 1957; Antonovics, 1968; Ghiselin, 1969; Jain 1976). Lande and Schemske (1985) et Schemske and Lande (1985) ont étudié l'évolution de la dépression de consanguinité avec le taux d'autofécondation. Ils en concluent que seules 2 stratégies sont stables: d'une part l'évolution vers l'autogamie ou d'autre part le maintien de l'allogamie et que l'existence d'une stratégie mixte proviendrait du fait qu'on n'est pas à l'équilibre. Le problème est de savoir si le polymorphisme est maintenu au niveau de la population ou à un niveau supérieur de la hiérarchie. Les auteurs reconnaissent qu'ils n'ont pas pris en compte l'hypothèse d'une sélection de groupe alors que la considération des deux niveaux individu et groupe, pourrait expliquer un polymorphisme pour le régime de la reproduction. Ils prennent comme exemple une espèce qui serait plutôt autogame (avec une dépression de consanguinité $< 50\%$), la sélection individuelle dans les populations favoriserait l'autofécondation alors que lors des colonisations de nouveaux sites, les individus les plus hétérozygotes (issus d'allofécondation) auraient un avantage. Couvet et al. (1985) ont montré que certains problèmes de génétique des populations ne pouvaient s'expliquer si on se cantonnait au niveau population. En prenant deux exemples, le polymorphisme pour la dispersion des graines chez une espèce annuelle et le polymorphisme pour le taux de femelles chez une espèce gynodioïque, ils ont montré que les deux caractères étudiés (dispersion et présence de femelles) ne pouvaient pas se maintenir au niveau de la population où ils ne sont pas constamment favorisés; leur présence ne correspond donc pas à un équilibre. Ils sont toutefois favorisés lors de la

fondation de nouvelles populations. De ce fait, leur maintien ne peut s'expliquer qu'à l'échelle de la métapopulation (Gill, 1978).

Le présent travail se situe dans le cadre de l'évolution de la balance autogamie vs allogamie. Il consiste en une étude de la variabilité du régime de la reproduction au niveau intraspécifique et interspécifique, entre espèces affines. Un tel polymorphisme a rarement été abordé expérimentalement excepté pour des espèces chez lesquelles un polymorphisme floral rend potentiellement envisageable un polymorphisme pour le régime de la reproduction. Un tel polymorphisme est moins évident au sein d'espèces hermaphrodites bien que sous l'influence de la domestication, l'évolution fréquente de l'allogamie vers l'autogamie témoigne d'une variabilité génétique intraspécifique importante. L'existence d'une telle variabilité a été recherchée, in situ, chez deux espèces affines de légumineuses pérennes: Lathyrus latifolius L. et Lathyrus sylvestris L.. Ces deux espèces sont hermaphrodites et pollinisées par les insectes. L'intérêt de travailler sur des espèces affines réside dans le fait que les résultats pourront être interprétés à trois niveaux hiérarchiques au moins: intra-population, inter-populations et inter-spécifiques, la comparaison inter-spécifique n'étant intéressante que si l'on s'adresse à des espèces suffisamment proches.

Le but du présent travail est d'analyser au travers de l'étude de quelques populations, comment la balance autogamie vs allogamie pouvait être distribuée afin de préciser à quel modèle

évolutif elle pourrait correspondre.

Le premier chapitre (Valéro et Hossaert, en prep., chapitre 1) fera le point sur la position systématique des deux espèces étudiées qui sont morphologiquement très semblables. Nous déterminerons quels sont les caractères qui peuvent le plus facilement les discriminer.

Dans le deuxième chapitre qui concerne l'étude de la reproduction sexuée sous différents aspects, les diverses forces sélectives susceptibles d'agir sur l'évolution du régime de la reproduction ont été étudiées: l'allocation des ressources dans la reproduction sexuée et la multiplication végétative, l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle, la probabilité de pollinisation et de fécondation, la démographie des populations et la forme des plantes.

- Une discussion préliminaire sur les caractéristiques biologiques de ces deux espèces en relation avec leur régime de la reproduction (Hossaert et Valéro, 1985, annexe 1) permet de définir leurs caractéristiques de cycle de vie ("life history traits").

- L'importance de la reproduction sexuée par rapport à la multiplication végétative chez les deux espèces est discutée (Hossaert et Valéro, 1986, chapitre 2-1). Il s'agit d'un suivi (dans le temps et dans l'espace) de l'apparition et la survie de tiges d'origine sexuée (germinations) ou végétative ("repousses") dans une population de chacune des deux espèces. Cette étude nous renseigne aussi sur la démographie des deux espèces.

- L'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle (Valéro et al., 1987, annexe 2) et la réussite de la reproduction (Valéro et Hossaert, en prep, chapitre 2-2) sont comparées aux 3 niveaux: intra-population, inter-populations et inter-spécifiques. Des différences dans l'architecture des plantes sont mises en évidence, leur effet éventuel sur le régime de la reproduction est discuté.

- L'étude de la réussite de la fécondation est examinée dans le compartiment gousse (Hossaert et Valéro, in press, chapitre 2-3). Le fruit des légumineuses est une structure linéaire dans laquelle la position des graines peut nous renseigner sur l'importance des effets mâle et femelle lors de la fécondation et du développement du fruit.

Le troisième chapitre concerne l'étude du régime de la reproduction proprement dit. Le régime de la reproduction a été estimé de deux manières:

-D'une part, par l'étude de croisements et d'autofécondations contrôlés en terrain expérimental (Valéro et al., 1986, chapitre 3-1) et en populations naturelles (chapitre 3-2). Ces résultats sont discutés en relation avec le comportement des pollinisateurs (Valéro et al., 1987, annexe 2 et Bashar et al., 1987, annexe 3).

-D'autre part, par l'approche conjointe de l'étude de la structure génotypique, de son organisation spatiale au sein des populations naturelles et de l'analyse des descendance maternelles issues de pollinisation libre (Valéro et al., en prep., chapitre 3-3).

Les variations du régime de la reproduction sont interprétées aux différents niveaux de l'analyse et discutées dans un contexte métapopulationnel.

Finalement, une conclusion générale, servira de synthèse regroupant les points importants mis en évidence dans cette étude.

Cette thèse se présente donc sous la forme d'une suite d'articles publiés ou en préparation. Cette présentation traduit le fait que ce travail n'est pas seulement un ouvrage personnel mais résulte de la collaboration avec des étudiants en DEA ou en thèse au laboratoire (Alida Youssef et Annick Fauquembergue) ou à l'IBEAS de Pau (Anissa Chaib et Danielle Magda). D'autre part, il traduit aussi une collaboration étroite avec les chercheurs du laboratoire de génétique écologique de Lille. Enfin, cette recherche a été menée dans l'harmonie du "couple" avec Martine Hossaert chercheur à l'IBEAS de Pau comme la signature des publications en témoigne.

REFERENCES

- ANTONOVICS J.. 1968: Evolution in closely adjacent plant populations. V. Evolution of self-fertility. *Heredity*, 23: 219-238.
- BASHAR A., FABRES G., HOSSAERT M., VALERO M. & V. LABEYRIE. 1987: Bruchus affinis and the flowers of Lathyrus: an exemple of the complexity of relations between plants and phytophagous insects. In *Insects-Plants: Proceedings of the 6th. International Symposium on Insect-Plant Relationships* (Pau 1986), V. Labeyrie, G. Fabres and D. Lachaise (editors), W. Junk Publishers: 189-194.
- BAWA K.S. & J.H. BEACH. 1981: Evolution of sexual systems in flowering plants. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 68: 254-274.
- COUVET D., GOUYON P.H., KJELLBERG F., OLIVIERI I., POMENTE D. & G. VALDEYRON. 1985: De la métapopulation au voisinage: la génétique des populations en déséquilibre. *Gen. Sel. Evol.*, 17: 407-414.
- DARWIN C.. 1877: The effects of cross- and self-fertilisation in the vegetable kingdom. D. Appleton, New York, New York, U. S. A.
- FISHER R.A.. 1941: Average excess and average effect of a gene substitution. *Ann. Eugen.*, 11: 53-63.
- FRYXELL P.A.. 1957: Mode of reproduction in higher plants. *Bot. Rev.* 23: 135-233.
- GHISELIN M.T.. 1969: The evolution of hermaphroditism among animals. *Q. Rev. Biol.*, 44: 189-208.
- GILL D.E.. 1978: The metapopulation ecology of the red-spotted newt, Notophtalmus viridiens (Rafinesque). *Ecological monographs*, 48: 145-166.
- GOUYON P.H. & C. J. GLIDDON. 1987: Genetics of information and the evolution of avatars. In press in *Population Biology and Evolution*, G. de Jong (editor), Springer Verlag, Berlin.
- GOUYON P.H., GLIDDON C.J. & D. COUVET. 1987: The evolution of reproductive systems: a hierarchy of causes. In press in *Proceedings of British Ecological Society Meeting*, Brighton, April 1987.
- HOSSAERT M. & M. VALERO. 1985: Differences in population biology within the Lathyrus sylvestris group (Leguminosae: Papilionaceae). In *structure and functioning of plant population*, vol. 2. J. Haack and J.W. Woldendorp (editors). PUDOC, Wageningen: 65-75.

- HOSSAERT M. & M. VALERO. 1986: Vegetative propagation and sexual reproduction in two perennial Lathyrus species. In Lathyrus and Lathyrism, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985. A.K. Kaul and D. Combes (editors): 175-183.
- HOSSAERT M. & M. VALERO. In press: Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in two species of Lathyrus (Leguminosae: Papilionaceae). Accepté dans Amer. J. Bot.
- JAIN S.K.. 1976: The evolution of inbreeding in plants. Ann. Rev. Ecol. Syst., 7: 469-495.
- LANDE R. & D.W. SCHEMSKE. 1985: The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. Evolution, 39: 24-40.
- LLOYD D.G.. 1979: Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. Amer. Nat., 113: 67-79.
- MAYNARD SMITH J.. 1978: The Evolution of Sex. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K..
- MAYNARD SMITH J.. 1986: The Problems of Biology. Oxford University Press, Oxford New York.
- SCHEMSKE D.W. & R. LANDE. 1985: The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. Evolution, 39: 41-52.
- STEBBINS L.G.. 1957: Self-fertilization and population variability in the higher plants. Amer. Natur., 91: 337-354.
- UYENOYAMA M.K.. 1986: Inbreeding and the cost of meiosis: The evolution of selfing in populations practicing biparental inbreeding. Evolution, 40: 388-404.
- VALERO M., YOUSSEF A., VERNET Ph. & M. HOSSAERT. 1986: Is there a polymorphism in the breeding system of Lathyrus latifolius? In Lathyrus and Lathyrism, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985, A.K. Kaul and D. Combes (editors): 105-116.
- VALERO M., HOSSAERT M., CARON B., YOUSSEF A. & Ph. VERNET. 1987: Allocation des ressources chez deux espèces de Légumineuses: Lathyrus latifolius et Lathyrus sylvestris. In Colloque National du C.N.R.S. "Biologie des Populations", J.M. Legay (éditeur) Univ. C. Bernard, Lyon, France: 141-148.
- VALERO M. & M. HOSSAERT. En prep.: Quels sont les bons critères pour différencier des espèces affines? Chapitre 1.

VALERO M. & M. HOSSAERT. En prep: Comparaison du succès reproducteur de deux espèces affines de Lathyrus: L. latifolius et L. sylvestris. Chapitre 2-2.

VALERO M., J. CUGUEN, B. CARON, A. YOUSSEF, D. MAGDA & M. HOSSAERT. En prep.: Structure spatiale et régime de la reproduction chez deux espèces de légumineuses: L. latifolius et L. sylvestris. Chapitre 3-3.

WILLIAMS G.C.. 1975: Sex and Evolution. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ.

CHAPITRE 1

POSITION SYSTEMATIQUE DES DEUX ESPECES ETUDIEES

QUELS SONT LES BONS CRITERES POUR DIFFERENCIER DES ESPECES AFFINES?

Myriam VALERO et Martine HOSSAERT

INTRODUCTION

Les critères de classification utilisés par les taxonomistes reposent essentiellement sur la morphologie des organes reproducteurs et végétatifs des individus. Ces caractères morphologiques ont permis de différencier de grandes catégories (tribus et familles) et de retracer leur phylogénie par une "anatomie comparée". Ces caractères sont généralement très peu variables à l'intérieur de chaque catégorie car ils résultent de l'évolution d'une combinaison entre de nombreux gènes et se trouvent ainsi évolutivement canalisés (Stebbins, 1974), comme par exemple, la forme des fleurs spécifique des familles (légumineuses, orchidées, graminées ...). Bien que ce soient les mêmes processus qui sont à l'origine de la macro- et de la micro-évolution, l'éloignement temporel des époques de divergence entraîne une différence dans la canalisation des caractères. Ceux qui, fortement canalisés, s'avèrent utiles pour reconnaître les familles se révèlent fréquemment peu performants pour différencier des espèces d'un même genre car ils ont divergés depuis très longtemps.

L'étude de l'évolution montre que ce sont les critères reproducteurs qui sont les plus pertinents pour différencier les espèces. En effet, il ne peut y avoir spéciation que si les individus sont isolés reproductivement. Mayr (1970) a suggéré que l'évolution de barrières reproductives ne pouvaient se produire que par un isolement par la distance, alors que d'autres auteurs (Jain and Bradshaw, 1966; Antonovics 1968) ont montré qu'elles pouvaient apparaître entre les individus d'une même population lorsque la sélection divergente était suffisamment forte. De plus, l'histoire de la systématique révèle l'importance des caractères reproducteurs comme critères de classification. Plusieurs classifications du règne végétal ont été proposées avant celle de Linné. Pendant l'antiquité, Dioscoride avait suggéré une classification des plantes selon leurs propriétés médicales et Théophraste selon leur taille. Pendant la Renaissance plusieurs auteurs ont effectué un classement des plantes par ordre alphabétique. Ces différents essais ont été balayés par la classification de Linné qui repose sur le système sexuel des végétaux (étamines et pistils). Linné a été le premier à utiliser systématiquement les critères reproducteurs et ceux-ci occupent toujours une place prépondérante dans la systématique actuelle. Cependant, bien que les critères reproducteurs soient les plus fiables pour reconnaître les espèces, d'autres caractères doivent aussi être pris en considération. Ainsi chez la souris, Bonhomme et al. (1984) a montré grâce à l'utilisation de marqueurs génétiques (allozymes), que ce qu'on appelait Mus musculus est en réalité un ensemble de deux espèces sympatriques isolées génétiquement (Mus spretus et Mus musculus domesticus;

c'est seulement après avoir mis en évidence cet isolement génétique, qu'on remarqua que ces deux espèces se différenciaient très nettement par la taille de leur queue (Darviche, 1978; Darviche et Orsini, 1982). C'est en fait le principe de la coordination et de la subordination des caractères, adopté postérieurement à Linné par Jussieu qui semble être le principe de classification le plus satisfaisant. A posteriori, on s'aperçoit qu'il tient compte des pressions de sélection qui modifient de façon coordonnée un ensemble de caractères dont la combinaison peut être retenue par la mise en place de barrières d'isolement.

Nous avons abordé cette recherche de critères discriminants chez deux espèces affines de Lathyrus: L. latifolius L. et L. sylvestris L.. Dans le genre Lathyrus, environ 150 espèces ont été dénombrées (Allkin et al., 1983). La plupart des espèces sont diploïdes avec le même nombre de base de chromosomes ($x=7$). Elles sont distribuées principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et leur centre de diversification se trouve dans la région méditerranéenne (Allkin et al, 1985). La plus récente classification de ce genre a été publiée par Kupicha en 1983; Kupicha y distingue deux types de caractères taxonomiques: (1) des caractères principaux dont la variation semble être d'une importance taxonomique particulière et qui servent de base à sa classification distinguant 13 groupes d'espèces (sections) au sein du genre et (2) des caractères secondaires qui varient plus ou moins indépendamment des précédents et qui permettent suivant les groupes de différencier les espèces affines.

Tous les caractères principaux qu'il décrit concernent la morphologie de la plante: l'anatomie des stipules, des noeuds, des fleurs et des fruits, le nombre de folioles par feuille et le nombre de fleurs par inflorescence, la nervation et la structure de l'épiderme des feuilles. Le type de nervation (parallèle ou pennée) et le nombre de folioles représentent les deux critères majeurs servant de clé à la systématique actuelle (Simola, 1968 et Kupicha, 1983). L'évolution dans le genre Lathyrus se ferait dans le sens d'une nervation pennée vers une nervation parallèle et simultanément vers une diminution du nombre de folioles.

Les caractères secondaires qu'il décrit sont de trois types:

- qualitatifs: présence ou absence de vrilles,
- quantitatifs: surtout des caractères de taille
(chromosomes, pollen et graines),
- biochimiques: (couleur des fleurs et acides aminés
secondaires (Bell, 1962)).

Tous les caractères employés par Kupicha ne permettent pas de différencier les deux espèces affines: L. latifolius et L. sylvestris. Ces deux espèces sont morphologiquement très semblables. Ce sont des plantes grimpantes de 1 à 2m de haut assez touffues occupant des habitats similaires. On les trouve essentiellement sur des terrains calcaires et caillouteux: éboulis de montagne, bords des routes et bords des voies de chemin de fer. Cependant, elles se différencient par leur aire de distribution géographique: L. sylvestris se trouve dans toute l'Europe septentrionale, peu dans le bassin méditerranéen mais aussi bien en plaine qu'en montagne (jusqu'à des altitudes de 1700 m.); L. latifolius est très fréquent dans la région

méditerranéenne (la limite septentrionale de son aire de répartition est situé dans le Nord de la France) et rare à des altitudes élevées. La répartition des populations dans le paysage est très aggrégative. En dépit d'habitats apparemment très similaires, on trouve très rarement les deux espèces côte à côte et le nombre d'individus constituant un isolat bien différencié est en général assez faible (variant d'une dizaine d'individus à deux ou trois milliers au maximum).

On peut donc se demander si on a bien affaire à deux espèces ou bien s'il s'agit de deux écotypes. Les ressemblances morphologiques entre ces deux espèces sont tellement importantes qu'elles ont été classées comme deux sous-espèces par certains auteurs (Fournier, 1946 et Foury, 1954). Elles semblent cependant isolées reproductivement car les croisements interspécifiques se révèlent en général négatifs (Senn, 1937; Davies, 1957; Chaib et al., 1987 et Valéro, non publié).

Les critères retenus par les systématiciens pour différencier ces deux espèces sont essentiellement des différences de taille et de couleur de fleurs (Coste, 1901; Bonnier, 1934; Fournier, 1946; Foury, 1954; Clapham et al., 1962; Tutin et al., 1968 et Delanghe et al., 1978): L. latifolius a des tiges, stipules, feuilles, fleurs, gousses et nombre de fleurs par inflorescence plus grands ou plus larges que L. sylvestris; la couleur des fleurs de L. latifolius varie du rose pourpre au blanc et celle de L. sylvestris du rose violet au rose pourpre. Ces différents caractères ne discriminent pas strictement les deux espèces car même si les moyennes varient du simple au double, les intervalles

de confiance se recouvrent largement (Tutin et al., 1968 et Delanghe, 1978). Nos observations montrent aussi que la variation de ces caractères entre populations du Nord et populations du Sud de la France est très grande, et, que sur la base de ces critères, un individu appartenant à l'espèce L. latifolius récolté dans une population du Sud est identique à une plante de l'espèce L. sylvestris récoltée dans le Nord de la France.

Il nous semble donc important de vérifier si ces deux espèces constituent bien deux entités reproductivement isolées. Les allozymes sont de bons marqueurs de flux géniques et permettront de répondre à cette question. Mais les allozymes sont un outil fastidieux lorsqu'il s'agit de déterminer des espèces sur le terrain. Il est donc nécessaire de trouver des caractères morphologiques simples qui permettent une identification rapide et sans ambiguïté. Cette recherche portera prioritairement sur les caractères impliqués dans la reproduction car comme nous l'avons suggéré plus haut, ce sont ceux qui sont les plus fiables pour mettre en évidence des différences inter-spécifiques.

MATERIEL ET METHODES

Alors qu'il est facile pour des personnes travaillant régulièrement sur des espèces morphologiquement proches de les reconnaître parce qu'elles les connaissent bien et qu'elles ont intégré un ensemble de critères caractéristiques de leur forme générale, il est généralement difficile, pour quelqu'un qui n'a jamais travaillé sur ces espèces de les différencier. Notre démarche a donc consisté à étudier plusieurs populations que nous pouvions classer, à priori (grâce à notre "expérience"), dans l'une ou l'autre des deux espèces, et à tester, à postériori, la validité des caractères mesurés sur ces deux groupes de populations.

1) STATIONS ETUDIEES

Plusieurs populations naturelles réparties du Nord au Sud de la France ont été étudiées pour les deux espèces (tableau 1): 4 populations de L. latifolius (L1 à L4), 8 populations de L. sylvestris (S1 à S8) et une station où on trouve les deux espèces en contact, L. latifolius (population CL) cultivé dans un jardin entouré d'une population naturelle de L. sylvestris (CS) avec présence d'individus au phénotype intermédiaire (population CI). La plupart de ces populations occupent des habitats similaires (tableau 1): on trouve généralement les deux espèces sur des terrains calcaires, caillouteux et pentus. Certaines populations diffèrent cependant fortement par leur habitat particulier. Il

TABLEAU 1 : Différentes caractéristiques des populations étudiées

Espèces	Populations	Situations géographiques	Caractéristiques de l'habitat	Altitude	Années	Nb. d'individus étudiés	
<u>L.latifolius</u>	L1	Avion (Nord de la France)	Terril	50 m	1984 (L1-84) 1985 (L1-85)	25 10	
	L2	Doué La Fontaine (centre de la France)	Bordure de vignes (terrain calcaire)	50 m	1983 (L2-83) 1985 (L2-85)	39 13	
	L3	Lascque (Sud de la France)	Bordure d'une chesnaie acide	160 m	1984 (L3-84)	29	
	L4	Cadillon (Sud de la France)	Pelouse calcaire	160 m	1983 (L4-83) 1984 (L4-84)	34 21	
<u>L.sylvestris</u>	S1	Pecquencourt (Nord de la France)	Terril	20 m	1984 (S1-84) 1985 (S1-85)	14 40	
	S2	Boulonnais (Nord de la France)	Pelouse calcaire	100 m	1984 (S2-84)	23	
	S3	Helfaut (Nord de la France)	Carrière calcaire	50 m	1984 (S3-84)	26	
	S4	Laruns (Sud de la France)	Sur le ravin en bor- dure d'un ruisseau	500 m	1983 (S4-83) 1984 (S4-84)	25 30	
	S5	Miguelou (Sud de la France)	éboulis	1700 m	1984 (S5-84)	33	
	S6	Ste Suzanne (Sud de la France)	Bord d'un champ de Maïs (terrain calcaire)	60 m	1984 (S6-84)	15	
	S7	Bilhères (Sud de la France)	Le long d'une route (sol caillouteux et argileux)	700 m	1984 (S7-84)	30	
	S8	Urδος (Sud de la France)	déblais d'une ancienne voie de chemin de fer	750 m	1986 (S8-86)	6	
Station où les 2 espèces sont en contact	<u>L.latifolius</u>	CL	Lessines (Belgique)	:Jardin au bord d'une :carrière calcaire	50 m	1985 (CL-85)	8
	Intermédiaires	CI	" "	même :Bord d'une carrière site : calcaire			
	<u>L.sylvestris</u>	CSa	" "	:Bord d'une carrière : calcaire		1985 (CI-85)	5
	<u>L.sylvestris</u>	CSb	" "	Carrière calcaire (à environ 1km de CL CI et CSa)		1985 (CSa-85)	10
						1985 (CSb-85)	18

s'agit des stations L1 et S1 du Nord de la France, situées sur des terrils caractérisés par un fort déséquilibre Mg/Ca et de la population S5 se trouvant dans les Pyrénées à une altitude élevée (1700m).

Certaines populations ont été suivies deux années de suite avec un échantillonnage variant de 10 à 40 individus par population (tableau 1).

2) ETUDE DES ALLOZYMES

Quatre systèmes enzymatiques (GOT, LAP, EST et ACPH) ont été révélés après électrophorèse sur gel d'acrylamide (Gasquez et Compoint, 1976). Le déterminisme génétique de 5 loci (GOT1, GOT2, LAP1, EST1 et ACPH1) a été effectué au laboratoire par l'étude de descendance de croisements contrôlés (cf. annexe 4).

3) ETUDE DES CARACTERES IMPLIQUES DANS LA REPRODUCTION

La récolte des individus a été effectuée dans les populations naturelles à la fin de la floraison quand les plantes portaient des gousses. Sur ces individus, il a été dénombré:

- le nombre de tiges secondaires (T2): ramification de 1er ordre sur la tige principale (TP),
- le nombre de tiges tertiaires (T3): ramification de 2ème ordre sur la tige principale, c'est-à-dire portées par les tiges secondaires,
- le nombre d'inflorescences,
- le nombre de boutons floraux (au moment de la récolte, les

boutons n'étaient plus présents, mais il était possible de les compter car ils laissent une cicatrice sur l'inflorescence),

- le nombre de gousses,
- le nombre de graines,
- le nombre d'ovules (en ouvrant les gousses, il est très facile, à ce stade, de dénombrer le nombre d'ovules en faisant la somme des ovules non fécondées, des graines avortées et des graines mûres (Hossaert et Valéro, in press., cf. chapitre 2-3).

Le nombre de grains de pollen par fleur a été compté pour certains individus. Pour cela, les fleurs ont été récoltées dans les populations avant l'anthèse. Les 10 étamines furent disséquées dans 3ml d'une solution NaCl (0.3M)-Tween 20 (0.2%). Le dénombrement des grains de pollen a été effectué automatiquement après passage dans un Coulter-Counter (compteur à hématies) d'après la méthode de Pechan et Webster (1985).

Ces différents paramètres ont d'abord été étudiés séparément par une analyse de variance hiérarchisée à 3 niveaux: années, populations et espèces (Sokal et Rolf, 1981). Puis, tous ces paramètres ont été pris en compte conjointement dans une analyse discriminante (Dagnelie, 1975), en utilisant les populations comme critère de classification, les deux espèces étant confondues. Les deux approches univariée et multivariée ne portent pas exactement sur les mêmes variables. En effet, lors de l'étude univariée, nous avons choisi de travailler sur des

variables construites de telle sorte qu'elles soient d'un abord le plus immédiat possible dans des conditions de terrain. Pour l'étude multivariée, il nous fallait travailler sur des variables à priori indépendantes, nous avons donc dû en transformer certaines.

L'analyse univariée a donc porté sur les 8 variables suivantes:

- a - nombre de tiges secondaires (T2) / tige principale (TP)
- b - nombre de tiges tertiaires (T3) / tige principale (TP)
- c - nombre d'inflorescences / tige principale (TP)
- d - nombre de boutons floraux / inflorescence
- e - nombre de gousses / inflorescence
- f - nombre d'ovules / gousse
- g - nombre de graines / gousse
- h - nombre de grains de pollen par fleur / nbre d'ovules par fleurs

Les 7 variables indépendantes suivantes ont été étudiées dans l'analyse multivariée:

- 1 - nombre de T2 / TP
- 2 - nombre de T3 / T2 (indépendante de la variable 1)
- 3 - nombre d'inflorescences / ramifications (indépendante des variables 1 et 2)
- 4 - nombre de boutons floraux / inflorescence
- 5 - nombre de gousses / bouton floral (indépendante de la variable 4)

6 - nombre d'ovules/gousse

7 - nombre de graines/ovule (indépendante de la variable 6)

RESULTATS

1) ETUDE DES ALLOZYMES

Pour la plupart des loci étudiés, les mêmes allèles sont présents chez les deux espèces. Il n'existe pas de système diagnostique c'est-à-dire, un système enzymatique présentant deux bandes à des niveaux différents, l'une étant fixée chez la première espèce et l'autre chez la deuxième espèce. Il existe cependant certains allèles discriminants (tableau 2). C'est le cas des allèles 4 et 5 du locus LAP1; de l'allèle 2 du locus GOT1 et de l'allèle 5 du locus ACPH1 qui n'ont été observés que chez L. sylvestris; l'allèle 2 du locus EST1 et l'allèle 2 du locus GOT2 se trouvent uniquement dans les populations de L. latifolius.

TABLEAU 2 : Fréquences alléliques aux différents loci étudiés chez les deux espèces
(moyenne des fréquences observées sur 2 populations L. latifolius et 5 populations L. sylvestris)

Loci	LAP1				EST1			GOT1		GOT2			ACPH1			
Allèles	1	2	4	5	1	2	5	1	2	1	2	3	1	2	3	5
<u>L.latifolius</u> (n)	0.43	0.57	-	-	0.15	0.84	0.01	1.00	-	0.62	0.38	-	0.70	0.25	0.05	-
		(185)				(179)		(206)			(195)			(133)		
<u>L.sylvestris</u> (n)	0.16	0.31	0.50	0.03	0.80	-	0.20	0.29	0.71	0.99	-	0.01	0.04	0.71	0.24	0.01
		(281)			(324)			(361)			(368)			(258)		

n : nombre total d'individus étudiés dans les 2 populations de L. latifolius et les 5 populations de L. sylvestris.



2) ETUDE DES PARAMETRES IMPLIQUES DANS LA REPRODUCTION

a) Etude univariée

- Le rapport pollen sur ovule (P/O):

Ce rapport a été mesuré dans 3 populations de L. latifolius et 3 populations de L. sylvestris (Valéro et al., 1987: cf. annexe 2, figure 2). Il permet de bien séparer les deux espèces: il est significativement plus élevé dans les populations de L. latifolius (P/O compris entre 3000 et 3500) que dans celles de L. sylvestris (P/O=2000).

- Les 7 autres variables impliquées dans la reproduction:

Les distributions de chacune des 7 variables (a à g, cf. matériel et méthode) dans les différentes populations étudiées sont données dans les figures 1 (1a à 1g respectivement). Les moyennes par espèce, calculées sur les différentes populations, et les tests de l'analyse de variance hiérarchisée, sont données tableau 3.

Ce tableau montre clairement que la variable la plus discriminante au niveau espèce est le nombre d'ovules par gousse (93% de la variance totale est expliquée par ce niveau). Les gousses des individus de L. latifolius contiennent en moyenne 19 ovules alors que celles de L. sylvestris n'en renferment que 12. Bien que l'analyse de variance montre que la différence entre

TABLEAU 3 : Moyennes et analyses de variances hiérarchisées à 3 niveaux (espèce, population, année) pour les 7 variables étudiées

Variables	Moyenne ^a latifolius	Coef. var. latifolius (%)	Moyenne ^a sylvestris	Coef. var. sylvestris (%)	F espèce	% variance espèce	F populations	% variance populations	F année	% variance année	% variance résiduelle intra-pop.
T2/TP	1.26±0.58	112	6.80±0.91	284	F(1,7)=19.55 **	50.77%	F(7,4)=3.32 n.s	8.98%	F(4,276)=3.32 *	4.08%	36.16%
T3/TP	0.22±0.14	152	3.02±1.23	93	F(1,7)=4.02 n.s	9.41%	F(7,4)=3.54 n.s	11.25%	F(4,276)=1.78 n.s	2.89%	76.44%
Inflo/TP	14.04±3.96	69	32.78±5.45	227	F(1,7)=6.77 *	17.39%	F(7,4)=3.06 n.s	9.81%	F(4,276)=2.13 n.s	3.79%	69.01%
Boutons/ Inflo	9.78±0.50	13	4.80±0.53	341	F(1,7)=24.82 **	76.09%	F(7,4)=7.19 *	13.06%	F(4,272)=7.87 ***	2.74%	8.11%
Gousses/ Inflo	0.77±0.23	75	0.28±0.09	116	F(1,7)=1.54 n.s	3.29%	F(7,4)=7.35 *	43.38%	F(4,272)=4.55 **	7.91%	45.41%
Ovules/ gousse	19.23±0.16	2	12.39±0.08	6	F(1,8)=176.76 ***	93.21%	F(8,5)=10.25 **	1.94%	F(5,270)=1.25 n.s	0.09%	4.77%
Graines/ gousse	4.74±0.95	49	3.69±0.34	28	F(1,8)=2.05 n.s	10.22%	F(8,5)=1.30 n.s	0%	F(5,266)=19.37 ***	51.76%	38.02%

^a : moyennes par espèce calculée sur les différentes populations étudiées erreur standard.

Coef. var.: coefficient de variation

TP : tige principale

T2 : tige secondaire

T3 : tige tertiaire

Inflo : Inflorescence

n.s : non significatif

* : significatif pour P<0.05

** : " " P<0.01

*** : " " P<0.001



FIGURES 1 : DISTRIBUTION DES DIFFERENTS CARACTERES ETUDIES
DANS CHACUNE DES POPULATIONS CHEZ LES DEUX
ESPECES



Figure 1a : Nombre de tiges secondaires par tige principale
dans les différentes populations

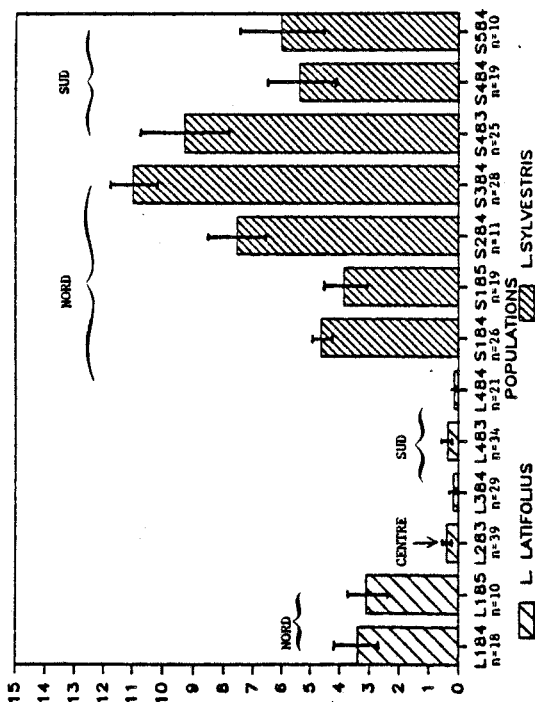
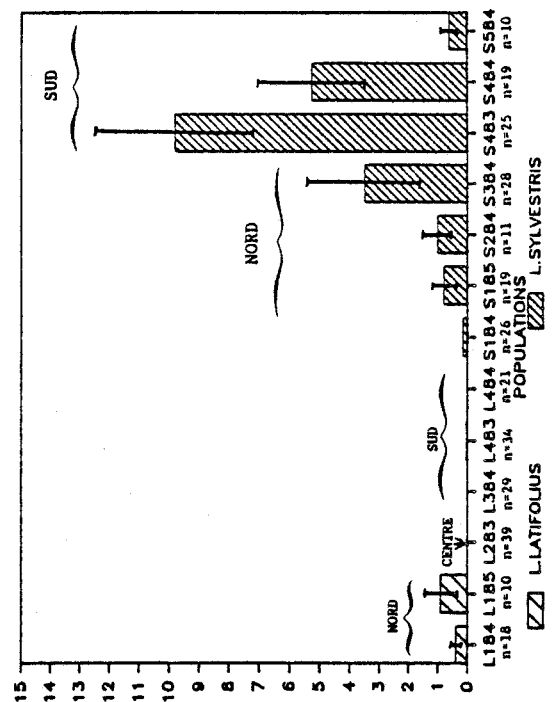


Figure 1b : Nombre de tiges tertiaires par tige principale
dans les différentes populations



n° nombre d'individus étudiés dans chaque population

Figure 1d : Nombre de boutons par inflorescence
dans les différentes populations

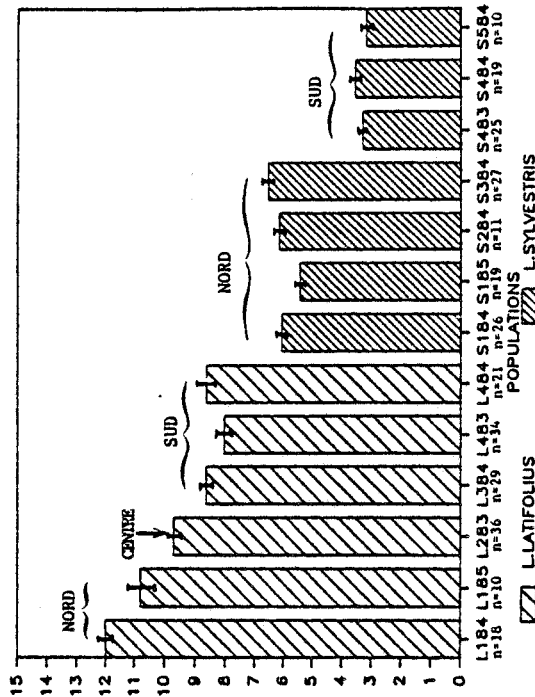


Figure 1c : Nombre d'inflorescences par tige principale
dans les différentes populations

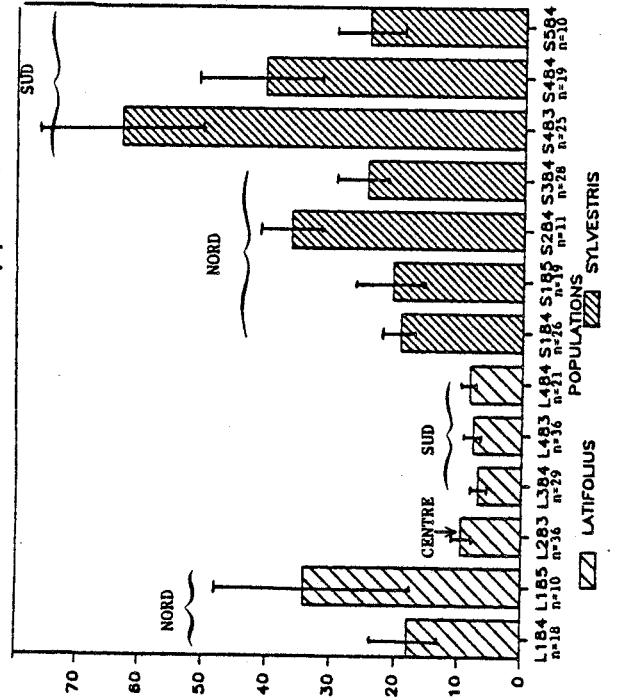


Figure 1e : Nombre de gousses par inflorescence
dans les différentes populations

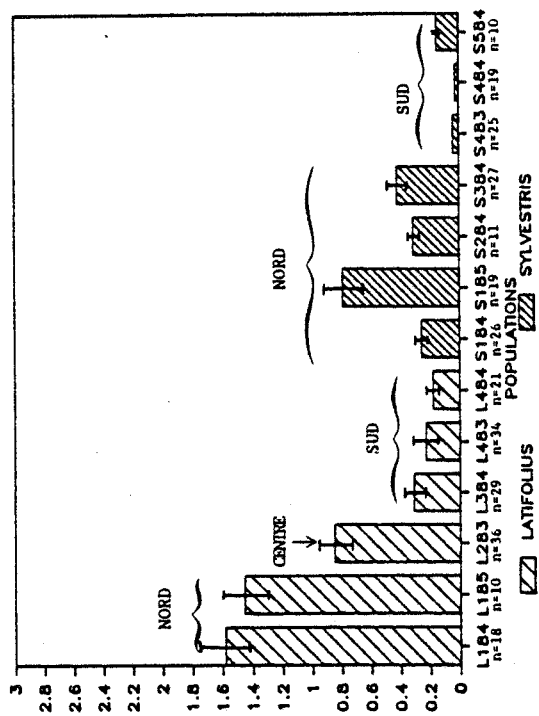


Figure 1f : Nombre d'ovules par gousse
dans les différentes populations

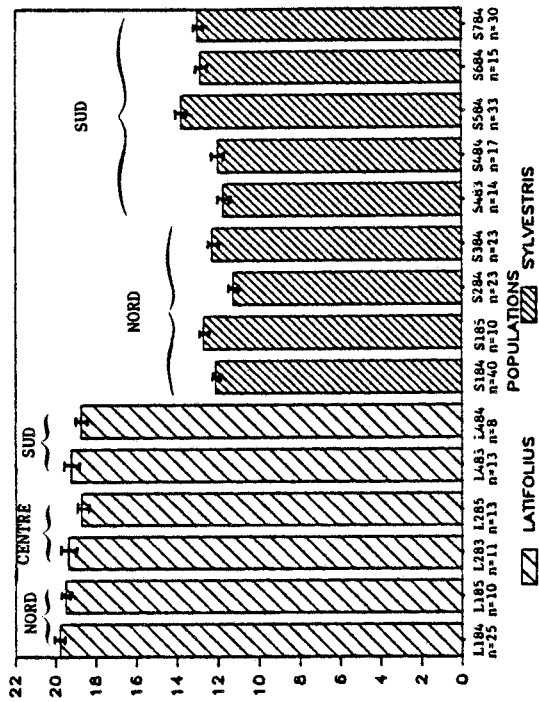
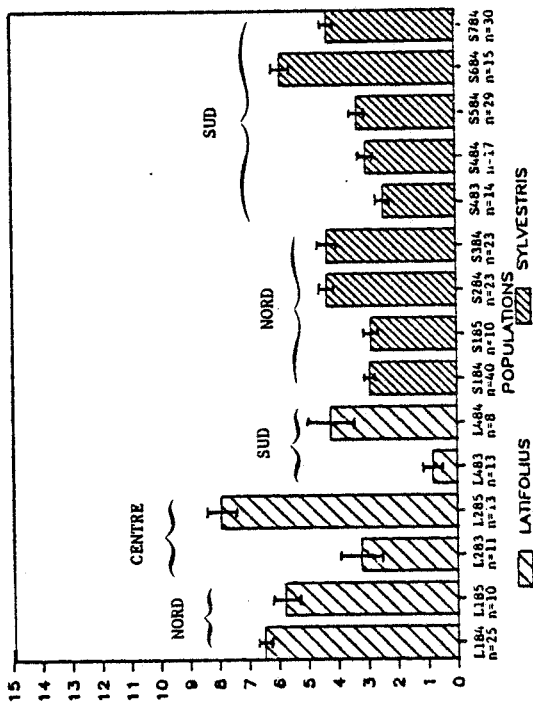


Figure 1g : Nombre de graines par gousse
dans les différentes populations



populations est significative (avec seulement 2% de la variance totale expliquée par le niveau population), la figure 1f montre que la variation inter-population est pratiquement nulle chez L. latifolius, alors qu' elle est significative chez L. sylvestris. Cette variation inter-population chez L. sylvestris ne semble pas liée à la latitude: on retrouve la même variation entre populations du Nord qu'entre populations du Sud. C'est la population S5, située à une altitude particulièrement élevée, qui se différencie le plus nettement des autres populations de cette espèce par un nombre moyen d'ovules par gousse proche de 14. Enfin, la variation inter-annuelle pour ce caractère n'est pas significative (tableau 3).

Le tableau 3 montre que la deuxième variable, qui différencie le mieux les deux espèces après le nombre d'ovules par gousse, est le nombre de boutons floraux par inflorescence (76% de la variance totale est expliquée par le niveau espèce). Les individus de L. latifolius présentent, en moyenne, 10 boutons par inflorescence, ce qui correspond au double de ce qui est observé chez L. sylvestris (avec environ 5 boutons/inflorescence). La variation entre populations est significative (figure 1d) et semble liée à la latitude. En effet, chez les deux espèces, le nombre de boutons par inflorescence est plus élevé dans les populations du Nord que dans celles du Centre ou du Sud de la France. Cette différence entre situations géographiques est plus marquée chez L. sylvestris où les populations du Nord (avec 6 boutons par inflorescence) présentent deux fois plus de boutons par inflorescence que celles du Sud (3 boutons par inflores-

cence). L'influence des conditions environnementales sur cette variable est confirmée par l'étude des variations inter-annuelles qui se révèlent significatives (tableau 3).

La 3ème variable la plus discriminante avec 51% de la variance totale expliquée par le niveau espèce est le nombre de tiges secondaires par tige principale (tableau 3). Il est beaucoup plus élevé chez L. sylvestris (en moyenne 7 T2/TP) que chez L. latifolius (environ 1 T2/TP). Les moyennes fluctuent beaucoup d'une population à l'autre (figure 1a) mais les intervalles de confiance et l'analyse de variance (tableau 3) montrent que les différences entre populations ne sont pas significatives. Les variations inter-individuelles semblent donc très importantes (résiduelle: 36% de la variation totale). Ce caractère est sensible aux fluctuations environnementales comme le révèle la différence significative inter-annuelle (tableau 3).

Les quatre autres variables étudiées discriminent beaucoup moins bien les deux espèces.

Le nombre d'inflorescences par tige principale est significativement différent dans les deux espèces mais seulement 17% de la variance totale de ce caractère est expliqué par le niveau espèce (tableau 3). Les individus de L. sylvestris portent plus d'inflorescences par tige principale (environ 33 inflorescences par TP) que ceux de L. latifolius (environ 14 inflorescences par TP). Cette variable est fortement corrélée au nombre de tiges secondaires par tige principale qui est aussi

nettement plus grand chez L. sylvestris. La figure 1c montre que ce caractère est très variable à l'intérieur des populations (les intervalles de confiance sont grands). Ce résultat est confirmé par l'analyse de variance (tableau 3) qui montre que l'essentiel de la variance totale (69%) est pris par la résiduelle. Les différences inter-populations et inter-annuelles ne sont pas significatives.

Le nombre de tiges tertiaires par tige principale, le nombre de gousses par inflorescence et le nombre de graines par gousse ne différencient pas significativement les deux espèces (tableau 3). 76% de la variance est pris par la résiduelle (niveau intra-population) pour le nombre de tiges tertiaires par tige principale. Les différences inter-individuelles sont tellement importantes (figure 1b) qu'elles dominent tous les autres niveaux (aucune différence significative non plus au niveau population et année). Pourtant le nombre moyen de tiges tertiaires par tige principale chez L. sylvestris (environ 3 T3/TP) a tendance à être plus grand que chez L. latifolius (environ 0.2 T3/TP). Les tiges tertiaires étant portées par les tiges secondaires, cette variable est corrélée au nombre de tiges secondaires par tige principale.

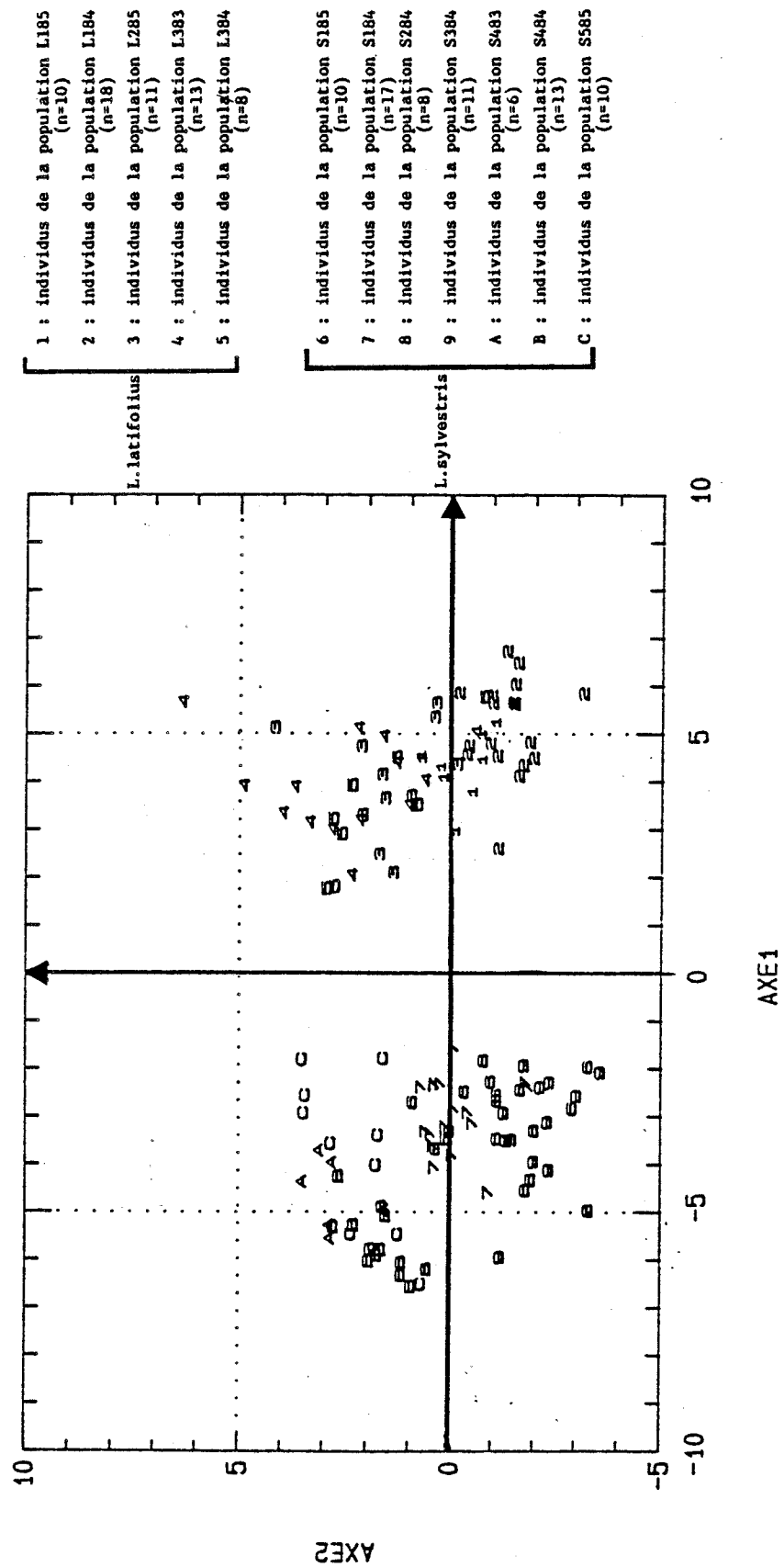
En revanche, pour le nombre de gousses par inflorescence et de graines par gousse, l'essentiel de la variance totale n'est pas expliqué seulement par la résiduelle (45% et 38% respectivement).

Le nombre de gousses par inflorescence (qui doit être fortement corrélé au nombre de boutons par inflorescence) est significativement différent suivant les populations (43% de la variance totale). On retrouve (figure 1e) l'effet latitude : chez les deux espèces, les populations du Nord ont plus de gousses par inflorescence que celles du Sud. L'effet année est significatif (tableau 3) traduisant sans doute les différences environnementales dans la pollinisation (et la réussite de la fécondation) d'une année sur l'autre. Cette variable a tendance à être plus importante chez L. latifolius (environ 0.77 gousse par inflorescence) que chez L. sylvestris (0.28), résultant du fait que le nombre de boutons par inflorescence est significativement différent chez ces deux espèces.

Le nombre de graines par gousse est corrélé au nombre d'ovules par gousse, ce qui explique que les individus de L. latifolius ont tendance à produire un plus grand nombre de graines par gousse (environ 5) que ceux de L. sylvestris (environ 4), même si les différences ne sont pas significatives. Une grande partie de la variance totale (52%) est expliquée par les différences inter-annuelles traduisant sans doute (cf. plus haut) les variations environnementales. L'effet population n'est pas significatif (tableau 3) mais les fluctuations entre populations ont tendance à être importantes (figure 1g) même si elles sont négligeables par rapport à l'effet année.



Figure 2 : Analyse discriminante. Projection des différents individus étudiés sur les 2 fonctions discriminantes (axe 1 et axe 2)



n = nombre d'individus étudiés dans chaque population

b) Analyse multivariée

L'analyse discriminante a été effectuée sur 5 populations de L. latifolius et 7 populations de L. sylvestris. Le nombre d'individus et les différentes populations étudiées sont donnés figure 2.

Les deux premières fonctions discriminantes canoniques (significatives pour $P < 10^{-4}$) expliquent, à elles deux, 91% de la variance totale des 7 variables étudiées (tableau 4). La première fonction discriminante absorbe, à elle seule, 78% de la variance totale, dont 95% (coef. de corrélation canonique élevé au carré : R^2) sont expliqués par la contribution des populations. La deuxième fonction discriminante représente les 13% de la variance totale. 75% de cette variance sont là encore, expliqués par la contribution des populations.

Cette contribution très forte des populations correspond en fait en grande partie à une contribution du niveau espèce (l'analyse discriminante ne nous permettant pas d'utiliser deux facteurs de classifications, nous avons choisi les populations sans tenir compte du niveau hiérarchique supérieur: l'espèce).

Ce sont les deux variables: nombre d'ovules par gousse principalement et, dans une moindre mesure, nombre de boutons par inflorescence qui dominent dans la première fonction discriminante (tableau 4). Ces deux variables tirent l'axe 1 (horizontalement, représentant la 1ère fonction discriminante sur

TABLEAU 4 : Fonctions discriminantes pour les populations de L.latifolius et L.sylvestris

Variables		Fonction 1	Fonction 2
1	Tiges secondaires/Tige principale	-0.3049	-0.0326
2	Tiges tertiaires/Tige secondaire	-0.0042	0.2298
3	Inflorescences/Ramification	-0.0284	0.3083
4	Boutons foraux/Inflorescence	0.5051	-0.6838
5	Gousse/Bouton floral	0.0674	-0.4249
6	Ovules/Gousse	0.7518	0.5455
7	Graine/Ovule	-0.0667	-0.6303

Vecteur propre		18.3435	3.6770
% de variance totale		78.41%	13.15%
R =correlation canonique		0.9738	0.8639
R ² =contribution du facteur de classification (population) à la variance totale		0.9483	0.7463
Signification		<0.0001	<0.0001

la figure 2) vers les valeurs positives. Cet axe sépare, sans aucune ambiguïté, les individus de L. latifolius (ceux avec le plus grand nombre d'ovules; du côté positif de l'axe, figure 2) de ceux des populations de L. sylvestris (situés vers les valeurs négatives, figure 2).

La deuxième fonction discriminante (axe 2 vertical, figure 2) est tirée négativement par les deux variables: boutons par inflorescence et graines par ovule, et positivement plus faiblement, par la variable nombre d'ovules par gousse (tableau 4). Ce deuxième axe ne discrimine plus les deux espèces (figure 2), mais sépare nettement les populations du Nord de la France (côté négatif de l'axe) des populations du Sud (côté positif).

Les individus appartenant à la même population, mais étudiés à des dates différentes, ne sont pas séparés par ces deux axes. L'analyse ne met en évidence aucun effet significatif de la variation inter-annuelle pour les deux fonctions discriminantes principales.

En résumé, l'analyse discriminante met en évidence une différenciation interspécifique et interpopulation.

Le niveau interspécifique est pris en compte par la première fonction discriminante. Il représente 73% (95% de 78%, cf. tableau 4) de la variance totale et discrimine, sans ambiguïté, ces deux espèces essentiellement sur la variable nombre d'ovules par gousse.

Le niveau interpopulation est pris en compte par la deuxième fonction discriminante. Il représente 10% (75% de 13%, cf. tableau 4) de la variance totale et sépare bien les populations d'une même espèce suivant leur latitude sur les critères : nombre de boutons floraux par inflorescence et nombre de graines par ovules.

3) ETUDE D'UNE ZONE DE CONTACT ENTRE LES DEUX ESPECES

Une zone de contact entre des individus de L. latifolius cultivés dans un jardin (station CL) se trouvant à proximité d'une population naturelle de L. sylvestris (cf. Matériel et Méthodes, tableau 1) a été étudiée. La population de L. sylvestris très importante, s'étend de façon discontinue, sur 1 à 2km. Deux sites de prélèvements ont été choisis; l'un près du jardin cultivé de L. latifolius (CSa) et, l'autre, éloigné d'environ 1km de la zone de contact (CSb). Dans le premier site (CSa) des tâches d'individus aux phénotypes intermédiaires (CI) ont été observées. Ces individus (CI) présentaient un appareil végétatif semblable à celui des individus de L. latifolius de la population voisine (feuilles larges et tiges peu ramifiées) mais des fleurs identiques à celles des populations voisines de L. sylvestris.

a) Etude des allozymes

Les fréquences alléliques et génotypiques obtenues pour les différents loci, dans les 4 sites de cette zone de contact, sont données tableaux 5a et 5b respectivement. Les fréquences alléliques peuvent être comparées aux moyennes observées sur plusieurs populations de L. latifolius et L. sylvestris (tableau 2). Les résultats montrent que les individus intermédiaires ne se comportent pas comme des hybrides classiques. En effet, on n'observe pas d'augmentation de l'hétérozygotie pour chaque locus (avec mélange des allèles de L. latifolius et L. sylvestris), mais, au contraire, une homozygotie très forte avec certains loci ayant fixé les allèles de L. sylvestris (locus LAP1), d'autres ceux de L. latifolius (locus EST1) et d'autres enfin, des allèles nouveaux (ou rares) dans les populations d'origine (allèle 2 du locus GOT2 qui est caractéristique de L. latifolius).

D'autre part, les individus du site CSa au phénotype sylvestris mais proche de la zone de contact montrent certains allèles de la population voisine de L. latifolius (CL) à des fréquences très faibles (allèle 1 du locus GOT1). Ils présentent aussi l'allèle 2 du locus GOT2 alors qu'on ne l'observe que chez les intermédiaires (CI). Ces allèles ne sont pas observés dans la population CSb plus éloignée de la zone de contact.

TABLEAUX 5 : Etude de la structure allélique et génotypique de la zone de contact
Tableau 5a : Fréquences alléliques aux différents loci étudiés dans la zone de contact

Loci	LAP1				EST1				GOT1			GOT2			ACPH1		
	1	2	4	n	1	2	5	n	1	2	n	1	2	n	2	4	n
<u>L.latifolius</u> (CL)	-	1.00	-	5	0.40	0.20	0.40	5	1.00	-	5	1.00	-	5	-	-	-
Intermédiaires (CI)	-	-	1.00	9	-	0.45	0.55	9	1.00	-	8	0.06	0.94	8	-	1.00	9
<u>L.sylvestris</u> proche de <u>L.latifolius</u> (CSa)	0.29	0.42	0.29	7	0.78	-	0.22	7	0.08	0.92	6	0.92	0.08	6	0.83	0.17	6
<u>L.sylvestris</u> éloignés de <u>L.latifolius</u> (CSb)	0.02	0.14	0.84	18	1.00	-	-	18	-	1.00	18	1.00	-	18	0.72	0.28	18

n = nombre d'individus étudiés.

Tableau 5b : Fréquences génotypiques (homozygotes et hétérozygotes) aux différents loci étudiés dans la zone de contact

Loci	LAP1			EST1			GOT1			GOT2			ACPH1		
	Ho	He	n	Ho	He	n	Ho	He	n	Ho	He	n	Ho	He	n
<u>L.latifolius</u> (CL)	1.00	-	5	0.80	0.20	5	1.00	-	5	1.00	-	5	-	-	-
Intermédiaires (CI)	1.00	-	9	0.10	0.90	9	1.00	-	8	0.88	0.12	8	1.00	-	9
<u>L.sylvestris</u> proche de <u>L.latifolius</u> (CSa)	0.14	0.86	7	0.57	0.43	7	0.83	0.17	6	0.83	0.17	6	0.67	0.33	6
<u>L.sylvestris</u> éloignés de <u>L.latifolius</u> (CSb)	0.85	0.15	18	1.00	-	18	1.00	-	18	1.00	-	18	0.44	0.56	18

n: nombre d'individus étudiés.

Ho: homozygotes.

He: hétérozygotes.

b) Etude de certaines variables impliquées dans la reproduction

Les résultats précédents suggèrent que les trois variables:

- 1 - nombre de grains de pollen sur nombre d'ovules (P/O),
- 2 - nombre de boutons par inflorescence et,
- 3 - nombre d'ovules par gousse

semblent les plus pertinentes pour différencier les deux espèces; nous les avons donc retenues pour caractériser les individus de cette zone de contact. Nous avons tenu compte d'une quatrième variable:

- 4 - nombre de grains de pollen par fleur.

Le tableau 6 permet de comparer les résultats obtenus pour ces 4 variables dans les sites de la zone de contact avec ceux obtenus sur une moyenne de plusieurs populations dans les deux espèces. Ces variables qui discriminent bien les deux espèces, discriminent tout aussi bien la population de L. sylvestris (CSb) la plus éloignée de L. latifolius (CL). Les deux populations proches de L. latifolius: CI (intermédiaires) et CSa ("sylvestris") apparaissent sur la base de ces variables très semblables et donnent des valeurs intermédiaires entre les deux espèces.

Pour les 3 variables, nombre d'ovules par gousse, nombre de grains de pollen par fleur et pollen sur ovule, les individus de L. latifolius (CL) et de L. sylvestris (CSb, éloignée du jardin) se comportent comme ceux des populations typiques des deux espèces (cf. moyennes, tableau 6).

TABLEAU 6 : Caractères reproducteurs mesurés dans la zone de contact comparés aux moyennes obtenues chez les deux espèces.

	<u>L.latifolius</u> moyenne sur plusieurs popu- lations		ZONE DE CONTACT								<u>L.sylvestris</u> (moyenne sur plusieurs populations)	
	X	N	<u>L.latifolius</u> (CL)		Intermédiaires (CI)		<u>L.sylvestris</u> près de CL (CSa)		<u>L.sylvestris</u> loin de CL (CSb)		X	N
Nbre boutons/inflo (cv)	9.78±0.50 (13)	6	10.93±0.42 (9)	7	10.88±1.11 (17)	4	7.57±0.33 (13)	10	6.19±0.21 (10)	10	4.80±0.53 (341)	7
Nbre ovules/gousse (cv)	19.23±0.16 (2)	6	20.44±0.71 (9)	8	15.00±0.64 (8)	5	15.27±0.33 (6)	10	12.15±0.31 (8)	10	12.39±0.08 (6)	9
Nbre gr.pollen/flrs (cv)	63774±4415 (7)	2	61504±10535 (45)	8	38688±3070 (14)	4	36095±1479 (12)	10	25647±2408 (28)	10	27073±5225 (19)	2
Nbre gr.pollen/ov. (cv)	3282±351 (11)	2	3014±484 (42)	8	2632±175 (12)	4	2330±148 (19)	10	2073±202 (29)	10	1998±71 (4)	2

(cv) : coefficient de variation (%)
X : moyenne sur N population ± erreur standard
N : nombre de populations
x : moyenne sur n individus d'une même population ± erreur standard
n : nombre d'individus dans la population étudiée.

Pour le nombre de boutons par inflorescence, alors que la population de L. latifolius (CL) ne diffère pas de la moyenne obtenue dans l'espèce, il est, en revanche, plus grand (supérieur à 6, tableau 6) dans la population de L. sylvestris (CSb) que celui observé en moyenne sur l'espèce (inférieur à 5, tableau 6). Cependant, les résultats obtenus ci-dessus indiquent que ce caractère varie fortement entre populations du Nord et celles du Sud. La zone de contact étant située en Belgique, la population CSb doit être comparée aux populations du Nord où nous avons montré que, en moyenne, le nombre de boutons par inflorescence est d'environ 6 (figure 1d). Cette population ne diffère donc pas significativement des populations de L. sylvestris de la région.

Pour la plupart des variables, les deux populations intermédiaires (CI) et "sylvestris" (CSa), proches de L. latifolius, apparaissent assez semblables et donnent des valeurs intermédiaires entre les deux espèces. Ceci est particulièrement net pour le nombre d'ovules par gousse. Pour le nombre de grains de pollen par fleur, les valeurs intermédiaires obtenues ne correspondent pas strictement à la moyenne entre espèces, elles sont décalées vers celles de L. sylvestris. Le nombre de boutons par inflorescence différencie les deux populations, la population intermédiaire (CI) se comporte comme celle de L. latifolius alors que la population CSa se comporte comme une population intermédiaire. Enfin, le rapport pollen sur ovule montre que la population intermédiaire (CI) se situe exactement à la médiane entre les deux espèces, alors que la population "sylvestris", bien qu'intermédiaire, est plus proche de l'espèce L. sylvestris.

DISCUSSION

1) EXISTE-T-IL UN ISOLEMENT REPRODUCTIF?

Les allozymes permettent de différencier les deux espèces puisque un certain nombre d'allèles discriminants ont pu être mis en évidence chez les deux espèces (tableau 2). Les allozymes révèlent donc l'existence d'un isolement reproductif. La présence de cette barrière aux flux géniques entre les 2 Lathyrus est confirmée par l'étude de croisements inter-spécifiques (Senn, 1937; Davies, 1957; Chaib et al., 1987 et nos résultats (non publiés)) qui montrent que l'hybridation entre ces deux espèces est très difficile ou donne naissance à des hybrides stériles. Cependant, la présence de nombreux allèles communs aux deux espèces et l'absence d'allèles diagnostiques (au moins au loci étudiés) montrent que la divergence entre les deux espèces doit être un phénomène relativement récent.

L'étude de la zone de contact indique que cette barrière d'isolement reproductif peut être partiellement rompue puisque des individus intermédiaires ont pu être observés. Cependant l'existence de tels individus doit être peu commune. En effet, d'une part, la bibliographie n'en fait pas mention, d'autre part, c'est la seule station que nous connaissons parmi toutes celles que nous avons prospectées où une hybridation semble se produire; et enfin, le nombre d'individus intermédiaires est extrêmement réduit dans cette zone (il doit exister au maximum 10 individus

dans la station CI et peut être 20 dans la station CSa alors que la station CSb présente un millier d'individus au moins). Bien que peu d'individus aient été étudiés, ces intermédiaires ne semblent pas être des hybrides de première génération puisqu'ils ne sont pas hétérozygotes pour les allèles de L. latifolius ou de L. sylvestris (ils montrent, suivant les loci, une fixation des allèles de l'une ou l'autre espèce); et ont fixé un allèle nouveau qui devait être peu fréquent chez les parents (tableau 5). Ce faible taux d'hétérozygotie observé chez les individus intermédiaires et la présence d'allèles locaux tendraient à prouver qu'ils proviennent d'un nombre très faible d'individus et qu'ils ne se reproduisent pas avec les autres membres de la zone de contact. Ils confirment donc paradoxalement, l'existence d'un isolement reproductif relativement fort entre les deux espèces.

2) PARAMETRES IMPLIQUES DANS LA REPRODUCTION

Parmi tous les caractères étudiés, deux seulement se montrent satisfaisants pour discriminer les deux espèces sans ambiguïté. Il s'agit du rapport pollen sur ovule (P/O) et du nombre d'ovules par gousse. Ces deux caractères sont très différents suivant l'espèce étudiée et peu variables à l'intérieur de chaque espèce. Le P/O varie entre 3000 et 3500 chez L. latifolius et se cantonne aux alentours de 2000 chez L. sylvestris. Le nombre d'ovules par gousse est compris entre 18 et 22 chez L. latifolius et entre 10 et 14 chez L. sylvestris. Ils permettent d'autre part de bien reconnaître les intermédiaires de la zone de contact.

Cruden (1977) et Queller (1984) ont mis en évidence que le rapport pollen sur ovule est un des paramètres les plus caractéristiques du régime de la reproduction des espèces végétales. En effet, les théories sur la sélection sexuelle (Charnov, 1979 et Queller, 1983) prédisent que suivant le régime de la reproduction (autogamie ou allogamie), l'investissement dans les fonctions mâle (pollen) et femelle (ovules) devrait être différent: la compétition entre mâles est fortement réduite chez les autogames qui redistribuent leurs ressources vers la fonction femelle. Cruden (1977) a proposé une classification des différents régimes de la reproduction selon une échelle de variations du rapport P/O: les valeurs du P/O sont comprises entre 190 pour les plantes autogames et 5900 pour celles qui sont strictement xénogames. Il semble donc qu'une sélection importante s'exerce sur ce caractère au niveau de chaque espèce.

Le nombre d'ovules par gousse est un caractère reproducteur peu utilisé dans la systématique, on lui préfère en général le nombre de graines par fruit. C'est pourtant un caractère facilement mesurable particulièrement chez les légumineuses. Il est très variable chez cette famille où l'on recense des espèces montrant 1 à 2 ovules par gousse (ou fleur) (Sesbania vesicaria; Marshall et al., 1985) et d'autres avec plus de 70 ovules par fruit (Lotus jacobacus; Bubar, 1958). Marshall et al. (1985) chez 3 espèces de Sesbania; Nakamura (1986) chez Phaseolus vulgaris et Lee et Bazzaz (1986) chez Cassia fasciculata montrent que le nombre d'ovules par fruit (ou fleur) est souvent plus stable, chez ces espèces, que le nombre de graines par gousse. De

nombreux auteurs, Stephenson (1981), Wilson and Burley (1983), Bawa et Webb (1984) et Lee et Bazzaz (1986) supposent que l'avortement différentiel des graines dans le fruit pourrait être le résultat d'une sélection par la plante mère qui éliminerait les génotypes les plus consanguins et/ou favoriserait les génotypes les plus vigoureux. La mère "encouragerait" la compétition entre génotypes dans le fruit, en produisant un nombre d'ovules par gousse supérieur au nombre de graines qu'elle est capable de nourrir car "elle y trouverait" un avantage sélectif. On peut supposer d'autre part, que la production de graines étant fortement dépendante des conditions environnementales (pollinisation et météorologie), l'imprédictibilité du milieu entraînerait une sélection en faveur d'un excès d'ovules par rapport aux ressources disponibles. Ces deux hypothèses pourraient expliquer pourquoi chez certaines espèces, le nombre d'ovules par fruit est moins variable que le nombre de graines par fruit.

Les individus intermédiaires provenant de la zone de contact entre L. latifolius et L. sylvestris ont un nombre d'ovules par gousse (environ 15) qui correspond à la moyenne entre les deux espèces. Les individus au phénotype "sylvestris" (CSa) proches des individus de L. latifolius se comportent comme des intermédiaires pour cette variable. Si ces plantes intermédiaires s'étaient installées récemment dans ce site, et si le nombre d'ovules par gousse est fixé chez les deux espèces, on devrait observer des ségrégations pour ce caractère dans la population et donc un coefficient de variation assez fort. On obtient (tableau 6) des coefficients de variation faibles, du même ordre

que ceux des populations voisines. Il semble donc bien que ces intermédiaires se soient formés depuis de nombreuses générations à partir d'un faible nombre d'individus, qu'ils aient fixé une combinaison génétique leur conférant un phénotype intermédiaire entre les deux parents et qu'ils fonctionnent en population isolée du reste de la station.

Le troisième caractère qui discrimine assez bien les deux espèces, est le nombre de boutons par inflorescence qui est plus important chez L. latifolius (environ 10) que chez L. sylvestris (environ 5). Cependant, cette variable, qui est employée dans les flores pour différencier ces espèces, caractérise surtout les différents écotypes (population du Nord ou du Sud, cf. axe 2 de l'analyse discriminante, figure 2). Cette forte différenciation écotypique des espèces étudiées explique peut-être la difficulté à les reconnaître et les erreurs de classification commises par quelques auteurs (Fournier, 1946 et Foury, 1954). En effet, certains individus des populations méridionales de L. latifolius, montrant 7 à 9 boutons par inflorescence peuvent être confondus avec ceux des populations plus septentrionales de L. sylvestris, montrant 5 à 7 boutons par inflorescence.

Les individus intermédiaires (CI) de la zone de contact se comportent comme ceux de L. latifolius pour cette variable (10.88 et 10.93 boutons par inflorescence respectivement, tableau 6). Les individus de phénotype "sylvestris" (CSa) adjacents se comportent eux, comme des intermédiaires (7.57 boutons par inflorescence). Les coefficients de variations pour ces deux populations restent faibles et confirment l'hypothèse d'une

dérive génétique dans la population.

Les autres variables étudiées (T2/TP, T3/TP, inflorescences/TP, Gousses/inflo et Graines/gousse) ne sont pas intéressantes pour différencier les deux espèces. Elles présentent une grande variabilité inter-individuelle ou inter-annuelle. Nous ne les avons pas utilisées pour l'étude de la zone de contact.

3) CONCLUSION

Cette étude a permis de confirmer l'isolement génétique entre les deux espèces affines L. latifolius et L. sylvestris par l'analyse des allozymes. Deux caractères reproducteurs se sont avérés satisfaisants pour discriminer ces deux espèces assez semblables morphologiquement. Il s'agit du rapport pollen sur ovule et du nombre d'ovules par gousse. Le rapport pollen sur ovule est un bon marqueur du régime de la reproduction et s'avère efficace pour la différenciation inter-spécifique (Cruden, 1977). C'est malheureusement comme les allozymes, un caractère difficile d'accès et non utilisable quand il s'agit d'effectuer des déterminations sur le terrain. En revanche, le nombre d'ovules par gousse présente l'avantage d'être un critère morphologique simple et rapide à observer qui pourrait être employé pour discriminer ces deux espèces sur le terrain.

REFERENCES

- ALLKIN R., MACFARFARLANE T.D., WHITE R.J., BISBY F.A. & M.E. ADEY. 1983: Names and synonyms of species and subspecies in the Vicieae. Issue 2, Vicieae Database Project Publication No. 2, Southampton, England.
- ALLKIN R., MACFARFARLANE T.D., WHITE R.J., BISBY F.A. & M.E. ADEY. 1985: The geographical distribution of Lathyrus. Vicieae Database Project Publication No. 6, Southampton, England.
- ANTONOVICS J.. 1968: Evolution in closely adjacent plant populations. V. Evolution of self-fertility. *Heredity*, 23: 219-238.
- BAWA K.S. & C.J. WEBB. 1984: Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *Amer. J. Bot.*, 71: 736-751.
- BELL E.A.. 1962: Associations of ninhydrin-reacting compounds in the seeds of 49 species of Lathyrus. *Biochem. J.*, 82: 225-229.
- BONHOMME F.J., CATALAN J., BRITTON-DAVIDIAN J., CHAPMAN V.M., MORIWAKI D., NEVO E. & L. THALLER. 1984: Biochemical diversity and evolution in the genus Mus. *Biochemical genetics*, 22: 275-303.
- BONNIER G.. 1934: Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique. Tome 3, E. Orlhac (éditeur), Paris.
- BUBAR J.S. 1958: An association between variability in ovule development within ovaries and self-incompatibility in Lotus (Leguminosae). *Can. J. Bot.*, 36: 65-72.
- CHAIB A., DELBOS M. & D. COMBES. 1986: Preliminary studies on the genetic variability of three perennial species of Lathyrus (L. tuberosus L., L. sylvestris L. and L. latifolius L.): chromosomal and reproductive aspects. In Lathyrus and Lathyrism, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985. A.K. Raul and D. Combes (editors): 98-104.
- CHARNOV E.L.. 1979: Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 76: 2480-2484.
- CLAPHMAN A.R., TUTIN T.G. & E.F. WARBURG. 1962: Flora of the British Isles. Second edition, Cambridge University Press.
- COSTE H.. 1901: Flore de France. Tome 1, P. Klincksiek (éditeur), Paris, France.

- CRUDEN R.W.. 1977: Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, 31: 32-46.
- DAGNELIE P.. 1975: Analyse statistique à plusieurs variables. Les Presses Agronomiques de Gembloux, Belgique.
- DARVICHE D.. 1978: Approche morphologique et biométrique de la biosystématique à la lumière de la génétique biochimique des populations. Application aux genres Mus et Apodemus (Mammalia, Rodentia). Thèse de Doct. 3ème cycle, Université de Montpellier.
- DARVICHE D. & P. ORSINI. 1982: Critères de différenciation morphologique et biométrique de 2 espèces de souris sympatriques: Mus spretus et Mus musculus domesticus. *Mammalia*, 46: 205-217.
- DAVIES A.J.S.. 1957: Successful crossing in the genus Lathyrus following styelar amputation. *Nature*, 180: 12.
- DELANGHE J.E., DELVOSALLE L., DUVIGNEAUD J., LAMBIGNON J. & C. VANDEN BERGHEN. 1978: Nouvelle Flore de la Belgique, du G.D. de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisines. Edition du Patrimoine du Jardin Botanique National de Belgique, 2ème édition.
- FOURNIER P.. 1946: Les quatre flores de France. P. Le Chevalier (éditeur), Paris, France, 2ème édition.
- FOURY A.. 1954: Les Légumineuses fourragères au Maroc. Les cahiers de la Recherche Agronomique, 5: 287-658.
- GASQUEZ J. & J.P. COMPOINT. 1976: Apport de l'électrophorèse en courant pulsé à la taxonomie d'Echinochloa crusgalli L.. *Ann. Amélior. Plant.*, 26 (2): 345-355.
- HOSSAERT M. & M. VALERO. In Press: Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in two species of Lathyrus (Leguminosae: Papilionaceae). Accepté dans *Amer. J. Bot.*
- JAIN S.K. & A.D. BRADSHAW. 1966: Evolutionary divergence among adjacent plant populations. I The evidence and its theoretical analysis. *Heredity*, 21: 406-411.
- KUPICHA F.K.. 1983: The infrageneric structure of Lathyrus. *Notes R. B. G. Edimb.*, 41 (2): 209-244.
- LEE T. D. & F. A. BAZZAZ. 1986: Maternal regulation of fecundity: non random ovule abortion in Cassia fasciculata Michx. *Oecologia* (Berlin), 68: 459- 465.

- MARSHALL D.L., FOWLER N.L. & D.A. LEVIN. 1985: Plasticity in yield components in natural populations of three species of Sesbania. *Ecology*, 66 (3): 753-761.
- MAYR E.. 1970: *Populations, Species, and Evolution*. Cambridge, Mass. Harvard Univ. Press..
- NAKAMURA R.R.. 1986: Maternal investment and fruit abortion in Phaseolus vulgaris. *Amer. J. Bot.*, 73 (7): 1049-1057.
- PECHAN P.M. & B.D. WEBSTER. 1985: Determination of pollen number of beans using an electrical particle-counting device. *Hortscience*, 20 (3): 444-445
- QUELLER D.C.. 1983: Sexual selection in hermaphroditic plants. *Nature*, 305: 706-707.
- QUELLER D.C.. 1984: Pollen-ovule ratios and hermaphrodite sexual allocation strategies. *Evolution*, 38 (5): 1148-1151.
- SENN H.. 1937: Experimental data for a revision of the genus Lathyrus. *Amer. J. Bot.*, 25 (2): 67-78.
- SIMOLA L.K.. 1968: Comparative studies on number of leaflets, venation, and epidermal structure in the genus Lathyrus. *Can. J. Bot.*, 46: 71-84.
- SOKAL R.R. & F.J. ROLF. 1981: *Biometry: The principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Second edition, W.H. Freeman and Company, New York, U.S.A..
- STEBBINS G.L.. 1974: *Flowering plants. Evolution above the species level*. The Belknap Press of Havard University Press, Cambridge.
- STEPHENSON A.G.. 1981: Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGESS N.A., MOORE D.M., VALENTINE D.H., WALTER S.M. & D.A. WEBB. 1968: *Flora Europea*. Vol. 2, Cambridge University Press.
- VALERO M., HOSSAERT M., CARON B., YOUSSEF A. & P. VERNET. 1987: Allocation des ressources chez deux espèces de Légumineuses: Lathyrus latifolius et Lathyrus sylvestris. In *Colloque National du C.N.R.S. "Biologie des Populations"*, J.M. Legay (éditeur) Univ. C. Bernard, Lyon, France: 141-148.
- WILLSON M.F. & N. BURLEY. 1983: *Mate Choice in Plants. Tactics, mechanisms and consequences*. R.M. May (editor), Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.

CHAPITRE 2

ALLOCATION DES RESSOURCES: BALANCE MULTIPLICATION VEGETATIVE VS
REPRODUCTION SEXUEE ET FONCTION MALE VS FONCTION FEMELLE

Cette étude a été abordée de trois manières:

1-D'une part, par un suivi dans le temps d'une population pour chacune des deux espèces (Hossaert et Valero, 1986, chapitre 2-1): l'apparition et la survie de nouvelles tiges d'origine sexuée (germination) ou végétative ("repousse"), la proportion de tiges florifères par rapport aux tiges végétatives et le nombre de germinations ont été dénombrés dans deux transects de Novembre 1983 à Octobre 1985.

2-D'autre part, par un dénombrement à la fin de la floraison des différentes caractéristiques reproductrices des individus dans plusieurs populations des deux espèces (Valero et Hossaert, en prep, chapitre 2-2).

3-Enfin, par l'étude de la position des graines dans la gousse chez des individus provenant de plusieurs populations des deux espèces (Hossaert et Valero, in press, chapitre 2-3). Le fruit des légumineuses est un compartiment linéaire dans lequel la position des graines peut nous renseigner sur l'importance des effets mâle et femelle lors de la fécondation et du développement du fruit.

2-1 SUIVI DANS LE TEMPS DE DEUX TRANSECTS

Kaul A.K., Combes D. (eds) *Lathyrus and lathyrism*
1986 Colloque *Lathyrus* Pau.

VEGETATIVE PROPAGATION AND SEXUAL REPRODUCTION IN TWO PERENNIAL *LATHYRUS* SPECIES

M. HOSSAERT

I.B.E.A.S., Unité associée CNRS 340, Université de Pau, 64000 — Pau — France

and

M. VALERO

*Laboratoire de génétique écologique, Université des Sciences et techniques de Lille,
59655 — Villeneuve d'Ascq — France*

Introduction

In the large genus *Lathyrus*, with 150 species, two widely distributed and closely related perennials, *L. sylvestris* L. and *L. latifolius* L., provide convenient material for studies of some aspects of population biology. Both species are capable of vegetative propagation and sexual reproduction. The coexistence of these two reproductive systems allows comparison of the extent of sexual and vegetative reproduction in a demographic context, and of their relative roles in population dynamics and evolution of these two plant species.

Preliminary results of our comparative studies have shown that the two species differ markedly in the amount of genetic variability detectable by enzyme electrophoresis (Hossaert and Valero 1985). *L. latifolius* has a large proportion of polymorphic loci and a high degree of heterozygosity. In contrast, *L. sylvestris* appears to be quite monomorphic, except in one population (Miguelou, Pyrenees Atlantiques; M. Valero and A. Chaib, pers. comm.). *L. latifolius* also shows intrapopulation variability in phenotypic characteristics such as leaf size and corolla color, while *L. sylvestris* shows little such variation.

This study was designed to determine whether this difference in the level of

enzymatic and phenotypic polymorphism is associated with differences between the two species in relative investment in sexual and vegetative reproduction. Demography of wild population was studied to examine the contribution of new tillers (vegetative propagation) and of seedlings (sexual reproduction) in the population dynamics of these two plants.

Study Sites and Methods

The study was conducted in two populations, one of each species, in the valley of the Gave de Pau in southwestern France. *Lathyrus latifolius* was studied at the Cadillon site (elev. 300 m), a meadow on calcareous soils on a southeasterly facing slope, about 35 km NNE of Pau in the northern part of the valley. *L. sylvestris* was studied at Laruns (elev. 500 m), on the southern edge of the valley about 35 km south of Pau. The study site was on the dry south-facing slope of a canalized stream.

The data were collected in permanent transects from November 1983 to October 1985. Each transect consisted of a grid of contiguous quadrats oriented along the slope (Fig. 1). At Cadillon (*L. latifolius*), the transect was a 2 m × 20 m strip divided into 40 1 m × 1 m quadrats. At Laruns (*L. sylvestris*), two transects, each 1 m wide but 6.5 and 7 m long, respectively, were divided

into 0.5 m × 0.5 m quadrats (26 and 28 quadrats, respectively). Differences in quadrat size and transect configuration were due to differences in density and extent of the populations. Data were recorded from the transects at monthly intervals, except during the flowering season, when sampling frequency was decreased to minimize effects of the experiment on flower abortion.

We used color-coded cotton and plastic tags to mark plants. As in all gregarious perennial species, identification of the individual is not possible without examining underground parts. We chose instead to use the tiller or ramet (*sensu* Harper 1977) as our sampling unit. We obtained data on a number of new vegetatively propagated tillers and seedlings, and their survivorship; and on a number of tillers and seedlings producing flowers and fruits.

The 2-year duration of the study also allowed analysis of temporal and spatial patterns in these parameters. Spatial distribution was examined using statistics of contagion and dispersion (Chessel, 1978, 1981; Hossaert, in prep.). This paper presents preliminary results on the production of tillers and seedlings by these two species and their distribution in space and time. A subsequent paper (Hossaert, in prep.) will expand these results and include examination of mortality of tillers and seedlings.

Results

1. *Temporal distribution of new tillers.* New tillers appeared in greatest numbers during three periods of the year in both populations studied, first in autumn, then with the resumption of growth in spring, and finally in late spring (April–May). *L. sylvestris*, while following this general pattern, produced more tillers during the intervening winter than did *L. latifolius* (Fig. 2). Mortality rate of tillers over the winter is also

lower for *L. sylvestris* than for *L. latifolius* (Hossaert, in prep.).

2. *Temporal distribution of new seedlings.* The total number of new seedlings observed in the transects was very low for both species in both years (Table 1). Some germination was observed in each month of the study, but the greatest number of new seedlings appeared in May and June. No seedling was observed to produce a flowering tiller over the relatively short duration of the study, even in areas of very low density of tillers.

3. *Spatial distribution of tillers and seedlings.* Figures 3 and 4 show the distribution of new tillers over the two years in study populations of *L. latifolius* and *L. sylvestris*, respectively. For the first species, a gradient in density was observed along the slope. Ninety per cent of new tillers were concentrated in the lower half of the transect. The spatial pattern of newly appearing tillers was similar in both years of the study; only a few small between-year variations in tiller density were registered, for example in quadrats 3A and 3B, or in quadrat 18A, where a few new tillers appeared in the upper part of the slope in 1984/85 (Fig. 3).

Newly appearing tillers of *L. sylvestris* were less clumped (Fig. 4). In both years, a gradient in density existed along the slope, density increasing from the top to the third quarter of each transect, then decreasing again to the bottom of the transects. Over 50 per cent of all new tillers appeared in quadrats 7–9 of the transects.

The density of seedlings, like that of new tillers, was greatest in the lower parts of the transects. However, there was no correlation between density of seedlings and of tillers among the quadrats. No seedlings were found in quadrats that were not already occupied by adult *Lathyrus*.

4. *Number of flowering and fruiting tillers.* The proportion of tillers producing flowers and/or fruits is very low for both species, but significantly lower in *L. sylvestris* and in *L. latifolius* (Table 2).

Spatial distribution of flowering tillers is significantly different from that of non-flowering tillers (Hossaert, in prep.). There is no correlation between density of flowering tillers and total tiller density among quadrats (Fig. 5).

While tillers may be produced in many months of the year, only those produced in

May and June have an appreciable probability of flowering (Hossaert, in prep.). Tillers produced earlier, though still alive at this time, do not flower in any numbers.

Discussion

The most striking demographic feature of the two *Lathyrus* populations presented here is the very low number of seedlings appearing in the quadrats. While our data on seed production has not yet been analyzed quantitatively, it is clear that seed production is much higher than the germination rates we have observed (Hossaert, in

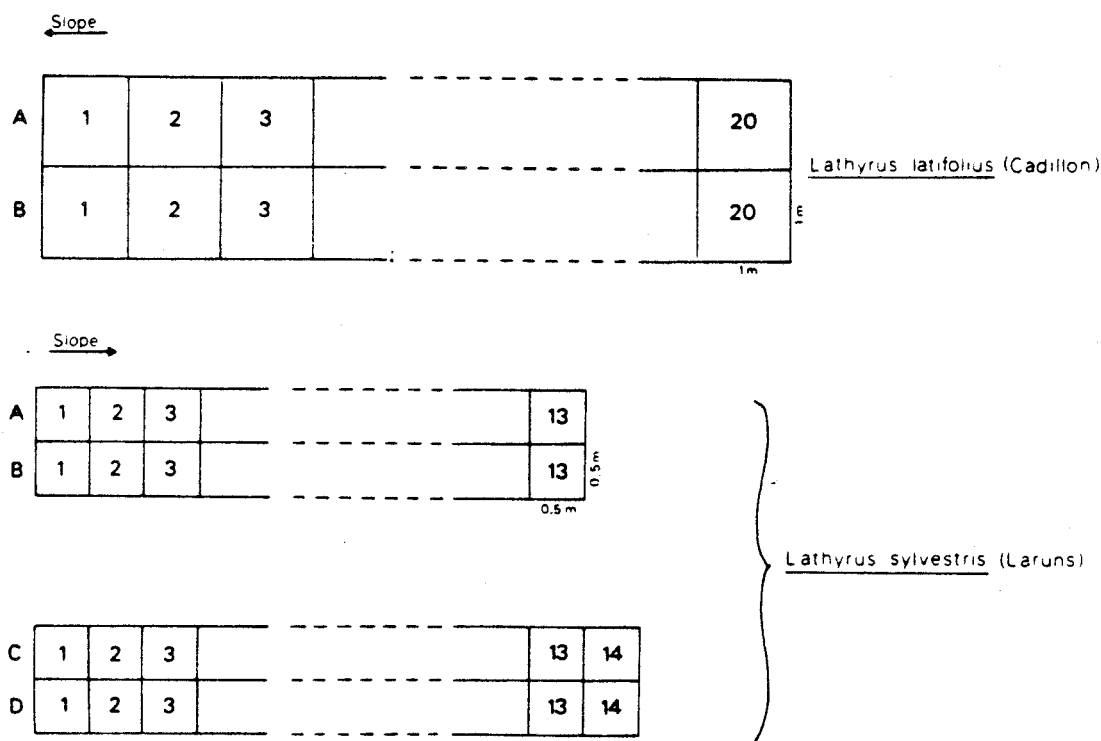


FIGURE 1

Layout of transects and quadrats in the study populations.

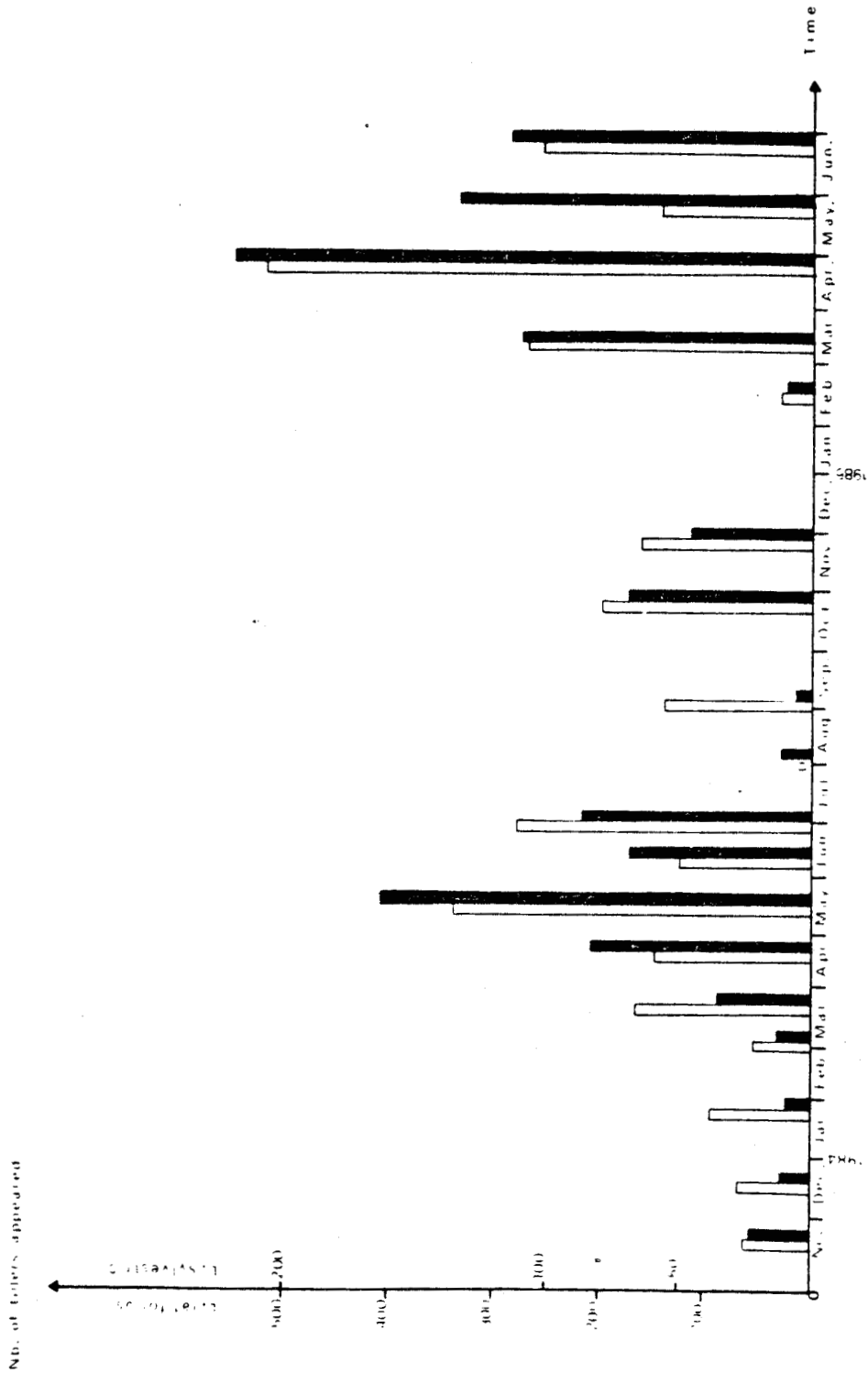


FIGURE 2
Appearance of new tillers over time for *L. sylvestris* (Laruns; 54 x 0.25 m² quadrats; white bars) and *L. latifolius* (Cadillon; 40 x 1 m² quadrats; black bars).



prep.). We suspect that as yet unidentified rodent seed predators are primarily responsible. *Lathyrus* seeds placed in various kinds of traps are removed, and gnawed seed husks are sometimes left behind. Post-dispersal seed predation by rodents have been shown to be important in the seed population dynamics of *Ranunculus* spp. by Sarukhan (1974). Low germinability of seeds, or dormancy coupled with high mortality of dormant seeds, are other possible causes of the low rates of seedling emergency we have observed.

One of the major differences in phenology of tiller production by the two *Lathyrus* species studied is the greater tendency of *L. sylvestris* to produce tillers during the winter. The higher survivorship of winter-produced tillers in this species than in *L. latifolius* indicates that *L. sylvestris* may be more resistant to severe winter conditions. The altitudinal range of *L. sylvestris* is greater than that of *L. latifolius*; it alone occurs in alpine habitats (up to 1800 m elev.) in southwestern France.

The phenology of production of flowering tillers in these two *Lathyrus* species contrasts markedly with that observed in another sexually and vegetatively reproducing perennial, *Bromus tectorum*, by Mack and Pyke (1983). These authors showed that *B. tectorum* produces flowering tillers progressively, enabling the plant to produce seed over several months. In the two *Lathyrus* species examined in this study, there appear to be three distinct cohorts of tillers, only one of which contributes to sexual reproduction. We propose the following interpretation of the annual cycle of tiller production in these plants: The first cohort, produced in fall, functions to accumulate resources in underground parts over the winter and favor vegetative propagation. A second cohort, produced in early spring, assimilates further reserves. The third cohort, produced in late spring, is composed of relatively short-lived tillers (Hossaert, in prep.) that produce flowers and some mature seeds.

Thomas and Dale (1975) showed in *Hieracium floribundum* (Compositae) that

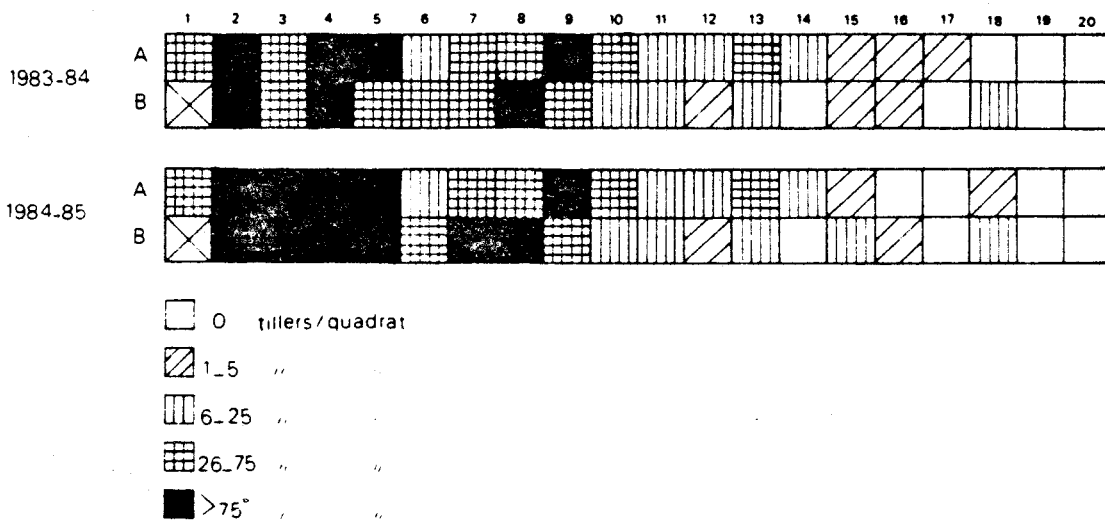


FIGURE 3
Distribution among quadrats of all new tillers of *L. latifolius* (Cadillon;
40 × 1 m² quadrats) over two years.

crowding resulted in a lower proportion of tillers bearing flowers, and interpreted this to mean that competition reduced the amount of reserves available for flower and fruit production by a tiller. In contrast to these authors, we found no relation between tiller density and proportion of tillers producing flowers in these two species of *Lathyrus*.

Our data indicate differences in relative investments in sexual and vegetative reproduction between two closely related species. The data reported in this study on number of tillers producing flowers indicate that *L. latifolius* produces a greater proportion of flowering tillers than does *L. sylvestris*. This

and other differences reported in a previous study (Hossaert and Valero 1985) indicate that relative investment in sexual reproduction is higher in the former species.

Conclusion

Both perennial *Lathyrus* species, that we studied, reproduced both sexually and by vegetative propagation. Both species, especially *L. sylvestris*, channelled many more resources into tiller production than into sexual reproduction, and vegetative propagation contributed much more to demography in the short term than did reproduction via seeds. Understanding why sexual reproduction is still maintained in

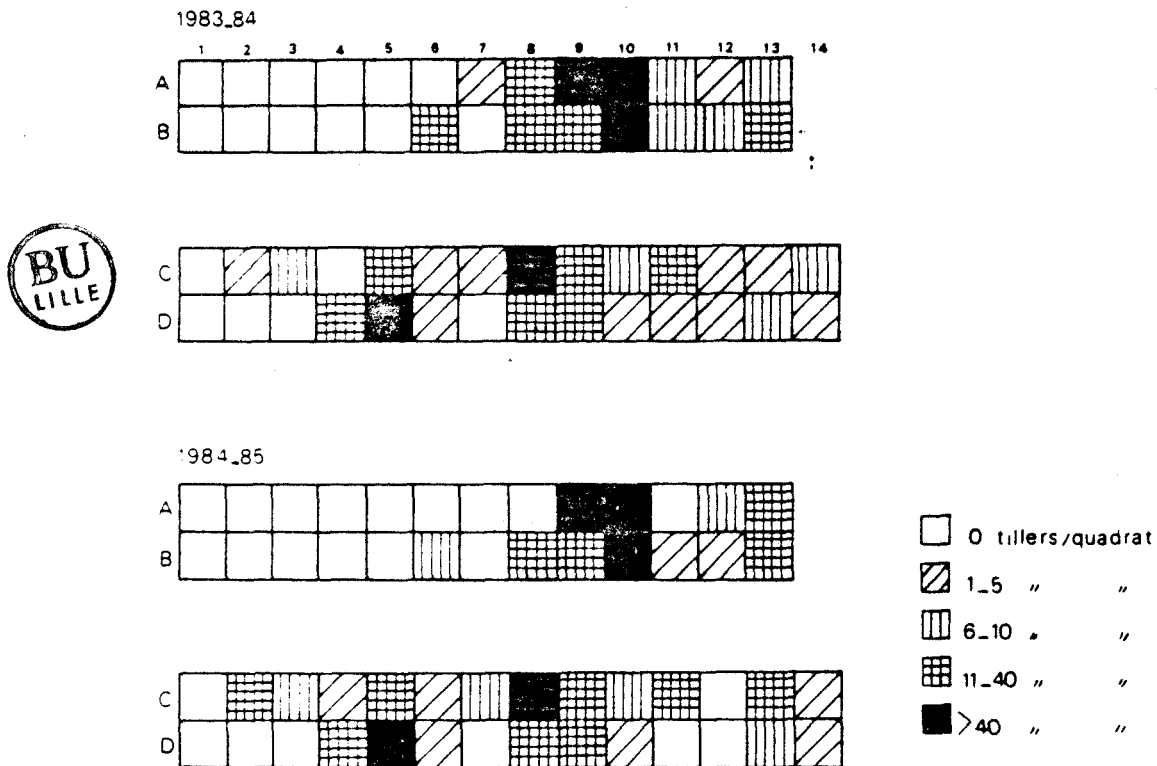


FIGURE 4
Distribution among quadrats of all new tillers of *L. sylvestris* (Laruns;
54 × 0.25 m² quadrats) over two years.

TABLE 1
Number of Seedlings Emerged During Two Years in
Permanent Transects in a Population of *L. latifolius* ($40 \times 1 \text{ m}^2$ quadrats)
and of *L. sylvestris* ($54 \times 0.25 \text{ m}^2$ quadrats)

	Year	
	1983/84 (Nov. '83–Oct. '84)	1984/85 (Nov. '84–Oct. '85)
<i>Lathyrus latifolius</i> (Cadillon)	31	47
<i>Lathyrus sylvestris</i> (Laruns)	10	20

TABLE 2
Proportion of Tillers Producing Flowers and Mature Pods,
Respectively, for *L. latifolius* (Total of 1329 Tillers in 1983/84,
1760 Tillers in 1984/85) and *L. sylvestris* (Total of
588 Tillers in 1983/84, 688 Tillers in 1984/85)

	Year*	Number of Flowering Tillers	Number of Tillers Maturing Pods
<i>Lathyrus latifolius</i> (Cadillon)	1983/84 (Nov. '83–Aug. '84)	253 (19%)	69 (5%)
	1984/85 (Sept. '84–Aug. '85)	244 (14%)	83 (5%)
<i>Lathyrus sylvestris</i> (Laruns)	1983/84 (Nov. '83–Aug. '84)	77 (13%)	5 (1%)
	1984/85 (Sept. '84–Aug. '85)	80 (12%)	26 (4%)

*The discrepancy between Tables 1 and 2 in division of the two years of study is due to differences in the annual cycles of seedling and tiller production.

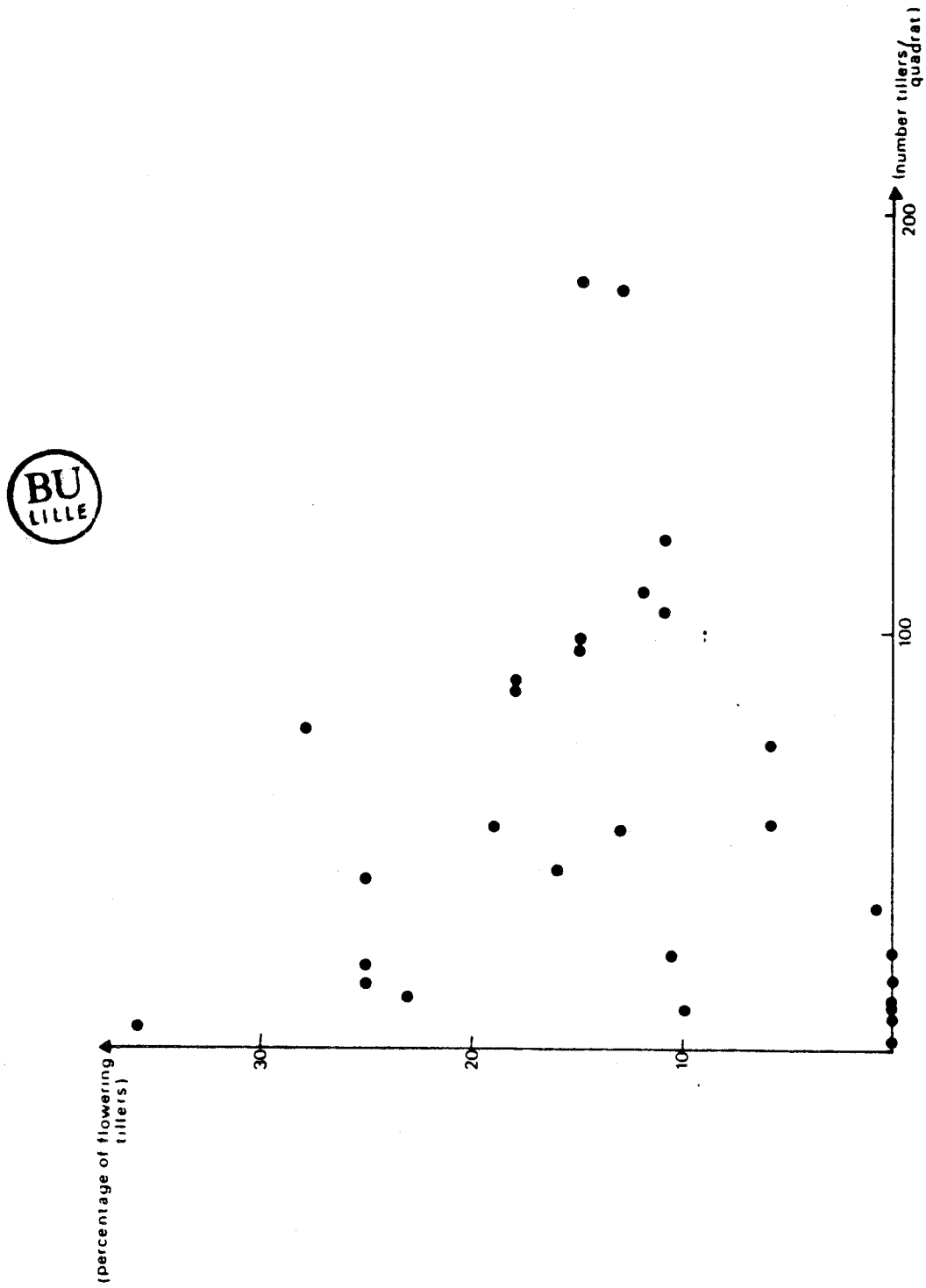


FIGURE 5
Relationship between tiller density and the percentage of flowering tillers in
quadrats of *L. latifolius* in Cadillac (1984/85 field season).

these populations requires a closer examination of the reproductive system of these plants (Valero, *et. al.* this volume).

Acknowledgment

G. Tortray, P. Blanchard, and D. Magda are gratefully acknowledged for

their assistance in the field. Dr. D. Debouzie of the Laboratoire de Biométrie, Université Claude Bernard (Lyon) assisted us in statistical analysis of our data.

References

- Chessel, D. (1978). Description non paramétrique de la dispersion spatiale des individus d'une espèce. Pp. 45-135 in J. M. Legay and R. Tomassone (eds.), *Biométrie et Ecologie*. Soc. Franc. de Biométrie, Paris.
- Chessel, D. (1981). The spatial autocorrelation matrix. *Vegetatio* 46: 177-180.
- Harper, J. L. 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press, London.
- Hossaert, M., and M. Valero. 1985. Differences in population biology within the *Lathyrus sylvestris* group (Leguminosae: Papilionoideae). Pp. 65-76 in J. Haeck and J. W. Woldendorp (eds.), *Structure and functioning of plant populations*, 12. North Holland Publishing Company, Amsterdam.
- Mack, R. N., and D. A. Pyke. 1983. The demography of *Bromus tectorum*: variation in time and space. *J. Ecol.* 71: 69-93.
- Sarukhan, J. 1975. Studies on plant demography: *Ranunculus repens* L., *R. bulbosus* and *R. acris*. II. Reproductive strategies and seed population dynamics. *J. Ecol.* 62: 151-177.
- Thomas, A. G., and H. M. Dale. 1975. The role of seed reproduction in the dynamics of established populations of *Hieracium floribundum* and a comparison with that of vegetative reproduction. *Can. J. Bot.* 53: 3022-3031.

2-2 ETUDE DES CARACTERISTIQUES REPRODUCTRICES DES DEUX ESPECES

COMPARAISON DU SUCCES REPRODUCTEUR DE DEUX ESPECES AFFINES DE
LATHYRUS: L. LATIFOLIUS ET L. SYLVESTRIS.

Myriam VALERO et Martine Hossaert

INTRODUCTION

L'estimation du succès reproducteur des plantes peut être abordée soit par des dénombrements de production totale par individu (de graines, de fruits, de pollen etc...), soit par l'observation des rapports entre ressources allouées à la reproduction sexuée et succès de la reproduction (nombre de fruit/fleur, nombre de graines/fleur etc...). La première méthode présente l'avantage de procurer le succès reproducteur net de l'individu (directement relié à sa valeur sélective) et permet de comparer aisément le succès reproducteur global de deux plantes. La deuxième méthode ne permet pas d'approcher le succès reproducteur brut d'un individu puisqu'elle met en jeu des proportions. En revanche, elle rend compte des stratégies d'investissement des ressources des plantes et est sans doute moins influencée par les conditions extérieures, en particulier par le passé de l'individu.

Cette deuxième méthode a remporté un succès considérable dans les études d'allocation de ressources et de sélection sexuelle. Darwin (1877a et 1877b) a, sans doute, été le premier à

s'interroger et à comprendre la signification du faible rapport: nombre de fruits produits sur nombre de fleurs initiées c'est-à-dire du "gaspillage" dans la production de fleurs chez les plantes. L'étude des causes et des conséquences de la mortalité survenant depuis l'initiation des organes de reproduction jusqu'à la maturité des graines a pris un essor considérable ces dernières années (Lloyd, 1980; Stephenson, 1981; Lee and Bazzaz, 1982a et 1982b; Queller, 1983; Bawa and Webb 1984). Trois hypothèses principales ont été émises pour rendre compte de cette mortalité:

1-Hypothèses sur l'imprédictibilité du milieu:

L'imprédictibilité du milieu entraînerait une sélection en faveur des individus capables de maximiser leur production de pollen ou de graines. Cette variation du milieu peut être schématisée par les deux effets suivants:

- la prédation

La mortalité due à la consommation des fleurs par des herbivores (Heithaus et al., 1982; Hossaert et Valéro, 1985, annexe 1) ou des graines par les insectes (Janzen, 1977; Stephenson, 1981) peut être le facteur principal des taux d'avortement observés chez certaines espèces.

- la pollinisation

Schemske (1980), Bertin (1982) et Travis (1984) ont montré que la non formation des fruits pouvait provenir d'un manque de pollinisateurs; ils ont obtenu une meilleure production de fruits par pollinisations artificielles (à la main) que par

pollinisations libres (pollinisateurs).

- les ressources disponibles sont imprévisibles:

Lloyd (1980), Stephenson (1981) et Nakaruma (1986) suggèrent que les variations inter-individuelles et inter-annuelles de la production de fruits sont le résultat d'une hétérogénéité spatio-temporelle de la distribution des ressources disponibles. Leur argumentation réside dans le fait qu'un apport de nourriture, sous forme d'engrais fertilisant par exemple, entraîne toujours un meilleur rendement dans la production de fruits ou de graines.

2-Hypothèses de la sélection sexuelle:

D'après Charnov (1979 et 1982) et Charlesworth and Charlesworth (1981) un individu hermaphrodite dispose d'une quantité de ressources limitée qu'il peut allouer à la reproduction via la fonction mâle ou femelle. D'après la loi de compensation de Darwin (1877b), le surplus de ressources qu'il va allouer à une des fonctions se fera au détriment de l'autre fonction. Le succès reproductif des mâles et des femelles serait limité par des facteurs différents. Pour les mâles, le facteur limitant principal, est la dispersion de leurs gamètes pour féconder les femelles; tandis que pour les femelles, le facteur principal, est de disposer de suffisamment de ressources pour nourrir leurs embryons. De nombreux auteurs divergent pour déterminer lequel des deux facteurs ("compétition entre mâles"

et "choix par la femelle") joue le rôle le plus important dans la sélection sexuelle chez les plantes:

- **Compétition entre mâles:**

Willson and Price (1977), Lee and Bazzaz (1982a), Bawa and Beach (1981), Queller (1983), Couvet et al. (1985) et Sutherland (1987) montrent que chez les plantes hermaphrodites, entomophiles, l'avortement des fleurs juste après l'anthèse peut être considéré comme la conséquence d'un investissement dans la fonction mâle. La surproduction de fleurs (c'est-à-dire, celles qui ne se développent pas en fruits) correspond en fait, à des fleurs fonctionnellement mâles assurant la production et la dissémination du pollen.

- **Choix maternel:**

Pour Willson and Burley (1983), Stephenson and Bertin (1983), Bawa and Webb (1984), Lee and Bazzaz (1986) et Stephenson and Winsor (1986), l'avortement des fruits ou des graines serait un mécanisme permettant à la mère de réguler la qualité de ces descendants, c'est-à-dire non seulement la qualité du génotype paternel mais aussi la compatibilité des génomes maternels et paternels.

Sutherland (1987) discute de l'importance de ces deux facteurs dans la sélection sexuelle, il suppose que la compétition entre mâles doit être le phénomène majeur pour expliquer la surproduction de fleurs, alors que, en revanche, le choix par la femelle doit être dominant pour rendre compte des avortements qui se produisent dans les fruits qui restent. Il faudrait donc différencier deux niveaux d'étude: l'avortement des fleurs d'une part et, d'autre part, l'avortement dans les fruits.

- Selection sexuelle et régime de la reproduction:

L'investissement dans les fonctions mâle et femelle devrait varier suivant le régime de la reproduction. Chez les plantes autogames, le pollen est moins dispersé que chez les plantes allogames et, d'autre part, la compétition pour le succès de la fécondation se fera surtout entre grains de pollen apparentés; ces deux éléments devraient entraîner un investissement de la plante mère surtout dans la fonction femelle. De fait, il est observé que la production de pollen est supérieure chez les plantes allogames par rapport aux plantes autogames (Cruden, 1977; Lovett Doust and Cavers, 1982; Queller, 1984). Proportionnellement moins de fleurs et moins de fruits sont avortés chez les plantes autogames (Waller, 1979; Schoen, 1982; Sutherland and Delph, 1984; Sutherland, 1986). La fréquence d'avortement des graines dans les fruits est supérieure chez les plantes allogames (Bubar, 1958; Wiens, 1984).

3- D'autres facteurs peuvent être invoqués pour rendre compte de cette surproduction de fleurs et d'ovules: comme les contraintes liées à la dispersion des graines (Mc Key, 1975; Casper and Wiens, 1981).

Nous nous proposons ici, de comparer le succès reproducteur de deux espèces affines de légumineuses (Lathyrus latifolius et sylvestris) qui diffèrent par leur investissement dans la multiplication végétative (Hossaert and Valero, 1986, chapitre 2-1). Nous comparerons dans un premier temps les productions globales et, dans un deuxième temps, nous essayerons

TABLEAU 1 : Nombre d'individus étudiés dans chaque population (les caractéristiques de ces populations sont données dans Valéro et Hossaert (cf. chapitre 1: p. 26).

Espèces	Populations	Situations géographiques	Années	Nombre d'individus étudiés
<u>L.latifolius</u>	L1	Avion (Nord de la France)	1984 (L1-84) 1985 (L1-85)	18 10
	L2	Doué La Fontaine (centre de la France)	1983 (L2-83)	11
	L4	Cadillon (Sud de la France)	1983 (L4-83) 1984 (L4-84)	13 8
<u>L.sylvestris</u>	S1	Pecquencourt (Nord de la France)	1984 (S1-84) 1985 (S1-85)	17 10
	S2	Boulonnais (Nord de la France)	1984 (S2-84)	8
	S3	Helfaut (Nord de la France)	1984 (S3-84)	13
	S4	Laruns (Sud de la France)	1983 (S4-83) 1984 (S4-84)	14 6
	S5	Miguelou (Sud de la France)	1984 (S5-84)	10

TABLEAU 2 : Différentes caractéristiques des provenances cultivées en terrain d'expérience.

Espèces	Provenances	Populations	Nbre d'individus étudiés
<u>L.latifolius</u>	Centre	Doué La Fontaine	5
	Sud	3 populations situées au Sud de la France (Nyons et Mirabel, Drôme et Bedarieux, Hérault)	2 x 3 = 6
<u>L.sylvestris</u>	Nord	Pecquencourt	10

de voir si ces deux espèces diffèrent dans leur stratégie reproductrice.

MATERIEL ET METHODES

1) STATIONS ETUDIEES

a) Les populations naturelles

Trois populations naturelles de L. latifolius et cinq de L. sylvestris ont été étudiées (tableau 1). Elles sont distribuées du Nord au Sud de la France. Certaines d'entre elles ont été suivies deux années consécutives. Environ 10 individus par population ont été étudiés.

De part l'existence d'une forte multiplication végétative chez les individus des deux espèces, nous ne pouvions pas connaître la taille exacte des plantes dans les populations, l'échantillonnage a donc été effectué sur une tige par individu.

b) Plantes étudiées en terrain d'expérience

Une quinzaine de plantes provenant de graines récoltées dans des populations de L. latifolius du Sud et du Centre de la France et une dizaine d'individus issus de graines prélevées dans une population de L. sylvestris du Nord de la France (tableau 2) ont été étudiés pour comparer les résultats obtenus in situ avec ceux

observés dans des conditions environnementales identiques.

2) CARACTERES MESURES

a) En populations naturelles

A la fin de la floraison, une tige par individu a été récoltée dans chaque population pour estimer le succès reproducteur global des individus d'une part, et pour mesurer, d'autre part, leur rapport entre ressources allouées à la reproduction et succès reproductif. Sur chacune des tiges il a été dénombré:

- Le nombre de ramifications (la tige principale peut se ramifier en donnant des tiges secondaires qui peuvent se ramifier à leur tour en donnant des tiges tertiaires. Le total de ces ramifications d'ordre secondaire ou tertiaire a été compté).

- Le nombre d'inflorescences par ramification.

- Le nombre de boutons floraux et de gousses par inflorescence (les boutons laissent une cicatrice sur l'inflorescence ce qui permet de les dénombrer même quand la floraison est terminée).

- Le nombre de graines et d'ovules par gousse.

L'estimation du succès reproductif global a été mesuré par les six caractères suivants:

- 1- Le nombre total de ramifications sur la tige caractérisant la croissance des individus.

- 2- Le nombre total d'inflorescences sur la tige.
- 3- Le nombre total de boutons floraux portés par la tige.
- 4- Le nombre total d'ovules produit par la tige en multipliant le nombre d'ovules par gousse par le nombre total de boutons floraux.
- 5- Le nombre total de gousses portées par la tige.
- 6- Le nombre total de graines produites par la tige.

L'allocation des ressources à la reproduction a été déterminé pour chaque individu par les trois variables suivantes:

- 7- La moyenne du nombre de fruit par bouton floral, calculée en divisant le nombre de fruits / inflorescence par le nombre de boutons floraux / inflorescence. Ce rapport caractérise la réussite de la pollinisation ou l'importance de l'investissement dans la fonction mâle.
- 8- La moyenne du nombre de graine par ovule, calculée en divisant le nombre de graines / gousse par le nombre d'ovules / gousse. Ce rapport caractérise la réussite de la fécondation et le choix des génotypes paternels par la mère.
- 9- La moyenne du nombre de graines par bouton floral, calculée en multipliant le nombre de graines / gousse par le nombre de gousse / bouton floral. Ce rapport tient compte des deux composantes mâle et femelle intervenant dans l'allocation des ressources à la reproduction.

Le succès reproducteur des individus sera comparé aux différents niveaux: intra-population, inter-populations, inter-écotypes et inter-spécifiques par des comparaisons de moyennes (test t) et par une analyse de variance hiérarchisée à quatre niveaux (espèce, écotype, population et année) (Sokal et Rolf, 1981). D'autre part, l'importance respective de la variation de ces neuf caractères est mesurée par le coefficient de variation.

b) En terrain d'expérience

Le devenir des boutons floraux jusqu'à la maturation des fruits a été suivi plus précisément pour connaître leur moment d'abscission sur les individus de L. latifolius. Entre le stade bouton (BT) et le stade gousse mûre (G4), on a défini plusieurs stades intermédiaires (fleur épanouie (FE), fleur fanée (FF), gousse en formation (G1), gousse en élongation (G2) et gousse en renflement (G3)). Le pourcentage de survie des boutons a pu être calculé à chacun des stades pour les individus étudiés.

D'autre part, le succès reproductif des individus a été estimé chez les deux espèces par le calcul des rapports: nombre de fruit par bouton floral, nombre de graine par ovule et nombre de graines par bouton floral.

Ces résultats seront comparés à ceux obtenus en populations naturelles.

RESULTATS

1) PRODUCTION GLOBALE

Les moyennes des productions globales dans chaque population ont été calculées pour les 6 variables (tableaux 3a: chez L. latifolius et 3b: chez L. sylvestris). Les moyennes pour les différents écotypes et pour chaque espèce sont données (tableau 4). Les résultats de l'analyse de variance hiérarchisée sont regroupés dans le tableau 5.

La variabilité intra-population est donnée par le coefficient de variation (tableaux 3a et 3b). En faisant les moyennes des coefficients de variation sur les 6 variables pour chacune des populations, on a une estimation de la variabilité phénotypique inter-individuelle de la production globale dans chacune des populations (tableau 6). La variabilité intra-population a tendance à être plus importante dans les populations du Nord de la France que dans celles du Sud chez L. latifolius. Il semble aussi que d'une manière générale, les populations de L. latifolius sont légèrement plus variables que celles de L. sylvestris.

TABLEAUX 3 : Productions globales observées chez les deux espèces

Tableau 3a: Productions globales dans les différentes populations de *Lathyrus latifolius*:

Populations	N	Nombre de Ramifications	Nombre d'Inflorescences	Nombre de Boutons Floraux	Nombre d'Ovules	Nombre de Fruits	Nombre de Graines
L1 84	18	4.78 ± 0.92 (81.40 ± 20.69)	20.50 ± 6.18 (127.91 ± 44.06)	258.28 ± 84.25 (138.39 ± 50.69)	5178.51 ± 1711.95 (140.26 ± 51.93)	24.61 ± 5.12 (88.31 ± 23.55)	168.85 ± 39.97 (100.45 ± 29.08)
L1 85	10	5.00 ± 1.19 (75.42 ± 24.66)	34.10 ± 14.17 (131.40 ± 62.00)	382.00 ± 163.92 (135.69 ± 65.66)	7399.46 ± 3153.28 (134.76 ± 64.85)	51.20 ± 23.66 (146.11 ± 75.00)	262.29 ± 124.11 (149.64 ± 78.32)
L1*	2	4.89 ± 0.11 (3.62 ± 1.81)	27.30 ± 6.80 (39.63 ± 19.82)	320.14 ± 61.86 (30.74 ± 15.37)	6288.99 ± 1110.48 (24.98 ± 13.24)	37.91 ± 13.29 (55.80 ± 27.90)	215.57 ± 46.75 (34.48 ± 17.24)
L2 83	11	1.45 ± 0.21 (47.27 ± 12.12)	9.18 ± 1.36 (49.15 ± 12.76)	89.27 ± 13.46 (50.01 ± 13.06)	1728.29 ± 270.56 (51.92 ± 13.73)	8.55 ± 1.88 (72.96 ± 22.35)	28.56 ± 8.71 (101.19 ± 37.66)
L4 83	13	1.54 ± 0.33 (78.89 ± 22.73)	9.92 ± 1.93 (70.24 ± 19.42)	92.92 ± 16.97 (65.83 ± 17.64)	1788.60 ± 326.15 (65.75 ± 17.61)	3.31 ± 0.93 (100.56 ± 34.29)	4.38 ± 2.47 (202.89 ± 120.84)
L4 84	8	1.13 ± 0.13 (31.43 ± 8.59)	11.13 ± 1.04 (26.51 ± 7.08)	107.50 ± 12.54 (33.00 ± 9.10)	2038.19 ± 259.04 (35.95 ± 10.08)	3.63 ± 1.07 (83.33 ± 32.20)	14.34 ± 4.59 (90.64 ± 36.84)
L4*	2	1.33 ± 0.21 (24.70 ± 12.35)	10.52 ± 0.60 (9.09 ± 4.54)	100.21 ± 7.29 (11.57 ± 5.79)	1913.40 ± 124.79 (24.97 ± 13.24)	3.47 ± 0.16 (7.28 ± 3.64)	9.36 ± 4.98 (84.58 ± 42.29)

Tableau 3b: Productions globales dans les différentes populations de *Lathyrus sylvestris*:

Populations	N	Nombre de Ramifications	Nombre d'Inflorescences	Nombre de Boutons Floraux	Nombre d'Ovules	Nombre de Fruits	Nombre de Graines
S1 84	17	6.50 ± 0.78 (49.78 ± 10.44)	22.97 ± 7.27 (40.77 ± 8.07)	136.77 ± 13.31 (40.11 ± 7.91)	1728.08 ± 179.20 (42.76 ± 8.57)	6.46 ± 1.19 (75.89 ± 19.09)	16.05 ± 2.65 (67.94 ± 16.16)
S1 85	10	7.18 ± 1.38 (60.80 ± 17.93)	23.35 ± 5.13 (69.50 ± 21.79)	156.64 ± 48.10 (97.10 ± 36.88)	1956.18 ± 581.05 (93.93 ± 34.92)	20.09 ± 5.62 (88.40 ± 31.65)	59.70 ± 17.96 (95.13 ± 35.66)
S1*	2	6.84 ± 0.34 (7.95 ± 3.97)	23.15 ± 0.19 (1.29 ± 0.64)	146.70 ± 9.93 (10.77 ± 5.39)	1842.13 ± 114.05 (8.76 ± 4.41)	13.27 ± 6.82 (81.73 ± 40.86)	37.88 ± 21.82 (91.66 ± 45.83)
S2 84	8	8.63 ± 1.24 (40.61 ± 11.71)	35.50 ± 6.18 (49.21 ± 14.99)	214.75 ± 39.11 (51.52 ± 15.93)	2567.27 ± 473.25 (52.14 ± 16.20)	12.00 ± 2.39 (56.34 ± 16.01)	58.88 ± 13.80 (66.30 ± 22.72)
S3 84	13	19.00 ± 6.44 (112.44 ± 45.03)	27.21 ± 8.78 (107.02 ± 41.39)	182.48 ± 50.48 (91.75 ± 32.04)	2234.57 ± 595.18 (88.34 ± 30.14)	14.13 ± 3.77 (88.64 ± 30.31)	57.20 ± 17.45 (101.17 ± 37.65)
S4 83	14	30.57 ± 5.48 (67.09 ± 17.48)	100.29 ± 19.09 (71.21 ± 19.10)	329.92 ± 66.10 (74.96 ± 20.64)	3852.96 ± 773.77 (75.14 ± 20.72)	6.03 ± 1.38 (85.54 ± 25.37)	15.78 ± 4.77 (113.23 ± 40.40)
S4 84	6	25.50 ± 5.19 (49.90 ± 17.63)	95.43 ± 17.57 (45.10 ± 15.54)	290.38 ± 47.81 (40.33 ± 13.40)	3710.78 ± 663.36 (43.79 ± 14.87)	8.57 ± 3.31 (94.67 ± 45.67)	28.38 ± 13.47 (116.29 ± 64.61)
S4*	2	28.04 ± 2.54 (14.39 ± 7.19)	97.86 ± 2.43 (3.95 ± 1.97)	310.15 ± 19.77 (10.14 ± 5.07)	3781.87 ± 71.09 (2.66 ± 1.33)	7.29 ± 1.27 (27.65 ± 13.82)	22.08 ± 6.30 (45.40 ± 22.70)
S5 84	10	7.60 ± 1.77 (73.44 ± 23.68)	24.60 ± 5.36 (68.89 ± 21.50)	79.00 ± 16.85 (67.43 ± 20.83)	1087.04 ± 242.06 (70.42 ± 22.22)	3.00 ± 0.73 (76.98 ± 25.44)	7.21 ± 2.35 (103.09 ± 40.75)

*: Moyenne sur les deux années

N: Nombre d'individus étudiés.

Pour chaque population, la première ligne de chiffres représente la moyenne des individus ± l'erreur standard; la deuxième ligne avec les chiffres écrits entre parenthèses correspond au coefficient de variation (exprimé en pourcentage) ± l'erreur standard.



La variation inter-annuelle n'est pas significative (tableau 5) excepté pour la production du nombre de fruits par individu. Ce résultat est confirmé par la faible valeur des coefficients de variation calculés sur les moyennes inter-annuelles (tableaux 3 et 6).

Les différences entre populations sont relativement faibles en ce qui concerne la production de boutons floraux et d'ovules. L'analyse de variance (tableau 5) montre que ces deux variables sont non discriminantes à tous les niveaux d'étude. L'observation des moyennes (tableaux 3a et 3b) révèle que chez L. latifolius les populations du Nord ont tendance à produire plus de boutons floraux et d'ovules que les populations du Sud, bien que les différences ne soient pas significatives. Chez L. sylvestris, aucune tendance de ce type n'est observée; au contraire, les différences les plus importantes apparaissent entre deux populations du Sud: S4 ayant une production significativement plus élevée que S5.

En revanche, pour les autres variables, il existe des différences importantes entre populations. L'analyse de variance montre que les populations diffèrent significativement suivant leur production de ramifications et d'inflorescences par individu (tableau 5: 41 à 45 % de la variance est expliquée par le niveau population pour ces deux variables). Les populations de L. latifolius, et tout particulièrement celles du Centre et du Sud, produisent moins de ramifications et d'inflorescences par individu que celles de L. sylvestris (tableaux 3a et 3b). Chez la première espèce, ce sont les individus de la population du Nord



TABLEAU 4 : Moyennes des productions globales pour les espèces et les écotypes

	ESPECES		ECOTYPES				
	<u>L.latifolius</u>	<u>L.sylvestris</u>	<u>L.latifolius</u>			<u>L.sylvestris</u>	
			Nord	Centre	Sud	Nord	Sud
N	3	5	1	1	1	3	2
Nbre de ramifications	2.56±1.47 (85.50±34.91)	14.02±4.14 (69.36±21.93)	4.89	1.45	1.33	11.49±3.79 (61.91±25.27)	17.82±10.22 (91.24±45.61)
Nbre d'inflorescences	15.67±5.83 (69.80±28.50)	41.67±14.21 (80.07±25.32)	27.30	9.18	10.52	28.62±3.63 (23.81±13.74)	61.23±36.63 (95.18±47.59)
Nbre de Boutons floraux	169.87±75.20 (83.06±33.91)	186.62±38.24 (48.11±15.21)	320.14	89.27	100.21	181.31±19.65 (20.34±10.17)	194.58±115.58 (94.50±47.25)
Nbre d'ovules	3310.22±1490.34 (77.98±47.39)	2302.58±444.55 (43.17±16.00)	6288.99	1728.29	1913.40	2214.66±209.57 (16.39±6.87)	2434.46±1347.42 (78.27±58.38)
Nbre de fruits	16.64±10.74 (121.04±60.52)	9.94±2.10 (49.56±15.67)	37.91	8.55	3.47	13.14±0.62 (8.85±3.61)	5.15±2.15 (66.42±33.21)
Nbre de graines	84.59±65.77 (146.05±59.63)	36.65±9.99 (64.01±20.24)	215.57	28.56	9.36	51.32±6.74 (24.64±10.06)	14.65±7.43 (80.73±40.37)

N : nombre de populations étudiées

Pour chaque variable, la première ligne représente la moyenne des populations ± l'erreur standard; la deuxième ligne avec les chiffres écrits entre parenthèses correspond au coefficient de variation (exprimé en pourcentage) ± l'erreur standard.

TABLEAU 5 : Analyse de variance hiérarchisée à 4 niveaux (espèce, écotype, population et année) sur les productions globales.

	Espèce		Ecotype		Population		Année		Résiduelle
	F _(1.3)	% variance	F _(3.3)	% variance	F _(3.4)	% variance	F _(4.24)	% variance	% variance
Nbre de ramifications	5.00 (ns)	21.28	0.64 (ns)	0	50.64 (P<5°/ooo)	41.14	0.29 (ns)	0	37.58
Nbre d'inflorescences	1.75 (ns)	7.00	1.20 (ns)	0	38.77 (P<5°/ooo)	44.94	0.33 (ns)	0	48.06
Nbre de boutons floraux	0.00 (ns)	0	1.77 (ns)	4.36	5.11 (ns)	13.81	0.54 (ns)	0	81.83
Nbre d'ovules	0.71 (ns)	0	5.04 (ns)	14.11	2.20 (ns)	3.57	0.49 (ns)	0	82.32
Nbre de gousses	0.62 (ns)	0	89.78 (P<5°/ooo)	24.60	0.03 (ns)	0	2.75 (P<5%)	10.38	65.01
Nbre de graines	0.93 (ns)	0	64.25 (P<5°/ooo)	31.63	0.16 (ns)	0	1.09 (ns)	0.56	67.82

ns : non significatif

P<5% : significatif pour P<5%

P<5°/ooo : significatif pour P<5°/ooo



TABLEAU 6: Moyennes, pour chaque population, des coefficients de variation calculés sur les productions globales

Populations	N	Moyennes ^a des Coefficients de Variation
L1 84	6	112.79 ± 10.61
L1 85	6	128.84 ± 11.07
L1*	6	31.54 ± 7.04
L2 83	6	62.08 ± 8.72
L4 83	6	97.36 ± 21.77
L4 84	6	50.14 ± 11.76
L4*	6	27.03 ± 11.93
S1 84	6	52.88 ± 6.27
S1 85	6	84.14 ± 6.22
S1*	6	33.69 ± 16.86
S2 84	6	52.69 ± 3.46
S3 84	6	98.23 ± 4.16
S4 83	6	81.20 ± 6.88
S4 84	6	65.01 ± 13.16
S4*	6	17.37 ± 6.71
S5 84	6	76.71 ± 5.46

*: Moyennes sur les deux années.

^a: Moyennes ± erreurs standards.

N: Nombre de variables étudiées (cf. tableaux 3a et 3b).



qui se ramifient le plus et ont tendance à produire le plus d'inflorescences. Chez la deuxième espèce la situation est moins claire, les deux populations du Sud se différencient significativement, S4 montrant des individus à production plus forte que ceux de S5. Cependant, en moyenne, les individus du Sud se ramifieraient plus et produiraient un plus grand nombre d'inflorescences que ceux du Nord. La variation inter-écotypes se ferait donc en sens opposé suivant les espèces (tableau 4).

En ce qui concerne la production de fruits et de graines, l'analyse de variance montre que le niveau population n'est pas significatif, la divergence pour ces caractères se manifestant au niveau écotype (tableau 5). Les tableaux 3 et 4 révèlent que chez les deux espèces, le nombre de fruits et de graines produits par tige est plus important dans les écotypes du Nord. Les moyennes des populations du Nord d'une part, et du Sud d'autre part, ne sont pas significativement différentes entre espèces; mais la différence entre populations Nord-Sud est significative quelle que soit l'espèce. Cette production de fruits et de graines paraît dramatiquement faible dans les populations du Sud puisque seulement 4 à 5 fruits et 9 à 15 graines sont produits sur une tige en moyenne.

Ces résultats montrent donc que la différence entre les deux espèces varie suivant les variables étudiées et provient essentiellement des niveaux inférieurs de l'analyse c'est-à-dire de différences inter-populations ou inter-écotypes (tableau 5). La production de ramifications et d'inflorescences par tige est inférieure chez L. latifolius alors que la production de boutons

TABLEAUX 7 : Productions relatives chez les deux espèces

Tableau 7a: Productions relatives dans les différentes populations de L. latifolius:

Populations	N	Nombre de Fruit par Bouton Floral	Nombre de Graine par Ovule	Nombre de Graines par Bouton Floral
L1 84	18	0.135 ± 0.016 (49.24 ± 10.00)	0.334 ± 0.017 (21.01 ± 3.65)	0.869 ± 0.104 (50.71 ± 10.40)
L1 85	10	0.134 ± 0.012 (28.37 ± 6.83)	0.295 ± 0.030 (32.27 ± 7.93)	0.765 ± 0.104 (42.63 ± 11.13)
L1*	2	0.135 ± 0.002 (0.16 ± 0.08)	0.315 ± 0.020 (8.77 ± 4.42)	0.817 ± 0.052 (9.04 ± 4.56)
L2 83	11	0.093 ± 0.018 (63.68 ± 18.27)	0.166 ± 0.035 (70.76 ± 21.34)	0.335 ± 0.105 (103.98 ± 39.42)
L4 83	13	0.052 ± 0.018 (121.42 ± 47.32)	0.043 ± 0.020 (166.49 ± 83.52)	0.036 ± 0.022 (224.38 ± 146.41)
L4 84	8	0.032 ± 0.008 (68.70 ± 23.95)	0.222 ± 0.050 (63.30 ± 21.24)	0.013 ± 0.040 (90.10 ± 36.49)
L4*	2	0.042 ± 0.010 (33.02 ± 18.22)	0.133 ± 0.089 (95.17 ± 79.79)	0.024 ± 0.012 (68.30 ± 47.48)

TABLEAU 7b: Productions relatives dans les différentes populations de L. sylvestris:

Populations	N	Nombre de Fruit par Bouton Floral	Nombre de Graine par Ovule	Nombre de Graines par Bouton Floral
S1 84	17	0.045 ± 0.005 (44.71 ± 9.07)	0.206 ± 0.017 (34.20 ± 6.51)	0.118 ± 0.016 (57.24 ± 12.63)
S1 85	10	0.172 ± 0.041 (75.56 ± 24.73)	0.226 ± 0.021 (28.85 ± 6.96)	0.512 ± 0.170 (103.74 ± 41.18)
S1*	2	0.108 ± 0.064 (82.99 ± 63.98)	0.216 ± 0.010 (6.51 ± 3.29)	0.315 ± 0.197 (88.30 ± 70.64)
S2 84	8	0.055 ± 0.004 (22.02 ± 5.77)	0.390 ± 0.034 (24.79 ± 6.57)	0.263 ± 0.032 (34.84 ± 9.71)
S3 84	13	0.081 ± 0.011 (44.19 ± 11.11)	0.320 ± 0.035 (36.11 ± 8.65)	0.297 ± 0.045 (49.98 ± 13.05)
S4 83	14	0.021 ± 0.003 (52.87 ± 12.48)	0.207 ± 0.020 (35.62 ± 7.54)	0.473 ± 0.007 (55.35 ± 13.28)
S4 84	6	0.025 ± 0.007 (70.97 ± 29.03)	0.180 ± 0.047 (63.53 ± 24.66)	0.077 ± 0.033 (103.65 ± 53.09)
S4*	2	0.023 ± 0.002 (14.22 ± 7.25)	0.195 ± 0.016 (10.93 ± 5.53)	0.062 ± 0.015 (33.91 ± 18.80)
S5 84	10	0.051 ± 0.013 (79.12 ± 26.55)	0.144 ± 0.051 (112.67 ± 47.39)	0.075 ± 0.024 (102.27 ± 40.21)

*: Moyenne sur les deux années

N: Nombre d'individus étudiés.

Pour chaque population, la première ligne de chiffres représente la moyenne des individus ± l'erreur standard; la deuxième ligne avec les chiffres écrits entre parenthèses correspond au coefficient de variation (exprimé en pourcentage) ± l'erreur standard.

floraux ou d'ovules par tige est semblable chez les deux espèces (tableau 4). Ceci vient du fait que L. latifolius présente un nombre moyen de boutons floraux par inflorescence et d'ovules par gousse supérieur à L. sylvestris (Valero et Hossaert, en prep., chapitre 1). En revanche, la production de fruits ou de graines a tendance à être plus importante chez L. latifolius que chez L. sylvestris (tableau 4).

2) ALLOCATION DES RESSOURCES A LA REPRODUCTION

a) En populations naturelles

Les moyennes des productions relatives (nombre de fruit et de graines par bouton floral et nombre de graine par ovule) sont données pour chaque population dans les tableaux 7a (L. latifolius) et 7b (L. sylvestris) et, pour les différents écotypes et espèces dans le tableau 8. Les résultats de l'analyse de variance hiérarchisée à quatre niveaux sont regroupés dans le tableau 9.

La variabilité intra-population pour ces trois variables (coefficients de variation: tableaux 7a et 7b) semble aussi importante que celle observée précédemment sur les productions globales. Mais, contrairement à ce qu'on avait obtenu auparavant, chez L. latifolius, il semble que ce soit les populations du Sud qui soient le plus variables (tableau 10). Les deux espèces présentent en moyenne les mêmes variations à l'intérieur des populations.

TABLEAU 8: Moyennes des productions relatives pour les espèces et les écotypes

	ESPECES		ECOTYPES				
	<u>L.latifolius</u>	<u>L.sylvestris</u>	<u>L.latifolius</u>			<u>L.sylvestris</u>	
			Nord	Centre	Sud	Nord	Sud
N	3	5	1	1	1	3	2
Nbre de fruit par bouton floral	0.09±0.03 (51.34±25.90)	0.06±0.01 (51.03±19.90)	0.13	0.09	0.04	0.08±0.02 (32.93±14.83)	0.04±0.01 (53.35±33.42)
Nbre de graine par ovule	0.20±0.06 (47.44±23.32)	0.21±0.03 (31.38±10.86)	0.31	0.17	0.13	0.24±0.04 (30.42±13.52)	0.17±0.03 (21.12±11.01)
Nbre de graines par bouton floral	0.39±0.23 (110.30±45.03)	0.16±0.05 (76.10±35.35)	0.82	0.34	0.02	0.22±0.01 (57.26±30.08)	0.07±0.01 (13.40±6.82)

N : nombre de populations étudiées

Pour chaque variable, la première ligne représente la moyenne des populations
± l'erreur standard; la deuxième ligne avec les chiffres écrits entre parenthèses
correspond au coefficient de variation (exprimé en pourcentage) ± l'erreur standard.



TABLEAU 9 : Analyse de variance hiérarchisée à 4 niveaux (espèce, écotype, population et année) pour les productions relatives.

	Espèce		Ecotype		Population		Année		Résiduelle
	F(1.3)	% variance	F(3.3)	% variance	F(3.4)	% variance	F(4.24)	% variance	% variance
Fruit/fleur	0.75 (ns)	0	10.39 (P<5%)	28.15	0.18 (ns)	0	8.84 (P<5°/oooo)	29.99	41.86
Graine/ovule	0.04 (ns)	0	2.84 (ns)	25.22	1.91 (ns)	14.67	4.49 (P<1°/oo)	14.53	45.57
Graines/fleur	1.02 (ns)	0	680.89 (P<5°/oooo)	59.97	0.01 (ns)	0	3.89 (P<1°/oo)	9.19	34.84

ns : non significatif

P<5% : significatif pour P<5%

P<1°/oo : " " " P<1°/oo

P<5°/oooo : " " " P<5°/oooo



TABLEAU 10 : Moyennes pour chaque population, des coefficients de variation (%) calculés sur les productions relatives

Populations	N	Moyennes ^a des coefficients de variations
L184	3	40.32 ± 9.66
L185	3	34.42 ± 4.25
L1*	3	5.99 ± 2.92
L283	3	79.47 ± 12.42
L483	3	170.76 ± 29.80
L484	3	74.03 ± 8.18
L4*	3	65.50 ± 18.00
S184	3	45.38 ± 6.66
S185	3	69.38 ± 21.84
S1*	3	59.27 ± 26.42
S284	3	27.22 ± 3.89
S384	3	43.43 ± 4.02
S484	3	79.38 ± 12.32
S4*	3	19.69 ± 7.17
S584	3	98.02 ± 9.92

* : Moyennes sur les deux années

a : Moyennes ± erreur standard

N : Nombre de variables étudiées (cf. Tableau 7a et 7b)



La différence inter-annuelle dans les productions relatives est significative (tableau 9) pour les 3 variables étudiées. C'est dans la population L1 (latifolius du Nord) que cette variabilité annuelle est la plus faible (tableau 7a).

Le rapport nombre de graine par ovule varie peu d'une population à l'autre même lorsque l'on compare les populations au niveau inter-spécifique (tableaux 7a, 7b et 9). Chez les deux espèces, il est compris entre 15 et 35%. Seule la population L4-83 se distingue des autres avec une réussite de la fécondation encore plus faible: 4%.

Les rapports nombre de fruit et nombre de graines par bouton floral varient significativement suivant les écotypes (tableaux 8 et 9). Chez les deux espèces, ils sont plus élevés dans les populations du Nord que dans celles du Sud, mais cette différence est plus tranchée chez L. latifolius (tableaux 7a et 7b).

Les résultats montrent donc, comme pour la production globale, que la différence entre les deux espèces dans l'allocation des ressources à la reproduction, varie suivant les variables considérées et provient essentiellement du niveau inférieur de l'analyse: niveau écotype (tableau 9). La réussite de la fécondation des ovules dans les gousses (nombre de graine par ovule: tableau 8) est tout à fait semblable chez les deux espèces et paraît relativement faible (20%). En revanche, pour les deux autres rapports étudiés, même si les différences essentielles s'expriment au niveau écotype, les moyennes au

TABLEAU 11 : Moyenne des productions relatives pour les individus cultivés en terrain d'expérience

	<u>L.LATIFOLIUS</u>		<u>L.SYLVESTRIS</u>
	Centre*	Sud	Nord**
N	5	6	10
Nbre de fruit par bouton floral	0.208±0.069 (78.43±24.80)	0.185±0.026 (35.65±10.29)	0.340±0.069 (65.70±14.69)
Nbre de graine par ovule	0.266±0.075 (65.75±20.79)	0.325±0.021 (16.33±4.71)	0.195±0.042 (70.09±15.67)
Nbre de graines par bouton floral	1.265±0.603 (111.83±35.36)	0.994±0.152 (38.98±11.25)	0.895±0.300 (104.98±23.47)

N : Nombre d'individus étudiés

Pour chaque variable, la première ligne représente la moyenne des individus ± l'erreur standard ; la deuxième ligne avec les chiffres écrits entre parenthèses correspond au coefficient de variation (exprimé en %) ± l'erreur standard.

* : Ces individus proviennent de graines récoltées dans la population L2

** : Ces individus proviennent de graines récoltées dans la population S1.

TABLEAU 12 : Analyse de variance hiérarchisée à 2 niveaux (espèce et provenance) pour les productions relatives des individus cultivés en terrain d'expérience.

	ESPECE		PROVENANCE		RESIDUELLE
	F(1.1)	% variance	F(1.18)	% variance	% variance
Nbre de fruit par bouton floral	76.49 (ns)	25.48	0.04 (ns)	0	74.53
Nbre de graine par ovule	5.97 (ns)	20.90	0.51 (ns)	0	79.30
Nbre de graines par bouton floral	1.28 (ns)	3.79	0.20 (ns)	0	96.21

ns : non significatif



niveau espèce montrent (tableau 8) que L. latifolius produit plus de fruit et surtout, de graines par bouton floral (9% et 39% respectivement) que L. sylvestris (6% et 16% respectivement). Ces résultats révèlent surtout des taux d'avortement de fruits et de graines considérablement élevés chez les deux espèces.

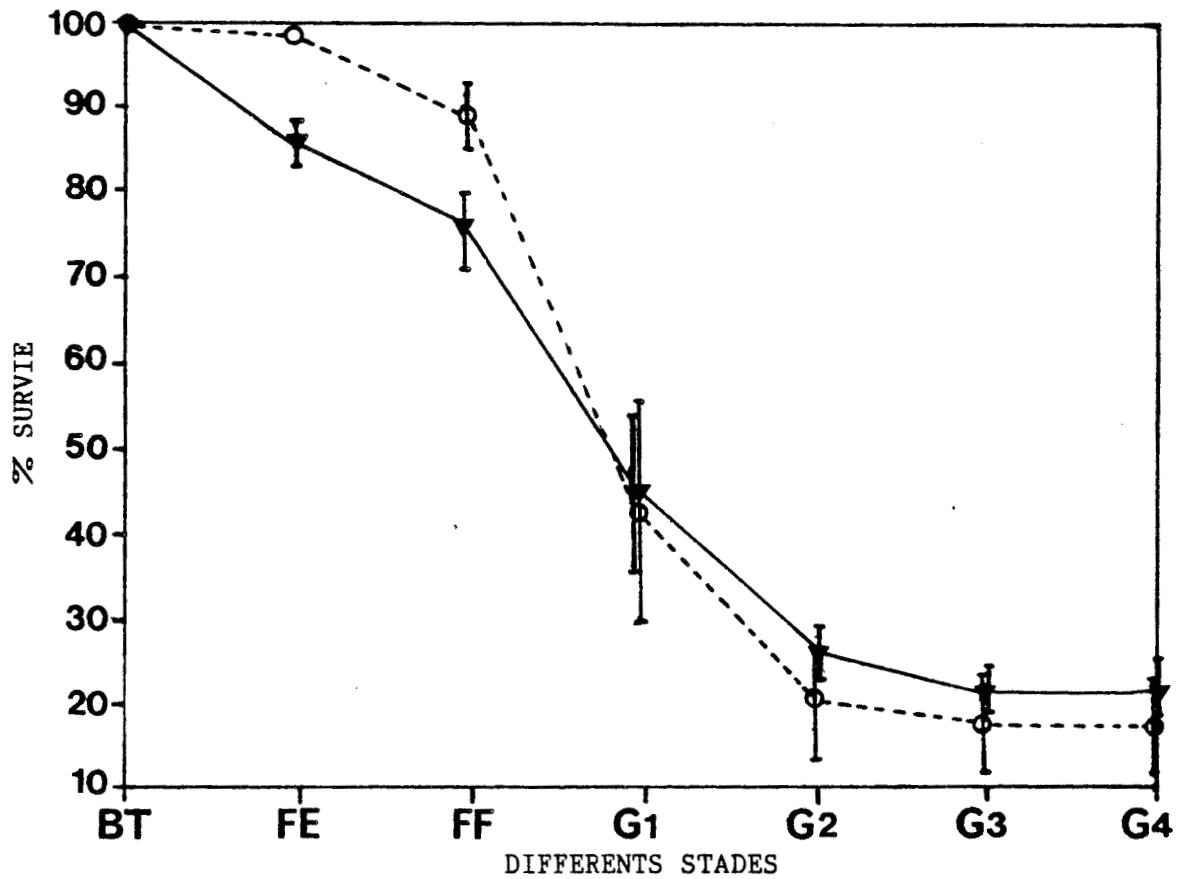
b) Au terrain d'expérience

Les moyennes des productions relatives de deux provenances (Centre et Sud) chez L. latifolius et d'une provenance (Nord) chez L. sylvestris sont données dans le tableau 11. Les différences entre provenances et espèces ont été testées par une analyse de variance hiérarchisée à deux niveaux (tableau 12).

Les résultats indiquent tout d'abord que, quelle que soit la variable étudiée, les performances des individus sont nettement meilleures en terrain d'expérience (où l'on peut penser que les conditions trophiques sont moins limitantes) qu'en populations naturelles. La variabilité inter-individuelle reste cependant assez importante (tableau 11): les coefficients de variations sont du même ordre que ceux observés en populations naturelles.

Aucune différence significative n'est observée au deux niveaux d'étude (tableau 12) dans la production des individus. La différence inter-écotype s'estompe donc fortement quand les individus sont cultivés dans le même milieu. La différence inter-spécifique est plus importante sans être significative.

FIGURE 1 : POURCENTAGES DE SURVIE ENTRE LES STADES BOUTON FLORAL ET FRUIT MUR CHEZ LATHYRUS LATIFOLIUS CULTIVE EN TERRAIN EXPERIMENTAL



○ Populations
du centre

▼ Populations
du sud

BT : Bouton floral
FE : Fleur épanouie
FF : Fleur fanée
G1 : Jeune gousse
G2 : Gousse en élongation
G3 : Gousse en renflement
G4 : Gousse mûre

La chute des fleurs a été étudiée chez L. latifolius pour savoir si l'abscission se produisait juste après l'anthèse ou pendant la maturation des graines. Les résultats (figure 1) montrent que la chute des fleurs se produit essentiellement entre les stades fleur fanée et gousse en formation c'est-à-dire plutôt après l'anthèse (le pollen reste viable jusqu'au stade fleur fanée).

DISCUSSION

Comparaison des deux espèces pour leur investissement dans la reproduction sexuée:

Ces deux espèces produisent le même nombre de fleurs par tige, mais les individus de L. latifolius ont en moyenne des fleurs plus grandes (20 à 30 mm) que ceux de L. sylvestris (13 à 20 mm) et plus de grains de pollen ainsi que plus d'ovules par fleurs (Valéro et Hossaert, en prep, chapitre 1). L'investissement dans la reproduction sexuée serait donc plus important chez L. latifolius même à production de fleurs égale. Ces deux espèces se différencient quant à leur balance multiplication végétative vs reproduction sexuée: L. sylvestris montrant une plus grande propagation végétative (Hossaert et Valéro, 1986, chapitre 2-1) et L. latifolius un investissement dans la reproduction sexuée plus important.

Avortement des fruits chez les deux espèces

L'avortement des fruits est considérable chez ces deux espèces (91% en moyenne chez L. latifolius et 94 % chez L. sylvestris) et semble se situer surtout après l'émission de pollen viable (juste après la fanaison des fleurs) d'après les résultats obtenus en terrain d'expérience chez L. latifolius et confirmés par ailleurs sur les deux espèces (Hossaert et Valero, 1985, annexe 1) par des observations en populations naturelles.

L'hypothèse d'un nombre limitant de pollinisateurs a été testée en terrain d'expérience dans le Nord de la France (Valéro et al., 1986, annexe 2). On a montré qu'au cours d'une année où le climat a été particulièrement pluvieux, les plantes ont eu tendance à produire plus de graines après pollinisation artificielle que les témoins fécondés par les insectes. Le pollen limitant peut donc partiellement expliquer la forte chute des fruits, au moins pour les années les plus pluvieuses et pour les individus situés au Nord de la France. Cette hypothèse peut ne pas s'appliquer aux plantes du Centre et du Sud de la France où le nombre de pollinisateurs est beaucoup plus important.

La comparaison du nombre de fruit produit par fleur entre individus in situ et plantes cultivées en terrain d'expérience, issues de graines récoltées dans les mêmes populations, montre que l'avortement est nettement plus faible en conditions contrôlées. Les ressources disponibles in situ sont donc grandement limitées et une forte composante environnementale doit être prise en compte pour interpréter ces résultats. Quoiqu'il en soit, l'avortement des fruits reste important même en terrain

d'expérience où 70 à 80 % des fleurs tombent sans donner de fruit. Ce taux d'abscission se rapproche de ceux observés chez des plantes allogames (sur un ensemble de 187 espèces hermaphrodites auto-incompatibles, Sutherland and Delph (1984) rapportent que le taux moyen de fruit produit par fleur est de 22%). Les individus des deux espèces investissent donc une grande partie de leurs ressources dans la fonction mâle et se comportent plutôt comme des allogames.

Différences entre écotypes

Chez L. latifolius, les plantes du Nord se ramifient plus, produisent plus d'inflorescences, de fleurs, de fruits et de graines que celles du Centre et du Sud de la France. Elles produisent significativement plus de fruits et de graines par fleur et la fécondation des graines dans les gousses se fait légèrement mieux que chez les individus d'autres provenances. Alors que les fluctuations inter-annuelles ne sont pas significatives pour la population du nord, la production de gousses et toutes les variables qui lui sont liées fluctuent fortement d'une année à l'autre dans la population du Sud. Ces résultats combinés à l'observation discutée plus haut, sur le meilleur rendement des plantes originaires du Sud et du Centre lorsqu'elles sont cultivées en conditions contrôlées, laissent supposer que les contraintes environnementales seraient plus importantes dans les populations du Sud et expliqueraient en grande partie les mauvaises performances des individus. Les plantes de ces populations se trouvent dans la limite Sud de

l'aire de répartition de cette espèce; en situation difficile, elles ajusteraient leurs ressources dès le début de la floraison en produisant moins de ramifications, d'inflorescences et de fleurs par individus. Ce réajustement des ressources à la reproduction sexuée, dès le début de la floraison lorsque les plantes sont dans des conditions difficiles, a été montré chez de nombreuses espèces (Stephenson, 1981).

Chez L. sylvestris, les individus des populations du Nord se ramifient moins et produisent moins d'inflorescences que ceux du Sud. En revanche, ils présentent significativement plus de fleurs par inflorescence (Valero et Hossaert, en prep, chapitre 1) et donc produisent en moyenne le même nombre de fleurs que ceux du Sud. Les productions de fruit et de graines par fleur semblent en général meilleures dans les populations du Nord, mais ces productions montrent une variation inter-annuelle significative. On constate donc qu'à nombre de fleurs égal, les individus du Sud initient un plus grand nombre d'inflorescences ce qui entraîne une plus forte dispersion des fleurs dans l'espace. Ces différences dans l'architecture des individus et leurs répercussions sur le régime de la reproduction sont discutées dans le paragraphe suivant.

Influence de l'architecture des plantes sur le régime de la reproduction

Les résultats ont montré des différences importantes dans l'architecture des individus: ceux de L. latifolius montrent des tiges peu ramifiées (avec en moyenne 2 à 3 ramifications) portant une quinzaine d'inflorescences regroupant en moyenne une dizaine de boutons floraux; tandis que ceux de L. sylvestris sont beaucoup plus ramifiés (environ 14 ramifications par tige) et présentent beaucoup plus d'inflorescences (une quarantaine en moyenne) mais deux fois moins de boutons floraux par inflorescence (5 en moyenne). Handel (1985) a montré que le succès reproductif des plantes et en particulier leur système de reproduction pouvaient être modifiés en fonction de leur mode de croissance. Ainsi, une plante pollinisée par des abeilles, qui visitent les inflorescences de proche en proche, recevra relativement peu d'autopollen si elle a une faible croissance clonale et porte peu d'inflorescences, par rapport à une plante pourvue de beaucoup d'inflorescences où la probabilité de recevoir son propre pollen augmente fortement. D'un autre côté, une plante qui porte beaucoup de fleurs par inflorescence augmente sa probabilité d'être autofécondée. Or, les inflorescences portées sur un même rameau comme les fleurs situées sur une même inflorescence, montrent des décalages phénologiques importants chez les deux espèces. Ce décalage est plus prononcé chez L. latifolius puisque, d'une part cette espèce présente moins de rameaux par plante, donc la probabilité de trouver des inflorescences au même stade sur une même tige est

moins forte que chez l'autre espèce et que d'autre part, le nombre d'inflorescences moyen par rameau (15.67 / 2.6, tableau 4) est plus grand que chez L. sylvestris (41.67 / 14.02). Le même raisonnement pouvant être fait sur le nombre de boutons floraux par inflorescence, on en déduit que même si le nombre de fleurs par inflorescence est plus grand chez L. latifolius, le décalage phénologique entre ces fleurs est plus important aussi et la probabilité pour que la plante reçoive de l'autopollen est plus faible que chez L. sylvestris. On peut alors supposer que de part son architecture, L. sylvestris soit plus souvent autofécondé que L. latifolius.

REFERENCES

- BAWA K.S. & J.H. BEACH. 1981: Evolution of sexual systems in flowering plants. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 68: 254-274.
- BAWA K.S. & C.J. WEBB. 1984: Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *Amer. J. Bot.*, 71: 736-751.
- BERTIN R.I.. 1982: Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumpet creeper (Campsis radicans, Bignoniaceae). *Amer. J. Bot.*, 69: 122-134.
- BUBAR J.S.. 1958: An association between variability in ovule development within ovaries and self-incompatibility in Lotus (Leguminosae). *Can. J. Bot.*, 36: 65-72.
- CASPER B.B. & D. WIENS. 1981: Fixed rates of random ovule abortion in Cryptantha flava (Boraginaceae) and its possible relation to seed dispersal. *Ecology*, 62 (3): 866-869.
- CHARLESWORTH D. & B. CHARLESWORTH. 1981: Allocation of resources to male and female functions of hermaphrodites. *Biol. J. Linn. Soc.*, 15: 57-74.
- CHARNOV E.L.. 1979: Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 76: 2480-2484.
- CHARNOV E.L.. 1982: The theory of sex allocation. Princeton Univ. Press, Princeton.
- CRUDEN R.W.. 1977: Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, 31: 32-46.
- COUVET D., HENRY J.P. & P.H. GOUYON. 1985: Sexual selection in hermaphroditic plants: The case of gynodioecy. *Amer. Natur.*, 126: 294-329.
- DARWIN C.. 1877a: The effects of cross- and self-fertilisation in the vegetable kingdom. D. Appleton, New York, New York, U.S.A.
- DARWIN C.. 1877b: The different forms of flowers on plants of the same species. J. Murray, London, U.K.
- HANDEL S.N.. 1985: The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding systems. *Am. Nat.*, 125: 367-384.
- HEITHAUS E.R., STASHKO E. & P. ANDERSON. 1982: Cumulative effects of plant animal interactions on seed production by Bauhinia unguolata, a neotropical legume. *Ecology*, 63: 1294-1342.

- HOSSAERT M. & M. VALERO. 1985: Differences in population biology within the Lathyrus sylvestris group (Leguminosae: Papilionaceae). In Structure and Functioning of Plant Population, vol. 2. J. Haack and J.W. Woldendorp (editors). PUDOC, Wageningen: 65-75.
- HOSSAERT M. & M. VALERO. 1986: Vegetative propagation and sexual reproduction in two perennial Lathyrus species. In Lathyrus and Lathyrim, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985. A.K. Kaul and D. Combes (editors): 175-183.
- JANZEN D.H.. 1977: Developmental demography of Bauhinia pauletia Pers. (Leguminosae) seeds and ovules. Brenesia, 12/13: 105-111.
- LEE T.D. & F.A. BAZZAZ. 1982a: Regulation of fruit and seed production in an annual legume, Cassia fasciculata. Ecology, 63 (5): 1363-1373.
- LEE T.D. & F.A. BAZZAZ. 1982b: Regulation of fruit maturation pattern in an annual legume, Cassia fasciculata. Ecology, 63 (5): 1374-1388.
- LEE T.D. & F.A. BAZZAZ. 1986: Maternal regulation of fecundity: non random ovule abortion in Cassia fasciculata Michx. Oecologia (Berlin), 68: 459-465.
- LLOYD D.G.. 1980: Sexual strategies in plants: I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. New Phytol., 86: 69-79.
- LOVETT DOUST J.L. & P.B. CAVERS. 1982: Biomass allocation in hermaphrodite flowers. Can. J. Bot., 60: 2530-2534.
- McKEY D.. 1975: The ecology of co-evolved seed dispersal. In L.G. Gibert and P.H. Raven (eds), Coevolution of animals and plants, Univ. Texas Press, Austin, U.S.A.: 159-191.
- NAKAMURA R.R.. 1986: Maternal investment and fruit abortion in Phaseolus vulgaris. Amer. J. Bot., 73 (7): 1049-1057.
- QUELLER D.C.. 1983: Sexual selection in hermaphroditic plants. Nature, 305: 706-707.
- QUELLER D.C.. 1984: Pollen-ovule ratios and hermaphrodite sexual allocation strategies. Evolution, 38 (5): 1148-1151.
- SCHEMSKE D.E.. 1980: Floral ecology and hummingbird pollination of Comberatum fruticosum in Costa Rica. Biotropica, 12: 169-181.
- SCHOEN D.J.. 1982: Male reproductive effort and breeding system in an hermaphroditic plant. Oecologia (Berlin), 53: 255-257.

- STEPHENSON A.G.. 1981: Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- STEPHENSON A.G. & R. BERTIN. 1983: Male competition, female choice, and sexual selection in plants. *In* *Pollination Biology*, L. Real (editor), Academic Press, N.Y.: 110-151.
- STEPHENSON A.G. & J.A. WINSOR. 1986: Lotus corniculatus regulates offspring quality through selective fruit abortion. *Evolution*, 40 (3): 453-458.
- SOKAL R.R. & F.J. ROLF. 1981: *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Second edition, W.H. Freeman and Company, New York, U.S.A..
- SUTHERLAND S.. 1986: Patterns of fruit-set: What controls fruit-flower ratios in plants? *Evolution*, 40: 117-128.
- SUTHERLAND S.. 1987: Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: Experimental tests with Agave mckelveyana. *Evolution*, 41: 750-759.
- SUTHERLAND S. & L.F. DELPH. 1984: On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit-set. *Ecology*, 65 (4): 1093-1104.
- TRAVIS J.. 1984: Breeding system, pollination, and pollinator limitation in a perennial herb, Amianthium muscaetoxicum (Liliaceae). *Amer. J. Bot.*, 71 (7): 941-947.
- VALERO M., YOUSSEF A., VERNET P. & M. HOSSAERT. 1986: Is there a polymorphism in the breeding system of Lathyrus latifolius? *In* *Lathyrus and Lathyrism*, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985, A.K. Kaul and D. Combes (editors): 105-116.
- WALLER D.M.. 1979: The relative costs of self- and cross-fertilized seeds in Impatiens capensis (Balsaminaceae). *Amer. J. Bot.*, 66 (3): 313-320.
- WIENS D.. 1984: Ovule survivorship, brood size, life history, breeding systems, and reproductive success in plants. *Oecologia (Berlin)*, 64: 47-53.
- WILLSON M.F. & N. BURLEY. 1983: *Mate Choice in Plants: Tactics, mechanisms, and consequences*. R.M. May (editor), Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.
- WILLSON M.F. & P.W. PRICE. 1977: the evolution of inflorescence size in Asclepias (Asclepiadaceae). *Evolution*, 31: 495-511.

2-3 ETUDE DE LA POSITION DES GRAINES DANS LES FRUITS

A paraître dans American Journal of Botany

**EFFECT OF OVULE POSITION IN THE POD ON PATTERNS OF SEED FORMATION
IN TWO SPECIES OF LATHYRUS (LEGUMINOSAE: PAPILIONOIDEAE)**

Martine Hossaert

IBEAS, CNRS-UA340

Université de Pau

Avenue de l'Université

64000 Pau, France

Myriam Valéro

Laboratoire de Génétique et de Biologie des

Populations Végétales

Université des Sciences et Techniques de Lille

59655 Villeneuve d'Ascq, France

ABSTRACT

We examined patterns of seed formation within pods of two species of Lathyrus, L. sylvestris and L. latifolius. In both species, only a portion of the ovules were fertilized. Fertilization occurs over a period of several days and ovules at the stigmatic end of the fruit are the first to be fertilized. Fertilized ovules farthest from the stigma are closest to the maternal nutrition. The pattern of embryo abortion is interpreted as a balance between the early start and genetic quality of embryos near the stigma, on the one hand, and the nutritional advantage of proximity to maternal nutrient, on the other. Patterns of seed consumption and the influence of the breeding system on the patterns of seed maturation are also discussed. Finally, we examined variation in these patterns within and among populations and between two consecutive years for each species.

INTRODUCTION

In many flowering plants, only a small proportion of ovules initiated result in the formation of mature seeds (Stephenson 1981, Bawa and Webb 1984). Flowers and fruits are aborted at various stages of development, and in fruits that are matured, not all ovules give rise to seeds. Analysis of the fate of ovules within fruits carried to maturity gives information on the factors affecting seed formation.

Leguminous plants offer convenient opportunities for ovule ecology because their linear fruits result from two opposing gradients: 1) a gradient in distance from maternal resources, from the peduncular to the stylar end, and 2) a gradient in distance from pollen deposited on the stigma, in the other direction (Labeyrie and Hossaert 1985). In those few species for which adequate information is available, studies have shown the importance of post-pollination factors in determining patterns of fruit maturation and patterns of seed maturation within fruits (Bawa and Webb 1984, Lee 1986). These studies have dealt with tropical trees and annual plants. The work presented here concerns a third life-history category, herbaceous perennials. We report results on fate of ovules in relation to their position within the pod in two closely related perennial Lathyrus spp. L. latifolius and L. sylvestris (Leguminosae: Papilionoideae), and analyze the results in relation to the two opposing gradients of maternal resources and distance from the point of pollen deposition on the stigma.

In both species, most ovules do not reach maturity (Hossaert and Valero 1985), and their loss occurs in several phases (serial adjustment: Lloyd 1980). First, as in many flowering plant species, a large proportion of

flowers (about 90-95 %) are aborted before formation of young fruits. Secondly, and in contrast to most multi-seeded legume species studied previously, in fruits that are matured, only a small proportion of ovules form mature seeds. Thirdly, a substantial proportion of developing seeds are killed by host-specific insect predators before reaching maturity.

In this study, we compare ovule-position effects in these two species of Lathyrus differing in their breeding system (L. latifolius being more outcrossed than L. sylvestris: Valero et al. 1987) and in their investment in sexual reproduction relative to vegetative propagation (L. latifolius investing proportionally more in sexual reproduction and less in vegetative propagation than L. sylvestris: Hossaert and Valero 1985). We also compare ovule-position effects among different populations of each of the two species. We examine the effect of attack by predators of fruits and seeds on patterns of seed formation within the pod. Finally, we discuss the roles of pollen limitation and post-pollination factors, particularly pollen competition, in determining patterns of seed formation within pods.

MATERIALS AND METHODS

Study species

The first flowers of both species appear in late June and early July, and the last pods mature in October. Each of the pink flowers, which are larger in L. latifolius than in L. sylvestris, stays open during about one week. Fertilized fruits require about one month for maturation.

Hossaert & Valero 5

Flowers are borne in axillary racemes; L. latifolius produces an average of 10-12 flowers per inflorescence, maturing 0.5-1.5 pods, while L. sylvestris has an average of 3-6 flowers per inflorescence and 0.1-0.5 mature pods. In both species, populations in northern France, in general, have more flowers and pods per inflorescence than those from southern France (Valero and Hossaert, in prep.). In addition to reproducing sexually, both plant species are able to propagate by clonal growth via rhizomes and stolons. Vegetative propagation is more developed in L. sylvestris than in L. latifolius (Hossaert and Valero 1985).

Methods

Seed formation within pods

To study the pattern of seed maturation within pods, we chose two populations of L. latifolius and seven populations of L. sylvestris, occurring in the northern, central, and southwestern parts of France (Table 1). Three levels of variability were analyzed: 1) among individuals in each population, 2) among populations of each species, and 3) between these two very closely related species. The study was carried out during the flowering seasons of 1984 and 1985.

Pods were collected when mature, in September and October. Nearly mature pods of L. latifolius were taped shut to prevent scattering of seeds by violent dehiscence. Pods were collected from marked stems on which we studied the demography of sexual reproductive organs. Additional pods were collected from stems randomly selected in the populations.

Table 1. Populations of Lathyrus species examined in this study.

Species	Pop No.	Locality	Year	Situation	Elevation	No. Individuals studied	No. Pods examined
<u>Lathyrus</u> <u>latifolius</u>	1	Avion	1985	Northern France	50 m	10	222
	1'	Avion	1984	"	"	25	341
	2	Doue la Fontaine	1985	Central France	50 m	13	64
<u>Lathyrus</u> <u>sylvestris</u>	1	Pecquencourt	1985	Northern France	20 m	10	152
	1'	Pecquencourt	1984	"	"	40	266
	2	Boulonnais	1984	"	100 m	23	159
	3	Helfaut	1984	"	50 m	23	185
	4	Laruns	1984	Southwestern	500m	15	111
	5	Ste. Suzanne	1984	France	50m	15	127
	6	Bilheres	1984	"	700m	30	203
	7	Miguelou	1984	"	1700m	29	117

Hossaert & Valero 6

Each pod was opened and the condition and position of each ovule recorded. Numbering of ovule position began from the peduncular end (first position) and continued to the ovule nearest the styler end of the pod (last position). Five stages of ovule maturation were recognized and recorded: 1) unfertilized ovules, which remained very small and became melanized; 2) aborted ovules (fertilized ovules which began to develop but never reached maturity); 3) ovules that were apparently developing to maturity but were destroyed by various insects (Tychus weevils, Laspeyresia moths); 4) ovules that developed into mature seeds which were eaten by Bruchus affinis; 5) apparently viable mature seeds. These different stages were clearly distinguishable by differences in shape, color and size. In other legumes, observations on embryo formation (Cooper and Brink 1940) and experimental manipulations (Lee and Bazzaz 1982) have shown that ovules classified as stage 1) are in fact unfertilized. Seeds attacked by B. affinis were recognized by the beetle's emergence hole. Seeds containing a bruchid that had not yet emerged could be distinguished by a flotation test.

We analyzed all the intact pods (having no partial consumption of the pod wall by herbivores) where all the seeds, or at least their funiculi, were still in position. Some pods were rejected because extensive internal damage by Tychus and Laspeyresia made it difficult to recognize positions of the ovules and their stages of development. In all, we examined a total of 627 pods from the two populations of L. latifolius and 1320 pods from the seven populations of L. sylvestris.

Pollen tube growth

To confirm certain aspects of the patterns we observed within the pods, we observed growth and behavior of pollen tubes in pollinated flowers and very young fruits, using the technique of Martin (1959) as modified by G. Mulcahy (pers. comm.). Preliminary observations showed that fertilization occurs late in the life of the flower. In L. latifolius, senescent flowers were collected 2-5 days after experimental crosses in which female or emasculated flowers of garden-grown plants were pollinated with an equal mixture of auto- and allopollen. Twenty-three flowers showed pollen tube growth and gave sufficiently good preparations (dissection leaving ovules in their original positions, good staining) as to be included in the study. In L. sylvestris, we collected senescent flowers and very young fruits from plants in various wild populations. Twenty-two senescent flowers and nineteen very young fruits could be included in the study. Flowers were fixed in 70 % ethanol. Styles and ovaries were then cleared in 8N NaOH for 24 h, and rinsed in water and in a tris-glycine buffer (pH 8.4). Styles and ovaries were then stained for 2-3 days in 0.1 % aniline blue in 0.1 M K₃PO₄. The flowers or young fruits were then separated into two parts: (1) the style, which we cut transversely into three segments. Each segment was sectioned longitudinally to enable observation of pollen tubes in the hollow styles of Lathyrus. (2) the ovary, which we opened gently by the dorsal suture to keep all the ovules arranged precisely in their original positions along the ventral suture. Pollen tubes were observed using a microscope equipped with a 512 nm filter. Four kinds of information were recorded: (1) presence or absence of pollen grains on the stigma; (2) presence or

Hossaert & Valero 8

absence of pollen tubes in the style, and to which part of the style their growth had reached; (3) presence or absence of pollen tubes in the ovary; (4) number and position of fertilized ovules.

Methods of data analysis

Pods of L. latifolius contain 16-24 ovules, those of L. sylvestris 8-18 ovules. In order to compare effects of ovule position among all the fruits of each species, we performed a data transformation that in effect adjusted each pod to the same number of ovules. This transformation eliminates the dependence of results on the direction (acropetal or basipetal) in which ovules are numbered within the pod, an artifact that has not been satisfactorily handled in previous studies of ovule position effects (Barnes and Cleveland 1963; Horovitz et al. 1976). For L. latifolius, all data were transformed to a "standard" pod of 20 ovules, for L. sylvestris to a pod of 12 ovules. These pod sizes represent the means for each species. The formula used for the data transformation was :

$$P = \frac{f \times 20}{nx} \text{ for } \underline{L. \text{ latifolius}}; \quad P = \frac{f \times 12}{nx} \text{ for } \underline{L. \text{ sylvestris}}$$

where P = new ovule position

f = former ovule position

nx = total number of ovules in pod x.

All the results presented in this paper are those obtained after transformation of the raw data into "standardized" pods of 12 (L. sylvestris) or 20 (L. latifolius) ovules.

For each pod, individual, population, and species, we calculated the following variables: 1) mean number of ovules in each stage of maturation within the pod. Differences between populations and individuals were assessed by a nested analysis of variance and by a Tukey line test (SAS 1985). 2) frequency of each of the 5 ovule stages at each of the 12 or 20 positions within the pod.

Then, to obtain a better statistical comparison of ovule position effects, we regrouped the same data in four classes (I, II, III, IV) according to ovule position along the pod. The choice of four classes was made after an analysis of contagion by the Geary index (Chessel 1978) showed that the best regrouping (high value of the index) occurred when we divided the pods in four position classes of five ovules for L. latifolius and four position classes of three ovules for L. sylvestris. We tested for effects of ovule position among the four classes using two different analyses of variance: 1) a two-way analysis of variance testing for differences among position classes and among populations, for each of the two species; 2) a three-level nested analysis of variance on each of the four position classes, testing for differences among species, among populations, and among individuals. For these two analyses, the following six variables were examined: 1) number of unfertilized ovules, 2) number of aborted fertilized ovules, 3) number of ovules destroyed by insects before maturity, 4) number of seeds eaten by B. affinis, 5) number of viable seeds, and 6) total number of mature seeds (viable and eaten seeds).

RESULTS

1. Frequency and pattern of distribution of unfertilized ovules

The mean number of unfertilized ovules is higher for L. latifolius than for L. sylvestris (Tables 2 and 3). However, this difference reflects the larger number of ovules per pod in L. latifolius. The proportion of unfertilized ovules is similar in the two species, 38% in L. latifolius and 37% in L. sylvestris (Table 4). Significant differences among populations were observed in both species ($F_{2,45} = 4.58$ for L. latifolius, $F_{7,177} = 25.76$ for L. sylvestris). The nested analysis of variance performed on individuals also showed a high level of inter-individual variation. The contribution of this variance component relative to variation among populations is greater in L. latifolius than in L. sylvestris.

One population of each species Pecquencourt (L. sylvestris) and Avion (L. latifolius) was followed in both 1984 and 1985. In both populations the mean number of unfertilized ovules did not vary significantly between years.

Populations with the highest mean numbers of unfertilized ovules (Pecquencourt, Avion, Miguelou) are those in extreme sites. Pecquencourt and Avion are populations growing on spoil heaps from coal mines. These sites are characterized by an imbalance between Mg and Ca contents, and by extreme temperatures and poor water retention in summer. Miguelou (1,700 m) is at the upper elevation limit for L. sylvestris.

Distribution of unfertilized ovules within the pod is non-random in both species. Frequency of unfertilized ovules increased from the stylar end to the basal end of the pod (Figure 1). In addition, the last two

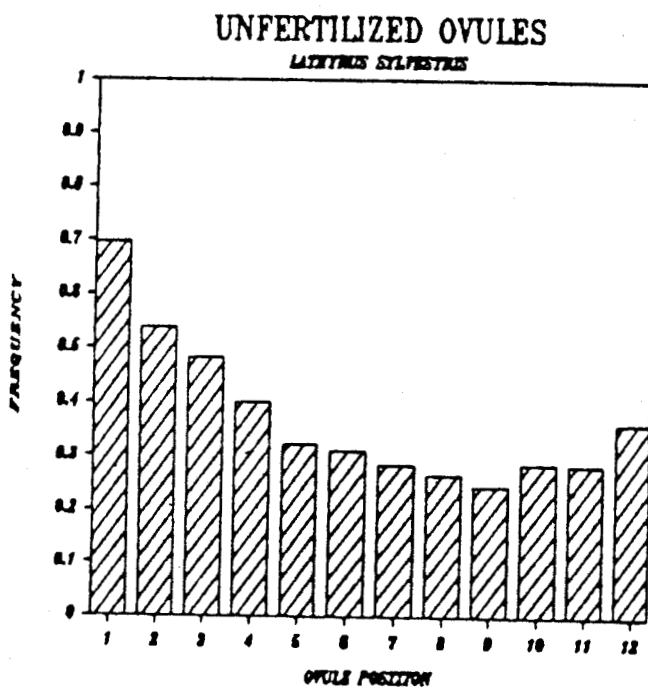
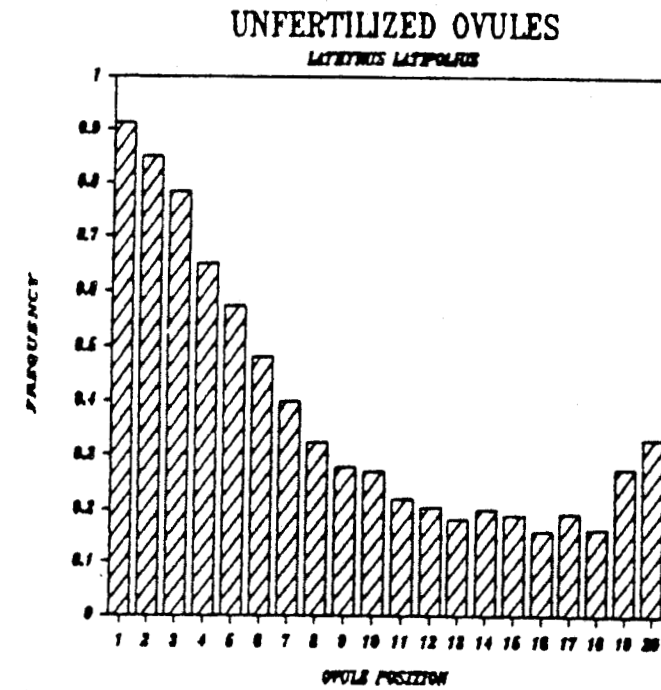
Table 4. Mean frequency for each category of ovule fate for the two species: Lathyrus latifolius and L.sylvestris.

Species	Unfertilized ovules	Aborted ovules	Mature seeds	Viable seeds	Seeds consumed by <u>Br.affinis</u>	Seeds consumed by other Insects
<u>Lathyrus latifolius</u>	0.38	0.27	0.31	0.35	0.02	0.02
<u>Lathyrus sylvestris</u>	0.37	0.32	0.30	0.21	0.05	0.04

Table 5. Results (F values) of the two-way ANOVA for each category of ovule fate among position classes and among populations. All the results are significantly different ($P(0.00)$).

	Unfertilized ovules	Aborted ovules	Mature seeds	Viable seeds	Seeds consumed by <u>Br.affinis</u>	Seeds consumed by other Insects
F among classes (df = 3, 7444)	578.44	142.25	214.03	273.63	9.71	9.32
F among populations (df = 10, 7444)	125.90	75.90	83.15	49.45	203.00	111.05
F classes x popula- tions (df = 30, 7444)	12.74	3.94	11.60	9.76	2.76	2.28

Figure 1: Distribution of unfertilized ovules within pods, Lathyrus latifolius (mean frequency for each ovule position on 3 populations) and L. sylvestris (mean frequency for each ovule position on 8 populations).



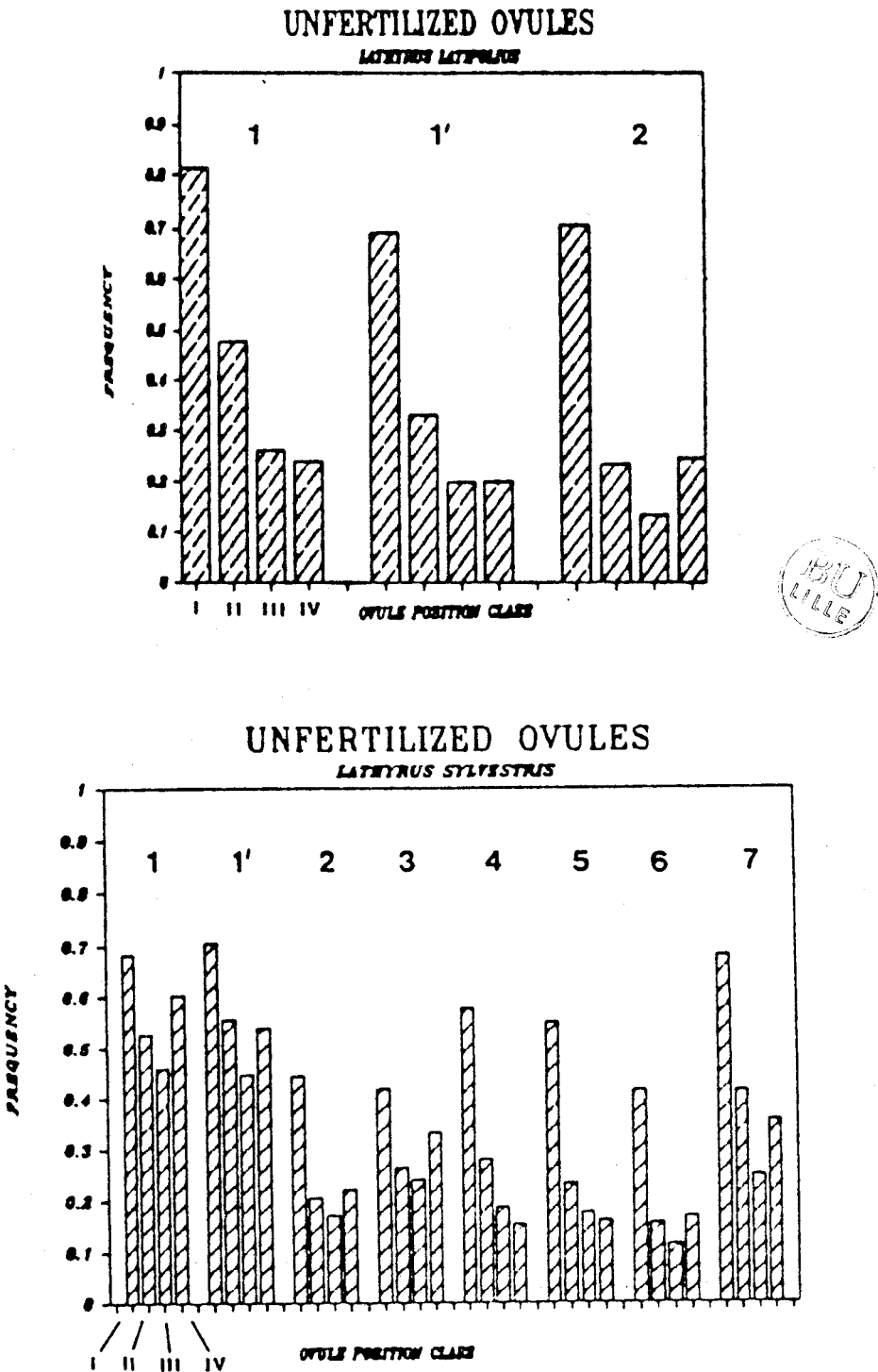
ovules near the stylar end were more frequently unfertilized than the third and the fourth closest to the style.

Regrouping the data into four position classes (Figure 2) shows the same pattern. The four classes are significantly different in the number of unfertilized ovules (Table 5). The number of unfertilized ovules in class I (near the base) is higher than in other positions in both species. The difference between the two species in the number of unfertilized ovules found in class I is also significant (Table 6). The gradient of increasing proportion of unfertilized ovules from the apex to the base of the pod is less pronounced in L. sylvestris--particularly in northern populations--than in L. latifolius (Figures 1 and 2).

2. Frequency and pattern of distribution of aborted ovules

Frequency of aborted ovules was high in both species: 27% for L. latifolius and 32% for L. sylvestris (Table 4). In L. sylvestris, mean number of ovules aborted varied significantly among populations, but in L. latifolius among-population variation was not significant (Tables 2 and 3). The mean number of ovules aborted showed no significant difference between years in the one population of each species that was followed in both 1984 and 1985 (Tables 2 and 3). This was despite the fact that during the period of pod maturation (September) rainfall was much lower and temperatures much higher in 1985. For L. sylvestris, variation among individuals and variation among populations account for the same percentage of the variance (23% and 26%, respectively), while in L. latifolius the variation among individuals in each population accounts for 40% and variation among populations accounts for only 1% of the variance.

Figure 2: Distribution (mean frequency) of unfertilized ovules in the 4 ovule-position classes, for each population of *L. latifolius* and *L. sylvestris*. Nunmbering for the populations is the same as in Table 1.



Probability of ovule abortion was dependent on ovule position (Figure 3). The frequency of aborted ovules increased from the base to the tip of the pod. When ovule positions are regrouped into four position classes (Figure 4) the same gradient is evident. About 10% to 25% of the ovules at the basal end of the pod are aborted, whereas about 25% to 35% are aborted at the stylar end. Both species showed this pattern, but it is less pronounced in northern populations of L. sylvestris (Figure 4). In fact, in one northern population of this species, Pecquencourt (Population 1), in both 1984 and 1985, the frequency of ovule abortion was higher in class III than in class IV (tip of the pods). In all other populations frequency of aborted ovules was highest in class IV. Thus the pattern of abortion within the pod is opposite to that of unfertilized ovules.

Differences in frequency of abortion were highly significant among position classes and among populations (Table 5). There is no significant difference between the two species in the pattern of distribution of aborted ovules in the four position classes, but significant differences do exist among populations and among individuals in each species (Table 6).

The above results are based on the frequency of aborted ovules as a proportion of the total number of ovules. One may also ask the following question: Once an ovule has been fertilized, what is the probability that it will be aborted, and how does this probability depend on ovule position? Answering this entails expressing frequency of aborted ovules as a proportion of all fertilized ovules. When this is done, the following pattern is revealed (Figure 5): in L. latifolius, ovules that have been fertilized are much more likely to be aborted if they are in position classes I and IV than if they are in classes II and III. In L. sylvestris,

Figure 3: Distribution of aborted ovules within pods, L. latifolius (mean frequency on 3 populations) and L. sylvestris (mean frequency on 8 populations).

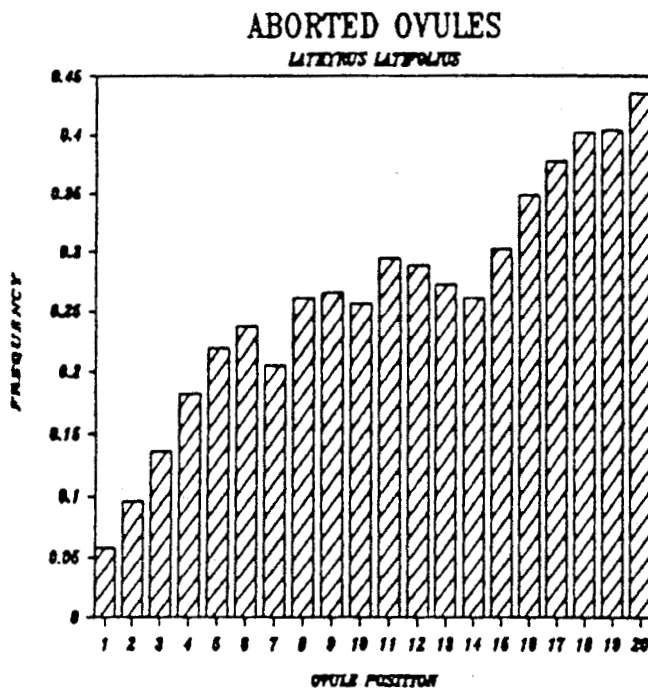
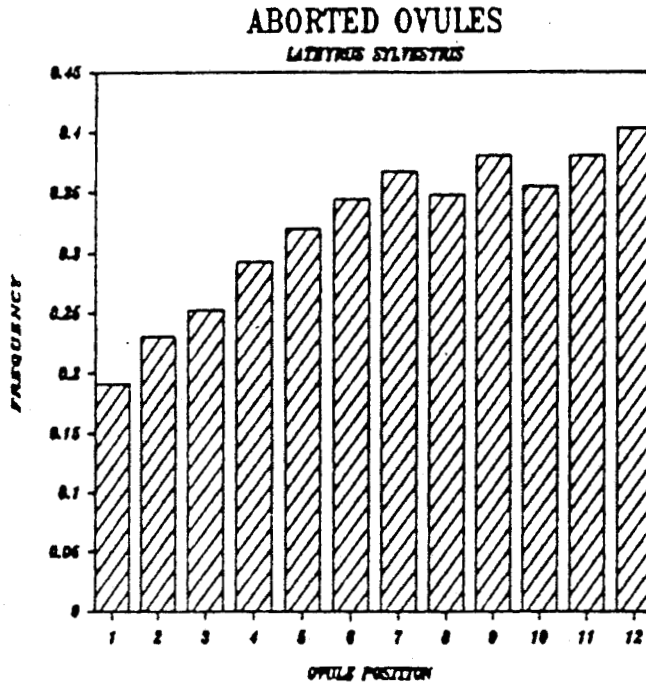


Figure 4: Distribution of aborted ovules in the 4 ovule-position classes, for each population of *L. latifolius* and *L. sylvestris*.

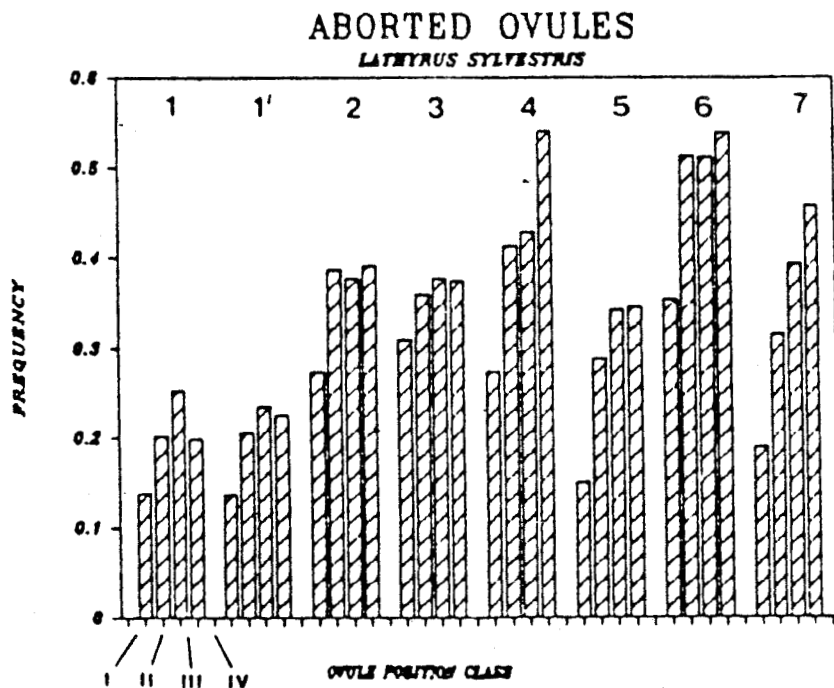
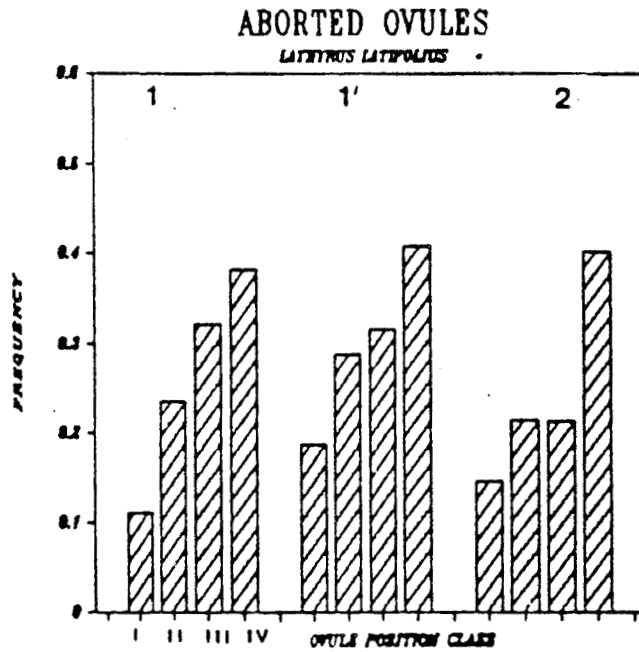
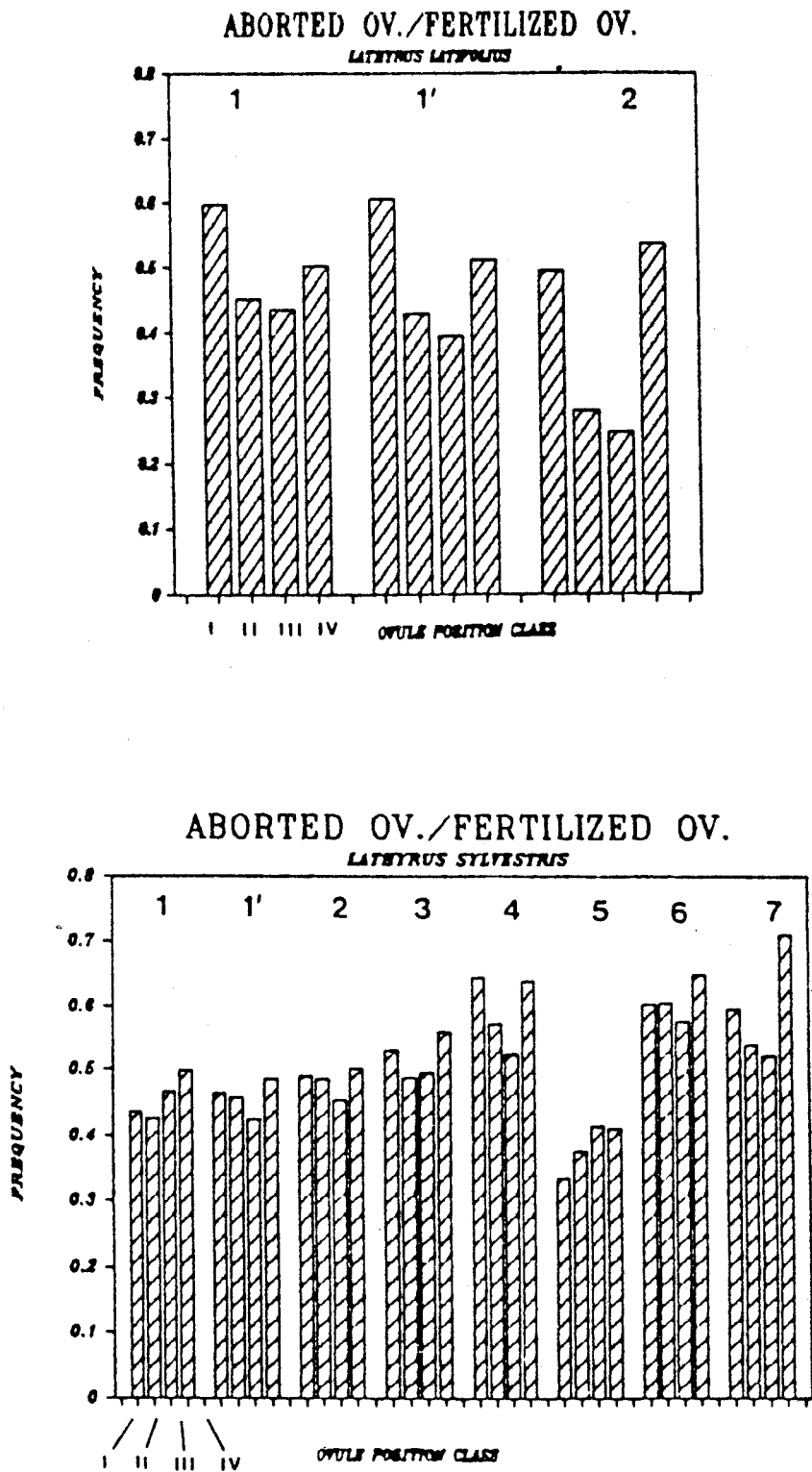


Figure 5: Distribution of aborted fertilized ovules in the 4 ovule-position classes, for each population of *L. latifolius* and *L. sylvestris*.



Hossaert & Valero 13

ovule position does not affect the likelihood that a fertilized ovule will be aborted.

3. Frequency and pattern of distribution of ovules developing into mature seeds

We considered as "mature seeds" all viable seeds actually matured intact plus those seeds destroyed by B. affinis and other insects late in development (i.e., after the period in which ovules are normally aborted). The assumption involved--that these seeds would have been matured had they not been attacked--certainly results in an overestimation of the number of seeds matured.

In L. latifolius, a mean of 6.69 seeds per pod are developed, in L. sylvestris 3.80 seeds per pod (Tables 2 and 3). Since pods of L. latifolius contain more ovules than those of L. sylvestris, proportion of ovules developing to maturity is not significantly different for the two species (31% in L. latifolius, 30% in L. sylvestris: Table 4).

In both species the mean number of mature seeds per pod is significantly different among populations (Tables 2 and 3). As for aborted ovules, variation among individuals of a population is about the same as that among populations for L. sylvestris, while in L. latifolius within-population variation is a more important component of variance (28%) than is variation among populations (10%).

In the population of L. sylvestris studied in two consecutive years (Pecquencourt), there was no significant difference between years, while in

Hossaert & Valero 14

the Avion population of L. latifolius, a significantly larger number of seeds per pod were matured in 1984 than in 1985. In this population, more ovules per pod were fertilized in 1984 than in 1985.

As with all the other classes of ovule fates, the distribution of mature seeds within the pod is not random (Figure 6). Frequency of ovules that were developing to maturity showed significant variation among the four position classes and among populations (Table 5). In both species their frequency was highest in position class III, the third quarter of the pod from base to tip (Figure 7). However, the two species do show one difference in the pattern of distribution of mature seeds within the pod: the non-random pattern is more extreme in L. latifolius. In this species, an even higher proportion of the pod's mature seeds are found in class III, and a higher proportion of the ovules in this class develop to mature seeds, than in L. sylvestris (Table 6; Figure 7), in which mature seeds are more evenly spread throughout the pod. These differences are significant (Table 6). The only exception to the pattern of a maximum of seeds in class III is St. Suzanne (L. sylvestris, population 5), in which lower-than-average number of seeds in ovule positions 7 and 8 resulted in equiprobability of finding ovules developing to maturity in position classes II, III and IV. This population is also the one in which number of seeds per pod is highest for the species, with a mean of 5.84 seeds per pod compared to the species mean of 3.80.

Our data also show that development of an ovule to maturity does not prevent development of ovules in the two adjacent positions.

The general patterns of distribution within pods of ovules developed to maturity are summarized in Figure 8. This figure shows that most seeds are

Figure 6: Distribution of mature seeds within pods, L. latifolius (mean frequency for 3 populations) and L. sylvestris (mean frequency on 8 populations).

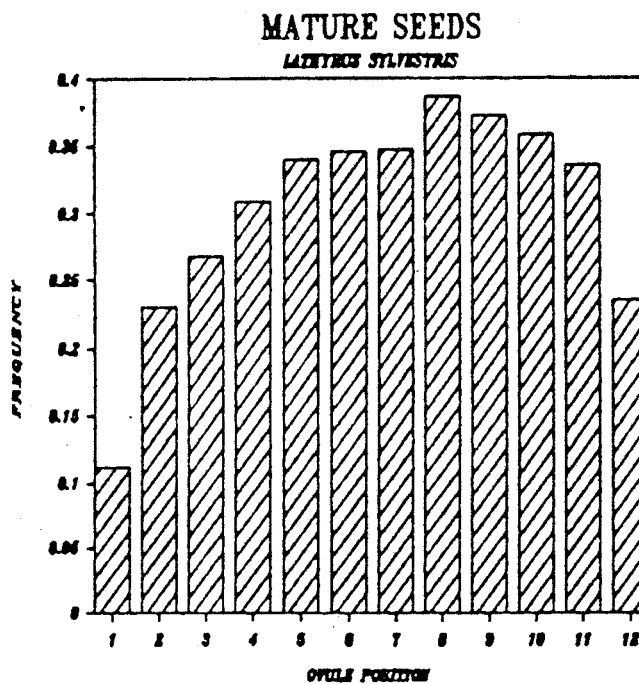
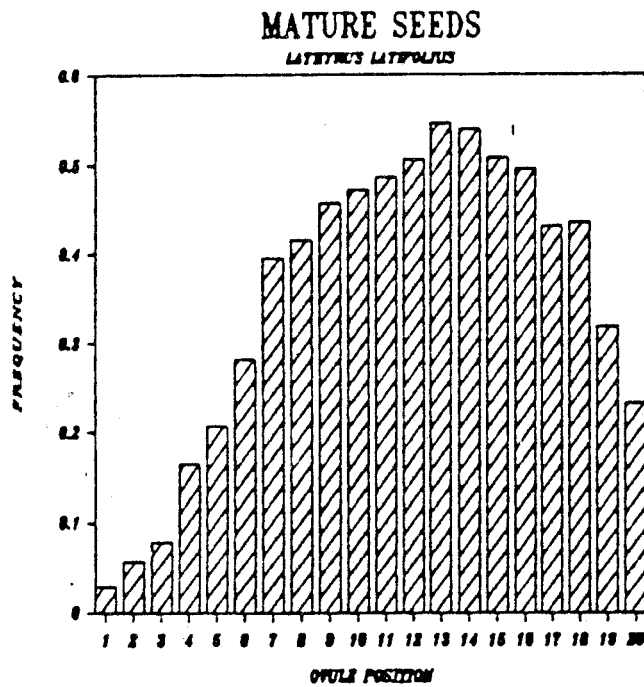


Figure 7: Distribution of mature seeds in the 4 ovule-position classes, for each population of *L. latifolius* and *L. sylvestris*.

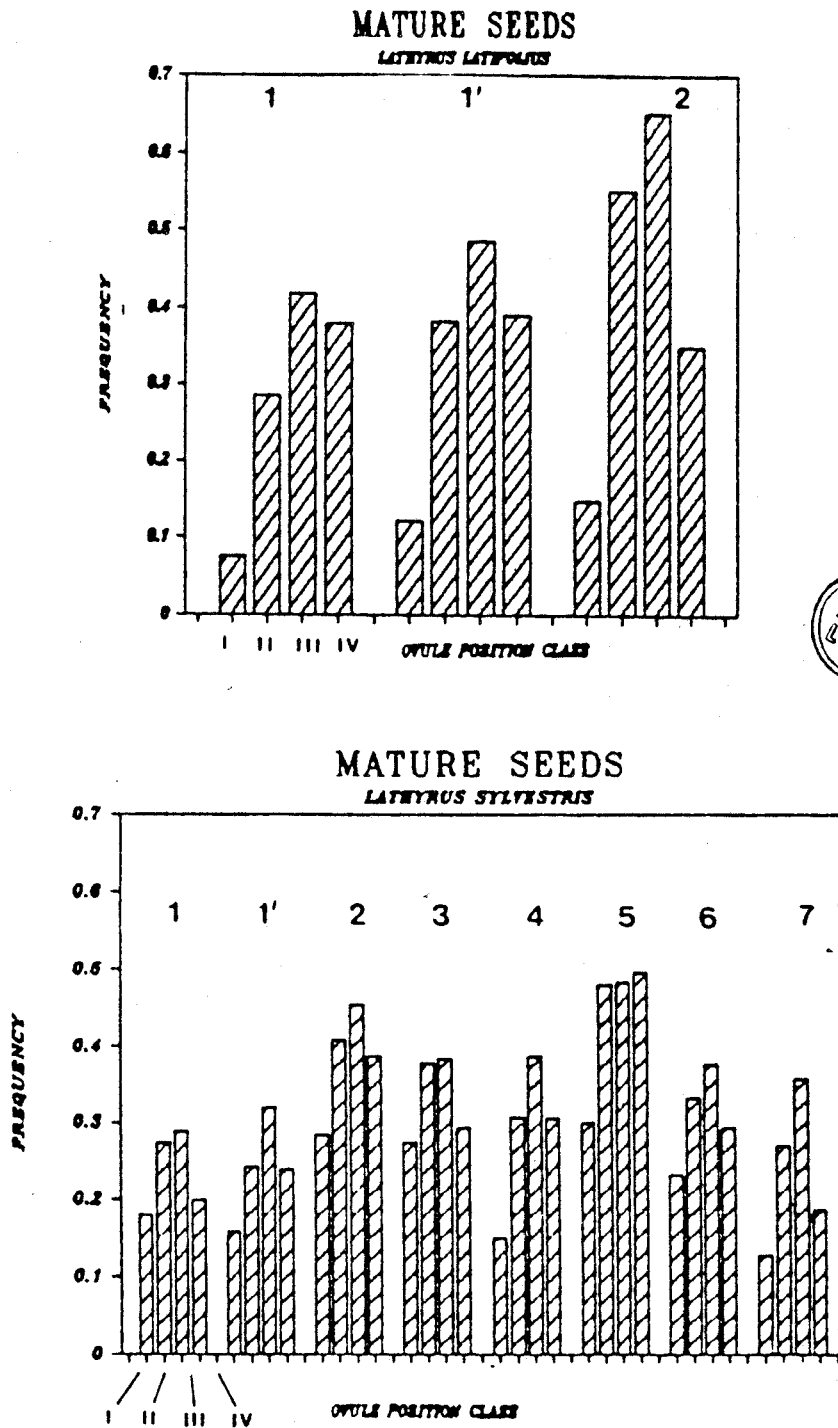
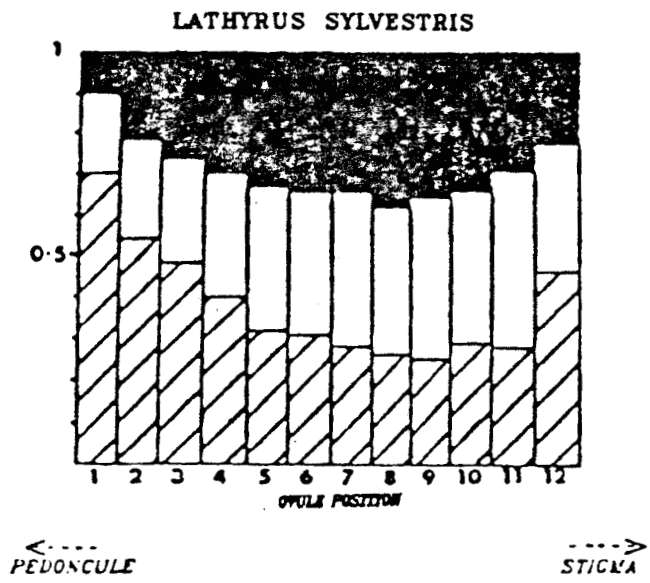
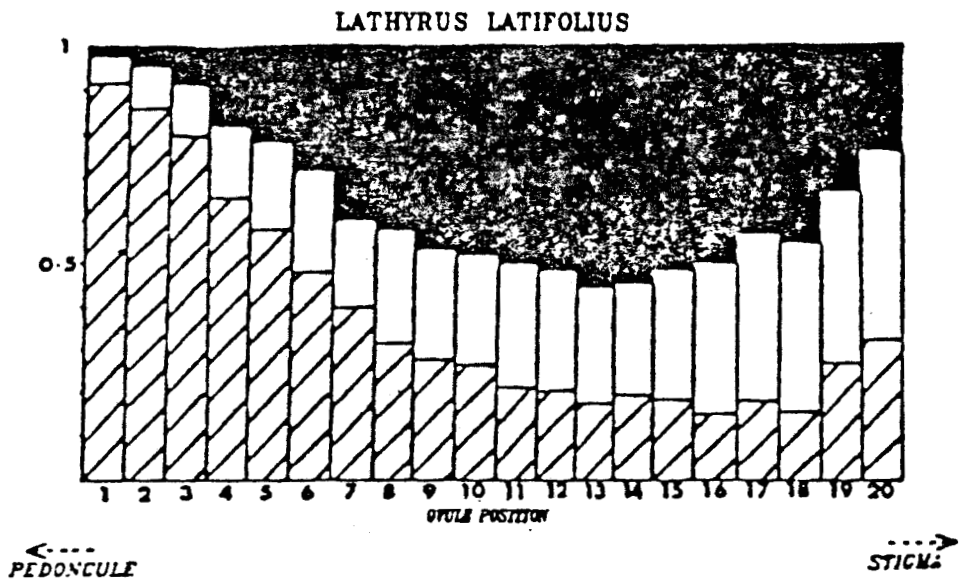


Table 6. Results of the three-way nested analysis of variance (F values) for each category of ovule fate and for each position class between the two species, among populations and among individuals. Significance levels: * $P(0.05)$; ** $P(0.01)$; *** $P(0.001)$.

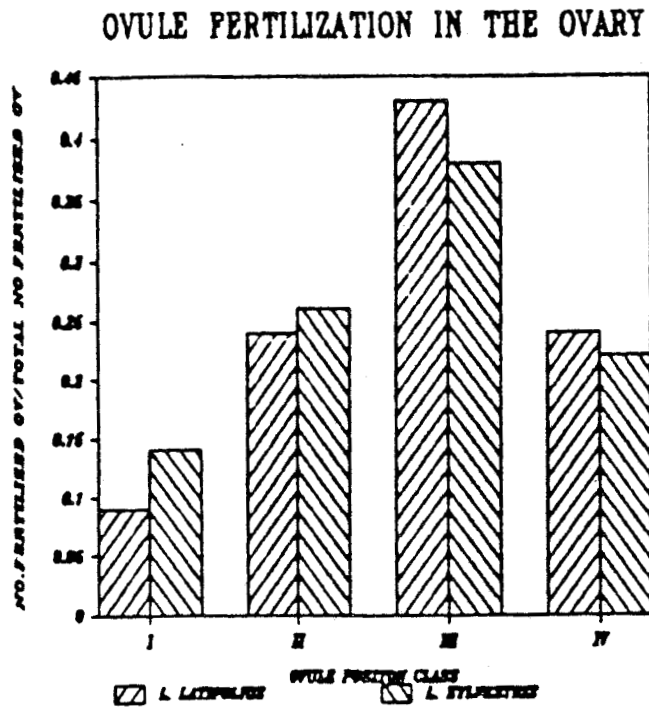
		Class I	Class II	Class III	Class IV
F among species (df = 1, 9)	Unfertilized ovules	5.18 *	0.06	0.66	1.39
	Aborted ovules	1.78	0.96	0.66	0.17
	Mature seeds	7.85 *	0.48	7.14 *	2.75
	Viable seeds	1.81	6.81 **	11.52 **	10.32 **
F among populations (df = 9, 22)	Unfertilized ovules	9.67 ***	17.69 ***	16.30 ***	20.43 ***
	Aborted ovules	7.81 ***	10.77 ***	8.74 ***	13.06 ***
	Mature seeds	6.18 ***	11.59 ***	5.77 ***	11.12 ***
	Viable seeds	5.75 ***	8.44 ***	10.96 ***	13.07 ***
F among individuals (df = 222, 1714)	Unfertilized ovules	2.96 ***	2.95 ***	2.93 ***	3.65 ***
	Aborted ovules	2.58 ***	2.63 ***	2.46 ***	2.85 ***
	Mature seeds	1.97 ***	2.04 ***	2.04 ***	2.10 ***
	Viable seeds	1.82 ***	1.99 ***	1.89 ***	1.78 ***

Figure 8: Mean frequency of each category of ovule fate according to position in fruit of L. latifolius and L. sylvestris.



 UNFERTILIZED OV.  ABORTED OV.  MATURE SEEDS

Figure 9: Distribution of fertilized ovules in each position class in the ovaries of *L. latifolius* and *L. sylvestris*, expressed as the proportion : no. fertilized ovules in one class . Distributions in total no. fertilized ovules in pod the two species are not significantly different (Kolmogorov-Smirnov Test, $D = 0.07$).



gure 10: Comparison of positions of fertilized ovules in ovaries of L. sylvestris collected at 2 stages of development: 1) senescent flowers (n = 22; 2-3 days after pollination), 2) very young fruits (n = 14; 5-6 days after pollination).

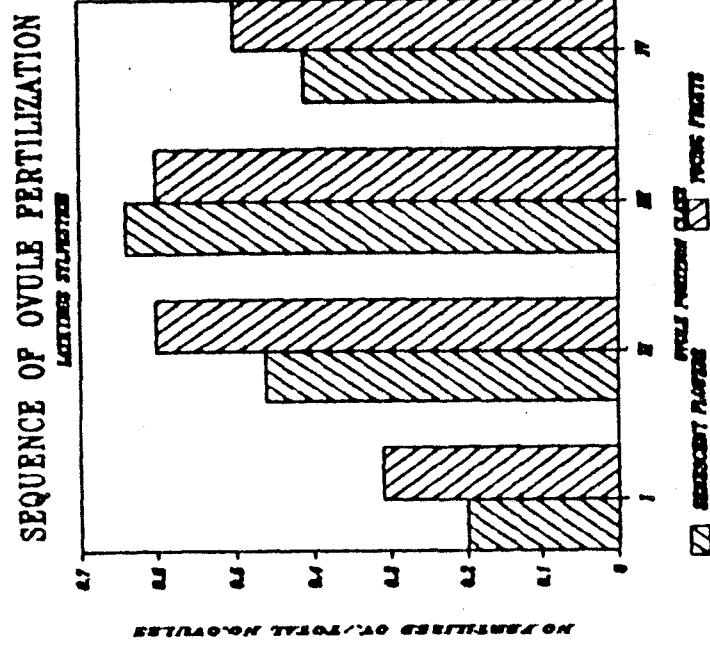


Table 7. Lathyrus latifolius: Fertilization of ovules according to their position in ovaries of senescent flowers. In this table, position 1 = stylar end of the ovary where the pollen tubes arrive. Differences among position classes were examined using a single classification ANOVA and found to be significant [$F(3, 16) = 4.65, P(0.01)$].

Ovule position	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Total number of ovules examined	3	23	23	23	23	20	19	23	23	23	11	23	23	20	23	20	23	23	23	23
Number of fertilized ovules	0	4	4	5	8	7	9	12	7	4	3	9	5	2	2	5	1	1	1	0
Frequency of fertilized ovules	0	0.17	0.17	0.22	0.35	0.35	0.47	0.52	0.30	0.17	0.27	0.39	0.22	0.10	0.09	0.25	0.04	0.04	0.04	0
Position class	IV					III					II					I				
Frequency of fertilized ovules	0.22					0.36					0.21					0.07				



Table 8. Lathyrus sylvestris: Fertilization of ovules according to their position in ovaries of senescent flowers and very young fruits. In this table, position 1 = stylar end of the ovary where the pollen tubes arrive. Differences among position classes were examined using a single classification ANOVA and found to be significant [$F(3, 8) = 14.33, P(0.01)$].

Ovule position	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Total number of ovules examined	32	41	41	44	40	49	39	41	40	44	41	62
Number of fertilized ovules	13	17	20	26	19	29	22	21	15	10	11	13
Frequency of fertilized ovules	0.41	0.42	0.49	0.59	0.48	0.59	0.56	0.51	0.38	0.23	0.27	0.21
Position class	IV				III				II			I
Frequency of fertilized ovules	0.44				0.56				0.48			0.23

Table 9. Mean values of fertilization index, post-fertilization abortion index, and overall index of seed set, for the populations of Lathyrus studied

Species	Populations	Index of fertilization	Index of abortion	Index of seed set
<u>Lathyrus latifolius</u>	Avion 1985	0.59	0.50	0.30
	Avion 1984	0.63	0.48	0.33
	Doué 1985	0.68	0.38	0.42
	Mean values for the species	0.64	0.45	0.34
<u>Lathyrus sylvestris</u>	Pequencourt 1985	0.41	0.46	0.23
	Pequencourt 1984	0.46	0.48	0.24
	Boulonnais 1984	0.69	0.47	0.36
	Helfaut 1984	0.70	0.50	0.35
	Laruns 1984	0.69	0.60	0.28
	Ste. Suzanne 1984	0.74	0.38	0.46
	Bilhères 1984	0.78	0.58	0.33
	Miquelou 1984	0.57	0.59	0.24
	Mean values for the species	0.63	0.51	0.30



Hossaert & Valero 15

formed in the distal part of the ovary, where the pollen tubes first arrive following pollination, and that fewer ovules are fertilized in the basal part of the ovary.

4. Impact of insect predators on patterns of seed maturation within pods

The most striking aspect of our results on seed consumers is the great interpopulation variability in intensity of attack (Tables 2 and 3). This variability is particularly marked in the case of Bruchus affinis, which is totally absent from some Lathyrus populations in northern France but whose larvae destroy about 17% of the seeds in others (e.g., Helfaut L. sylvestris). Maximum percentage of seeds consumed by insects was about 22% in the St. Suzanne population of L. sylvestris, where we also observed the maximum percentage of ovules developing to maturity (Table 4).

The bruchid beetle B. affinis attacked a higher proportion of maturing seeds in position class III than in other parts of the pod (Hossaert et al., in prep.).

5. Pollen tube growth and fertilization

Observations of pollen tube growth and of fertilization of ovules in the ovary of senescent flowers or very young fruits gave results that are important to understanding the pattern of seed maturation within the pod.

(1) On pollinated flowers of Lathyrus in natural populations, a large number of sticky pollen grains are observed on the stigma, but only a few pollen tubes arrive in the ovary. In most cases, we found that the number

of pollen tubes arriving in the ovary was less than the number of ovules. The "bottleneck" beyond which most pollen tubes do not grow appears to be in the basal part of the hollow style or at the distal tip of the ovary.

(2) When the pollen tubes enter the ovary, they very often "pass" the first two or three ovules (Positions 18-20 for "standard" pod of L. latifolius and 10-12 for "standard" pod of L. sylvestris), fertilizing only the third or fourth and subsequent ovules. The result of this behavior is that the highest frequency of fertilized ovules is in position class III (Tables 7 and 8). The pattern of distribution is the same in both species (Figure 9).

(3) Examination of which ovules are fertilized in ovaries at differing stages of development shows that ovules at different positions are fertilized at different times (Figure 10). The first pollen tubes to enter the ovary (in the senescent-flower stage: 2 or 3 days after pollination) fertilize predominantly the ovules in position class III; pollen tubes subsequently entering the ovary (young-pod stage: 5 or 6 days after pollination) fertilize substantial number of ovules in positions 2,3 and even 4.

DISCUSSION

In the two Lathyrus spp. studied, only between 24 and 44%, depending on species and population, of the ovules in mature fruits produce mature seeds. This low proportion of ovules develop into mature seeds was due to lack of fertilization and to abortion of fertilized ovules. Compared to values observed for other legumes in natural populations, these proportions are a

little lower than those reported by Bawa and Webb (1984) for Bauhinia unguolata (59%) and Caesalpinia eriostachys (45%), but markedly lower than seed set within mature pods observed by Schaal (1980) in Lupinus texensis (71%), Lee (1986) in Cassia fasciculata (53%) and Stoddard (1986a) in Vicia faba (72%). Seed set within fruits that are matured thus seems to be lower in these two species of Lathyrus than in other legumes studied. Lathyrus tuberosus shows an even lower ratio of seeds matured/total number of ovules (13%; LeCorff et al. 1987).

Pollination and fertilization may be important factors limiting seed set in Lathyrus. In the two species of Lathyrus studied here, only 62-63% of the ovules in mature fruits were fertilized. Comparison with other species is difficult, because for only, a few data are available. If Lee's (1986) assertion is correct that unexpanded ovules of Cassia fasciculata are unfertilized, then in wild populations of this species, 96.9% of the ovules in mature fruits were fertilized. This is the only other legume species in which percentage of ovules fertilized has been studied in field populations.

Lee (1986) found no significant difference between mature fruits in wild populations of C. fasciculata and mature fruits in hand-pollinated experimental plants in percentage ovules fertilized. If species studied only in greenhouse or experimental-garden situations are admitted, more data are available for comparison. As in C. fasciculata, in all cases (Phaseolus vulgaris: Gabelman and Williams 1962; Glycine max: Abernethy et al. 1977; Vicia faba: Stoddard 1986 a; Sesbania vesicaria: Marshall et al. 1986), percentage of ovules fertilized in mature fruits was greater than 90%. In one species, Sesbania macrocarpa, 57% of the ovules in mature fruits yielded seeds (Marshall et al. 1986).

A pattern appears when we consider these results in relation to the life histories of the various species involved. Seed set per flower is lower in perennials, both in the tropical trees studied by Bawa and Webb (1984) and in the Lathyrus spp. studied here, than in the annuals studied by Schaal (1980), Lee (1986), Stoddard (1986 a) and Marshall et al. (1986). Percentage of ovules fertilized is lower in perennial Lathyrus than in the other species for which data exist, which are all annuals. Percentage of ovules fertilized has not been studied in leguminous trees.

Several reasons may be invoked to explain this pattern.

1. Pollen limitation. First, pollination may in some way limit seed set within mature pods. In animal-pollinated perennials, both large trees and herbaceous perennials with clonal growth, we may suspect that a larger proportion of the pollen grains transported is geitonogamous pollen (Handel 1985; Garwood and Horvitz 1985). In smaller-bodied annuals, a relatively greater proportion of the pollen transported is allopollen. Added to this is the fact that most of the annual legumes studied are selfing, and would thus be expected to give higher seed set even under conditions of limited allopollen, whereas in contrast, limited amount of allopollen may limit seed set in outcrossing perennial species such as Lathyrus spp. However, if this is the only factor operating, the two species of Lathyrus studied here should differ in percentage of ovules fertilized, since L. sylvestris engages in more selfing than does L. latifolius (Valero et al. 1987).

2. Postpollination factors. Postpollination factors may be involved. Annuals invest relatively more in current reproduction, whereas perennials invest relatively more in structures that increase survivorship and the

probability of future reproduction (Bloom et al. 1985). Perennials, generally characterized by having few, often larger seeds relative to annuals, may be expected to possess traits that result in greater selectivity in the production of offspring. These traits may include a greater tendency to self-incompatibility, traits that lead to more intense competition among compatible pollen grains, and traits that lead to a lower proportion of fertilized ovules being matured.

a. Pollen competition. What evidence is there that pollen competition occurs and is important in patterns of seed set in Lathyrus spp.? In both species studied here, most of the seeds are formed in the third quarter of the pod (from base to tip). This suggests that of the two interacting gradients we believe to be important in patterns of seed formation, the gradient in fertilization within the pod, demonstrated in our results on pollen tube growth and fertilization, may be more important than the gradient in distance from maternal resources. Similar results were also obtained by Cooper and Brink (1940), Sayers and Murphy (1966), Bawa and Webb (1984), and Lee (1986) in fruits of other legume species. Horowitz (1976) found the opposite pattern in Medicago and Lupinus.

Our results strongly indicate that competition among gametophytes accounts for this and other ovule position effects in Lathyrus spp. When Lathyrus flowers are pollinated, a large number of sticky pollen grains are observed on the stigma, but the number of pollen tubes arriving in the ovary is often less than the number of ovules, suggesting intense pollen competition within the style. Sayers and Murphy (1966) observed this also in Medicago sativa. Huxley (1942) suggested that competition among pollen grains would result in selection of fast growing pollen tubes. Mulcahy et

Hossaert & Valero 20

al. (1963) demonstrated this effect of pollen competition in natural populations of Geranium maculatum. Successful pollen tubes grew 34-41% faster than the average. The fast growing pollen tubes reach first the ovules located at the stylar end (Correns 1928; Cooper and Brink 1940; Harding and Tucker 1969; Lee 1986; Stoddard 1986b).

These fast growing pollen tubes may result in heavier seeds, as shown in Zea mays by Ottaviano et al. (1983), Medicago sativa by Barnes and Cleveland (1963) and Collomia grandiflora by Lord and Eckard (1984). Mulcahy and Mulcahy (1975) also indicated that a correlation exists between gametophytic and sporophytic qualities, and that fast-growing pollen tubes confer their vigor on resulting embryos. Such a correlation between growth rates of pollen tubes and the competitive ability of the embryos they produce was demonstrated in Petunia hybrida (Mulcahy et al. 1975) and Dianthus chinensis (Mulcahy and Mulcahy 1975; McKenna and Mulcahy 1983), in Zea mays (Ottaviano et al. 1983) and in Cassia fasciculata when the plants are in competition for resources (Lee 1984).

All these studies are in accord with the pattern we found for seed formation in all populations of the two Lathyrus spp. studied. Under conditions of pollen competition in a linear fruit such as a legume pod, it is expected that most seeds will be formed in the stylar end (Lee 1984). In this study the higher frequency of seed maturation found in position class III than in class IV (stigmatic end) is due to the fact that the first two ovules at the stigmatic end are not fertilized, a result confirmed by examination of pollen tube growth in ovaries of L. latifolius. Why these first two ovules are "passed up" by growing pollen tubes is not clear.

In another study, on seed weight in relation to seed position within the pod (Hossaert et al., in prep.), we also found that seeds in position class III are heavier than seeds in other positions. As shown by our results on pollen tube growth and fertilization, the seeds found in position class III result from fertilization by the fastest-growing pollen tubes. Our data on seed weight support the hypothesis that these fast-growing pollen tubes result in heavier seeds.

b. Competition for maternal resources. The within-pod pattern of seed maturation was also influenced by factors other than pollination and fertilization. Fertilized ovules were more likely to be aborted in position classes I and IV than in other positions, in L. latifolius. Abortion of fertilized ovules was random with respect to position in L. sylvestris. Though the role of limited maternal resources in determining patterns of seed abortion is less clear than its role in determining patterns of fruit abortion (Bawa and Webb 1984), the patterns we observed may be partly attributable to resource limitation. First, the high probability of abortion in position class IV in L. latifolius may be due to the greater distance of these distal ovules from physiological sources. This effect may be more pronounced in L. latifolius than in L. sylvestris because in the former species pods are much longer and contain more ovules. Second, the high probability of abortion in position class I in L. latifolius may be due to the fact that they are fertilized by the last and slowest-growing pollen tubes that have entered the ovary. This may affect probability of abortion in at least two ways. First, embryos fertilized by slow-growing gametophytes may be intrinsically less vigorous in competition with their sibs for maternal resources. Secondly, it may simply be that those embryos

formed first (e.g., those in Class III) begin secreting growth-stimulating hormones first, thus gaining a temporal advantage as sinks in competition with other embryos for limited maternal resources. In either case the effect would be the same: there is preferential maturation of embryos formed by the fastest-growing pollen tubes. Gametophytic competition and competition for maternal resources may thus interact to determine patterns of seed set.

c. Other postpollination factors. Abortion of fertilized ovules may also be due to lethal gene combinations in the embryo or to postzygotic incompatibility systems, as shown by Crowe (1971) in Borago officinalis. In either case we would expect probability of abortion of fertilized ovules to be random with respect to their position within the pod. Of the two Lathyrus sp. studied, L. sylvestris does exhibit a random pattern of abortion. This species engages in more selfing than does L. latifolius. It is possible that, as in Medicago sativa (Cooper and Brink 1940), ovules containing self-embryos are much more likely to be aborted than cross-fertilized ovules. Such preferential abortion of self-embryos, either as a result of a late-acting self-incompatibility (post-zygotic rejection: Seavey and Bawa 1986) or of an early manifestation of inbreeding depression, may contribute to ovule abortion, random with respect to position, in L. sylvestris.

Bubar (1958) proposed an hypothesis to account for the low proportion of seeds that develop to maturity in Lotus corniculatus. He noted that pollen germination and growth was possible during only a relatively short time in the life of the flower, and observed that ovules in a single fruit varied considerably in rate of development. Thus only a proportion of the

ovules are mature and can be fertilized at the time when pollen can germinate and grow. This situation does not seem to occur in Lathyrus. Experiments on pollen viability and stigmatic receptivity in L. latifolius (Valero et al. 1986) show that pollen is still able to germinate five days after anthesis, and that the stigma also remains receptive during the 2-5 days after anthesis, allowing successive pollination and fertilization over a relatively long period.

3. Interactions between fertilization and competition for limited maternal resources. Examining the conditional probabilities in the sequence from fertilization to seed maturation, we can estimate the relative roles of different steps in the serial adjustment (Lloyd 1980) whose final result is the pattern of seed set within fruits. The ratio of fertilized ovules/total ovules is an index of fertilization success. The ratio of aborted ovules/fertilized ovules is an index of post-fertilization ovule abortion. By comparing each of these with the overall index of seed set, mature seeds/total ovules, we can compare their relative importance. Table 9 summarizes these indices for the populations studied.

Table 9 shows that in L. sylvestris, the index of fertilization exhibits more interpopulational variation than does the index of ovule abortion. The two extreme sites, Pecquencourt (on coal-mine spoil heaps) and Miguelou (high-elevation), have lower values for this index than do other populations. This is possibly related to shortage of pollinator visits in these unfavorable sites. The index of fertilization is highly rank correlated with the overall index of seed set, indicating the importance of fertilization as a determinant of seed set.

If limited maternal resources influence abortion of fertilized ovules, we should see differences in the extent of ovule abortion among populations and individuals subjected to differing amounts of drought and other stress. This may be responsible for some of the differences we observed among populations. The index of ovule abortion is less variable among populations, and variation in this index is less strongly correlated with the overall index of seed set. However, in three drought-prone southern populations of L. sylvestris (Laruns, Bilheres, and Miquelou), a greater proportion of ovules are aborted than in other populations. These three populations are also characterized by low seed set relative to their fertilization index, possibly indicating the importance of limited maternal resources in determining extent of seed set in these populations.

4. Influence of the breeding system on patterns of seed set within pods. The two species studied show differences in the pattern of seed maturation, particularly in position classes I and III. We postulate that this is due to differences in their breeding systems. Outcrossing rate is higher in L. latifolius than in L. sylvestris (Valero et al. 1986). Greater genetic diversity of pollen arriving on the stigmas of the former species should mean that pollen competition will have a greater potential to result in selective fertilization. More intense pollen competition certainly results in the prior fertilization of ovules near the stigmatic end (position class III), as previously discussed. In contrast, in the more inbreeding L. sylvestris, less competition among potential sires may result in relative slower pollen tube growth and more nearly random distribution of seeds within pods. Finally, seeds produced by selfing and by outcrossing may differ in their positions within the pod. In fact, Horowitz et al.

(1976) found in Lupinus nanus that outcrossed seeds are usually near the stylar end of the pod, while seeds resulting from selfing are usually near the base of the ovary. However, Hessing (1986) and Fenster and Sork (1987) found no difference in pollen tube growth between self and outcrossed pollen.

The nature of the breeding system seems also to influence the level of variation we found among populations and among individuals. Although the number of L. latifolius populations studied is low, this more outcrossing species shows greater variation among individuals within populations than between two very distinctive populations (on spoil heaps and on calcareous slopes in a vineyard, respectively). In contrast, L. sylvestris shows a greater level of variation among populations than among individuals within a population. These results are mirrored in studies of many traits of these plants other than patterns of ovule development and seed formation (Valero and Hossaert, in prep.).

5. Insect consumers and patterns of seed set. In view of the higher probability that ovules in the distal half of the pod will be fertilized and matured, one would suppose that females of B. affinis may preferentially oviposit on the distal half of the pod. This is not the case; eggs are randomly distributed over the surface of the pod (A. Bashar, pers. comm.). However, the larvae apparently prefer developing seeds in position class III, for they attack a greater proportion of them than in other position classes (Hossaert et al., in prep.).

6. Patterns of seed set within fruits and seed dispersal.

Requirements for seed dispersal may impose "design constraints" influencing the pattern of seed distribution within the pod (Lee 1986). Seeds of

Hossaert & Valero 26

Lathyrus are dispersed ballistically when the pod dehisces from tip to base; as Lee (1986) suggests for Cassia fasciculata, seeds at the distal end of the fruit may be propelled for greater distances. Plants that selectively abort basal fertilized ovules, with lower chances of dispersal success, may be more successful. This same constraint may influence other features of ovary design, such as pod length. In fact, seeds of the long-podded L. latifolius are dispersed for greater distances than are those of L. sylvestris (Hossaert, unpublished), in which pods are shorter and seeds less concentrated near the tip of the pod.

CONCLUSION

The non-random pattern of seed distribution within pods observed in this study, where the probability of seed maturation is highest near the styler end, seems to be a consistent feature in multi-seeded legumes of all life history classes, and in other linear fruits (Hill and Lord 1986). This pattern points to underlying similarities in the processes and outcomes of gametophytic competition in linear fruits. However, annuals, herbaceous perennials, and tropical legume trees differ in other aspects of seed maturation within the pod: the percentage of ovules fertilized, and the percentage of fertilized ovules that are aborted, are quite variable among these life history classes and in other linear fruits. The greatest differences are found between annual and perennial legumes.

The perennial species studied here, Lathyrus latifolius and L. sylvestris, produce fruits with many more ovules than develop into mature seeds. A smaller proportion of ovules are fertilized than in annual

Hossaert & Valero 27

legumes, and pollen competition may be important in determining which ovules develop. Also, although comparative data are scarce, a larger proportion of fertilized ovules appear to be aborted than in annual legumes.

Selective fertilization and abortion may allow plants to regulate the quality of their offspring (Lloyd 1980). If this is so, then perennial legumes may be able to exert more selective control in the regulation of the quality of their offspring than are annual legume species.

In both species the extent and pattern of fertilization seem to be very important in determining seed set and the pattern of seed distribution within the pod. Postpollination factors, particularly gametophytic competition, may optimize the selection of vigorous embryos from among the potential offspring.

Non-random fertilization, such as observed in this study, should induce deviations from Mendelian expectations (Mulcahy and Kaplan 1979).

In a multitude of ways, two peas in a pod are definitely not alike.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study has been partially supported by the C.N.R.S (A.T.P #). We wish to thank Anissa Chaib, Genevieve Tortay and Alida Youssef for their assistance in collecting data. Marc Jarry and Carol Horvitz were particularly helpful in their advice on data analysis and Rene Masson for his assistance in performing the nested analysis of variance on the pattern of seed maturation within the pods. The manuscript has benefited from the comments and suggestions of Carol Horvitz, Vincent Labeyrie, Josiane Lecorff, Jon Lovett-Doust, Doyle McKey, Dave Mulcahy and Karen Searcy.

LITERATURE CITED

- ABERNETHY, R.H., R. G. PALMER, R. SHILBES, AND I.C. ANDERSON. 1977.
Histological observations on abscising and retaining soybean flowers.
Can. J. Pl. Sci. 57, 713-716.
- BARNES, D. K., AND R. W. CLEVELAND. 1963. Genetic evidence for non-random
fertilization in alfalfa as influenced by differential pollen tube
growth. Crop Sci. 3: 295-297.
- BAWA, K. S., AND C. J. WEBB. 1984. Flower, fruit and seed abortion in
tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and
maternal reproductive patterns. Amer. J. Bot. 71: 736-751.
- BLOOM, A. J., F. S. CHAPIN, III, AND H. A. MOONEY. 1985. Resource
limitation in plants: an economic analogy. Ann. Rev. Ecol. Syst. 16:
363-392.
- BUBAR, J. S. 1958. An association between variability in ovule development
within ovaries and self-incompatibility in Lotus (Leguminosae). Canad.
J. Bot. 36: 65-72.
- CHESSEL, D. 1978. Description non parametrique de la dispersion spatiale
des individus d'une espece. In J.M. Legay et R. Tomassone (eds.),
Biometrie et Ecologie, pp 45-135. Societe francaise de Biometrie, Paris.
- COOPER, D. C., AND R. A. BRINK. 1940. Partial self-incompatibility and the
collapse of fertile ovules as factors affecting seed formation in
alfalfa. J. Agric. Res. 60: 453-472.

- CORRENS, C. 1928. Bestimmung, Vererbung und Verteilung des Geschlechtes bei den hoeheren Pflanzen. In E. Baur and M. Hartmann (eds.), Handbuch der Vererbungswissenschaft 2 : 1-138. Borntraeger, Berlin.
- CROWE, L. K. 1971. The polygenic control of outbreeding in Borago officinalis. Heredity 27: 111-116.
- FENSTER, C. B., AND SORK, V. L. 1987. Effect of crossing distance and male parent on in vivo pollen tube growth in Chamaecrista (=Cassia) fasciculata. Submitted to Am. Nat.
- GABELMAN, W. H., AND D. D. F. WILLIAMS 1962. Water relationships affecting pod set of green beans. Plant Sci. Symp. Proc. 29-36.
- GARWOOD, N. C., AND C. C HORVITZ 1985. Factor limiting fruit and seed production of a temperate shrub, Staphylea trifolia L. (Staphyleaceae). Am. J. Bot. 72: 453-466.
- HANDEL, S. N. 1985. The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding systems. Am. Nat. 125: 367-384.
- HARDING, J. AND C. L. TUCKER 1969. Quantitative studies on mating systems. III. Methods for the estimation of male gametophytic selective values and differential outcrossing rates. Evolution 23: 85-95.
- HESSING, M. B. 1986. Pollen growth following self- and cross-pollination in Geranium caespitosum James. pp. 472 in D. L. Mulcahy, G. B. Mulcahy, and E. Ottaviano (eds.), Biotechnology and Ecology of Pollen. Springer-Verlag, Berlin.
- HILL, J. P. AND E. M. LORD. 1986 Dynamics of pollen tube growth in the wild radish, Raphanus raphanistrum (Brassicaceae). I. Order of fertilization. Evolution 40: 1328

- HOSSAERT, M., AND M. VALERO. 1985. Differences in population biology within the Lathyrus sylvestris group (Leguminosae: Papilionaceae). In J. Haeck and J. W. Woldendorp (eds.), Structure and functioning of plant populations 12, pp. 65-76. North Holland Publishing Co., Amsterdam..
- HOROWITZ, A., L. MEIR, AND A. BEILES. 1976. Effects of ovule position in fabaceous flowers on seed set and outcrossing rates. Bot. Gaz. 137: 250-254.
- HUXLEY, J. S. 1942. Evolution, the modern synthesis. Allen and Unwin, London.
- LABEYRIE, V., AND M. HOSSAERT. 1985. Ambiguous relationships between Bruchus affinis and the Lathyrus group. Oikos 44: 107-113.
- LECORFF, J., M. HOSSAERT, D. DEBOUZIE, AND J. BOSCHER. 1987. Flower production and determination of fruit set in a perennial Lathyrus, L. tuberosus (Leguminosae: Papilionaceae). Submitted to Oikos.
- LLOYD, D. G. 1980. Sexual strategies in plants I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. New Phytol. 86: 69-79.
- LEE, T. D. 1984. Patterns of fruit maturation: a gametophytic competition hypothesis. Amer. Nat. 123: 427-432.
- LEE, T. D. 1986. Maternal regulation of fecundity: non-random ovule abortion in Cassia fasciculata Michx. Oecologia (Berl.) 68: 459-465.
- LEE, T. D., AND F. A. BAZZAZ. 1982. Regulation of fruit and seed production in an annual legume, Cassia fasciculata. Ecology 63: 1364-1373.

Hossaert & Valero 3i

- LORD, E. M. AND K. J. ECKARD. 1984. Incompatibility between the dimorphic flowers of Collomia grandiflora, a cleistogamous species. *Science* 223: 695-696.
- MARSHALL, D., D. A. LEVIN, AND N. L. FOWLER. 1986. Plasticity of yield components in response to stress in Sesbania macrocarpa and S. vesicaria (Leguminosae). *Amer. Nat.* 127: 508-521.
- MARTIN, F. W. 1959. Staining and observing pollen tubes by means of fluorescence. *Stain Technology* 34: 436-437.
- MCKENNA, M. AND D. MULCAHY. 1983. Ecological aspects of gametophytic competition in Dianthus chinensis. In D.L. Mulcahy and E. Ottaviano (eds.), *Pollen: Biology and Implications for Plant Breeding*, pp 419-424. Elsevier, Amsterdam.
- MULCAHY, D. L., P. S. CURTIS, AND A. A. SNOW. 1983. Pollen competition in a natural population. In C. E. Jones and R. J. Little (eds.), *Handbook of experimental pollination biology*, pp. 101-123. Van Nostrand Reinhold, New York.
- MULCAHY, D. L., AND S. M. KAPLAN. 1979. Mendelian ratios despite non-random fertilization? *Amer. Nat.* 113: 419-425.
- MULCAHY, D. L., AND G. MULCAHY. 1975. The influence of gametophytic competition on sporophytic quality in Dianthus chinensis. *Theor. Appl. Genet.* 46 :277-280
- MULCAHY, D. L., G. B. MULCAHY, AND E. OTTAVIANO. 1975. Sporophytic expression of gametophytic competition in Petunia hybrida. In D. L. Mulcahy (ed.), *Gamete competition in plants and animals*, pp. 227-232. Elsevier, Amsterdam.

Hossaert & Valero 32

- OTTAVIANO, E., M. SARI-GORLA, AND I. ARENARI. 1983. Male gametophyte competitive ability in Maize, selection and applications with regard to the breeding system. In D. Mulcahy and E. Ottaviano (eds), Pollen: Biology and Implications for Plant Breeding, pp 367-374. Elsevier, Amsterdam.
- S.A.S. Institute. 1985. SAS Users guide: Statistics, Version 6. Edition S.A.S Institute, Inc. Cary, North Carolina.
- SAYERS, E. R., AND R. P. MURPHY. 1966. Seed set in alfalfa as related to pollen tube growth, fertilization frequency and post-fertilization ovule abortion. Crop Sci. 6: 365-368.
- SCHAAL, B. A. 1980. Reproductive capacity and seed size in Lupinus texensis. Amer. J. Bot. 67: 703-709.
- SEAVEY, S. R., AND K. S. BAWA. 1986. Late acting self-incompatibility in angiosperms. Bot. Rev. 52: 195-219.
- STEPHENSON, A. G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. Ann. Rev. Ecol. Syst. 12: 253-279.
- STODDARD, F. L. 1986a. Pollination, fertilization and seed development in winter stocks of Faba beans (Vicia faba L.). Euphytica 35: 925-934.
- STODDARD, F. L. 1986b. Floral viability and pollen tube growth in Vicia faba L. J. Plant Physiol. 123: 249-262.
- VALERO, M., M. HOSSAERT, B. CARON, A. YOUSSEF, AND P. VERNET. 1987. Allocation des ressources chez deux especes de Legumineuses, Lathyrus latifolius et Lathyrus sylvestris. In Colloque National CNRS, Biologie des populations, pp. 141-148. CNRS, Paris, France.

Hossaert & Valero 33

VALERO, M., A. YOUSSEF, P. VERNET, AND M. HOSSAERT. 1986. Is there a polymorphism in the breeding system of Lathyrus latifolius? In D. Combes and A. K. Kaul (eds.), Proceedings of the first international colloquium on Lathyrus, pp.

CHAPITRE 3

ETUDE DU REGIME DE LA REPRODUCTION

L'estimation du régime de la reproduction a été effectuée par différentes méthodes:

1- Plusieurs campagnes de croisements ont été réalisées, en terrain expérimental, pour comparer la fertilité des individus en autofécondation forcée et en fécondation croisée (Valero et al., 1986, chapitre 3-1).

2- Des sacs ont été mis sur une dizaines d'individus dans différentes populations naturelles de L. latifolius et L. sylvestris, pour connaître leur aptitude à s'autoféconder in situ. D'autre part, les individus ont été étudiés pour leur viabilité pollinique et leur réceptivité stigmatique (chapitre 3-2).

3- Le système de la reproduction a été étudié dans plusieurs populations des deux espèces, à l'aide de marqueurs alloenzymatiques, par l'observation des structures génotypiques et le calcul des coefficients de consanguinité (F statistics). Cette structure génotypique des individus a été mise en relation avec leur répartition spatiale dans les populations pour connaître l'origine de la consanguinité: est-elle due à des faibles flux géniques (faibles voisinages) ou résulte-t-elle de l'autofécondation? Des descendances issues de pollinisations libres, récoltées dans les populations naturelles ont été analysées par électrophorèse, pour répondre à cette question.

3-1 ETUDE DES CROISEMENTS CHEZ L. LATIFOLIUS

Kaul A.K., Combes D. (eds) *Lathyrus and lathyrism*
1986 Colloque Lathyrus Pau.

IS THERE A POLYMORPHISM IN THE BREEDING SYSTEM OF *LATHYRUS LATIFOLIUS*?

MYRIAM VALERO, AZIZA YOUSSEF and PHILIPPE VERNET

Laboratoire de Génétique Ecologique et de Biologie des Populations,
U.S.T.L.F.A. 59655 Villeneuve D'Ascq Cedex, France

and

MARTINE HOSSAERT

Institut de Biocénétique Expérimentale des Agrosystèmes —
UA CNRS 340 Avenue de l'Université — Campus Universitaire — 64000 Pau, France

Introduction

Lathyrus latifolius is a perennial, hermaphroditic species widely distributed in Europe, capable of extensive vegetative propagation from stolons. In previous papers (Hossaert and Valero 1985; Hossaert and Valero, this volume), we compared the relative roles of sexual and asexual reproduction in the population dynamics of this species. In this study, we consider a different aspect of the reproductive system of *L. latifolius*, the relative importance of outcrossing and self-fertilization. The role of insects and the possible occurrence of a polymorphism in the breeding system are discussed.

Material and Methods

A series of crosses were performed in 1983 and 1984 in an experimental garden, with 3 main types of crosses: Free fertilization, controlled fertilization with allopollen and controlled fertilization with autopollen. In each of these 3 situations, the effects of different types of bags (organdy or paper), castration and "disturbance" (i.e., moving the pollen onto the stigma to simulate insect pollination) were tested. This experimental scheme represents 17 different crosses per plant (Table 1). Each type of cross was performed on one inflorescence, including on average 10 flowers, giving a total of 170

crosses per plant. 12 plants were studied in 1983 and 7 in 1984. The plants were grown from seeds collected in 6 populations (Table 2). Some plants possessed too few flowers for performance of all 17 types of crosses. Other plants had sufficient flowers to allow replication of one or more crosses on different inflorescences. This was done when possible.

We determined female fertility (number of seeds per flower) and viability (proportion of seeds surviving to maturity) for each type of cross.

To calculate the average fertility for one plant, we counted the number of seeds given by each flower. Division of the total number of seeds produced by the total number of flowers gives the average fertility for the plant ($\bar{x}_i$) and allows the calculation of intra individual standard deviation. Because in most cases the different types of crosses were done on 10 flowers per individual, the intra individual variance is generally high, and may decrease the statistical value of the average fertility ($\bar{X}$) calculated

over all the individuals
$$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \bar{x}_i$$

where N is the number of individuals). To minimize the variance, we calculated another mean ($\bar{x}_T$) over all the flowers rather than over all the individuals

TABLE 1
Crosses, Experimental Design

type of crossing	isolation	castration	pollination	"disturbance"	numbering of each cross
FREE POLLINATION	-	-	(x) (o) (.)	-	1
	-	-	(x) (o) (.)	+	2
	-	+	(o) (.)	-	3
	-	-	o (x) (.)	+	4
	-	+	o (.)	+	5
ALLO POLLINATION	(organdy)	-	o (x)	+	6
	(organdy)*	+	o	+	7
	(paper)	-	o (x)	+	8
	(paper)	+	o	+	9
AUTO POLLINATION	(organdy)	-	x	-	10
	(organdy)	-	x	+	11
	(organdy)*	-	. (x)	+	12
	(organdy)*	+	.	+	13
	(paper)	-	x	-	14
	(paper)	-	. (x)	+	15
	(paper)	+	.	+	16
CONTROL	(organdy)	+	-	-	17

+ : presence

- : absence

* : these crosses were not performed in 1983

o : controlled allopollination

(o) : allopollination possible

x : controlled autopolpollination with pollen from the same flower (autogamy)

(x) : autogamy possible

. : controlled autopolpollination with pollen from another flower of the same individual (= geitonogamy)

(.) : geitonogamy possible

TABLE 2
Origin of Plants Studied

population	origin	number of plants		
		1983	1984	Total
A	Nyons (Drôme, southern France)	1	1	2
B	Mirabel (Drôme, southern France)	2	2	4
C	Montpellier (Hérault, southern France)	1	2	3
D	Doué (Touraine central France)	5	1	6
E	Bedarieux (Hérault, southern France)	2	0	2
F	Lille (Nord, northern France)	1	1	2

$(\bar{x}_T = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N a_i)$ where a_i is the number of seeds produced by the flower i and n the total number of flowers studied). The problem with this second mean, $\bar{x}_T$, is that it gives more weight to individuals in which many flowers were studied. Both estimates of average fertilities ($\bar{x}_T$ and $\bar{X}$) will be presented.

Results

(1) Experimental effects

(a) insect pollination effects

A control, emasculated and bagged in an organdy bag (cross n°17, Table 1) which prevents insect visitation of flowers was performed for each individual. Pod or seed were never obtained in that condition in 1983 nor in 1984 (0 seed over 130 flowers emasculated). Pollination is thus performed only by insects and not by wind.

To estimate the efficiency of insect pollination 2 comparisons can be made with the unbagged control (Table 3).

— to test the "disturbance" effect we moved the pollen onto the stigma to simulate insect disturbance and we compared fertilities obtained in the unbagged control (cross n°1, Table 1) and in the "disturbance" control (cross n°2, Table 1). The results (Table 3) show that there is no significant difference between these two types of experiments. For 7 individuals there is a weak tendency for disturbance to increase fertility, for the 7 other individuals studied the reverse is true. Both estimates of mean fertility ($\bar{x}$ and $\bar{X}$) confirm this. On average no significant effect of "disturbance" appears.

— pollination effect: to test whether insect pollination results in fertility as high as that obtained by artificial pollination, we

compared fertilities obtained in the unbagged control (cross n°1, Table 1) and in unbagged plants artificially pollinated with allopollen (cross n°4, Table 1). No significant differences (Table 3) appear between these two types of crosses, but there is on average a weak tendency (for $\bar{x}_T$ and $\bar{X}$) towards increased fertility with artificial pollination. Fertility increased with pollination in 10 of 14 individuals studied, but in no case was the increase significant.

(b) castration effect

2 comparisons can be made (Table 4): the first, between the control (cross n°1, Table 1) and castrated control (cross n°3, Table 1) and the second between the control pollinated (cross n°4, Table 1) and control pollinated and castrated (cross n°5, Table 1). The results (Table 4) show that there is a strong negative effect of castration in both cases, but this effect is weaker if pollination is done after castration (in that case, $\bar{X}$ is not significantly different between control not castrated and control castrated and pollinated). Here again, it appears that artificial pollination shows a tendency to increase fertility. Some individuals seem to be less affected by castration than others. This is especially the case for individual F3 which is functionally a female (i.e.: stamens are present but produce no viable pollen). The stamens were removed from in this individual to test the castration effect. The results show that a weak negative effect appears, that is not as strong as for the other (hermaphroditic) plants studied.

(c) bag effect

Paper bags and organdy bags were used to prevent insect visits. Results obtained in controlled fertilization with allopollen are compared for the 2 kinds of bags in Table 5. In 1983 and 1984, 3 types of experiments were made (Table 1): Allopollination in

TABLE 3
Insect Pollination Efficiency: Comparison between fertilities of: control (cross n°1, Table 1); control "disturbed" to simulate insect pollination (cross n°2, Table 1) and control "disturbed" and artificially pollinated (cross n°4, Table 1)

YEAR	PLANTS		Control		(cross n°1)		"Disturbance"		(cross n°2)		"Disturbance" and Pollination		(cross n°4)	
			n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	n	$\bar{x}$	n	$\bar{x}$
1983	A1	B2	94	0.94	±0.15	28	1.32	±0.09	21	0.10	11	1.00	0	0
	B3		88	0.85	±0.20	9	1.11	±0.69	9	1.13	8	1.13	±0.63	±0.63
	C29		44	1.75	±0.53	9	3.11	±0.94	7	2.14	7	2.14	±1.02	±1.02
	D8		111	3.38	±0.39	11	4.91	±1.23	9	3.11	9	3.11	±1.5	±1.5
	D23		90	0.78	±0.19	35	0.14	±0.14	17	0.18	17	0.18	±0.17	±0.17
	D24		156	0.63	±0.38	18	0.28	±0.19	19	1.11	19	1.11	±0.39	±0.39
	D18		35	1.17	±0.44	15	1.53	±0.82	26	2.5	26	2.5	±0.71	±0.71
	E2		236	1.79	±0.23	19	2.36	±0.81	13	2.46	13	2.46	±0.95	±0.95
	F12		108	2.40	±0.30	18	2.11	±0.87	12	2.58	12	2.58	±0.97	±0.97
	B9		10	0.30	±0.20	5	0.20	±0.18	8	0.25	8	0.25	±0.23	±0.23
1984	C1		7	0		17	0.88	±0.59	10	0.80	10	0.80	±0.51	±0.51
	D1		12	1.42	±0.65	8	0.75	±0.58	8	1.50	8	1.50	±0.98	±0.98
	F3		10	1.70	±0.87	18	1.39	±0.61	6	2.67	6	2.67	±1.10	±1.10
	$\bar{x}$, n	$\bar{x}$, n	1177	1.32 ^a	±0.06	163	1.55 ^a	±0.22	14	1.44 ^a	14	1.55 ^a	±0.27	±0.27

Means were compared with t tests — Values indicated by the same letter are not significantly different. (Differences in values indicated by different letters are significant ($p < 0.05$). Numbering of plants: for example A1: individual n°1 of population A.

$\bar{x}_i$: $\frac{\sum \text{seeds of individual } i}{n_i}$
 n_i : number of flowers of individual i
 $\bar{x}_T$: $\frac{\sum \text{seeds of all individuals}}{n}$
 n : number of flowers of all individuals
 $\frac{\sum \bar{x}_i}{N} = \bar{x}$
 N : number of individuals
 s : standard deviation

TABLE 4
Castration Effect: Comparison of fertilities of: control (cross n°1, Table 1); and control castrated (cross n°3, Table 1), and on the other hand, control "disturbed" and artificially pollinated (cross n°4, Table 1) and control castrated, "disturbed" and artificially pollinated (cross n°5, Table 1). Symbols as in legend for Table 3

YEAR	1983												1984			MEANS		
PLANTS	A1	B2	B3	C29	D8	D23	D24	D26	D38	E2	B9	C1	F3			$\bar{x}$	n	N
Control (cross n°1)	$\bar{n}$ 94 $\bar{x}$ 0.36 s ± 0.15	176 0.95 ± 0.15	88 0.85 ± 0.20	44 1.75 ± 0.53	111 3.38 ± 0.39	90 0.78 ± 0.19	156 0.63 ± 0.38	73 0.05 ± 0.05	35 1.17 ± 0.44	236 1.79 ± 0.23	10 0.30 ± 0.20	7 0 ± 0.20	10 1.70 ± 0.87			1130 1.13 ^a ± 0.05	13 1.05 ^a ± 0.25	
Control castrated (cross n°3)	$\bar{n}$ 11 $\bar{x}$ 0 s	10 0 0	9 0 0	9 1.33 ± 0.83	8 0 0	26 0.42 ± 0.29	14 0 0	19 0 0	19 0 0	10 0 0	9 0 0	13 2.17 ± 0.38	10 1.20 ± 0.64			167 0.38 ^b ± 0.09	13 0.30 ^b ± 0.19	
"Disturbed" and pollinated (cross n°4)	$\bar{n}$ 11 $\bar{x}$ 0 s	9 1.00 ± 0.63	8 1.13 ± 0.69	7 2.14 ± 1.02	9 3.11 ± 1.50	17 0.18 ± 0.17	19 1.11 ± 0.39	15 0 $\pm$	26 2.50 ± 0.71	13 2.46 ± 0.95	8 0.25 ± 0.23	10 0.80 ± 0.51	6 2.67 ± 1.10			158 1.33 ^a ± 0.21	13 1.33 ^a ± 0.30	
"disturbed" pollinated and castrated (cross n°5)	$\bar{n}$ 6 $\bar{x}$ 2.67 s ± 2.43	16 0 0	7 0 0	5 2.60 ± 1.49	7 0 0	11 0 0	25 0.39 ± 0.21	15 0 0	13 0 0	6 3.33 ± 1.39	5 0.20 ± 0.18	4 0 ± 0.18	8 1.63 ± 1.00			126 0.57 ^b ± 0.19	13 0.83 ^b ± 0.33	





TABLE 5

Effects of Bags: Comparison of fertilities of control (cross n°1, Table 1), controlled fertilization with allopollen in paper bags (not castrated: cross n°8, Table 1; castrated: cross n°9, Table 1), and in organdy bags (not castrated: cross n°6, Table 1). Crosses in organdy bags with castrated flowers (cross n°7, Table 1) were performed only in 1984. Symbols as in legend for Table 3

YEAR	1983									1984				MEANS	
PLANTS	A1	B2	B3	C29	D8	D23	D24	D38	B9	C1	D1	F3	$\bar{x}$, n	$\bar{x}$ N	
Control (cross n°1)	ni	94	176	88	44	111	90	156	35	10	7	12	10	1080	12
	$\bar{x}_i$	0.36	0.95	0.85	1.75	3.38	0.78	0.63	1.17	0.30	0	1.42	1.70	1.16 ^{ab}	1.11 ^{ab}
	s	±0.15	±0.15	±0.20	±0.53	±0.39	±0.19	±0.38	±0.44	±0.20		±0.65	±0.87	±0.08	±0.25
Paper Bag Not Castrated (cross n°8)	ni	9	11	8	12	17	13	10	4	10	8	8	7	117	12
	$\bar{x}_i$	0.44	0	0	0.50	0	0	0.90	0	0	1.00	5.75	3.00	0.80 ^{bd}	0.97 ^{ab}
	s	±0.42			±0.48			±0.61			±0.64	±1.22	±1.41	±0.21	±0.48
Castrated (cross n°9)	ni	17	19	10	8	15	5	19	16	9	10	5	7	140	12
	$\bar{x}_i$	0	0.21	0	0.25	0	0	0	0	0.67	0	0	1.43	0.16 ^c	0.21 ^{cd}
	s		±0.20		±0.23					±0.63			±0.88	±0.07	±0.12
Organdy Bag Not Castrated (cross n°6)	ni	20	11	9	10	5	7	8	10	11	6	8	6	111	12
	$\bar{x}_i$	0.65	0	0	0.70	3.40	0	1.13	2.30	1.27	2.17	3.75	4.67	1.39 ^a	1.67 ^{ab}
	s	±0.63			±0.45	±1.31		±0.69	±1.11	±0.68	±0.89	±1.72	±1.37	±0.26	±0.44
									crosses of 1984				n _i	74	7
									Organdy Bag Castrated				$\bar{x}_i$	0.81 ^{bd}	1.13 ^{ab}
									(cross n°7)				s	±0.24	±0.55

paper bag (i) on uncastrated flowers (cross n°8) and (ii) on castrated flowers (cross n°9), and allopollination in organdy bag on uncastrated flowers (cross n°6). The fourth experiment, allopollination in organdy bag on castrated flowers (cross n°7), was not performed in 1983. The results obtained in all individuals studied in 1984 for this type of cross are given in Table 5 as a reference.

There is no significant bag effect when crosses are done on uncastrated flowers (compare cross n°1 to crosses n°6 and 8), but the fertility observed in paper bags is reduced (not significantly) compared to that observed in organdy bags. This is especially true for individuals studied in 1983, a year during which the weather was warmer than in 1984. Moreover, the castration effect associated with paper bags (cross n°9) reduces strongly and significantly the fertility of plants studied (whereas it has no significant effect when it is associated with organdy bags (cross n°7)).

This strong castration effect, and the fact that most of the crosses were done in paper bags in 1983, will then greatly reduce the fertilities observed in allogamy (controlled fertilisation on castrated flowers).

(2) Study of the reproductive system: balance between outcrossing and self-fertilization

Table 6 presents for each individual the results observed in two groups of experiments designed to compare the effects of outcrossing and self-fertilization on fertility.

— controlled allopollination on uncastrated flowers (both allogamy and autogamy possible: crosses n°6 and 8) and on castrated flowers (only allogamy possible: crosses 7 and 9).

— controlled self-fertilization (i) on uncastrated flowers pollinated (a) with their

own pollen (only autogamy possible: crosses 10, 11 and 14) or (b) with the pollen of another flower of the same individual (both autogamy and geitonogamy possible: crosses n°12 and 15) and self-fertilization (ii) on castrated flowers pollinated with another flower from the same individual (only geitonogamy possible: crosses n°13 and 16). Results from the control (cross n°1) are included in Table 6 for comparison.

First of all, it appears that for all individuals except 1 (D1) no seed is produced by autogamy.

Second, a strong effect of castration associated with paper bags reduces the fertility in allogamy for most of the plants studied in 1983.

Third, the fertilities of females (F12 and F3) in allogamy is very high compared to other individuals, probably partly because there is no castration effect. The higher fertilities of female plants may be the expression of a possible advantage gained when investment in males is reduced (Lewis, 1941; Maynard Smith, 1978).

In view of these results, we have compared the average fertilities observed in plant D1 (able to produce seeds by autogamy) and in the two females, to those observed for all other individuals (Table 7).

The results show that all the plants studied except D1 outcross preferentially (i.e., fertilities observed in allogamy are significantly higher than those observed in all kinds of self-fertilization experiments). The number of seeds obtained in self-fertilization is very low and self-fertilization is possible only in geitonogamy, never by autogamy. The castration effect appears clearly by comparison to female fertilities.

Plant D1 behaved very differently than the others. It gave no seed at all in allogamy

TABLE 6

Balance Between Outcrossing and Self-Fertilization: Comparison of fertilities of control (cross n°1), outcrossing (not castrated: crosses n°6 and 8; castrated: crosses n°7 and 9) and self-fertilization (geitonogamy, not castrated: crosses n°12 and 15; autogamy: crosses n°10, 11 and 14; and geitonogamy castrated: crosses n°13 and 16). Symbols as in legend for Table 3

YEAR	1983												1984						
	PLANTS												A3	B2	B9	C1	C33	D1	F3
Control (cross n°1)	$\bar{n}$ 94 $\bar{x}$ 0.36 s ± 0.15	176 0.95 ± 0.15	88 0.85 ± 0.20	44 1.75 ± 0.53	111 3.38 ± 0.39	90 0.78 ± 0.19	156 0.63 ± 0.38	73 0.05 ± 0.05	35 1.17 ± 0.44	116 1.79 ± 0.23	58 0.81 ± 0.29	108 2.40 ± 0.30	—	18 0.33 ± 0.32	10 0.30 ± 0.20	7 0 ± 0.20	7 0 ± 0.20	12 1.42 ± 0.65	10 1.70 ± 0.87
Allogamy not castrated = Allogamy + Autogamy (crosses n°6 and 8)	$\bar{n}$ 29 $\bar{x}$ 0.59 s ± 0.34	22 0 ± 0.15	17 0 ± 0.20	22 0.59 ± 0.33	22 0.77 ± 0.43	20 0 ± 0.19	18 1.00 ± 0.46	17 0 ± 0.05	14 1.64 ± 0.84	7 0.43 ± 0.28	10 0 ± 0.29	—	—	—	21 0.67 ± 0.38	14 1.50 ± 0.55	—	16 4.75 ± 1.08	—
Allogamy (castrated) (crosses n°7 and 9)	$\bar{n}$ 17 $\bar{x}$ 0 s ± 0.20	19 0.21 ± 0.20	10 0 ± 0.20	8 0.25 ± 0.23	15 0 ± 0.23	5 0 ± 0.23	19 0 ± 0.23	16 0 ± 0.23	16 0 ± 0.23	7 0.71 ± 0.66	10 0 ± 0.23	44 1.43 ± 0.42	16 0.38 ± 0.36	41 0.39 ± 0.22	14 2.07 ± 0.79	10 0.24 ± 0.18	12 0.75 ± 0.52	12 0 ± 0.52	25 2.68 ± 0.69
Geitonogamy (not castrated) = geitonogamy + autogamy (crosses n°12 and 15)	$\bar{n}$ 9 $\bar{x}$ 0 s ± 0.21	9 0 ± 0.21	5 0 ± 0.21	9 0.22 ± 0.21	16 0 ± 0.21	9 0 ± 0.21	8 0 ± 0.21	17 0 ± 0.21	9 0 ± 0.21	10 0 ± 0.21	—	—	—	—	21 0.10 ± 0.09	11 0 ± 0.09	—	18 3.67 ± 0.79	—
Autogamy (crosses n°10, 11 and 14)	$\bar{n}$ 18 $\bar{x}$ 0 s ± 0.15	49 0 ± 0.15	23 0 ± 0.15	47 0 ± 0.15	69 0 ± 0.15	31 0 ± 0.15	42 0 ± 0.15	51 0 ± 0.15	41 0 ± 0.15	20 0 ± 0.15	12 0 ± 0.15	55 0 ± 0.15	—	19 0 ± 0.15	18 0 ± 0.15	18 0 ± 0.15	13 0 ± 0.15	26 1.08 ± 0.55	11 0 ± 0.55
Geitonogamy (castrated) (crosses n°13 and 16)	$\bar{n}$ 14 $\bar{x}$ 0 s ± 0.11	16 0 ± 0.11	6 0 ± 0.11	36 0.11 ± 0.11	30 0 ± 0.11	29 0 ± 0.11	40 0.10 ± 0.10	35 0 ± 0.10	38 0 ± 0.10	24 0 ± 0.10	—	—	5 1.20 ± 0.86	15 0.07 ± 0.06	16 0 ± 0.06	16 0 ± 0.06	16 0.50 ± 0.46	13 1.08 ± 0.60	—

and produced many seeds by autogamy (no significant differences between control and autogamy). Electrophoretic study of offspring obtained in allogamy + autogamy (crosses n°6 and 8) shows that offspring arose by selfing. This plant thus appears to be obligately self-fertilizing.

Results on seed viability (proportion of seeds yielding adult plants) are difficult to discuss, because the number of seeds produced in selfing was too small in the case of allogamous plants to test for inbreeding depression. In the case of the autogamous plant D1 there is no inbreeding depression effect (Table 8).

Discussion

(1) Insect pollination efficiency

The results have shown that (1) pollination is only performed by insects (essentially bees and bumblebees in our conditions) and (2) that fertility tends to increase with artificial allopollination. These results suggest that pollination by insects can be a factor limiting female fertility, so that attraction of pollinators can be an important component of female fitness. Frequent self-fertilization has been predicted for other reasons under conditions of pollinator paucity (Lloyd, 1979). Travis (1984) has shown in *Amianthus muscaetoxicum* (Liliaceae), which is nearly self-incompatible, that fecundity and fruit set are at least partly pollinator limited. He concluded that the constraint on fertility imposed by the breeding system of *Amianthus muscaetoxicum* and the inefficacy of its pollinators may have been an important factor in the evolution of its long-lived perennial habit. The data for *Lathyrus latifolius* (Hossaert and Valero, 1985) show that in natural populations there is a very high frequency of flower abscission (0.70 to 0.90). Pollinator

limitation, in combination with self-incompatibility (demonstrated in this study) should be in part responsible for the low fertility level observed in *Lathyrus* populations (Hossaert and Valero, this volume).

(2) Breeding system

Our results show that most of the plants are preferentially outcrossed and nearly self-incompatible but one plant was found to be self-compatible and obligately self-fertilizing, as were many of its offspring. It seems then that there is a polymorphism for the breeding system in *L. latifolius*. Our first hypothesis was that this polymorphism was the result of a polymorphism for protandry. Indeed, in *Lathyrus*, anthesis occurs at the bud stage before the flower is opened, and the stigma seems to be receptive 2 and 3 days later at the flower — senescent flower stage. Another consideration suggesting this hypothesis is the fact that most individuals were able to give seeds by geitonogamy but not by autogamy. It could be that some individuals are protandrous and never give seeds by autogamy, while others may be not protandrous and thus able to give seeds by autogamy. A polymorphism for protandry and protogyny has been described in the genus *Juglans* (Knuth, 1906; Gleeson, 1982).

To test this hypothesis we made experiments on stigma receptivity and pollen viability in summer 1985. The experiments are not yet completed but we have observed some interesting results. During the experiment on pollen viability, the pollen was collected every day during a week in the same flower (isolated in bag). As a side effect of this manipulation, these flowers were self-pollinated every day. In contrast to 1983 and 1984 pods were formed in most cases (9 plants of 13 studied) in 1985. This means that autogamy was possible in almost all individuals studied this

TABLE 7

Balance Between Self and Cross Fertilization: Comparison of average fertility obtained in females, in the autogamous plant, and in all other individuals. Symbols as in legend for Table 3

	Females (♀)		Autogamous Plant (■)	All Other Plants	
	$\bar{x}_T n$	$\bar{X} N$	$\bar{x}_T n$	$\bar{x}_T n$	$\bar{X} N$
Control	118	2	12	1103	15
	2.34	2.05	1.42 ^a	1.13 ^a	0.88 ^{ac}
(cross n°1)	±0.28	±0.25	±0.65	±0.09	±0.22
Allo + Autogamy	—	—	16	233	13
	—	—	4.75 ^d	0.54 ^{bc}	0.55 ^{bc}
(cross n°6 and 8)	—	—	±1.08	±0.11	±0.15
Allogamy	69	2	12	235	16
	1.88	2.06	0	0.31 ^{bf}	0.31 ^{bf}
(cross n°7 and 9)	±0.37	±0.44	—	±0.08	±0.13
Auto + Geitonogamy	—	—	18	133	12
	—	—	3.67 ^d	0.03 ^c	0.03 ^c
(cross n°12 and 15)	—	—	±0.79	±0.02	±0.02
Autogamy	—	—	26	471	15
	—	—	1.08 ^{ac}	0	0
(cross n°10, 11 and 14)	—	—	±0.55	—	—
Geitonogamy	—	—	13	326	15
	—	—	1.08 ^{ac}	0.06 ^c	0.13 ^{cf}
(cross n°13 and 16)	—	—	±0.60	±0.02	±0.08

♀ : female

■ : autogamous plant



year. The only difference between the experiments on autogamy performed in 1983 and 1984 compared to those in 1985, was the number of repeated pollinations made in the same flower. In geitonogamy in 1983 and 1984, because we were uncertain about the period of stigma receptivity, we performed 2-3 pollinations in the same flower to be sure that pollination occurred. But in autogamy, either we performed only one pollination to simulate insect pollination, or the flower was not touched at all. The differences between results in autogamy and geitonogamy may not be due to protandry but to the effect of repeated pollinations.

In evolutionary terms, this effect can be interpreted as delayed self-fertilization: if outcrossing does not occur, the plant selfs. We can imagine a system in which the degree of self-incompatibility decreases with each pollination. For example, Mulcahy (pers. comm.) suggests that the overan influence on self-compatible pollen tubes may increase with each repeated auto-pollination, allowing faster pollen tube growth. Examples of morphological mechanisms of delayed self-fertilization are known (Hagerup, 1951; Faegri and Van Der Pijl, 1971) in which flower movements bring pollen into contact with the stigma only after a flower has been open for some time.

TABLE 8
Balance Between Self and Cross Fertilization: Average viability
of seeds obtained from the autogamous plant

SOURCE	P_i	V_i
ALLO + AUTOGAMY (crosses n°6 and 8)	76	0.43
ALLOGAMY (crosses n°7 and 9)	0	—
AUTO + GEITONOGAMY (crosses n°12 and 15)	66	0.33
AUTOGAMY (crosses n°10, 11 and 14)	28	0.32
GEITONOGAMY (crosses n°13 and 16)	14	0.36
CONTROL (cross n°1)	17	0.41

P_i : number of seeds

V_i : number of adult plants

P_i



116 *Lathyrus* and *Lathyrism*

This phenomenon could be advantageous to the plant especially if pollinators are a limiting factor. Hossaert *et al.* (this volume) have characterized some aspects of nectar secretion by *L. latifolius*. They have shown diurnal variation in nectar secretion, and suggest that the relatively small amounts of nectar present in *Lathyrus* flowers when large bees or bumblebees, apparently the principal pollinators, are active may lead to shorter insect visits per flower and may result in more flowers being visited than if more nectar were present. It seems then, that this phenomenon should increase pollen dispersal and thereby out-breeding as well. A second group of pollinators are bruchid beetles, which visit *Lathyrus* flowers at relatively constant frequencies during the day but spend much more time per flower, visiting a small number of inflorescences per plant. This beetle could thus make repeated self-pollinations which could lead to seed set if allopollination does not occur.

Another observation made in 1985 is that in some cases, the plants studied are able to give pods without disturbance or touching of the flower at all (like the individual D1 studied in 1984). We studied 13 individuals, 2 of them offspring of D1, and both were able to give pods without disturbance, while only 1 individual of the 11 others studied could do so. Some plants produce pods by autogamy, even when they are not disturbed, more readily than others. This is especially the case for the offspring of the autogamous plant. These results seem to show a genetic component in this polymorphism for delayed self-fertilization.

Conclusion and Summary

This study has shown that (i) *Lathyrus latifolius* is essentially an outcrossing species, but that (ii) a polymorphism in the

breeding system exists. An obligately autogamous individual has been described.

With the allogamous plants, it seems that the self-incompatibility can be removed by repeated pollinations. In evolutionary terms, this effect can be interpreted as delayed self-fertilization: if outcrossing does not occur, the plant selfs.

Lloyd (1979) showed that the relative advantages of self and cross-fertilization depend on exactly how self-fertilization takes place. He argued that in the case of delayed self-fertilization, this mode of selfing is always advantageous, since it simply adds to seed set obtained from crosses.

Further work must be conducted on this polymorphism in the breeding system. The autogamous trait seems to be heritable, but its genetic basis and physiological mechanism must still be explained. We can remark that many plant species are polymorphic for certain traits of the breeding system, for example, those with morphological polymorphisms like male sterility (Lewis, 1941; Lloyd, 1975; Gouyon and Couvet, 1985) and heterostyly (Crosby, 1949; Bodmer, 1960; Beach and Bawa, 1980). Evidence for polymorphism in the breeding system is quite rare in hermaphroditic species like *Lathyrus latifolius* that lack these morphological characteristics.

Acknowledgements

We would like to thank M. Maetie, R. Maerten, F. Martin and B. Plancq for their assistance in the field and the laboratory, and D. McKey for his comments on the manuscript.

References

- Beach, J.H. and Bawa, K.S., 1980. Role of pollinators in the evolution of dioecy from distyly. *Evolution* **34**: 1138–1141.
- Bodmer, W.F., 1960. The genetics of homostyly in populations of *Primula vulgaris*. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **242**: 517–549.
- Crosby, J.L., 1949. Selection of an unfavourable gene complex. *Evolution* **3**: 212–230.
- Faegri, K. and L. Van Der Pijl., 1971. The principles of pollination ecology. 2nd ed. Pergamon, Toronto.
- Gleeson, S.K., 1982. Heterodichogamy in Walnuts: Inheritance and stable ratios. *Evolution* **36** (5): 892–902.
- Gouyon, P.H. and Couvet, D., 1985. Selfing cytoplasm and adaptation: Variations in the reproductive systems of thyme. In structure and functioning of plant populations, vol. 2. J. Haeck and J.W. Woldenhdorps (Editors). PUDOC, Wageningen. p. 299–319.
- Hagerup, O., 1951. Pollination in the Faroes — In spite of rain and paucity in insects. *K. Dan. Vidensk. Selsk. Biol. Meld.* **18**: 1–48.
- Hossaert, M., Bashar A. and D. McKey this volume: Floral nectar production in relation to insect activity in *Lathyrus latifolius* L.
- Hossaert, M., and M. Valero. This volume. Vegetative propagation and sexual reproduction in two perennial *Lathyrus* species.
- Hossaert M. and M. Valero., 1985. Differences in population biology within the *Lathyrus sylvestris* group (Leguminosae: Papilionaceae). In structure and functioning of plant population, vol. 2. J. Haeck and J.W. Woldenhdorps (Editors). PUDOC, Wageningen. p. 65–75.
- Knuth, P., 1906. Handbook of flower pollination. 3 vols. Clarendon Press, Oxford.
- Lewis D., 1941. Male sterility in natural populations of hermaphrodite plants. *New Phytol.* **40**: 56–63.
- Lloyd, D.G., 1975. The maintenance of gynodioecy and androdioecy in angiosperms. *Genetica* (The Hague) **45**: 325–339.
- Lloyd, D.G., 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. *Amer. Nat.* **113** (1): 67–79.
- Maynard-Smith, J., 1978. The evolution of sex. Cambridge Univ. Press. Cambridge. England.
- Travis, J., 1984. Breeding system, pollination and pollinator limitation in a perennial herb, *Amianthus muscaetoxicum* (Liliaceae). *Amer. J. Bot.* **71** (7): 941–947.

3-2 ETUDE DES CROISEMENTS CHEZ LES DEUX ESPECES.

ETUDE DES CROISEMENTS, DE LA VIABILITE POLLINIQUE ET DE LA
RECEPTIVITE STIGMATIQUE CHEZ LES DEUX ESPECES

INTRODUCTION

Les résultats obtenus ci dessus sur le régime de la reproduction de L. latifolius soulèvent de nombreuses questions:

- 1- La protandrie peut-elle expliquer à elle seule l'absence d'autogamie chez la majorité des individus étudiés?
- 2- L'autopollinisation répétée favorise-t-elle toujours l'autogamie quels que soient les individus et quelle que soit l'espèce?
- 3- Les individus des deux espèces diffèrent-ils par leur régime de la reproduction?

Ces questions ont été abordées par de nouvelles campagnes de croisements effectuées en 1985 en terrain expérimental et en 1986, en populations naturelles.

MATERIEL ET METHODES

1) PROTANDRIE ET REGIME DE LA REPRODUCTION CHEZ LES DEUX ESPECES

Une campagne de croisements similaire à celle décrite précédemment (Valero et al, 1986, chapitre 3-1) a été effectuée en terrain d'expérience en 1985 pour tester la protandrie et le régime de la reproduction sur des plantes des deux espèces, provenant de graines récoltées en populations naturelles. Les individus étudiés et leur provenance sont donnés tableau 1.

La viabilité pollinique a été testée sur une moyenne de trois fleurs par individu, de l'anthèse à la formation des jeunes gousses. Les fleurs ont été mises sous sac avant anthèse, le pollen a été prélevé sur la même fleur, tous les jours, dès que les étamines devenaient déhiscentes. La fleur met en moyenne 5 jours pour passer du stade bouton (à anthères déhiscentes) au stade jeune gousse qui correspondent aux 5 temps de récoltes:

- T0, anthèse
- T1, début épanouissement
- T2, épanouissement
- T3, fin épanouissement
- T4, fanaison
- T5, fin fanaison.

Après récolte, le pollen a été mis à germer sur lame, dans une solution de lactose (15%) à température et humidité

TABLEAU 1 : Provenances des individus étudiés pour les croisements

ESPECES	PROVENANCES	NOMBRE ET NUMEROTATION DES INDIVIDUS
L.LATIFOLIUS	AVION (L1) (Pas de Calais, Nord de la France)	3 (L1a -----> L1c)
	DOUE LA FONTAINE (L2) (Tourraine, Centre de la France)	4 (L2a -----> L2d)
	MIRABEL (L6) (Drôme, Sud-Est de la France)	3 (L6a -----> L6c)
	MONTPELLIER (L7) (Hérault, Sud de la France)	2 (L7a -----> L7b)
	LILLE (L9) (Nord, Nord de la France)	1 (L9a)

L. SYLVESTRIS	PECQUENCOURT (S1) (Nord, Nord de la France)	6 (S1a -----> S1f)
	BOULONNAIS (S2) (Pas de Calais, Nord de la France)	4 (S2a -----> S2d)
	HELFAUT (S2) (Pas de Calais, Nord de la France)	3 (S3a -----> S3c)
	STRASBOURG (S9) (Bas-Rhin, Est de la France)	1 (S9a)

constantes (20°C et 100% humidité). Au bout de 4 heures la germination a été stoppée par addition de colorant d'Alexander (1969) qui facilite également la lecture des lames. Après fixation, le pourcentage de pollen germé a été compté au microscope en prenant comme effectif la valeur qui permettait une estimation à plus ou moins 5%.

Pour l'étude de la réceptivité stigmatique, 15 boutons floraux par individu ont été castrés avant l'anthèse. A chacun des stades (T0 à T5), 3 fleurs ont été pollinisées avec un mélange d'auto- et d'allo-pollen. Les fleurs sont récoltées 2 jours après la pollinisation et fixées dans l'éthanol à 70%. La germination et la croissance des tubes polliniques ont été observées, après coloration au bleu d'aniline, au microscope à fluorescence d'après la technique de Martin (1959). Une fleur a été classée comme réceptive dès que des tubes polliniques étaient visibles dans le stigmate.

D'autre part, pour connaître le temps de fécondation, c'est-à-dire le temps que met le grain de pollen pour aller féconder l'ovule, 12 fleurs castrées ont été pollinisées par un mélange d'auto et d'allopollen au stade épanoui (T2). Ces fleurs ont été récoltées à différents temps (3 fleurs pour chaque temps) après la pollinisation pour suivre la cinétique des tubes polliniques dans l'ovaire:

- J2, 2 jours après pollinisation
- J3, 3 jours après pollinisation
- J4, 4 jours après pollinisation

-J5, 5 jours après pollinisation

Les fleurs sont fixées dans l'éthanol à 70% et l'observation des tubes polliniques a été effectuée comme pour l'étude de la réceptivité. Trois stades ont été relevés (Hossaert et Valero, In press, chapitre 2-3):

- arrivée des tubes polliniques sur le stigmate,
- arrivée des tubes polliniques dans l'ovaire,
- pénétration des tubes polliniques dans l'ovule (fécondation).

2) APTITUDE A L'AUTOFECONDATION EN POPULATIONS NATURELLES

Pour tester l'aptitude des plantes à s'autoféconder en populations naturelles, des autofécondations forcées ont été effectuées in situ en 1986. Trois populations ont été choisies dont deux de L. latifolius (une située au Nord de la France: station Avion (L1) et l'autre située au Sud: station Cadillon (L4) décrites par ailleurs chapitre 1) et une de L. sylvestris située au Sud (station Urdos (S8) décrite chapitre 1). Une dizaine d'individus par population ont été étudiés. Pour chaque individu, une trentaine de boutons ont été mis sous sac avant anthèse et d'autres, au même stade, ont été repérés pour servir de témoins de fécondation libre. A la fin de la floraison, les fruits obtenus en autofécondation et en pollinisation libre ont été récoltés. Dans la population Cadillon, un suivi des fleurs a été effectué pour connaître le stade d'abscission.

TABLEAU 2 : Proportion de plantes ayant donné des descendants dans les différents types de croisement et d'autofécondations (pour plus de détail, voir Annexe A, p. 211)

ESPECES	<u>L. LATIFOLIUS</u>	<u>L. SYLVESTRIS</u>
AUTOFECONDATION VRAIE	2 plantes/10 plantes testées	5 plantes/14 plantes testées
AUTOFECONDATION REPETEE	8 plantes/13 plantes testées	4 plantes/11 plantes testées
AUTOFECONDATION ET GEITONOGAMIE*	2 plantes/3 plantes testées	-
ALLOFECONDATION ET AUTOFECONDATION	2 plantes/2 plantes testées	0 plante/2 plantes testées
GEITONOGAMIE*	1 plante/5 plantes testées	0 plante/3 plantes testées
ALLOFECONDATION	2 plantes/8 plantes testées	0 plante/5 plantes testées
ALLOFECONDATION ET GEITONOGAMIE*	4 plantes/8 plantes testées	1 plante/7 plantes testées

* La Geitonogamie est une autofécondation entre pollen et ovule de deux fleurs différentes du même individu.

RESULTATS

1) AUTO ET ALLOFECONDATION COMPAREES CHEZ LES DEUX ESPECES

- En terrain expérimental

Les résultats sont donnés pour chaque individu dans l'annexe A: p. 211, le tableau 2 résume la situation pour les deux espèces. Les résultats sont obtenus sur un nombre restreint d'individus et l'effet castration est encore très important. Cependant, on constate, que les plantes de L. latifolius semblent s'alloféconder plus facilement que celles de L. sylvestris. Pour les individus de L. latifolius le "déclenchement" du stigmate par des autopollinisations répétées semble nécessaire. Au contraire, pour les individus de L. sylvestris, il n'existe pas de barrière à l'autofécondation.

Ces résultats confirment l'importance des autopollinisations répétées dans la réussite de l'autofécondation.

- En populations naturelles

Les résultats obtenus dans les trois populations étudiées (tableau 3) confirment la plus forte tendance à l'autogamie chez L. sylvestris. En effet aucune gousse n'est obtenue en autofécondation chez les individus provenant des deux populations de L. latifolius alors que certaines plantes de L. sylvestris produisent des gousses en autofécondation. L'observation des

TABLEAU 3 : Performances comparées des individus de populations naturelles en autofécondation et en fécondation libre.

LATIFOLIUS SUD (station Cadillon)

INDIVIDUS	BT	AUTOFECONDATION				:	ALLOFECONDATION				
		G1	G1/BT	G4	G4/BT		BT	G1	G1/BT	G4	G4/BT
1	44	0	0	0	0	:	74	12	0.16	0	0
2	44	0	0	0	0	:	79	9	0.11	0	0
3	47	0	0	0	0	:	41	1	0.02	0	0
4	20	0	0	0	0	:	27	1	0.04	0	0
5	38	0	0	0	0	:	21	1	0.05	0	0
6	40	0	0	0	0	:	40	1	0.03	1	0.03
7	30	0	0	0	0	:	19	2	0.11	1	0.05
8	50	0	0	0	0	:	39	2	0.05	1	0.03
9	29	0	0	0	0	:	47	2	0.04	1	0.02
10	22	0	0	0	0	:	28	2	0.07	0	0
11	47	1	0.02	0	0	:	83	6	0.07	0	0
12	30	0	0	0	0	:	35	3	0.09	0	0
Moyenne	36.75	0.08	0.01	0	0	:	44.41	3.50	0.07	0.33	0.01
Erreur standard	2.83	0.08	0.00	0	0	:	6.17	1	0.01	0.14	0.00

LATIFOLIUS NORD (station Avion)

INDIVIDUS	BT	AUTOFECONDATION				:	ALLOFECONDATION				
		G1	G1/BT	G4	G4/BT		BT	G1	G1/BT	G4	G4/BT
1	37	-	-	0	0	:	157	-	-	13	0.08
2	35	-	-	0	0	:	110	-	-	0	0
3	29	-	-	0	0	:	77	-	-	8	0.10
4	11	-	-	0	0	:	60	-	-	6	0.1
5	16	-	-	0	0	:	360	-	-	35	0.10
6	28	-	-	0	0	:	242	-	-	3	0.01
7	30	-	-	0	0	:	281	-	-	24	0.09
8	37	-	-	0	0	:	419	-	-	27	0.06
Moyenne	27.87	-	-	0	0	:	213.20	-	-	14.50	0.07
Erreur standard	3.18	-	-	0	0	:	44.22	-	-	4.19	0.01

SYLVESTRIS SUD (station Urdos)

INDIVIDUS	BT	AUTOFECONDATION				:	ALLOFECONDATION				
		G1	G1/BT	G4	G4/BT		BT	G1	G1/BT	G4	G4/BT
1	48	-	-	1	0.02	:	41	-	-	1	0.02
2	25	-	-	1	0.04	:	29	-	-	0	0
3	31	-	-	0	0	:	26	-	-	0	0
4	31	-	-	0	0	:	29	-	-	0	0
5	31	-	-	2	0.06	:	36	-	-	1	0.03
6	32	-	-	2	0.06	:	36	-	-	4	0.11
7	24	-	-	0	0	:	10	-	-	0	0
Moyenne	31.71	-	-	0.86	0.03	:	29.57	-	-	0.86	0.02
Erreur standard	2.75	-	-	0.31	0.01	:	3.53	-	-	0.51	0.01

BT : nombre de boutons floraux
 G1 : nombre de jeunes gousses
 G4 : nombre de gousses mûres
 G1/BT : nombre de jeune gousse/bouton floral
 G4/BT : nombre de gousse mûre/bouton floral



fécondations libres montre que la fertilité est plus importante chez L. latifolius notamment dans les populations du Nord et confirme les résultats obtenus par ailleurs (Valero et Hossaert, en prep, chapitre 2). Le suivi des fleurs autopollinisées et en fécondation libre dans la population de Cadillon révèle que les fleurs tombent beaucoup plus tôt après autopollinisation qu'en fécondation libre (tableau 3): toutes les fleurs tombent avant le stade G1 (formation de la gousse) en autofécondation alors qu'en fécondation croisée, certaines fleurs avortent plus tard au cours de la maturation des gousses. Cette chute précoce des fleurs en autofécondation, pourrait être interprétée comme résultant d'une mauvaise fécondation des ovules, alors qu'une chute plus tardive serait due à un problème de nutrition des graines.

2) RECEPTIVITE STIGMATIQUE ET VIABILITE POLLINIQUE

Le tableau 4 présente les moyennes de viabilité pollinique pour chaque individu étudié et pour chaque espèce. D'une manière générale, chez les deux espèces, le pollen commence à germer un jour après l'anthèse, c'est-à-dire quand la fleur commence à s'ouvrir et reste viable jusqu'à la fanaison. Chez certains individus, le pollen peut donc rester viable pendant 4 à 5 jours.

La proportion de fleurs réceptives par rapport au nombre de fleurs étudiées a été calculée à chaque temps pour les différents individus et chez les deux espèces (tableau 5). Globalement, chez les deux espèces, les fleurs restent réceptives jusqu'à la fanaison c'est-à-dire pendant 2 à 5 jours suivant les individus.

TABLEAU 4 : Viabilité pollinique (% de grains germés) comparée chez les deux espèces

ESPECES	INDIVIDUS	T0	T1	T2	T3	T4	T5
<u>L.LATIFOLIUS</u>	L2a (n)	0.07±0.07 (3)	0.45±0.01 (2)	0.52±0.11 (5)	0.32±0.10 (4)	0.23±0.09 (4)	0.18±0.02 (2)
	L2d (n)	0.22±0.09 (2)	0.39 (1)	0.36 (1)	0.40 (1)	0.34 (1)	0.02 (1)
	L7b (n)	0.003±0.003 (3)	0.46±0.05 (3)	0.43±0.07 (3)	0.11±0.04 (3)	-	-
	L6b (n)	0.08 (1)	0.45 (1)	0.41 (1)	0.22 (1)	0.55 (1)	-
	MOYENNE + ERREUR STANDARD	0.09±0.04	0.44±0.01	0.43±0.03	0.26±0.05	0.37±0.08	0.10±0.08
<u>L.SYLVESTRIS</u>	S1c (n)	0.04±0.00 (2)	0.03±0.03 (2)	0.02 (1)	0.48 (1)	0.41 (1)	0 (1)
	S1b (n)	0 (1)	-	-	-	0	-
	S3c (n)	0.11 (1)	0.41 (1)	0.03±0.03 (2)	0.13 (1)	0.01±0.01 (2)	-
	S2d (n)	0.49 (1)	0.22 (1)	0.42 (1)	0.32±0.32 (2)	0.04±0.02 (3)	0.02±0.01 (4)
	MOYENNE + ERREUR STANDARD	0.16±0.10	0.22±0.09	0.16±0.11	0.31±0.08	0.12±0.09	0.01±0.01

(n) : nombre de fleurs étudiées par individu.

TABLEAU 5: Réceptivité stigmatique comparée chez les deux espèces:
proportions de fleurs réceptives/fleurs testées pour chaque temps et chez les différents individus

ESPECES	INDIVIDUS	T0	T1	T2	T3	T4	T5
<u>L.LATIFOLIUS</u>	L2b	0/3	0/3	1/3	1/3	1/3	1/3
	L2a	2/3	1/3	1/3	2/2	3/3	3/3
	L2d	1/3	0/3	0/2	2/2	1/1	2/2
	L7a	2/3	2/3	1/4	2/2	3/3	3/3
	L7b	0/3	2/2	3/3	2/2	3/3	0/3
	L6b	0/1	0/2	1/1	2/2	-	1/2
	L6c	2/2	1/2	-	2/2	-	-
	L1b	-	0/1	1/1	1/1	0/1	0/1
	Moyenne + erreur standard	0.40 0.15	0.31 0.14	0.56 0.16	0.92 0.08	0.72 0.18	0.50 0.16
<u>L.SYLVESTRIS</u>	S1c	0/1	0/1	3/4	0/1	0/1	0/1
	S1b	-	0/1	3/3	1/1	-	0/1
	S3c	1/1	1/1	0/1	0/1	-	1/1
	S2d	0/1	1/1	1/1	1/1	-	-
	Moyenne + erreur standard	0.33 0.33	0.50 0.29	0.69 0.24	0.50 0.29	0 /	0.33 0.33

Les figures 1 et 2 représentent l'indice de concordance entre viabilité pollinique et réceptivité stigmatique (cet indice est calculé en multipliant taux de viabilité par taux de réceptivité) en fonction du temps chez les deux espèces L. latifolius et L. sylvestris respectivement. Cette étude montre que pour aucun des individus des deux espèces étudiés ici, il n'y a protandrie. La protandrie ne peut donc pas être invoquée comme un mécanisme de barrière totale à l'autofécondation chez ces deux espèces.

Les résultats sur la cinétique des tubes polliniques chez les deux espèces sont présentés sur les figures 3. Cette cinétique a été décomposée en trois étapes:

Figure 3a: la durée d'atteinte du stigmate par les tubes polliniques. Chez les deux espèces, le pollen a pénétré dans le stigmate en moins de deux jours.

Figure 3b: la durée d'atteinte de l'ovaire par les tubes polliniques. Le pollen atteint l'ovaire au bout de 3 jours chez L. latifolius et 5 jours chez L. sylvestris.

Figure 3c: la durée d'atteinte de l'ovule par les tubes polliniques. Le pollen féconde l'ovule seulement 5 jours après avoir été déposé sur le stigmate chez L. sylvestris et 6 jours après chez L. latifolius. La fécondation aurait donc lieu tard chez ces deux espèces, après que la fleur soit fanée, au moment de la formation des gousses.

FIGURES 1: ETUDE DE LA SYNCHRONISATION DES FONCTIONS MALE ET FEMELLE (Viabilité pollinique * réceptivité stigmatique) EN FONCTION DU TEMPS CHEZ DIFFERENTS INDIVIDUS DE LATHYRUS LATIFOLIUS



Figure 1c
Individu L6d

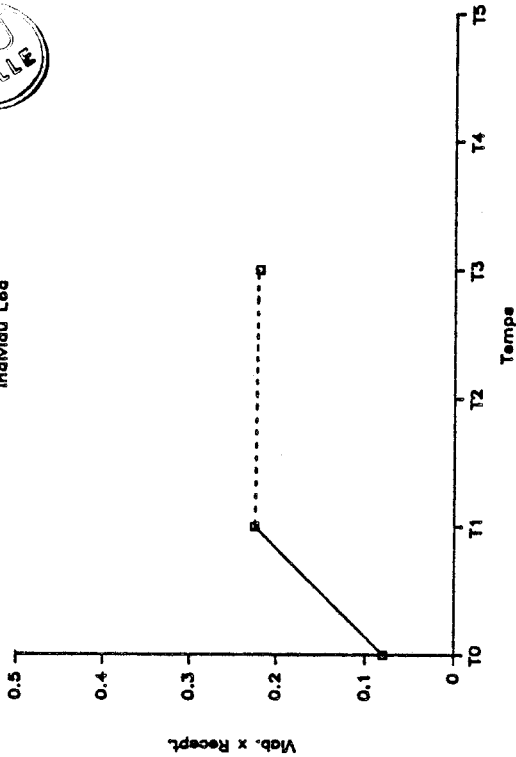


Figure 1d
Individu L7a

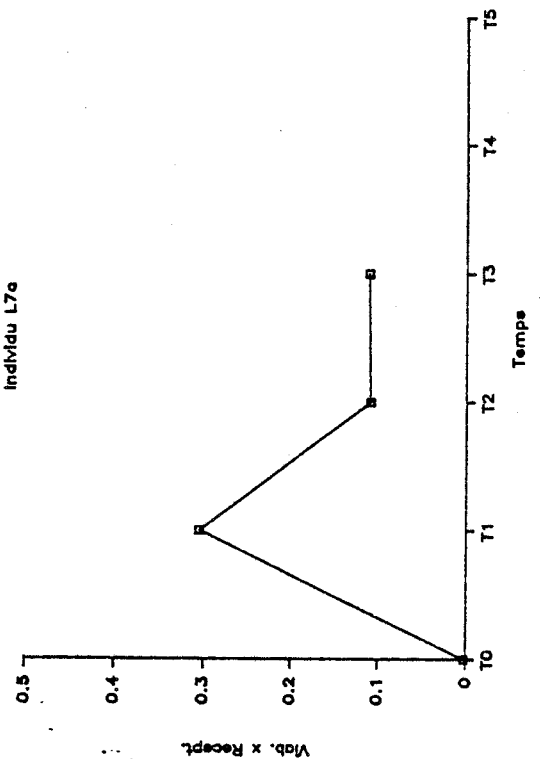


Figure 1a
Individu L2a

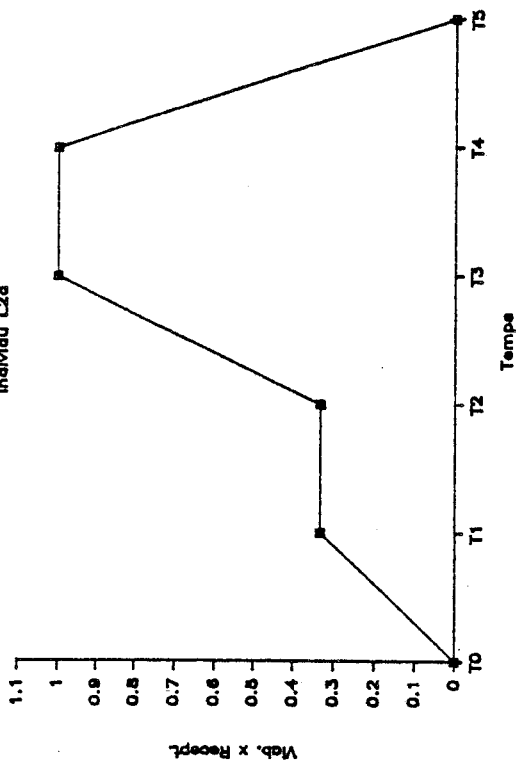
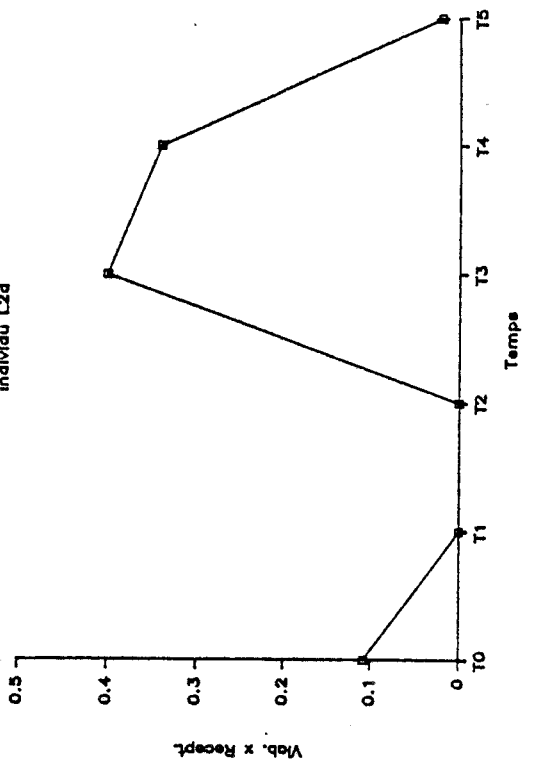


Figure 1b
Individu L2d



T0 = Anthèse

T1 = 1 jour après anthèse

T2 = 2 jours après anthèse

T3 = 3 jours après anthèse

T4 = 4 jours après anthèse

T5 = 5 jours après anthèse

FIGURES 2: ETUDE DE LA SYNCHRONISATION DES FONCTIONS MALE ET FEMELLE (Viabilité pollinique * réceptivité stigmatique) EN FONCTION DU TEMPS CHEZ DIFFERENTS INDIVIDUS DE LATHYRUS SYLVESTRIS

Figure 2a
Individu S1c

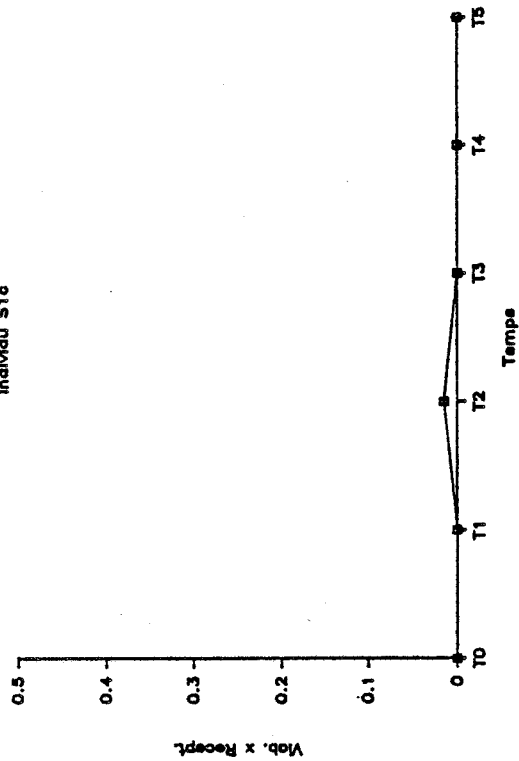


Figure 2b
Individu S2d

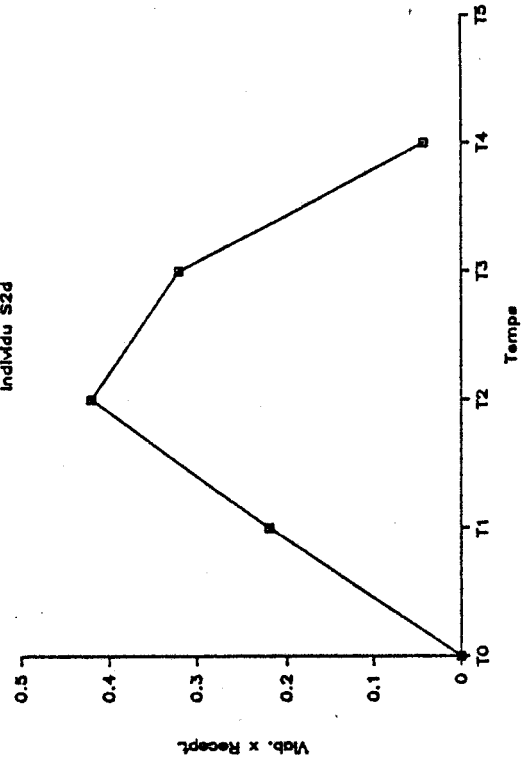
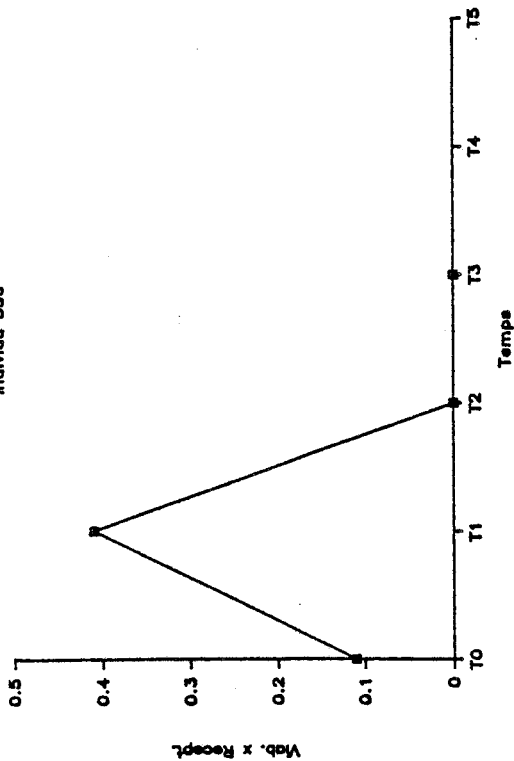


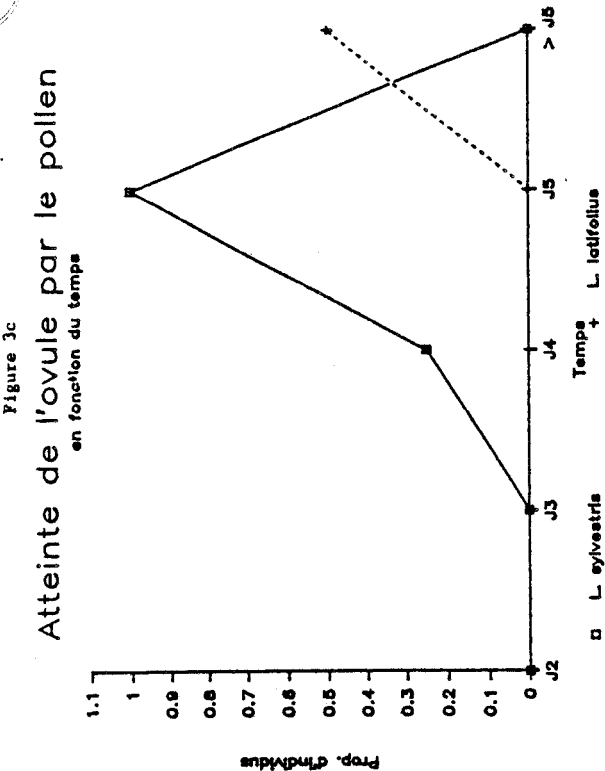
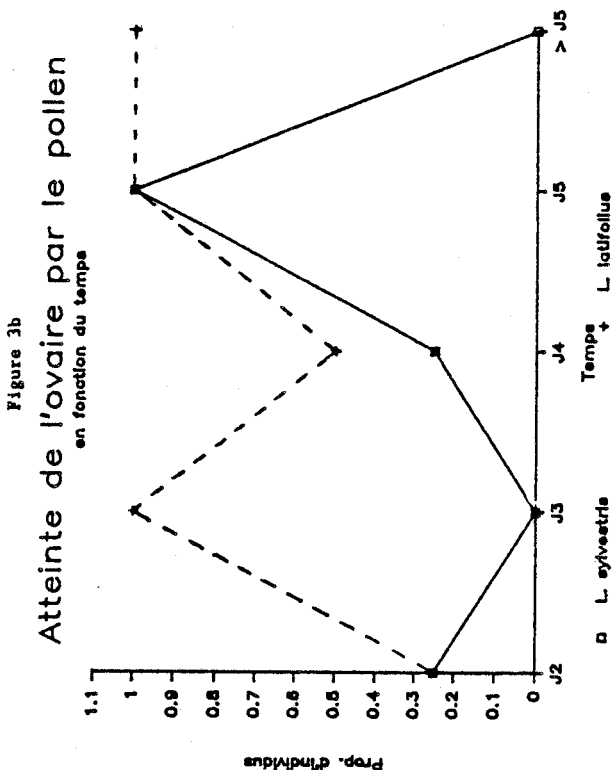
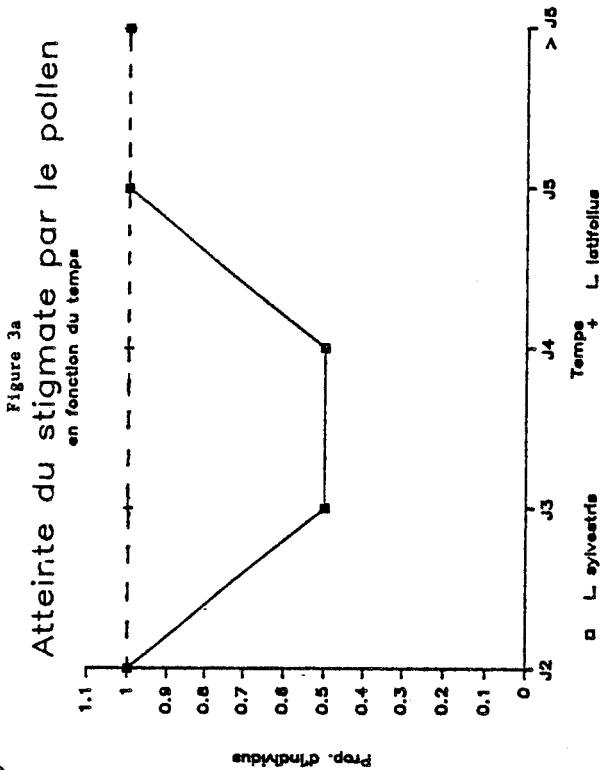
Figure 2c
Individu S3c



T0 : Anthèse
T1 = 1 jour après anthèse
T2 = 2 jours après anthèse
T3 = 3 jours après anthèse
T4 = 4 jours après anthèse
T5 = 5 jours après anthèse



FIGURES 3: CINETIQUE DE LA FECONDATION CHEZ LES DEUX ESPECES
(ETUDE EFFECTUEE UNIQUEMENT SUR 4 INDIVIDUS PAR ESPECE)



J2 = 2 jours après réceptivité du stigmate
J3 = 3 jours après réceptivité du stigmate
J4 = 4 jours après réceptivité du stigmate
J5 = 5 jours après réceptivité du stigmate

DISCUSSION ET CONCLUSION

Ces résultats, bien qu'obtenus sur un nombre restreint d'individus (à cause de la lourdeur des expérimentations) montrent quatre points importants:

1- Il n'y a pas de décalage entre la maturité du pollen et la réceptivité du stigmate chez les deux espèces. Les résultats ont été obtenus sur un faible nombre d'individus, mais il semble que le décalage entre fonction mâle et fonction femelle peut être plus ou moins important suivant les plantes étudiées. Nos résultats sont insuffisants pour conclure sur l'importance de cette variabilité comme mécanisme responsable d'un polymorphisme du régime de la reproduction.

2- La durée de la viabilité pollinique et de la réceptivité stigmatique est d'au minimum 2 jours mais peut se prolonger pendant 5 jours chez les deux espèces. Le temps de fécondation est très long pouvant s'étendre sur 5 jours.

3- Les individus de L. sylvestris semblent plus autogames que ceux de L. latifolius en terrain d'expérience comme en population naturelle. Les travaux d'Anissa Chaïb (thèse de 3ème cycle, en cours), sur une population de L. sylvestris, située dans les Pyrénées à 1700m. d'altitude, confirment nos résultats (tableau 6): les individus de L. sylvestris sont capables de produire des gousses en autofécondation, comme dans la population d'Urdo (tableau 3). Alors qu'aucune gousse n'a été produite dans



TABLEAU 6 : Performances comparées des individus de la population Miguelou (L. sylvestris) en autofécondations, en autofécondations répétées et en fécondations libres (données d'Anissa CHAIB, en cours de thèse)

INDIVIDUS	AUTOFECONDATIONS VRAIES			AUTOFECONDATIONS REPETEES			TEMOINS DE FECONDATIONS LIBRES		
	BT	G4	G4/BT	BT	G4	G4/BT	BT	G4	G4/BT
1	4	1	0.25	7	0	0	8	0	0
2	33	2	0.06	27	3	0.11	22	1	0.05
3	34	2	0.06	38	6	0.16	31	5	0.16
4	33	3	0.09	32	4	0.13	45	14	0.31
5	23	0	0	16	0	0	27	4	0.15
6	21	0	0	21	0	0	45	1	0.02
7	32	0	0	40	4	0.10	53	16	0.30
8	34	3	0.09	31	6	0.19	26	3	0.12
9	16	1	0.06	20	4	0.20	25	3	0.12

BT : nombre de boutons floraux

G4 : nombre de gousses mûres

G4/BT : nombre de gousse mûre/bouton floral

TABLEAU 7 : Production de graines/nombre de fleurs étudiées par individu et par type de croisement (d'après Fauquembergue, 1987)
chez L.sylvestris

Familles	Individus	TYPE I			TYPE II			TYPE III		
		Nombre de fleurs (1)	$\frac{\text{Nbre graines}}{\text{Nbre fleurs}}$ (2)	Erreur standard	Nombre de fleurs (1)	$\frac{\text{Nbre graines}}{\text{Nbre fleurs}}$ (2)	Erreur standard	Nombre de fleurs (1)	$\frac{\text{Nbre graines}}{\text{Nbre fleurs}}$ (2)	Erreur standard
I	1	12	0,45	0,29	33	0,08	0,08	21	0,00	0,00
II	1	21	0,33	0,24	36	0,00	0,00	37	0,08	0,05
	2	25	0,04	0,04	27	0,00	0,00	35	0,00	0,00
	3	24	0,27	0,12	29	0,00	0,00	31	0,02	0,02
	4	13	0,67	0,67	21	0,00	0,00	21	0,70	0,20
	5	17	1,80	0,20	11	0,00	0,00	10	0,00	0,00
	6	21	0,92	0,16	31	0,00	0,00	30	0,34	0,16
	7	12	1,33	0,33	12	0,00	0,00	16	0,28	0,28
	8	17	0,59	0,25	8	0,00	0,00	8	0,12	0,12
	9	13	0,25	0,25	11	0,00	0,00	16	0,84	0,48
	10	13	0,00	0,00	15	0,00	0,00	15	0,36	0,22
	11	10	3,14	0,81	19	0,25	0,25	26	1,12	0,88
	12	21	0,33	0,21	33	0,00	0,00	28	0,62	0,30
	13	14	0,27	0,27	14	0,00	0,00	11	0,40	0,40
	14	21	0,87	0,39	29	0,00	0,00	29	0,27	0,17
	15	13	2,03	0,53	15	0,00	0,00	14	0,00	0,00
	16	21	1,07	0,42	26	0,00	0,00	28	0,27	0,19
	17	18	0,75	0,75	36	0,00	0,00	26	0,49	0,28
	18	16	0,78	0,30	25	0,00	0,00	16	0,27	0,19
	19	16	1,00	0,71	28	0,07	0,07	28	0,67	0,30
	20	20	1,90	0,83	32	0,00	0,00	36	0,64	0,37
III	1	17	1,06	0,47	30	0,00	0,00	29	0,31	0,16
	2	17	0,00	0,00	26	0,00	0,00	33	0,00	0,00
	3	24	0,00	0,00	29	0,00	0,00	26	0,12	0,12
	4	15	0,40	0,40	30	0,00	0,00	29	0,00	0,00
	5	18	0,99	0,28	28	0,00	0,00	33	0,05	0,05

Type I : Fécondation libre

Type II : Autofécondation stricte

Type III : Autofécondation répétée

(1) : Nombre de fleurs utilisées

(2) : Nombre de graines obtenues/Nombre de fleurs utilisées



les mêmes conditions par les individus de L. latifolius dans les populations de Cadillon et d'Avion (tableau 3).

4- L'autofécondation est toutefois possible chez L. latifolius par geitonogamie ou par des autopollinisations répétées. L'importance de l'autopollinisation répétée a été testée en terrain expérimental sur des individus provenant de graines récoltées dans une population naturelle de L. sylvestris (Fauquembergue, 1987 et Valéro et al., 1987, annexe 2). Les résultats montrent (tableau 7) que chez cette espèce comme chez L. latifolius (Valéro et al., 1986, cf. chapitre 3-1) l'autofécondation est facilitée par des autopollinisations répétées. D'autre part, il apparaît aussi des différences suivant les individus: certains sont capables de s'autoféconder sans intervention (surtout chez L. sylvestris), d'autres de s'autoféconder seulement après autopollinsations répétées; et enfin quelques uns ne produisent aucune gousse en autofécondation (surtout chez L. latifolius). Il semble donc, que dans une même population coexistent des individus ayant des stratégies de reproduction différentes. L'existence d'un polymorphisme pour le régime de la reproduction et le rôle de l'autopollinisation répétée ont été discutés auparavant (Valéro et al., 1986, chapitre 3-1).

REFERENCES

- ALEXANDER M.P.. 1969: Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain Technology*, 44: 117-122.
- FAUQUEMBERGUE A.. 1987: Régime de la reproduction chez Lathyrus sylvestris: variabilité et relation avec l'architecture. D.E.A. d'Ecologie Générale, Orsay, Paris XI.
- MARTIN F.W.. 1958: Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology*, 34: 125-128.
- VALERO M., YOUSSEF A., VERNET P. & M. HOSSAERT. 1986: Is there a polymorphism in the breeding system of Lathyrus latifolius? In Lathyrus and Lathyrism, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985, A.K. Kaul and D. Combes (editors): 105-116.
- VALERO M., HOSSAERT M., CARON B., YOUSSEF A. & P. VERNET. 1987: Allocation des ressources chez deux espèces de Légumineuses: Lathyrus latifolius et Lathyrus sylvestris. In Colloque National du C.N.R.S. "Biologie des Populations", J.M. Legay (éditeur) Univ. C. Bernard, Lyon, France: 141-148.

ANNEXE A

DIFFERENTS TYPES DE CROISEMENTS EFFECTUES SUR LES PLANTES DES
DEUX ESPECES

1) CHEZ L. LATIFOLIUS

		L1a	L1b	L1c	L9a	L2a	L2b	L2c	L2d	L7a	L7b	L6a	L6b	L6c	TOTAL LL
Autofécondation vraie	Fl.	?	?	?	?	15	-	?	?	-	-	?	?	?	?
	Gou/Fl	0	0	0	0	0	-	1	1	-	-	1	1	0	3
	Gr/Gou					-		9	5			?	0		3.17
	Gr/Fl					0		?	?			?	?		?
	Ger/Gr							0.89	0.40			?	-		0.65
	Pl/Ger							0.63	1.00			?	-		0.82
	Pl/Fl							?	?			?	-		?
Autofécondation répétée	Fl.	3	5	5	7	4	5	4	6	3	5	6	4	4	13
	Gou/Fl	0.33	0.40	0.40	0.29	0.25	0	0.50	0.33	0	0.60	0.50	0.25	0	0.30
	Gr/Gou	0	1.50	3	5	0	-	1	5.50	-	4.33	3.67	5	-	2.90
	Gr/Fl	0	0.60	1.20	1.43	0	0	0.50	1.83	0	2.60	1.83	1.25	0	0.86
	Ger/Gr	-	1.00	0.83	1.00	-	-	1.00	0.55	-	0.92	0.91	1.00	-	0.90
	Pl/Ger	-	0.67	1.00	0.90	-	-	1.00	1.00	-	0.67	1.00	1.00	-	0.91
	Pl/Fl	-	0.40	1.00	1.29	0	0	0.50	1.00	0	1.60	1.67	1.25	0	0.67
Autofécondation + Geitonogamie (non castrée)	Fl.	-	-	2	-	-	-	-	-	1	-	-	8	-	3
	Gou/Fl			0.50						0			0.13		0.21
	Gr/Gou			3						-			3		3
	Gr/Fl			1.50						0			0.38		0.63
	Ger/Gr			1.00						-			1.00		1.00
	Pl/Ger			1.00						-			0.67		0.84
	Pl/Fl			1.50						0			0.25		0.58
Geitonogamie (castrée)	Fl.	-	-	2	1	4	-	-	-	-	-	-	4	4	5
	Gou/Fl			0	0	0							0	0.50	0.10
	Gr/Gou			-	-	-							-	4	4
	Gr/Fl			0	0	0							0	2	0.40
	Ger/Gr			-	-	-							-	1.00	1.00
	Pl/Ger			-	-	-							-	0.88	0.88
	Pl/Fl			0	0	0							0	1.75	0.35
Autofécondation + Allofécondation (non castrée)	Fl.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	2	2
	Gou/Fl												0.29	0.5	0.40
	Gr/Gou												3	6	4.5
	Gr/Fl												0.43	3	1.72
	Ger/Gr												1.00	1.00	1.00
	Pl/Ger												1.00	0.83	0.72
	Pl/Fl												0.43	2.50	1.47
Allofécondation + Geitonogamie (castrée)	Fl.	-	8	-	-	19	18	-	7	18	18	-	14	3	8
	Gou/Fl		0			0.05	0.06		0	0	0.11		0.14	0	0.10
	Gr/Gou		-			4	5		-	-	4		2	-	3.75
	Gr/Fl		0			0.21	0.28		0	0	0.44		0.29	0	0.15
	Ger/Gr		-			0.25	0.40		-	-	0.50		0.75	-	0.48
	Pl/Ger		-			0	0		-	-	0.25		1.00	-	0.31
	Pl/Fl		0			0	0		0	0	0.06		0.21	0	0.03
Allofécondation (castrée)	Fl.	5	2	-	-	9	-	2	-	-	1	-	3	4	7
	Gou/Fl	0.2	0			0		0			0		0	0.25	0.06
	Gr/Gou	7	-			-		-			-		-	6	6.5
	Gr/Fl	1.4	0			0		0			0		0	1.50	0.41
	Ger/Gr	0.14	-			-		-			-		-	1.00	0.14
	Pl/Ger	1.00	-			-		-			-		-	1.00	1.00
	Pl/Fl	0.20	0			0		0			0		0	1.50	0.24
Mélange Allofécondation + Allofécondation (castrée)	Fl.	-	-	-	-	2	-	5	-	2	-	-	-	5	4
	Gou/Fl					0		0		0				0	0
	Gr/Gou					-		-		-				-	-
	Gr/Fl					0		0		0				0	0
	Ger/Gr					-		-		-				-	-
	Pl/Ger					-		-		-				-	-
	Pl/Fl					0		0		0				0	0

Fl. : nombre de fleurs

Gou/Fl : nombre de gousses par fleur

Gr/Gou : nombre de graines par gousses

Gr/Fl : nombre de graines par fleur

Ger/Gr : nombre de graines germées par graines totales

Pl/Ger : nombre de plante par graine germée

Pl/Fl : nombre de plante par fleur

2) CHEZ L. SYLVESTRIS

		S1a	S1b	S1c	S1d	S1e	S1f	S2a	S2b	S2c	S2d	S3a	S3c	S3d	S9a	TOTAL LS
Autofécondation vraie	Fl.	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
	Gou/Fl	0	0	5	1	0	1	0	7	1	3	0	1	1	5	9
	Gr/Gou			1.40	0		2		3.43	0	0.33		1	6	5	2.68
	Gr/Fl			?	-		-		?	-	?		?	?	?	?
	Ger/Gr			1.00	0		0.5		0.88	0	0		0	1.00	1.00	0.49
	Pl/Ger			0.71	0		1.00		0.79	0	-		-	1.00	1.00	0.64
	Pl/Fl			?			?		?		-		-	?	?	?
Autofécondation répétée	Fl.	-	7	4	3	9	-	8	4	5	6	4	5	3	-	11
	Gou/Fl		0	0	0	0		0.5	0.25	0.20	0.17	0	0.40	0		0.12
	Gr/Gou		-	-	-	-		4.75	5	0	6		2.5	-		3.65
	Gr/Fl		0	0	0	0		2.38	1.25	0	1.00	0	1.00	0		0.82
	Ger/Gr		-	-	-	-		0.95	1.00	-	1.00	-	0.80	-		0.94
	Pl/Ger		-	-	-	-		0.94	0.40	-	0.83	-	1.00	-		0.79
	Pl/Fl		0	0	0	0		2.13	0.50	0	0.83	0	0.80	0		0.25
Autofécondation + Geitonogamie (non castrée)	Fl.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Gou/Fl															
	Gr/Gou															
	Gr/Fl															
	Ger/Gr															
	Pl/Ger															
Geitonogamie (castrée)	Fl.	-	2	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	3
	Gou/Fl		0	0				0								0
	Gr/Gou		-	-				-								-
	Gr/Fl		0	0				0								0
	Ger/Gr		-	-				-								-
	Pl/Ger		-	-				-								-
	Pl/Fl		0	0				0								0
Autofécondation + Allofécondation (non castrée)	Fl.	4	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	2
	Gou/Fl	0								0						0
	Gr/Gou	-								-						-
	Gr/Fl	0								0						0
	Ger/Gr	-								-						-
	Pl/Ger	-								-						-
	Pl/Fl	0								0						0
Allofécondation + Geitonogamie (castrée)	Fl.	-	4	8	3	-	-	3	-	3	4	-	2	-	-	7
	Gou/Fl		0	0	0			0		0	0.25		0			0.04
	Gr/Gou		-	-	-			-		-	5		-			5
	Gr/Fl		0	0	0			0		0	1.25		0			0.18
	Ger/Gr		-	-	-			-		-	1.00		-			1.00
	Pl/Ger		-	-	-			-		-	0.80		-			0.80
	Pl/Fl		0	0	0			0		0	1.00		0			0.14
Allofécondation (castrée)	Fl.	3	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
	Gou/Fl	0	0	0												0
	Gr/Gou	-	-	-												-
	Gr/Fl	0	0	0												0
	Ger/Gr	-	-	-												-
	Pl/Ger	-	-	-												-
	Pl/Fl	0	0	0												0
Mélange Allofécondation + Allofécondation (castrée)	Fl.	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	3
	Gou/Fl	0										0			0	0
	Gr/Gou	-										-			-	-
	Gr/Fl	0										0			0	0
	Ger/Gr	-										-			-	-
	Pl/Ger	-										-			-	-
	Pl/Fl	0										0			0	0

Fl. : nombre de fleurs

Gou/Fl : nombre de gousse par fleur

Gr/Gou : nombre de graines par gousse

Gr/Fl : nombre de graines par fleur

Ger/Gr : nombre de graines germées par graines totales

Pl/Ger : nombre de plante par graine germée

Pl/Fl : nombre de plante par fleur

3-3 ETUDE DE LA STRUCTURE GENOTYPIQUE DES POPULATIONS

STRUCTURE SPATIALE ET REGIME DE LA REPRODUCTION CHEZ DEUX ESPECES
DE LEGUMINEUSES: L. LATIFOLIUS ET L. SYLVESTRIS.

Myriam VALERO, Joël CUGUEN, Brigitte CARON, Alida YOUSSEF,
Danielle MAGDA & Martine HOSSAERT.

INTRODUCTION

Beaucoup de plantes hermaphrodites allogames ne pratiquent pas l'allogamie stricte mais montrent un certain taux d'autofécondation. Le meilleur exemple illustrant un système de reproduction mixte est donné par les plantes portant des fleurs cleïstogames (obligatoirement autofécondées) et des fleurs chasmogames (pouvant être uniquement allofécondées) (chez Viola canina, Darwin, 1877; Impatiens biflora, Schemske, 1978; Lamium amplexicaule, Lord, 1979; Impatiens capensis, Waller, 1984). Le maintien d'un système de reproduction mixte, que ce soit par l'existence d'individus allogames présentant un certain taux d'autofécondation, ou que ce soit par la coexistence de deux types d'individus, allogame et autogame dans une même population, pose le problème du coût respectif de l'allofécondation et de l'autofécondation. Fisher (1941) a montré qu'il existe un avantage génétique à l'autofécondation: en effet un gène qui produit de l'autofécondation a une probabilité 2 fois plus importante d'être transmis par rapport à un gène produisant de l'allofécondation. Ce désavantage de 2 de l'allofécondation par

rapport à l'autofécondation est relié au coût de la méiose (Williams, 1975) ou coût de produire des mâles (Maynard Smith, 1978) ou encore coût de l'allofécondation (Uyenoyama, 1986).

Le maintien de l'allofécondation ne pourrait donc s'expliquer que si ce désavantage de 2 peut être contrebalancé par une valeur sélective des individus issus d'allofécondation 2 fois plus élevée que celle des issus d'autofécondation: c'est ainsi que la majorité des plantes allogames, placées en régime d'autofécondation, montrent des descendance présentant une baisse de vigueur appelée dépression de consanguinité (Fisher, 1941; Williams, 1975; Maynard Smith, 1978; Lloyd, 1979).

La plupart des modèles existant sur l'évolution de l'autofécondation suggèrent que seules 2 stratégies extrêmes sont évolutivement stables: d'une part l'évolution vers l'autogamie ou d'autre part le maintien de l'allogamie. L'existence d'une stratégie mixte vient du fait qu'on n'est pas à l'équilibre (Lande et Schemske, 1985). Cependant Solbrig (1979) et Williams (1980) mettent l'accent sur le fait que le coût méiotique de l'allofécondation diminue dans les populations où les individus pratiquent des croisements consanguins. Le désavantage de l'allofécondation diminue donc avec l'augmentation de la consanguinité (l'apparentement) entre parents et descendants. Uyenoyama (1986) montre que, dans ces conditions, la consanguinité peut amener à des situations d'équilibre. A l'aide d'un modèle, Holsinger (1986) démontre qu'un polymorphisme pour le régime de la reproduction peut se maintenir à l'intérieur d'une population dans le cas où les individus issus d'autofécondation migrent moins loin que ceux issus

d'allofécondation. Le problème est donc de savoir si le polymorphisme est maintenu au niveau de la population, car on peut aussi supposer que son maintien ne puisse s'expliquer que dans un contexte de métapopulations (Gill, 1978, Couvet et al., 1985) où chaque population est régulièrement fondée par les autres et évolue ensuite sous l'action de phénomènes internes.

L'estimation du régime de la reproduction dans les populations naturelles se fait le plus souvent à l'aide des F-statistics (Wright, 1951, 1965). Des excès d'homozygotes sont très fréquemment mis en évidence chez les plantes (Schall, 1975; Levin, 1977; Guries and Ledig, 1982; Hiebert et Hamrick, 1983) et la consanguinité observée traduit l'existence d'une reproduction par voisinages (Wright, 1965; Crawford, 1984; Cahalan and Gliddon, 1985). Deux causes différentes peuvent être à l'origine de la consanguinité: d'une part, l'autofécondation et d'autre part, la reproduction par voisinages ou entre partenaires apparentés. Un moyen de départager ces deux composantes de consanguinité consiste à étudier la répartition spatiale des génotypes dans les populations et à trouver sur quelles distances les génotypes sont agrégés. On peut supposer que ces distances correspondent aux unités de fonctionnement panmictique de la population qui est alors découpée en plusieurs sous-groupes correspondants. Si une consanguinité est encore mise en évidence dans ces sous-groupes, elle devrait provenir d'une autofécondation. Le problème de cette méthode réside dans le fait que les voisinages ne présentent pas de limite fixe puisqu'ils sont définis et différent pour chaque individu de la population.

La délimitation de sous-groupes peut donc ne pas correspondre à une structure en voisinages.

Il apparaît donc difficile de faire la part entre la consanguinité dérivant de l'autofécondation et celle résultant de croisements entre apparentés. Il est pourtant important de différencier, l'"effective selfing rate (E)" (Ritland et Jain, 1981) c'est-à-dire la résultante de l'autofécondation et de l'apparentement, du taux d'autofécondation sensu stricto (S). Des modèles ont été réalisés afin d'évaluer le taux d'autofécondation des individus dans les populations à partir de l'examen des descendance maternelles issues de pollinisation libre in situ (Brown et Allard, 1970 et Clegg et al., 1978). Ces estimations "simple locus" des taux d'autofécondation supposent des taux d'autofécondation et des fréquences polliniques uniformes entre les différents individus de la population et fournissent donc une estimation de l'effective selfing rate (E) et non pas du taux d'autofécondation vrai (S) puisque dans les populations structurées, la fréquence pollinique varie d'un endroit à l'autre et entraîne un biais dans les estimateurs. Shaw et Allard (1981) puis Ritland et Jain (1981) et Ritland et El-Kassaby (1985) ont construit une procédure d'estimation "multi loci" qui permet d'estimer le taux d'autofécondation vrai (S). De plus ces modèles "multi loci" permettent d'estimer pour chaque plante mère étudiée, son taux d'autofécondation ainsi que les fréquences alléliques de l'allopollen qu'elle a reçu. Il est alors possible de comparer les estimations "simple locus" du taux d'autofécondation c'est-à dire l'effective selfing rate (E) à

l'estimation "multi loci" qui fournit le taux d'autofécondation seul (S). La connaissance de ces deux estimateurs: taux d'autofécondation et consanguinité globale ainsi que celle des variations du régime de la reproduction entre différents individus d'une population est importante pour discuter de l'évolution de l'autogamie dans les populations (cf. plus haut).

Dans cette perspective, nous avons travaillé sur deux espèces de légumineuses pérennes: Lathyrus latifolius et Lathyrus sylvestris. Ces deux espèces affines sont hermaphrodites et différent par leur rapport Pollen sur Ovule (P/O) (Valero et al., 1987, annexe 2): L. latifolius produit plus de pollen par fleur que L. sylvestris. Des croisements contrôlés effectués en terrain expérimental (Valero et al., 1986, chapitres 3-1 et 3-2) ont montré que L. latifolius serait plus allogame que L. sylvestris. Nous allons présenter ici les résultats obtenus par l'étude des structures génotypiques (allozymes) en relation avec l'organisation spatiale des individus dans plusieurs populations des deux espèces. Le régime de la reproduction sera étudié plus précisément dans une population de L. latifolius. La consanguinité totale (E) et les taux d'autofécondation (S) seront mesurés selon la méthode d'estimation de Ritland et Jain (1981), sur différents individus de cette population par l'étude de descendance maternelles récoltées in situ. Ces résultats seront discutés dans le contexte de la sélection sexuelle et plusieurs hypothèses seront avancées pour expliquer l'évolution vers différents régimes de la reproduction.

TABLEAU 1 : Nombre d'individus étudiés dans les différentes populations
(les caractéristiques de ces populations sont données dans Valéro et
Hossaert (en prép., cf. Chap.1, p.26)

Espèces	Populations	Situations géographiques	Nombre d'individus étudiés
<u>L.latifolius</u>	L2	Doué La Fontaine (centre de la France)	93
	L4	Cadillon (Sud-Ouest de la France)	113
<u>L.sylvestris</u>	S8	Urdos (Sud-Ouest de la France)	177
	S1	Pecquencourt (Nord de la France)	104
	S3	Helfaut (Nord de la France)	25
	S2	Boulonnais (Nord de la France)	21
	S7	Bilhères (Sud-Ouest de la France)	44

MATERIEL ET METHODES

1) STATIONS ETUDIEES

a) Populations en place

Deux populations de L. latifolius et cinq populations de L. sylvestris situées du Nord au Sud de la France ont été étudiées (tableau 1). Dans ces populations, des feuilles ont été récoltées sur les plantes en place pour être analysées par électrophorèse. Les résultats obtenus sur ces 7 populations concernent la première partie de notre étude sur la comparaison des F statistics aux niveaux inter-spécifiques, inter-populations et intra-population.

La deuxième partie de notre étude sur la structure spatiale des individus ne prend en compte que les résultats obtenus dans 4 populations: les 2 stations de L. latifolius (L2 et L4) et les 2 stations de L. sylvestris (S1 et S8). Les deux populations (L2 et S8) sont situées sur d'anciennes voies de chemin de fer laissées à l'abandon et montrent une distribution spatiale linéaire des individus. Dans les stations L4 et S1 en revanche, les individus sont répartis sur une surface. La population L4 s'étend sur une pelouse calcaire et S1 sur les pentes d'un teruil. Dans ces 4 sites, un échantillonnage par transect a été effectué. Tous les individus présents dans chaque transect ont été cartographiés. La répartition des individus et la taille des transects sont donnés

dans l'annexe B p. 275 (cartes 1 à 4 pour les stations L2, L4, S8 et S1 respectivement).

b) Etude des descendances maternelles

Cette étude a été effectuée dans la population de L. latifolius montrant une distribution spatiale linéaire des individus (population L2). Quatre sous populations ont été distinguées dans cette population (cf. annexe B, carte 1) à la suite de l'étude de la structure spatiale des génotypes (cf. résultats, ci-dessous).

Des descendances maternelles ont été récoltées deux années consécutives (en 1985 et 1986) en prélevant des gousses mûres issues de pollinisations libres sur les plantes en place.

La première année (1985), les descendances maternelles étudiées proviennent des individus situés dans les sous populations 1, 3 et 4. Les graines ont été mises à germer et les électrophorèses ont porté sur les plantules âgées de 3 à 6 mois. Dix huit familles regroupant 349 descendants ont été étudiées.

La deuxième année (1986), les descendances maternelles proviennent de plantes venant des 4 sous populations. Les électrophorèses ont été effectuées directement sur les graines. Quatorze familles, soit 236 descendants, ont été étudiées.

2) TECHNIQUE D'ELECTROPHORESE

Les électrophorèses ont été effectuées sur gel d'acrylamide selon la technique de Gasquez et Compoint (1976). Quatre systèmes enzymatiques ont été révélés. Le déterminisme génétique des cinq loci suivants est connu: GOT1, GOT2, LAP1, EST1 et ACPH1 (cf. annexe 4).

3) METHODES

a) F-statistics calculés sur les 2 espèces:

L'organisation inter et intrapopulation de la variabilité génétique a été étudiée à l'aide des F-statistics (Wright 1955, 1965). Ces indices sont au nombre de trois, F_{is} , F_{st} et F_{it} , et ont été élaborés pour analyser les structures génétiques à l'intérieur et entre des subdivisions. Les subdivisions peuvent être multiples, soit des écotypes, des populations ou des voisinages et la même méthode peut être appliquée à ces différents niveaux. La définition de ces paramètres est la suivante: dans un ensemble subdivisé, F_{is} et F_{it} sont les corrélations gamétiques entre allèles (à un locus) chez les individus, relativement soit à la subdivision à laquelle ils appartiennent, soit à l'ensemble des subdivisions. F_{st} représente la corrélation gamétique entre allèles pris au hasard dans les subdivisions relativement à l'ensemble de référence. F_{st} correspond à une mesure de la différenciation génétique entre les subdivisions. Les trois indices sont reliés par l'équation suivante:

$$(1 - F_{it}) = (1 - F_{is})(1 - F_{st})$$

Le calcul de F_{is} et de F_{it} se fait généralement par la comparaison de l'hétérozygotie observée, soit dans les subdivisions, soit dans l'ensemble de celles-ci considérées comme une seule unité, à l'hétérozygotie attendue dans l'hypothèse d'une association aléatoire des gamètes soit dans les subdivisions, soit dans l'ensemble de référence.

$$F_{is} = 1 - H_o/H_e \quad F_{it} = 1 - H_o/H_e$$

F_{st} est défini de la manière suivante:

$$F_{st} = s^2/p(1 - p)$$

où s^2 est la variance intersubdivisions de la fréquence de l'allèle considéré et p est la fréquence moyenne de l'allèle sur l'ensemble des subdivisions.

Ainsi que Weir et Cockerham (1984) le soulignent, l'estimation de ces paramètres à partir d'un nombre limité de populations naturelles et avec des échantillons de taille variable est délicate et la méthode corrigée qu'ils proposent a été utilisée.

Suivant leurs recommandations, les variances d'estimations des F-statistics ont été obtenues à l'aide d'une procédure de jackknife (Miller 1974). Pour l'estimation sur l'ensemble des loci, la variance interloci est utilisée, l'estimation des paramètres est fournie avec l'erreur standard.

Lors de la comparaison de l'organisation de la variabilité génétique chez les deux espèces, l'ensemble est constitué par l'espèce (T), et les subdivisions par les populations (S).

b) Organisation spatiale dans les populations:

- Autocorrélations spatiales:

La structure spatiale des génotypes dans les quatre populations a été étudiée en calculant des coefficients d'autocorrélation spatiale (Sokal et Oden 1978, Cliff et Ord 1981, Sakai et Oden 1983).

L'analyse des structures spatiales à l'aide des méthodes d'autocorrélation permet de tester si l'état pris par une variable en un lieu donné dépend de l'état de la même variable dans des localisations voisines.

Des classes de distance entre les individus sont définies: par exemple tous les individus séparés par une distance inférieure à un mètre ont été affectés à la classe "voisins séparés par moins d'un mètre", ceux distants de un à deux mètres sont affectés à la classe "voisins séparés par une distance comprise entre un et deux mètres" et ainsi de suite. Dans chaque classe, le coefficient d'autocorrélation est calculé entre les individus présents. Les classes de distances sont ensuite portées en abscisse, en fonction desquelles sont représentées en ordonnée les valeurs prises par le coefficient d'autocorrélation dans chaque classe de distance. Ce type de représentation constitue un corrélogramme.

Deux types de coefficient d'autocorrélation ont été calculés selon que le génotype des individus est considéré d'une manière quantitative ou qualitative.

- Le génotype de chaque individu a été exprimé en terme de fréquences alléliques pour l'assimiler à une variable continue et pour calculer une autocorrélation allélique. Ainsi, pour un locus à 2 allèles (1 et 2) les individus homozygotes 11 ou 22 et les hétérozygotes 12 sont respectivement codés 1, 0 et 0.5. Le coefficient utilisé est celui de Moran. La procédure de calcul ainsi que les espérances du coefficient et de sa variance qui permettent de tester sa signification statistique sont données dans Sokal et Oden (1978) et Cliff et Ord (1981).

- Le génotype peut aussi être pris en tant que variable qualitative pour calculer l'autocorrélation génotypique. Dans ces conditions, le nombre observé de cooccurrences du même génotype ou de génotypes différents dans une classe de distance donnée est comparé à son espérance dans l'hypothèse d'une répartition spatiale aléatoire. Plutôt que le nombre observé de cooccurrences, son écart standardisé (SND), obtenu en divisant la différence entre la valeur observée et son espérance par la racine carrée de la variance est utilisé:

$$SND = (\text{observé} - \text{attendu}) / \text{variance}^{0.5}$$

Pour tester la signification de cet écart (SND) on utilise une table de Student et Fisher.

Le nombre de comparaisons augmente rapidement. Avec n catégories différentes, $n(n+1)/2$ comparaisons sont possibles. Ainsi pour un locus à deux allèles, présentant donc trois génotypes, il existe six comparaisons: 11-11, 11-12, 11-22, 12-12, 12-22, 22-22. Avec trois allèles et six génotypes 21 comparaisons sont réalisables. Ce type d'approche n'est donc possible que pour des loci ayant peu d'allèles différents.

Les résultats ont été analysés de trois manières différentes:

- Tout d'abord, nous avons examiné la valeur et le signe pris par le coefficient d'autocorrélation dans les classes de distances les plus faibles, aussi bien pour l'autocorrélation allélique que génotypique. Un coefficient positif indique que les individus semblables sont agrégés, alors qu'un coefficient négatif indique une sur-dispersion. Dans les cas d'un coefficient proche de zéro, l'organisation est aléatoire.

- L'examen sur le corrélogramme des variations de l'autocorrélation en fonction de la distance entre les individus apporte une information sur l'organisation globale de la population au locus étudié. En présence d'un cline régulier, le corrélogramme se présentera sous la forme d'une droite ayant une pente négative. Dans le cas d'une structure en mosaïque, le corrélogramme aura une allure sinusoïdale due à la répétitivité de la structure. Enfin, une structure spatiale aléatoire se présentera sous la forme d'une séquence non ordonnée de valeurs positives et négatives. Pour tester l'allure du corrélogramme nous avons utilisé un test non paramétrique, le "run test below and above the median" soit le test du nombre de séquences de valeurs plus grandes ou plus petites que la médiane (Sokal et Rohlf 1981). Par définition il y a autant de valeurs supérieures à la médiane que de valeurs inférieures. Mais la distribution séquentielle de ces valeurs peut varier. Ainsi, dans les cas d'un corrélogramme figurant un cline régulier, toutes les valeurs supérieures à la médiane sont à gauche et toutes les inférieures à droite et forment seulement deux séquences. Il est donc possible de réaliser un test en confrontant le nombre de

séquences observées au nombre attendu dans l'hypothèse d'une organisation aléatoire des valeurs supérieures ou inférieures à la médiane.

- Les corrélogrammes alléliques ont été tout d'abord analysés. Si l'organisation spatiale des différents génotypes présente un cline régulier, c'est à dire si les homozygotes pour deux allèles différents sont séparés par des hétérozygotes, les corrélogrammes alléliques et génotypiques apportent des informations redondantes. Mais l'organisation spatiale des génotypes dans les populations n'est pas toujours aussi simple et l'examen des corrélogrammes génotypiques peut révéler une organisation spatiale non aléatoire des génotypes qui ne serait pas apparue sur le corrélogramme allélique (dans le cas, par exemple, d'un groupement entre génotypes semblables sans que le passage d'un type de génotype à l'autre se fasse de manière quantitative). Aussi, les corrélogrammes alléliques ont tout d'abord été analysés, et un examen complémentaire des corrélogrammes génotypiques a été effectué pour vérifier la cohérence des résultats.

- Découpage de la population en plusieurs sous groupes et calcul des indices des F-statistics:

Dans chaque population, les minima observés sur les corrélogrammes ont été comparés d'un locus à l'autre et ont servi à définir une maille de découpage des populations en sous-populations. Cette maille de découpage a été optimisée en tenant compte de l'effectif des sous-populations (cf. Annexe B,

cartes 1 à 4). Les 3 indices de fixation ont été estimés selon la même méthode que précédemment; la population constitue l'ensemble (T), et les sous-populations forment les subdivisions (S). La mise en évidence d'une composante de différenciation intrapopulation (inter-subdivision) F_{st} est à mettre en relation avec la fondation de la population et son fonctionnement en voisinages selon un modèle d'isolement par la distance (Wright 1946). La composante intra-subdivision restante résulte, soit d'une surface de voisinage inférieure à la maille choisie, soit de l'existence d'autofécondation.

c) Estimation des taux d'autofécondation par l'étude des descendance maternelles

Cette étude porte sur les individus de L. latifolius situés dans la population L2 et échantillonnés pendant deux années consécutives (cf. p. 224). Dans l'introduction (p. 220) nous avons discuté les différentes méthodes d'estimation des taux d'autofécondation. Des estimations "simple locus" et "multi loci" du taux d'autofécondation (E et S respectivement) et des fréquences alléliques dans le pollen allofécondant, ont été calculées pour les deux années consécutives, en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance selon la procédure de Ritland et Jain (1981) et Ritland et El-Kassaby (1985). Ces auteurs y discutent des propriétés des estimateurs et en particulier de la différence entre l'estimation "simple locus" qui donne un taux d'autofécondation biaisé (E: effective selfing rate) prenant en compte non seulement l'autofécondation, mais aussi les



TABLEAU 2: Fréquences alléliques dans les différentes populations

Loci		GOT1			GOT2				LAP1						EST1				ACPH1			
		1	2	N	1	2	3	N	1	2	3	4	5	N	1	2	5	N	1	2	3	N
Allèles																						
Popu- lations	L2	1.00	-	93	0.28	0.72	-	93	0.17	0.83	-	-	-	87	0.11	0.89	-	88	0.62	0.38	-	45
	<u>L. l.</u>	L4	1.00	-	113	0.97	0.03	-	110	0.69	0.31	-	-	-	111	0.24	0.74	0.02	107	0.78	0.11	0.11
	S8	0.62	0.38	171	1.00	-	-	177	-	0.23	-	0.77	-	101	0.95	-	0.05	157	0.01	0.02	0.97	108
Popu- lations	S1	-	1.00	104	1.00	-	-	104	0.47	-	-	0.53	-	104	0.89	-	0.11	81	0.04	0.95	0.01	104
	S3	0.68	0.32	25	1.00	-	-	25	0.26	0.38	-	0.36	-	25	1.00	-	-	25	0.10	0.90	-	25
<u>L. s.</u>	S2	-	1.00	21	1.00	-	-	21	0.06	0.94	-	-	-	8	0.18	-	0.82	17	0.04	0.96	-	21
	S7	0.16	0.84	40	0.93	-	0.07	41	-	-	0.03	0.82	0.15	43	1.00	-	-	44	-	-	-	-

N: nombre d'individus étudiés à chaque locus.

L. l.: Lathyrus latifolius.

L. s.: Lathyrus sylvestris.

croisements entre apparentés, de l'estimation "multi loci" qui se rapproche d'autant plus du taux d'autofécondation "réel" (S) qu'on augmente le nombre de loci étudiés. Ils conseillent d'utiliser un nombre minimum de 4 à 5 loci pour avoir une bonne estimation de S. Dans cette étude nous n'avons pu utiliser que 3 loci polymorphes, notre estimation de S sera donc légèrement biaisée.

La différence entre E et S sera d'autant plus grande que la population sera différenciée en sous groupes. Puisque nous allons montrer que la sous population 2 se distingue nettement des 3 autres, les différents estimateurs ont été recalculés sur les descendance de 1986, en séparant celles provenant de la partie 2, des autres. Si on suppose que dans chaque sous population on est à l'équilibre de consanguinité, on a la relation suivante entre S et Fis (Haldane 1924):

$$Fis = S / (2-S)$$

La variation de S devrait alors se faire dans le même sens que la variation des Fis dans les différentes sous populations.

RESULTATS

1) F STATISTICS POPULATIONS/ ESPECES

Les fréquences alléliques observées aux 5 loci étudiés dans les différentes populations sont données tableau 2. Pour chaque locus, les F-statistics (Fis: intra-population, Fst:

TABEAU 3: F-statistics obtenus aux 5 loci étudiés et sur la moyenne des loci chez les deux espèces.

Espèces	<u>L. latifolius</u>			<u>L. sylvestris</u>		
	Fis	Fst	Fit	Fis	Fst	Fit
GOT1	-	-	-	0.340	0.478	0.656
GOT2	0.033	0.684	0.694	-0.031	0.041	0.011
LAP1	0.255	0.424	0.571	0.366	0.284	0.546
EST1	-0.118	0.057	-0.054	0.192	0.459	0.563
ACPH1 ^a	0.214	0.112	0.302	-0.046	0.877	0.872
MOYENNE	0.117 (0.088)	0.386 ^o (0.151)	0.458* (0.140)	0.293** (0.068)	0.564* (0.187)	0.692*** (0.105)

Les F-statistics sont calculés sur les 2 populations de L. latifolius et sur les 5 populations de L. sylvestris.

^a: Les F-statistics n'ont été calculés que sur 4 populations de L. sylvestris à ce locus.

Les chiffres entre parenthèses représentent l'erreur standard calculée par un Jackknife

La moyenne sur les loci est pondérée par la taille de l'échantillon et par le niveau de polymorphisme du locus (Weir et Cockerham, 1984).

Fis: intra-population

Fst: inter-population

Fit: intra-spécifique

^o : différent de 0 pour $p < 0.10$

* : différent de 0 pour $p < 0.05$

*** : différent de 0 pour $p < 0.01$



inter-population et F_{it} : intra-spécifique) ont été calculés sur l'ensemble des populations de L. latifolius et L. sylvestris (tableau 3).

Chez L. latifolius, les F_{it} sont positifs pour tous les loci exceptés le locus EST1. Ce fort déficit en hétérozygotes est du en partie à une différenciation inter-population visible à tous les loci et particulièrement importante au locus GOT2; mais aussi à une consanguinité intra-population non négligeable visible aux loci LAP1 et ACPH1. Chez L. sylvestris, le même type de résultat est observé: les F_{it} sont positifs pour tous les loci excepté au locus GOT2. Les valeurs aberrantes obtenues à ce locus peuvent s'expliquer par l'existence d'un polymorphisme extrêmement faible (tableau 2) ayant pour conséquence une mauvaise estimation des valeurs. Pour l'ensemble des loci la différenciation inter-population (F_{st}) et la consanguinité intra-population (F_{is}) sont non négligeables (loci: GOT1, LAP1 et EST1).

L'examen des valeurs moyennes obtenues sur l'ensemble des loci étudiés (tableau 3) montre que chez L. sylvestris le déficit en hétérozygotes est extrêmement fort ($F_{it}=69\%$) et plus important que celui obtenu chez L. latifolius ($F_{it}=46\%$). Ces forts F_{it} s'expliquent en grande partie par une importante différenciation inter-population toujours plus importante chez L. sylvestris ($F_{st}=56\%$) que chez L. latifolius ($F_{st}=39\%$). Cette différenciation inter-population est visible même entre stations provenant de la même région (par exemple: la différence observée pour les fréquences alléliques entre S1 et S3 au locus GOT1, tableau 2). La consanguinité intra-population est toutefois également forte

FIGURE 1

FIGURE 1a

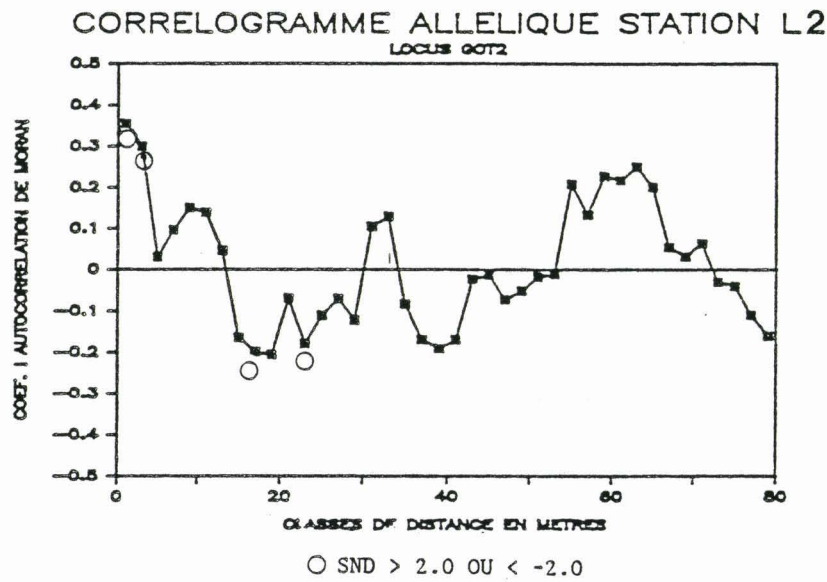
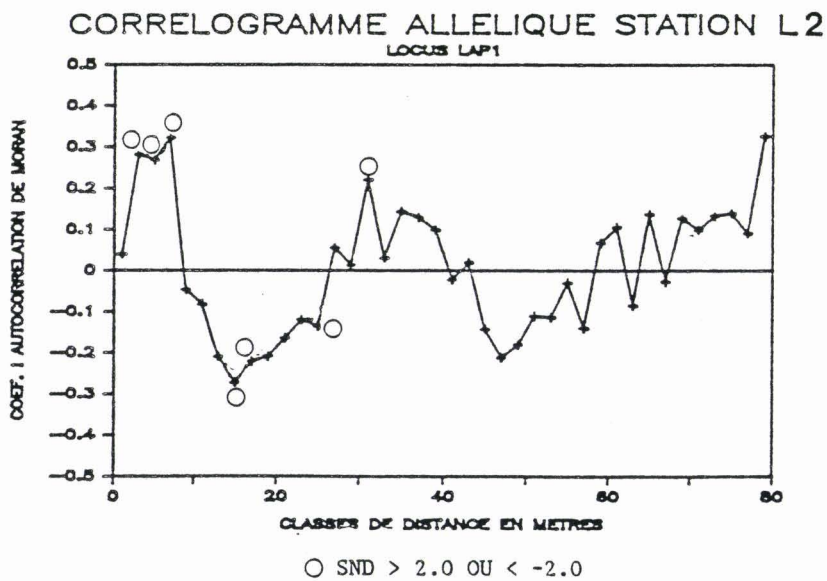


FIGURE 1b



et apparaît encore plus importante chez L. sylvestris (Fis=29%) que chez L. latifolius (Fis=12%).

2) STRUCTURE SPATIALE INTRAPOPULATION.

a) chez L. latifolius

-station linéaire (L2):

La répartition spatiale des différents génotypes obtenus aux loci GOT2, LAP1, EST1 et ACPH1 est donnée dans l'annexe B (cartes 1a à 1d respectivement). Les autocorrélations alléliques montrent une forte structuration spatiale aux loci GOT2 et LAP1 (figures 1a et 1b). A faible distance (0-4m. pour les GOT2 et 2-6m. pour les LAP1), un groupement significatif entre individus portant des allèles semblables intervient. Pour les autres loci EST1 et ACPH1, une autocorrélation positive est aussi observée sur ces faibles distances (0-4m) et elle est significative au locus EST1 ($I=0.19$, $SND=2.17$ pour la classe de distance 2-4m). Les individus semblables génétiquement sont donc groupés sur des faibles distances pour tous les loci étudiés. D'autre part, les corrélogrammes des loci GOT2 et LAP1 montrent que sur une distance d'environ 20m, les individus semblables alléliquement sont surdispersés. Une différenciation allélique significative pour tous les individus séparés par 20 mètres apparaît clairement. Cette différenciation correspond-elle à une distribution des génotypes en taches?

FIGURE 2

FIGURE 2a

CORRELOGRAMME GENOTYPIQUE STATION L2

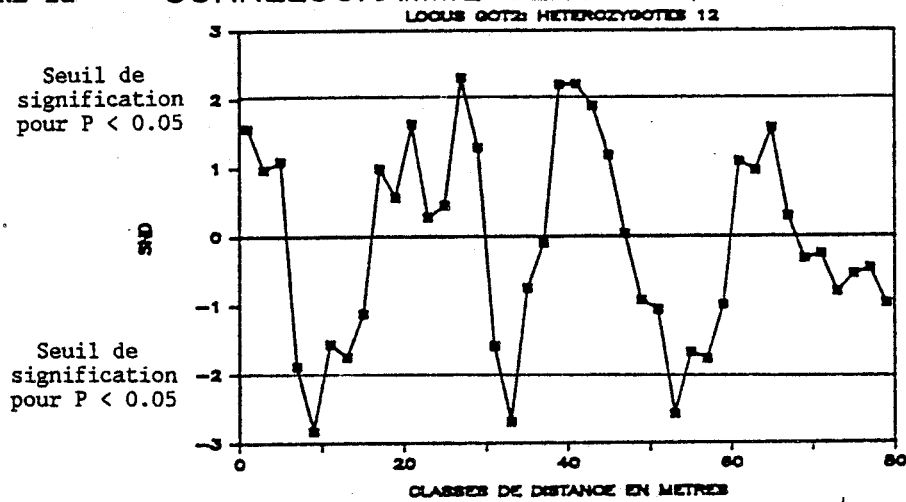


FIGURE 2b

CORRELOGRAMME GENOTYPIQUE STATION L2

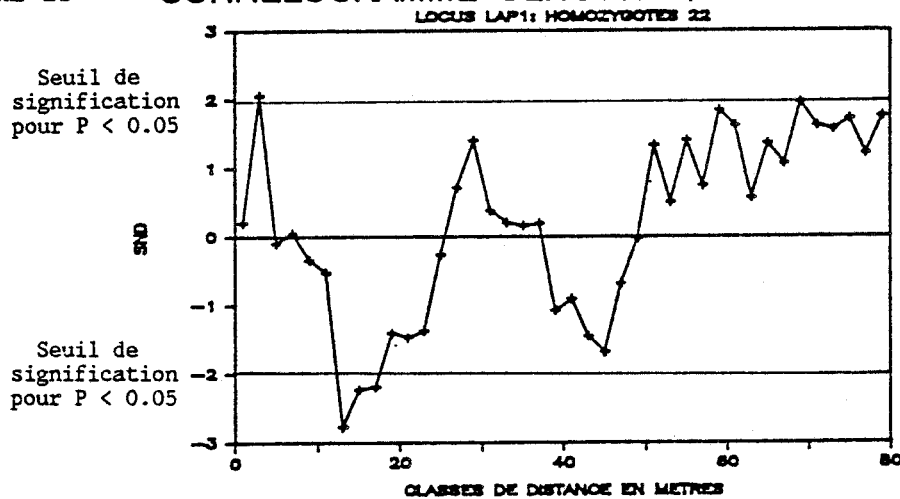
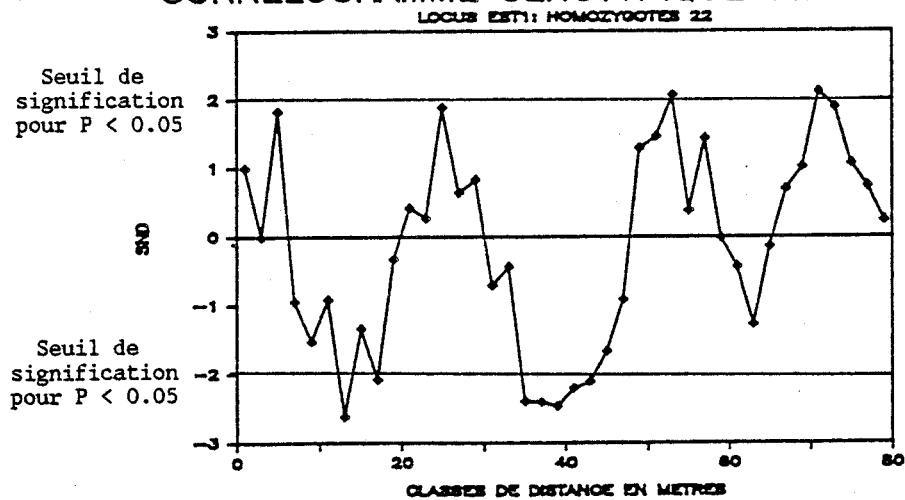


FIGURE 2c

CORRELOGRAMME GENOTYPIQUE STATION L2



L'analyse des autocorrélations entre génotypes les plus fréquents montre pour les 3 loci GOT2, LAP1 et EST1 une répétitivité dans l'organisation de la structure: les SND sont significativement positifs sur de courtes distances (0-4m: LAP1 et EST1) puis une inversion significative des SND apparaît régulièrement tous les 20 mètres (figures 2a, 2b et 2c). Les tests de signe autour de la médiane sont hautement significatifs pour les 3 loci (GOT2: $P=3.27 \cdot 10^{-4}$, LAP1: $P=1.30 \cdot 10^{-6}$ et EST1: $P=9.41 \cdot 10^{-5}$). Cette répétitivité de la structure suggère une organisation des génotypes par taches de 20 mètres. Les résultats obtenus sur les ACPH1 sont observés sur trop peu d'individus pour être exploitables (cf. tableau 2).

La population a donc été découpée en sous-populations de 20m. selon les critères d'autocorrélation spatiale, mais aussi dans le but d'obtenir un effectif suffisant dans chaque sous population (carte 1, annexe B). Les fréquences alléliques obtenues dans chacun des sous-groupes sont données tableau 4. Les différences entre effectifs alléliques dans chacun des sous-groupes ont été testées à l'aide d'un test G sur table de contingence. Une différence significative entre sous-populations pour les trois loci étudiés est mise en évidence. D'autre part nous avons calculé les différents indices de fixation (Fis: intra sous-population, Fst: inter sous-population et Fit: intra population totale) pour connaître l'importance de la différenciation intra et inter sous-groupes. les résultats obtenus pour les trois loci et leurs moyennes sont donnés tableau 5. Les Fit obtenus sur les trois loci sont du même ordre de grandeur et voisins de 0.12, ce qui montre un déficit en

TABLEAU 4: Fréquences alléliques obtenues dans les différents sous groupes de la population L2

Loci	GOT2			LAP1			EST1		
Allèles	1	2	N	1	2	N	1	2	N
Sous groupe 1	0.14	0.86	21	0.17	0.83	18	0.11	0.89	18
Sous groupe 2	0.52	0.48	20	0.21	0.79	17	0.21	0.79	14
Sous groupe 3	0.17	0.83	24	0.23	0.77	20	0.03	0.97	19
Sous groupe 4	0.27	0.73	24	0.04	0.96	23	0.02	0.98	26
Test G^a	$G=18.39^{***}$ $P(G,3ddl)= 4 \cdot 10^{-4}$			$G=7.55^o$ $P(G,3ddl)= 0.056$			$G=10.19^*$ $P(G,3ddl)= 0.017$		

N: nombre d'individus étudiés à chaque locus.

^a: corrigé selon la méthode de Williams.

^o: hétérogénéité significative pour $P < 0.10$

*: hétérogénéité significative pour $P < 0.05$

***: hétérogénéité significative pour $P < 0.001$

TABLEAU 5: F-statistics obtenus aux 3 loci étudiés et sur la moyenne des loci dans la population L2

Loci	Fis	Fst	Fit
GOT2	-0.001	0.120	0.119
LAP1	0.101	0.028	0.126
EST1	0.049	0.075	0.120
MOYENNE	0.043 (0.023)	0.082 (0.021)	0.121 ^{***} (0.002)

Les chiffres entre parenthèses représentent l'erreur standard calculée par un Jackknife.

La moyenne sur les loci est pondérée par la taille de l'échantillon et par le niveau de polymorphisme du locus (Weir et Cockerham, 1984).

Fis: intra sous-population

Fst: inter sous-population

Fit: intra population totale

***: différent de 0 pour $p < 0.001$

hétérozygotes non négligeable dans la population. Pour le locus GOT2 ce déficit en hétérozygotes se trouve entièrement expliqué par l'existence de sous populations ($F_{st}=F_{it}$ et $F_{is}=0$). Pour les autres loci, le découpage de la population ne semble pas correspondre aussi bien à la taille du voisinage surtout au locus LAP1 où le F_{is} reste non négligeable ($F_{is}=0.10$). Quoiqu'il en soit, l'observation des indices moyens (tableau 5) révèle que le déficit en hétérozygotes dans la population ($F_{it}=0.12$) provient essentiellement d'une reproduction par voisinages sur des distances de 20m ($F_{st}=0.08$) mais pour une faible part ($F_{is}=0.04$) soit d'une autofécondation des individus soit d'une reproduction par voisinage à l'intérieur des 20m.

- station en surface (L4):

Les autocorrélations alléliques montrent une structuration spatiale beaucoup plus faible que précédemment (comme l'indique la répartition spatiale des génotypes pour les 4 loci, cartes 2a à 2d, annexe B). Cependant, une autocorrélation positive est observée aux 4 loci étudiés sur de faibles distances. Pour les loci GOT2, LAP1 et EST1, la corrélation est significative (GOT2: $I=0.10$, $SND=2.48$ à $0.5-1m$; LAP1: $I=0.39$, $SND=5.35$ à $0-0.5m$ et EST1: $I=0.12$, $SND=2.43$ à $0.5-1m$) tandis que pour les ACPH1 elle est non significative ($I=0.08$, $SND=1.74$ à $1-1.5m$). Les individus portant des allèles semblables semblent donc significativement groupés sur de faibles distances ($0-1m$). Les run tests montrent pour tous les corrélogrammes une variation aléatoire du signe des coefficients d'autocorrélation en fonction de la distance. C'est

FIGURE 3

FIGURE 3a

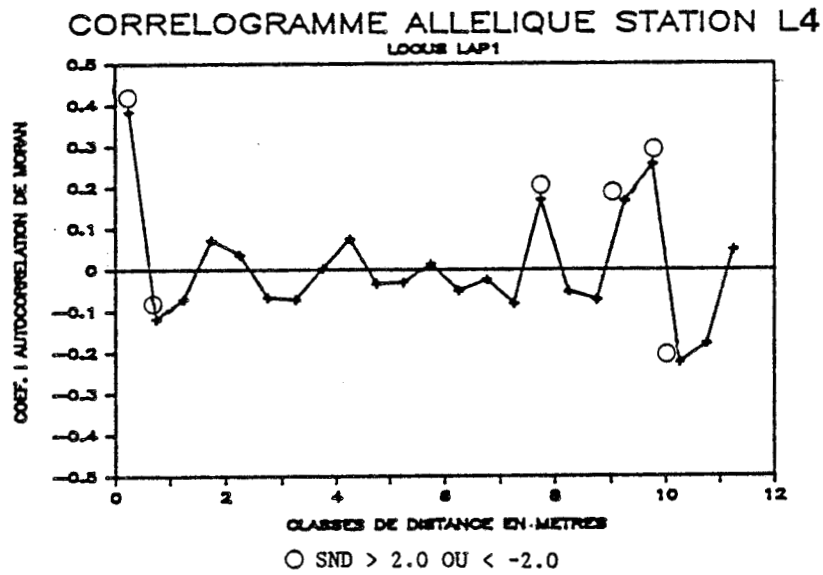
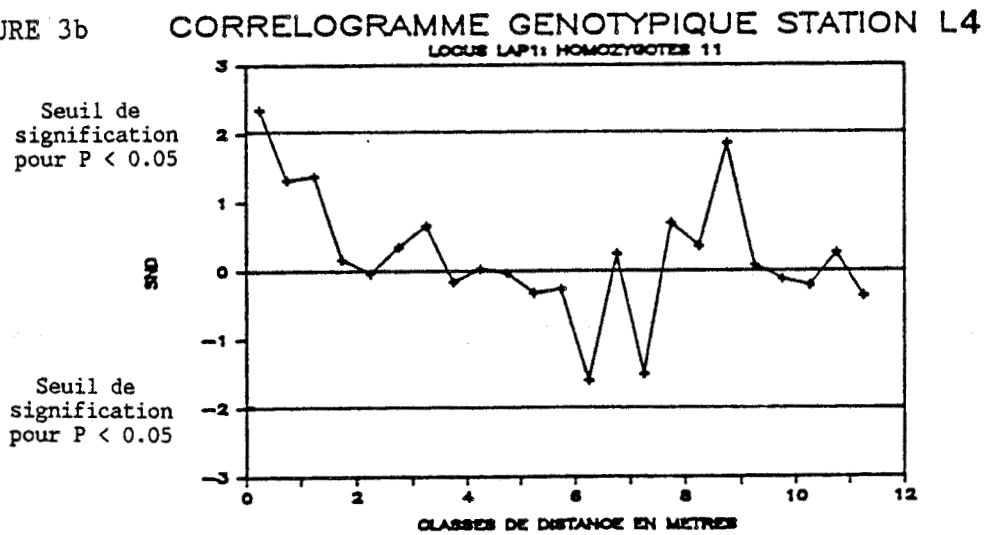


FIGURE 3b



le locus LAP1 qui montre l'autocorrélation allélique la plus forte (figure 3a). Le corrélogramme révèle une autocorrélation positive à 8-10m.

L'examen du corrélogramme génotypique entre homozygote le plus fréquent à ce locus (figure 3b) confirme, d'une part la corrélation positive à faibles distances, ainsi que l'existence d'un groupement d'individus semblables à 9m correspondant sans doute à 2 taches d'homozygotes séparées par 9m.

Le découpage de la population en 3 sous groupes (carte 2, annexe B) tient compte des coefficients d'autocorrélation (maille de 9m.), mais aussi de l'organisation spatiale des individus dans le transect. Les fréquences alléliques obtenues dans les 3 sous groupes sont données tableau 6. Une différence significative entre sous populations n'est observée qu'au locus LAP1 (test G). Le calcul des F-statistics confirme ce résultat (tableau 7). Aucun déficit en hétérozygotes n'est observé sur l'ensemble de la population (Fit voisin de 0) pour les 3 loci GOT2, EST1 et ACPH1. En revanche au locus LAP1 un important déficit en hétérozygotes est observé sur l'ensemble de la population (Fit=0.35). Le découpage effectué n'explique qu'en partie ce déficit (Fst=0.06) qui reste important à l'intérieur des sous populations (Fis=0.31). L'observation des indices de fixation moyens (tableau 7) montre que le niveau de consanguinité global observé dans cette population (Fit=0.10) est voisin de celui obtenu dans la population précédente (Fit=0.12, tableau 5); cependant, le découpage effectué ici ne montre pas aussi clairement une reproduction par voisinage dans la maille choisie (Fst=0.02). La consanguinité reste importante à l'intérieur des sous populations

TABLEAU 6: Fréquences alléliques obtenues dans les différents sous groupes de la population L4

Loci	GOT2			LAP1			EST1				ACPH1			
Allèles	1	2	N	1	2	N	1	2	5	N	1	2	3	N
Sous groupe 1	0.95	0.05	40	0.83	0.17	39	0.21	0.75	0.04	38	0.76	0.08	0.15	36
Sous groupe 2	1.00	-	19	0.67	0.33	18	0.24	0.76	-	19	0.76	0.18	0.06	17
Sous groupe 3	0.97	0.03	47	0.61	0.39	50	0.21	0.78	0.01	41	0.81	0.12	0.07	38
Test G ^a	G=2.86 P(G,2ddl)=0.239			G=10.08** P(G,2ddl)= 0.006			G=0.20 P(G,2ddl)=0.904 (allèles 1 + 5) (regroupés)				G=0.69 P(G,2ddl)=0.708 (allèles 2 + 3) (regroupés)			

N: nombre d'individus étudiés à chaque locus.

^a: corrigé selon la méthode de Williams.

** : hétérogénéité significative pour P<0.01

TABLEAU 7: F-statistics obtenus aux 4 loci étudiés et sur la moyenne des loci dans la population L4

Loci	Fis	Fst	Fit
GOT2	-0.030	0.001	-0.029
LAP1	0.309	0.060	0.350*
EST1	-0.096	-0.012	-0.109
ACPH1	0.029	-0.002	0.027
MOYENNE	0.082 (0.062)	0.015 (0.012)	0.096 (0.072)

Les chiffres entre parenthèses représentent l'erreur standard calculée par un Jackknife.

La moyenne sur les loci est pondérée par la taille de l'échantillon et par le niveau de polymorphisme du locus (Weir et Cockerham, 1984).

Fis: intra sous-population

Fst: inter sous-population

Fit: intra population totale

($F_{is}=0.08$). Il semble que la reproduction par voisinage se fasse sur des distances beaucoup plus faibles que celles décrites pour la population L2 (l'autocorrélation positive se faisait sur des distances de 2 à 4m dans la station L2 alors qu'elle se produit à des distances inférieures à 1m ici).

Chez L. sylvestris:

- station linéaire (S8):

Les autocorrélations alléliques montrent une forte structuration spatiale aux loci GOT1 et LAP1 (figures 4a et 4b). Les individus semblables sont agrégés sur des distances de 0 à 8 mètres puis surdispersés de 8 à 20 mètres. Le test de signe autour de la médiane est hautement significatif pour le locus GOT1 ($P=5.2 \cdot 10^{-9}$) et juste significatif pour le locus LAP1 ($P=0.052$). Il semble donc que les allèles semblables sont tous situés dans une même partie de la population correspondant à la moitié de la surface étudiée (cf. structure spatiale des génotypes, cartes 3a à 3d, annexe B). Cette structuration est beaucoup plus forte pour le locus GOT1 que pour le locus LAP1. L'absence de structuration aux loci EST1 et ACPH1 provient sans doute du fait que ces 2 loci sont faiblement polymorphes dans cette population (tableau 2).

Les autocorrélations génotypiques montrent une aggrégation de l'homozygote fréquent au locus EST1 (figure 4c) sur de faibles distances (0-4m) puis une deuxième aggrégation survient à des distances élevées (14-20m). Le test de signe est hautement

FIGURE 4

FIGURE 4a

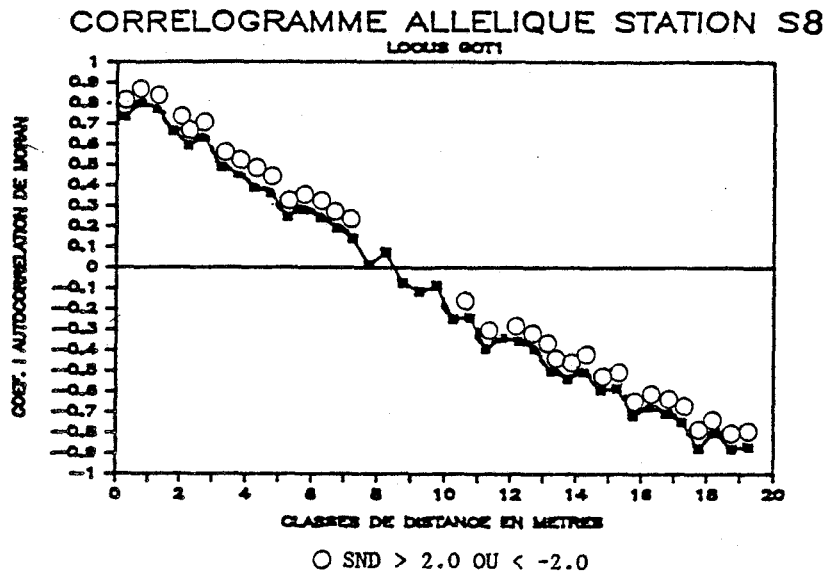


FIGURE 4b

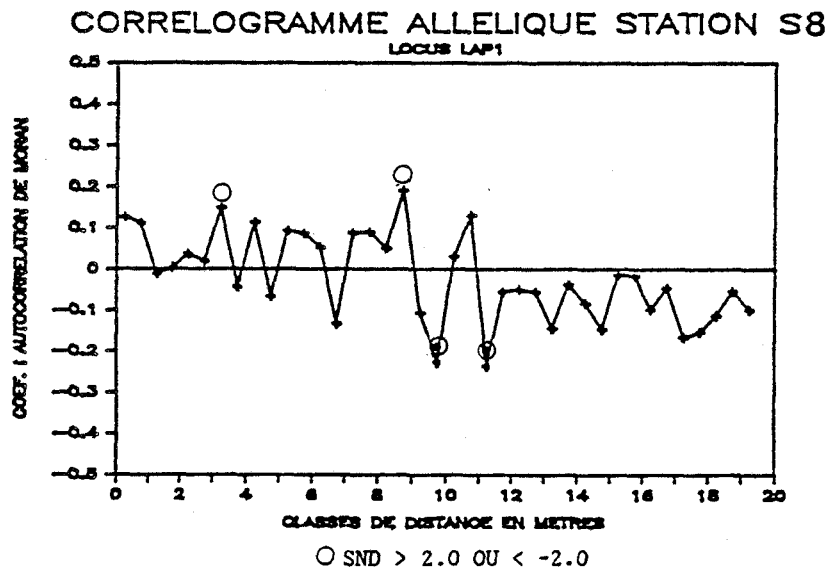
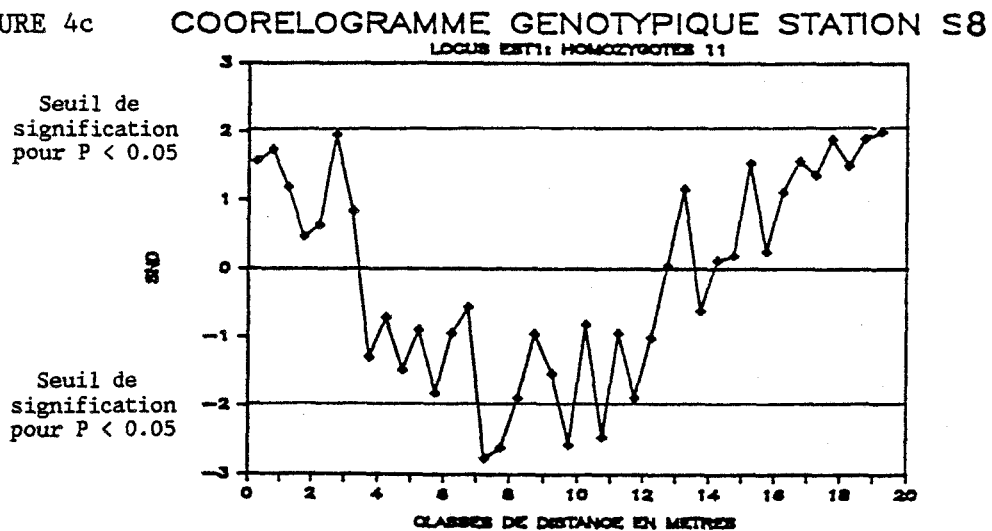


FIGURE 4c



significatif ($P=1.13 \cdot 10^{-6}$). Il existerait donc deux taches d'homozygotes fréquents dans la population séparées par une distance de 9-10m.

La population a été subdivisée en 6 sous groupes de 4 mètres sur l'axe des X (carte 3, annexe B). Ce découpage est justifié par les coefficients d'autocorrélation mais aussi, par des résultats obtenus par ailleurs (Hossaert et al., en prep.) sur la structure démographique de la population, qui montrent deux niveaux d'organisation spatiale dans le transect: le premier niveau (le plus important) différencie les deux moitiés de la station; le deuxième niveau d'organisation (moins important mais significatif) subdivise la population en taches de 4 mètres. Les fréquences alléliques observées dans chacune des sous populations sont données tableau 8. Une différence significative entre les sous groupes apparaît très nettement au locus GOT1 où la fréquence de l'allèle 1 très élevée dans le premier sous groupe diminue régulièrement au profit de l'allèle 2: 'un cline extrêmement net est mis en évidence à ce locus. Au locus LAP1, nous avons regroupé les sous populations 3 et 4 pour effectuer le test G: les deux premiers sous groupes diffèrent significativement des quatre derniers. Au locus EST1 on remarque une légère différenciation entre les sous groupes: l'allèle 5 a tendance à être plus fréquent dans le troisième et le quatrième sous groupes. Le test G montre une différence significative entre ces deux sous populations (3+4) et la reste du transect (1+2+5+6).

TABLEAU 8: Fréquences alléliques obtenues dans les différents sous groupes de la population S8

Loci	GOT1			LAP1			EST1			ACPH1			
	1	2	N	2	4	N	1	5	N	1	2	3	N
Sous groupe 1	0.95	0.05	33	0.12	0.88	25	0.98	0.02	31	0.02	0.05	0.93	28
Sous groupe 2	0.89	0.11	35	0.11	0.89	18	0.97	0.03	30	-	0.04	0.96	14
Sous groupe 3	0.83	0.17	18	0.25	0.75	6	0.83	0.17	15	-	-	1.00	8
Sous groupe 4	0.67	0.33	21	0.30	0.70	15	0.92	0.08	18	-	0.03	0.97	16
Sous groupe 5	0.39	0.61	22	0.34	0.66	16	0.97	0.03	19	-	0.04	0.96	12
Sous groupe 6	0.15	0.85	41	0.30	0.70	20	0.98	0.02	44	-	-	1.00	29
Test G ^a	G=161.34***			G=10.89*			G=8.67*			non testable			
	P(G,5ddl<0.001)			P(G,4ddl=0.028)			P(G,2ddl=0.013)						

N: nombre d'individus étudiés à chaque locus.

a: corrigé selon la méthode de Williams.

*: hétérogénéité significative pour P<0.05

***: hétérogénéité significative pour P<0.001

TABLEAU 9: F-statistics obtenus aux 4 loci étudiés et sur la moyenne des loci dans la population S8

Loci	Fis	Fst	Fit
GOT1	-0.094	0.478	0.429
LAP1	0.331	0.025	0.348
EST1	0.390	0.030	0.408
ACPH1	-0.022	-0.003	-0.026
MOYENNE	0.157 (0.087)	0.253 (0.112)	0.371*** (0.028)

Les chiffres entre parenthèses représentent l'erreur standard calculée par un Jackknife.

La moyenne sur les loci est pondérée par la taille de l'échantillon et par le niveau de polymorphisme du locus (Weir et Cockerham, 1984).

Fis: intra sous-population Fit: intra population totale

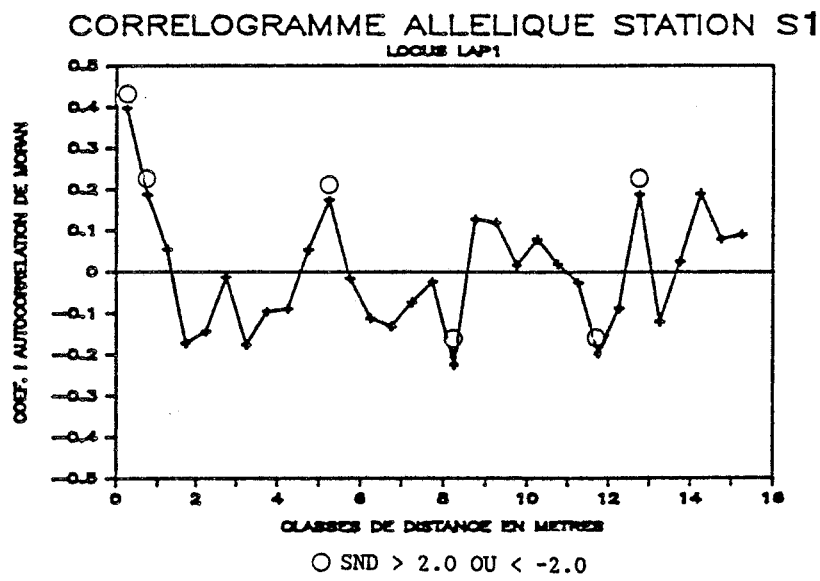
Fst: inter sous-population ***: différent de 0 pour p<0.001

Ces trois loci montrent donc une différenciation entre les deux extrêmes de la population, mettant en évidence un effet de fondation surtout visible au locus GOT1: des individus de génotypes différents sont arrivés aux deux pôles de la population puis une hybridation entre les deux tâches d'homozygotes s'est produite au centre de la population. Les indices de fixation obtenus sont donnés tableau 9. Le déficit moyen en hétérozygotes observé sur la population totale ($F_{it}=0.37$) est plus important que celui obtenu dans les populations de L. latifolius, il est cohérent sur les différents loci sauf pour les ACPH1. L'essentiel de la consanguinité est expliquée par l'effet de fondation et la reproduction par voisinages au locus GOT1 ($F_{st}=0.48$ et F_{is} voisin de 0). Mais aux loci LAP1 et EST1, le découpage effectué ne correspond pas à la taille du voisinage ($F_{is}=0.33$ et 0.39 respectivement). Dans cette population un fort effet de fondation et une importante reproduction par voisinages est mise en évidence (F_{st} moyen $=0.25$), mais une partie non négligeable de la consanguinité (F_{is} moyen $=0.16$) subsiste à l'intérieur des sous groupes; cette consanguinité peut s'expliquer soit par des autofécondations soit par des reproductions par voisinages sur des distances inférieures à 4 mètres.

- Station en surface (S1):

Dans cette station très peu polymorphe dans l'ensemble (tableau 2), une structuration spatiale est observée au locus LAP1, le plus polymorphe (cf. distribution spatiale des génotypes, cartes 4a à 4c, annexe B). A ce locus, le corrélogramme allélique (figure 5) montre une forte aggrégation

FIGURE 5



des individus semblables sur de très faibles distances (0 à 1 mètre). D'autre part, à des distances plus importantes: 5m et 12m des aggregations apparaissent alors qu'à 8m les individus sont significativement surdispersés. Le test de signe montre qu'une légère répétitivité de la structure ($P=0.068$) se produit tous les 4m. Ce résultat laisse supposer l'existence de plusieurs taches d'individus semblables dans la population. Aux autres loci aucun résultat significatif n'apparaît.

A cause des contraintes dues aux effectifs, il n'a pas été possible de découper la population en blocs de 4 m. Le découpage a été effectué à 5 m sur l'axe des X (carte 4, annexe B). Les fréquences alléliques obtenues dans les 2 sous groupes sont données tableau 10. Au locus LAP1 une hétérogénéité significative apparaît. Aux autres loci aucune différenciation allélique significative entre sous populations n'apparaît. Le calcul des indices de fixation (tableau 11) confirme ce résultat. Un déficit en hétérozygotes n'est observé qu'au locus LAP1 ($F_{it}=0.45$). Le découpage effectué ne semble cependant pas correspondre à la maille de reproduction par voisinage ($F_{st}=0.04$ et $F_{is}=0.43$). Les indices moyens révèlent l'existence d'une consanguinité non négligeable dans la population ($F_{it}=0.27$) mais la valeur du F_{st} est nulle, le déficit en hétérozygotes reste important à l'intérieur des sous populations ($F_{is}=0.25$). Comme dans la population L4, station en surface, l'autocorrélation allélique a montré que les individus semblables étaient regroupés sur des distances faibles inférieures à 1 mètre.

TABLEAU 10: Fréquences alléliques obtenues dans les différents sous groupes de la population S1

Loci	LAP1			EST1			ACPH1			
	1	4	N	1	5	N	1	2	5	N
Sous groupe 1	0.37	0.63	42	0.94	0.06	25	0.04	0.96	-	42
Sous groupe 2	0.54	0.46	61	0.89	0.11	51	0.05	0.93	0.02	61
Test G ^a	G=5.91* P(G,1ddl)=0.015			G=0.291 P(G,1ddl)=0.590			G=0.878 P(G,1ddl)=0.349 (allèles 1 et 5) (regroupés)			

N: nombre d'individus étudiés à chaque locus.

^a: corrigé selon la méthode de Williams.

*: significatif pour $P < 0.05$

TABLEAU 11: F-statistics obtenus aux 3 loci étudiés et sur la moyenne des loci dans la population S1

Loci	Fis	Fst	Fit
LAP1	0.426	0.044	0.452
EST1	-0.095	-0.000	-0.095
ACPH1	-0.041	-0.003	-0.044
MOYENNE	0.248 (0.153)	0.028 (0.014)	0.270 0.162



Les chiffres entre parenthèses représentent l'erreur standard calculée par un Jackknife.

La moyenne sur les loci est pondérée par la taille de l'échantillon et par le niveau de polymorphisme du locus (Weir et Cockerham, 1984).

Fis: intra sous-population

Fst: inter sous-population

Fit: intra population totale

3) ETUDE DES DESCENDANCES MATERNELLES

a) comparaisons inter-annuelles

L'estimation "multi loci" (tableau 12) donne un taux d'autofécondation (S) de 22% en 1985 et 40% en 1986. Ces 2 taux, bien que significativement différents ($t=1.92$, $P<0.055$), traduisent l'existence d'une autofécondation non négligeable des individus dans la population. En 1985, la moyenne des estimations simple locus (effective selfing rate: $E=20\%$) est semblable à S alors qu'en 1986 elle a tendance à être légèrement supérieure ($E=54\%$). Ces différences entre les 2 années peuvent provenir soit d'une variation annuelle du régime de la reproduction et/ou soit du fait que l'échantillonnage des mères a été différent.

Le tableau 13 donne les fréquences alléliques observées dans les 4 parties de la population lors de deux échantillonnages successifs des plantes en place en 1985 (sur une centaine d'individus) et 1986 (sur une cinquantaine d'individus). Chez cette espèce pérenne les fréquences alléliques varient peu d'une année à l'autre excepté au locus EST1 pour les sous populations 3 et 4. On retrouve bien une différenciation allélique marquée de la sous population 2.

b) Comparaisons inter sous populations

Cette différenciation de la sous population 2 des autres sous populations, nous a amené à séparer les mères selon leur sous population d'origine. Cette opération n'était possible que sur

TABLEAU 12: Estimations "simple locus" et "multi loci" des taux d'autofécondation les deux années

Locus	GOT2	LAP1	EST1	E	S
1985 (sous groupes 1, 3 et 4)	0.04 (0.09)	0.32 (0.10)	0.24 (0.13)	0.20 (0.08)	0.22 (0.06)
1986 (sous groupes 1, 2, 3 et 4)	0.35 (0.12)	0.64 (0.08)	0.63 (0.15)	0.54 (0.09)	0.40 (0.07)

E: "effective selfing rate": moyenne des 3 estimateurs simple locus
S: taux d'autofécondation "réel", obtenu par l'estimation multi loci
En 1985, l'estimation est faite sur 18 familles soit 349 descendants
En 1986, l'estimation est faite sur 14 familles soit 236 descendants
Les chiffres entre parenthèses représentent les erreurs standards

TABLEAU 13: Fréquences alléliques observées sur les plantes en place, les deux années consécutives, dans les 4 sous populations

Loci		GOT2			LAP1			EST1		
Allèles		1	2	N	1	2	N	1	2	N
Sous :										
population 1 :	1985	0.14	0.86	21	0.17	0.83	18	0.11	0.89	18
	1986	0.14	0.86	14	0.23	0.77	15	0.10	0.90	15
Sous :										
population 2 :	1985	0.52	0.48	20	0.21	0.79	17	0.21	0.79	14
	1986	0.44	0.56	9	0.28	0.72	9	0.19	0.81	8
Sous :										
population 3 :	1985	0.17	0.83	24	0.23	0.77	20	0.03	0.97	19
	1986	0.13	0.87	8	0.25	0.75	8	0.25	0.75	8
Sous :										
population 4 :	1985	0.27	0.73	24	0.04	0.96	23	0.02	0.98	26
	1986	0.17	0.83	9	-	1.00	9	0.22	0.78	9
Sous :										

N: nombre d'individus étudiés à chaque locus.



l'échantillonnage de 1986. Les résultats (tableau 14) montrent que le S obtenu dans la sous population 2 (43%) est légèrement supérieur (non significativement) au S (24%) obtenu dans les 3 autres sous populations. L'estimation du taux d'autofécondation S , lorsqu'elle est effectuée dans les mêmes sous populations 1, 3 et 4 varie très peu sur deux années consécutives ($S=22\%$ en 1985, tableau 12 et $S=24\%$ en 1986, tableau 14). Le calcul des Fis dans les différentes sous populations est donné le tableau 15. Les Fis moyens obtenus sur les 3 loci, sont proches de 0 dans les sous populations 1, 3 et 4, alors qu'il est positif dans la partie 2. Les variations du Fis , se font dans le même sens que celle du taux d'autofécondation révélant une consanguinité plus importante dans la sous population 2 provenant en grande partie d'une plus forte autofécondation des individus. Cette plus forte fréquence d'individus autogames dans la sous population 2 est concomitante avec une différenciation allélique de ce sous groupe.

c) effective selfing rate (E) et taux d'autofécondation

Dans l'échantillonnage réalisé en 1985, les mères proviennent des parties 1 3 et 4 de la population où les fréquences alléliques et les Fis (tableau 15) sont peu différents entre sous populations et les estimateurs "simple locus" (E) et "multi loci" (S) sont équivalents (tableau 12).

En 1986, en revanche, les mères provenant des sous populations 1, 3 et 4 montrent (tableau 14) une estimation simple locus ($E=59\%$) nettement supérieure ($t= 2.03$, $P<0.05$) à l'estimation "multi loci" ($S=24\%$). Dans la sous population 2, les

TABLEAU 14: Estimation "simple locus" et "multi loci" des taux d'autofécondation dans la sous population 2 comparée au reste de la population (sous populations 1, 3 et 4) en 1986

Locus	GOT2	LAP1	EST1	E	S
Sous population 2	0.36 (0.14)	0.76 (0.09)	0.54 (0.16)	0.55 (0.12)	0.43 (0.09)
Sous populations 1,3,4	0.52 (0.16)	0.46 (0.16)	0.79 (0.26)	0.59 (0.10)	0.24 (0.14)

E: "effective selfing rate": moyenne des 3 estimateurs simple locus

S: taux d'autofécondation "réel", obtenu par l'estimation multi loci

Sous population 2, l'estimation est faite sur 6 familles soit 106 descendants

Sous populations 1,3 et 4, l'estimation est faite sur 8 familles soit 130 descendants

Les chiffres entre parenthèses représentent les erreurs standards

TABLEAU 15: Calcul des Fis (méthode de Nei, 1977) dans les 4 sous populations

Loci	GOT2	LAP1	EST1	$\bar{X}$
Sous population 1	-0.167	0.200	-0.125	-0.031 (0.116)
Sous population 2	0.298	0.101	0.152	0.184 (0.059)
Sous population 3	-0.200	-0.004	-0.027	-0.077 (0.062)
Sous population 4	-0.160	-0.045	-0.020	-0.075 (0.043)

$\bar{X}$: moyenne des Fis sur les 3 loci. Les erreurs standards sont données entre parenthèses.

Les Fis ont été calculés sur les plantes en place de 1985

TABLEAU 16: Fréquences alléliques dans le pollen allofécondant estimées pour les mères de 1985 et 1986

Loci	GOT2			LAP1			EST1		
	1	2	N	1	2	N	1	2	N
Ensemble de la population: 1985	0.14 (0.03)	0.86 (0.03)	326	0.13 (0.03)	0.87 (0.03)	330	0.07 (0.02)	0.93 (0.02)	329
Ensemble de la population: 1986	0.19 (0.04)	0.81 (0.04)	185	0.21 (0.04)	0.79 (0.04)	205	0.04 (0.03)	0.96 (0.03)	156
Sous populations 1,3 et 4: 1986	0.16 (0.03)	0.84 (0.03)	118	0.20 (0.04)	0.80 (0.04)	115	0.01 (0.01)	0.99 (0.01)	98
Sous population 2: 1986	0.16 (0.09)	0.84 (0.09)	67	0.16 (0.06)	0.84 (0.06)	90	0.11 (0.06)	0.89 (0.06)	58

N: nombre de descendants étudiés à chaque locus

Les chiffres entre parenthèses représentent l'erreur standard calculée d'après la méthode de Ritland et Jain (1981).

deux estimations ne sont pas différentes (tableau 14). Il semble donc que les individus de la sous population 2 soient plus autogames. Cependant, aucune différence dans les fréquences alléliques du pollen allofécondant arrivant sur les individus n'est mise en évidence entre sous populations (tableau 16). Il semble donc que dans la partie 2, l'essentiel du pollen allofécondant provienne des parties adjacentes.

DISCUSSION

1) COMPARAISON DES DEUX ESPECES:

Le premier résultat important concerne la comparaison du F_{is} , moyen, c'est à dire du déficit en hétérozygotes moyen, observé dans les populations des deux espèces. Les résultats montrent que le F_{is} obtenu chez L. latifolius ($F_{is}=0.12$) n'est pas significativement différent de 0 alors que chez L. sylvestris, il existe un déficit en hétérozygotes significatif à l'intérieur des populations ($F_{is}=0.29$). Ces deux espèces diffèrent donc par leur régime de la reproduction. Des croisements contrôlés et des autofécondations effectués en terrain expérimental et dans les populations naturelles (Valero et al., 1986, chapitres 3-1 et 3-2) ont montré que L. latifolius était plus allogame que L. sylvestris. Il reste cependant à démontrer si le F_{is} obtenu chez L. sylvestris résulte de l'autofécondation ou d'une reproduction par voisinages. Quoiqu'il en soit, cette différence dans les F_{is}

entre les 2 espèces devrait entraîner des différences dans l'évolution de leur système de reproduction et l'allocation de leurs ressources aux fonctions mâle et femelle. Les théories sur la sélection sexuelle (Charnov 1979 et 1982) prédisent qu'une plante hermaphrodite autogame investira relativement moins dans la fonction mâle qu'une plante allogame. Un investissement plus important dans la fonction mâle chez les espèces allogames par rapport aux espèces autogames est observé par plusieurs auteurs (Cruden, 1977; Lovett Doust and Cavers, 1982; Queller, 1984 et Sutherland, 1986). Chez des espèces montrant des régimes de reproduction mixtes (Waller, 1979; Schoen, 1982), une diminution de l'allocation des ressources à la fonction mâle est concomitante à une augmentation de l'autofécondation. L'étude de l'allocation relative des ressources à la fonction mâle (évaluée par les rapports pollen/ovule et par la surproduction de fleurs/fruits) chez les plantes de ces 2 espèces a montré deux résultats contradictoires:

-D'une part, l'examen des pollen/ovule ratios (Valéro et al., 1987, annexe 2 et Valéro et Hossaert, en prep., chapitre 1) révèle des différences significatives entre les deux espèces: L. latifolius présente un P/O de 3300, plus élevé que celui obtenu chez L. sylvestris (P/O = 2000): l'investissement dans la fonction mâle serait donc plus important chez l'espèce la plus allogame.

-D'autre part, l'avortement des fruits est légèrement plus important chez L. sylvestris (95%) que chez L. latifolius (90%) (Hossaert et Valéro, 1985, annexe 1 et Valéro et Hossaert, en prep. chapitre 2-1). Si la surproduction de fleurs observée dans les populations naturelles correspond à un investissement dans la fonction mâle, ce résultat est en contradiction avec le précédent: c'est l'espèce la plus autogame qui investit le plus dans la fonction. Mais chez ces deux espèces, la consommation des fleurs (cf. annexe 5) et des graines par des herbivores est très importante (Bashar et al., 1987, annexe 3; Hossaert et Valero, In press, chapitre 2-3), et pourrait être une des causes majeures de la chute des fleurs, comme cela a été observé chez d'autres espèces (Janzen, 1977; Stephenson, 1981; Heithaus et al., 1982; Bawa & Webb, 1984).

Le deuxième résultat important concerne la différenciation entre populations (Fst). Le Fst obtenu est encore plus important chez L. sylvestris (Fst=56%, significativement différent de 0: $P=0.036$) que chez L. latifolius (Fst=39%, $P=0.084$). Cette forte différenciation allélique entre populations est à mettre en parallèle avec les observations morphologiques effectuées chez ces deux espèces. L'étude des caractéristiques morphologiques et reproductrices des deux espèces (Valéro et Hossaert, en prep., chapitres 1 et 2-2) a montré que les 3 variables, nombre d'ovules par gousse, nombre de boutons floraux par inflorescence et nombre de ramifications par tige permettaient non seulement de bien différencier les deux espèces, mais aussi les populations du Nord de celles du Sud. Cette différence entre écotypes Nord-Sud était

plus marquée, notamment en ce qui concerne le nombre de boutons floraux par inflorescence, chez L. sylvestris que chez L. latifolius. D'autre part des différences importantes même entre populations du Nord chez L. sylvestris apparaissent pour le caractère nombre de ramifications par tige. Ces résultats amènent à s'interroger sur le mode de dispersion des deux espèces. Ces deux espèces plutôt rares dans le paysage présentent une distribution des populations par taches discontinues. Des études démographiques (Hossaert et Valéro, 1986, chapitre 2-1 et Hossaert en prep.) montrent que même à l'intérieur des populations, la distribution des individus est agrégative, et que la répartition des individus dans la population reste pratiquement identique d'une année à l'autre: un nombre très faible de germinations est observé sur le terrain dont la majorité ne survivent pas après un an (l'apparition des germinations est encore plus faible chez L. sylvestris que chez L. latifolius). Un faible taux de renouvellement des individus dans une population et une faible aptitude à la colonisation de nouveaux sites entraînent un nombre réduit de fondateurs à l'origine d'une population et donc de forts effets de fondations. L'évolution des populations de ces deux espèces, et de façon plus prononcée chez L. sylvestris, suivraient donc un modèle insulaire avec isolement génétique et forte différenciation des populations. La métapopulation a été définie par Gill (1978) comme un ensemble de populations se fondant les unes à partir des autres, et évoluant indépendamment après la période de colonisation. Couvet et al (1985) ont montré que ce concept de métapopulation permettait d'expliquer le maintien d'un

polymorphisme pour deux stratégies antagonistes dans la mesure où les pressions de sélection agissant sur celles-ci varient dans le temps (âge de la population) ou dans l'espace (hétérogénéité du paysage). Les deux espèces étudiées semblent bien s'intégrer dans ce modèle puisque, d'une part dans les habitats qu'elles occupent (milieux perturbés), les populations subissent constamment des phénomènes d'extinction et de recolonisation, d'autre part nous venons de mettre en évidence qu'elles évoluent indépendamment après la période de colonisation.

2) ETUDE INTRA-POPULATION:

a) Influence de la répartition spatiale des individus dans la population sur l'importance des flux géniques:

Les résultats montrent que chez L. latifolius comme chez L. sylvestris, les populations linéaires sont beaucoup plus structurées que les populations en surface. Dans les populations en lignes (L2 et S8) des taches d'homozygotes sont mises en évidence: le découpage des transects en plusieurs sous-groupes montre des hétérogénéités significatives pour la majorité des loci entre les sous groupes. Globalement les Fit moyens (intra population) obtenus dans ces stations (tableau 17) sont plus élevés que ceux obtenus dans les 2 autres populations (L4 et S1). Ce déficit en hétérozygotes se décompose en une composante de différenciation inter-subdivisions (F_{st}) plus importante que la composante intra-subdivision (F_{is}) dans les stations linéaires, alors que dans les stations en surface (L4 et S1) c'est le

TABLEAU 17: F-statistics moyens obtenus dans les 4 sites étudiés pour leur structure spatiale

	POPULATIONS	Fis	Fst	Fit
en ligne	L2	0.043	0.082	0.121***
		± 0.023	± 0.021	± 0.002
	S8	0.157	0.253	0.371***
		± 0.087	± 0.112	± 0.028
en surface	L4	0.082	0.017	0.097
		± 0.062	± 0.012	± 0.072
	S1	0.248	0.028	0.270
		± 0.153	± 0.014	± 0.162

*** : différent de 0 pour $P < 0.001$

déficit en hétérozygotes à l'intérieur des subdivisions (Fis) qui est plus important que la différenciation inter subdivisions (Fst). Les différences dans la répartition spatiale des individus sur le terrain sont donc corrélées avec des différences sur la structure génotypique des populations. Les plantes des deux espèces sont entomophiles, cette différence dans la structure spatiale des individus doit sans doute se répercuter sur les distances de dispersion des gènes par les pollinisateurs. Wright (1931, 1943) a montré que lorsque les populations sont disposées en ligne, la différenciation génétique se produisait beaucoup plus rapidement que dans le cas de populations continues organisées en surface. A cet effet, dû à la répartition des individus, se surajoute sans doute un fort effet de fondation dans les populations linéaires.

Un résultat paradoxal est cependant observé: dans les populations distribuées en ligne les individus semblables sont agrégés sur de plus fortes distances (2m à 4m) que dans le cas des populations en surface (< 1m). Il semble donc que dans les stations en ligne, à l'effet dû à la répartition spatiale des individus, se rajoute un effet sur le comportement des pollinisateurs. la distance de migration des gènes, via le pollen, serait plus importante.

b) Influence de l'architecture des plantes sur le régime de la reproduction:

Les résultats obtenus sur la structure génotypique intra population (tableau 17) laissent supposer qu'une reproduction par voisinages intervient dans les populations des deux espèces pour expliquer le déficit en hétérozygotes. Cependant chez L. sylvestris, les Fis importants observés ainsi que les résultats obtenus par ailleurs sur le régime de la reproduction (cf. chapitre 3) laissent supposer l'existence d'autofécondation par autogamie ou geitonogamie dans les populations. Cette espèce est plus ramifiée et montre une aptitude à la multiplication végétative plus importante que L. latifolius. Cette différence dans l'architecture des plantes pourrait occasionner une plus forte geitonogamie chez des individus plus ramifiés où la même plante occupe un espace plus étendu (Valéro et Hossaert, en prep., chapitre 2-2; Handel, 1985).

3) ETUDE DES DESCENDANCES MATERNELLES:

Dans la population linéaire de L. latifolius, deux groupes de plantes divergeant par leur taux d'autofécondation (S) ont été mis en évidence: dans les sous populations 1, 3 et 4 les taux d'autofécondation obtenus sont très semblables les deux années et leur estimation varient entre 22 et 24%. Dans la sous population 2 le taux d'autofécondation est de 40%.

Quelle est l'origine du groupe d'individus plus autogames?

Deux hypothèses peuvent être avancées pour rendre compte du polymorphisme du régime de la reproduction observé: soit ils proviennent d'une différenciation du régime de la reproduction à partir d'une population homogène, soit nous sommes en présence d'une population jeune récemment fondée par au moins 2 groupes d'individus originaires de populations différentes, l'un plutôt autogame (sous population 2), l'autre plutôt allogame (sous populations 1, 3 et 4).

Si on assiste à une différenciation d'individus plus autogames dans une population homogène, la consanguinité devrait être plus importante dans le groupe des autogames et les fréquences dans le pollen allofécondant devraient être localement différentes. Les résultats montrent que les fréquences alléliques dans le pollen (tableau 16) ne correspondent pas à celles du sous groupe 2 mais plutôt à celles des groupes voisins. Il semble donc que ces individus plus autogames proviennent d'un effet de fondation plutôt que d'une différenciation du régime de la reproduction dans la population. Cette hypothèse est renforcée par le fait que ces individus plus autogames présentent des structures alléliques significativement différentes du reste de la population.

Quelle peut être l'évolution de l'autogamie dans cette population?

Dans les sous populations 1, 3 et 4, le polymorphisme allélique est relativement faible. Il est difficile de mettre en évidence des différences dans les fréquences alléliques du pollen allofécondant. En 1985, l'estimation "simple locus" ($E=20\%$) est très semblable à l'estimation "multi loci" ($S=22\%$) ce qui laisserait supposer une faible reproduction par voisinage dans la population. En 1986, en revanche, une certaine reproduction par voisinage est mise en évidence ($E=59\%$ et $S=24\%$, $t=2.03$, $P<0.05$). Ces deux résultats sont donc paradoxaux, l'un tendant à montrer que c'est l'autofécondation qui prédomine et l'autre que c'est la reproduction par voisinage. Chez une espèce entomophile comme L. latifolius, il est difficile de penser que le comportement des pollinisateurs (abeilles et bourdons essentiellement) n'entraîne pas une certaine reproduction par voisinage (Butler et al., 1943; Levin et Kerster, 1968, 1974; Levin 1979, 1981; Schmitt, 1980; Handel, 1982, 1983). L'observation des Fis dans ces 3 sous groupes montrent des valeurs négatives proches de 0, ce qui tendrait à montrer que l'autofécondation est faible dans ces trois sous populations. Ceci est cohérent avec les observations faites sur les deux années, où l'autofécondation apparaît plus faible dans les parties 1, 3 et 4 que dans la partie 2.

Dans la sous population 2, nous avons souligné l'existence d'un fort taux d'autofécondation S (40%) conjointement à une valeur de Fis positive. Chez ces individus une autofécondation non négligeable est clairement mise en évidence. La coexistence

d'individus autogames et allogames dans cette population a été montrée par l'étude de croisements contrôlés et d'autofécondations sur des individus issus de graines récoltées dans cette population (Valero et al., 1986, chapitre 3-1).

D'autre part, les résultats montrent sans ambiguïté que ces individus reçoivent du pollen allofécondant venant essentiellement des autres parties de la population. Il semble donc que les individus les plus autogames soient de moins bon donneurs de pollen que leurs voisins plus allogames. Ce résultat n'est pas aberrant si on considère que ces plantes proviennent d'une population où le taux d'autofécondation était plus élevé et donc où l'ajustement dans les fonctions mâle et femelle devait être différent avec un réajustement des ressources vers la fonction femelle (Waller, 1979; Schoen, 1982; Sutherland et Delph, 1984; Wiens 1984; Sutherland 1986). Les plantes de part leur architecture, et leur système de pollinisation sont capables de montrer différents taux d'allofécondation. La fondation et l'histoire de la population déterminent le régime de la reproduction des individus dans cette population. Le polymorphisme pour le régime de la reproduction pourrait donc s'expliquer dans le cadre d'un modèle métapopulationnel.

REFERENCES

- BASHAR A., FABRES G., HOSSAERT M., VALERO M. & V. LABEYRIE. 1987: Bruchus affinis and the flowers of Lathyrus: an exemple of the complexity of relations between plants and phytophagous insects. In Insects-Plants: Proceedings of the 6th. International Symposium on Insect-Plant Relationships (Pau 1986), V. Labeyrie, G. Fabres and D. Lachaise (editors), W. Junk Publishers: 189-194.
- BAWA K.S. & C.J. WEBB. 1984: Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. Amer. J. Bot., 71: 736-751.
- BROWN A.H.D. & R.W. ALLARD. 1970: Estimation of the mating system in open-pollinated maize using isozyme polymorphisms. Genetics, 66: 133-145.
- BUTLER C.G., JEFFREE E.P. & H. KALMUS. 1943: The behaviour of a population of honeybees on an artificial and on a natural crop. J. Exp. Biol., 20: 63-73.
- CAHALAN, C.M. & C. GLIDDON. 1985: Neighbourhood sizes in Primula vulgaris. Heredity 54: 65-70.
- CLEGG M., A.L. KAHLER & R.W. ALLARD. 1978: Estimation of life cycle components of selection in an experimental plant population. Genetics, 89: 765-792.
- CLIFF A.D. & J.K. ORD. 1981: Spatial processes: Models and applications. Pion (editor), London.
- CHARNOV E.L. 1979: Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 76: 2480-2484.
- CHARNOV E.L. 1982: The theory of sex allocation. Princeton Univ. Press, Princeton.
- COUVET D., GOUYON P.H., KJELLBERG F., OLIVIERI I., POMENTE D. & G. VALDEYRON. 1985: De la métapopulation au voisinage: la génétique des populations en déséquilibre. Gen. Selec. Evol., 17: 407-414.
- CRUDEN R. W. 1977: Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. Evolution, 31: 32-46.
- CRAWFORD T.J. 1984. The estimation of neighbourhood parameters for plant populations. Heredity, 52 (2): 273-283.
- DARWIN C.. 1877: The different forms of flowers on plants of the same species. J. Murray, London, U.K.

- FISHER R. A.. 1941: Average excess and average effect of a gene substitution. *Ann. Eugen.*, 11: 53-63.
- GASQUEZ J. & J.P. COMPOINT. 1976: Apport de l'électrophorèse en courant pulsé à la taxonomie d'Echinochloa crusgalli L.. *Ann. Amélior. Plant.*, 26 (2): 345-355.
- GILL D. E.. 1978: The metapopulation ecology of the red-spotted newt, Notophtalmus viridiens (Rafinesque). *Ecological monographs*, 48: 145-166.
- GURIES P. & F.T. LEDIG. 1982: Genetic diversity and population structure in pitch pine (Pinus rigida Mill.). *Evolution*, 36: 387-402.
- HALDANE J.B.S.. 1924: The mathematical theory of natural and artificial selection. Part II: The influence of partial self-fertilisation, inbreeding, assortative mating and selective fertilisation on the composition of Mendelian populations and on natural selection. *Proc. Camb. Phil. Soc. Biol. Sci.*: 158-163.
- HANDEL S. N.. 1982: Dynamics of gene flow in an experimental population of Cucumis melo (Cucurbitaceae). *Amer. J. Bot.*, 69: 1538-1546.
- HANDEL S. N.. 1983: Pollination ecology, plant population structure, and gene flow. *In* Pollination Biology, L. Real (editor), Academic Press N.Y.: 163-211.
- HANDEL S. N.. 1985: The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding systems. *Am. Nat.*, 125: 367-384.
- HEITHAUS E. R., STASHKO E. & P. ANDERSON. 1982: Cumulative effects of plant animal interactions on seed production by Bauhinia unguolata, a neotropical legume. *Ecology*, 63: 1294-1342.
- HIEBERT R. D. & J. L. HAMRICK. 1983. Patterns and levels of genetic variation in Great Basin Bristlecone pine, Pinus longaeva. *Evolution* 37: 302-310.
- HOLSINGER K. E.. 1986: Dispersal and plant mating systems: the evolution of self-fertilisation in subdivided populations. *Evolution*, 40: 405-413.
- HOSSAERT M. & M. VALERO. 1985: Differences in population biology within the Lathyrus sylvestris group (Leguminosae: Papilionaceae). *In* structure and functioning of plant population, vol. 2. J. Haack and J. W. Woldendorp (editors). PUDOC, Wageningen: 65-75.
- HOSSAERT M. & M. VALERO. 1986: Vegetative propagation and sexual reproduction in two perennial Lathyrus species. *In* Lathyrus and Lathyrim, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985. A. K. Kaul and D. Combes (editors): 175-183.

- HOSSAERT M. & M. VALERO. In press.: Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in two species of Lathyrus (Leguminosae: Papilionacea). Accepté dans Amer. J. Bot.
- JANZEN D.H. 1977: Developmental demography of Bauhinia pauletia Pers. (Leguminosae) seeds and ovules. Brenesia, 12/13: 105-111.
- LANDE R. & D.W. SCHEMSKE. 1985: The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. Evolution, 39: 24-40.
- LEVIN D.A.. 1977. The organisation of genetic diversity in Phlox drummondii. Evolution, 31: 477-494.
- LEVIN D.A.. 1979: Pollinator foraging behavior: genetic implications for plants. In Topics in Plant Population Biology, O.T. Solbrig, S. Jain, G.B. Johnson, and P.H. Raven (editors), Columbia Univ. Press N.Y.: 131-153.
- LEVIN D.A.. 1981: Dispersal versus gene flow in plants. Ann. Mo. Bot. Gard., 68: 233-253.
- LEVIN D.A. & H.W. KESTER. 1968: Local gene dispersal in Phlox. Evolution, 22: 130-139.
- LEVIN D.A. & H.W. KESTER. 1974: Gene flow in seed plants. Evol. Biol., 7: 138-220.
- LLOYD D.G. 1979: Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. Amer. Nat., 113: 67-79.
- LORD E.M.. 1979: The development of cleistogamous and chasmogamous flowers in Lamium amplexicaule (Labiatae): An example of heteroblastic inflorescence development. Bot. Gaz., 140: 39-50.
- LOVETT DOUST J. & P.B. CAVERS. 1982: Biomass allocation in hermaphrodite flowers. Can. J. Bot., 60: 2530-2534.
- MAYNARD SMITH J.. 1978: The Evolution of Sex. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K..
- MILLER R.G.. 1974: Jackknife - a review. Biometrika. 61: 1-15.
- NEI M.. 1977: F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. Ann. Hum. Genet., 41: 225-233.
- QUELLER D.C. 1984: Pollen-ovule ratios and hermaphrodite sexual allocation strategies. Evolution, 38: 1148-1151.

- RITLAND K. & S.K. JAIN. 1981: A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. *Heredity*, 47: 35-52.
- RITLAND K. & Y.A. EL-KASSABY. 1985: The nature of inbreeding in a seed orchard of Douglas fir as shown by an efficient multilocus model. *Theor. Appl. Genet.*, 71: 375-384.
- SAKAI A.K. & N.L. ODEN 1983: Spatial pattern of sex expression in Silver maple (Acer saccharinum L.). Morisita's Index and spatial autocorrelation. *Am. Nat.*, 122: 489-508.
- SCHAAL B. A.. 1975: Population structure and local differentiation in Liatris cylindracea. *Am. Nat.*, 109: 511-528.
- SCHEMSKE D.W.. 1978: Evolution of reproductive characteristics in Impatiens (Balsaminaceae): The significance of cleistogamy and chasmogamy. *Ecology*, 59: 596-613.
- SCHMITT J.. 1980: Pollinator foraging behavior and gene dispersal in Senecio (Compositae). *Evolution* 34: 934-943.
- SCHOEN D.J. 1982: Male reproductive effort and breeding system in an hermaphroditic plant. *Oecologia (Berlin)*, 53: 255-257.
- SHAW D.V. & R.W. ALLARD. 1981. A multilocus estimator of mating system parameters in plant populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 78: 1298-1302.
- SOKAL R.R. & N.L. ODEN. 1978: Spatial autocorrelation in Biology. I. Methodology. *Bio. J. Linn. Soc.*, 10: 199-228.
- SOKAL R.R. & F.J. ROLF. 1981: *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. Second edition, W.H. Freeman and Company, New York, U.S.A.;
- SOLBRIG O.T.. 1979: A cost-benefit analysis of recombination in plants. *In* Topics in Plant Population Biology. O.T. Solbrig, S. Jain, G.B. Johnson, and P.H. Raven (editors), Columbia Univ. Press N.Y.: 114-130.
- STEPHENSON A.G. 1981: Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- SUTHERLAND S.. 1986: Patterns of fruit-set: What controls fruit-flower ratios in plants? *Evolution*, 40: 117-128.
- SUTHERLAND S. & L.F. DELPH. 1984: On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit-set. *Ecology*, 65 (4): 1093-1104.
- UYENOYAMA M.K.. 1986: Inbreeding and the cost of meiosis: The evolution of selfing in populations practicing biparental inbreeding. *Evolution*, 40: 388-404.

- VALERO M., YOUSSEF A., VERNET P. & M. HOSSAERT. 1986: Is there a polymorphism in the breeding system of Lathyrus latifolius? In Lathyrus and Lathyrism, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985, A.K. Kaul and D. Combes (editors): 105-116.
- VALERO M., HOSSAERT M., CARON B., YOUSSEF A. & P. VERNET. 1987: Allocation des ressources chez deux espèces de Légumineuses: Lathyrus latifolius et Lathyrus sylvestris. In Colloque National du C.N.R.S. "Biologie des Populations", J.M. Legay (éditeur) Univ. C. Bernard, Lyon, France: 141-148.
- WALLER D.M. 1979: The relative costs of self- and cross-fertilized seeds in Impatiens capensis (Balsaminaceae). Amer. J. Bot., 66 (3): 313-320.
- WALLER D.M.. 1984: Differences in fitness between seedlings derived from cleistogamous and chasmogamous flowers in Impatiens Capensis. Evolution, 38: 427-440.
- WEIR B.S. & C.C. COCKERHAM. 1984: Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38: 1358-1370.
- WIENS D. 1984: Ovule survivorship, brood size, life history, breeding systems, and reproductive success in plants. Oecologia (Berlin), 64: 47-53.
- WILLIAMS G.C.. 1975: Sex and Evolution. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ.
- WILLIAMS G.C.. 1980: Kin selection and the paradox of sexuality. In Sociobiology: Beyond Nature/Nurture? Reports, Definitions and Debate, G.W. Barlow and J. Silverberg (editors), Westview, Boulder, CO.
- WRIGHT S.. 1931: Evolution in Mendelian Population. Genetics, 16: 97-159.
- WRIGHT S.. 1943: Isolation by distance, Genetics, 28: 114-138.
- WRIGHT S.. 1946: Isolation by distance under diverse systems of mating. Genetics, 31: 39-59.
- WRIGHT S.. 1965: the interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating. Evolution, 19: 395-420.

ANNEXE B

CARTOGRAPHIE DES DIFFERENTES POPULATIONS ETUDIEES



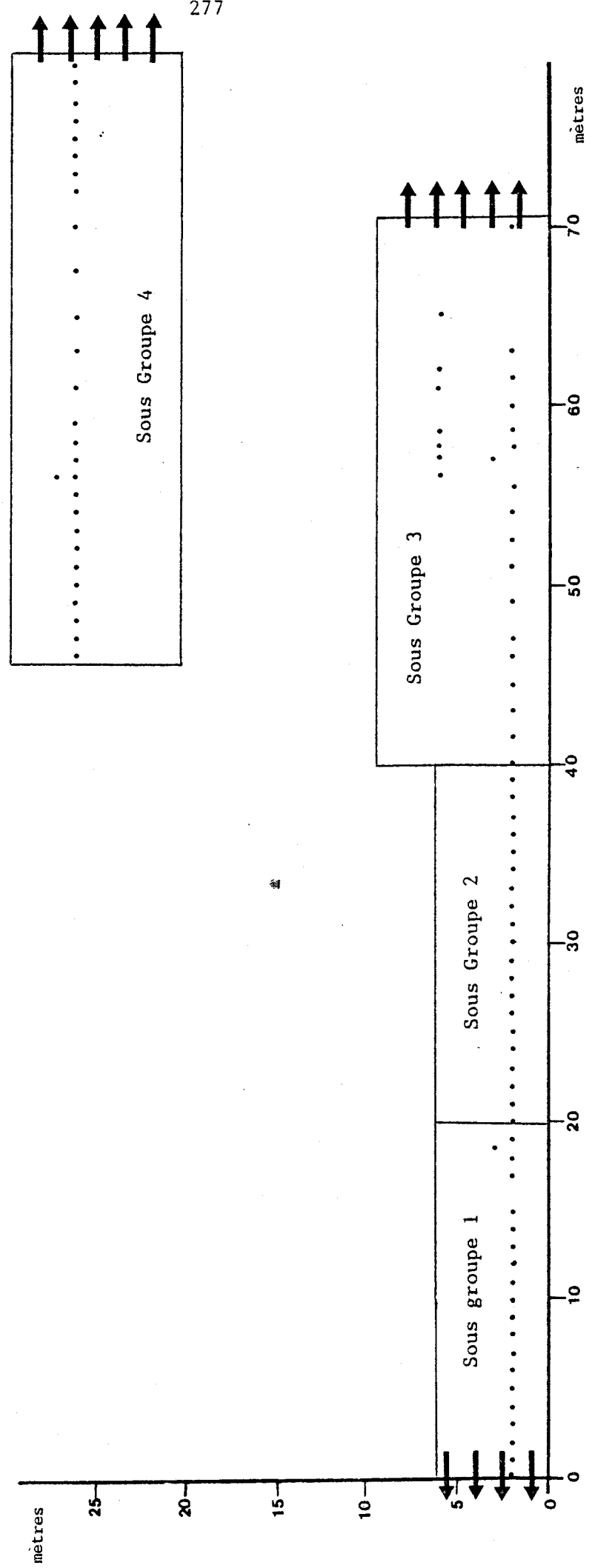
LEGENDE DES SYMBOLES UTILISES POUR LA REPRESENTATION DES GENOTYPES
SUR LES CARTES.

LOCUS	ALLELES	GENOTYPES			
LAP1	1 	11 	12 	14 	
	2 	22 	24 		
	4 	44 			
EST1	1 	11 	12 	15 	
	2 	22 	25 		
	5 	55 			
GOT1	1 	11 	12 		
	2 	22 			
GOT2	1 	11 	12 		
	2 	22 			
ACPH1	1 	11 	12 	13 	
	2 	22 	23 	25 	
	3 	33 	35 		
	5 	55 	15 		

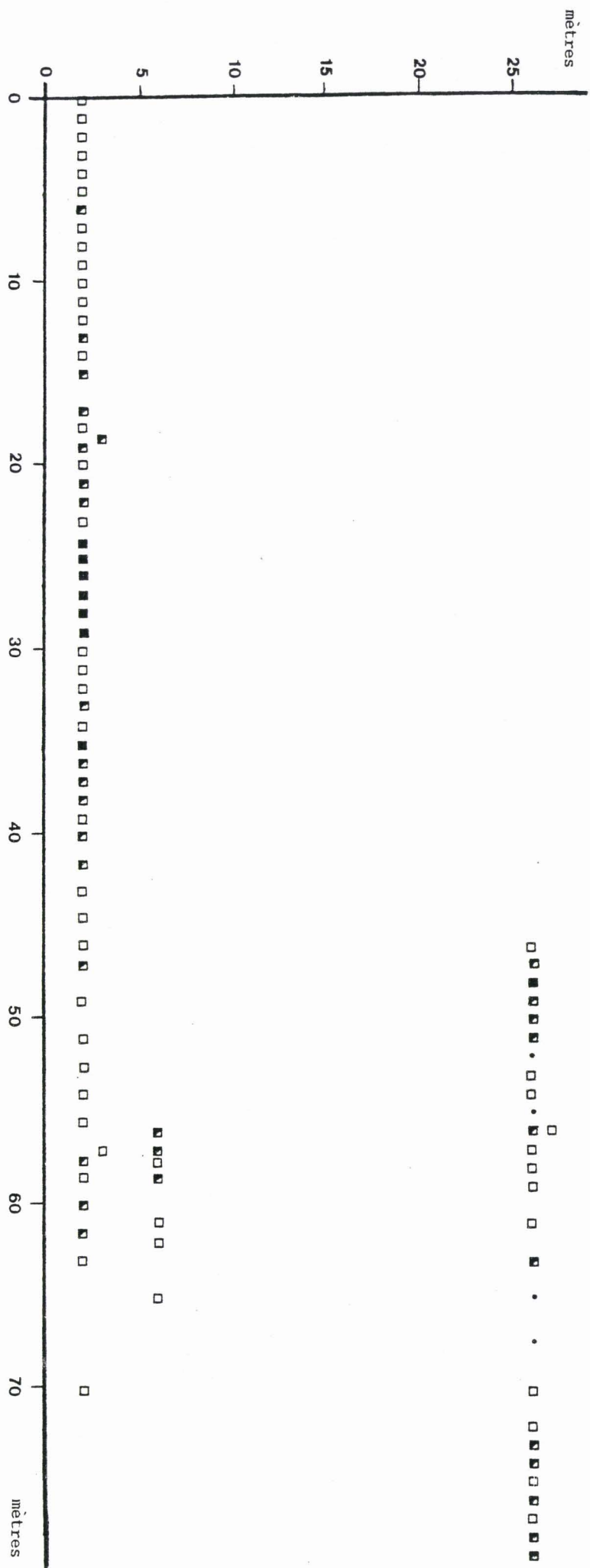
• GENOTYPE NON DETERMINE

CARTE 1: Cartographie des individus de la population L2 et délimitation des sous-groupes étudiés.

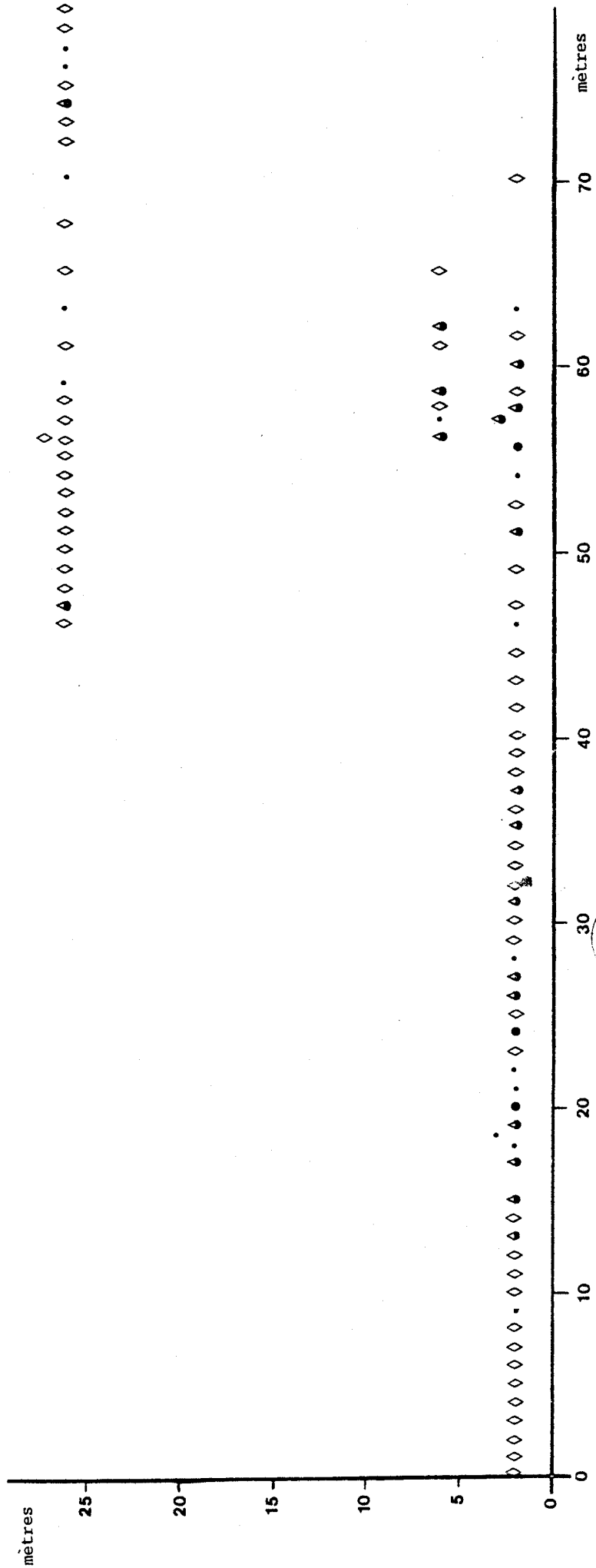
→ Zone de contact avec les individus non échantillonnés dans le site



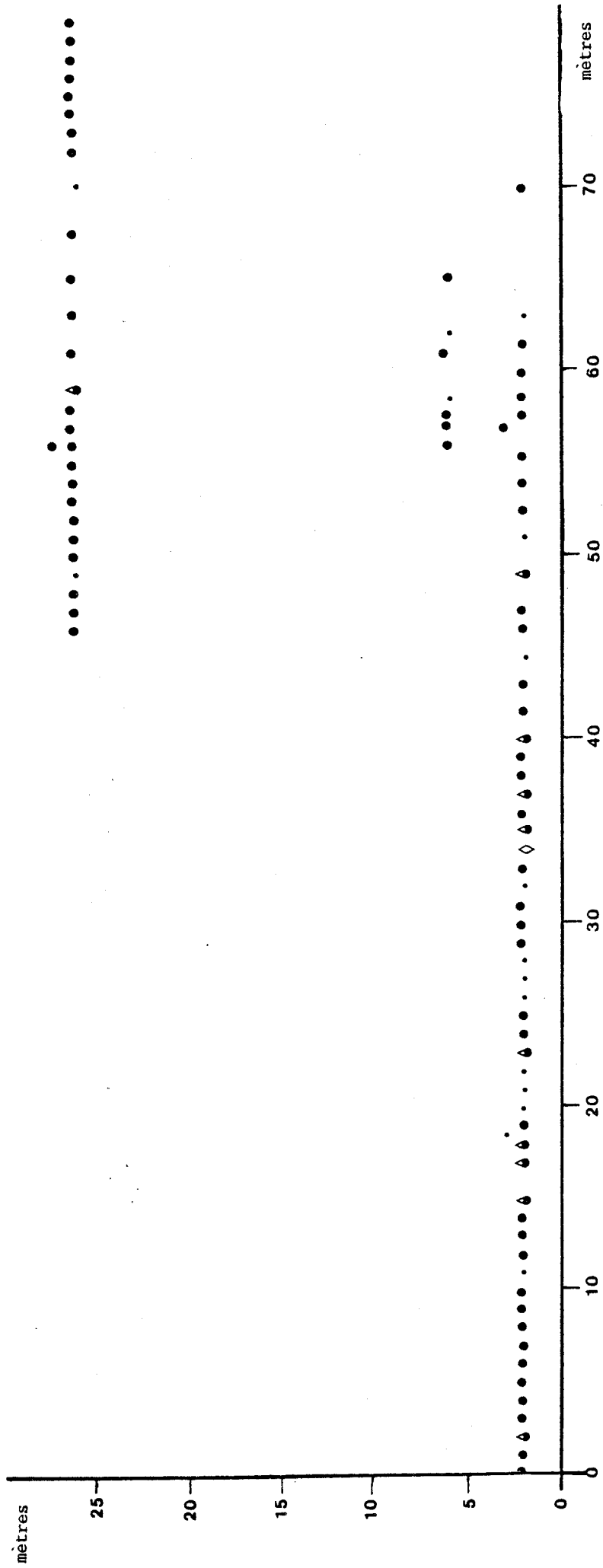
CARTE 1a : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
L2 au locus GOT2 .



CARTE 1b : Localisation des géotypes des individus étudiés dans la population
L2 au locus LAPI .

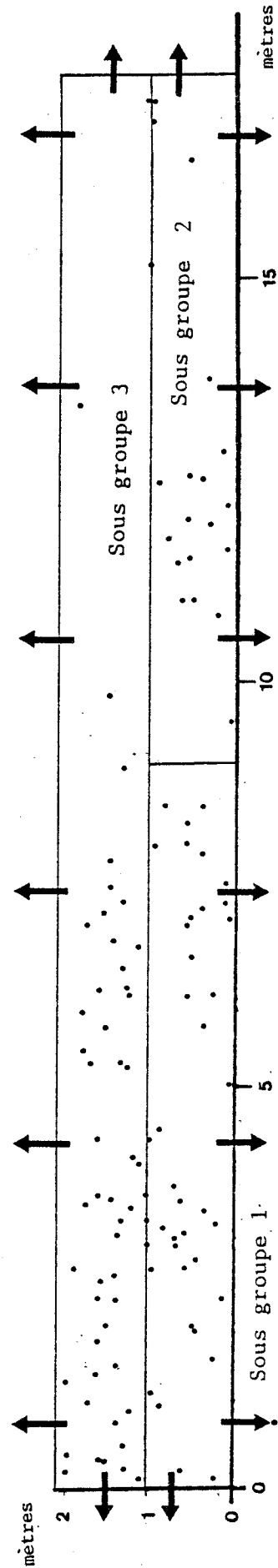


CARTE 1c : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
L2 au locus EST1 .

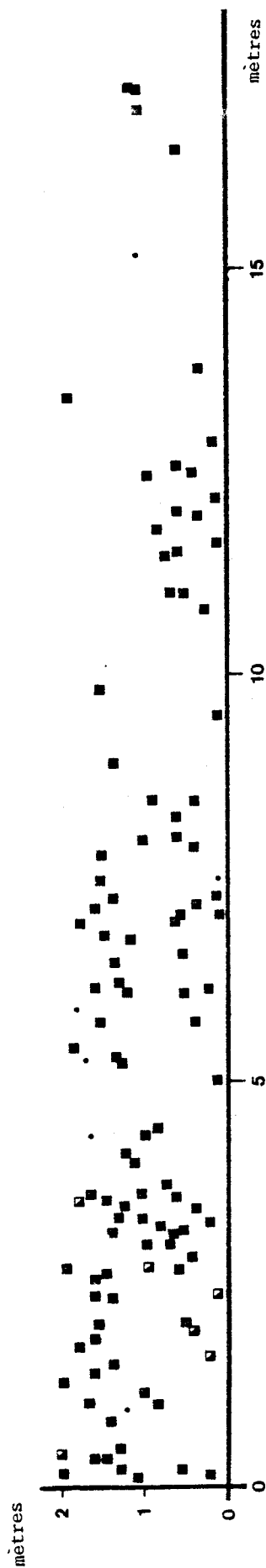


CARTE 2: Cartographie des individus de la population L4 et délimitation des sous-groupes étudiés .

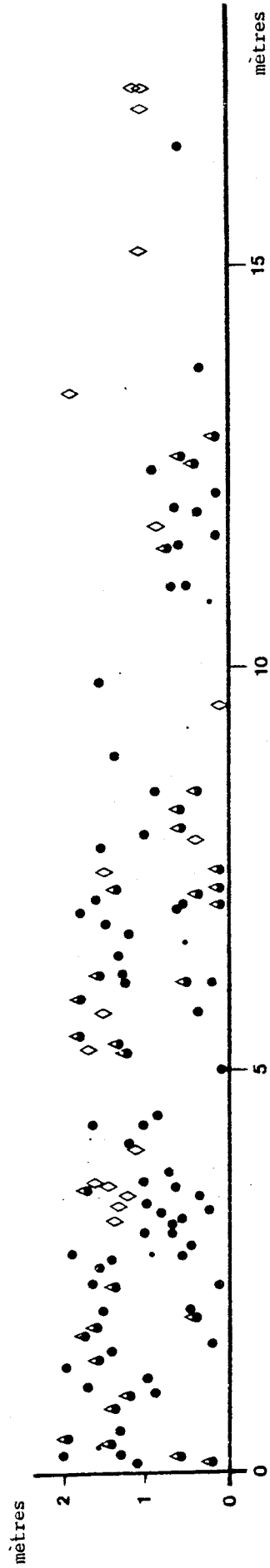
→ Zone de contact avec les individus non échantillonnés dans le site



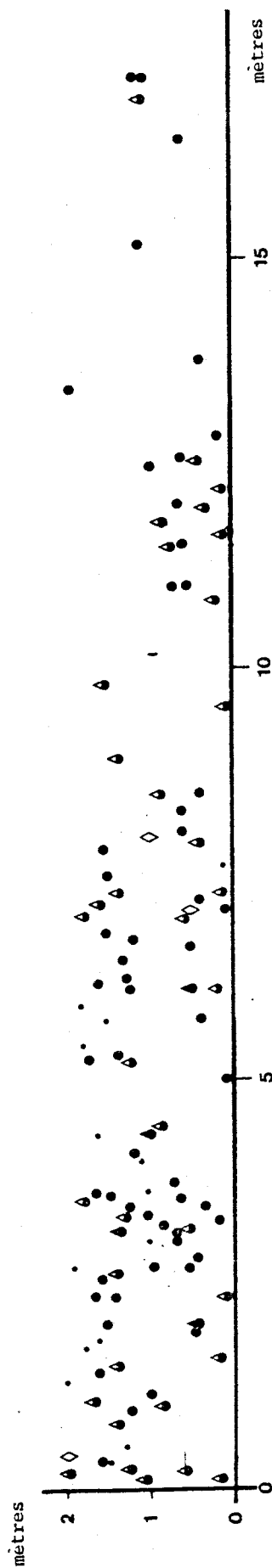
CARTE 2a : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
L4 au locus GOT2 .



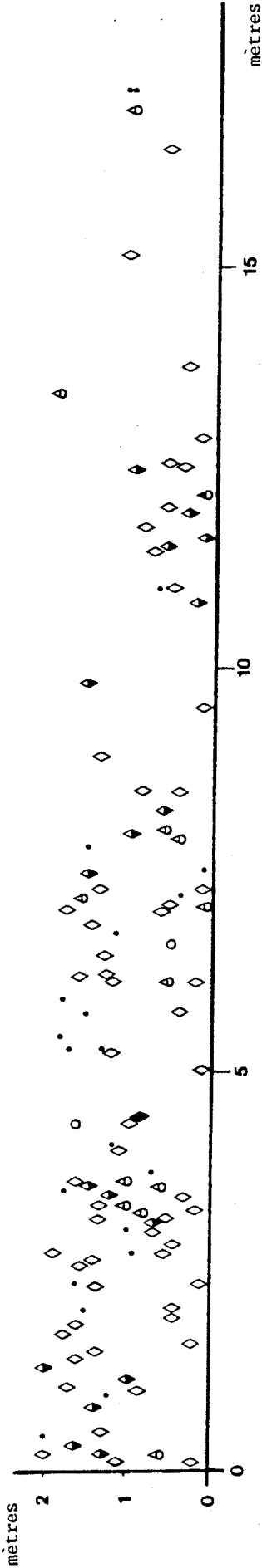
CARTE 2b : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
L4 au locus LAP1 .



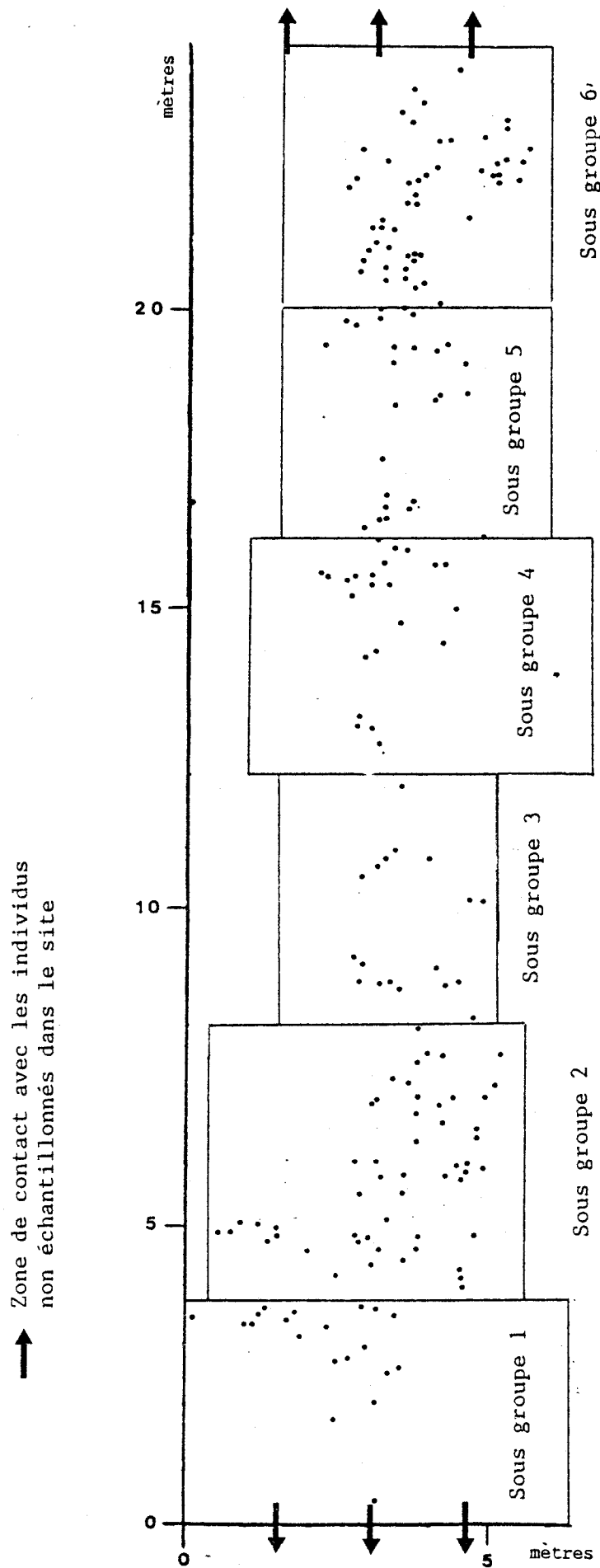
CARTE 2c : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
L4 au locus EST1



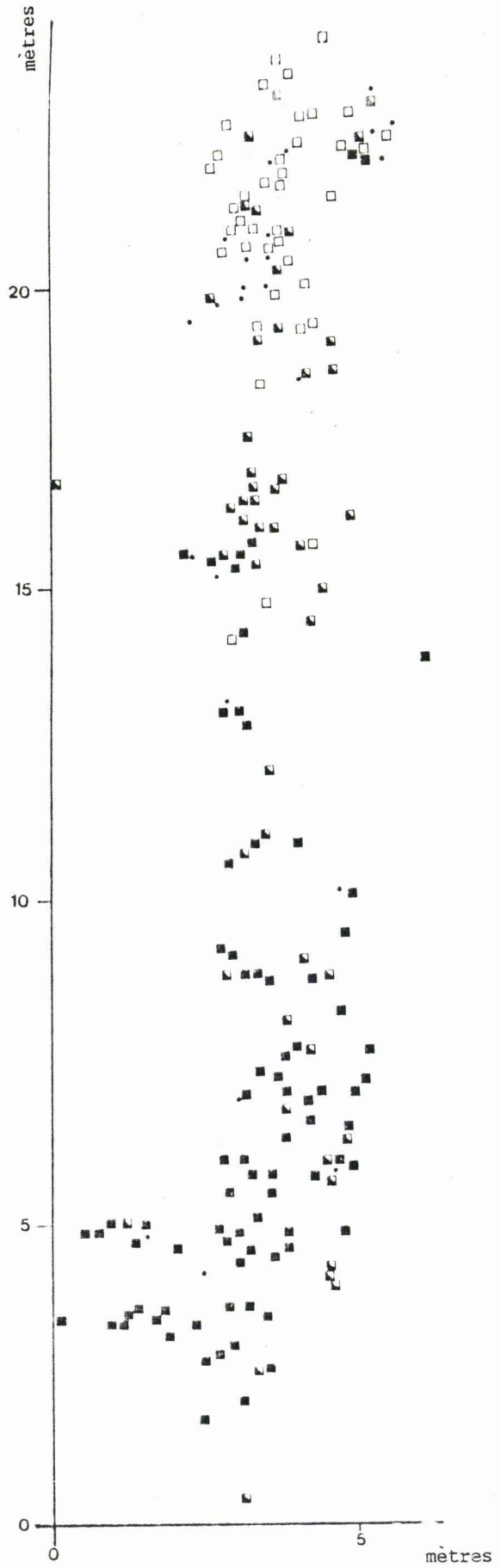
CARTE 2d : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
L4 au locus ACPH1



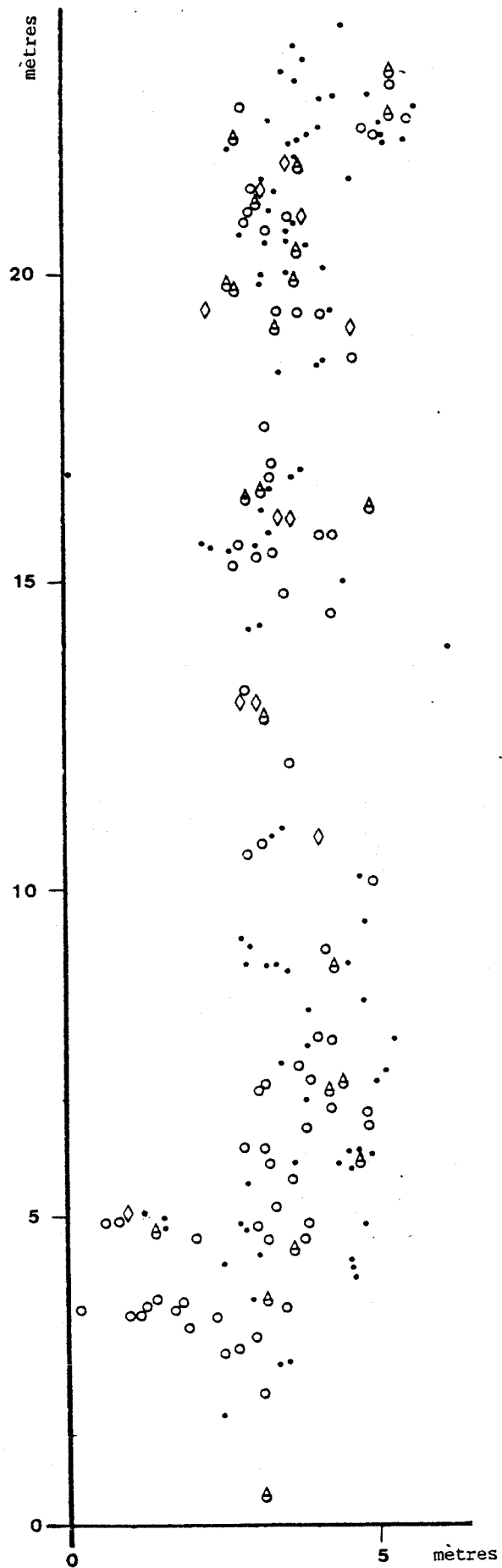
CARTE 3: Cartographie des individus de la population S8 et délimitation des sous-groupes étudiés .



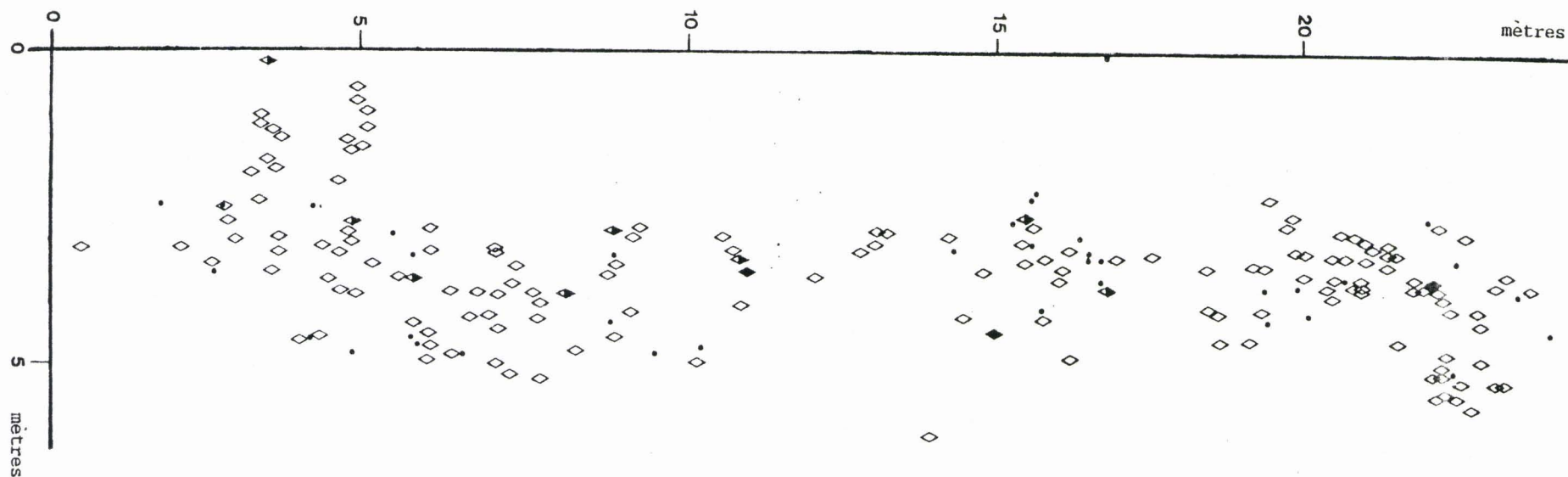
CARTE 3a : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
S8 au locus GOT1 .



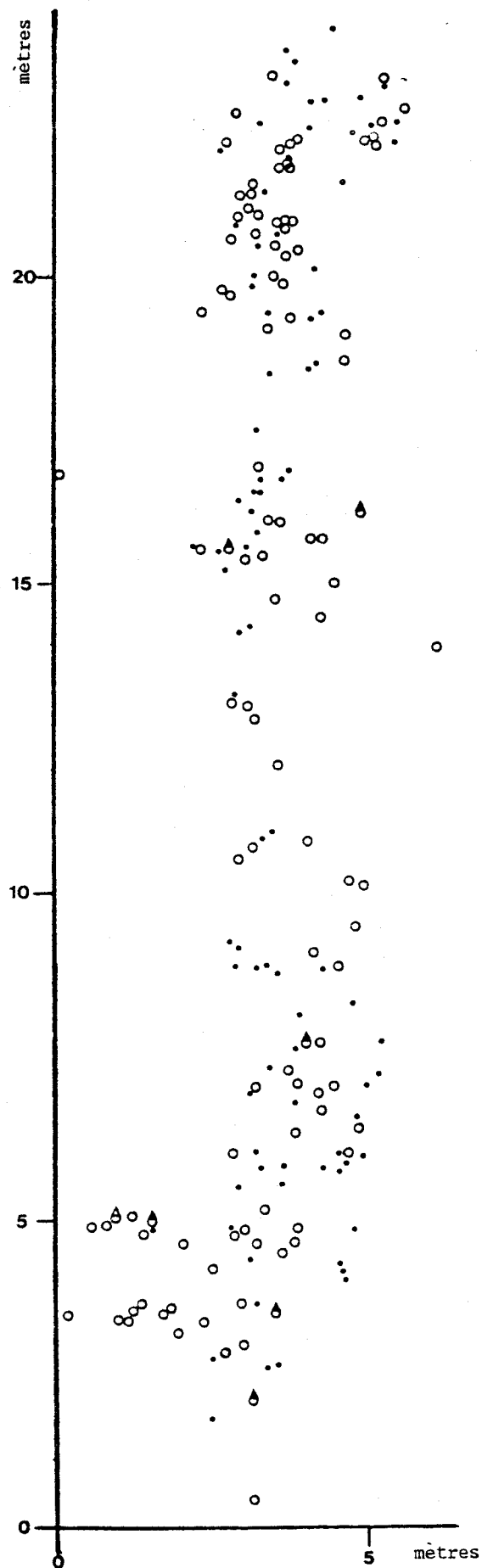
CARTE 3b : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
S8 au locus LAP1 .



CARTE 3c : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
S8 au locus EST1

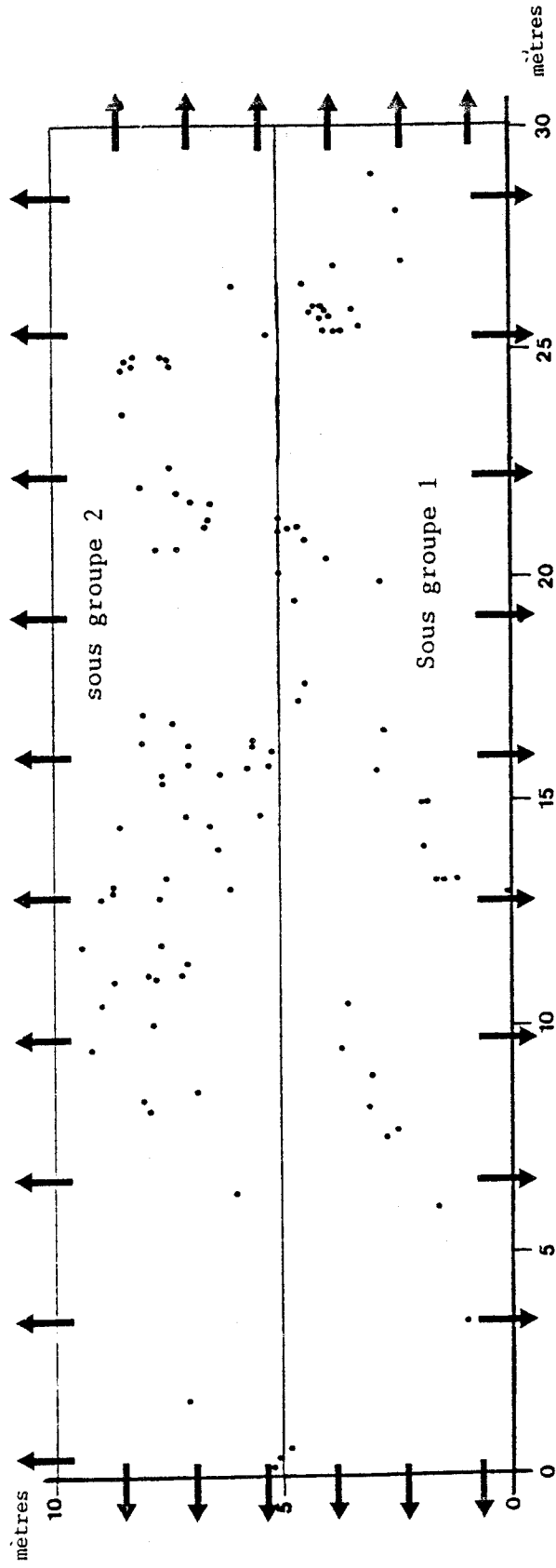


CARTE 3d : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
S8 au locus ACPH1 .

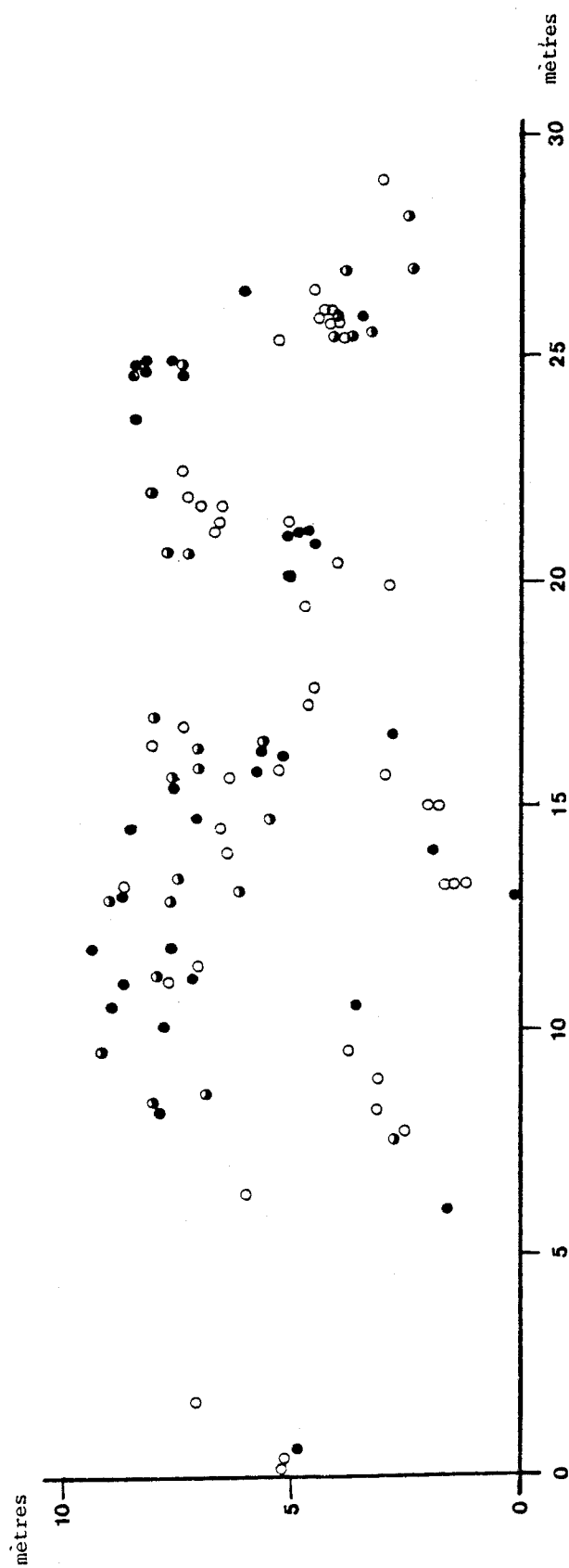


CARTE 4: Cartographie des individus de la population SI et délimitation des sous-groupes étudiés .

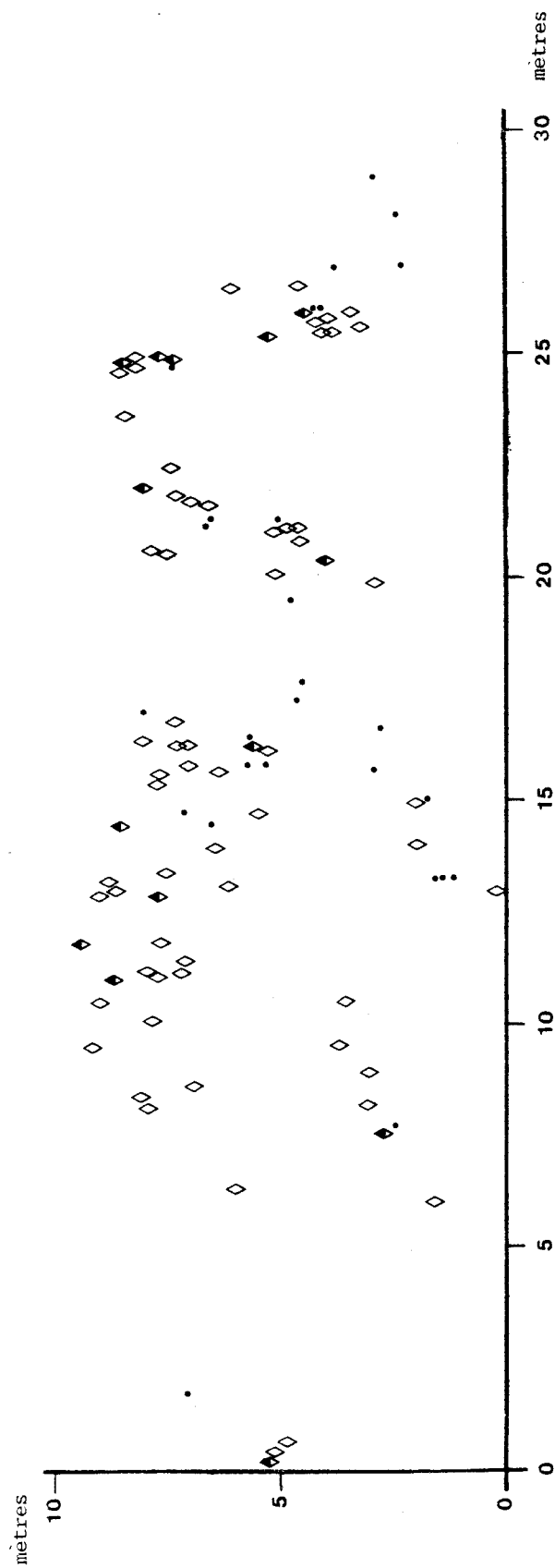
→ Zone de contact avec les individus non échantillonnés dans le site



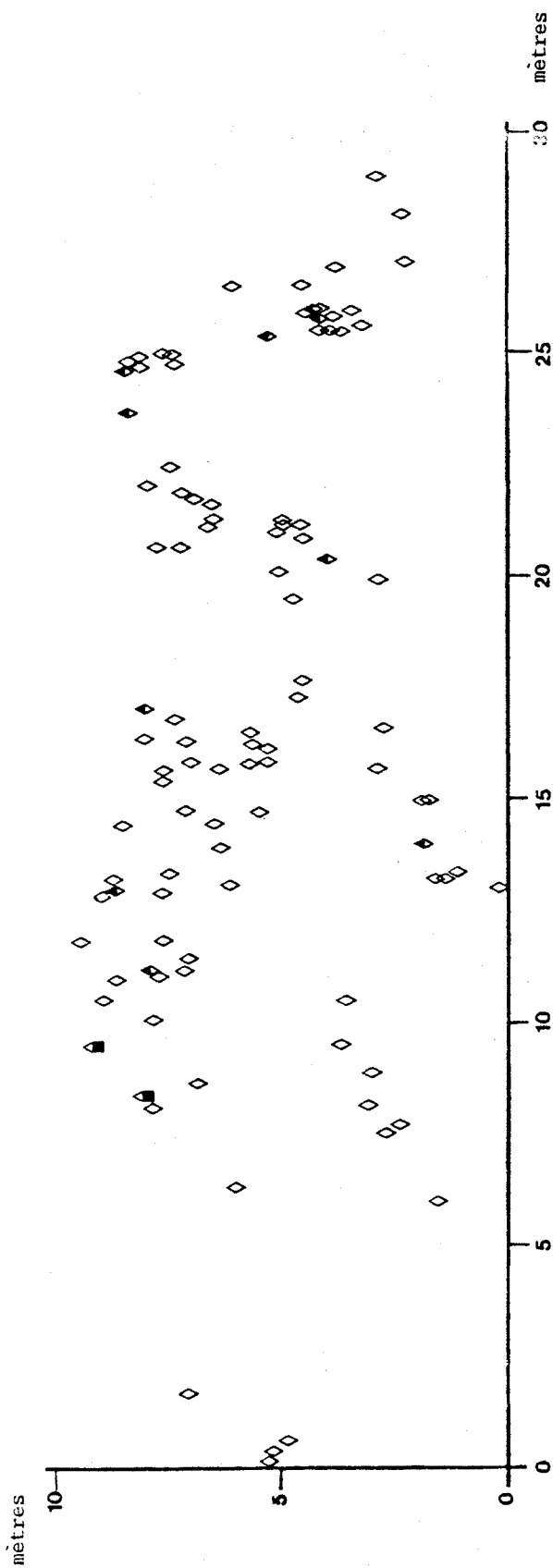
CARTE 4a : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
SI au locus LAPI .



CARTE 46 : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
S1 au locus EST1 .



CARTE 4 - : Localisation des génotypes des individus étudiés dans la population
Sl au locus ACPH1 .



CONCLUSION GENERALE

Les premiers résultats obtenus ont permis de décrire la biologie des deux espèces étudiées (en particulier, leur caractéristiques morphologiques, le type d'habitat qu'elles occupent, la démographie des individus dans la population et l'importance de la multiplication végétative par rapport à la reproduction sexuée). Dans un deuxième temps une étude plus fine de la reproduction a été abordée sous différents aspects (allocation des ressources dans les fonctions mâle et femelle, succès reproductifs des individus, réussite de la pollinisation et avortement des "ovules" dans les fruits, rôle des insectes dans la pollinisation, aptitude des plantes à s'autoféconder, étude de la biologie florale quant à la viabilité pollinique et la réceptivité stigmatique, estimation du régime de la reproduction in situ et influence de la répartition spatiale des individus in situ sur le régime de la reproduction).

Le but de cette conclusion est d'examiner comment ces différentes caractéristiques biologiques peuvent interagir avec le régime de la reproduction. Tout d'abord, les divergences inter-spécifiques sur le régime de reproduction et sur d'autres caractères biologiques seront discutées. Ces différences inter-spécifiques s'expriment au niveau du fonctionnement des populations et au niveau de la différenciation inter-populations. Puis nous examinerons les ressemblances inter-spécifiques sur le fonctionnement des populations. Enfin nous discuterons des forces qui peuvent expliquer le maintien d'un polymorphisme pour le régime de la reproduction dans les espèces étudiées.

Lorsqu'on calcule les F-statistics en prenant l'espèce comme ensemble de référence, des différences dans le comportement des deux espèces apparaissent à tous les niveaux de la hiérarchie (Valéro et al., en prep., cf. chapitre 3-3): l'indice de fixation calculé sur l'ensemble de l'espèce (F_{it}) est plus élevé chez L. sylvestris ($F_{it}=0.69$) que chez L. latifolius ($F_{it}=0.46$). Ce F_{it} plus élevé chez L. sylvestris résulte non seulement d'une plus grande différenciation inter-populations ($F_{st}=0.56$ chez L. sylvestris et $F_{st}=0.39$ chez L. latifolius) mais aussi d'un déficit moyen en hétérozygotes plus important dans les populations ($F_{is}=0.29$ chez L. sylvestris et $F_{is}=0.12$ chez L. latifolius). Les flux géniques semblent donc plus restreints chez L. sylvestris.

Les deux espèces dispersent-elles leurs graines et leur pollen de la même manière?

La dispersion des graines est mal connue chez ces deux espèces. Les gousses de L. latifolius éclatent lorsqu'elles sont mûres alors que celles de L. sylvestris s'ouvrent lentement mais les estimations de la dispersion primaire autour du pied mère (Hossaert, com. pers.) restent les mêmes pour les deux espèces: les graines se retrouvent dans un rayon de 1 à 2 mètres autour du pied mère. Des phénomènes de dispersions secondaires à moyenne distance et de stockage des graines par les petits rongeurs (mulots) ont été mis en évidence (Haffner, 1986). Cette dispersion secondaire se ferait sur des distances d'une centaine de mètres maximum. Ces mulots ont été observés dans les

populations des 2 espèces, mais aucune donnée ne permet de savoir si leur comportement diffère suivant les espèces. Les phénomènes de dispersion sur de longues distances n'ont pas été étudiés. Etant donné que ces espèces se trouvent souvent sur des terres rapportées (balast de voie de chemin de fer, ravins etc...), il est fort probable que la dispersion sur de grandes distances soit en partie tributaire de l'activité humaine. Il n'apparaît donc pas de différences importantes quant à la dispersion des graines entre ces deux espèces.

En revanche, nous avons plusieurs arguments qui montrent que la dispersion du pollen serait plus réduite chez L. sylvestris. Les mêmes insectes pollinisateurs (abeilles et bourdons essentiellement) ont été observés chez les deux espèces et leur intervention semble nécessaire à la réussite de la fécondation (Valero et al., 1986, chapitre 3-1). Cette nécessité d'intervention des pollinisateurs pour réaliser la fécondation est plutôt caractéristique de plantes allogames. Il apparaît cependant que certains individus sont capables de s'autoféconder sans l'intervention des insectes et ceci plus fréquemment chez L. sylvestris que chez L. latifolius (chapitre 3-2 et Valero et al., 1987, annexe 2). La plus grande consanguinité présente dans les populations de L. sylvestris peut donc être en partie expliquée par une aptitude plus grande des individus de cette espèce à pratiquer l'autofécondation. De plus, les plantes des deux espèces diffèrent dans leur architecture (Valero et Hossaert, en prep., chapitre 2-2): chez L. sylvestris, les tiges sont fortement ramifiées et portent de nombreuses inflorescences regroupant un faible nombre de fleurs; chez L. latifolius, les

tiges sont peu ramifiées et les inflorescences regroupent un nombre de boutons beaucoup plus élevé. La floraison n'est pas synchrone sur une tige, elle s'effectue du bas vers le haut au fur et à mesure de la croissance de la tige et de l'inflorescence. Il s'en suit que chez L. latifolius la probabilité pour que des fleurs d'un même individu soient au même stade est faible, alors que chez L. sylvestris elle est beaucoup plus importante. Ces deux formes architecturales ont des conséquences sur les flux géniques: la morphologie des individus de L. sylvestris permet l'autofécondation alors que celle des plantes de L. latifolius favorise l'allofécondation.

Quelle est la répercussion des différences dans le régime de la reproduction sur l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle?

Chez une plante autogame, la compétition entre mâles est moins importante et devrait entraîner un réajustement des ressources vers la fonction femelle (Charnov, 1979). Les individus de L. sylvestris seraient donc susceptibles de se différencier de ceux de L. latifolius par un investissement moins important dans la fonction mâle. Cet investissement dans la fonction mâle peut être estimé de plusieurs manières: (1) par l'examen du rapport pollen produit par fleur sur nombre d'ovules par fleur (P/O). Cruden (1977) a montré que ce rapport permettait de classer les plantes selon leur régime de la reproduction; (2) par l'importance de la surproduction de fleurs (Queller (1983), Couvet et al. (1985), Suthertland (1987) ont montré que si les

plantes hermaphrodites produisent plus de fleurs qu'elles ne mûrissent de fruits c'est pour disperser leur pollen) et (3) la position des graines dans le fruit (la gousse est une structure linéaire ou s'opposent un gradient de nutrition des ovules: effet maternel et un gradient de fécondation des ovules: effets paternels; la position des graines dans la gousse est la résultante de ces deux effets (Hossaert et Valero, in press, chapitre 2-3)).

(1) L'examen du rapport P/O (Valero et Hossaert, en prep, chapitre 1 et Valero et al., 1987, annexe 2) montre en effet que l'espèce la plus autogame est celle qui présente le plus faible investissement dans la fonction mâle.

(2) L'étude de la chute des fleurs (Valero et Hossaert, en prep., chapitre 2-2) ne révèle pas de différences significatives entre les deux espèces. C'est l'espèce la plus autogame qui aurait tendance à montrer un avortement des fleurs le plus important contrairement à ce que la théorie de l'allocation des ressources prédit. La surproduction de fleurs attribuée à la fonction mâle n'est pas la seule cause de cet avortement et d'autres hypothèses peuvent être envisagées. (i) Le nombre de pollinisateurs pourrait être insuffisant, mais cette hypothèse est peu vraisemblable chez ces deux espèces (Valero et Hossaert, en prep., chapitre 2-2). (ii) En revanche les fleurs seraient fortement consommées par des herbivores. La consommation des fleurs est en effet extrêmement importante chez ces deux espèces (cf annexe 5) car plus de 50 % des fleurs tombées sont consommées par des herbivores (larves de papillon, etc..).

(3) L'étude de la position des graines dans la gousse (Hossaert et Valero, sous presse, chapitre 2-3) confirme l'existence d'un effet mâle plus important dans les fruits de L. latifolius.

Quelle est l'importance des différences dans le régime de la reproduction sur le fonctionnement des populations?

Deux populations de L. sylvestris et deux populations de L. latifolius ont été étudiées pour leur structure génotypique en relation avec l'organisation spatiale des individus dans la population (Valero et al., en prep., chapitre 3-3). Cette étude montre que l'organisation spatiale des individus dans la population influence fortement la structure génotypique. Pour les deux espèces, une population linéaire et une population "en surface" ont été étudiées. Dans chaque population des subdivisions ont été définies et les différents indices de fixation des F-statistics ont été calculés. Quelle que soit l'espèce étudiée, les populations linéaires montrent une différenciation inter subdivisions significative et plus importante que le déficit en hétérozygotes intra sous groupe. Dans les populations "en surface", le phénomène inverse est observé. Tout ce passe comme si la taille du voisinage était plus importante dans les populations linéaires. Deux hypothèses non alternatives peuvent être proposées pour expliquer ce phénomène.

(1) Les différences dans l'organisation spatiale des individus entraînent des changements dans le comportement des pollinisateurs: dans les populations linéaires les flux géniques

sont bidirectionnels alors que dans les populations en surface, les flux géniques seraient multidirectionnels. Ce phénomène serait comparable aux effets de densité décrits par Levin et Kester (1974), Antonovics et Levin (1980), Vernet et al. (1987) sur l'augmentation de la consanguinité avec une augmentation de la densité des individus ou des fleurs dans la population.

(2) La forte différenciation inter sous groupes résulte de forts effets de fondation dans les populations linéaires. Il semble en effet que des génotypes différents soient à l'origine de la population linéaire de L. sylvestris (Hossaert et al., en prep.) comme le montre la détermination de l'âge des individus. Quoiqu'il en soit, si les flux géniques n'étaient pas limités dans la population, l'effet de fondation aurait disparu.

L'existence de forts effets de fondation est aussi mis en évidence dans la population linéaire de L. latifolius. Des descendance en pollinisation libre ont été étudiées dans cette population pour estimer le régime de la reproduction des plantes en place (Valero et al., en prep., chapitre 3-3). Les résultats montrent l'existence d'un groupe de plantes plus autogames dans une partie de la population. Ces plantes plus autogames se distinguent des autres individus de la population par le fait qu'elles dispersent moins bien leur pollen d'une part et d'autre part qu'elles présentent justement des allèles qui diffèrent du reste de la population. Il semble donc que le polymorphisme pour le régime de la reproduction dans cette population ne puisse s'expliquer que dans le cadre d'un modèle métapopulationnel. En effet, les modèles théoriques n'autorisent pas à considérer qu'un

tel polymorphisme soit stable: à l'équilibre, en l'absence de dépression de consanguinité, le génotype le plus autofécond devrait supplanter les autres. Le polymorphisme observé correspondrait à une situation de non équilibre résultant d'un effet de fondation rassemblant transitoirement des individus de deux ou plusieurs populations, présentant des niveaux d'autofécondation ou de consanguinité différents. Quel sera le devenir de l'autofécondation dans la population polymorphe observée? Tout dépend de l'importance de la dépression de consanguinité des plus autogames et de l'aptitude des plantes allogames à polliniser les plus autogames.

La forte différenciation inter-population de ces deux espèces révélée par l'étude des allozymes (Valero et al., en prep, chapitre 3-3) et des caractères reproducteurs (Valero et Hossaert, en prep, chapitre 1) comme le nombre de boutons par inflorescences qui est plus important dans les populations du Nord de la France, les forts effets de fondations discutés plus haut et les types d'habitats perturbés occupés par ces deux espèces colonisatrices (Hossaert et Valero, 1985, annexe 1) conduisent à proposer qu'elles fonctionnent selon un modèle de métapopulation: Il existerait des populations à des stades différents d'évolution, les probabilités d'extinction et de fondation de nouvelles populations sont importantes, l'équilibre ne peut être perçu qu'au niveau métapopulationnel. Un tel mode de fonctionnement métapopulationnel mériterait une démonstration plus complète par l'analyse d'un ensemble de populations situées dans la même région.

Plusieurs questions restent cependant à résoudre:

Pourquoi existe-t-il deux types d'architecture? Une étude (Fauquembergue, 1987) a montré qu'un polymorphisme pour l'architecture existait au sein d'une même population de L. sylvestris. L'examen des variations de ce caractère dans plusieurs descendances maternelles montre qu'il est moins variable à l'intérieur de la famille qu'entre familles différentes. Il présenterait donc une certaine "héritabilité". De plus, une corrélation négative significative a été mise en évidence entre le nombre de tiges par individu et le nombre de ramifications par tige. On peut se demander dans quelle mesure les deux formes architecturales ne correspondent pas à deux stratégies différentes pour résister à la prédation: la première serait de disperser les fleurs dans l'espace en augmentant le nombre de ramifications par tige, la seconde de disperser les fleurs dans le temps en supprimant les ramifications. Il serait intéressant d'étudier s'il existe une relation entre la nature des prédateurs, leur taux de prédation et le type d'architecture. S'il s'avérait que ces deux types d'architecture correspondent à deux sortes de réponses à la prédation, on peut émettre l'hypothèse qu'elles auraient entraîné indirectement des variations dans le régime de la reproduction.

La deuxième question importante est de connaître l'importance de la dépression de consanguinité chez ces deux espèces et si notamment, les plantes autogames montrent une dépression de consanguinité plus faible que les allogames; ceci permettrait de savoir si l'évolution vers l'autogamie est possible.

REFERENCES

- ANTONOVICS J. & D. A. LEVIN. 1980: The ecological and genetic consequences of density-dependant regulation in plant. Annu. Rev. Ecol. Syst., 11: 411-452.
- CHARNOV E.L. 1979: Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 76: 2480-2484.
- COUVET D., J. P. HENRY & P.H. GOUYON. 1985: Sexual selection in hermaphroditic plants: The case of gynodioecy. Am. Nat., 126: 294-329.
- CRUDEN R. W. 1977: Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. Evolution, 31: 32-46.
- FAUQUEMBERGUE A.. 1987: Régime de la reproduction chez Lathyrus sylvestris: variabilité et relation avec l'architecture. D.E.A. d'Ecologie Générale, Orsay, Paris XI.
- HAFFNER P.. 1986: Interférence des petits Rongeurs avec les cycles des Gesses (Lathyrus sp. (Tawn.) L.) et des Bruches de la Gesse (Bruchus affinis Kröl). Premiers résultats. D.E.A. Ecologie expérimentale, I.B.E.A.S., Université de Pau.
- HOSSAERT M. & M. VALERO. 1985: Differences in population biology within the Lathyrus sylvestris group (Leguminosae: Papilionaceae). In structure and functioning of plant population, vol. 2. J. Haeck and J.W. Woldendorp (editors). PUDOC, Wageningen: 65-75.
- HOSSAERT M. & M. VALERO. In press.: Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in two species of Lathyrus (Leguminosae: Papilionacea). Accepté dans Amer. J. Bot.
- LEVIN D.A. & H.W. KESTER. 1974: Gene flow in seed plants. Evol. Biol., 7: 138-220.
- QUELLER D.C. 1983: Sexual selection in hermaphroditic plants. Nature, 305: 706-707.
- SUTHERLAND S.. 1987: Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: Experimental tests with Agave mckelveyana. Evolution, 41: 750-759.
- VALERO M., YOUSSEF A., VERNET P. & M. HOSSAERT. 1986: Is there a polymorphism in the breeding system of Lathyrus latifolius? In Lathyrus and Lathyrism, Proceedings of Colloque Lathyrus-Pau 1985, A.K. Kaul and D. Combes (editors): 105-116.

- VALERO M., HOSSAERT M., CARON B., YOUSSEF A. & P. VERNET. 1987: Allocation des ressources chez deux espèces de Légumineuses: Lathyrus latifolius et Lathyrus sylvestris. In Colloque National du C.N.R.S. "Biologie des Populations", J.M. Legay (éditeur) Univ. C. Bernard. Lyon. France: 141-148.
- VERNET P., DUCOUSSO A., PETIT D. & M. VALERO. 1987: Genetic structure and diversity patterns between adjacent populations: Arrhenatherum elatius (L.) Beauv.. In Differentiation Patterns in Higher Plants. K. M. Urbanska (editor), Academic Press, London: 131-153.

ANNEXES

ANNEXE 1

MARTINE HOSSAERT & MYRIAM VALERO

Differences in population biology within the *Lathyrus sylvestris* group (Leguminosae: Papilionaceae)

1. INTRODUCTION

In plant populations, the examination of relationships between diversity and environment requires a comprehensive knowledge of the reproductive system, since the genetic component of diversity is, to a great extent, produced by recombination.

Hermaphrodite and perennial *Lathyrus* species provide good material for the study of these relationships, for the following reasons: 1. Native *Lathyrus* species are widely distributed in Europe, occurring in a variety of ecological situations and we may expect a great genetic diversity according to the conclusion reached by Nevo (1978) and Brown (1979) who associate, in their reviews of enzymatical polymorphism in plants and animals, genetic variability with a wide ecological distribution of the species. 2. The perennial *Lathyrus* species are capable of extensive vegetative reproduction from rhizomes and stolons. Therefore, they allow comparison of the allocation of resources to sexual and vegetative propagation and of the relative contributions of these modes of reproduction to the dynamics of plant populations. The coexistence of sexual and asexual propagation in the same plant has given rise to numerous models in the literature. Harper (1967) and Sarukhan (1976) emphasize competition for resources between sexual and asexual reproduction in the individual plant. Abrahamson (1981) also examines relative investment in these two functions in different types of environment. The "balance" argument put forward by Williams (1975) envisages short term advantages for sexual and asexual reproduction, maintaining both kinds of reproduction in the population. 3. *Lathyrus* seeds are frequently destroyed by larvae of a host specific bruchid beetle, *Bruchus affinis* (Coleoptera: Bruchidae). These insects may constitute a selective factor involved in the evolution of sexual and asexual "strategies" in *Lathyrus*. The role of this beetle is complicated by the fact that it is probably also a pollinator of *Lathyrus*. Its negative impact on plant fitness might thus be counterbalanced by positive effects (Labeyrie & Hossaert 1985).

In this paper the reproductive systems of *Lathyrus sylvestris* L. and *Lathyrus latifolius* L. are compared in the relative roles of sexual and asexual reproduction in the populations dynamics of these species. Those two related diploid ($2n = 14$) legumes have sometimes been considered to be conspecific (Fournier 1961); however, they differ in morphological characteristics (e.g. leaf shape, flower colour, size of flowers, pods and leaflets) and which are more variable in *L. latifolius*. They also differ, as will be shown here, in many aspects of their reproductive

biology. Preliminary results on genetic diversity, studied by means of enzyme electrophoresis, suggests marked differences in breeding structure of populations of these two species. Data on reproductive biology, life cycle and population dynamics in natural populations were collected in order to examine this question. Because in the literature, these two legumes are generally described as two different species, they have been considered as such in this paper.

2. ELECTROPHORETIC ANALYSIS: GENETIC DIVERSITY

Methods

Analyses were done on leaves from different individuals produced by seeds collected from natural populations (Table 1).

Table 1. *Populations of Lathyrus species examined by electrophoresis.*

Species	<i>Lathyrus latifolius</i> L.	<i>Lathyrus sylvestris</i> L.
Total number of individuals analyzed	70	31
Number of populations	7	2
Origins of the studied populations	1. Garden in "Lille" (Northern France) 2. At the foot of the spoil heap at "Evin-Malmaison" (Northern France) 3. At the foot of the spoil heap at "Liévin" (Northern France) 4. At the foot of the spoil heap at "Carvin" (Northern France) 5. On the edge of a road between "Avion" and "Vimy" (Northern France) 6. On the edge of a field near "Nyons" (South East of France) 7. On a vine slope near "Doué la Fontaine" (Central France)*	1. All over the spoil heap of "Pecquencourt" (Northern France) 2. In a field population near "Geneve" (Switzerland)

* The demographic characteristics of individuals from this population are reported in chapter 3.

Extraction and polyacrylamide gel electrophoresis were carried out, using the technique described by Gasquez & Compoint (1976). Thirteen enzyme systems were tested, but these preliminary results only concern three systems: Got (glutamate-oxaloacetate-transaminase), Lap (leucine-amino-peptidase) and Est (esterase).

Results and discussion

Based on the results shown in Table 2, hypotheses about the genetic basis of the electrophoretic patterns exhibited by these three systems, are proposed. We have begun to test these hypotheses analysing offspring from controlled outbreeding experiments.

The zymograms of the two species appear to be very similar for all the systems analysed. But, although they have many common bands, each species possesses some characteristic bands not found in the other (these bands have been underlined in Table 2). However, the most marked difference between the two species is in the degree of polymorphism. All the thirty-one individuals examined from two widely separated *L. sylvestris* populations gave identical zymograms. They also seem to be homozygous (one band per "locus") at every locus studied except one (Lap 1). In contrast, in *L. latifolius* and even in neighbouring populations, most loci are polymorphic and heterozygotes, (at least two bands per "locus") were observed for the majority of loci. One explanation of this genetic variation and, especially, the difference in the degree of polymorphism between these two taxa, may lie in differences in their reproductive systems. An understanding of the mechanisms maintaining genetic diversity in populations requires both studies on mating-systems and population demography (Brown 1979).

3. DYNAMICS OF NATURAL POPULATIONS

The population dynamics of *L. sylvestris* and *L. latifolius* were investigated at the following two levels: (1) comparisons of genetically based differences between the two species; (2) comparisons between conspecific populations to determine the variability related to spatial environmental variation.

Methods

Three populations were studied from two regions of France: in the Loire valley in central France (*L. latifolius*, Doué-la-Fontaine) and in the Bearn in southwestern France (*L. latifolius*, Cadillon; *L. sylvestris*, Laruns). In each population, 40 stems were followed at weekly intervals throughout the flowering period (because of the vegetative propagation of these species, the sampling unit is the stem and not the individual). Data were collected on these 40 stems and their axial branches, including the number of floral buds (first stage of flowering, until the carina is open), flowers, senescent flowers (corolla changes from bright pink to blue and wilts), pod stage 1 (juvenile fruit), pod stage 2 (green pod not yet fully elongated), pod stage 3 (fully elongated green pod, seed not yet filled), pod stage 4 (mature pods, filled seeds). Then, all the mature pods were collected to examine the seed set and seed germination.

Results and discussion

Branching system

Our study shows that there is a basic difference in the vegetative architecture of the two species (Table 3).

Table 2. Presumed genetic basis of zynogram patterns. N: Number of individuals analysed; A: "Alleles" observed over all the population "alleles" are identified by a number which indicates allelic mobility relative to the most common allele of assigned mobility - 100. The specific "alleles" of each species are under-lined.

Species	1st 1	1st 2	1st 3	1st 4	tot 1	1st 2	1st 1
<i>L. latifolius</i>	N	70	70	70	59	66	66
	A	1.00 ; 0.95	0.89 ; 0.85	0.83 ; 0.78	1.00	1.00 ; 0.96	0.56 ; 0.53
		0.93 ; 0.90	0.83 ; 0.80	0.75 ; 0.73			0.52 ; 0.48
<i>L. sylvestris</i>	N	31	31	31	31	22	22
	A	0.93	0.83	0.75	1.10	1.00 ; 0.97	0.53
						0.94	

• The word "presumed" is used to indicate that the analyses of the genetic basis of zynogram patterns described here have to be completed.

Table 3. Characteristic of the branching and flowering system in *Lathyrus sylvestris* L. and *Lathyrus latifolius* L.

Species	Site	Mean number of stems order 2 principal stem	Mean number of stems order 3 principal stem	Mean number of inflorescences/principal stem	Mean number of buds/inflorescence
<i>L. sylvestris</i>	Laruns	$\bar{m}$ 6.3 s.e. 1.0 n 40	5.3 1.6 40	6.6 1.0 40	3.6 0.04 262
	Yone in Lountane	$\bar{m}$ 0.7 s.e. 0.2 n 40	0 - 40	9.6 0.8 40	9.6 0.07 362
	Cadhon	$\bar{m}$ 0.6 s.e. 0.2 n 40	0 - 40	7.8 1.0 40	8.7 0.06 311
Variance analysis (F)		**	**	N.S.	**

$\bar{m}$ mean number ; s.e. standard error; n sampling size; N.S. not significant; ** significant for $\alpha = 10.00$.

L. latifolius, in both populations, has only a few secondary branches, whereas *L. sylvestris* may produce a high number of axial branches of order 2, 3 and sometimes order 4. The branching pattern of *L. sylvestris* is characteristic of herbaceous species in a situation of reduced competition (Lee & Bazzaz 1982).

Flower production

The two species differ in two features of flower production (Table 3). *L. sylvestris* shows a tendency to produce fewer inflorescences per stem than *L. latifolius* but the differences are not significant. The results are more relevant for the number of floral buds per inflorescence. In Laruns, *L. sylvestris* develops an average of only 3.6 buds per inflorescence. In *L. latifolius* each raceme contains an average of 9.6 buds (Doué site) or 8.7 buds (Cadillon site). For *L. latifolius* the number of buds per inflorescence is variable, not only between populations, but also within each population.

Flower abscission - Fruit maturation

The data allow estimation of the intensity of flower and fruit abortion in the three populations (Fig. 1). There was a very high frequency of

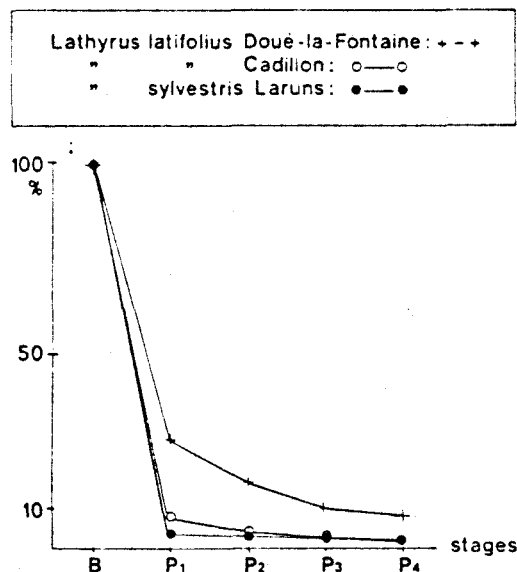


Fig. 1. Flower and fruit abscission of *Lathyrus sylvestris* and *L. latifolius*. Percentage of initiated floral buds (B), juvenile fruits (P₁) green pods not fully elongated (P₂), fully elongated green pods (P₃), mature pods (P₄). Because of the sampling sizes ($n > 962$ buds), the standard error is always $< 1\%$.

flower abscission in each population. In *L. sylvestris* most of this abortion occurred at the bud stage. In *L. latifolius* abortion of flowers was less and occurred at various stages of development (buds, flowers and senescent flowers).

Finally, the plants initiate more buds and juvenile fruits than they mature. The proportion of mature fruits produced in relation to the total number of floral buds was low for each population (0.7 per cent for *L. sylvestris* in Laruns; 9.3 per cent for *L. latifolius* in Doué; 1.3 per cent for *L. latifolius* in Cadillon). This proportion is very low in comparison to cultivated legumes like *Phaseolus vulgaris* (38 per cent, Lovet-Doust & Eaton 1982), but similar to some other wild Leguminosae (2.2 per cent in *Bauhinia unguiculata*, Heithaus *et al.*, 1982). Willson & Price (1977) suggest that this overproduction of flowers may be general in insect pollinated plants: the plant produces more flowers than it can convert into mature fruits, in order to increase both the attractiveness of the floral display to pollinators as well as the male genetic contribution. Several factors may also explain the abscission of a large percentage of flowers and juvenile fruits (Stephenson 1981). Firstly, the plant has only limited resources for fruit and seed development. Secondly, the lack of pollination may be an important source of flower abortion for a species like *L. latifolius* which requires outcrossing and tripping (Martin & Valero, *in press*). A third factor may also contribute to the reduction of the pod output: the consumption of flowers by herbivorous insects. Heithaus *et al.*, (1982) has reported a similar effect of flower consumption on *Bauhinia unguiculata* in which insect herbivorous sometimes reached densities of six individuals per flower. In most cases, these factors may interact together. For example, the low fruit set observed in Cadillon (Fig. 1) may be explained by a deficit in nutrition linked to a water stress during the period of flower abscission (July 1983), but also by a high consumption of the ovaries of *Lathyrus* flowers (65 per cent of flowers consumed in Cadillon site) by various insects (*Lycaenid* sp. and other butterfly larvae, *Apion* sp. and *Thrips* sp.).

Ovules and seed set within pods

The data on ovules and seed set within pods relate to the pods collected from individuals studied in our three populations, as well as from other populations in southwestern (Miguelou, Rébénacq) and central France (St. Pierre des Corps). The mean number of ovules per pod was very different in the two species (average of 13 ovules/pod in *L. sylvestris* and average of 19-20 ovules/pod in *L. latifolius*, Table 4). These results differ from those (10 to 15 seeds per pod in both species) given in the Flora Europaea. This clear difference in ovule set in the pods is maintained in plants cultivated in the experimental garden.

In contrast, the proportion of ovules per pod giving rise to mature seeds was not different in the two *Lathyrus* species: less than 50 per cent and more often around 20 per cent (Table 5). This ratio of mature seed set to ovules initiated in the pods was very low compared to other Leguminosae: more than 80 per cent for *Bauhinia paupetii* (Janzen 1977), around 70 per cent for *Lupinus texensis* (Schaal 1980).

Table 4. Total number of ovules per pod in *Lathyrus silvestris* and *Lathyrus latifolius*.

Total number of ovules		<i>Lathyrus silvestris</i> Southern France			<i>Lathyrus latifolius</i> Southern France			Central France Doué
		Laruns	Rébénacq	Miguelou	Cadillon 1*	Cadillon 2*	St. Pierre de Corps	
5	T	1						
	F	0.01						
6	T	1						
	F	0.01						
7	T			1				
	F			0.01				
8	T							
	F							
9	T	3		3				
	F	0.03		0.04				
10	T	8		2				
	F	0.08		0.03				
11	T	29	2	8				
	F	0.28	0.02	0.12				
12	T	29	11	8				
	F	0.28	0.11	0.12				
13	T	22	28	13				
	F	0.21	0.28	0.19				
14	T	8	37	17				
	F	0.08	0.37	0.25				
15	T	3	20	9				2
	F	0.03	0.20	0.13				0.03
16	T		2	4	3	3		2
	F		0.02	0.06	0.06	0.06		0.03
17	T	1		2	1	6		8
	F	0.01		0.03	0.02	0.12		0.12
18	T				12	3		23
	F				0.24	0.06		0.35
19	T				13	17	1	12
	F				0.26	0.34	0.05	0.19
20	T				9	15	1	9
	F				0.18	0.30	0.05	0.14
21	T				7	6	2	6
	F				0.14	0.12	0.10	0.09
22	T				5		8	2
	F				0.10		0.40	0.03
23	T					2	7	1
	F					0.04	0.35	0.02
24	T						1	
	F						0.05	

T = number of pods; F = relative frequency; * = subpopulations.

Table 5. Ratio of mature seeds to ovules initiated and number of mature seeds per pod in the two species of *Lathyrus*.

	<i>Lathyrus silvestris</i> L.		<i>Lathyrus latifolius</i> L.		
	Laruns	Miguelou	Cadillon	St. Pierre	Doué
Ratio of mature seeds to ovules initiated	0.19 ± 0.015	0.14 ± 0.010	0.27 ± 0.015	0.52 ± 0.010	0.50 ± 0.015
Total number of ovules initiated	998	878	942	2361	1118
Number of mature seeds per pod	2.23 ± 0.13	1.77 ± 0.24	5.26 ± 0.83	9.60 ± 0.22	8.60 ± 0.45
Total number of pots	85	66	49	129	65

(The means are given $\pm$ standard error; in the case of the ratio the normal approximation of the standard error is mentioned).

Because the ratio of mature seeds to ovules initiated was similar in *L. latifolius* and *L. sylvestris*, pods of the latter species contained fewer ovules and consequently fewer mature seeds (Table 5).

The bruchid beetle *Bruchus affinis* is responsible for a significant proportion of the seed mortality in *L. latifolius*, *L. sylvestris* and *L. tuberosus*. The extent of seed destruction by bruchids is highly variable. *Bruchus affinis* was absent in some populations of northern France, but its larvae destroy 10 to 65 per cent of the seeds in populations from central and southern France (Labeyrie & Hossaert 1985).

A possible reason for patterns of seed maturation within pods is that the probability of maturation of an ovule is the result of two opposing gradients which interact in the linear structure of the pod (Labeyrie & Hossaert 1985). The one is the fertilization gradient, or male effect. Limited growth capacity of pollen tubes may mean that the ovules near the peduncle are less likely to be fertilised, i.e. those ovules furthest from the stigma. The other is the maternal-resource gradient. Ovules near the penuncle may receive more nutrients than ovules near the apex of the ovary. This hypothesis of seed maturation is confirmed by our preliminary analysis within *Lathyrus* pods which suggests that the ovules in the distal half of the pod are more likely to develop successfully into seeds. Non-developed ovules were concentrated at both ends of the pod.

Seed germination

Experiments on germination capacity of seeds in controlled conditions revealed another difference between the two species (Table 6). After being subjected to darkness or cold, about 25 to 40 per cent of the seeds of *L. latifolius* germinated. In all our treatments, the percentage of germination of *L. sylvestris* seeds was 10 to 23 per cent.

Table 6. Germination (%) of *Lathyrus* sp. in different experimental conditions.

Species	Long day (light 18 h, T° : 25°C 15°C)				Darkness (dark 15°C)		Cold and darkness (20 days 4°C then in dark at 15°C)	
	<i>L. latifolius</i> Doué	<i>L. latifolius</i> St. Pierre de Corps	<i>L. sylvestris</i> Laruns	<i>L. sylvestris</i> Rebenacq	<i>L. latifolius</i> Doué	<i>L. sylvestris</i> Rebenacq	<i>L. latifolius</i> Doué	<i>L. sylvestris</i> Rebenacq
5 days	-	-	0.8	0.8	2.5	1.7	5.0	5.8
10 days	0.8	0.8	9.2	6.7	16.7	4.2	21.7	6.7
15 days	6.7	3.3	12.5	10.0	20.8	6.7	23.3	7.5
20 days	10	4.2	15.8	12.5	26.7	13.3	23.3	8.3
25 days	11.7	4.2	18.3	15.0	29.2	15.0	23.3	9.1
30 days	15.0	-	18.3	15.8	35.0	15.8	25.0	10.0
35 days	15.0	5.0	20.0	15.8	36.7	16.7	25.0	10.0
40 days	15.0	5.0	20.0	16.6	37.5	17.5	25.0	10.0
45 days	15.0	5.0	20.0	16.6	38.3	17.5	25.0	10.0
50 days	15.8	5.0	20.8	16.6	39.2	17.5	25.0	10.0
55 days	15.8	5.0	20.8	16.6	39.2	17.5	25.0	10.0
60 days	15.8	5.0	22.5	16.6	39.2	17.5	25.0	10.0
65 days	15.8	5.0	22.5	16.6	39.2	17.5	25.0	10.0

Vegetative propagation

Our results to date point to an additional aspect in which these two species differ significantly: the extent of vegetative propagation.

In permanent quadrats occupied by shoots of *Lathyrus* during the period November 1983 to April 1984, *L. sylvestris* produced 17 new tillers/m² whereas *L. latifolius* produced only 10/m² (F-test significant for $\alpha = 5$ per cent).

Furthermore, the new tillers of *L. sylvestris* appeared to be significantly more vigorous and their mortality rate very low, whereas in cold weather in December around 40 per cent of the new tillers of *L. latifolius* in the Cadillon site, died.

4. CONCLUSION

The results presented in this paper and our other field observations on these plants highlight marked differences between *L. sylvestris* and *L. latifolius* with regard to genetic diversity, sexual reproduction and vegetative propagation (Table 7).

Table 7. *Comparison of genetic diversity and features of reproductive biology in Lathyrus sylvestris and Lathyrus latifolius.*

Characteristics	<i>L. sylvestris</i>	<i>L. latifolius</i>
<u>Genetic diversity</u>		
proportion in loci polymorphic	very low	high
heterozygosity	very low	high
<u>Sexual reproduction</u>		
number of inflorescences/ principal stem	many (6.6)	somewhat (7.8 to 9.6)
number of buds/inflorescence	few	many
extent of flower abscission	high	lower, in the absence of water stress
extent of outcrossing (Martin & Valero, in prep.)	?	high
number of pods/stem	few	many
number of ovules/pod	few	many
number of mature seeds/pod	few	many
germination rate	low	higher
<u>Vegetative propagation</u>		
production of new tillers	high	low
mortality rate of new tillers	low	high



Summarising, *L. latifolius* has a high genetic diversity and reproduces by both sexual and asexual means. In contrast, at our study sites *L. sylvestris* was genetically virtually monomorphic and, reproduction was limited almost completely to vegetative propagation. The latter species apparently invests a lower proportion of resources in sexual reproduction than *L. latifolius*. Both these species are found in early successional stages in disturbed habitats (road-edges, spoil heaps, slopes) and both seem to exhibit the features of colonising species. In particular a well-developed permanent root-system (rhizomes and stolons) allows them to be perennials and to propagate vegetatively. A similar difference in the balance between sexual and asexual reproduction has been reported in two related and genetically close sub-species of *Plantago major* L. that are able to intercross easily (Van Dijk 1984). Crossing experiments between the two species of *Lathyrus* are in progress. However, it is necessary to explain the two different reproductive strategies of these closely related species.

In *L. latifolius* the high degree of polymorphism, the extent of outcrossing and the relatively large allocation of resources in sexual reproduction may indicate that the individuals are selected for a response to disturbed environments (Gouyon *et al.*, 1983).

On the other hand, the low genetic diversity of *L. sylvestris* can be explained as follows: in a colonising species which may have established itself from a single propagule (Baker 1967), the founder effect, selfing and the spread by vegetative propagation within a new site may lead to low genetic variation within and large genetic variation between populations, as shown by Hamrick *et al.*, (1979) and Brown & Marshall (1981). This was not observed in *L. sylvestris*. Not only is each population quite monomorphic, but also populations from widely separated areas in the geographic range of the species appear to be electrophoretically identical. C.J. Gliddon (*pers. comm.*) has observed the same in populations of *L. sylvestris* originating from different areas in Great Britain. A total absence of polymorphism in the species *L. sylvestris* would explain the lack of genetic differentiation between two separated populations. However, (1) we observed one polymorphic locus (Lap 1) (Table 2) and this explanation (a total lack in allozyme diversity) therefore does not hold, (2) polymorphism in the Lap 1 locus does exist in both cited populations, where the same two alleles are found. If the founder effect accounts for the absence of genetic variability within populations (Brown & Marshall 1981), it is surprising to find polymorphism for the same two alleles in both populations.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank V. Labeyrie and P. Vernet for their help with all aspects of this study. Special thanks to D. McKey for reviewing later drafts of this paper and correcting our English. We are grateful to J. Le Corff, F. Martin, and the technical assistants of the two laboratories for their help in collecting data. And finally thanks to P.H. Gouyon, I. Olivieri and C.J. Gliddon for their help in preparation of the talk as well as moral assistance.

6. REFERENCES

- Abrahamson, W.G., 1980 - Demography and vegetative reproduction.
In: O.T. Solbrig (Editor), *Demography and evolution in plant populations*.
Blackwell Scientific publications, Oxford.
- Baker, H.G., 1967 - Support for Baker's law -as a rule-. *Evolution*, 856-859.
- Brown, A.H.D., 1979 - Enzyme polymorphism in plant populations.
Theor. Pop. Biol., 15(1), 1-42.
- Brown, A.H.D. & O.B. Marshall, 1981 - Evolutionary changes accompanying colonization in plants. In: G.C.E. Scudder & J.L. Reveal (Editors),
Evolution Today, Proceedings of the second International Congress of Systematic and Evolutionary Biology, pp. 351-363.
- Fournier, P., 1961 - *Les quatre flores de France*. Ed. Le Chevalier, Paris.
- Gasquez, J. & J.P. Compoint, 1976 - Apport de l'électrophorèse en courant pulsé à la taxinomie d'*Echinochloa crusgalli* L. *Ann. Amélior. Plantes*, 26, 345-355.
- Gouyon, P.H., Lumaret, R., Valdeyron, G. & Ph. Vernet, 1983 - Reproductive strategy and disturbance by man. In: H. Mooney & M. Gordron (Editors),
Disturbance and Ecosystems. Springer Verlag, Berlin, pp. 214-225.
- Hamrick, J.L., Linhart, Y.B. & J.B. Mitton, 1979 - Genetic variation and life history traits. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 10, 173-200.
- Harper, J.L., 1967 - A Darwinian approach to plant ecology.
J. Ecol., 55, 247-270.
- Harper, J.L., 1977 - *Population Biology of Plants*. Academic Press, London.
- Harper, J.L. & J. White, 1974 - The demography of plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 5, 419-463.
- Heithaus, E.R., Stashko, E. & P. Anderson, 1982 - Cumulative effects of plant animal interactions on seed production by *Bauhinia ungulata*, a neotropical legume, *Ecology*, 63, 1294-1342.
- Janzen, D.H., 1977 - Developmental demography of *Bauhinia pauletia* Pers. (Leguminosae) seeds and ovules. *Brenesia*, 12/13, 105-111.
- Labeyrie, V. & M. Hossaert Palauqui, 1985 - Ambiguous relations between *Bruchus affinis* and *Lathyrus* group. Third European Symposium of Plant and Animal Interactions, *Oikos*, (in press).
- Lee, A. & F.A. Bazzaz, 1982 - Régulation of fruit and seed production in an annual legume: *Cassia fasciculata*. *Ecology*, 63, 1362-1373.
- Lovett-Doust, J.L. & G.W. Eaton, 1982 - Demographic aspects of flowers and fruit production in bean plants, *Phaseolus vulgaris* L. *Am. J. Bot.*, 69, 1156-1164.
- Martin, F. & M. Valero, (in press) - Données sur la biologie de la reproduction chez des légumineuses pérennes (*Lathyrus latifolius* and *L. tuberosus*).
- Nevo, E., 1978 - Genetic variation in natural populations: patterns and theory. *Theor. Pop. Biol.*, 13, 121-177.
- Sarukhan, J.A., 1976 - On selective pressures and energy allocation in populations of *Ranunculus repens* L. *Ranunculus bulbosus* L. and *R. acris* L. *Ann. M. Bot. Gard.*, 63, 250-308.
- Schaal, B.A., 1980 - Reproductive capacity and seed size in *Lupinus texensis* *Am. J. Bot.*, 67, 703-709.
- Stephenson, A.G., 1981 - Flower and fruit abortion: Proximate causes and ultimate functions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 12, 253-279.
- Van Dijk, H., 1984 - Genetic variability in *Plantago* species in relation to their ecology. *Theor. Appl. Genet.*, 68, 43-52.

Williams, G.C., 1975 - *Sex and Evolution*. Princeton University Press, Princeton.
Willson, M.F. & P.W. Price, 1977 - The evolution of inflorescence size in
Asclepias (Asclepidaecae). *Evolution*, 31, 495-511.

ANNEXE 2

ALLOCATION DES RESSOURCES CHEZ DEUX ESPECES DE LEGUMINEUSES *LATHYRUS LATIFOLIUS* ET *LATHYRUS SYLVESTRIS*

M. VALERO, M. HOSSAERT, B. CARON, A. YOUSSEF et P. VERNET

Résumé

Les théories sur l'allocation des ressources et la sélection sexuelle prédisent qu'il doit exister une balance entre multiplication végétative et reproduction sexuée et que selon le régime de la reproduction (autogamie / allogamie), l'investissement dans les fonctions mâle et femelle devrait être différent. Ces hypothèses sont testées et discutées par des comparaisons interspécifiques sur deux espèces de légumineuses voisines pérennes et hermaphrodites: *Lathyrus latifolius* L. et *Lathyrus sylvestris* L., et par des comparaisons intraspécifiques sur les variations entre populations et à l'intérieur d'une même population.

Summary

Theories on resources allocation and sexual selection suggest a balance between vegetative propagation and sexual reproduction and predict that the investment between male and female functions will change with the reproductive system (e.g. the balance between outcrossing and self-fertilization). These hypotheses are tested and discussed: (1) by interspecific comparisons on two closely related species of perennial and hermaphroditic legumes: *Lathyrus latifolius* L. and *Lathyrus sylvestris* L. and; (2) by intraspecific comparisons on inter and intra populations variations.

Introduction

Contrairement à ce qui se passe en général dans le règne animal, les végétaux présentent souvent une diversité beaucoup plus élevée dans leur mode de reproduction. C'est ainsi que les plantes supérieures peuvent fréquemment se reproduire à la fois par voie végétative et par voie sexuée. De même, très souvent, les espèces hermaphrodites ne sont ni strictement allogames ni totalement autogames. Ces anomalies sont sujettes à des variations parfois très importantes. Sans envisager pour l'instant les facteurs à l'origine de ces variations, nous avons formulé deux hypothèses dont les tests font l'objet du présent travail.

Notre première hypothèse est qu'il doit exister une balance entre multiplication végétative et reproduction sexuée.

Notre deuxième hypothèse est que selon le régime de la reproduction (autogamie/allogamie), l'investissement dans les fonctions mâle et femelle devrait être différent.

Ces hypothèses déjà testées, notamment la seconde (Cruden, 1977 et Queller, 1984) par la comparaison d'espèces appartenant à des groupes très variés, méritent d'être testées entre espèces affines et entre individus de la même espèce. L'étude conduite à ce niveau devrait permettre:

- de préciser les caractères associés aux différents modes de reproduction,
- d'analyser les bases génétiques de ces variations et de mieux comprendre leur éventuelle signification adaptative.

Dans cette perspective, nous avons travaillé sur deux espèces de légumineuses pérennes: *Lathyrus latifolius* L. et *Lathyrus sylvestris* L. Ces deux espèces sont hermaphrodites, entomophiles et capables de se reproduire par voies végétative (stolons) et sexuée.

Balance multiplication végétative - Reproduction sexuée

Une étude comparative de ces deux espèces voisines (Hossaert et Valéro, 1985 et 1986) a montré qu'elles se différencient fortement par l'étendue de leur variabilité génétique et de leur balance multiplication végétative par rapport à reproduction sexuée:

L. latifolius a une forte proportion de loci polymorphes et d'individus hétérozygotes. Cette espèce montre une grande variabilité morphologique (notamment dans la couleur des fleurs et la forme des feuilles). En revanche, *L. sylvestris* apparaît beaucoup plus monomorphe dans la plupart des populations étudiées et présente peu de variations phénotypiques.

L'analyse des différentes phases du cycle reproducteur chez ces deux espèces a montré que l'investissement dans la reproduction sexuée (estimation des productions d'inflorescences, de fleurs, de fruits et de graines par tige) était plus élevé chez *L. latifolius*, ce qui expliquerait (en partie au moins) cette différence dans la variabilité enzymatique et phénotypique. *L. sylvestris* compense ce faible pouvoir dans la reproduction sexuée par une plus grande propagation végétative.

Balance autogamie - allogamie

La situation des deux espèces

L'étude du régime de la reproduction grâce à l'emploi de marqueurs alloenzymatiques montre que les plantes des deux espèces sont plutôt allogames (pas d'écart à la panmixie). L'autofécondation est toutefois possible et nous avons montré par des autofécondations contrôlées, qu'elle se produisait plus fréquemment chez *L. sylvestris* que chez *L. latifolius*. L'étude détaillée du régime de la reproduction chez *L. latifolius* (Valéro et al., 1986) fait ressortir qu'il existe un polymorphisme à l'intérieur d'une même population (coexistence de plantes exclusivement autogames, d'autres partiellement allogames et enfin, certaines exclusivement allogames). D'autre part, il apparaît que même chez les individus allogames, l'auto-incompatibilité peut être levée par des autopollinisations répétées, c'est-à-dire par des dépôts successifs d'autopollen sur le stigmate de la fleur (par mise en contact du stigmate avec les anthères de la même fleur). En termes évolutifs, cet effet peut être interprété comme de l'autofécondation retardée: si l'allopollen n'arrive pas, la plante s'autoféconde. Ce phénomène pourrait être spécialement avantageux pour la plante surtout si les pollinisateurs apparaissent être un facteur limitant. Nous avons testé au cours de l'été 1986, l'effet de l'autopollinisation retardée dans une population de *L. sylvestris*. Treize plantes provenant de graines récoltées dans une population naturelle (Pecquencourt), située au Nord de la France, ont subi en terrain d'expérience, trois types de traitements (sur en moyenne 30 fleurs par traitement):

1. fécondations libres: les inflorescences sont laissées libres et les insectes pollinisateurs (essentiellement bourdons, abeilles et papillons en terrain d'expérience) peuvent effectuer des fécondations;
2. autofécondation: les inflorescences sont mises sous sac;
3. autopollinisations répétées: les inflorescences sont mises sous sac et pour chaque fleur, le pollen est mis en contact avec le stigmate.

Les résultats sont présentés dans le tableau I. Il apparaît tout d'abord nettement que les plantes produisent significativement plus de fruits en autopollinisation répétée qu'en autofécondation, ce qui confirme l'hypothèse d'autofécondation retardée. D'autre part, il est possible de distinguer trois types d'individus:

1. des plantes donnant des fruits uniquement en fécondation libre;
2. des plantes donnant des fruits en fécondation libre et en autopollinisation répétée;
3. des plantes donnant des fruits pour les trois types de fécondation.

Ce deuxième résultat confirme qu'un polymorphisme dans le régime de la reproduction existe aussi chez *L. sylvestris*.

Tableau 1: Comparaison des trois types de fécondation: fécondation libre, autofécondation et autopollinisation répétée chez *L. sylvestris*.

		AUTOFECONDATION		
		Témoin	Normale	Autopollinisation répétée
13 individus de <i>L. sylvestris</i>	Nbre total de fleurs	219	318	349
	Gousses /fleurs	0.49 (±0.17)	0.06 (±0.09)	0.23 (±0.18)
	Gousses /fleurs	0.47	0	0
	Gousses /fleurs	0.50 (±0.17)	0	0.21 (±0.11)
1 individu	Gousses /fleurs	0.48 (±0.19)	0.11 (±0.09)	0.28 (±0.21)
5 individus	Gousses /fleurs			
7 individus	Gousses /fleurs			

Influence des différents pollinisateurs sur le régime de la reproduction
Cette hypothèse d'autofécondation retardée peut être mise en relation avec le comportement des pollinisateurs. Comme le montre la figure 1, on peut distinguer deux groupes de pollinisateurs: le premier groupe composé d'Abeilles et Bourdons qui effectuent des visites nombreuses et brèves, toujours inférieures à 1 minute, allant d'inflorescences en inflorescences; les visites étant surtout regroupées l'après midi entre 12h et 17h. Ce type de comportement favoriserait surtout l'allofécondation. Le deuxième groupe est représenté par les bruches. Cet insecte effectue des visites répétées et longues (au minimum d'une minute mais jusqu'à trois heures et demie dans la même fleur pendant la journée). Ces visites sont étalées de 8h à 20h. De plus, les bruches s'alimentent, copulent, et durant la nuit, dorment dans les fleurs (Bashar *et al.*, sous presse). Ce type de comportement favoriserait l'autopollinisation répétée.

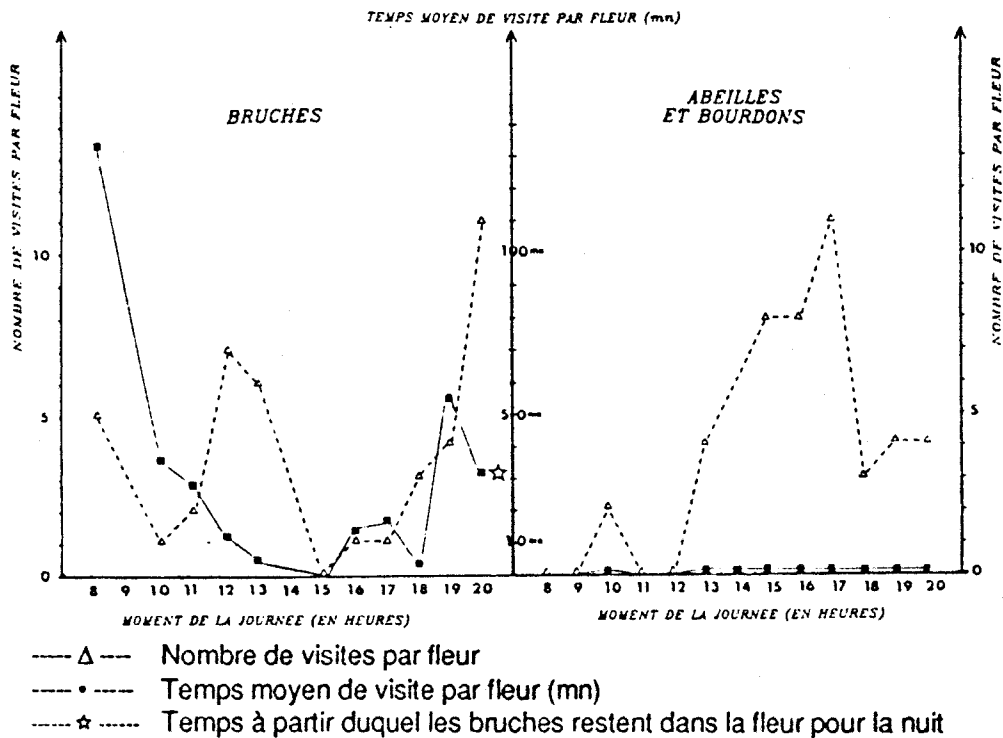


Figure 1: Nombre et temps de visite par fleur chez *L. latifolius*.

Allocation des ressources dans les fonctions mâle et femelle

Une autre observation intéressante chez ces deux espèces est le taux considérable d'avortement entre les stades fleur et gousse (Hossaert et Valero, 1985): 90% des fleurs tombent chez *L. latifolius* et 95% chez *L. sylvestris*. Comment expliquer cet avortement ?

Charnov (1979 et 1982), Charlesworth et Charlesworth (1981) et Queller (1983) suggèrent que le nombre et la longévité des fleurs peuvent être interprétés comme un moyen d'augmenter la probabilité pour une plante hermaphrodite, de donner du pollen et d'assurer ultérieurement sa descendance à travers la fonction mâle. Selon les théories sur la sélection sexuelle, on devrait s'attendre à ce que les plantes allogames et autogames investissent de façon différente dans les fonctions mâle et femelle. Chez les plantes allogames, le grand nombre de pères potentiels entraîne une compétition pollinique importante et donc un investissement supérieur dans la fonction mâle. Chez les plantes autogames, la compétition pour le succès de la fécondation se fera surtout entre apparentés et devrait entraîner un investissement de la plante mère surtout dans la fonction femelle.

Nos résultats ont montré que:

1. *L. latifolius* apparaît plus allogame que *L. sylvestris*,
2. chez ces deux espèces il existe un polymorphisme pour le régime de la reproduction à l'intérieur d'une même population.

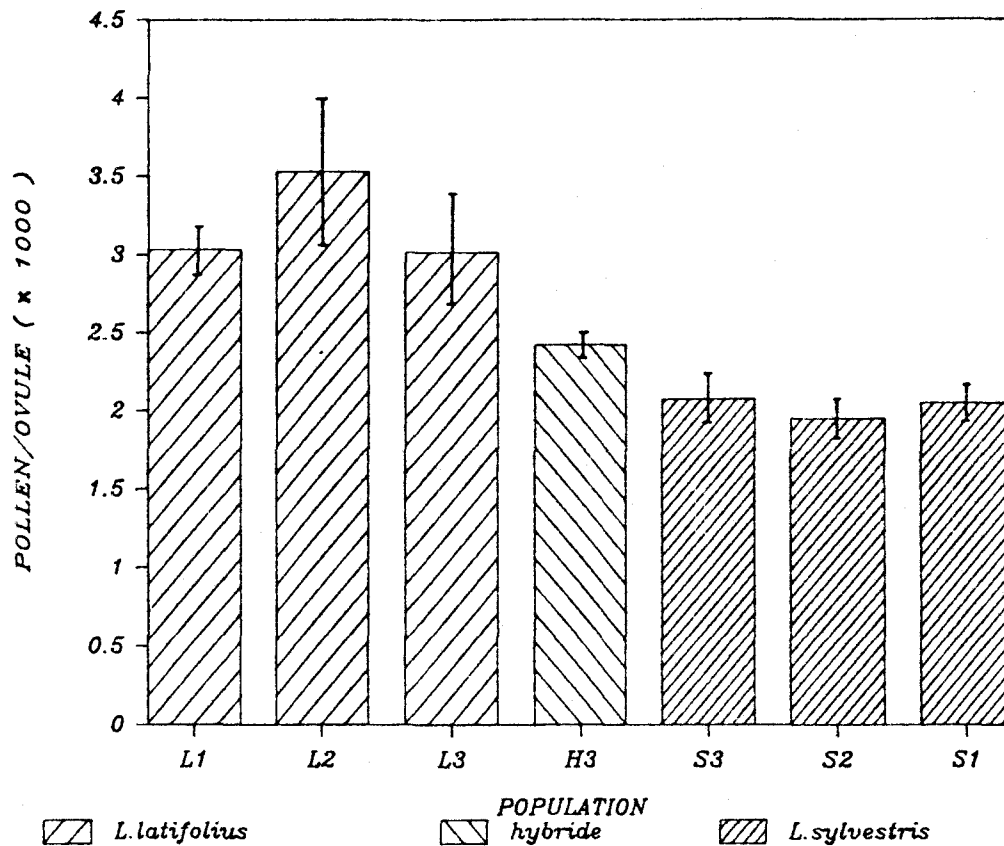
Il était donc particulièrement intéressant de mesurer l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle chez les individus des deux espèces. Ceci a été effectué par l'examen du pollen/ ovule ratio (Cruden, 1977) et par l'étude de la répartition des graines à l'intérieur des gousses (Bawa et Webb, 1984).

Pollen/ ovule ratios (P/O).- Pour un même individu le nombre de grains de pollen ainsi que le nombre d'ovules produits par fleur ont été comptés. Le rapport nombre de grains de pollen sur nombre d'ovules donne le P/O ratio. Ce rapport a été calculé sur un minimum de deux fleurs par individu. Trois populations de *L. latifolius*, trois de *L. sylvestris* et une population d'individus hybrides entre les deux espèces (du point de vue morphologique et enzymatique) ont été étudiées. Les résultats obtenus sont donnés figure 2. Dans les trois populations de *L. latifolius*, le P/O est significativement supérieur à celui observé dans les trois populations de *L. sylvestris*. Il semble donc que l'espèce la plus allogame investisse plus dans la fonction mâle que celle qui est moins allogame. D'autre part, les plantes hybrides montrent un P/O intermédiaire entre les deux espèces, ce qui laisse supposer que ce rapport a une forte héritabilité. Enfin, le P/O obtenu chez les deux espèces varie entre 2 000 et 3 500, ce qui correspond bien, d'après la classification de Cruden (1977), à ce qu'on obtient chez des plantes allogames (compris entre 800 pour les plantes essentiellement xénogames et 5 900 pour celles qui sont strictement xénogames alors qu'on obtient seulement 190 pour les plantes essentiellement autogames).

Dans la figure 3 est représenté, pour chaque individu, son investissement dans la fonction mâle (nombre de grains de pollen par fleur) et femelle (nombre d'ovules produits par fleur). Il apparaît très nettement que d'une façon générale, les individus de *L. sylvestris* investissent à la fois moins dans les fonctions mâle et femelle que ceux de *L. latifolius*. Ceci vérifie le résultat discuté plus haut montrant que cette espèce investit globalement moins dans la reproduction sexuée. En ce qui concerne *L. latifolius*, on observe de très grandes variations dans l'allocation des ressources entre les différents individus étudiés. Il semble donc particulièrement intéressant d'étudier la variation du P/O en fonction du régime de reproduction des individus.

Modèle gousse.- Un autre moyen d'aborder l'étude de l'allocation des ressources est de s'intéresser au compartiment gousse (Bawa et Webb, 1984; Lee et Bazzaz, 1986). En effet, la gousse est une structure linéaire où l'on peut distinguer deux effets ou gradients: l'effet pollinisation (mâle) décroissant du style au pédoncule et l'effet maternel de nutrition des ovules décroissant du pédoncule au style (figure 4). Dans les gousses mûres, il est possible de distinguer trois types d'"ovules": 1. ovules non fécondés, 2. graines avortées, 3. graines mûres. La position de ces trois types d'"ovules" permet de détecter l'influence respective des gradients mâle et femelle dans la gousse. Les résultats (figure 5) montrent

que l'hypothèse des deux gradients dans la gousse semble se vérifier puisque chez *L. latifolius* (figure 5a) comme chez *L. sylvestris* (figure 5b), le nombre d'ovules non fécondés augmente au fur et à mesure qu'on s'éloigne du style. Le nombre de graines avortées, en revanche diminue, lorsqu'on s'éloigne du style (cet effet est beaucoup plus net chez *L. latifolius*). Il en résulte que la majorité des graines formées se trouve plutôt vers le style chez *L. latifolius*, ce qui montre, encore une fois, l'importance de l'effet mâle chez cette espèce plus allogame. En revanche, chez *L. sylvestris*, la répartition des graines mûres est plus régulière dans la gousse avec un effet mâle moins important. Cette différence dans la répartition des graines mûres a été testée par une analyse de variance hiérarchisée qui a révélé que dans le premier quart de la gousse, le plus près du pédoncule, là où l'effet maternel est le plus important, on a significativement plus de graines formées chez *L. sylvestris* ($F = 7.85$ pour 1 d.d.l.); alors que dans le troisième quart de la gousse près du style, c'est-à-dire là où l'effet paternel est le plus important, on a significativement plus de graines formées chez *L. latifolius* ($F = 7.14$ pour 1 d.d.l.).



Populations de L. latifolius

L1 (n = 15): AVION (Nord)

L2 (n = 5): CADILLON (Béarn)

L3 (n = 8): LESSINES (Belgique)

Populations de L. sylvestris

S1 (n = 6): URDOS (Béarn)

S2 (n = 3): PECQUENCOURT (Nord)

S3 (n = 10): LESSINES (Belgique)

Population d'hybrides: H3 (n = 14): LESSINES (Belgique)

(n = taille de l'échantillon)

Figure 2: Pollen / ovule ratios.

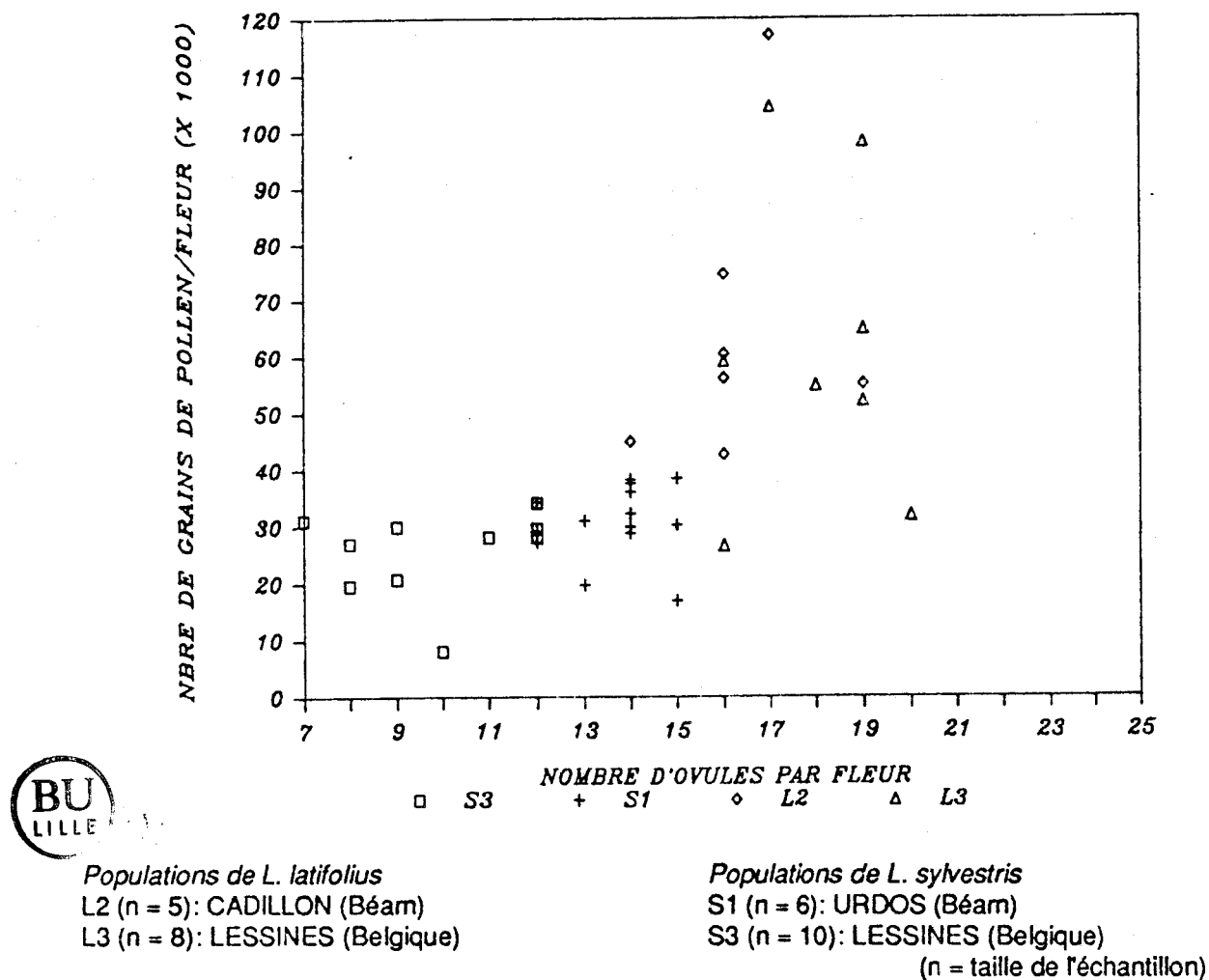


Figure 3: Allocation des ressources dans les fonctions mâle et femelle.

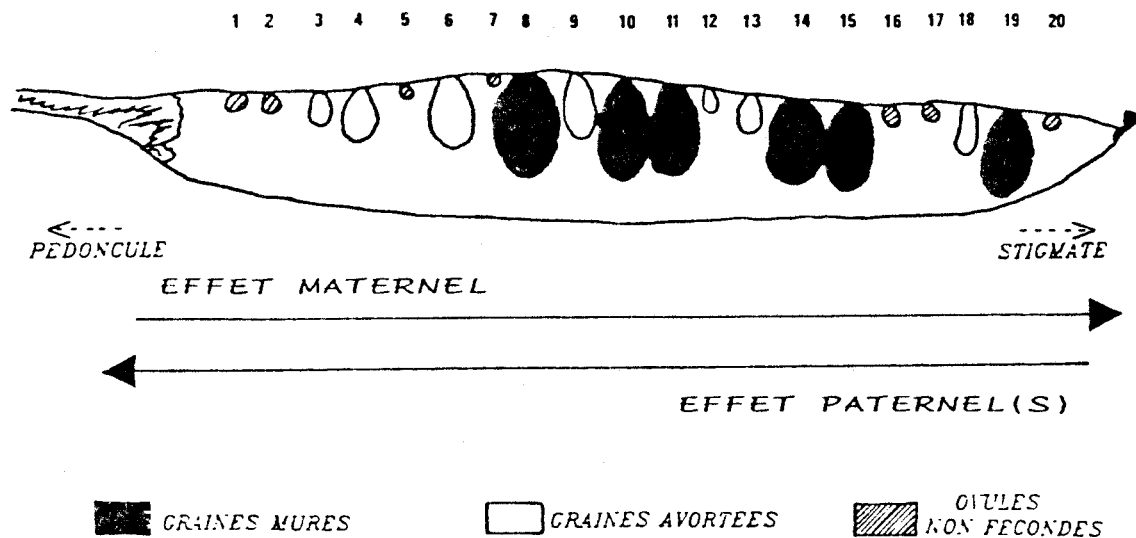
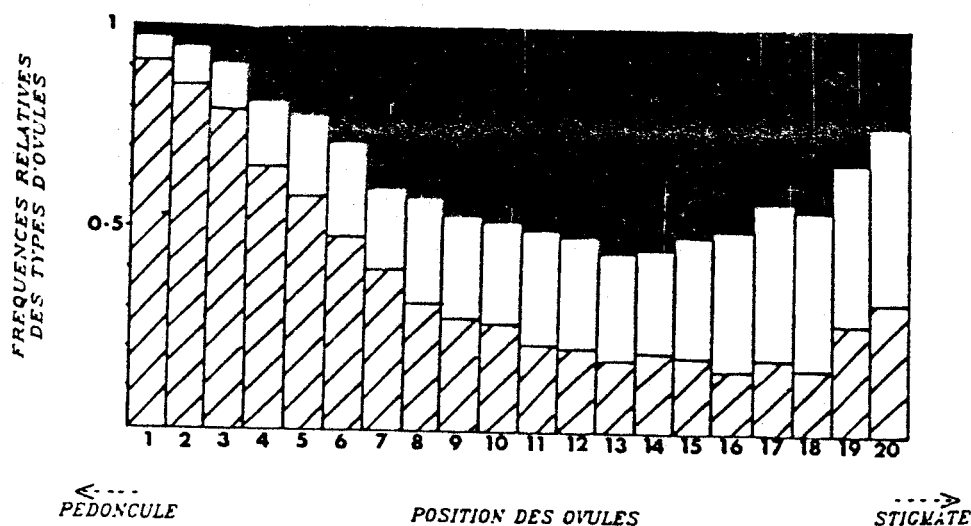
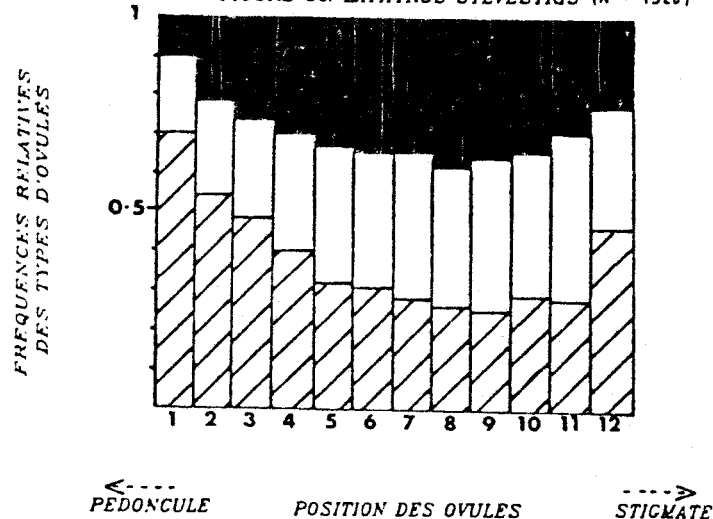


Figure 4: Modèle gousse - Position des ovules.

FIGURE 5a: *LATHYRUS LATIFOLIUS* (N = 627)FIGURE 5b: *LATHYRUS SYLVESTRIS* (N = 1320)

■ GRAINES MURES □ GRAINES AVORTEES ▨ OVULES NON FECONDES
 N = nombre de gousses étudiées

Figure 5: Répartition des ovules.

Conclusion

Chez *L. latifolius*, la faible quantité de gousses obtenues en autofécondation d'une part, le pollen/ovule ratio plus élevé et le modèle gousse observé d'autre part, montrent que l'investissement mâle est plus important chez cette espèce que chez *L. sylvestris* et qu'il peut être mis en relation avec le régime de la reproduction. Les résultats concernant la variation entre individus à l'intérieur d'une même population sont en cours d'analyse.

Il semble que cet investissement dans la fonction mâle peut expliquer en grande partie la surproduction de fleurs observée chez les deux espèces. Cependant, d'autres facteurs doivent intervenir (en effet *L. sylvestris* montre une chute de fleurs au moins aussi importante que *L. latifolius*) et notamment la consommation des fleurs par les herbivores qui peut être très importante chez ces légumineuses (Hossaert et Valéro, 1985).

Remerciements. Nous tenons à remercier Claude Lefevre, Raymond Marten, Michèle Maetie, Florence Petit, Geneviève Tortay pour leur aide technique sur les différents aspects de ce travail. Nos remerciements vont aussi à J.P. Masson (E.N.S.A., Rennes) pour ses conseils et son aide dans les traitements statistiques effectués sur le modèle gousse. Notre gratitude va à Daniel Dive (INSERM, Dpt. de Toxicologie, Villeneuve d'Ascq) qui a bien voulu mettre à notre disposition son matériel pour les comptages polliniques. Enfin notre reconnaissance va à Monique Acheroy, Véronique Boutin, Anissa Chaib, Christophe Destombe, Alexis Ducouso, Annick Fauquembergue, Doyle Mc Key, Danièle Magda, Daniel Petit et Pierre Saumitou-Laprade pour leur aide sur le terrain et leurs fréquentes participations aux discussions sur notre travail. Ce travail a été financé par une Action D.G.R.S.T. "Ecologie et Aménagement rural: Conservation des Ressources Génétiques" et par une Aide à la Biologie du M.E.N. de 1982 à 1984.

Références

- Bashar A., Fabres G., Hossaert M., Valéro M. & Labeyrie V. Sous presse: *Bruchus affinis* and the flowers of *Lathyrus*: an exemple of the complexity of relations between a plant and a phytophagous insect, specialist of the consumption of grains. 6th. International Symposium on Insect-Plant Relationships, 1-5 juillet 1986. Pau, France.
- Bawa K.S. & Webb C.J., 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *Amer. J. Bot.*, 71: 736-751.
- Charlesworth D. & Charlesworth B., 1981. Allocation of resources to male and female functions of hermaphrodites. *Biol. J. Linn. Soc.*, 15: 57-74.
- Charnov E.L., 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 76: 2480-2484.
- Charnov E.L., 1982. The theory of sex allocation. Princeton Univ. Press, Princeton.
- Cruden R.W., 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution*, 31: 32-46.
- Hossaert M. & Valéro M., 1985. Differences in population biology within the *Lathyrus sylvestris* group (Leguminosae: Papilionaceae). In: Structure and functioning of plant population, vol. 2. J. Haeck and J.W. Woldendorp (editors). PUDOC, Wageningen: 65-75.
- Hossaert M. & Valéro M., 1986. Vegetative propagation and sexual reproduction in two perennial *Lathyrus* species. Premier Colloque International sur les *Lathyrus*, 9-13 septembre 1985, Pau, France, sous presse.
- Lee T.D. & Bazzaz F.A., 1986. Maternal regulation of fecundity: non random ovule abortion in *Cassia fasciculata* Michx. *Oecologia*, in press.
- Queller D.C., 1983. Sexual selection in hermaphroditic plants. *Nature*, 305: 706-707.
- Queller D.C., 1984. Pollen-ovule ratios and hermaphrodite sexual allocation strategies. *Evolution*, 38 (5): 1148-1151.
- Valéro M., Youssef A., Vernet P. & Hossaert M., 1986. Is there a polymorphism in the breeding system of *Lathyrus latifolius* ? Premier Colloque International sur les *Lathyrus*, 9-13 septembre 1985, Pau, France, sous presse.

Myriam VALERO, Brigitte CARON, Alida YOUSSEF, Philippe VERNET
Université des Sciences et Techniques de Lille, Flandres, Artois
Laboratoire de Génétique Ecologique et de Biologie des Populations Végétales
59655 VILLENEUVE D'ASCQ Cedex

Martine HOSSAERT
Université de Pau et des Pays de l'Adour
Institut de Biocénétique Expérimentale des Agrosystèmes
64000 PAU

ANNEXE 3

BRUCHUS AFFINIS AND THE FLOWERS OF LATHYRUS LATIFOLIUS: AN EXAMPLE OF THE COMPLEXITY OF RELATIONS BETWEEN PLANTS AND PHYTOPHAGOUS INSECTS

A. BASHAR¹, G. FABRES², M. HOSSAERT¹, M. VALERO³, V. LABEYRIE¹

1. IBEAS, UA CNRS 340, Campus universitaire, 64000 Pau, France

2. ORSTOM, IBEAS, Campus universitaire, 64000 Pau, France

3. USTL, Laboratoire de génétique, 59155 Villeneuve d'Asq, France

Since Ehrlich & Raven (1964) introduced the concept of coevolution, phytophagous insects have been used to demonstrate mechanisms of coadaptation between plants and insects. G. Fraenkel (1959) had already stated that the "raison d'être of secondary plant substances" is an adaptation of plants to the attacks of insects. In most of the studies on this matter, attention is paid to the consumption of the plant tissues by insect larvae. Relationships between the adults of *Bruchus affinis* Frölich (Col. Bruchidae) and *Lathyrus* spp. (Leguminosae) prove that the mechanisms involved can be much more complex.

Lathyrus latifolius is a perennial semi-herbaceous vine which propagates by stolons. Pollination is by insects and the breeding system is essentially allogamous. Flowering and production of pods last three months (July, August and September) in the northern part of Béarn, France.

Bruchus affinis is a univoltin species. Adults emerge from pupae at the end of summer and live about 11 months, but they do not reproduce until they have undergone a reproductive diapause of nine months. Sexual activity and vitellogenesis do not start until the end of spring. At the beginning of summer, the females stick several isolated eggs on the young, green smooth pods of *L. latifolius*, *L. sylvestris* and *L. tuberosus*.

On hatching, larvae bore into the pods and then into the young seeds. As soon as the cotyledons have started growing, only one larva completes its development in each seed, after the elimination of the others. At the end of summer, after the dehiscence of the mature pods, a maximum of one adult emerges from each seed (Fig. 1).

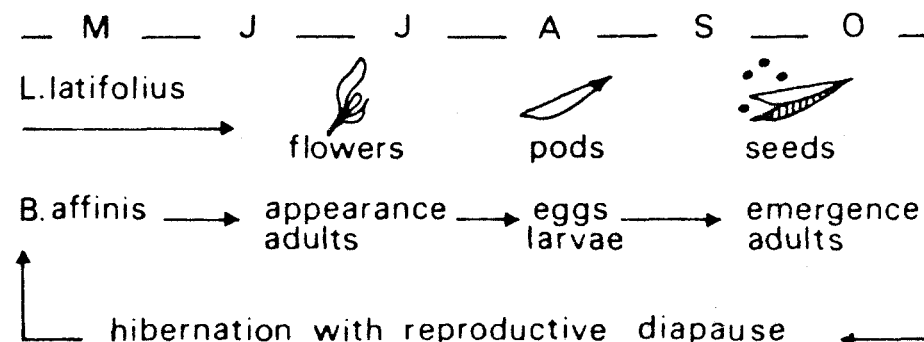


Fig. 1. Life cycle of *B. affinis* in relation to *L. latifolius*.

They show immediate activity; their fat body is whitish and very large while gonads are poorly developed. Although there are many adults emerging from the seeds, it becomes rapidly impossible to observe them on the late flowers of *L. latifolius* or on other flowers of the same colour. Adults emerging from seeds, kept in the laboratory, and confined with flowers of *L. latifolius* are not attracted to them.

A few adults were collected in winter under the bark of trees, near the populations of *Lathyrus*. Nevertheless, places where the adults gather during winter might exist. The bruchid numbers seem to be little reduced during the long period of reproductive diapause.

At the end of May, in Béarn, adults can be easily observed, for they visit the yellow flowers of *L. pratensis* in the neighbourhood of populations of *L. latifolius*. Their mouth parts are often covered with pollen. We have never found them feeding on the flowers of other plants.

Most of the adults collected in June on the flowers of *L. latifolius* have a large fat body. On the other hand, adults kept in cages outdoors, and fed with water and honey, have used all their reserves. Others, confined in petri dishes at 4°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) still have a fat body similar to the one at the end of their larval development. Transferred to the outside temperature, they consume it rapidly.

Females of the adult stock and kept at 4°C, have been fed for more than one month with pollen of *Vicia sativa* and *L. pratensis*. Among the females fed with the pollen of *L. pratensis*, 15 of 22 showed pollen grains in their digestive tube and some of them (9/22) a whitish and abundant fat body. In the second experiment, the females fed with *V. sativa* showed no pollen grains and no fat body. Although they were confined with males, none of them were inseminated whatever the experiment (Bashar et al., 1985).

As soon as the flowers of *L. latifolius* appear, *B. affinis* adults leave the flowers of *L. pratensis* to reach those of *L. latifolius* (Fig. 2). One week after this move, some of the females collected in the field (6/15) contain mature ovocytes, a yellowish and abundant fat body, and they are inseminated. In the laboratory as well, females confined with males on *L. latifolius* flowers are inseminated, have an abundant yellowish fat body and ovocytes in retention (9 to 23 depending on the individual) (Table 1).

Expt.	number of <i>B. affinis</i>	duration in days	pollen in digestive tube	fat body	sperm in	ovocyte per female retention	vitello
	+	-		-	0	-	-
labo	10	14	+++	yellow	+++	14,6 ± 3.8	18.1 ± 4.2
field	15	9	+++	yellow	+++	4.3 ± 2	10 ± 3.2

During the day, adults fly over populations of *Lathyrus* and direct themselves towards the flowers, on which they land frequently. On the other hand, they land indifferently on any vegetative structure of any plant in the site. They walk about on the mass of vegetation and seem to find the green pods of *Lathyrus* at random. Once a suitable pod is located the female explores it carefully before sticking on her eggs.

Therefore, the flower is the only structure capable of attracting bruchids to the plant and is attractive even before anthesis, and through the color changes during the flowering period. The nature of this attraction is unknown; chromatographic methods have revealed no terpenes.

B. affinis adults get into the flowers, while they are still green and closed, by opening the standard. In well opened flowers, adults can be observed deeply settled into the corolla and others opening the anthers.

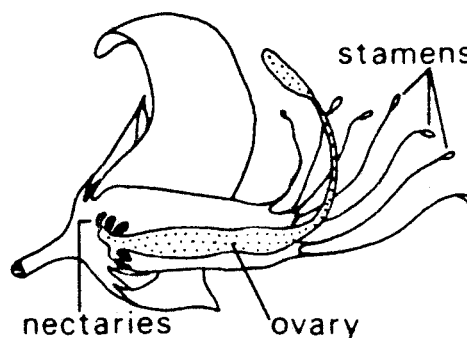
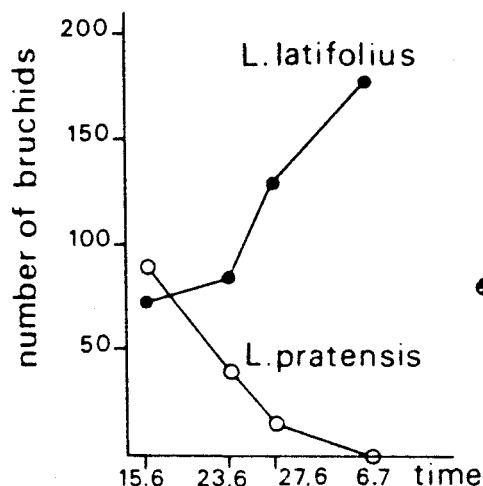


Figure 3. Cross section of a young mature flower of *L. latifolius*.

Figure 2. Displacement of *B. affinis* adults from *L. pratensis* to *L. latifolius*.

The flowers of *Lathyrus* have a ring of nectaries at the base of the staminal column, around the ovary (Fig. 3). Nectar has been collected, five times a day, at different dates, from flowers at different stages of development (unfortunately the damage done to the flowers does not allow the use of the same flower for several nectar collections). Nectar production starts before the opening of the flowers and soon becomes copious. Rate of nectar secretion and sugar concentration, both vary significantly with time of day and among inflorescences and plants (Hossaert et al., 1985).

The flowers are visited by *B. affinis* with a high frequency. In a *Lathyrus* population with a low density of *B. affinis*, two observers have followed, during 12h of a sunny day, (12.07.85, from 06h00 to 19h30 GMT with a break between 11h45 and 13h00, 44°lat.north-0°long day time from 04h34 to 19h40) the movements of the adults on 20 inflorescences (Table II).

For the duration of 10h15 of observation time, we recorded about 5 visits of *B. affinis* per inflorescence. The first visits occurred about 08h00. After 21h30, landings on flowers are not followed by new take-offs.

Just before nightfall, adults get into the flowers and remain there over night, one or several per flower; no movement of bruchids is recorded

Table II.

observation period	duration	No. landings observed	No <i>B. affinis</i> /h
8 am - 11 am - 5 am 1 pm - 3.45 pm	5 h 45	41	7.1
1 pm - 7.30 pm	4 h 30	65	14.4
total	10 h 15	106	10.3

during the night. When the weather is clear, flowers open within one hour after sunrise and, less than one hour later, *B. affinis* adults take off from the keel of the flowers. When the weather is cloudy, very few take-offs are recorded (Table III).

Table III. Observations on 20 inflorescences, 12.7.1985.

Night flights	take-offs before 08h00	diurnal visits	evening landings.
0	5	106	4

The number of adults reaching the flowers in the evening is similar to the number of adults escaping from them in the morning. This number is much lower than the number of the visits to flowers during the day. Two hypotheses can be proposed to explain these data:

a) if the adults visiting the flowers during the day and coming back to the same flowers to spend the night are the same; then the five residents observed previously would each make, on average, 20 visits during that time. According to this hypothesis, the same inflorescences would be used equally for resting and for feeding.

b) diurnal visits and nocturnal rests are independent with respect to the flowers. Some flowers would be used for resting and others for feeding.

The first hypothesis seems to be more likely, since independently conducted observations of adult behaviour, show that flowers are visited twice per hour.

This foraging activity of *B. affinis* adults on flowers of *L. latifolius* might have important consequences on the transportation and germination of the pollen, and on the fertilization of ovules as well.

Anthesis takes place two to three days before the stigma is receptive. After the opening of the anthers, the pollen grains fall down into the keel where they accumulate, but they remain able to germinate for five days. Therefore, the autopollen can be transferred to the stigma by insects moving about within the flower. Germination is then possible provided the surface of the stigma has been disturbed. The larger and more frequent are the insects, the greater the ease of penetration of the pollen into the style. Experimental manipulations have shown that repetitive intervention make the penetration easier (Valero et al., 1986). This seems to be necessary when there is no allopollen.

B. affinis not only can contribute to the transport of pollen to the flowers of this allogamous plant, it can also facilitate autogamy by moving

into the flowers when searching for pollen or nectar or sleeping inside the flower.

When visiting the flowers of *L. latifolius*, the adults of *B. affinis* can have effects on pollination at three different levels: stigmatic receptivity; transfer of autopollen from the bottom of the keel to the stigma; and bringing of allopollen. This "bringing" may not be uniform: the longer the bruchid stays in one flower, the higher the probability of its carrying pollen grains out of this flower: and we do not know if the same adults come back to the same flowers several successive nights and if the nectar of certain flowers is preferred to that of others.

One cannot forget that thrips stay in flowers as well and that numerous hymenoptera visit them. During the field observation, mentioned above, 137 visits of hymenoptera were recorded against 106 of the bruchid. But what is worth considering, is the narrow specialization of the trophic relationship between the adults of *B. affinis* and the flowers of *L. latifolius*. Only the flowers of three species of *Lathyrus* (*L. latifolius*, *L. sylvestris*, *L. tuberosus*) are capable of stimulating the gametogenesis of *B. affinis*. This specialization can be a contribution to the reproduction of these species.

At a first glance, it seems that *B. affinis* profits to the *Lathyrus* and conversely that, of course, *Lathyrus* entertains *B. affinis*.

Before concluding that a new example of coevolution exists between plants and insects, one must not forget that bruchid larvae are the only insects able to feed on the growing seeds and that in certain locations, 90% of them can be destroyed in such a way. Consequently it seems necessary to put the question: what is the importance of increasing the pollination efficiency in a plant species that reproduces also by stolons?

Before drawing any conclusion on the adaptative value of the attractiveness of the flowers for the bruchids, it is necessary to stress the importance of the relationships between the two species, and by viewing this in context to the ecological requirements of these two elements of the biotic community.

Finally, if one wishes to avoid seeing an adaptative advantage in every trait of the behaviour of an insect, it is necessary to recognise, as did Jacob (1981), that no adaptation can be perfect because it is a result of "tinkering" imposed by historical constraints. This "panglossism", using the term of Gould & Lewontin (1979), can only obscure our judgment and bias any attempt of analysis.

Acknowledgements

This work was made with a grant of Centre National de la Recherche Scientifique: A.I.P. "Biologie des Populations" 959-143 and 959-34/800. We thank G. Tortay for technical assistance.

References

- Bashar A., Fabres G. & Labeyrie V., in press. Stimulation of ovogenesis by flowers of *Lathyrus sylvestris* and *L. sylvestris* in *Bruchus affinis*. 1st Int. Coll. *Lathyrus*. (Combes & Kaul, eds), Pau, France.

- Ehrlich P.R. & Raven P.H., 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.
- Fraenkel G.S., 1959. The raison d'être of secondary plant substances. *Science* 121: 887-893.
- Gould S.J. & Lewontin R., 1979. The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. *Proc. R. Soc. Lond., B; Biol. Sci.* 205: 581-598.
- Hossaert M., Bashar A. & McKey D., in press. Floral nectar production in relation to insect activity in *Lathyrus latifolius*. 1st Int. Coll. *Lathyrus*. (Combes & Kaul, eds), Pau, France.
- Jacob F., 1981. Le jeu des possibles. Fayard, Paris.
- Valero M., Hossaert M., Caron B., Youssef A. & Vernet P., in press. Allocation des ressources chez deux espèces de *Lathyrus* perennes. Coll. CNRS. Biologie et Génétique des Populations. Lyon, France.

ANNEXE 4

DETERMINISME GENETIQUE DES SYSTEMES ENZYMATIQUES ETUDIES.

Les 4 systèmes enzymatiques suivants, se sont révélés polymorphes chez les deux espèces:

- Glutamate Oxaloacétate Transaminases (GOT)
- Leucine Amino Peptidases (LAP)
- Estérases (EST)
- Phosphatases Acides (ACPH).

Une représentation schématique des différents types de zymogrammes obtenus chez les individus des deux espèces est donnée pour chacun des 4 systèmes enzymatiques dans les figures 1 à 4 respectivement.

Deux zones de migration se distinguent pour le système GOT (figure 1): dans la zone de migration rapide (GOT1), des bandes à deux niveaux différents sont mises en évidence chez L. sylvestris alors qu'un seul niveau seulement est observé jusqu'à présent chez les individus de L. latifolius; dans la zone de migration plus lente (GOT2), 3 niveaux différents chez L. sylvestris et 5 chez L. latifolius sont mis en évidence. Les différentes figures observées dans la zone GOT1 présentent soit une seule bande à chacun des deux niveaux, soit les deux bandes simultanément chez un même individu. Ce type de figure semble correspondre à un locus polymorphe avec deux allèles (niveaux 1 et 2) spécifiant une enzyme monomère. Les différents phénotypes observés dans la zone GOT2 présentent soit une seule bande à trois niveaux différents (1, 2 et 3), soit 3 bandes simultanément chez un même individu. Ce type de figure semble correspondre à un locus polymorphe avec 3 allèles (niveaux 1, 2 et 3) spécifiant une enzyme dimère.

Les zymogrames obtenus pour le système LAP (figure 2) présentent également 2 zones de migration, mais seule la zone de migration rapide est bien lisible (LAP1). Cinq niveaux de migrations différents sont mis en évidence chez les individus de L. sylvestris, alors que 2 niveaux seulement ont été dénombrés chez L. latifolius. Les différents zymogrames obtenus montrent soit une seule bande à un des 5 niveaux, soit la coexistence de deux niveaux différents chez un même individu. Le déterminisme génétique de ce système semble, comme pour le système GOT1, être contrôlé par un locus avec 5 allèles (niveaux 1 à 5) spécifiant une enzyme monomère.

Pour le système EST (figure 3), quatre zones de migrations différentes apparaissent chez L. sylvestris, alors que chez L. latifolius, la zone de migration EST4, la plus lente, n'est pas observée. Les différentes figures obtenues dans la zone EST1 se retrouvent identiques dans la zone EST2. Dans ces deux zones 3 niveaux différents sont dénombrés chez L. latifolius et 2 seulement chez L. sylvestris. Seuls des phénotypes à une bande ou à deux bandes sont observés et suggèrent comme précédemment l'existence d'un locus à 3 allèles (1, 2 et 5) spécifiant une enzyme monomère dans chacune des 2 zones. La zone de migration EST3 n'est pas apparue variable. La zone de migration EST4, montre 2 niveaux différents et suggère l'intervention d'un locus à 2 allèles (1 et 2) spécifiant une enzyme monomère.

Le système ACPH montre 2 zones de migration dont seule la plus rapide (ACPH1) est lisible. Cinq niveaux de migration différents sont mis en évidence au total, mais chez L. latifolius, le niveau 5 est inexistant et chez L. sylvestris,

le niveau 4 n'a pas été observé. Les phénotypes observés suggèrent l'intervention d'un locus polymorphe pour 5 allèles (1 à 5) spécifiant une enzyme monomère dans cette zone.

Ces différentes hypothèses sur le déterminisme génétique des systèmes enzymatique ont été testées par l'étude de descendance issues de croisements contrôlés d'une part (tableau 1, chez L. latifolius), et de descendance maternelles issues de pollinisations libres (tableau 2, chez L. latifolius et tableau 3, chez L. sylvestris). Les résultats permettent de confirmer les différentes hypothèses posées pour les loci GOT1, GOT2, EST1, LAP1 et ACPH1. Le locus EST2 semble lié très fortement au locus EST1, il n'a donc pas été pris en compte. Le locus EST4, n'est présent que chez L. sylvestris, des croisements ne sont pas disponibles pour ce locus, mais les différentes figures obtenues dans les populations naturelles semblent confirmer l'hypothèse émise. Quoiqu'il en soit, il ne sera pas utilisé dans la présente étude.



TABLEAU 1 : Déterminisme génétique des systèmes enzymatiques par l'étude des descendance de croisements contrôlés chez L. latifolius

LOCUS	TYPES DE CROISEMENT	GENOTYPES PARENTAUX	GENOTYPES ET PROPORTIONS ATTENDUS DANS LA DESCENDANCE	GENOTYPES ET PROPORTIONS OBSERVES DANS LA DESCENDANCE
GOT2	A	(11) x (11)	100 % (11)	27/27 (11)
	B	(11) x (12)	50 % (11) + 50 % (12)	10/24 (11) + 14/24 (12)
	C	(11) x (13)	50 % (11) + 50 % (12)	9/16 (11) + 7/16 (13)
	D	(12) x (13)	25 % (11) + 25 % (12) + 25 % (13) + 25 % (23)	2/10 (11) + 3/10 (12) + 3/10 (13) + 2/10 (23) 3/17 (11) + 6/17 (12) + 5/17 (13) + 3/17 (23)
	E	(33) x (33)	100 % (33)	16/16 (33)
LAP1	A	(11) x (11)	100 % (11)	27/27 (11)
	B	(11) x (22)	100 % (12)	25/25 (11) 16/16 (12)
	C	(12) x (22)	50 % (12) + 50 % (22)	27/27 (12) 6/14 (12) + 8/14 (22)
	D	(12) x (12)	25 % (11) + 50 % (12) + 50 % (22)	7/16 (12) + 9/16 (22) 7/19 (12) + 8/19 (22) + 4/19 (11)
	A	(11) x (11)	100 % (11)	26/26 (11)
EST1				14/14 (11)
	B	(11) x (12)	50 % (11) + 50 % (12)	16/16 (11) 25/25 (11) 13/26 (11) + 13/26 (12)

TABLEAU 2 : Déterminisme génétique des systèmes enzymatiques par l'étude des descendances de fécondations libres chez L. latifolius

LOCUS	GENOTYPES PARENTAUX	GENOTYPES ET PROPORTIONS OBSERVES DANS LA DESCENDANCE
GOT2	(22) x ?	27/33 (22) + 6/33 (12)
		20/21 (22) + 1/21 (12)
		34/38 (22) + 4/38 (12)
	(12) x ?	7/22 (22) + 14/22 (12) + 1/22 (11) 5/15 (22) + 8/15 (12) + 2/15 (11) 18/40 (22) + 19/40 (12) + 3/40 (11)
LAP1	(22) x ?	17/19 (22) + 2/19 (12)
		17/17 (22)
		34/38 (22) + 4/38 (12)
	(12) x ?	11/33 (22) + 16/33 (12) + 6/19 (11) 5/22 (22) + 11/22 (12) + 6/22 (11)
EST1	(22) x ?	17/19 (22) + 2/19 (12)
		16/17 (22) + 1/17 (12)
		29/33 (22) + 4/33 (12)
	(12) x ?	6/22 (22) + 15/22 (12) + 1/22 (11)
ACPH1	(22) x ?	13/19 (22) + 6/19 (12)
		7/11 (22) + 4/11 (12)
	(12) x ?	11/33 (11) + 16/33 (12) + 6/33 (22)
	(11) x ?	18/22 (11) + 4/22 (12)
		12/17 (11) + 5/17 (12)

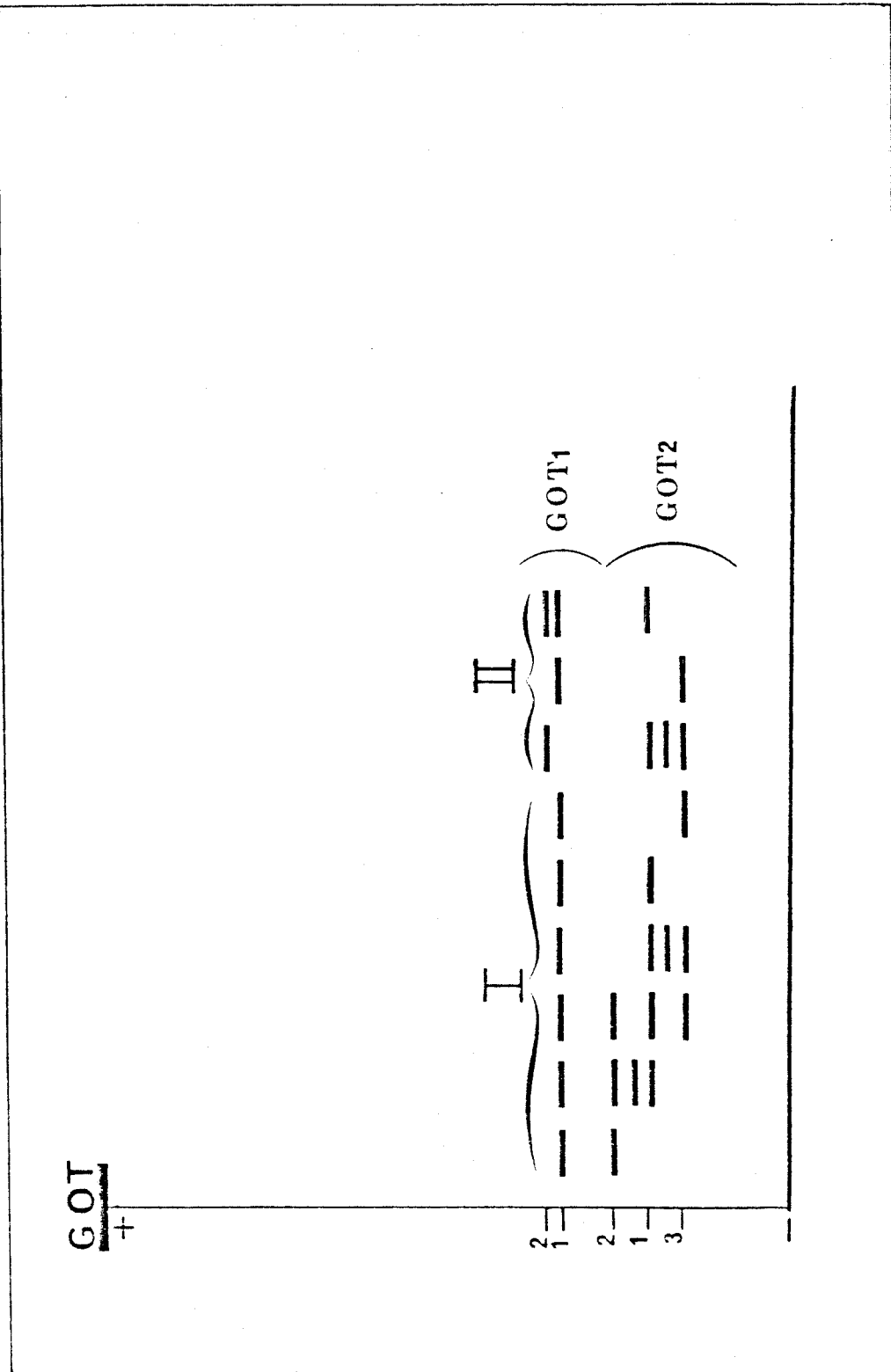


TABLEAU 3 : Déterminisme génétique des systèmes par l'étude des descendance
de fécondations libres chez L. sylvestris

LOCUS	GENOTYPES PARENTAUX	GENOTYPES ET PROPORTIONS OBSERVES DANS LA DESCENDANCE
GOT1	(22) x ?	33/33 (22) 47/47 (22) 3/14 (12) + 11/14 (22)
	(12) x ?	9/22 (11) + 6/22 (12) + 7/22 (22)
GOT2	(11) x ?	33/33 (11)
		47/47 (11)
LAP1	(44) x ?	26/30 (44) + 4/30 (14)
		14/17 (44) + 3/17 (14) 27/28 (44) + 1/28 (14)
EST1	(11) x ?	57/57 (11)
		47/47 (11)
ACPH1	(22) x ?	36/36 (22)
		39/46 (22) + 1/40 (24) 12/13 (22) + 1/13 (12)

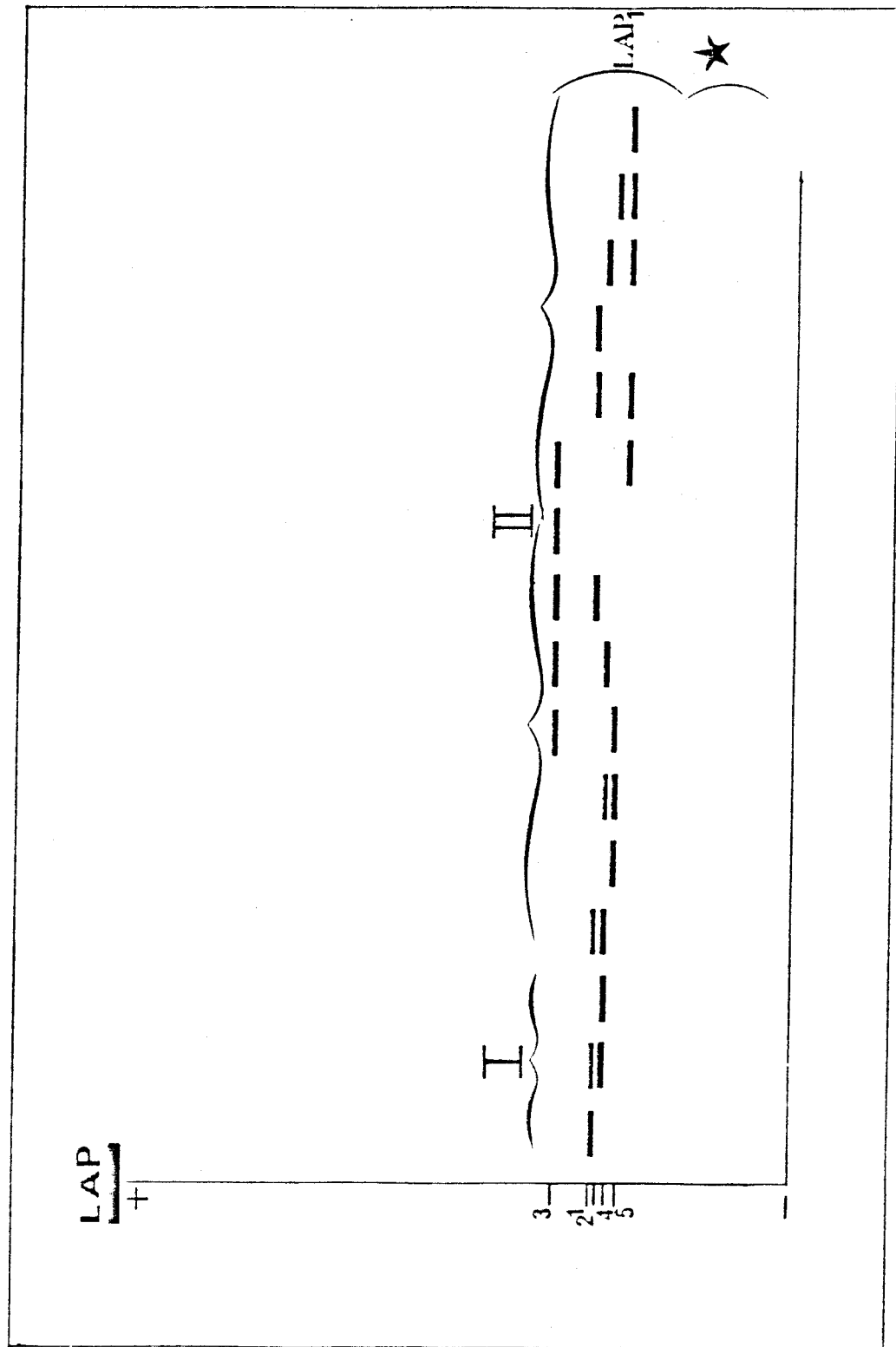


FIGURE 1 : Différents types de zymogrames observés chez les deux espèces pour le système enzymatique GOT



I : Zymogrames observés chez L. latifolius
 II : Zymogrames observés chez L. sylvestris

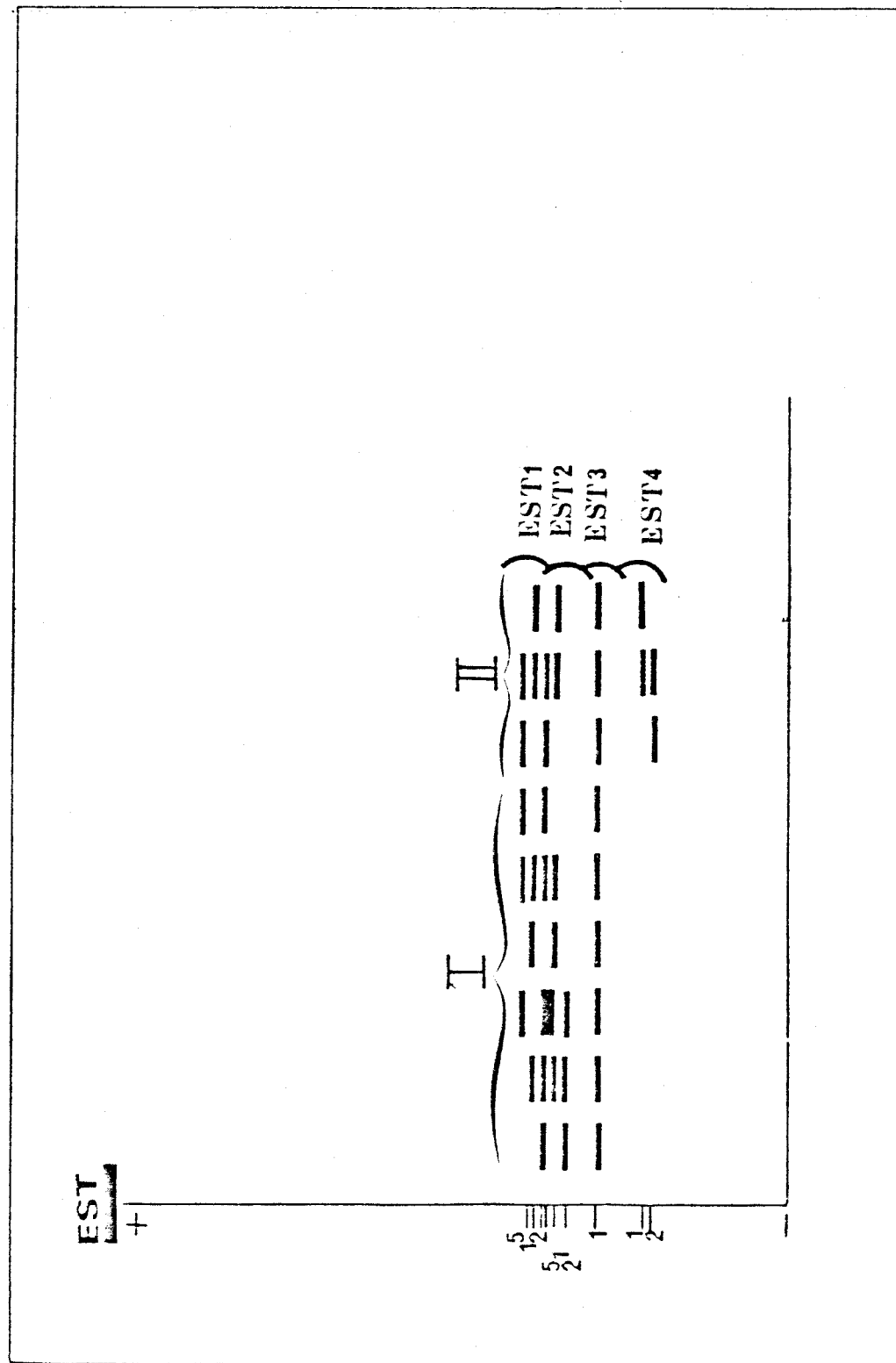
FIGURE 2 : Différents types de zymogrames observés chez les deux espèces pour le système enzymatique LAP



- ★ : Bandes illisibles à ce niveau
- I : Zymogrames observés chez *L. latifolius*
- II : Zymogrames observés chez *L. sylvestris*

FIGURE 3 : Différents types de zymogrames observés chez les deux espèces pour le système

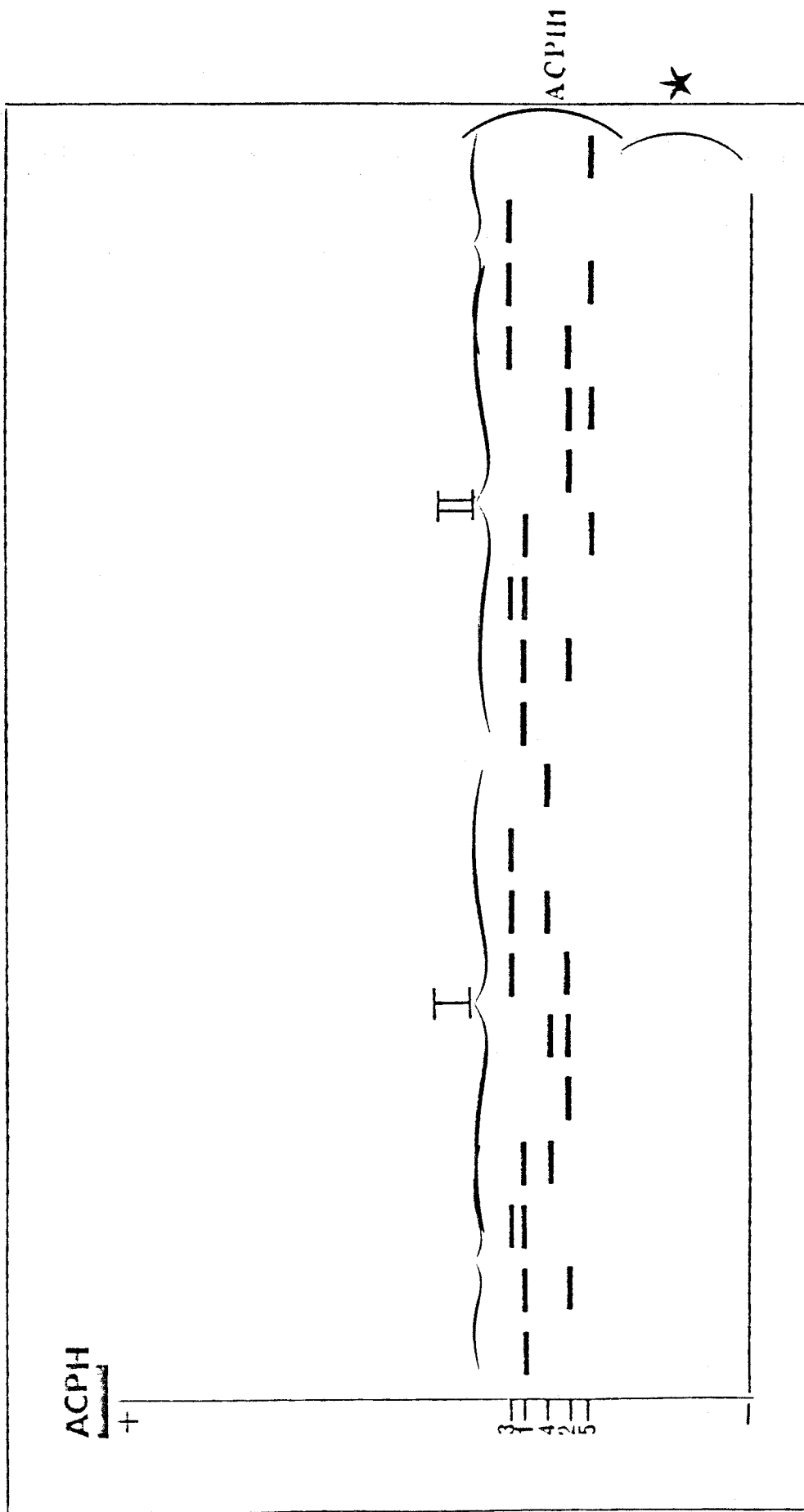
enzymatique EST



I : Zymogrames observés chez L. latifolius

II : Zymogrames observés chez L. sylvestris

FIGURE 4 : Différents types de zymogrammes observés chez les deux espèces pour le système
enzymatique ACPH



- ★ : Bandes illisibles à ce niveau
- I : Zymogrammes observés chez L. latifolius
- II : Zymogrammes observés chez L. sylvestris

ANNEXE 5

CONSOMMATION DES FLEURS PAR LES HERBIVORES

Chez les deux espèces de Lathyrus, L. latifolius et L. sylvestris, beaucoup de fleurs ne peuvent pas se développer en gousses car les ovaires sont consommés par des herbivores. Cette consommation des fleurs par les herbivores a été estimée dans une population de L. latifolius (Cadillon) et 3 populations de L. sylvestris (Urdos, Laruns et Helfaut) des deux manières suivantes:

1- Les fleurs ont été récoltées au hasard sur les individus de la population (consommation des fleurs en place).

2- Des filets ont été mis au pied de plusieurs individus et les fleurs tombées ont été récoltées un jour après la pose du filet (consommation des fleurs tombées).

Ces récoltes ont été effectuées à plusieurs dates. Les fleurs sont triées selon leur stade phénologique (bouton floral, fleur épanouie, fleur fanée et jeune gousse) et mises dans l'alcool pour être conservées. L'observation de la consommation est faite par l'examen de l'ovaire sous la loupe binoculaire.

De nombreux insectes ont été dénombrés dans les fleurs dont les trois genres Lycaenid sp. (larve de papillon), Apion sp. et Thrips sp. sont les plus fréquentes.

Les résultats obtenus sur la consommation des fleurs en place sont donnés dans le tableau 1 et ceux sur la consommation des fleurs tombées dans le tableau 2.

1) Consommation des fleurs en place:

Chez L. latifolius 73% des fleurs sont consommées alors que chez L. sylvestris 15 à 30% seulement des fleurs sont consommées

suivant les populations. Les attaques par les herbivores sont peu différentes suivant les dates et suivant le stade phénologique.

2) Consommation des fleurs tombées:

Chez L. latifolius 85% des fleurs tombées sont consommées et 56% chez L. sylvestris. Les fluctuations entre les dates de récolte et entre les stades phénologiques restent peu importantes.

3) Interprétation des résultats:

Ces résultats montrent que plus de la moitié des fleurs sont consommées par les herbivores chez ces deux espèces. La principale cause de l'avortement des fleurs serait donc la consommation par les herbivores au moins dans ces deux stations (Cadillon et Urdos). La consommation des fleurs semble plus importante chez L. latifolius, mais la station étudiée par ailleurs (Valero et Hossaert, in prep., chapitre 2-2) montre un taux d'avortement particulièrement élevé et il faudrait observer d'autres populations pour conclure sur les différences entre espèces. D'autre part, la consommation des fleurs est significativement plus faible (30%) lorsqu'elle est estimée sur les fleurs en place que lorsqu'elle est estimée sur les fleurs tombées (56%) chez L. sylvestris. Chez L. latifolius la différence n'est pas significative. Il semble donc que chez L. sylvestris les fleurs tombent très vite après avoir été attaquées par les herbivores. Ceci expliquerait les faibles taux

de consommations observés sur les fleurs en place chez cette
espèce.

TABLEAU 1 : Taux de consommation des fleurs en place.

ESPECE	STATION	DATE DE RECOLTE	BT	FE	FF	G1	TOTAL (tous stades et dates confondus)
<u>L. latifolius</u>	Cadillon	19/07/84	-	-	73 %	-	
		(n)			(91)		
		23/07/84	65 %	68 %	58 %	-	
		(n)	(38)	(44)	(43)		
		09/07/85	-	-	53 %	-	
		(n)			(26)		
		30/07/85	-	-	84 %	53 %	73 %
		(n)			(179)	(15)	(504)
<u>L. latifolius</u>	Cadillon	30/08/85	-	-	70 %	-	
		(n)			(68)		
		TOTAL	65 %	68 %	74 %	53 %	
		(n)	(38)	(44)	(407)	(15)	
		Moyenne par date	65 %	68 %	68 %	53 %	
		erreur standard			± 4 %		
<u>L. sylvestris</u>	Urdoz	07/08/85	-	-	32 %	11 %	
		(n)			(49)	(18)	
		31/08/85	-	-	35 %	-	30 %
		(n)			(56)		(123)
		TOTAL	-	-	34 %	11 %	
					(105)	(18)	
<u>L. sylvestris</u>	Urdoz	Moyenne par date	-	-	34 %	11 %	
		erreur standard			± 1 %		
<u>L. sylvestris</u>	Laruns	25/08/84	-	-	23 %		
		(n)			(13)		
		08/08/85	-	-	23 %		
		(n)			(13)		
		13/08/85	-	-	23 %	41 %	29 %
		(n)			(39)	(34)	(99)
		TOTAL	-	-	23 %	41 %	
		(n)			(65)	(34)	
<u>L. sylvestris</u>	Laruns	Moyenne par date	-	-	23 %	41 %	
		erreur standard			± 0 %	-	
<u>L. sylvestris</u>	Helfaut	10/08/85	-	-	19 %	0 %	15 %
					(91)	(24)	(115)

BT : Stade bouton floral
 FE : Stade fleur épanouie
 FF : Stade fleur fanée
 G1 : Stade jeune pousse
 (n) : Nombre de fleurs observées

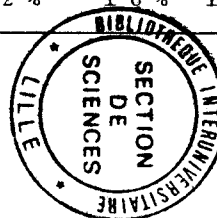


TABLEAU 2 : Taux de consommation des fleurs tombées

ESPECE	STATION	DATE DE RECOLTE	BT	FE	FF	G1	TOTAL (tous stades et et dates confondues
<u>L. latifolius</u>	Cadillon	08/07/85	100 %	-	90 %	100 %	85 % (95)
		(n)	(4)		(11)	(1)	
		09/07/85	71 %	100 %	100 %	100 %	
		(n)	(14)	(1)	(10)	(4)	
		14/07/85	81 %	80 %	85 %	80 %	
		(n)	(33)	(5)	(7)	(5)	
		TOTAL	80 %	83 %	92 %	90 %	
(n)	(51)	(6)	(28)	(10)			
		Moyenne par date	84 %	90 %	92 %	93 %	
		erreur standard	± 6 %	± 7 %	± 3 %	± 5 %	

<u>L. sylvestris</u>	Urdos	27/07/85	100 %	41 %	75 %	33 %	56 % (183)
		(n)	(4)	(12)	(32)	(6)	
		07/08/85	57 %	-	50 %	83 %	
		(n)	(7)	-	(42)	(6)	
		31/08/85	64 %	33 %	51 %	75 %	
		(n)	(14)	(15)	(37)	(8)	
		TOTAL	68 %	37 %	57 %	65 %	
(n)	(25)	(27)	(111)	(20)			
		Moyenne par date	73 %	37 %	58 %	63 %	
		erreur standard	± 10 %	± 2 %	± 6 %	± 12 %	

BT : Stade bouton floral
FE : Stade fleur épanouie
FF : Stade fleur fanée
G1 : Stade jeune gousse
(n) : nombre de fleurs observées



Le système de la reproduction détermine la manière selon laquelle les gamètes s'associent pour constituer le zygote et plus généralement la manière selon laquelle l'information génétique est transmise d'une génération à l'autre, au sein d'une population et même de l'espèce. Il est donc fortement soumis à la sélection et de ce fait devrait être peu variable au moins à l'intérieur d'une même espèce. Or, les plantes présentent une remarquable diversité dans leur système de reproduction allant de l'autogamie (où l'individu se croise avec lui-même, transmettant ainsi la totalité de ses gènes à sa descendance) jusqu'à l'allogamie préférentielle (croisement avec un autre individu, de telle sorte que seule la moitié du génome est transmise à la descendance). Le maintien de l'allogamie ou d'un régime de reproduction mixte est une des questions majeures qui se posent aux évolutionnistes. La question est de comprendre pourquoi un mécanisme comme la fécondation croisée qui présente un désavantage pour les individus qui la pratiquent (car ils ne transmettent que la moitié de leurs gènes à leurs descendants) ait pu se répandre dans la majorité des espèces alors que les individus autoféconds présentent l'avantage de transmettre la totalité de leurs gènes à leurs descendants?

Le présent travail consiste en une étude de la variabilité du régime de la reproduction aux niveaux inter-spécifiques, inter-populations et intra-populations, entre deux espèces affines de Légumineuses: *Lathyrus latifolius* L. et *Lathyrus sylvestris* L.

La comparaison inter-spécifique révèle des différences importantes entre ces deux espèces quant à:

- (1) L'architecture des plantes: c'est à dire la manière dont les plantes répartissent leurs organes de reproduction dans l'espace. A nombre de fleurs égal, *L. latifolius* est moins ramifiée, présente moins d'inflorescences par tige et plus de fleurs par inflorescence que *L. sylvestris*.
- (2) Le régime de la reproduction: bien que les 2 espèces (entomophiles) soient plutôt allogames, *L. sylvestris* montre une plus forte aptitude à l'autofécondation que *L. latifolius*.

Il semble que l'architecture des plantes pourrait entraîner des différences dans le régime de la reproduction. En effet, les plantes très ramifiées présentent une floraison plus synchrone et occupent une surface plus importante que les plantes non ramifiées. Elles seraient alors plus souvent autopolinisées puisque les insectes visitent les fleurs de proche en proche.

La différence dans le régime de la reproduction entraîne:

- Une structuration génétique différente dans les populations naturelles: *L. sylvestris* montre une différenciation plus marquée aux 3 niveaux d'étude (inter-spécifiques, inter-populations et intra-populations) que *L. latifolius*.
- Une allocation des ressources différentes aux fonctions mâle et femelle: l'espèce la plus allogame (*L. latifolius*) investit plus dans la fonction mâle (production de pollen) que l'espèce la moins allogame, *L. sylvestris*.

L'étude intra-spécifique montre qu'à l'intérieur d'une même population, il existe une variabilité pour le régime de la reproduction, avec coexistence d'individus plus autogames que d'autres. Le maintien d'un polymorphisme pour le régime de la reproduction ne pourrait s'expliquer que lorsqu'on prend en compte au moins 2 niveaux d'intégration: la population et la métapopulation (c'est à-dire, le paysage composé d'un ensemble de populations se fondant les unes à partir des autres et évoluant indépendamment après la période de colonisation).

En conclusion, bien que le régime de la reproduction soit potentiellement fortement sélectionné à cause des conséquences majeures qu'il a sur les structures génétiques des individus dans les populations, on peut se demander s'il n'est pas, dans certains cas, le sous-produit d'une sélection sur d'autres caractères. En effet, les 2 formes architecturales pourraient correspondre à deux stratégies différentes pour résister à la forte prédation par les insectes phytophages: la première serait de disperser les fleurs dans l'espace en augmentant le nombre de ramifications par tige, la seconde de disperser les fleurs dans le temps en supprimant les ramifications. S'il s'avérait que ces deux types d'architecture correspondent à deux sortes de réponses à la prédation, on peut émettre l'hypothèse qu'elles auraient entraîné indirectement des variations dans le régime de la reproduction.

Mots-clés

- *Lathyrus sylvestris* et *L. latifolius*
- Allocation des ressources
- Système de la reproduction
- Allogamie vs autogamie
- pollen/ovule ratio
- structure spatiale.