

50376
1989
195

50376
1989
195

T H E S E

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE LILLE FLANDRES ARTOIS

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
(nouveau régime)

mention: Génétique Ecologique et Biologie des Populations

par



(AZIZA YOUSSEF)-TAYOUB

Variabilité génétique et régime de la
reproduction chez Lathyrus



Soutenue le 20 Septembre 1989 devant la Commission d'examen:

M.M. Pr. Philippe VERNET
Pr. Raymond JEAN
Dr. Marc JARRY
Dr. Myriam VALERO

Directeur de Recherche, Président
Rapporteur
Rapporteur
Examinatrice

A MES PARENTS

A MAHMOUD

ET

MES ADORABLES ENFANTS
WILLIAM ET CATHERINE

REMERCIEMENTS

Je suis particulièrement heureuse de pouvoir remercier, ici, Monsieur le Professeur Philippe VERNET qui m'a acceptée dans son laboratoire de Génétique Ecologique et de Biologie des Populations Végétales de l'Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres Artois et qui m'a guidée dans la préparation de ma Thèse jusqu'à son achèvement. Ses qualités humaines m'ont permis de surmonter des périodes de difficultés, de découragements. Son esprit scientifique scrupuleux m'a appris à persévérer jusque dans les moindres détails. Je le remercie d'avoir accepté de présider ce jury.

Je remercie les rapporteurs qui ont accepté de juger cette thèse:
Monsieur le Professeur Raymond JEAN de l'Université de Lille, et
Monsieur Marc JARRY de l'I.B.E.A.S. de Pau.

Mon entière gratitude va à Mademoiselle Myriam VALERO qui s'est toujours intéressée à ce travail et qui m'a aidée dans la réalisation de cette Thèse, tant sur le terrain qu'au laboratoire, ainsi que pour la rédaction. Elle a su me prodiguer conseils et encouragements. Une telle qualité humaine et scientifique m'a permis de réaliser ce travail en dépassant les difficultés. Je la remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements vont en particulier à Monsieur Joël CUGUEN pour son aide et ses conseils scientifiques.

Toute ma reconnaissance va aux chercheurs du laboratoire, Brigitte CARON, Daniel PETIT, Jean DELAY, Pierre SAUMITOU-LAPRADE, Véronique BOUTIN, Véronique PERROT, Florence MARTIN-BOUYER, ainsi qu'à tous les amis du DEA....

Je voudrais remercier toutes les personnes qui m'ont aidée à réaliser ce travail, Michèle Maetie, Raymond Maerten et Fabrice Lecoœur, ainsi que Noëlle Chaudorge et Bernard Plancq.

Toutes mes reconnaissances et amitiés à tous les amis qui m'ont aidée à surmonter les périodes de difficulté et c'est grâce à eux que ce travail a pu être achevé, Myriam Valero, Joël Cuguen, Beatrice, Brigitte, Pierre...

Je remercie également M. Leprêtre Alain pour l'aide qu'il m'a apportée, pour certaines analyses.

Enfin je tiens à remercier Mahmoud pour son soutien moral et familial, William et Catherine pour ne pas leur avoir consacré le temps qui leur est dû, ainsi que mes parents et beaux-parents.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE 1. PRESENTATION DES ESPECES ET DES STATIONS ETUDIEES.....	5
1.1. Présentation des espèces étudiées.....	5
1.1.1. Position systématique des 2 espèces.....	5
1.1.2. Différences morphologiques entre les 2 espèces.....	7
1.1.3. Distribution géographique.....	8
1.2. Stations étudiées.....	9
Références.....	11
CHAPITRE 2. LES TECHNIQUES D'ELECTROPHORESE.....	13
2.1. Généralités.....	13
2.2. Principe de l'électrophorèse.....	14
2.3. Technique d'électrophorèse.....	15
2.3.1. Préparation des échantillons.....	16
2.3.2. Préparation des gels.....	16
2.3.3. Migration.....	17
2.3.4. Révélation.....	17
2.4. Interprétation génétique des allozymes.....	18
Les estérases.....	19
Leucine-Amino-Peptidases.....	21
Glutamate-Oxaloacétate-Transaminases.....	21
Phosphatases Acides.....	25
Références.....	27
CHAPITRE 3. ORGANISATION DE LA DIVERSITE GENETIQUE CHEZ LES DEUX ESPECES DE <u>LATHYRUS</u>	31
3.1. Introduction.....	31
3.2. Méthodes d'analyse des résultats.....	33
3.2.1. Les identités et les distances génétiques.....	33
3.2.1.1. L'indice de Nei.....	33
3.2.1.2. L'indice de Cavalli-Sforza et Edwards.....	35
3.2.1.3. Présentation des résultats.....	36

Méthode d'agglomération hiérarchique.....	37
Méthode de Felsenstein.....	37
3.2.2. Structure génotypique des populations.....	38
3.2.2.1. Méthode des F-statistics.....	39
3.2.2.2. Méthode des D-statistics.....	40
Le déséquilibre non systématique.....	43
Le déséquilibre systématique.....	43
Le déséquilibre systématique inégal.....	43
3.3. Résultats et discussion.....	45
3.3.1. Structure allélique des populations.....	45
3.3.1.1. Fréquences alléliques.....	45
3.3.1.2. Distances génétiques.....	47
3.3.2. Structure génotypique des populations.....	55
3.3.2.1. Méthode des F-statistics.....	55
3.3.2.2. Méthode des D-statistics.....	59
3.4. Conclusion.....	61
Références.....	65
CHAPITRE 4. APTITUDE A L'AUTOFECONDATION CHEZ LES DEUX ESPECES.....	69
4.1. Rôle des insectes dans la pollinisation.....	71
4.2. Aptitude à l'autofécondation chez les deux espèces.....	74
Pollen/ovule ratios.....	76
Modèle gousse.....	76
4.3. Existe-t-il un polymorphisme pour le régime de la reproduction?.....	77
Références.....	79
CHAPITRE 5. SYSTEME DE REPRODUCTION CHEZ <u>L. LATIFOLIUS</u>	81
5.1. Introduction.....	81
5.2. Matériels et Méthodes.....	85
5.2.1. Individus de la génération G0 et de la génération G1.	85
5.2.2. Etude de la structure génotypique de la génération G0	90

5.2.2.1. Autocorrélations spatiales.....	90
5.2.2.2. Découpage des populations en plusieurs sous groupes et calcul des indices des F-statistics et D-statistics.....	92
5.2.3. Estimation du taux d'autofécondation des individus de la génération G0 par l'analyse des génotypes de la génération G1.....	93
5.2.4. Etude de la génération G1.....	94
5.2.4.1. Evaluation de l'aptitude à l'autofécondation..	94
5.2.4.2. Mesure de la fertilité mâle et femelle.....	96
Fertilité mâle.....	96
Fertilité femelle.....	97
Allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle.....	98
Facteurs environnementaux susceptibles d'affecter les fertilités.....	99
5.3. Résultats et Discussion.....	101
5.3.1. Structure génotypique de la génération G0.....	101
5.3.1.1. Autocorrélation spatiale.....	101
5.3.1.2. Découpage de la population en sous-populations	109
5.3.1.3. F-statistics.....	113
5.3.1.4. D-statistics.....	115
5.3.2. Estimation du taux d'autofécondation chez les plantes de la génération G0.....	121
5.3.3. Etude de la génération G1.....	127
5.3.3.1. Importance des facteurs environnementaux sur sur l'estimation de la fertilité femelle.....	127
5.3.3.2. Evaluation de l'aptitude à l'autofécondation..	129
5.3.3.3. Allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle.....	139
Corrélation entre fertilités mâle et femelle.....	139
Etude du compartiment gousse.....	141
Etude de la position des fruits dans l'inflorescence.....	143
5.4. Conclusion.....	146
Références.....	149

CONCLUSION GENERALE.....	153
--------------------------	-----

ANNEXES.....

Annexe 1: Produits et solutions utilisés pour l'électrophorèse...	157
Annexe 2: Différentes matrices de distances.....	163
Annexe 3: Hétérozygotes observés et hétérozygotes attendus chez les deux espèces.....	167
Annexe 4: Article Valero et al. (1986).....	171
Annexe 5: Article Valero et al. (1987).....	187
Annexe 6: Génotypes des individus de la génération G0.....	199
Annexe 7: Hétérozygotes attendus et observés chez les individus de la génération G0.....	211
Annexe 8: Cartographies des individus de la génération G0.....	217
Annexe 9: Génotypes observés dans les descendance des plantes mères.....	233
Annexe 10: Estimation "simple-locus" et "multi-loci" du taux d'autofécondation pour chaque individu de la génération G0.....	259
Annexe 11: Résultats des croisements contrôlés et des autofécondations effectués en terrain expérimental....	261
Annexe 12: Différentes composantes de la fertilité femelle obtenues sur les individus de la génération G1.....	271
Annexe 13: Différentes composantes de la fertilité mâle obtenues sur les individus de la génération G1.....	281
Annexe 14: Nombre de fruits par fleurs et nombre de graines par fruits obtenus dans les 2 parties de l'inflorescence..	285

INTRODUCTION GENERALE

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 leurs gènes à leurs 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 leurs descendants. Ce coût génétique de 2 a été appelé coût de la méiose (par comparaison des organismes sexués aux 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 se distingue 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 asexués et les allogames. Il semble donc qu'il doit exister un bénéfice au sexe ou à l'allofécondation qui compense le coût génétique.

Le présent travail se situe dans le cadre de l'évolution des systèmes de reproduction. 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 l'existence de différents types de

de fleurs 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. Il est intéressant de travailler sur des espèces affines car les résultats pourront être interprétés à trois niveaux hiérarchiques au moins: intra-population, inter-population et inter-spécifique, la comparaison inter-spécifique n'étant intéressante que si l'on s'adresse à des espèces suffisamment proches.

Dans le premier chapitre nous présenterons tout d'abord les deux espèces et les diverses stations étudiées. Puis nous ferons, dans le deuxième chapitre, un rappel détaillé sur les techniques d'électrophorèse utilisées. Les résultats obtenus sur l'organisation de la diversité génétique chez les deux espèces seront exposés dans le chapitre 3. Ils permettront de faire des hypothèses sur le régime de la reproduction adopté par les individus des deux espèces. Ces hypothèses seront confrontées aux résultats obtenus, par différentes campagnes de "croisements" effectuées en terrain expérimental, sur l'aptitude à l'autofécondation (Chapitre 4). Enfin, dans le chapitre 5, nous aborderons l'étude détaillée du régime de la reproduction dans l'une des deux espèces: L. latifolius. Le régime de reproduction a été estimé de deux manières:

- d'une 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;

- d'autre part, par l'étude d'autofécondations contrôlées et de fécondations libres, effectuées en terrain expérimental.

Ces données seront confrontées à celles obtenues sur les forces sélectives susceptibles d'agir sur l'évolution du régime de la reproduction, à savoir: l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle.

REFERENCES

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.

Uyenoyama M.K. 1986. Inbreeding and the cost of meiosis: The evolution of selfing in populations practicing biparental inbreeding. Evolution, 40: 388-404.

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

CHAPITRE 1

PRESENTATION DES ESPECES ET DES STATIONS ETUDIEES

1.1. PRESENTATION DES ESPECES.

1.1.1 POSITION SYSTEMATIQUE DES DEUX ESPECES ETUDIEES.

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.

TABLEAU 1: Principales différences morphologiques entre L. latifolius et L. sylvestris.

CARACTERES	<u>L. LATIFOLIUS</u>	<u>L. SYLVESTRIS</u>
Port	Rampant ou bien dressé	Rampant ou grimpant
Taille des folioles	Grands et larges ou longs étroits	Moyens pas très larges
Tige	Ailée et large	Ailée et grêle
Nombre de feurs par inflorescence	6 à 15 fleurs par inflorescence	3 à 7 fleurs par inflorescence
Taille des fleurs	Grande (1.5 à 4 cm)	Moyenne (1.5 à 2 cm)
Couleur des fleurs	Rose vif, rose pale , blanc	Rose vif , rose violet
Longueur des gousses	Longue. (6 à 12 cm)	Moyenne (4 à 8 cm)
Nbre d'ovules par fleur	Nombre élevé (16 à 25)	Nombre moyen (8 à 15)

Tous les caractères employés par Kupicha ne permettent pas de différencier les deux espèces affines: L. latifolius L. et L. sylvestris L. Ces deux espèces sont morphologiquement très semblables. Ce sont des plantes grimpantes de 1 à 2m de haut assez touffues. Ces deux espèces sont hermaphrodites. Les inflorescences sont des grappes à différenciation acropète. Les caractéristiques des fleurs (taille, forme et couleur) laissent supposer que ces deux espèces sont allogames et pollinisées par les insectes. Les formes de L. latifolius, à très larges feuilles, ont été sélectionnées en horticulture. Elles sont désignées sous le nom de pois vivace, et se rencontrent dans de nombreux jardins d'agrément.

1.1.2. DIFFERENCES MORPHOLOGIQUES ENTRE LES DEUX ESPECES.

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). Des observations montrent aussi que la variation de ces caractères entre populations du nord et populations du sud-ouest de la France est très grande (Valero, 1987;

Hossaert, 1988), et, que sur la base de ces critères, un individu appartenant à l'espèce L. latifolius récolté dans une population du sud-ouest est identique à une plante de l'espèce L. sylvestris récoltée dans le nord de la France. Valero (1987) et Valero et Hossaert (soumis) ont montré que le bon caractère pour distinguer ces deux espèces sans ambiguïté est le nombre d'ovules par fleur. Les principales différences morphologiques entre les deux Lathyrus sont résumées Tableau 1.

1.1.3. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE.

On trouve ces deux Lathyrus essentiellement sur des terrains calcaires et caillouteux: éboulis de montagne, bords des routes et bords des voies de chemin de fer. Cependant, ils 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).

1.2. STATIONS ETUDIÉES.

Plusieurs populations naturelles réparties du nord au sud-ouest de la France ont été étudiées pour les deux espèces (Tableau 2): 4 populations de L. latifolius (L1 à L4: L comme latifolius), 6 populations de L. sylvestris (S1 à S6: S comme sylvestris). La plupart de ces populations occupent des habitats similaires (Tableau 2): on trouve généralement les deux espèces sur des terrains calcaires, caillouteux et pentus. Certaines populations diffèrent cependant fortement par leur habitat particulier. Il s'agit des stations L3 et S2 du nord de la France, situées sur des terrils caractérisés par un fort déséquilibre Mg/Ca.

Dans chaque population, une cartographie des plantes a été effectuée. Des feuilles ont été récoltées sur les individus cartographiés pour déterminer leurs génotypes à l'aide des techniques électrophorétiques. Cette récolte s'échelonne entre les années 1985 et 1987 (Tableau 2). L'échantillonnage par populations varie de 20 à 200 individus environ (Tableau 2).

Dans 2 populations (L2 et L3), des graines ont été prélevées sur les individus pour étudier leurs descendance issues de pollinisations libres. Dans la population L2, l'échantillonnage sur les plantes in situ et la récolte de graines ont été effectués deux années consécutives (Tableau 2).

TABLEAU 2: Différentes caractéristiques des populations étudiées.

Espèces	Populations	Origines géographiques	Caractéristiques de l'habitat	Altitude	Années	Nb. d'individus étudiés
<u>L.latifolius</u>	L1	Cadillon (Béarn)	Pelouse calcaire	160 m	1986	112
	L2	Doué La Fontaine (Anjou)	Bordure de vignes (terrain calcaire)	50 m	1985 1986	94 46
	L3	Avion (Pas de Calais)	Terril	50 m	1987	61
	L4	Lessines (Belgique)	Echappé de jardin bordure d'une carrière de porphyre	50 m	1987	34
<u>L.sylvestris</u>	S1	Urdos (Béarn)	Ancienne gare de triage	750 m	1986	194
	S2	Pecquencourt (Nord)	Terril	20 m	1986	103
	S3	Bilhères (Béarn)	Le long d'une route (sol caillouteux et argileux)	700 m	1986	43
	S4	Boulonnais (Pas de Calais)	Pelouse calcaire	100 m	1985	21
	S5	Helfaut (Pas de Calais)	Carrière calcaire	50 m	1985	25
	S6	Lessines (Belgique)	Carrière de Porphyre	50 m	1987	47

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. 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.
- BONNIER G. 1934: Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique. Tome 3, E. Orlhac (éditeur), Paris.
- CLAPHAM 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.
- 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.
- HOSSAERT-MCKEY M. 1988: Des fleurs comment et à quoi bon! données et réflexions sur la reproduction sexuée de deux espèces pérennes affines à propagation végétative: Lathyrus latifolius et L. sylvestris. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Pau, France.
- KUPICHA F.K. 1983: The infrageneric structure of Lathyrus. Notes R. B. G. Edimb., 41: 209-244.
- 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. 1987: Système de reproduction et fonctionnement des populations chez deux espèces de légumineuses du genre Lathyrus. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Lille Flandres Artois, France.

CHAPITRE 2

LES TECHNIQUES D'ELECTROPHORESE

2.1. GENERALITES.

Dès la fin des années 60, les techniques d'électrophorèse ont été utilisées pour analyser la variabilité génétique dans les populations naturelles. Les premiers travaux furent ceux de Hubby et Lewontin (1966) et de Harris (1966).

Une importante variabilité génétique a été découverte par cette technique, dans les populations naturelles de différentes espèces (voir Ayala, 1976; Nevo, 1978 et Brown, 1979 pour revues). Ce fait banal constitue, à bien y réfléchir, un paradoxe flagrant. Si le moteur de l'évolution est bien, comme Darwin en a proposé l'idée au monde scientifique, la sélection exercée par le milieu, nous devrions nous attendre à ce que l'information génétique qui se reproduit le plus efficacement soit la seule à subsister, à terme, à l'équilibre. L'explication du paradoxe du polymorphisme biochimique a entraîné une polémique considérable parmi les évolutionnistes dans les années 70. Deux écoles se sont affrontées, celle des "neutralistes" (Kimura, 1983), qui

supposent que les allèles polymorphes sont neutres et qu'il n'y a pas d'équilibre; celle des "sélectionnistes" (Dobzhansky, 1970) qui suppose que la population est en équilibre et qu'un mécanisme sélectif est responsable du polymorphisme.

La technique d'électrophorèse dévoile en majorité des gènes de structure. Or, il est fort probable que la majorité des fonctions sélectionnées soient des fonctions de régulation plutôt que celles de structure (King et Wilson, 1975; Wilson, 1976). Il semble donc que dans l'ensemble, les marqueurs enzymatiques soient des marqueurs neutres du génome. En effet, les exemples montrant des effets sélectifs sur des allozymes sont rares (le cas le plus connu concerne les ADH de la drosophile, Gibson, 1970; Clarke, 1975).

2.2. PRINCIPE DE L'ELECTROPHORESE.

Le principe est simple: placées dans un champ électrique, les protéines, molécules chargées électriquement, migrent vers l'anode à travers un support à une distance plus ou moins grande de la cathode, en fonction essentiellement de la charge nette de la molécule, mais aussi dans une certaine mesure de leur poids moléculaire et de leur conformation. Les protéines étant retenues dans leur support de migration, il est possible de les faire réagir avec certains produits et de les colorer. Dès lors, il est possible, à partir d'extraits bruts n'ayant subi aucune purification préalable et contenant des milliers de protéines différentes, de

caractériser quelques types moléculaires possédant la même activité catalytique, ou isozymes. Chez chaque organisme, le nombre d'isozymes ayant une activité catalytique donnée est généralement faible, et un petit nombre de bandes colorées apparaît sur les gels (on parle alors de zymogramme); chaque bande correspond à une protéine distincte dont la synthèse est contrôlée par un, deux ou plusieurs gènes. Les phénotypes enzymatiques observés sur les zymogrammes peuvent donc être traduits en termes de génotypes, de gènes et d'allèles (allozymes).

Toutes les mutations ne sont pas détectables par l'électrophorèse. D'une part parce que le code génétique est dégénéré, les substitutions de nucléotides ne se traduisent pas toutes par un changement d'acide aminé. D'autre part parce que toutes les modifications de structure des enzymes (substitution, délétion, addition d'acide aminé) n'entraînent pas nécessairement une modification de charge de la protéine. Autrement dit, l'identité de mobilité électrophorétique ne signifie pas obligatoirement l'identité des protéines. On estime que les méthodes conventionnelles d'électrophorèse permettent de détecter environ 30% des substitutions (Shaws, 1965; Shaws et Prasad, 1970; Harris, 1970 et Lewontin, 1974).

2.3. TECHNIQUES D'ELECTROPHORESE.

Pour mettre en évidence les allozymes, la plupart des électrophorèses utilisent des supports inertes sous forme de gels: agar, acétate de cellulose et surtout amidon et polyacrylamide.

Nous avons utilisé l'électrophorèse en gel de polyacrylamide. Toutes les solutions tampons de gel, de migration et de coloration sont données en Annexe 1.

2.3.1. PREPARATION DES ECHANTILLONS.

Les électrophorèses ont été faites, soit sur des jeunes feuilles, soit sur des graines. Les feuilles et les graines sont prélevées sur les individus in situ. Elles sont stockées dans une glacière (2 jours maximum) pour être ramenées au laboratoire. Les graines sont immédiatement congelées à -80°C. L'extraction des protéines des graines est effectuée juste avant l'électrophorèse. En revanche, les feuilles subissent l'extraction dès qu'elles sont ramenées au laboratoire. C'est donc sous forme d'extraits protéiques qu'elles sont stockées au congélateur à -80°C.

La technique de préparation des échantillons utilisée est la suivante: Les feuilles ou les graines sont broyées manuellement dans un mortier à l'aide d'un pilon, avec du sable de Fontainebleau et dans 0.5 ml de tampon Tris HCl 0.1 M pH 7.6 contenant des antioxydants (Annexe 1). Les extractions ont été faites à 0°C, condition indispensable pour éviter les phénomènes de dénaturation protéique.

2.3.2. PREPARATION DES GELS.

Le gel est préparé à partir d'une solution d'acrylamide et d'une solution tampon, à laquelle est ajouté un catalyseur, le persulfate d'ammonium (ce dernier doit être préparé le jour-même) qui permet la polymérisation (annexe 1). Un peigne permet d'obtenir après polymérisation,

24 puits dans lesquels seront déposés les échantillons. Pour obtenir de bons résultats lors de la révélation des enzymes, toutes les solutions sont stockées à l'abri de la lumière à +: 5°C.

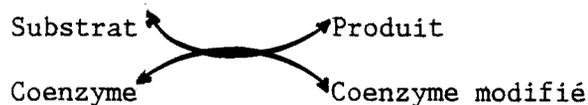
2.3.3 MIGRATION.

La technique utilisée est l'électrophorèse en système discontinu (les solutions de gel et d'électrodes ne contiennent pas les mêmes composés chimiques, Annexe 1). La migration s'effectue du haut vers le bas dans un courant continu (250 V, 50 mA) pendant 2 heures et demi environ. Le front de migration est matérialisé par le bleu de bromophénol.

2.3.4 REVELATION.

Après migration électrophorétique, les gels sont découpés en deux tranches sur lesquelles se feront les révélations.

Les réactifs pour la coloration varient selon l'enzyme étudiée. La solution est toujours tamponnée a un pH déterminé qui doit être optimal pour chaque enzyme. Cette solution contient donc d'une part les substrats et coenzymes qui permettent à l'enzyme de fonctionner et de fournir un produit, d'autre part les réactifs qui en présence du produit, conduisent à la formation d'un composé coloré insoluble:



Quatre systèmes enzymatiques ont été révélés chez les deux espèces de Lathyrus (Valero, 1987), il s'agit des:

- Esterases (EST)
- Leucine-Amino-peptidases (LAP)
- Glutamate-oxaloacétate-Transaminases (GOT)
- Phosphatases acides (AcPH)

La composition et la nature des solutions de révélation (Annexe 1) sont empruntées aux divers auteurs qui les ont mises au point (Pasteur et al., 1987, pour revue).

2.4. INTERPRETATION GENETIQUE DES ALLOZYMES.

Les révélations spécifiques nous ont permis d'observer plusieurs zones sur les zymogrammes. Ces zones qui correspondent à divers isozymes sont plus ou moins espacées sur le gel, et correspondent à l'expression d'un ou plusieurs loci différents. La numérotation des différents loci a été faite en fonction de la mobilité des protéines. Ces protéines correspondent à l'expression des différents allèles (allozymes) d'un seul locus. Deux types d'individus peuvent être distingués pour un locus donné:

(1) des individus homozygotes qui se caractérisent par la présence d'une seule bande, qui correspond à un seul allèle;

(2) des individus hétérozygotes se caractérisant par la présence de deux ou trois bandes. Le nombre de bandes observées sera fonction de la

nature de l'enzyme (monomère: 2 bandes ou dimère: 3 bandes).

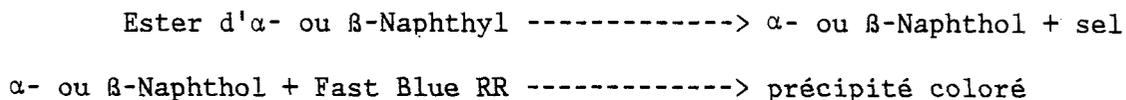
Les fréquences alléliques à un locus donné sont calculées par dénombrement des individus homozygotes et hétérozygotes.

Nous présentons ci-dessous, les différents zymogrammes observés pour les quatre systèmes enzymatiques en formulant les hypothèses qui ont été émises sur le déterminisme génétique de ces isozymes par Valero (1987).

Les estérases: (EST)

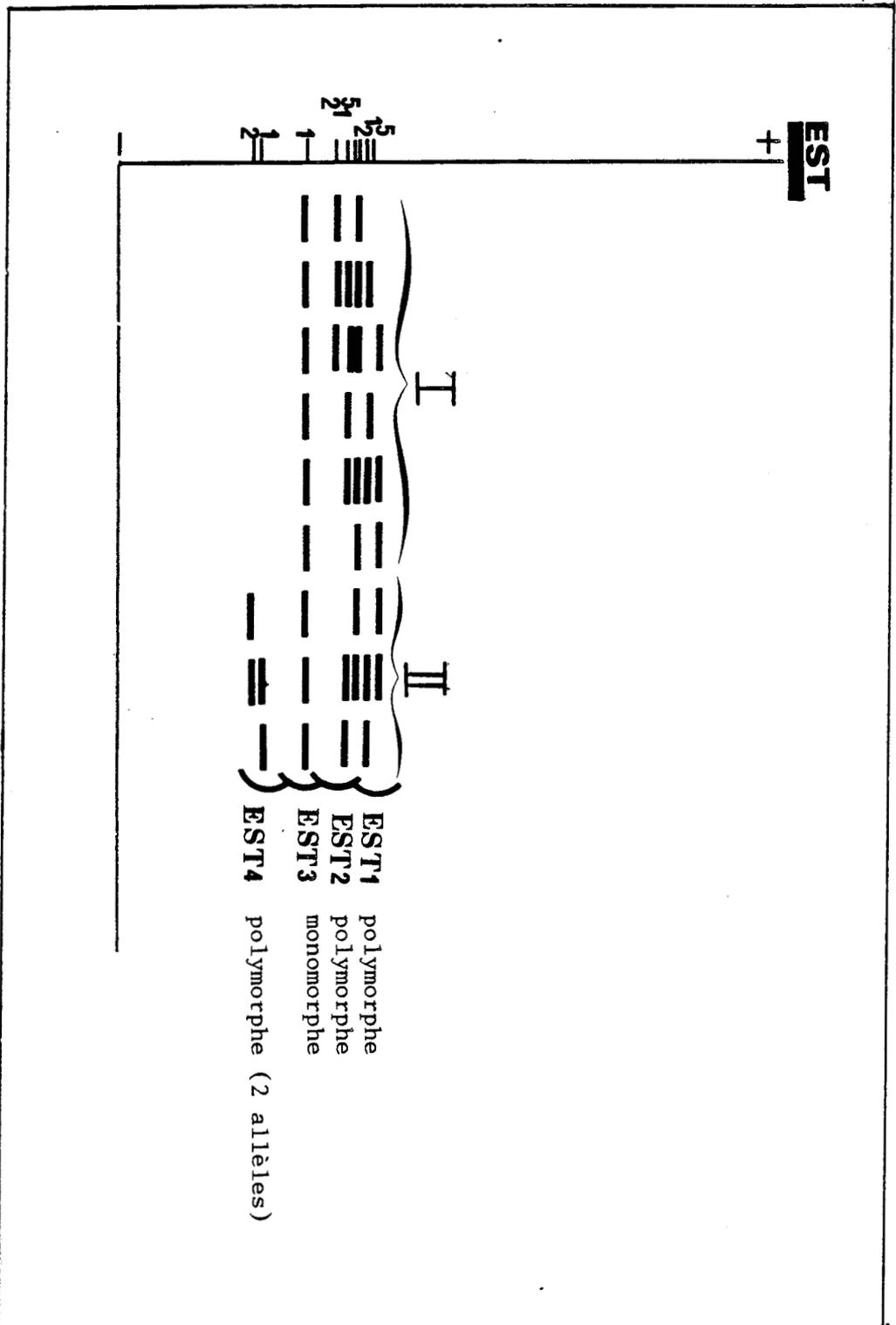
L'enzyme est responsable de la réaction suivante:

EST



Les zymogrammes obtenus montrent un nombre important de bandes rapides. Les croisements réalisés (Valero, 1987) ont amené à émettre l'hypothèse d'une intervention de trois loci polymorphes qui coderaient pour des enzymes monomères (figure 1). Suivant les loci considérés, certains auteurs montrent une structure de dimère chez Vicia faba (Gates et Boulter, 1979), tandis que d'autres évoquent des structures fonctionnelles monomériques chez le riz (Nakagahra, 1977).

Figure 1 : Différents types de zymogrammes observés chez les 2 espèces pour le système enzymatique EST



I : zymogrammes observés chez L. latifolius
II : zymogrammes observés chez L. sylvestris

Leucine-Amino-Peptidases: (LAP)

L'enzyme est responsable de la réaction suivante:

LAP

L-Leucyl- β -Naphthyl-Amide-----> L-Leucine + Naphthol

Naphthol + Fast Black K -----> précipité violet

Les zymogrammes obtenus pour les LAP montrent deux zones de migration, les croisements (Valero, 1987) laissent supposer que chaque zone correspond à un locus polymorphe et que ces deux enzymes sont monomères (Figure 2). La mise en évidence de deux loci LAP1 et LAP2 chez le pois a été présentée par Scandalios et Espiritu, 1969; Blanchard, 1981).

Glutamate oxaloacétate transaminases: (GOT)

Elle catalyse la réaction suivante:

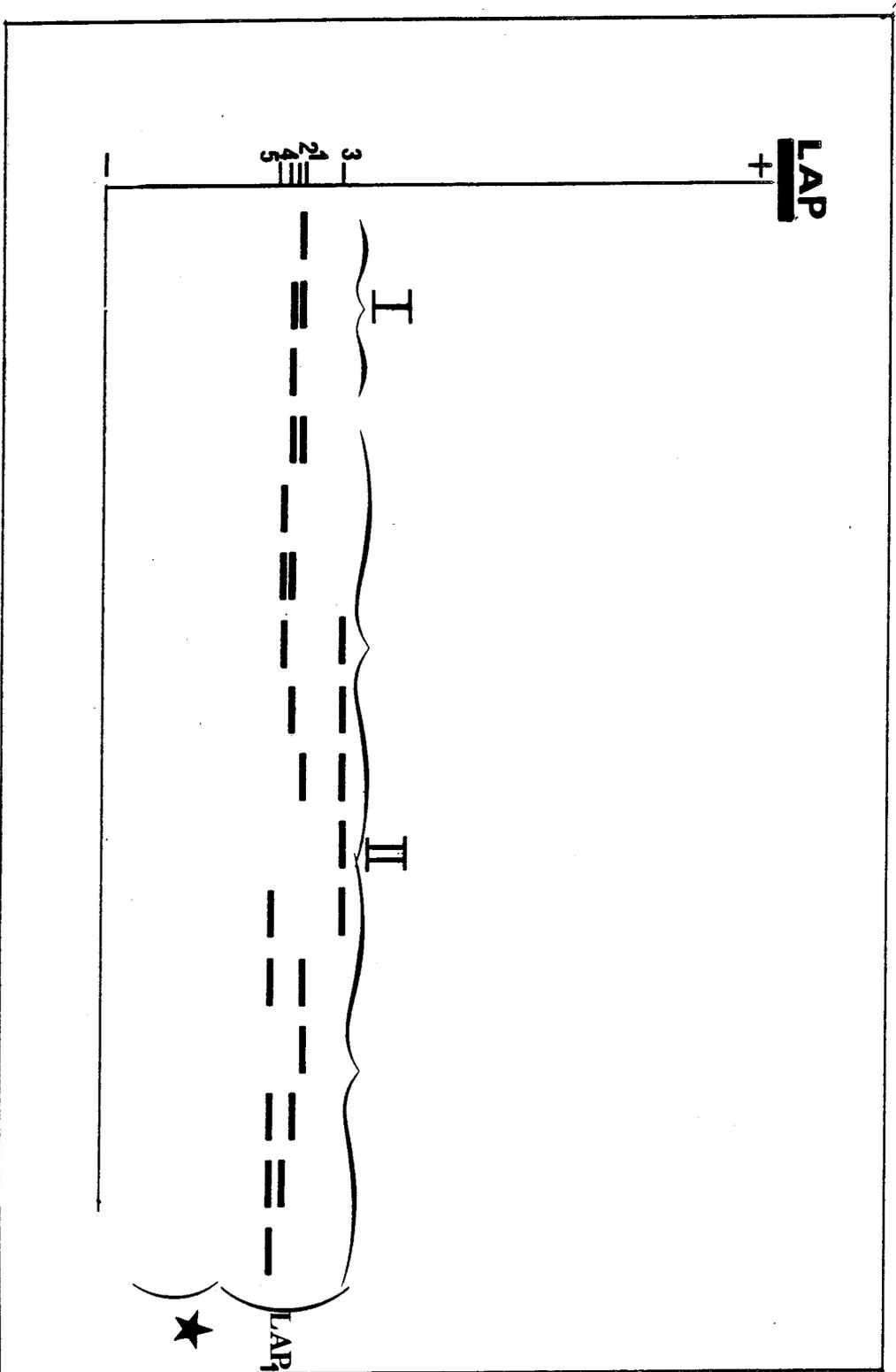
GOT

L-aspartate + -cétoglutarate -----> oxaloacétate + L-glutamate

oxaloacétate + Fast blue BB -----> précipité bleu

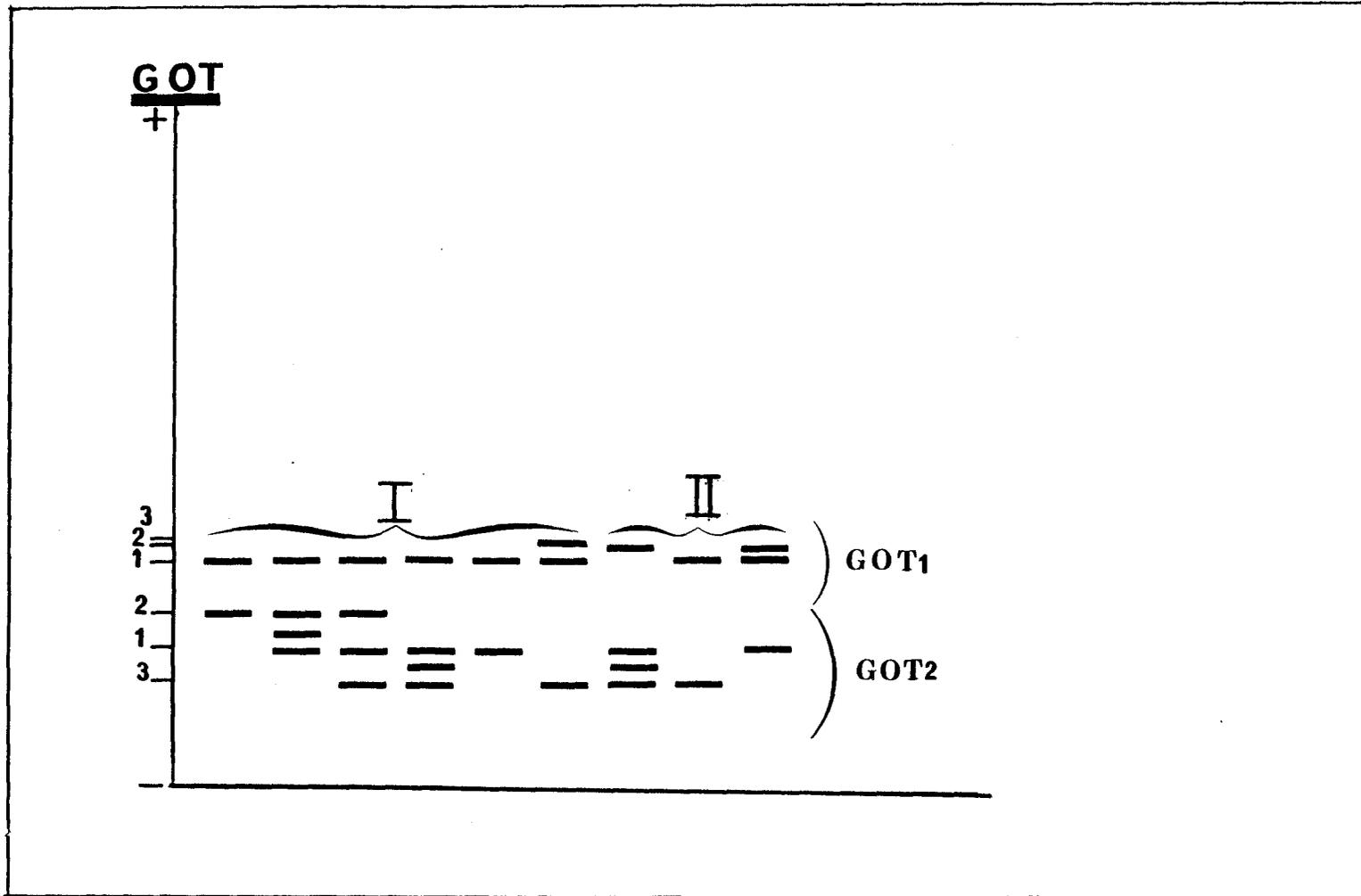
Deux zones de migration peuvent être différenciées sur les gels. Il semble que deux loci interviennent (Valero, 1987). Dans la zone lente, l'enzyme serait dimère, tandis que dans la zone rapide, on suppose qu'il est monomère (Figure 3). D'autres études génétiques montrent que cette enzyme est le plus souvent dimère, particulièrement chez le maïs (Scandalios et al., 1975) et chez la Luzerne (Brunel, 1979).

Figure 2: Différents types de zymogrammes observés chez les 2 espèces pour le système enzymatique LAP



- ★ : bandes illisibles à ce niveau
- I : zymogrammes observés chez L. latifolius
- II : zymogrammes observés chez L. sylvestris

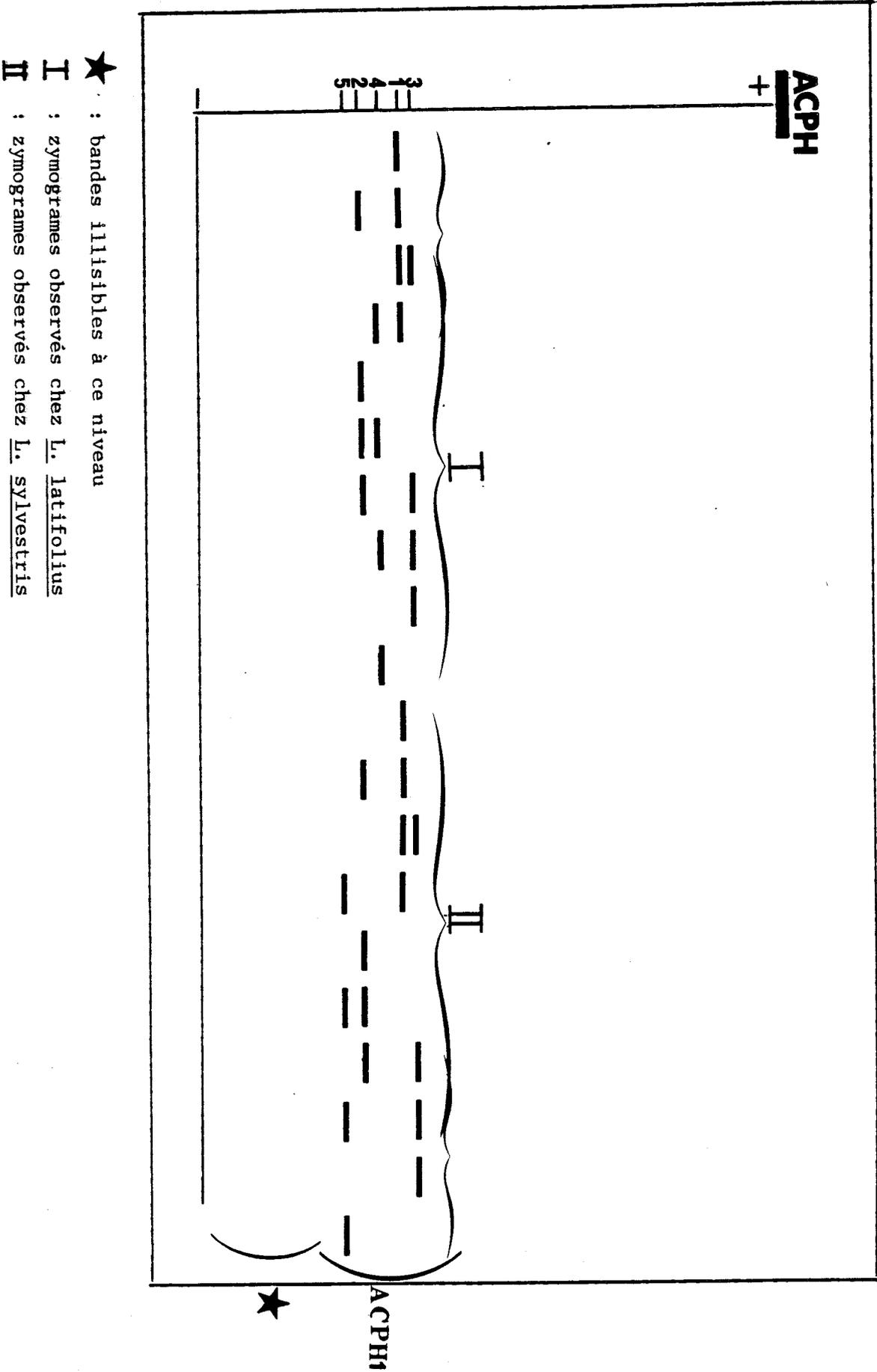
Figure 3 : Différents types de zymogrames observés chez les 2 espèces pour le système enzymatique GOT



I : zymogrames observés chez L. latifolius

II : zymogrames observés chez L. sylvestris

Figure 4: Différents types de zymogrammes observés chez les 2 espèces pour le système enzymatique ACPH



Phosphatases acides:(AcPH)

Les phosphates acides (AcPH) peuvent hydrolyser les phospho-monoesters à pH acide:

AcPH

α -Naphthyl-Phosphate -----> Phosphate + α -Naphtol

α -Naphtol + Fast Garnett GBC -----> précipité brun

Les zymogrammes obtenus pour les AcPH montrent deux zones de migration sur les gels (Figure 4). La zone de migration lente est mal séparée et les bandes sont illisibles. En revanche, dans la zone de migration rapide les bandes sont bien séparées. Les croisements (Valero, 1987) montrent qu'il s'agit d'un enzyme monomère. Les phosphatases acides ont été décrites comme monomères ou dimères suivant les loci chez l'homme (Harris et Hopkinson, 1978).

REFERENCES

- AYALA F.J. 1976: Molecular Evolution. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- BLANCHARD, P. 1981: Polymorphisme enzymatique du pois cultivé: étude des variétés françaises et de quelques provenances sauvages. Thèse de Doctorat, Université de Paris-sud, Orsay, France.
- BROWN, A.H.D. 1979: Enzyme polymorphism in plant populations. Theor. Pop. Biol., 15: 1-42.
- BRUNEL, D. 1979: Recherche du déterminisme génétique de quelques systèmes enzymatiques chez la luzerne (Medicago sativa L.) di- et tétraploïde. Thèse de Doctorat 3ème cycle, Université de Paris-sud, Orsay, France.
- CLARKE, B. 1975: The contribution of ecological genetics to evolutionary theory: detecting the direct effects of natural selection on particular polymorphic loci. Genetics, 79: 101-113.
- DOBZHANSKY, TH. 1970: Genetics of the Evolutionary Process. Columbia, New York, USA.
- GATES P. & BOULTER D. 1979: The use of seed isoenzymes as an aid to the breeding of field beans (Vicia Faba L.). New Phytol., 83: 783-791.
- GIBSON, J. 1970: Enzymes flexibility in Drosophila melanogaster. Nature, 227: 959-960.
- HARRIS, H. 1966: Enzyme polymorphism in man. Proc. Roy. Soc. Ser. B., 164: 298-310.
- HARRIS, H. 1970: The Principles of human Biochemical Genetics. North Holland, Amsterdam and London.
- HARRIS H. & D.A. HOPKINSON. 1978: Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North Holland Publishing Company.
- HUBBY, J.L. & R.C. LEWONTIN. 1966: A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural population. I. The number of alleles at different loci in Drosophila pseudoobscura. Genetics, 57: 291-300.
- KIMURA, M. 1983: The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press.
- KING M.C. & A.C. WILSON. 1975: Evolution at two levels. Molecular similarities and biological differences between humans and chimpanzees. Science, 188: 107-116.
- LEWONTIN, R.C. 1974: The genetic basis of evolutionary change. Univ. Press, New York, USA.

- NAKAGAHRA, M. 1977: Genetic analysis for esterases isoenzymes in rice cultivars. *Japan. J. Breed.*, 27: 141-148.
- NEVO, E. 1978: Genetic variation in natural populations: patterns and theory. *Theor. Pop. Biol.*, 13: 121-177.
- PASTEUR N., PASTEUR G., BONHOMME F., CATALAN J. & J. BRITTON-DAVIDIAN. 1987: Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines. Techniques et documentation, Lavoisier (éditeur), Paris.
- SCANDALIOS J.G. & L. G. ESPIRITU. 1969: Mutant aminopeptidase in Pisum sativum: I. Developmental genetics and chemical characteristics. *Molec. Genet.*, 105: 101-112.
- SCANDALIOS J.G., SORENSON J.C. & L.A. OTT. 1975: Genetic control and intra-cellular localization of glutamate oxaloacetic transaminase in maize. *Biochem. Genet.*, 13: 759-769.
- SHAW, C.R. 1965: Electrophoretic variation in enzymes. *Science*, 149: 936-943.
- SHAW C.R. & R. PRASAD. 1970: Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. *Biochem. Genet.*, 4: 297-320.
- VALERO, M. 1987: Système de reproduction et fonctionnement des populations chez deux espèces de légumineuses du genre Lathyrus. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Lille Flandres Artois, France.
- WILSON, A.C. 1976: Gene regulation in evolution. In *Molecular evolution*, F.J. Ayala (editor), Sinauer associates, Inc., 225-234.

CHAPITRE 3

ORGANISATION DE LA DIVERSITE GENETIQUE CHEZ LES DEUX ESPECES

3.1. INTRODUCTION.

L'évolution résulte de changements dans la constitution génétique des populations. Elle ne peut donc se produire que s'il existe de la variation génétique dans les populations. Ainsi, la connaissance de la diversité génétique et de son organisation intra et interpopulation est un des problèmes fondamentaux de la génétique évolutive. Plusieurs mécanismes conditionnent la structure génétique observée dans les populations (Wright, 1951; Ayala, 1976; Générmont, 1979):

- Les mutations qui créent de la diversité génétique.
- La sélection qui effectue un tri parmi les nombreux génotypes. Les contraintes sélectives, intra et inter individus pouvant être différentes d'un endroit à un autre, il en résultera nécessairement une diversité dans la composition génétique des populations d'une même espèce.

- La dérive génétique qui entraîne des modifications de fréquences alléliques. Ces modifications, dues au hasard, seront d'autant plus importantes que les effectifs dans les populations seront faibles.
- Le régime de la reproduction et la migration qui mesurent l'importance des flux géniques intra- et inter-populations. Plus les flux géniques seront importants, plus la structure génétique intra-et inter-populations sera homogène.

Nevo (1978), Hamrick et al. (1979) et Brown (1979) ont discuté des relations entre les traits d'histoire naturelle et la variation génétique détectable par électrophorèse chez les espèces animales et végétales. Ils montrent que les espèces itéropares, à répartition géographique étendue, se reproduisant de façon allogame, présentent une diversité plus importante intra-population que inter-population. En revanche, ils trouvent une diversité plus importante inter-population chez les espèces autogames, sémelpares et colonisatrices de nouveaux milieux.

L'objectif de cette étude sera d'analyser la diversité génétique intra- et inter-populations chez les deux espèces de Lathyrus. L'organisation de la diversité génétique au sein des deux espèces permettra de comparer l'isolement génétique entre les populations des 2 espèces. Cette comparaison fournira un certain nombre d'hypothèses sur les flux géniques intra et inter-populations et sur les caractéristiques du régime de la reproduction.

3.2. METHODES D'ANALYSE DES RESULTATS.

Les différentes méthodes d'analyse utilisées sont les distances génétiques, les F-statistics et les mesures du déséquilibre de liaison.

3.2.1. LES IDENTITES ET LES DISTANCES GENETIQUES.

Les populations peuvent être comparées 2 à 2 sur le critère de leurs distributions alléliques à l'aide de coefficients d'identité ou de distance. Lorsque ceux-ci sont calculés pour plusieurs loci, les distances génétiques ainsi obtenues servent à mesurer les divergences évolutives entre les taxons.

Plusieurs coefficients ont été proposés et utilisés (Cavalli-Sforza et Edwards, 1967; Nei, 1972 et 1978; Rodgers, 1972). Les corrélations entre ces différentes mesures, calculées à partir d'un même lot de données, sont généralement fortes, mais des divergences apparaissent lorsque le nombre de loci examinés est faible (Chakraborty et Tatenno, 1976).

Nous en avons retenu pour notre part deux: l'indice de Nei (1972 et 1978) et l'indice de Cavalli-Sforza et Edwards (1967).

3.2.1.1. L'indice de Nei.

Le coefficient d'identité de Nei est très couramment utilisé dans la littérature. Il présente l'avantage de permettre une comparaison avec les

autres espèces étudiées. Le principe du calcul est le suivant:

Considérons deux populations X et Y dans lesquelles des allèles multiples ségrègent à un locus. x_i et y_i sont les fréquences du $i^{\text{ème}}$ allèle respectivement dans les populations X et Y. Pour ce locus, la probabilité d'identité de 2 allèles tirés au hasard dans la même population est:

$$j_X = \sum_i x_i^2 \text{ dans la population X.}$$

$$j_Y = \sum_i y_i^2 \text{ dans la population Y.}$$

La probabilité d'identité de 2 allèles tirés au hasard, l'un dans la population X, l'autre dans la population Y est:

$$j_{XY} = \sum_i x_i y_i$$

L'identité normalisée des gènes entre X et Y pour ce locus est définie par:

$$I = \frac{j_{XY}}{\sqrt{(j_X j_Y)}}$$

Pour l'ensemble des loci étudiés, y compris les loci monomorphes, l'identité normalisée des gènes entre les populations X et Y est définie par:

$$I = \frac{J_{XY}}{\sqrt{(J_X J_Y)}}$$

où J_X, J_Y et J_{XY} représentent les moyennes arithmétiques de j_X, j_Y et j_{XY} pour tous les loci.

Quand les mêmes allèles sont présents à des fréquences identiques dans les 2 populations, cette quantité est égale à 1, tandis qu'elle devient nulle quand les 2 populations n'ont aucun allèle en commun.

La distance génétique D entre les populations X et Y est donnée par la relation:

$$D = -\ln I, D \text{ varie donc de } 0 \text{ à l'infini.}$$

Ce paramètre a été modifié par Nei en 1978 en pondérant sa formule par la taille des échantillons utilisés.

On reproche aux distance de Nei d'être dépendantes de l'hétérozygotie, d'admettre un taux de substitution constant pour tous les loci et de présenter une mauvaise linéarité dans le temps.

3.2.1.2. L'indice de Cavalli-Sforza et Edwards.

Cet indice est une distance géométrique. Considérons deux populations, X et Y , ayant respectivement les fréquences alléliques:

$$x_1, \dots, x_n$$

et y_1, \dots, y_n

telles que $\sum_i x_i = \sum_i y_i = 1$

où n est le nombre d'allèles au locus considéré.

La distance de Cavalli-Sforza et Edwards (1967) correspond à une distance géométrique entre les vecteurs de fréquences alléliques.

Les populations sont situées sur une portion d'hypersphère de rayon unité, dans la zone des coordonnées positives. Les propriétés du produit scalaire permettent d'écrire:

$$\cos \theta = \sum_i \sqrt{(x_i y_i)}$$

où θ est l'angle entre les deux vecteurs.

Cavalli-Sforza et Edwards (1967) définissent deux distances, la distance d'arc et la distance de corde:

$$d_{\text{arc}} = \frac{2}{\pi} \text{Arc cos } \sum_i \sqrt{(x_i y_i)}$$

et $d_{\text{corde}} = \sqrt{2} \sqrt{(1 - \cos \theta)}$

C'est la distance de corde que l'on utilisera dans nos calculs.

3.2.1.3. Présentation des résultats.

L'ensemble des valeurs obtenues à partir des calculs des distances réalisés pour toutes les combinaisons de populations prises 2 à 2, se présente sous forme de matrices dont les dimensions sont assez importantes.

Les résultats seront donc présentés sous forme plus synthétique par un

graphique. Deux types de représentations seront employées, d'une part des dendrogrammes (méthode d'agglomération hiérarchique) et d'autre part des réseaux (arbres sans racine: méthode de Felsenstein, 1981).

Méthode d'agglomération hiérarchique.

Les résultats obtenus sur la distance de Nei seront représentés sur des dendrogrammes. Les dendrogrammes sont établis à l'aide d'une méthode mathématique de groupements par agglomération hiérarchique. A partir de l'ensemble des données on regroupe les deux plus proches et ainsi de suite. Dans cette construction, la longueur de toutes les branches qui conduisent de l'ancêtre commun aux espèces actuelles est la même. Cette méthode implique que les taux d'évolution soient constants au cours du temps dans les diverses lignées. Le choix du critère d'agglomération est arbitraire. Legendre et Legendre (1979) distinguent 3 grands types de critères. Nous avons choisi celui de l'association moyenne, qui calcule les centres de gravité entre les groupes lors de l'agglomération. Son effet est une conservation de l'espace.

Méthode de Felsenstein

La méthode de Felsenstein (1973 et 1981) est basée sur le modèle de Cavalli-Sforza et Edwards (1967) et sera donc appliquée aux résultats obtenus avec cette distance. Elle suppose que chaque population évolue indépendamment des autres sous l'effet de la dérive génétique. La représentation graphique sera différente des précédentes car on obtient des réseaux sans racine. L'absence de

racine provient du fait que l'on veut respecter la longueur des rameaux correspondant à la quantité d'évolution qui s'y est produite. Le maximum de vraisemblance est calculé pour plusieurs topologies et la plus vraisemblable est retenue.

3.2.2. STRUCTURE GENOTYPIQUE DES POPULATIONS.

La structure génotypique des populations sera étudiée par deux méthodes:

- d'une part la mesure du déficit en hétérozygotes (Méthode des F-statistics, Wright 1951),
- d'autre part la mesure du déséquilibre de liaison (Méthode des D-statistics, Ohta 1982).

Ces méthodes reposent toutes les deux sur le même principe mathématique. Il s'agit d'une analyse statistique qui décompose la variance totale d'un ensemble (indice IT) en une variance intra-sous-ensemble (indice IS) et une variance inter-sous-ensemble (indice ST). Dans ce chapitre, l'ensemble de référence sera l'espèce et les sous-ensembles seront les populations; mais, dans les chapitres suivants, nous utiliserons la même méthode au niveau de la population, les sous-ensemble étant alors des subdivisions de la population.

La première méthode (F-statistics) permet d'avoir une estimation (1) du régime de la reproduction dans les populations et (2) du degré d'isolement inter-populations. La deuxième méthode (D-statistics) permet de différencier l'importance des 2 causes pouvant être à l'origine du déséquilibre de linkage dans les populations, c'est-à-dire, soit la

sélection, soit la dérive génétique.

3.2.2.1. Méthode des F-statistics.

L'organisation inter et intrapopulation de la variabilité génétique a été étudiée à l'aide des F-statistics (Wright 1951, 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. 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 (H_o), soit dans les subdivisions, soit dans l'ensemble de celles-ci, considéré comme une seule unité, à l'hétérozygotie attendue (H_e) 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'estimation 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.

Nous avons utilisé le programme FORTRAN de Black et Krafur (1985a) pour calculer ces différents indices.

3.2.2.2 Méthode des D-statistics.

Le terme de "linkage disequilibrium" (déséquilibre de liaison) a été introduit par Lewontin et Kojima (1960) pour désigner une association non aléatoire entre allèles à deux loci. Pour Lewontin (1974), le déséquilibre de liaison est un bon indicateur de la sélection naturelle, mais Ohta et Kimura (1969) ont démontré qu'il pouvait être aussi engendré par la dérive génétique. La méthode des D-statistics proposée par Ohta (1982) permet de distinguer parmi ces 2 facteurs évolutifs, celui qui est à l'origine du déséquilibre de liaison. L'hypothèse de neutralité des marqueurs

enzymatiques pourra alors être testée. Cette hypothèse est importante à vérifier pour l'interprétation des résultats, en particulier, la méthode des F-statistics suppose qu'il n'y a pas sélection.

Ohta (1982) définit 5 indices selon une méthode de décomposition de la variance totale en variance inter et intra groupes. La variance totale D_{IT}^2 est d'abord décomposée en deux indices D_{ST}^2 (inter groupe) et D_{IS}^2 (intra groupe), mais l'égalité entre ces trois indices n'est pas respectée:

$$D_{IT}^2 \neq D_{ST}^2 + D_{IS}^2.$$

Cette variance totale du déséquilibre de liaison (D_{IT}^2) est ensuite décomposée en deux autres indices D'_{ST}^2 et D'_{IS}^2 tels que:

$$D_{IT}^2 = D'_{ST}^2 + D'_{IS}^2.$$

Ces 5 indices sont calculés de la manière suivante:

$$D_{IT}^2 = \sum_s (\sum_{ij} (T_{ij,s} - 2p_i p_j)^2) / x$$

$$D_{ST}^2 = \sum_s (\sum_{ij} (p_{is} p_{js} - p_i p_j)^2) / x$$

$$D_{IS}^2 = \sum_s (\sum_{ij} (T_{ij,s} - 2p_{is} p_{js})^2) / x$$

$$D'_{ST}^2 = \sum_{ij} (T_{ij} - 2p_i p_j)^2$$

$$D'_{IS}^2 = \sum_s (\sum_{ij} (T_{ij,s} - T_{ij})^2) / x$$

où $T_{ij,s}$ est la fréquence à laquelle les allèles i et j des deux locus A et B apparaissent ensemble chez un même individu dans le groupe s .

T_{ij} est la moyenne des $T_{ij,s}$ observés dans les x groupes.

p_{is} et p_{js} sont les fréquences des allèles i et j dans le groupe s .

p_i et p_j sont les moyennes pondérées des p_{is} et p_{js} .

x est le nombre de groupes s .

Au cours de cette étude, l'ensemble total sera l'espèce et les différents groupes seront les populations.

D_{IT}^2 mesure donc la variance totale du déséquilibre, c'est-à-dire quand i et j apparaissent ensemble dans un individu plus souvent que le prédirait l'hypothèse d'indépendance entre les fréquences alléliques calculées sur l'ensemble de l'espèce.

D_{ST}^2 indique l'écart entre le déséquilibre attendu dans chaque population par rapport à celui attendu dans l'espèce.

D_{IS}^2 est une mesure de la variance du déséquilibre dans chaque population.

Si les populations sont différenciées à la suite de la dérive génétique, les combinaisons alléliques seront établies indépendamment suivant les populations et D_{ST}^2 sera plus grand que D_{IS}^2 . En revanche, si une sélection uniforme agit dans chaque population pour maintenir certaines combinaisons alléliques, D_{ST}^2 sera plus petit que D_{IS}^2 .

D'_{ST}^2 est un index du déséquilibre moyen observé dans l'espèce.

D'_{IS}^2 indique l'écart entre les combinaisons alléliques observées dans chaque population par rapport à celles observées dans l'espèce.

Si la dérive génétique est à l'origine de la variance dans les combinaisons alléliques, D'_{IS}^2 sera plus grand que D'_{ST}^2 . En revanche, une sélection uniforme sur les combinaisons alléliques augmentera D'_{ST}^2 et diminuera la variance D'_{IS}^2 .

La méthode permet donc de différencier 3 types de déséquilibre définis par Ohta (1982):

- Le déséquilibre non systématique.

Ce déséquilibre de liaison a pour origine la dérive génétique, et dans ces conditions on a:

$$D_{IS}^2 < D_{ST}^2 \text{ et } D'_{IS}^2 > D'_{ST}^2.$$

- Le déséquilibre systématique.

Ce déséquilibre de liaison a pour origine une sélection uniforme pour certaines combinaisons alléliques et dans ces conditions on a:

$$D_{IS}^2 > D_{ST}^2 \text{ et } D'_{IS}^2 < D'_{ST}^2.$$

- Le déséquilibre systématique inégal.

Ce déséquilibre de liaison a pour origine une sélection qui s'exerce sur certaines combinaisons alléliques seulement dans quelques populations mais pas de manière uniforme sur l'ensemble des populations de l'espèce. Dans ces conditions on a:

$$D_{IS}^2 > D_{ST}^2 \text{ et } D'_{IS}^2 > D'_{ST}^2.$$

Tableau 3 : Fréquences alléliques dans les différentes populations des deux espèces
L. latifolius et *L. sylvestris*

LOCUS	GOT1			GOT2			EST1			LAP1					ACP1									
	1	2	3	1	2	3	1	2	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5					
ALLELES	1	2	3	N	1	2	3	N	1	2	5	N	1	2	3	4	5	N	1	2	3	4	5	N
Pop. L.L.	L 1	L 2	L 3	L 4	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6														
	1.00	1.00	0.98	0.97	0.62	1.00	0.14	1.00	0.68	1.00														
	-	-	-	-	0.38	1.00	0.86	1.00	0.32	1.00														
	109	94	61	29	170	103	43	21	25	47														
	0.97	0.28	0.98	0.67	1.00	1.00	0.98	1.00	1.00	1.00														
	0.03	0.72	0.02	0.03	-	-	-	-	-	-														
	106	92	59	18	176	103	41	21	25	47														
	0.21	0.10	0.10	0.09	0.96	0.91	1.00	0.25	1.00	1.00														
	0.77	0.90	0.90	0.78	0.04	0.09	-	0.75	-	-														
	0.02	-	-	0.13	157	76	43	20	25	47														
	98	89	60	34	-	0.47	0.01	0.06	0.26	0.42														
	0.70	0.15	0.79	0.85	0.22	-	-	0.94	0.38	-														
	0.30	0.85	0.21	0.03	0.78	0.53	0.84	-	0.36	0.58														
	-	-	-	-	-	-	0.15	-	-	-														
	107	86	57	30	100	103	43	8	25	46														
	0.79	0.70	0.49	0.90	0.01	0.04	0.05	0.03	0.10	-														
	0.11	0.30	0.38	0.90	0.02	0.95	0.39	0.97	0.90	1.00														
	0.10	-	0.07	-	0.97	-	0.56	-	-	-														
	-	-	0.04	-	-	-	-	-	-	-														
	-	-	0.02	0.10	-	0.01	-	-	-	-														
	91	62	53	10	107	103	39	20	25	46														

N : effectifs analysés pour chaque locus
 Pop. L.L. : populations de *Lathyrus latifolius*
 Pop. L.s. : populations de *Lathyrus sylvestris*

Nous avons utilisé le programme FORTRAN de Black et Krafur (1985b) pour calculer ces différents indices.

3.3. RESULTATS ET DISCUSSION.

3.3.1. STRUCTURE ALLELIQUE DES POPULATIONS.

3.3.1.1. Fréquences alléliques.

Les fréquences alléliques obtenues dans les différentes populations des deux espèces sont données Tableau 3.

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 3). C'est le cas des allèles 4 et 5 du locus LAP1 qui n'ont été observés que chez L. sylvestris; et des allèles 2 des loci EST1 et GOT2 qui se trouvent uniquement dans les populations de L. latifolius. L'allèle 2 du locus GOT1 se trouve généralement chez L. sylvestris. Il n'est observé qu'à faible fréquence dans une seule population (L4) de L. latifolius. Cette population L4 est assez particulière, puisqu'on y trouve les deux espèces en contact. La présence de l'allèle 2 au locus GOT1 pourrait donc révéler un passage de

gènes entre les deux espèces. Au locus ACPH1, il n'existe pas d'allèle discriminant (l'allèle 4 est observé uniquement dans une population de L. latifolius, mais à une fréquence trop faible pour être considéré comme discriminant). Cependant, à ce locus, les deux espèces diffèrent nettement par leurs fréquences alléliques: chez L. latifolius les allèles 1 et 2 sont les plus fréquents, alors que chez L. sylvestris ce sont les allèles 2 et 3.

L'importance du polymorphisme varie d'un locus à l'autre et d'une population à l'autre. Le locus GOT1 apparaît très peu polymorphe chez L. latifolius et le locus GOT2 pratiquement monomorphe chez L. sylvestris. Cette différence dans les niveaux de polymorphisme nous a amené à éliminer les loci trop monomorphes dans certaines analyses. La différenciation entre populations chez les deux espèces sera discutée plus loin dans le paragraphe des F-statistics.

Les allozymes permettent donc de différencier les deux espèces puisque un certain nombre d'allèles discriminants ont pu être mis en évidence chez les deux espèces. Les allozymes révèlent alors l'existence d'un certain 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; Chaïb et al., 1986) 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 aux loci étudiés) laissent supposer que la divergence entre les deux espèces doit être un phénomène relativement récent.

3.3.1.2. Distances génétiques

La distance de Nei a été calculée selon les deux méthodes (Nei, 1972 et Nei, 1978). Les matrices de distances sont données Annexe 2. Les dendrogrammes obtenus sont représentés Figure 5 (distance de Nei, 1972) et Figure 6 (distance de Nei, 1978). On remarque que les deux méthodes donnent des résultats pratiquement identiques. La différence dans la taille des échantillons ne semble donc pas intervenir significativement dans ces résultats.

L'arbre obtenu d'après la méthode de Felsenstein (1981) est représenté Figure 7.

Dans ces deux types de représentation, les deux espèces se trouvent parfaitement séparées. L'existence d'un isolement reproductif semble donc bien vérifiée.

Pour évaluer l'importance de la divergence entre les deux espèces, on peut comparer la distance de Nei que nous obtenons avec celles publiées dans la littérature. Le Tableau 4 regroupe quelques données obtenues dans différents embranchements. On remarque que les distances calculées sur les plantes sont beaucoup plus importantes que celles mesurées sur les animaux. Ceci vient du fait que chez les plantes beaucoup moins de loci ont été étudiés d'une part, et que d'autre part, les distances ne sont calculées qu'avec des loci polymorphes. Notre calcul de la distance de Nei a été effectué sur les loci polymorphes uniquement, et sera donc comparable à celui obtenu chez les plantes mais surestimé par rapport aux animaux. Les Figures 5 et 6 donnent une distance entre les deux espèces voisine de 0.70.. Cette valeur se trouve bien dans la fourchette des distances séparant deux

Comparaisons	Noeuds	Distances
S2-S6	11	0.0012
L1-L3	12	0.0141
S1-S3	13	0.0958
L4-noeud 12	14	0.0803
noeud 11-noeud 13	15	0.1231
S5-noeud 15	16	0.1220
L2-noeud 14	17	0.1538
S4-noeud 16	18	0.1914
noeud 17-noeud 18	19	0.3332

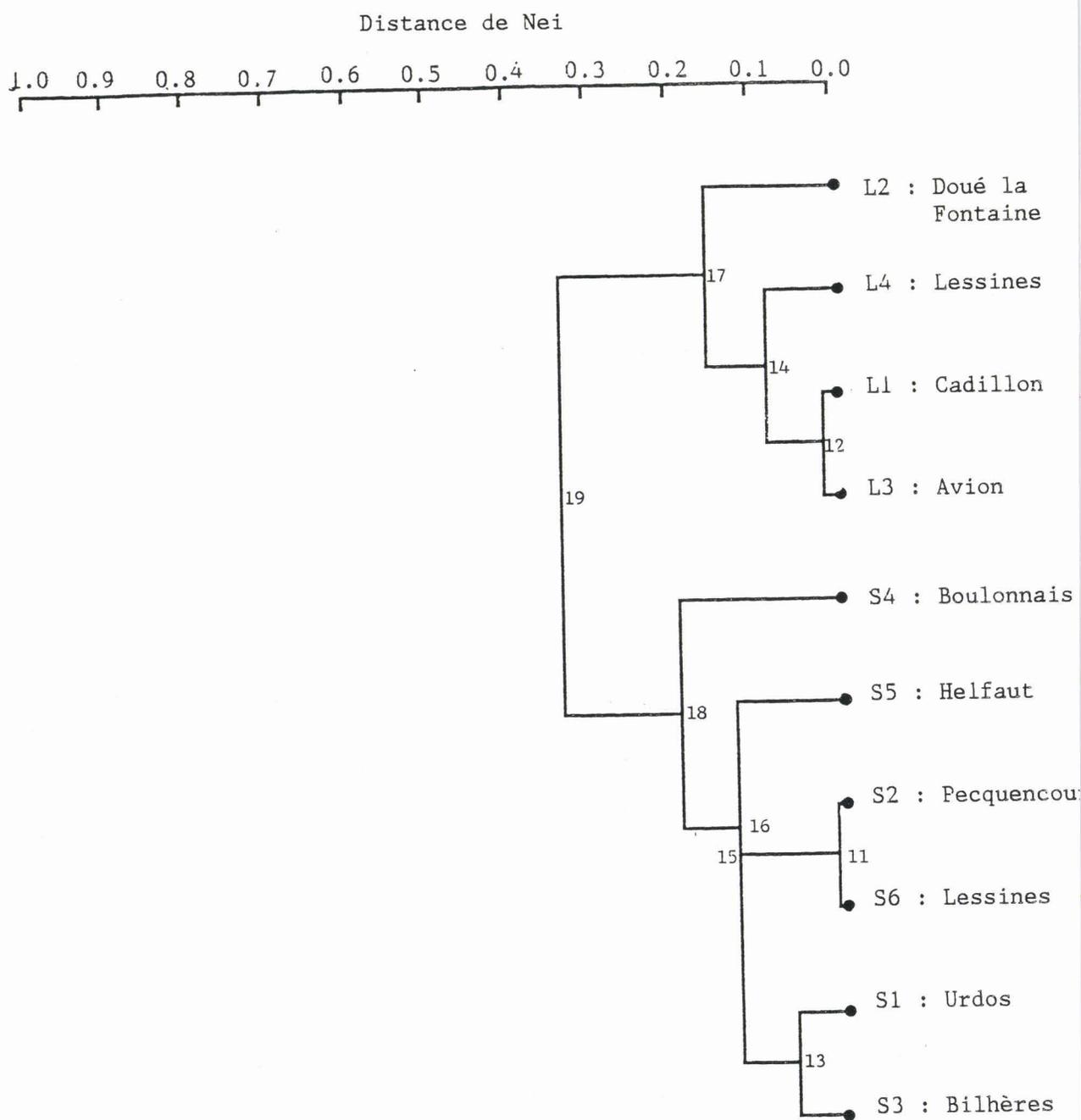


Figure 5: Dendrogramme obtenu sur les distances de Nei (1972)

Comparaisons	Noeuds	Distances
S2-S6	11	0.007
L1-L3	12	0.0130
S1-S3	13	0.0547
L4-noeud 12	14	0.0777
noeud 11-noeud 13	15	0.1227
S5-noeud 15	16	0.1215
L2-noeud 14	17	0.1526
S4-noeud 16	18	0.1903
noeud 17-noeud 18	19	0.3326

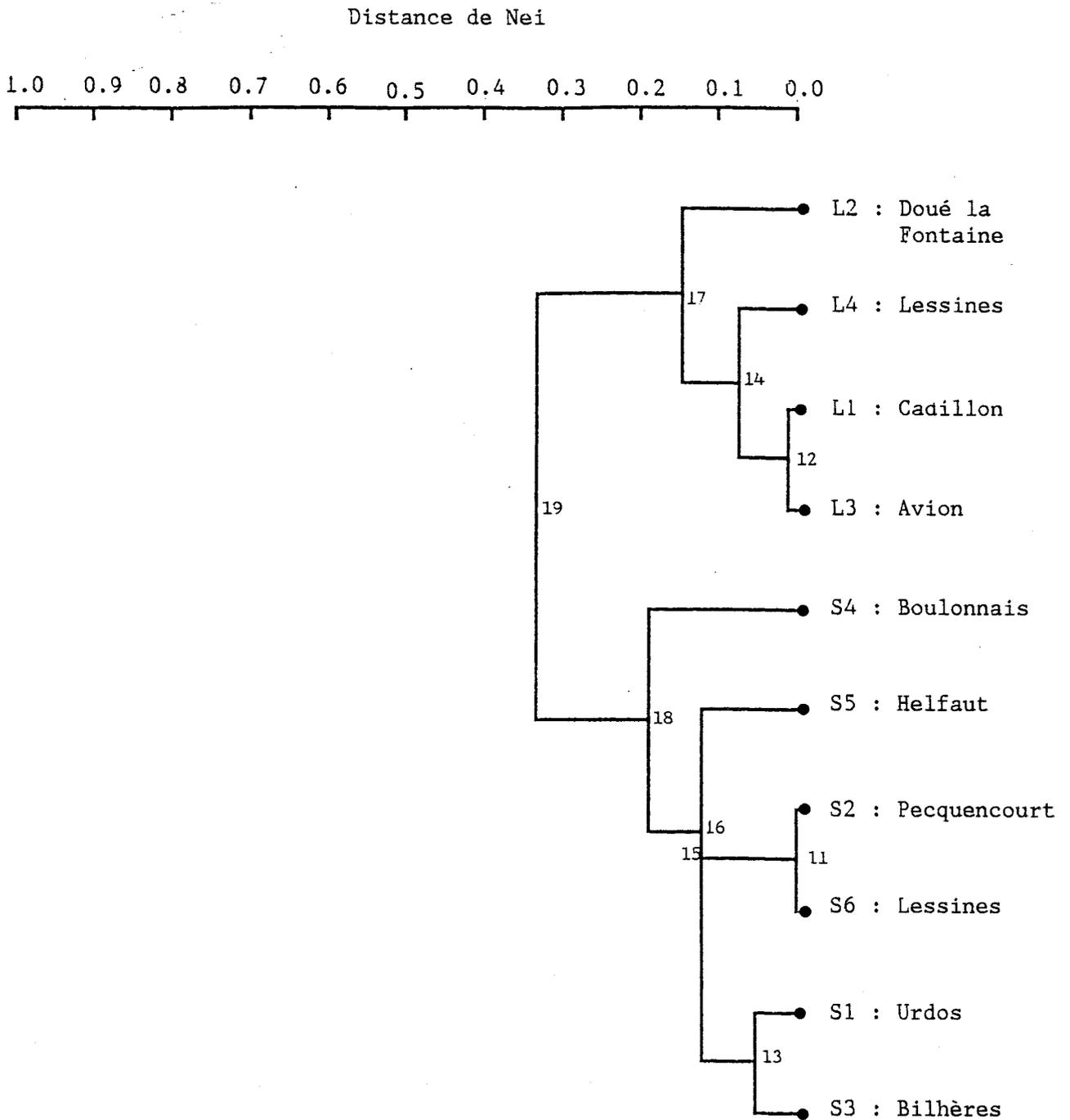


Figure 6: Dendrogramme obtenu sur les distances de Nei (1978)

Comparaisons	Longueur	Intervalle de confiance	
L1-noeud 3	-	-0.0067	0.0197
noeud 3-noeud 2	0.0157	0.0037	0.0334
noeud 2-noeud 1	0.0571	-0.0327	0.1885
noeud 1-L4	0.2536	0.0725	0.5189
noeud 1-noeud 7	0.1361	0.0235	0.3010
noeud 7-S5	0.0000	0.0348	0.0510
noeud 7-noeud 6	0.0459	-0.0045	0.1196
noeud 6-S4	0.1422	0.0401	0.2918
noeud 6-noeud 4	0.0275	-0.0235	0.1020
noeud 4-noeud 8	0.0247	-0.0138	0.0812
noeud 8-S6	0.0066	-0.0001	0.0164
noeud 8-S2	0.0046	-0.0020	0.0141
noeud 4-noeud 5	0.0808	0.0193	0.1710
noeud 5-S3	0.0000	-0.0272	0.0399
noeud 5-S1	0.0793	0.0304	0.1509
noeud 2-L3	0.0000	-0.0106	0.0156
noeud 3-L2	0.0883	0.0319	0.1709

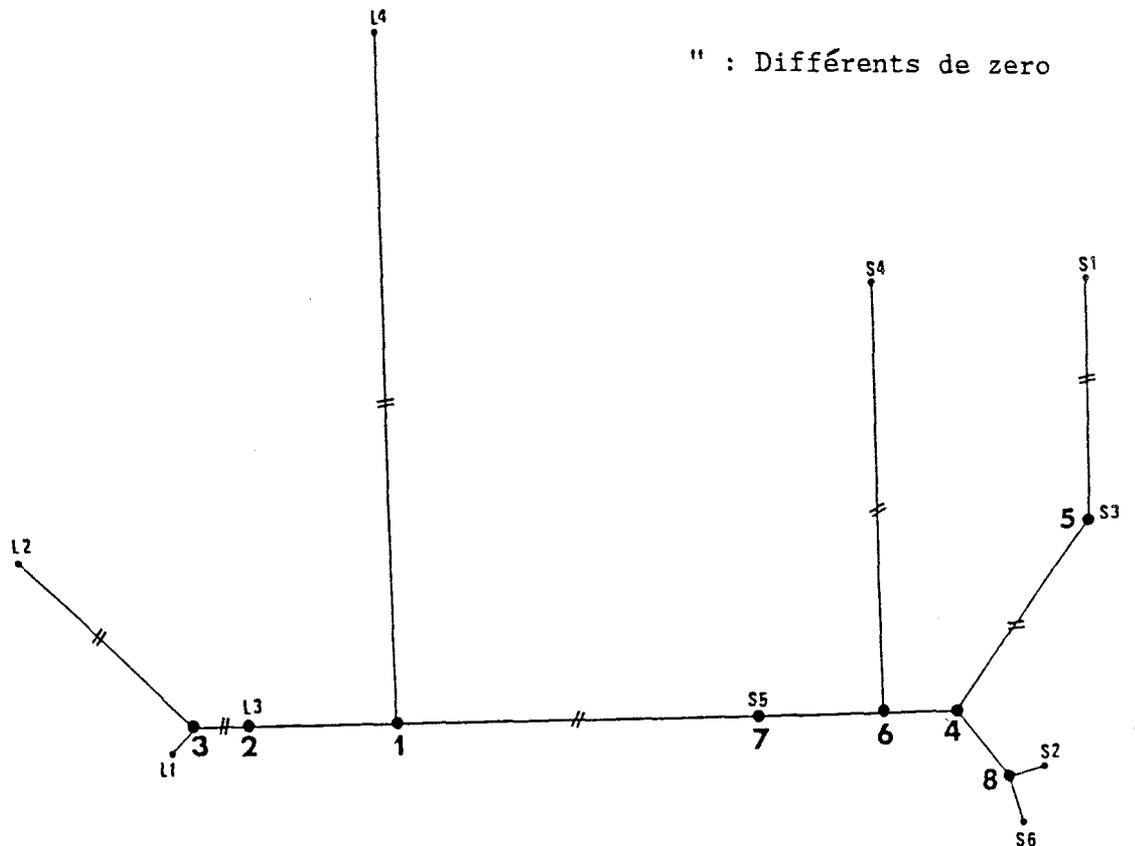


Figure 7: Réseau (arbre sans racine) obtenu avec la méthode de Felsenstein (1981)

Tableau 4 : Distances de Nei calculées dans la littérature dans différents embranchements.

Distances de Nei Différents embranchements	Entre Populations	Entre sous- espèces	Entre espèces	Entre genres
Invertébrés *	0-0.03	0.10-0.25	0.25-0.75	-
Vertébrés *	0-0.05	0.10-0.25	0.25-0.60	0.50-2
Plantes (1,2,3,4)	0-0.10	0.20-0.30	0.01-1.05	-

* Avise (1976)

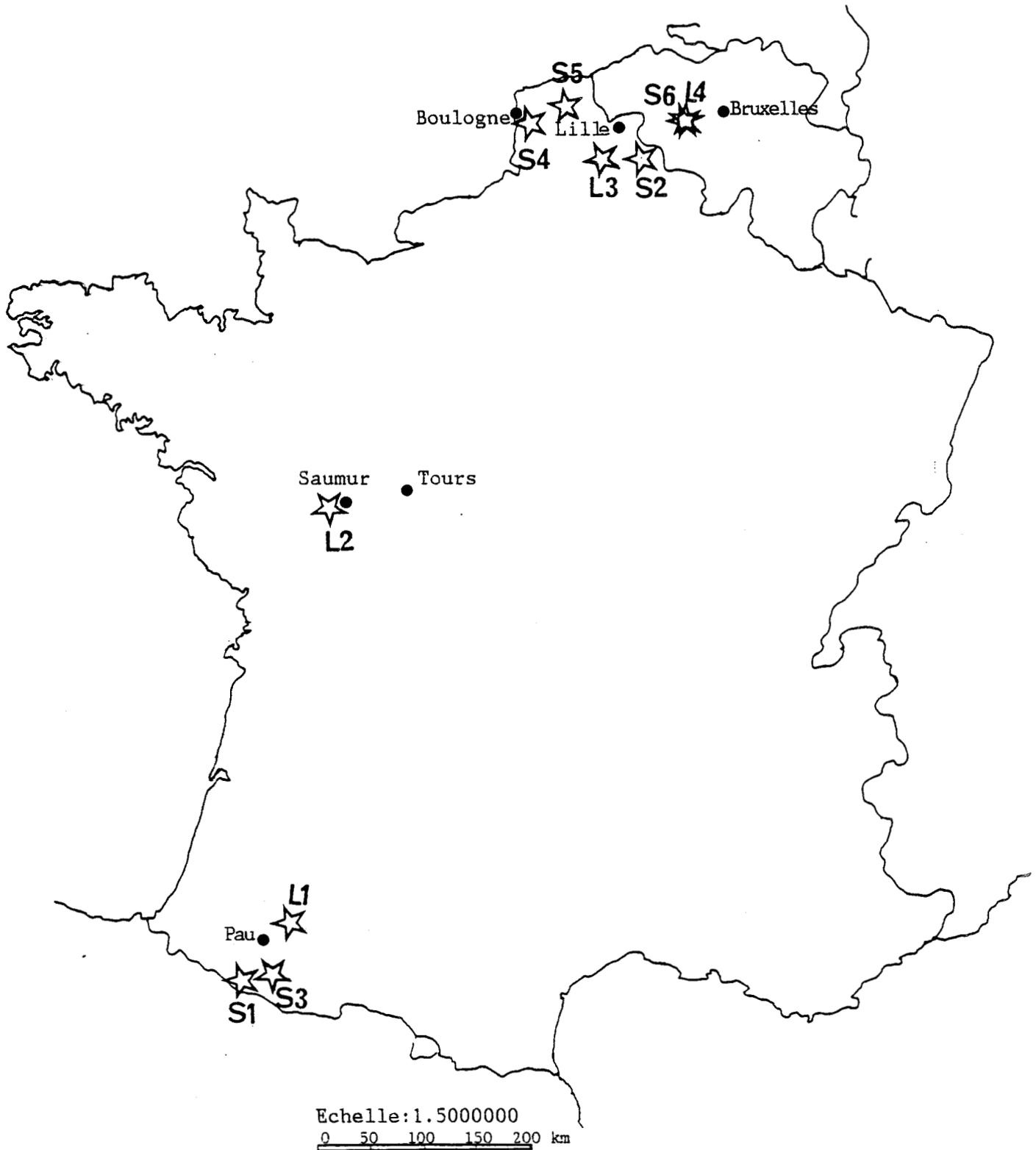
(1) Cuguen (1986)

(2) Valero (1983)

(3) Lumaret (1981)

(4) Gottlieb (1981)

Figure 8 : Localisation géographique des différentes populations étudiées



Populations *L. latifolius*: L1. L2. L3. L4 (voir chapitre 1)
Populations *L. sylvestris*: S1, S2, S3, S4, S5, S6 (voir chapitre 1)
L4 et S6 : sont situées à quelques mètres l'une de l'autre.

espèces (Tableau 4).

A l'intérieur des deux espèces, les deux méthodes (Nei et Felsenstein) divergent sur le regroupement des populations. Chez L. latifolius, les deux populations les plus proches sont Cadillon (L1) et Avion (L3) selon les deux méthodes, mais l'arbre de Felsenstein (Figure 7) montre que la population la plus éloignée des autres est Lessines (L4), alors que sur l'arbre de Nei (Figures 5 et 6) il s'agit de Doué la Fontaine (L2). Chez L. sylvestris, les méthodes concordent bien, ici encore, dans les regroupements des populations les plus proches (Pecquencourt (S2) et Lessines (S6); et Urdos (S1) et Bilhères (S3)) mais divergent lors des groupements des populations plus éloignées (Boulonnais (S4) ou Helfaut (S5)). Quels que soient les regroupements, ils ne correspondent pas à la distance géographique entre les populations (Figure 8). La méthode de Felsenstein présente l'intérêt de donner des intervalles de confiance aux distances et de faire ressortir celles qui sont significativement différentes de 0 (Figure 7). Il apparaît que chez les deux espèces, les distances inter-populations ne sont pas négligeables, même entre populations provenant d'une même région, comme par exemple S4 et S5, distantes d'une cinquantaine de km au maximum (Figure 8).

Il est possible de calculer chez chacune des deux espèces, les distances moyennes de Nei entre populations pour les comparer à celles obtenues dans la littérature. Les distances moyennes observées chez les deux espèces sont données dans le Tableau 5. Chez L. latifolius, les distances inter-populations varient de 0.05 à 0.25, chez L. sylvestris,

Tableau 5: Moyennes des distances génétiques de Nei entre les populations chez les deux espèces L. latifolius (L.) et L. sylvestris (S).

Populations	Distances génétiques inter-populations*		Moyenne des distances génétiques inter-populations chez les deux espèces	
	D (1972)	D (1978)	D (1972)	D (1978)
L1	0.126	0.123		
L2	0.240	0.238	0.169	0.150
L3	0.053	0.050		
L4	0.258	0.189		
S1	0.362	0.361		
S2	0.138	0.137		
S3	0.247	0.245	0.229	0.227
S4	0.267	0.265		
S5	0.133	0.132		
S6	0.226	0.224		

(L1,L2,L3,L4): Populations L. latifolius (voir chapitre 1)

(S1, S2, S3, S4, S5, S6): Populations L. sylvestris (voir chapitre 2)

* Moyennes des distances génétiques de chaque population par rapport aux autres populations de la même espèce.

elles varient de 0.13 à 0.36. La distance inter-population est donc en moyenne plus importante chez L. sylvestris (0.23) que chez L. latifolius (0.15). Ces résultats, peut-être en partie biaisés par le fait qu'un plus grand nombre de populations a été étudié chez L. sylvestris, semblent indiquer que les flux géniques sont plus limités chez L. sylvestris. Si on compare nos résultats avec ceux décrits dans la littérature (Tableau 4), on s'aperçoit que les distances moyennes inter-populations sont, chez les deux espèces, supérieures à celles généralement obtenues non seulement chez les animaux mais aussi chez les plantes. Les valeurs observées entre les populations chez les deux Lathyrus sont comparables à des distances entre sous-espèces.

En conclusion, l'organisation de la diversité allélique montre une divergence génétique importante entre les deux espèces, ainsi qu'une différenciation inter-populations extrêmement élevée au niveau intraspécifique, mais les éléments de références sont peu nombreux.

3.3.2. STRUCTURE GENOTYPIQUE DES POPULATIONS.

3.3.2.1. Méthode des F-statistics.

Les trois indices calculés sur chaque locus et sur la moyenne des loci sont donnés dans le Tableau 6 pour chaque espèce. Ces indices varient assez fortement suivant les loci. Si on considère les différents loci comme des marqueurs génétiques sélectivement neutres, cette variabilité inter-loci est difficile à expliquer. Elle peut être due en partie aux différences de polymorphisme entre les loci, certains loci étant beaucoup moins polymorphes que d'autres (Tableau 3). Nous nous intéresserons donc

Tableau 6 : F-statistics: les 3 indices moyens obtenus aux 5 loci chez les populations des deux espèces

LOCUS	ESPECES					
	L. SYLVESTRIS			L. LATIFOLIUS		
	F _{IS}	F _{ST}	F _{IT}	F _{IS}	F _{ST}	F _{IT}
GOT1	0.333	0.500	0.667	0.661	0.020	0.668
GOT2	- 0.018	0.022	0.005	0.043	0.614	0.630
EST1	0.234	0.439	0.570	0.044	0.040	0.081
LAP1	0.363	0.251	0.523	0.212	0.404	0.530
AcPH1	- 0.164	0.791	0.757	0.254	0.180	0.389
MOYENNE	0.265**	0.513**	0.642**	0.167*	0.342*	0.452**
ERREUR STANDARD	(0.046)	(0.073)	(0.032)	(0.026)	(0.053)	(0.040)

F_{IS} = intra-population

F_{ST} = inter-population

F_{IT} = intra-spécifique

* = différent de 0 pour P<0.05

** = différent de 0 pour P<0.01

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).

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

essentiellement aux moyennes inter-loci qui ont été calculées selon la méthode de Weir et Cockerham (1984) parce que cette moyenne est pondérée par le niveau de polymorphisme observé à chaque locus.

Chez les deux Lathyrus, les trois indices sont significativement différents de 0 (Tableau 6). Le déficit en hétérozygotes calculé sur l'ensemble de l'espèce (F_{IT}) s'explique donc par des flux géniques restreints entre les populations (F_{ST}) d'une part, mais aussi par des flux géniques limités à l'intérieur des populations (F_{IS}). Quel que soit le niveau d'étude, les indices obtenus chez L. sylvestris sont significativement plus élevés (Tableau 6) que ceux obtenus chez L. latifolius. Ce résultat confirme les observations faites par ailleurs (Valero, 1987; Hossaert et Valero, 1988) montrant un régime de reproduction plus fermé chez L. sylvestris que chez L. latifolius.

Le nombre d'hétérozygotes observés, et attendus selon la loi de Hardy-Weinberg, et le test du déficit en hétérozygotes sont donnés pour chaque population dans l'Annexe 3. Le Tableau 7 présente les différents F_{IS} calculés d'après ces données. Chez les deux espèces, certaines populations semblent plus consanguines que d'autres. La consanguinité observée ici peut avoir deux origines: soit une reproduction par voisinage, soit une reproduction par autofécondation. Nous essayerons, dans les chapitres suivants, de déterminer la part respective de ces deux facteurs à l'origine du déficit en hétérozygotes. Quoiqu'il en soit, plusieurs explications peuvent être avancées pour expliquer cette variation entre populations. Tout d'abord, la répartition spatiale des individus sur le terrain, par le nombre de voisins potentiels dont dispose un individu, peut entraîner des variations importantes sur le niveau de consanguinité des populations

Tableau 7 : Indice de fixation (F_{IS}) de Wright obtenu pour chaque locus et sur la moyenne des loci dans toutes les populations de L. latifolius et L. sylvestris

ESPECE		F _{IS} PAR LOCUS					F _{IS}
POPULATIONS	N° Pop.	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1	MOYENNES*
<u>L. LATIFOLIUS</u>							
CADILLON	L1	----	-0.034	-0.109	0.331	0.022	0.053
DOUE	L2	----	0.105	0.024	0.017	0.422	0.142
AVION	L3	----	-0.017	0.444	0.050	0.288	0.191
LESSINES	L4	----	-0.204	0.119	0.366	-----	0.094
<u>L. SYLVESTRIS</u>							
URDOS	S1	0.374	-----	0.402	0.341	-0.030	0.272
PEQUENCOURT	S2	-----	-----	-0.101	0.435	-0.048	0.095
BILHERES	S3	-0.162	-----	-----	-0.011	-0.303	-0.159
BOULONNAIS	S4	-----	-----	0.467	-----	-0.026	0.221
HELFAUT	S5	0.449	-----	-----	0.453	-0.111	0.264
LESSINES	S6	-----	-----	-----	0.332	-----	0.332

* : Les moyennes ne sont calculées que sur les locus polymorphes
 ----: Locus monomorphe ou trop peu polymorphe

(Wright, 1943; Levin et Kester, 1974; Handel, 1983; Valero, 1987). D'autre part, cette variation pourrait s'expliquer par un polymorphisme pour le régime de la reproduction chez ces deux espèces, si entre autre la proportion d'individus autoféconds varie suivant les populations. Enfin, si les loci étudiés ne sont pas sélectivement neutres, les différences inter populations pourraient provenir d'effets sélectifs différents. Cette dernière hypothèse sera testée dans le prochain paragraphe.

3.3.2.2. Méthode des D-statistics.

Les résultats obtenus sur les 5 indices chez les deux espèces sont donnés dans le Tableau 8. Les résultats obtenus montrent que D_{IS}^2 est toujours inférieur à D_{ST}^2 et que D'_{IS}^2 est toujours supérieur à D'_{ST}^2 . Les déséquilibres de liaison sont donc toujours non systématiques. Ils proviennent probablement d'un effet de dérive génétique et ne semblent pas avoir comme origine la sélection. Les loci étudiés ici se comportent donc comme des marqueurs sélectivement neutres.

Les valeurs des 5 indices confirment les résultats précédents: le déséquilibre de liaison provient d'une forte différenciation inter populations chez les deux espèces, la différenciation étant plus marquée chez L. sylvestris que chez L. latifolius.

Le déséquilibre de liaison, observé dans chaque population (Tableau 9), a été testé selon la méthode de Weir (1979). Le Tableau 9 montre que des déséquilibres de liaison significatifs sont plus souvent observés dans les populations de L. latifolius. Cependant, ces déséquilibres proviennent dans la majorité des cas (Tableau 9):

Tableau 8 : "D-statistics": les 5 indices obtenus dans les différentes populations des deux espèces L. latifolius et L. sylvestris.

ESPECES	Loci présentant un déséqui- libre de liaison	Composantes intra-populations		Composantes inter-populations		Composantes sur l'ensemble des populations
		D_{IS}^2	D'_{IS}^2	D_{ST}^2	D'_{ST}^2	D_{IT}^2
<u>L. latifolius</u>						
	GOT1-GOT2	0.00033	0.86682	0.19491	0.00004	0.86686
	GOT1-EST1	0.00140	0.04458	0.01085	0.00013	0.04471
	GOT1-LAP1	0.00177	0.67831	0.16390	0.00016	0.67847
	GOT1-AcPH1	0.00001	0.27915	0.23511	0.00001	0.27916
	GOT2-EST1	0.00076	0.70016	0.15419	0.00382	0.70397
	GOT2-LAP1	0.00567	0.75865	0.21116	0.15979	0.91844
	GOT2-AcPH1	0.00566	0.56605	0.22636	0.00364	0.56969
	EST1-LAP1	0.00155	0.56523	0.13193	0.00256	0.56779
	EST1-AcPH1	0.00284	0.18717	0.15677	0.00032	0.18750
	LAP1-AcPH1	0.00457	0.54110	0.22744	0.00016	0.54127
<u>L. sylvestris</u>						
	GOT1-GOT2	0.00002	0.73703	0.18498	0.00001	0.73704
	GOT1-EST1	0.00007	0.81402	0.26682	0.00280	0.81682
	GOT1-LAP1	0.00126	0.70598	0.28734	0.02957	0.73556
	GOT1-AcPH1	0.00127	1.31751	0.34842	0.14724	1.46475
	GOT2-EST1	0.00000	0.22518	0.15608	0.00000	0.22518
	GOT2-LAP1	0.00003	0.45526	0.26603	0.00002	0.45528
	GOT2-AcPH1	0.00004	1.44758	0.30566	0.00002	1.44761
	EST1-LAP1	0.00041	0.47231	0.22499	0.00196	0.47427
	EST1-AcPH1	0.00007	1.52542	0.36002	0.00853	1.53395
	LAP1-AcPH1	0.00227	0.91687	0.33206	0.07491	0.99178

(1) de la présence d'allèles rares (les allèles à faible fréquence diminuent la probabilité de les trouver ensemble chez un même individu);

(2) d'un échantillonnage trop faible (certaines combinaisons alléliques sont sous-estimées par un biais dans l'échantillonnage).

Il apparaît alors que la seule population présentant un déséquilibre de liaison significatif est Doué La Fontaine (L2). Cette population sera étudiée plus en détail dans les chapitres suivants. Cependant, les résultats obtenus jusqu'à présent laissent supposer que ce déséquilibre provient probablement d'un effet de dérive suivant différents événements de fondation ou d'un système de reproduction consanguin, mais il n'a sans doute pas comme origine la sélection.

3.4. CONCLUSION.

L'étude de l'organisation de la diversité génétique nous a permis de montrer que ces deux espèces sont bien isolées reproductivement. D'autre part, il apparaît nettement qu'à l'intérieur des deux Lathyrus, la divergence génétique entre les populations est importante. Certaines distances entre populations atteignent des valeurs proches de la distance entre les deux espèces. Les échanges géniques sont donc limités même entre populations d'une même localité géographique. La différenciation inter-population est généralement plus forte chez les espèces à régime de reproduction fermé que chez les allogames (Hamrick et al., 1979; Gottlieb, 1981; Crawford, 1983). Le déficit en hétérozygotes mesuré dans les populations (F_{IS}) montre cependant une valeur intermédiaire entre celles

Tableau 9 : Valeurs des χ^2 : comparaisons des déséquilibres de liaison entre les loci pris 2 à 2 à l'intérieur des populations de chaque espèce.

LOCI COMPARÉS	L. LATIFOLIUS						L. SYLVESTRIS													
	N1	L1	N2	L2	N3	L3	N4	L4	N1	S1	N2	S2	N3	S3	N4	S4	N5	S5	N6	S6
GOT1-GOT2	-	-	-	-	-	-	18	2.37 (ns)	-	-	-	-	41	0.74 (ns)	-	-	-	-	-	-
GOT1-EST1	-	-	-	-	-	-	29	38.52° (***)	138	0.61 (ns)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GOT1-LAP1	-	-	-	-	-	-	28	120.45° (***)	90	1.15 (ns)	-	-	43	3.21 (ns)	-	-	25	1.36 (ns)	-	-
GOT1-ACPH1	-	-	-	-	-	-	-	-	94	5.00 (ns)	-	-	39	2.87 (ns)	-	-	25	0.02 (ns)	-	-
GOT2-EST1	95	1.82 (ns)	87	1.56 (ns)	58	0.49 (ns)	18	1.56 (ns)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GOT2-LAP1	102	0.18 (ns)	84	12.86 (***)	55	1.12 (ns)	18	5.44 (ns)	-	-	-	-	41	0.89 (ns)	-	-	-	-	-	-
GOT2-ACPH1	89	2.20 (ns)	62	4.76 (*)	51	4.59 (ns)	8	20.08° (***)	-	-	-	-	37	0.63 (ns)	-	-	-	-	-	-
EST1-LAP1	94	0.76 (ns)	83	0.73 (ns)	57	0.17 (ns)	30	41.64° (***)	88	0.61 (ns)	76	0.13 (ns)	-	-	7	2.20 (ns)	-	-	-	-
EST1-ACPH1	82	1.83 (ns)	60	0.08 (ns)	52	19.69 (***)	10	1.83 (ns)	99	0.38 (ns)	76	0.63 (ns)	-	-	19	1.15 (ns)	-	-	-	-
LAP1-ACPH1	87	1.26 (ns)	59	1.42 (ns)	49	8.44 (ns)	10	23.39° (***)	81	7.32° (*)	103	0.08 (ns)	39	6.91 (ns)	7	0.23 (ns)	25	0.21 (ns)	-	-

Nx : nombre de comparaisons dans la population x.
 L1...L4 : numérotation des populations de L. latifolius (cf. tableau 2, chap.1)
 S1...S6 : numérotation des populations de L. sylvestris (cf. tableau 2, chap.1)
 * (ns) : non significatif
 * : significatif pour P<0.05 ;
 ** : " " P<0.01
 *** : " " P<0.001
 ° : déséquilibre dû à la présence d'allèles rares
 \$: " " faible taille de l'échantillon
 - : un allèle est fixé à un ou aux deux loci.

obtenues chez les espèces autogames et allogames (Schaal, 1975; Levin, 1977; Guries et Ledig, 1982; Hiebert et Hamrick, 1983). Le déficit en hétérozygotes varie d'ailleurs d'une population à l'autre, et on peut se demander si il existe un polymorphisme pour le système de la reproduction chez ces espèces.



REFERENCES

- AVISE J.C. 1976: Genetic differentiation during speciation. In Molecular evolution. F.J. Ayala (editor), Sinauer ass., 106-122.
- AYALA F.J. 1976: Molecular Evolution. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts, USA.
- BLACK W.C. & E.S. KRAFSUR. 1985a: A Fortran program for analysis of genotypic frequencies and description of the breeding structure of populations. *Theor. Appl. Genet.*, 70: 484-490.
- BLACK W.C. & E.S. KRAFSUR. 1985b: A Fortran program for the calculation and analysis of two-locus linkage disequilibrium coefficients. *Theor. Appl. Genet.*, 70: 491-496.
- BROWN A.H.D. 1979: Enzyme polymorphism in plant populations. *Theor. Pop. Biol.*, 15: 1-42.
- CAVALLI-SFORZA L.L. & A.W. EDWARDS. 1967: Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, 21: 550-570.
- 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.
- CHAKRABORTY R. & Y. TATENO. 1976: Correlations between some measures of genetic distance. *Evolution*, 30: 851-853.
- CRAWFORD D.J. 1983: Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies. In Isozymes in plant genetics and breeding, S.D. Tanksley & T.J. Orton (Eds), Elsevier, Amsterdam: 257-287.
- CUGUEN J. 1986: Différenciation génétique inter et intrapopulations d'un arbre forestier anémophile: le cas du hêtre (Fagus sylvatica L.). Thèse de Doctorat, Université de Montpellier, France.
- DAVIES A.J.S. 1957: Successful crossing in the genus Lathyrus following styler amputation. *Nature*, 180: 12.
- FELSENSTEIN J. 1973: Maximum-likelihood estimation of evolutionary trees from continuous characters. *Am. J. Hum. Genet.*, 25: 471-492.
- FELSENSTEIN J. 1981: Evolutionary trees from gene frequencies and quantitative characters: finding maximum likelihood estimates. *Evolution*, 35: 1229-1242.
- GENERMONT J. 1979: Les mécanismes de l'évolution. Dunod Université, Bordas, Paris, France.
- GOTTLIEB L.D. 1981: Electrophoretic evidence and plant populations. *Prog. Phytochem.*, 7: 1-46

- GURIES P. & F.T. LEDIG. 1982: Genetic diversity and population structure in pitch pine (Pinus rigida Mill.). *Evolution*, 36: 387-402.
- HAMRICK J.L., LINHART Y.B. & J.B. MITTON. 1979: Relationships between life-history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 10: 173-200.
- HANDEL S.N. 1983: Pollination ecology, plant population structure and gene flow. In *Pollination Biology*, L. Real (editor), Academic Press N.Y.: 163-211
- HIEBERT R.D. & J.L. HAMRICK. 1983: Patterns and levels of genetic variation in Great Basin Bristlecone pine, Pinus longaeva. *Evolution* 37: 302-310.
- HOSSAERT M. & M. VALERO 1988: Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in 2 species of Lathyrus (Leguminosae: Papilionoidae). *Amer. J. Bot.*, 75: 1714-1731.
- LEGENDRE L. & P. LEGENDRE. 1979: *Ecologie numérique*. Collection d'écologie 12 et 13, Masson (éditeur), Paris et P.U.Q.
- LEVIN D.A. 1977: The organisation of genetic diversity in Phlox drummondii. *Evolution*, 31: 477-494.
- LEVIN D.A. & H.W. KESTER. 1974: Gene flow in seed plants. *Evol. Biol.*, 7: 138-220.
- LEWONTIN R.C. 1974: *The genetic basis of evolutionary change*. Univ. Press, New York, USA.
- LEWONTIN R.C. & K. KOJIMA. 1960: The evolutionary dynamics of complex polymorphism. *Evolution*, 14: 458-472.
- LUMARET R. 1981: *Structure génétique d'un complexe polyploïde: Dactylis glomerata* L. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Montpellier, France.
- MILLER R.G. 1974: Jackknife - a review. *Biometrika*. 61: 1-15.
- NEI M. 1972: Genetic distance between populations. *Am. Nat.*, 106: 283-292.
- NEI M. 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
- NEVO E. 1978: Genetic variation in natural populations: patterns and theory. *Theor. Pop. Biol.*, 13: 121-177.
- OHTA T. 1982: Linkage disequilibrium with the island model. *Genetics*, 101: 139-155.
- OHTA T. & M. KIMURA. 1969: Linkage disequilibrium due to random genetic drift. *Genet. Res.*, 13: 47-55.
- RODGERS J.S. 1972: Measures of genetic similarity and genetic distance. *Univ. Texas Publ.*, 7213: 145-153.

- SCHALL B. 1975: Population structure and local differentiation in *Liatris cylindracea* Am. Nat., 109: 511-528.
- SENN H. 1937: Experimental data for a revision of the genus Lathyrus. Amer. J. Bot., 25 (2): 67-78.
- VALERO M. 1983: Etude du flux genetique entre populations adjacentes de Dactylis glomerata L. Thèse de Doctorat de 3ème cycle, Université de Montpellier, France.
- VALERO M. 1987: Système de reproduction et fonctionnement des populations chez deux espèces de légumineuses du genre Lathyrus. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Lille Flandres Artois, France.
- WEIR B.S. 1979: Inferences about linkage disequilibrium. Biometrics, 35: 235-254.
- WEIR B.S. & C.C. COCKERHAM. 1984: Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38: 1358-1370.
- WRIGHT S. 1943: Isolation by distance Genetics, 28: 114-138.
- WRIGHT S. 1951: The genetical structure of populations. Ann. Eugenics, 15: 323-354.
- WRIGHT S. 1965: The interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating. Evolution, 19: 395-420.

CHAPITRE 4

APTITUDE A L'AUTOFECONDATION CHEZ LES DEUX ESPECES

Les résultats précédents montrent l'existence de flux géniques limités chez les deux espèces et soulèvent plusieurs questions importantes sur le régime de la reproduction:

(1) Quel est le rôle des insectes dans la pollinisation?

(2) le régime de la reproduction est-il plus fermé chez L. sylvestris que chez L. latifolius?

(2) Existe-t-il un polymorphisme pour le régime de la reproduction au sein de la même espèce ou de la même population?

Pour répondre à ces questions, des croisements contrôlés, des autofécondations et des fécondations libres ont été réalisés en terrain expérimental. Nous présenterons ici un résumé des principaux résultats obtenus car ils ont déjà été publiés sous forme d'articles que l'on peut consulter en annexes pour plus de détails (Valero et al., 1986, Annexe 4; Valero et al., 1987, Annexe 5).

Tableau 10: Fertilité femelle en fonction du nombre de visites par le pollinisateur chez L.latifolius
a) Fruits/Fleur

Nbre d'inter- ventions	Moyenne fruit/fleur	Erreur standard	Nombre d'observations
0	0	0	16
1	0.018	0.064	14
2	0.188	0.242	24
3	0.427	0.391	15
4	0.333	0.279	5

b) Graines/fruit

Nbre d'inter- ventions	Moyenne graines/fruit	Erreur standard	Nombre d'observations
0	-	-	-
1	0	0	1
2	1.041	3.034	10
3	1.733	2.638	9
4	5.600	4.630	3

c) Graines/Fleur

Nbre d'inter- ventions	Moyenne graines/fleur	Erreur standard	Nombre d'observations
0	0	0	16
1	0	0	14
2	1.7857	3.8018	24
3	2.1666	2.7563	15
4	5.4800	4.6261	5

4.1. ROLE DES INSECTES DANS LA POLLINISATION.

Les insectes sont nécessaires à la pollinisation (Valero et al., 1986, Annexe 4). Quand on enferme les fleurs dans un sac perméable au pollen mais imperméable aux pollinisateurs, aucun fruit ne se forme. Ce type de pollinisation entraîne des flux géniques plus limités que chez les espèces pollinisées par le vent.

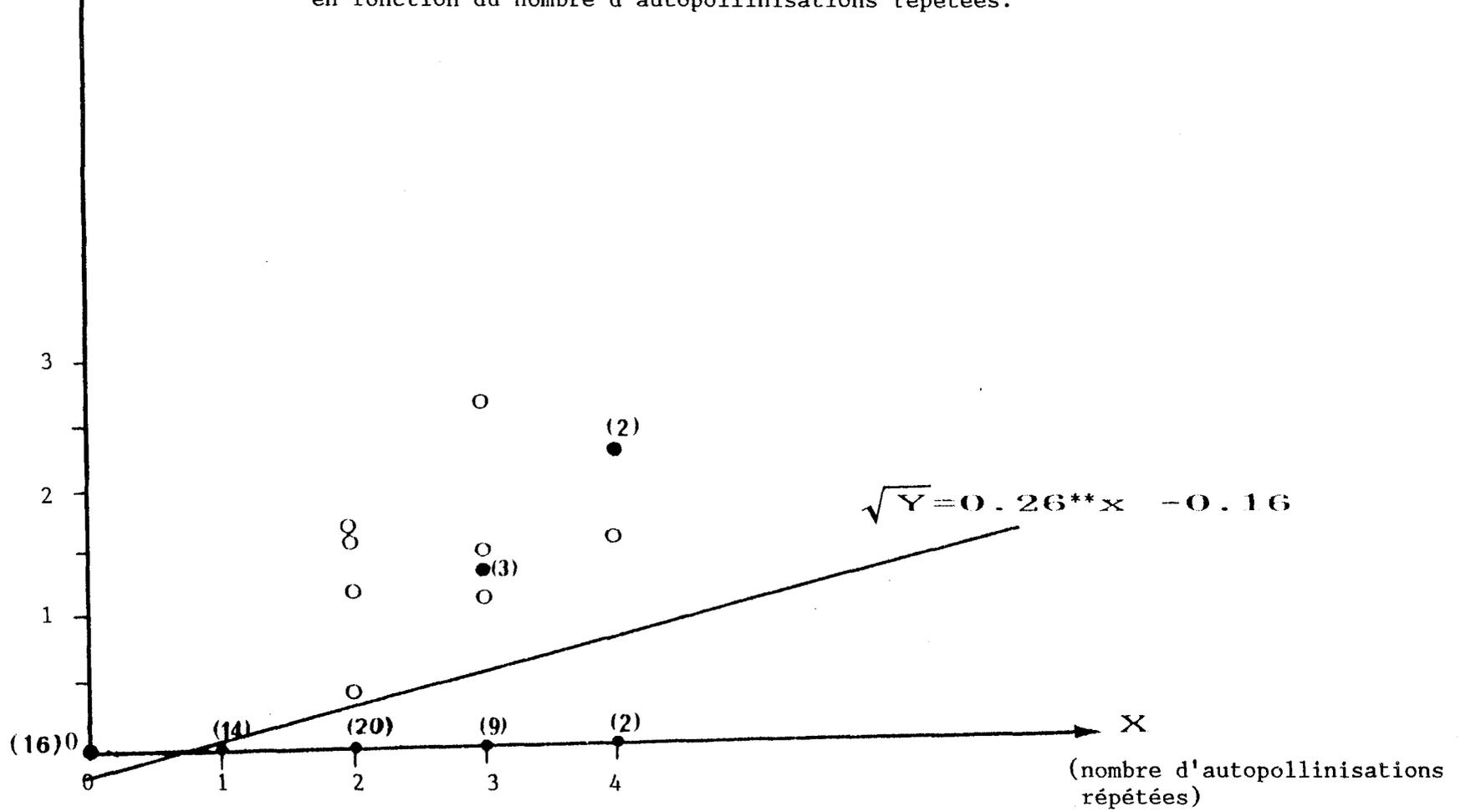
Il n'y a pas de décalage entre la maturité du pollen et la réceptivité du stigmate (Valéro, 1987; Hossaert-McKey, 1988); cependant, la majorité des plantes ne peuvent s'autoféconder que si l'expérimentateur simule l'intervention des insectes (autopollinisations répétées). Nous avons testé sur plusieurs individus l'effet du nombre d'autopollinisations répétées dans la même fleur sur la production de fruits et de graines. Les résultats (Tableau 10) montrent que lorsqu'aucune autopollinisation n'est réalisée manuellement, la fleur ne donne pas de fruit. Le nombre de fruits et le nombre de graines produits par fleurs augmentent avec le nombre d'opérations d'autopollinisations effectuées. La figure 9 présente la régression linéaire du nombre de graines produites par fleur en fonction du nombre d'autopollinisations répétées. Cette régression a été faite sur des données transformées (racine carrée) pour linéariser les données. L'analyse de variance (Tableau 11) montre que l'hypothèse de linéarité est bien respectée et que le coefficient de régression obtenu est significativement positif.

Le phénomène d'autopollinisation répétée peut s'interpréter au niveau évolutif comme de l'autofécondation retardée: si l'allopollen n'arrive pas, la plante s'autoféconde (Valero et al, 1986, cf. Annexe 4). L'hypothèse d'autopollinisation retardée peut être mise en relation avec le

(Y=graines/fleur)

\sqrt{Y}

Figure 9: Régression linéaire du nombre de graines produites par fleur en fonction du nombre d'autopollinisations répétées.



Coefficient de régression $r=0.257$: $0.024 < r < 0.490$ (significativement positif pour $\alpha = 0.005$)

- plusieurs observations en un même point, les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de points cachés.

Tableau 11: Test de la régression du nombre de graines produites par fleur en fonction du nombre d'autopollinisations répétées: tableau d'analyse de la variance.

Source de variation	Degrés de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité
Pollinisation	4	2.200	7.028	P<0.001
Régression linéaire	1	7.078	12.330	P<0.05
Non-linéarité	3	0.574	1.834	P>0.10
Résiduelle	69	0.313		

comportement des pollinisateurs (Valero et al., 1987, Annexe 5). Chez le Lathyrus, on peut distinguer deux groupes de pollinisateurs: le premier groupe composé d'abeilles, de bourdons et de papillons effectue des visites nombreuses et brèves, toujours inférieures à une minute, allant d'inflorescence en inflorescence. Ce type de comportement pourrait favoriser l'allofécondation. Le deuxième groupe est représenté par les bruches. Ces insectes effectuent des visites répétées et longues (au minimum d'une minute, mais jusqu'à trois heures et demi dans la même fleur dans la journée). De plus, les bruches s'alimentent, copulent, et passent la nuit dans les fleurs (Bashar et al., 1987). Ce type de comportement pourrait favoriser l'autopollinisation retardée.

4.2. APTITUDE A L'AUTOFECONDATION ET ALLOCATION DES RESSOURCES AUX FONCTIONS MALE ET FEMELLE CHEZ LES DEUX ESPECES.

Ces deux espèces sont fondamentalement allogames. Néanmoins, les individus de L. sylvestris montrent une plus grande aptitude à l'autofécondation que ceux de L. latifolius (Valero et al., 1987, Annexe 5). Certains individus chez L. sylvestris peuvent produire des fruits en autofécondation non répétée, alors que, généralement, les plantes de L. latifolius ne peuvent s'autoféconder qu'après des autopollinisations répétées. Ces deux résultats sont en accord avec les plus forts indices de fixations (F de Wright) observés chez L. sylvestris dans le chapitre précédent. Le système de reproduction des individus de L. sylvestris est donc plus fermé que celui des plantes de L. latifolius.

Nous nous sommes demandés quelle pouvait être la répercussion des différences dans le régime de la reproduction sur l'allocation des

ressources aux fonctions mâle et femelle?

D'après Charnov (1979 et 1982) et Charlesworth et 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. Cette théorie déjà formulée en 1877 par Darwin sous le terme "loi de compensation" prédit que le surplus de ressources qu'il va allouer à l'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 (Sutherland, 1987). Selon les théories sur la sélection sexuelle (Charnov, 1979; 1982), on devrait s'attendre à ce que l'investissement dans les fonctions mâle et femelle varie avec le système de la reproduction. Chez les plantes allogames, le grand nombre de pères potentiels entraîne une forte compétition pollinique et donc un investissement important dans la fonction mâle. Chez les plantes autogames, le pollen est moins dispersé que chez les 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 et Cavers, 1982; Queller, 1984).

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 (P/O),

c'est-à-dire, du rapport du nombre de grains de pollen sur le nombre d'ovules produits par fleur, et par l'étude de la répartition des graines dans la gousse.

Pollen/ovule ratios.

Ces ratios ont été mesurés dans 3 populations de chacune des deux espèces (Valero et al., 1987, Annexe 5). Dans les 3 populations de L. latifolius ce rapport est voisin de 3000. Il est significativement plus élevé que celui mesuré dans les 3 populations de L. sylvestris (P/O = 2000). L'investissement dans la fonction mâle apparaît donc plus important chez l'espèce la plus allogame.

Modèle gousse.

Le devenir des ovules dans la gousse a été suivi par un dénombrement des ovules non fécondés, des graines avortées et des graines mûres en tenant compte de leur position dans la gousse (Valéro et al, 1987, Annexe 5; Hossaert et Valero, 1988). Chez ces deux espèces, seule une certaine fraction des ovules est fécondée. Les ovules situés vers le stigmate sont les premiers à être fécondés. Les ovules fécondés se trouvant dans la partie la plus éloignée du stigmate sont ceux qui bénéficient les premiers des nutriments maternels. Le mode d'avortement dans la gousse peut être interprété comme une balance entre la probabilité d'être fécondé dans la partie proche du stigmate d'une part, et l'avantage d'être à proximité des nutriments maternels d'autre part. Des différences entre les deux espèces sont observées pour la répartition des graines mûres dans le fruit. La majorité des graines formées se trouve plutôt vers le style chez L. latifolius, alors que la répartition des graines est plus régulière chez L. sylvestris. Ce résultat montre encore ici, un effet mâle plus important

chez l'espèce la plus allogame.

4.3. EXISTE-T-IL UN POLYMORPHISME POUR LE REGIME DE LA REPRODUCTION?

Chez les deux espèces, des différences apparaissent entre les individus d'une même population quant à leur aptitude à s'autoféconder (Valero et al., 1986, Annexe 4 et Valero et al., 1987, Annexe 5). Certaines plantes, surtout chez L. sylvestris, sont capables de s'autoféconder sans intervention, d'autres de s'autoféconder seulement après des autopollinisations répétées, et quelques unes ne produisent aucun fruit en autofécondation (surtout chez L. latifolius). Il semble donc exister un polymorphisme pour le régime de la reproduction chez ces deux espèces. Ce résultat pourrait expliquer en partie les variations entre populations dans les estimations du déficit en hétérozygotes observées dans le chapitre précédent.

Un tel polymorphisme a rarement été mis en évidence expérimentalement excepté chez des espèces présentant différents types de fleurs c'est-à-dire potentiellement polymorphes pour le régime de la reproduction (stérilité-mâle, hétérostylo...). Comme nous en discuterons par la suite, le maintien d'un tel polymorphisme au sein des populations reste une question importante de la théorie évolutive. Cette question est abordée dans le chapitre suivant par l'étude détaillée des individus et de leurs descendance dans deux populations de L. latifolius.



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.
- CHARLESWORTH D. & B. CHARLESWORTH. 1981: Allocation of ressources 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.
- DARWIN C. 1877: The different forms of flowers on plants of the same species. J. Murray, London, U.K.
- HOSSAERT-MCKEY M. 1988: Des fleurs, comment et à quoi bon! Données et réflexions sur la reproduction sexuée de deux espèces pérennes affines à propagation végétative: Lathyrus latifolius et L. sylvestris. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Pau, France.
- HOSSAERT M. & M. VALERO 1988: Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in two species of Lathyrus (Leguminosae: Papilionoidae). Amer. J. Bot., 75: 1714-1731.
- LOVETT DOUST J. & P.B. CAVERS. 1982: Biomass allocation in hermaphrodite flowers. Can. J. Bot., 60: 2530-2534.
- QUELLER D.C. 1984: Pollen-ovule ratios and hermaphrodite sexual allocation strategies. Evolution, 38: 1148-1151.
- SUTHERLAND S.. 1987: Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: Experimental tests with Agave mckelveyana. Evolution, 41: 750-759.
- VALERO M. 1987: Système de reproduction et fonctionnement des populations chez deux espèces de légumineuses du genre Lathyrus. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Lille Flandres Artois, France.
- 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.
- 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 (editor).



CHAPITRE 5.

SYSTEME DE LA REPRODUCTION CHEZ L. LATIFOLIUS.

5.1. 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 cléistogames (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 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 production 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, d'autre part le maintien de l'allogamie. L'existence d'une stratégie mixte vient du fait que l'équilibre n'est pas atteint (Lande and 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 le contexte d'une métapopulation (Slatkin and Wade, 1978, Couvet et al., 1985; Olivieri, 1987) 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 and 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 différents 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 and Jain, 1981), c'est-à-dire la résultante de

l'autofécondation et de l'apparement, 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 and Allard, 1970 et Clegg et al., 1978). Ces estimations "simple-locus" supposent des taux d'autofécondation et des fréquences alléliques du pollen 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 and Allard (1981) puis Ritland and Jain (1981) et Ritland and 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).

Nous allons présenter ici les résultats obtenus sur l'étude des structures génotypiques en relation avec l'organisation spatiale des individus in situ (c'est-à-dire la génération G0), dans deux populations de L. latifolius (Doué-la-Fontaine et Avion). La consanguinité totale (E) et

les taux d'autofécondation (S) seront mesurés dans ces deux populations selon la méthode d'estimation de Ritland and Jain (1981), sur certains individus de la génération G0 grâce à l'étude de leur descendance (génération G1).

D'autre part, l'aptitude à l'autofécondation sera mesurée d'une autre manière sur les individus de la population de Doué-la-Fontaine par comparaison de la fertilité femelle des plantes de la génération G1 en autofécondation et en fécondation libre. Cette aptitude à l'autofécondation, mesurée en terrain expérimental, sera comparée à l'estimation du taux d'autofécondation obtenue in situ, selon la méthode de Ritland and Jain (1981).

Enfin, la fertilité mâle sera estimée sur ces mêmes individus de la génération G1. 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.

5.2. MATERIELS ET METHODES.

5.2.1. INDIVIDUS DE LA GENERATION G0 ET DE LA GENERATION G1.

Les résultats présentés dans ce chapitre porteront sur deux générations successives. Les plantes étudiées in situ sont appelées "individus de la génération G0". Les descendants issus de fécondations libres de la

génération G0 sont appelés "individus de la génération G1".

Dans les deux populations étudiées (L2: Doué la Fontaine et L3: Avion, cf. Tableau 2) la cartographie des individus a été effectuée. La population de Doué la Fontaine a été étudiée durant deux années consécutives (1985 et 1986), celle d'Avion n'a été étudiée qu'une seule année (1987). La répartition spatiale des individus de la génération G0 dans la population de Doué la Fontaine étudiée en 1985 et en 1986 et dans la population d'Avion est donnée dans les Figures 10 à 12 respectivement.

Sur les plantes de la génération G0, des feuilles ont été prélevées pour analyser leurs génotypes et, d'autre part, des gousses ont été récoltées pour l'étude de la génération G1. Dans la population de Doué la Fontaine étudiée en 1985, sur les 93 plantes de la génération G0, 39 sont analysées pour leur descendance (cf. Figure 10), ce qui donne un effectif total de 572 individus pour la génération G1. Dans la même population étudiée en 1986, sur les 46 plantes de la génération G0, 16* sont analysées pour leur descendance (cf. Figure 11), ce qui donne un effectif total de 258 individus pour la génération G1. Enfin, dans la population d'Avion, sur 61 plantes étudiées in situ, 19 ascendances maternelles sont retenues (cf. Figure 12), ce qui donne un effectif total de 238 individus pour la génération G1. Les graines récoltées dans la population de Doué la Fontaine en 1985 ont été mises à germer dans la serre après scarification. Les graines provenant des deux autres récoltes ont été stockées au congélateur à -80°C. Les génotypes de la génération G1 ont été déterminées par des électrophorèses réalisées soit sur les feuilles des plantules (population L2 récoltée en 1985), soit sur les graines dans les populations L2 (étudiée en 1986) et L3.

* (FAM)

Figure 10 : Cartographie des individus dans la population Doué La Fontaine (L2) étudiée en 1985 .

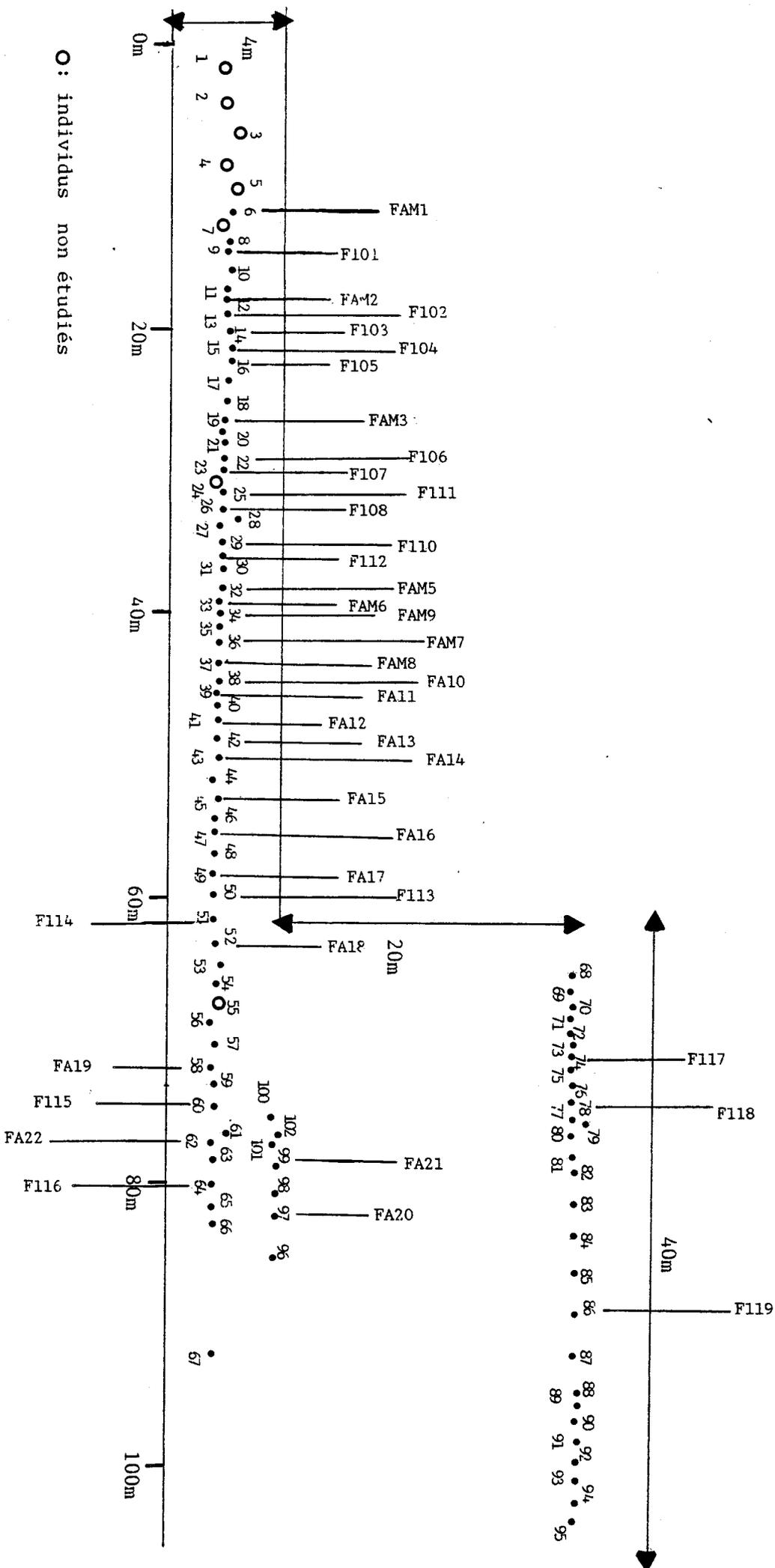
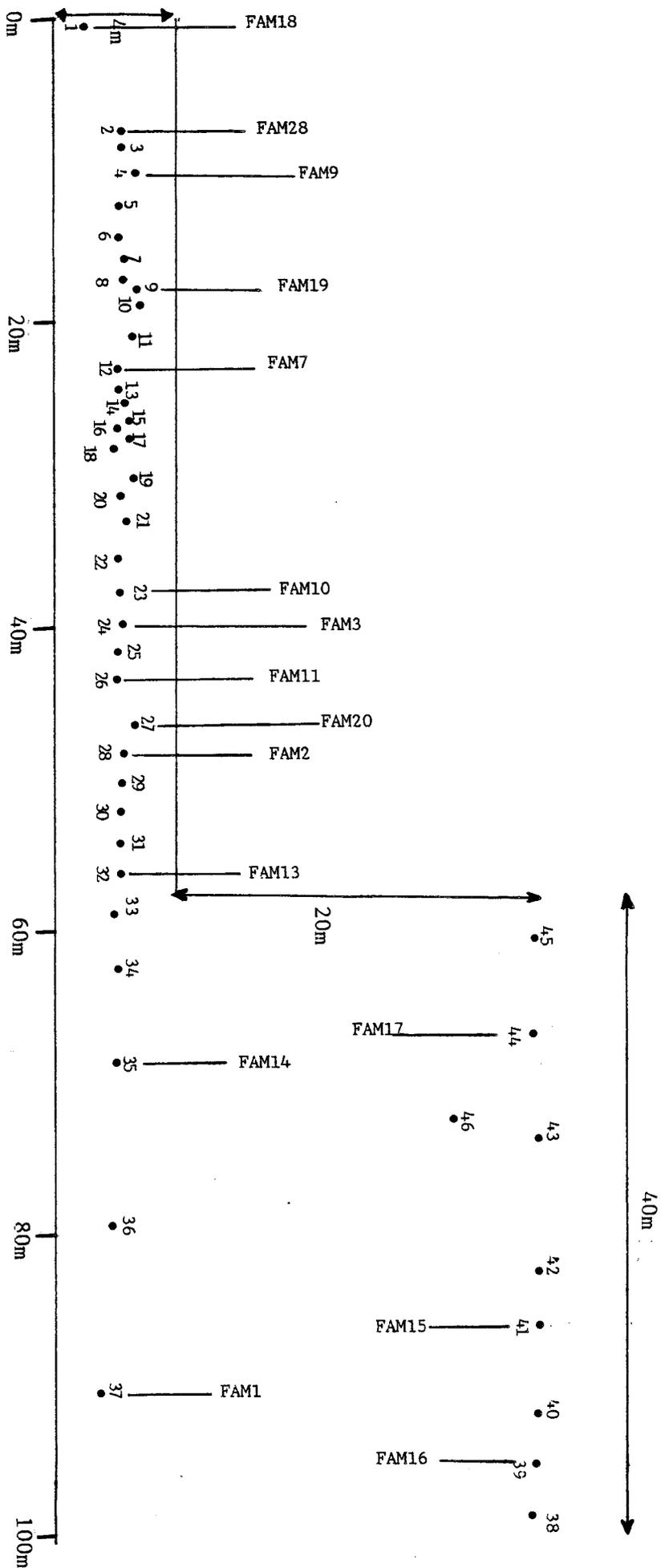


Figure 11 : Cartographie des individus dans la population Doué La Fontaine (L2) étudiée en 1986 .



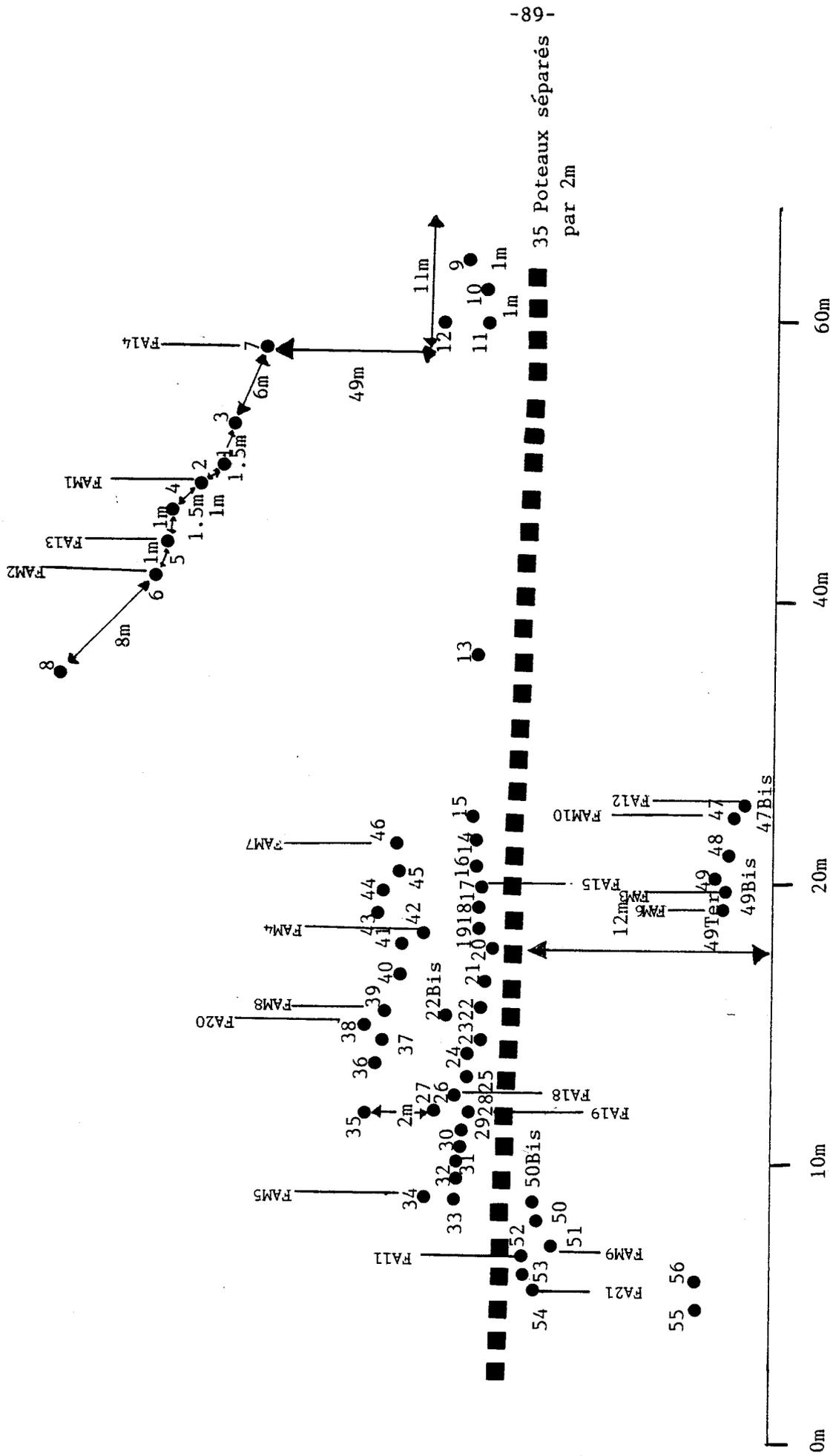


Figure 12: Cartographie des individus dans la population AVION (L3) étudiée en 1987 .

Une partie des individus de la génération G1 (ceux qui proviennent des 18 familles numérotées F101 à F119, cf. Figure 10) a été mise à germer durant l'hiver 1985-1986. Les plantules ont été repiquées dans des pots de 16cm de diamètre au printemps 1986. Les individus ont fleuri au cours de l'été 1986, mais la faible taille du pot laisse supposer que les ressources disponibles étaient fortement limitées. Ils ont donc été transpotés dans des pots de 32cm de diamètre durant l'hiver 1986. Ils ont été placés dans une serre tunnel ouverte au deux extrémités durant l'été 1987 où leur aptitude à l'autofécondation a été mesurée.

L'autre partie (ceux qui proviennent des 21 familles numérotées FAM1 à FAM9 et FA10 à FA22, cf. Figure 10) a été mise à germer durant l'hiver 1987. Ces individus de la génération G1 ont été suivis pendant leur germination et leur croissance jusqu'au stade plantule agée de 37 jours. A ce stade, ils ont été pesés (poids frais de la partie aérienne et souterraine) et les feuilles ont servi à faire les extraits protéiques pour l'électrophorèse. L'aptitude à l'autofécondation n'a pas été mesurée sur ces individus.

5.2.2. ETUDE DE LA STRUCTURE GENOTYPIQUE DE LA GENERATION G0.

5.2.2.1. Autocorrélations spatiales.

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

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 d'autocorrélation utilisé est celui de Moran. La procédure de calcul, ainsi que les espérances du coefficient et de sa variance, permettant de tester sa signification statistique, sont exposées dans Sokal and Oden (1978) et Cliff and Ord (1981).

Les résultats ont été analysés de deux 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. 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.

5.2.2.2. Découpage des populations en plusieurs sous-groupes et calcul des indices des F-statistics et des D-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.

Les 3 indices de fixation (F de Wright) et les 5 indices du déséquilibre de liaison ont été estimés selon la même méthode que précédemment (cf. chapitre 3): la population constitue l'ensemble (IT), et les sous-populations forment les subdivisions (IS). 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.

5.2.3. ESTIMATION DES TAUX D'AUTOFECONDATION DES INDIVIDUS DE LA GENERATION G0 PAR L'ANALYSE DES GENOTYPES DE LA GENERATION G1.

Dans l'introduction, 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 3 échantillonnages (L2 1985 et 1986, et L3 1987) en utilisant la méthode du maximum de vraisemblance selon la procédure de Ritland and Jain (1981) et Ritland and El-Kassaby (1985). Ces auteurs 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) puisqu'elle prend en compte non seulement l'autofécondation, mais aussi les croisements entre apparentés, et 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 dans les populations L2 1986 et L3 1987 (Les AcPH ne se révélant pas lorsque l'extrait protéique est fait sur les graines), notre estimation de S sera donc légèrement biaisée dans ces deux échantillons.

La différence entre E et S sera d'autant plus grande que la population sera différenciée en sous-groupes. 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.

5.2.4. ETUDE DES PLANTES DE LA GENERATION G1.

5.2.4.1. Evaluation de l'aptitude à l'autofécondation.

Comme nous l'avons déjà signalé plus haut, la campagne de "croisements" a été effectuée durant l'été 1987, en terrain expérimental, sur une partie des descendances des individus de Doué la Fontaine récoltées en 1985. 46 individus de la génération G1, appartenant à 13 familles de la génération G0, ont été disposés de manière non aléatoire dans la serre tunnel. Le plan de la disposition des individus dans la serre est donné Figure 13. Nous avons réalisé 3 types d'expérimentation:

Fécondations libres où les inflorescences sont laissées libres et sans aucune intervention de l'expérimentateur (la pollinisation est réalisée uniquement par les insectes);

Autofécondations répétées où les inflorescences sont mises sous sacs de tulle pour empêcher l'arrivée des insectes apportant l'allopollen (au moment de l'anthèse, on remue le pollen sur le stigmate de la même fleur pour simuler l'autopollinisation par les insectes, cette manipulation étant répétée pendant 3 à 5 jours c'est-à-dire pendant la durée de l'épanouissement des fleurs);

Autofécondation stricte où les inflorescences sont mises sous sac de tulle pour isoler les fleurs sans aucune autre intervention de l'expérimentateur.

A la fin de la saison de floraison, nous avons relevé le nombre de fleurs ayant donné des fruits mûrs par rapport au nombre de fleurs traitées. Les gousses mûres ont été récoltées puis ouvertes. La position dans la gousse des graines saines, des graines avortées tardives (graines vides), des graines avortées précoces (montrant une taille beaucoup plus faible que la graine et une couleur brune), et des ovules non fécondés (très petits et de couleur jaune) a été notée.

L'aptitude à l'autofécondation a été mesurée par comparaison de la fertilité femelle des individus, en autofécondation et en fécondation libre. Dans le paragraphe suivant, nous discutons de la mesure de la fertilité femelle, c'est pourquoi nous ne développerons pas cette question ici. Nous avons construit un indice d'autofécondation (IA). Cet indice est défini comme le rapport de la fertilité femelle en autofécondation sur la fertilité femelle en fécondation libre. Si les individus montrent la même fertilité dans les deux types de "croisements", on peut en déduire que la majorité des graines produites en fécondation libre proviennent en fait

d'une autofécondation, et l'indice d'autofécondation est voisin de 1. Si les individus montrent une fertilité nulle en autofécondation et une fertilité non nulle en fécondation libre, la majorité des graines produites en fécondation libre proviennent d'une allofécondation, et l'indice d'autofécondation est nul.

5.2.4.2. Mesure des fertilités mâle et femelle.

Les fertilités mâle et femelle des individus ont été mesurées durant deux années consécutives (étés 1986 et 1987). La comparaison des données obtenues lors des deux années pose divers problèmes:

(1) Durant leur première année, les individus étaient cultivés en petits pots et se trouvaient sans doute dans des conditions de ressources limitées par rapport à la deuxième année de culture.

(2) Ces deux mesures ne sont pas des répétitions d'une même mesure puisque les plantes sont à un âge différent entre les deux mesures.

Nous n'utiliserons donc ici que les résultats obtenus au cours de l'été 1987.

Fertilité mâle.

Nous avons défini la fertilité mâle comme le nombre de grains de pollen viables produits par fleur. Nous avons estimé séparément le nombre de grains produits par fleur et la proportion de pollen viable dans le pollen total. La fertilité mâle est donnée par la multiplication de ces deux

estimations.

L'estimation de la production de pollen par fleur a été faite sur deux fleurs par individu. Les fleurs sont récoltées juste avant l'anthèse et stockées dans de l'alcool (50°). Les 10 étamines sont disséquées dans 3ml d'une solution NaCl (0.3M) - Tween 20 (0.2%). La solution contenant les grains de pollen est filtrée sous vide avec un filtre de 100 μ pour éliminer la plupart des débris d'anthères. 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). Les comptages ont été effectués dans le laboratoire de toxicologie du Professeur Dives à l'INSERM de Villeneuve d'Ascq.

La viabilité pollinique a été estimée sur deux fleurs par individu. Le pollen est déposé sur une lame et coloré avec le réactif d'Alexander (1969). La coloration montre des grains verts non viables et des grains roses viables. La proportion de grains viables (nombre de grains viables/nombre total de grains) est comptée au microscope sur une observation d'au minimum 300 grains de pollen par lames.

Fertilité femelle.

Classiquement, la fertilité femelle est définie par les rapports fruits/fleurs ou graines/fleurs. Récemment, Wiens (1984) et Charlesworth and Charlesworth (1987) ont discuté ces estimations de la fertilité. Ils critiquent les estimations précédentes parce qu'elles ne tiennent pas compte de l'avortement des graines dans les fruits. Ils proposent une nouvelle estimation de la fertilité femelle qui prend en considération le

devenir des ovules. Ils définissent alors, la fertilité femelle (RRS: "Relative Reproductive success") de la manière suivante:

$$\text{RRS} = (\text{graines/ovules}) \times (\text{fruits/fleurs})$$

La fertilité femelle sera donc estimée en multipliant ces deux rapports.

Allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle.

Pour mesurer l'investissement dans les fonctions mâle et femelle, nous avons employé plusieurs méthodes:

(1) Le ratio Pollen/Ovule (P/O) c'est-à-dire, le nombre de grains de pollen produit par fleur sur le nombre d'ovules produit par fleur. Ce ratio indique l'investissement dans la fonction mâle par rapport à la fonction femelle. Il est intéressant à calculer, car il est souvent utilisé dans la littérature et il permettra la comparaison avec d'autres espèces.

(2) La corrélation entre les fertilités mâle et femelle.

(3) L'étude du compartiment gousse qui comme nous l'avons discuté plus haut montre l'effet des gradients mâle et femelle sur le développement des graines dans le fruit.

(4) L'étude de la position des fruits dans l'inflorescence. Comme dans le modèle gousse, on peut définir un gradient maternel d'alimentation de l'inflorescence: les fruits du bas de l'inflorescence sont plus proches des ressources que ceux du haut. Pour tester cette hypothèse, nous avons noté

la position des fruits sur chaque inflorescence. Puis, chaque inflorescence a été partitionnée en deux sous-unités: celle du bas, la plus proche des ressources maternelles, et celle du haut. Pour définir les deux sous-unités, le nombre de boutons floraux portés par l'inflorescence a été divisé par 2 et le nombre de gousses se trouvant dans la sous-unité du bas est comparé au nombre de gousses se trouvant dans la sous-unité du haut. Lorsque l'inflorescence montrait un nombre impair de boutons floraux et lorsqu'un fruit se trouvait dans la position médiane, nous avons rajouté 0.5 fruit dans la sous-unité du bas et 0.5 fruit dans la sous-unité du haut.

Facteurs environnementaux susceptibles d'affecter les fertilités.

Les fertilités ont été calculées sur des individus situés dans une serre tunnel ouverte aux deux extrémités. Il est donc fort probable que le nombre d'insectes pollinisateurs ait été moins grand que celui observé habituellement en populations naturelles, et que d'autre part, la température sous le tunnel ait été plus élevée qu'à l'extérieur. Pour tester l'influence de ces deux facteurs sur la fertilité femelle, nous avons distingué deux parties dans la serre (Figure 13), l'une proche de l'ouverture (donc susceptible d'être visitée fréquemment par les insectes et de montrer une température voisine de la température extérieure); et l'autre au centre de la serre (où la probabilité pour que les insectes pénètrent est plus faible et la température plus élevée).

- Si les insectes sont un facteur limitant de la fertilité, le nombre de gousses produit par fleurs devrait être plus faible au centre de la serre.

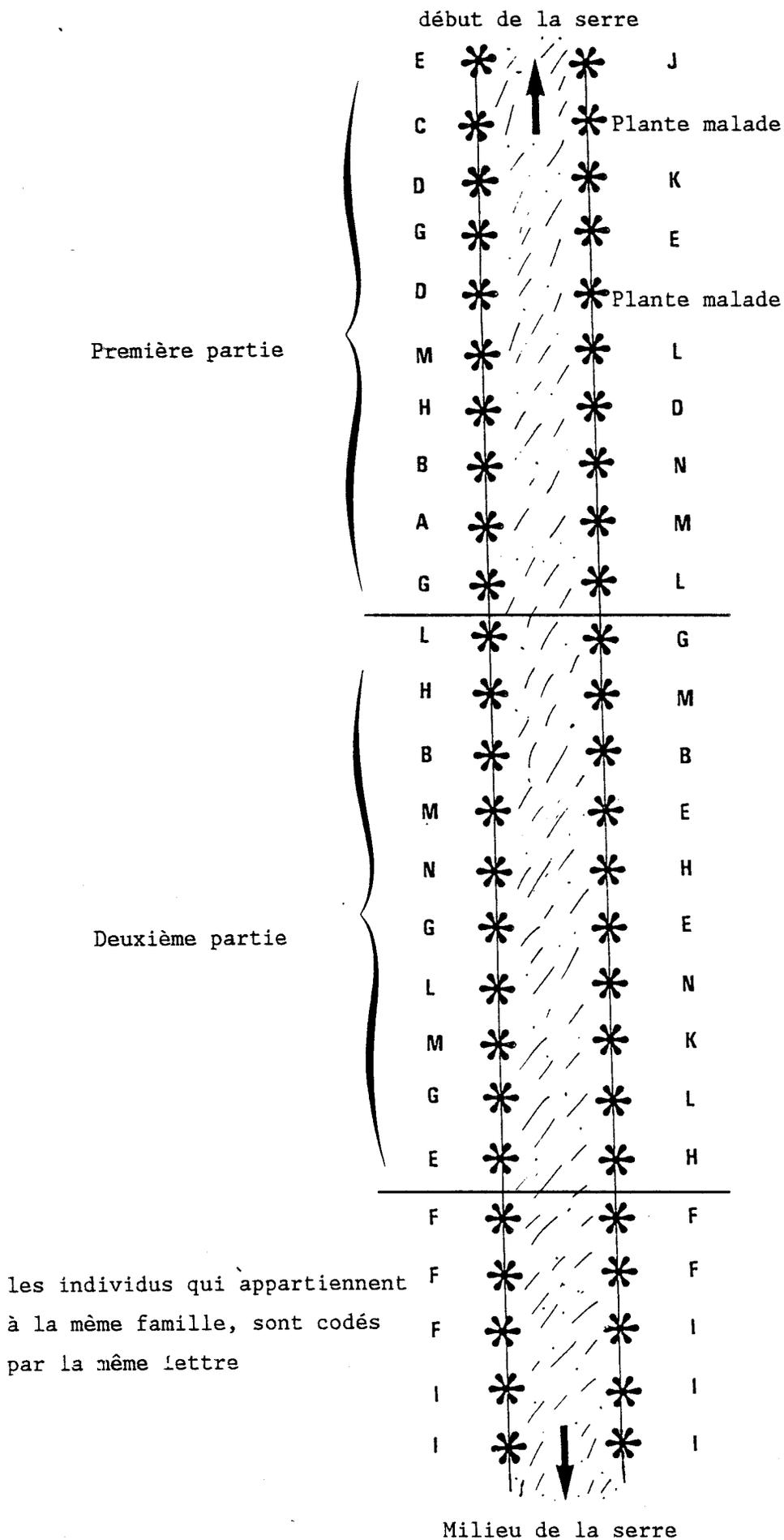


Figure 13 : Disposition des plantes dans la serre

- Si une forte température est un facteur limitant de la fertilité, le développement des graines dans les fruits devrait être plus faible au centre de la serre.

Nous avons calculé à la fin de la floraison, la production totale de boutons floraux, de gousses et de graines par individu en fécondation libre. Pour tester l'effet des pollinisateurs, nous avons comparé les rapports gousses/fleurs obtenus dans les deux parties de la serre, et pour tester l'effet de la température, nous avons comparé les rapports graines/fruits.

5.3. RESULTATS ET DISCUSSION.

5.3.1. STRUCTURE GENOTYPIQUE DE LA GENERATION GO.

Les géotypes obtenus pour tous les loci, dans les trois échantillonnages (station L2 étudiée en 1985 et 1986, et station L3) sont donnés pour chaque individus dans l'Annexe 6). Ce sont sur ces données que les coefficients d'autocorrélation spatiale ont été calculés.

5.3.1.1. Autocorrélation spatiale.

La maille minimum de distance a été choisie de telle sorte que le nombre de comparaisons dans les 10 premières classes de distances soit d'un effectif minimum de 30. Dans chaque échantillonnage, la maille minimum de

FIGURE 14: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
DOUE LA FONTAINE ETUDIEE EN 1985

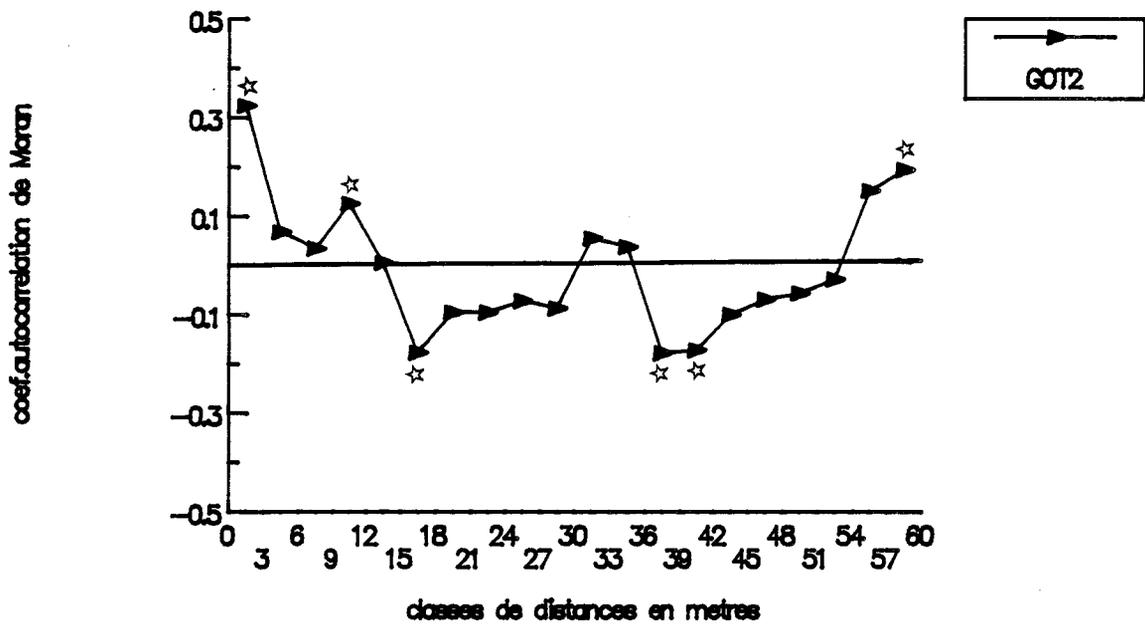
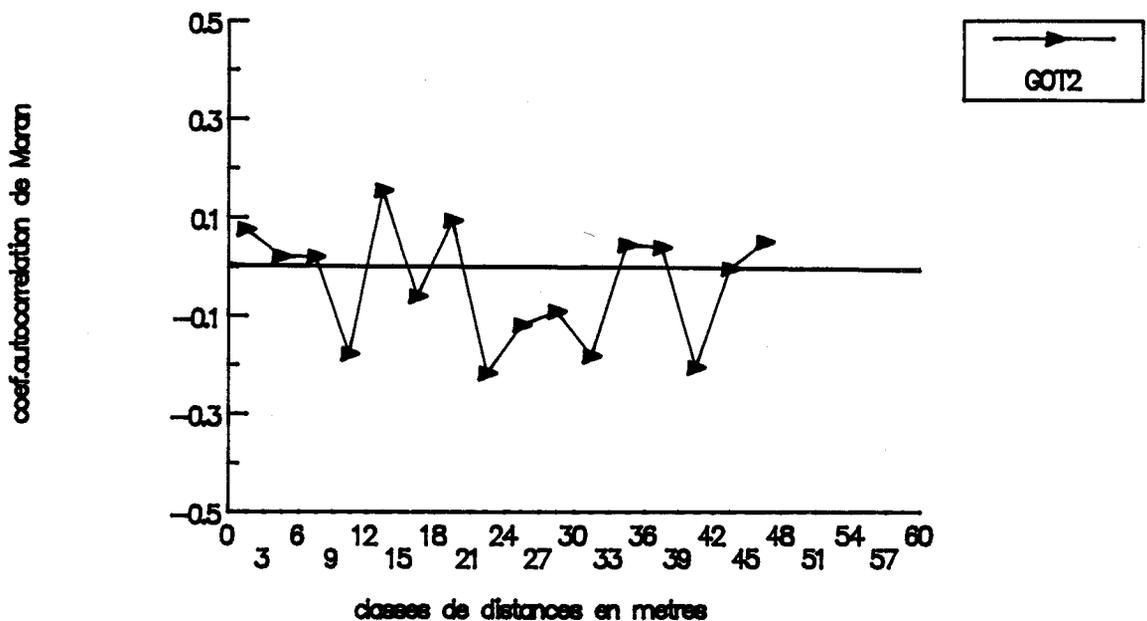


FIGURE 15: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
DOUE LA FONTAINE ETUDIEE EN 1986



* significatif au seuil de 5%

FIGURE 16: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
DOUE LA FONTAINE ETUDIEE EN 1985

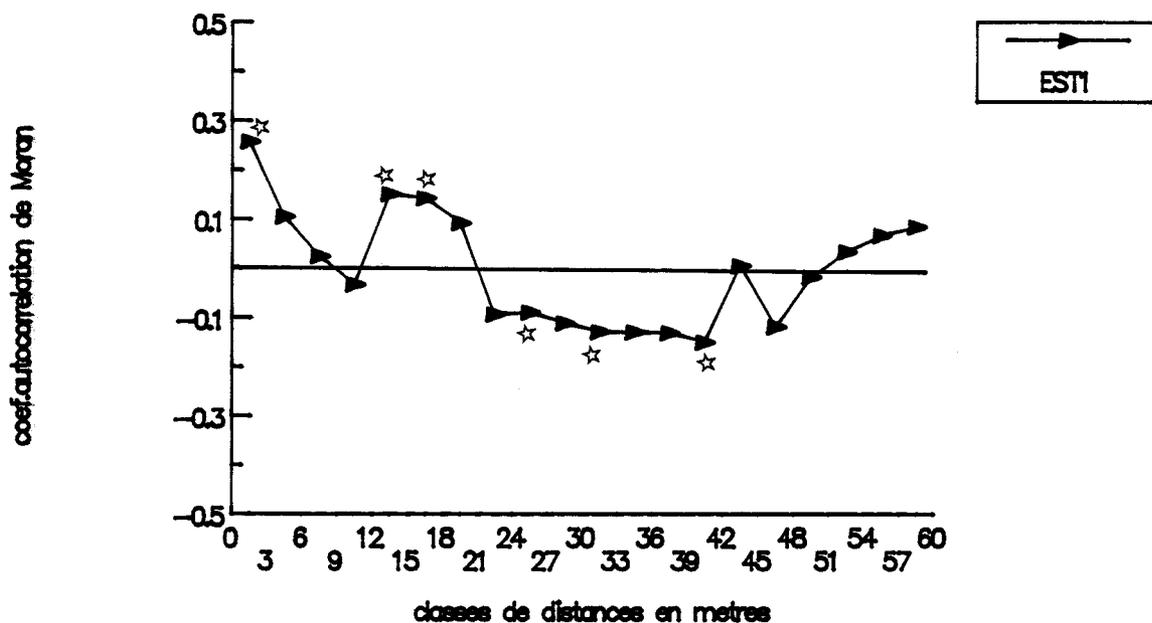
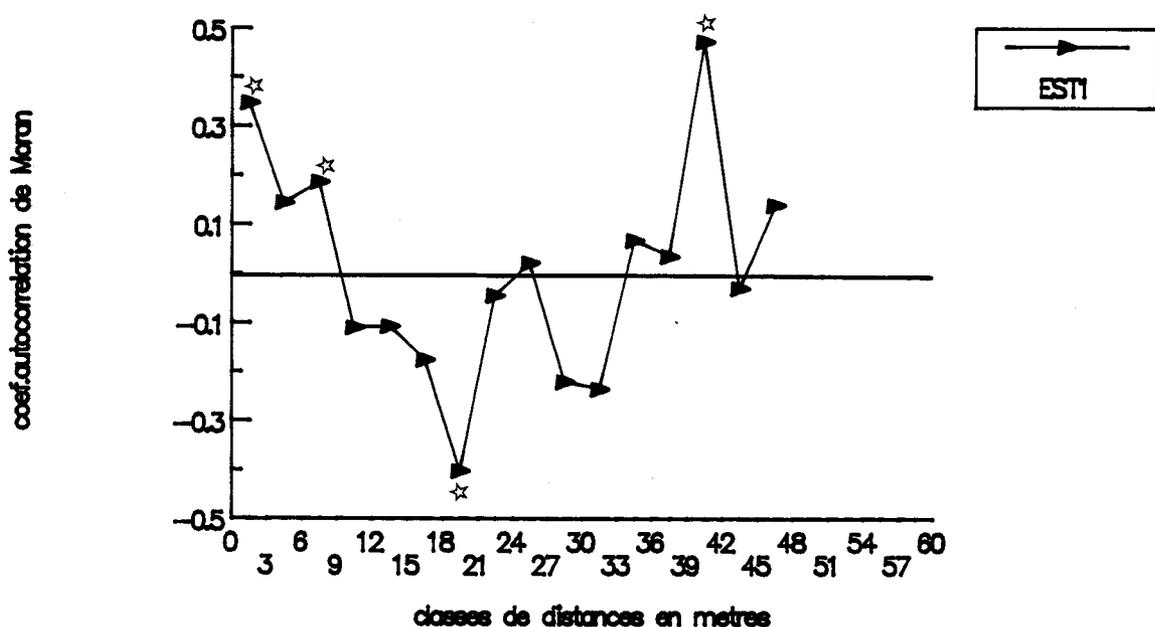


FIGURE 17: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
DOUE LA FONTAINE ETUDIEE EN 1986



★ significatif au seuil de 5%

FIGURE 18: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
DOUE LA FONTAINE ETUDIEE EN 1985

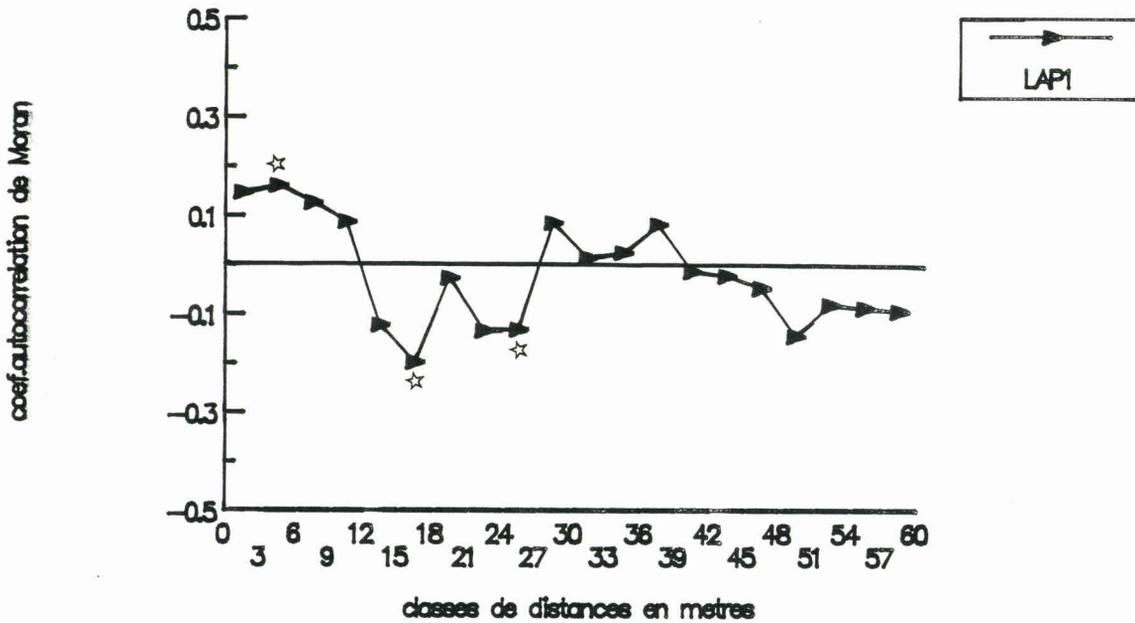
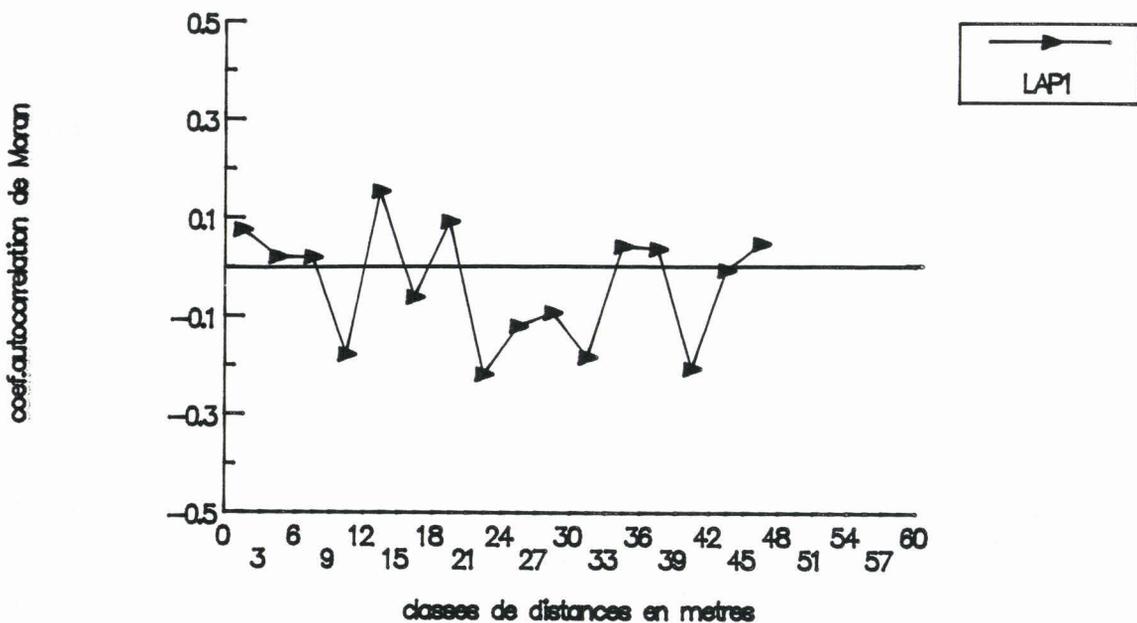


FIGURE 19: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
DOUE LA FONTAINE ETUDIEE EN 1986



* significatif au seuil de 5%

FIGURE 20: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
DOUE LA FONTAINE ETUDIEE EN 1985

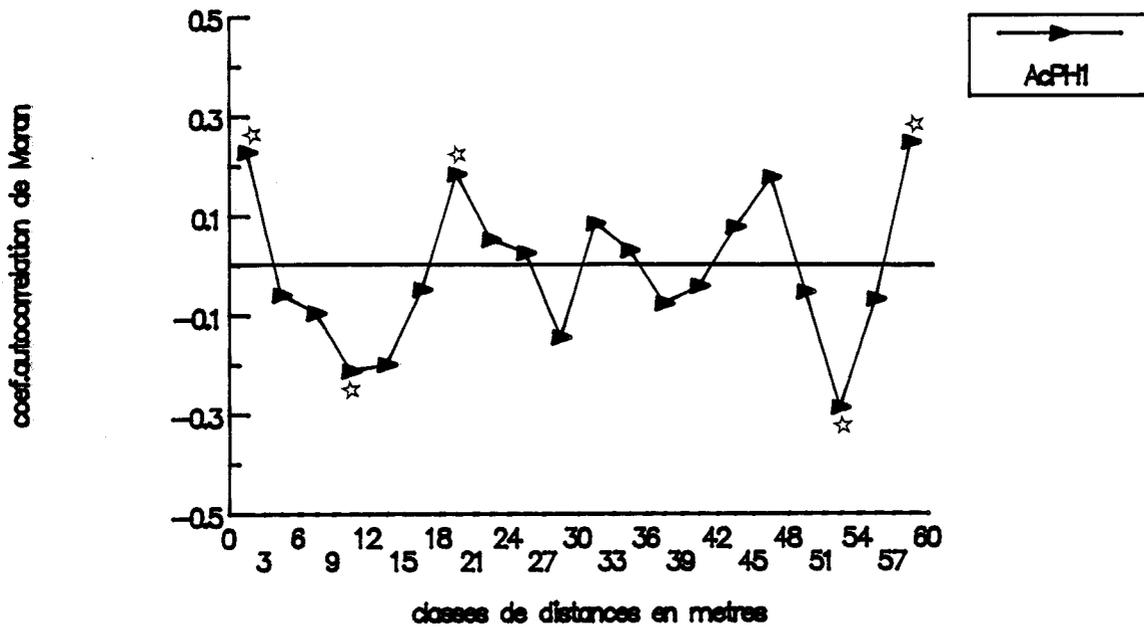
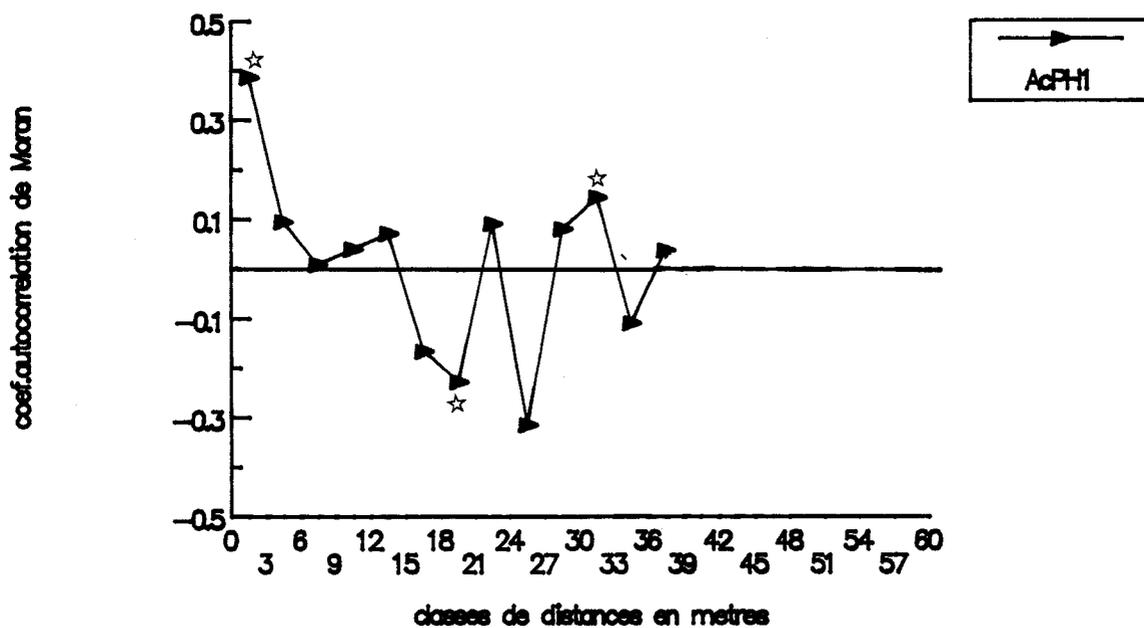


FIGURE 21: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
DOUE LA FONTAINE ETUDIEE EN 1986



* significatif au seuil de 5%

FIGURE 22: CORRELOGRAMME ALLELIQUE AVION ETUDIEE EN 1987

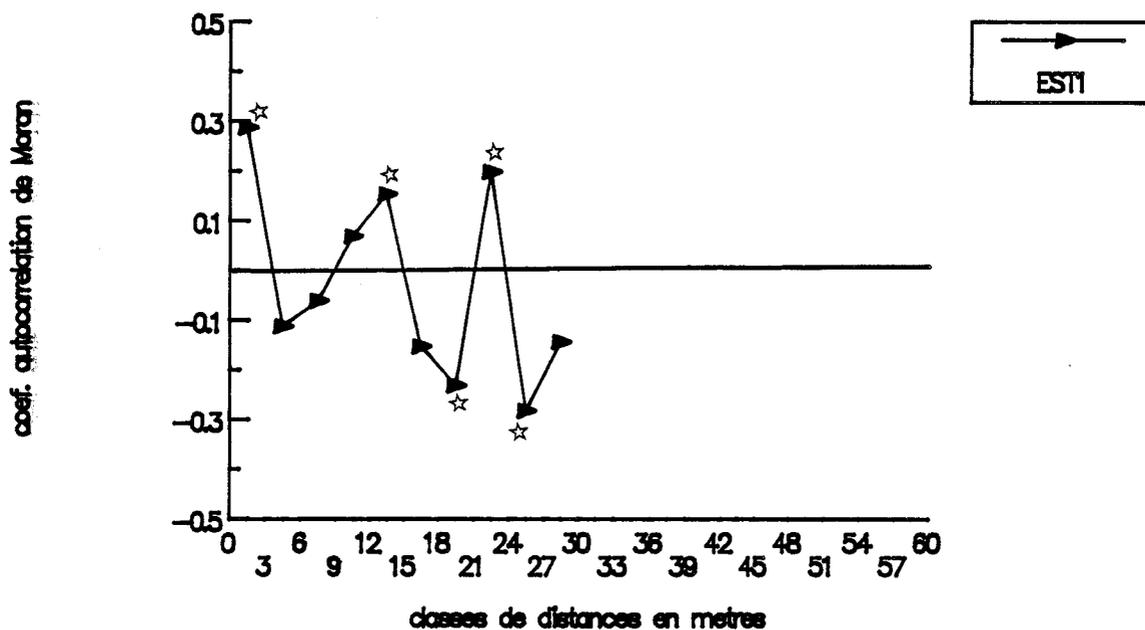
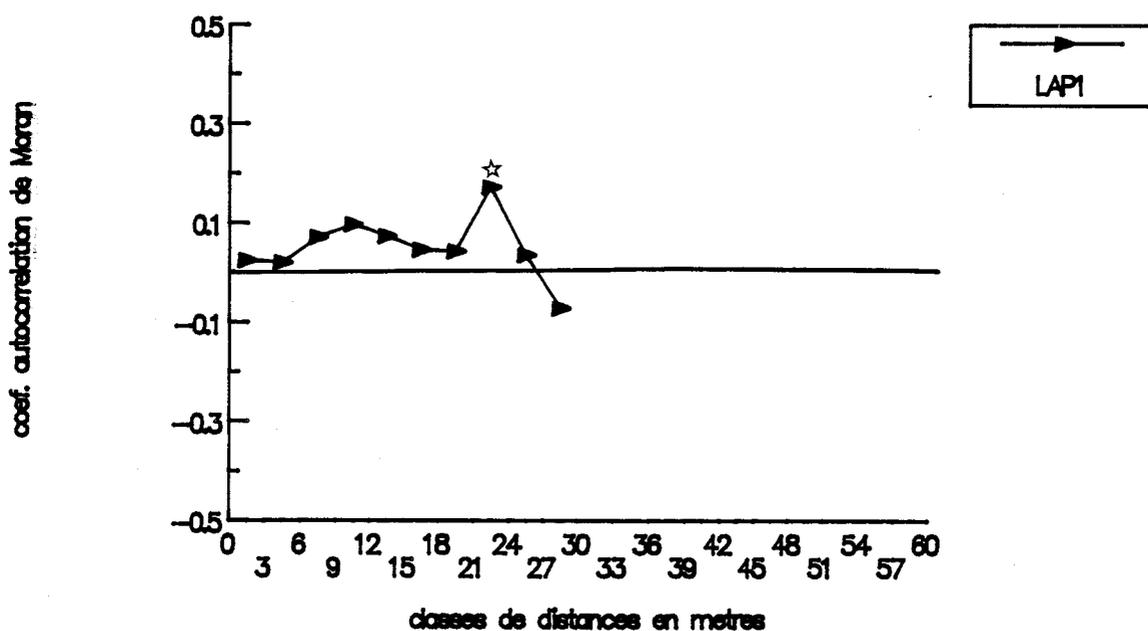
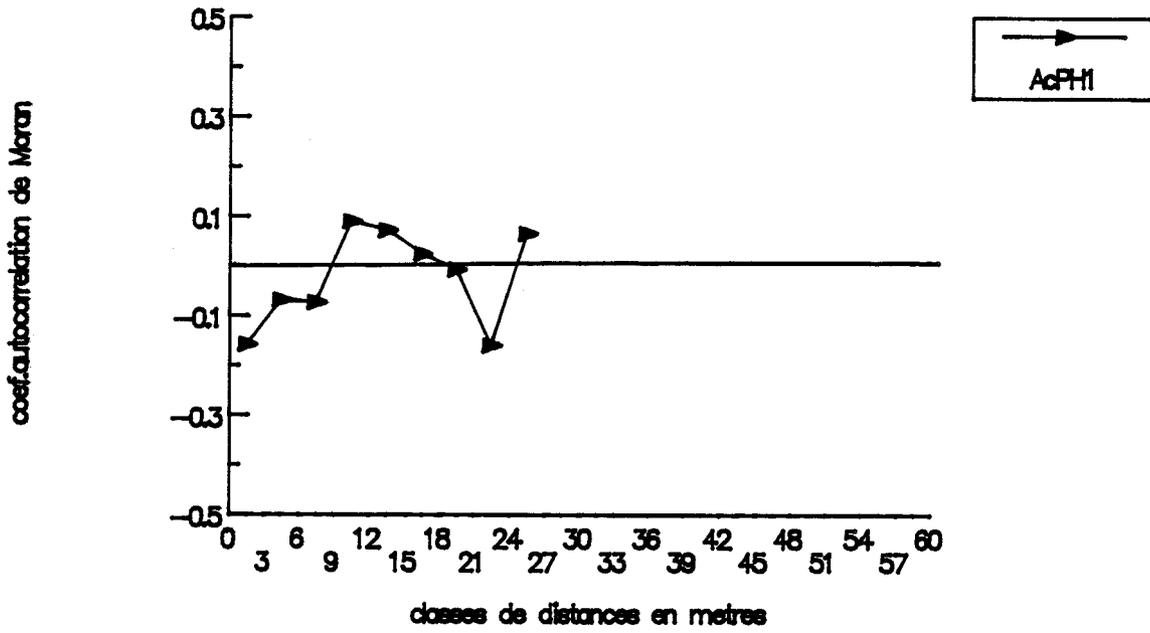


FIGURE 23: CORRELOGRAMME ALLELIQUE AVION ETUDIEE EN 1987



* significatif au seuil de 5%

FIGURE 24: CORRELOGRAMME ALLELIQUE
AVION ETUDIEE EN 1987



☆ significatif au seuil de 5%

distance est de 3 mètres. Les autocorrélogrammes obtenus pour chaque locus et chaque station sont données dans les Figures 14 à 24.

Dans chaque population, et pour chaque locus étudié (GOT2, EST1, LAP1 et AcPH1), le coefficient d'autocorrélation calculé pour les plus faibles classes de distance est toujours positif. Dans la population de Doué La Fontaine étudiée en 1985, il est toujours significativement positif (Figures 14, 16, 18 et 20). Dans la même population étudiée en 1986, il n'est significatif que pour les loci EST1 (Figure 17) et ACPH1 (Figure 21). Cette différence entre les deux années pourrait être en partie expliquée par le plus faible échantillonnage de l'année 1986. Dans la population d'Avion, les indices d'autocorrélation n'ont pas pu être calculés au locus GOT2 car il n'était pas assez polymorphe. L'autocorrélation est significative pour un locus (EST1, Figure 22) sur les trois étudiés. Les individus semblables apparaissent donc agrégés sur les faibles distances (0 à 3 mètres). Ce résultat montre que dans les deux populations, les flux géniques sont limités sur une distance inférieure à 3 mètres.

Si on regarde maintenant l'allure des corrélogrammes, on remarque des autocorrélations significativement négatives aux loci GOT2, LAP1 et AcPH1 (Figures 14, 18 et 20) à des distances de 15 à 18 mètres dans la population de Doué la Fontaine étudiée en 1985. Ce résultat indique qu'à ces distances, les individus semblables alléliquement sont surdispersés. Dans la même population étudiée en 1986, les loci EST1 et AcPH1 (Figures 17 et 21) montrent une autocorrélation significativement négative à des distances de 18 à 21 mètres. Aucune structuration allélique significative n'apparaît aux loci GOT2 et LAP1 (Figures 15 et 19), mais les indices d'autocorrélation sont négatifs à ces distances. Il semble donc que dans

cette population, une différenciation allélique se produise sur des distances d'environ 20 mètres.

Dans la population d'Avion, la structuration est nettement moins marquée. Au locus EST1 (Figure 22) l'indice d'autocorrélation est significativement négatif sur les distances de 18 à 21 mètres et de 24 à 27 mètres. Aux 2 autres loci (Figures 23 et 24) rien de significatif n'apparaît, cependant des valeurs négatives sont obtenues sur des distances supérieures à 25 mètres. On peut alors supposer qu'une différenciation allélique se produise sur une distance d'environ 25 mètres dans cette population.

5.3.1.2. Découpage des populations en sous-populations.

Les découpages ont été effectués selon les critères d'autocorrélation spatiale, mais aussi dans le but d'obtenir un effectif suffisant dans chaque sous-population.

La population de Doué la Fontaine a donc été subdivisée en sous-populations d'une vingtaine de mètres. On obtient alors 6 sous-populations pour l'échantillonnage étudié en 1985 et 4 pour celui étudié en 1986. La population d'Avion a été subdivisée en 3 sous-population de 25 mètres. L'effectif dans chaque sous-population varie de 10 à 25 individus. Les différentes frontières entre les sous-populations sont figurées sur les cartes données dans l'Annexe 7. Sur ces cartes figurent la position et le génotype de chaque individu étudié.

Tableau 12: Fréquences alléliques obtenues dans les différentes sous-populations et dans la population totale de Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1985.

Locus Allèles	GOT2			EST1			LAP1			AcPH1		
	1	2	N	1	2	N	1	2	N	1	2	N
sous-population 1	0.04	0.96	12	-	1.00	12	0.04	0.96	12	0.80	0.20	10
sous-population 2	0.45	0.55	22	0.16	0.84	19	0.28	0.72	20	0.63	0.37	20
sous-population 3	0.29	0.71	14	0.25	0.75	14	0.08	0.92	13	0.61	0.39	9
sous-population 4	0.22	0.78	18	0.06	0.94	17	0.28	0.72	16	0.75	0.25	10
sous-population 5	0.23	0.77	15	0.03	0.97	15	0.03	0.97	15	0.64	0.36	7
sous-population 6	0.32	0.68	11	0.04	0.96	12	0.05	0.95	10	0.83	0.17	6
Probabilité du χ^2	P(14.58;5ddl)= 0.012			P(14.66;5ddl)= 0.012			P(17.72;5ddl)= 0.003			P(4.10;5ddl)= 0.535		
Dans l'ensemble de la population	0.28	0.72	92	0.10	0.90	89	0.15	0.85	86	0.70	0.30	62

Tableau 13: Fréquences alléliques obtenues dans les différentes sous-populations et dans la population totale de Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1986.

Locus Allèles	GOT2			EST1			LAP1			AcPH1		
	1	2	N	1	2	N	1	2	N	1	2	N
sous-population 1	0.07	0.93	15	-	1.00	16	0.22	0.78	16	0.86	0.14	11
sous-population 2	0.35	0.65	13	0.23	0.77	13	0.27	0.73	13	0.55	0.45	10
sous-population 3	0.13	0.87	8	0.06	0.94	8	0.13	0.87	8	0.83	0.17	6
sous-population 4	0.22	0.78	9	0.11	0.89	9	0.06	0.94	9	0.57	0.43	7
Probabilité du χ^2	P(7.68;3ddl)=0.053			P(8.94;3ddl)=0.030			P(3.85;3ddl)=0.278			P(7.14;3ddl)=0.068		
sur l'ensemble de la population	0.19	0.81	45	0.10	0.90	46	0.19	0.81	46	0.71	0.29	34

N= nombre d'individus étudiés.

Tableau 14: Fréquences alléliques obtenues dans les différentes sous-populations et dans la population totale d'Avion (L3) étudiée en 1987.

Locus	GOT1			GOT2			EST1			LAP1			AcPH1					
	1	2	N	1	2	N	1	2	N	1	2	N	1	2	3	4	5	N
sous-population 1	1.00	-	12	1.00	-	12	0.13	0.87	12	0.54	0.46	12	0.20	0.45	0.35	-	-	10
sous-population 2	0.95	0.05	22	0.98	0.02	22	0.14	0.86	21	0.79	0.21	19	0.56	0.32	-	0.06	0.06	17
sous-population 3	1.00	-	27	0.98	0.02	26	0.06	0.94	27	0.90	0.10	26	0.56	0.38	0.02	0.04	-	26
sur l'ensemble de la population	0.98	0.02	61	0.98	0.02	59	0.10	0.90	60	0.79	0.21	57	0.49	0.38	0.07	0.04	0.02	53
Probabilité du χ^2	non testable			non testable			P(2.21;2ddl)=0.331			P(12.96;2ddl)=0.002			P(13.51;4ddl)=0.009 [§]					

N=nombre d'individus étudiés
[§]: allèles 3,4 et 5 regroupés

Tableau 15: Comparaison des fréquences alléliques obtenues dans la population de Doué la Fontaine (L2) les deux années consécutives.

Locus	GOT2			EST1			LAP1			AcPH1		
	1	2	N	1	2	N	1	2	N	1	2	N
Population étudiée en 1985	0.28	0.72	92	0.10	0.90	89	0.15	0.85	86	0.70	0.30	62
Population étudiée en 1986	0.19	0.81	45	0.10	0.90	46	0.19	0.81	46	0.71	0.29	34
Probabilité du χ^2	P(1.116;1dd1)>>0.05			P(0.019;1dd1)>>0.05			P(0.419;1dd1)>>0.05			P(0.016;1dd1)>>0.05		

N= Nombre d'individus étudiés.

Les fréquences alléliques obtenues dans les sous-populations sont données dans le Tableau 12 pour la station de Doué la Fontaine étudiée en 1985, dans le Tableau 13 pour la même station étudiée en 1986 et dans le Tableau 14 pour la station d'Avion. Les résultats montrent que pour la moitié des loci, les sous-populations diffèrent significativement par leur fréquences alléliques.

Les fréquences alléliques observées dans la population de Doué la Fontaine ne diffèrent pas significativement entre les deux années (Tableau 15).

5.3.1.3. F-statistics.

Les hétérozygotes observés et attendus selon la loi d'Hardy-Weinberg dans chacune des sous-populations pour les trois échantillonnages sont présentés dans l'Annexe 8.

Les trois indices obtenus dans la population de Doué-la Fontaine sont donnés dans les Tableaux 16 (année 1985) et 17 (année 1986). La consanguinité apparaît plus élevée dans l'échantillonnage effectué en 1986, cependant, la comparaison des indices sur les deux années n'est pas significativement différente. Le déficit en hétérozygotes observé sur l'ensemble de la population (F_{IT}) est significatif dans les deux échantillonnages. La consanguinité semble être due essentiellement à la composante intra-sous population (F_{IS}). La différenciation inter-sous populations (F_{ST}), bien que plus faible, n'est cependant pas négligeable. Elle apparaît significative pour l'année 1986 et d'autre part, les tests d'hétérogénéité sur les fréquences alléliques sont globalement

Tableau 16: F-statistics: Les 3 indices moyens obtenus aux 4 loci et sur la moyenne des 4 loci dans la population de Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1985.

Locus	F _{IS}	F _{ST}	F _{IT}
GOT2	0.061	0.062	0.119
EST1	-0.028	0.067	0.041
LAP1	-0.060	0.092	0.038
AcPH1	0.490	-0.037	0.472
Moyenne	0.182	0.035	0.211*
Standard erreur	(0.084)	(0.018)	(0.064)

Tableau 17: F-statistics: Les 3 indices moyens obtenus aux 4 loci et sur la moyenne des 4 loci dans la population de Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1986.

Locus	F _{IS}	F _{ST}	F _{IT}
GOT2	0.329	0.056	0.366
EST1	-0.184	0.096	-0.071
LAP1	0.215	0.002	0.217
AcPH1	0.569	0.048	0.590
Moyenne	0.311**	0.046*	0.343**
Standard erreur	(0.070)	(0.007)	(0.067)

F_{IS} : intra-sous populations

F_{ST} : inter-sous populations

F_{IT} : intra-population totale

* : différent de 0 pour P<0.05

** : différent de 0 pour P<0.01

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

significatifs (Tableaux 12 et 13). Le déficit en hétérozygotes serait donc dû en majeure partie à des voisinages très faibles (autocorrélation positive sur des distances inférieures à 3 mètres) mais aussi à une structuration de la population en différentes sous-populations (en particulier, le locus GOT2 montre des fréquences alléliques dans la sous population 2 (Tableaux 12 et 13) qui se différencient très nettement du reste de la population).

Les résultats obtenus dans la population d'Avion sont donnés dans le Tableau 18. Les trois indices sont très voisins de ceux calculés dans la population précédente et ils se répartissent de la même manière.

5.3.1.4. D-statistics.

Les 5 indices calculés dans la population de Doué-la-Fontaine sont donnés dans les Tableaux 19 (année 1985) et 20 (année 1986). Un déséquilibre de liaison systématique inégal est observé entre les loci GOT2 et AcPH1 pour l'année 1985 et entre les loci GOT2 et LAP1 pour l'année 1986. Dans la population d'Avion en revanche, tous les déséquilibres sont non systématiques (Tableau 21), de même que pour les autres couples de loci des deux années de Doué-la-Fontaine.

Les déséquilibres de liaisons observés dans chaque sous population sont donnés dans les Tableaux 22 et 23 pour la population de Doué la Fontaine étudiée en 1985 et 1986, et dans le Tableau 24 pour la population d'Avion. Il apparaît alors nettement que des déséquilibres de liaisons significatifs sont observés dans les sous-populations de Doué la Fontaine alors qu'ils ne sont pas significatifs dans celles d'Avion.

Tableau 18: F-statistics: Les 3 indices moyens obtenus aux 5 loci et sur la moyenne des 5 loci dans la population d'Avion (L3) étudiée en 1987.

Locus	F _{IS}	F _{ST}	F _{IT}
GOT1	-0.022	0.021	-0.001
GOT2	0.004	-0.020	-0.016
EST1	0.455	-0.010	0.449
LAP1	-0.045	0.145	0.107
AcPH1	0.265	0.067	0.314
Moyenne	0.197**	0.075*	0.257**
Standard erreur	(0.049)	(0.0132)	(0.037)

F_{IS} : intra-sous populations

F_{ST} : inter-sous populations

F_{IT} : intra-population totale

* : différent de 0 pour P<0.05

** : différent de 0 pour P<0.01

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).

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

Tableau 19: "D-statistics": Les 5 indices obtenus dans la population de Doué la Fontaine (L2), étudiée en 1985.

Loci présentant un déséquilibre de liaison	Composante intra-sous-populations		Composante inter-sous-populations		Composante sur l'ensemble de la population
	D_{IS^2}	D'_{IS^2}	D_{ST^2}	D'_{ST^2}	D_{IT^2}
GOT2-EST1	0.00215	0.14587	0.04210	0.00120	0.14707
GOT2-LAP1	0.01883	0.14863	0.04396	0.01506	0.16369
GOT2-AcPH1	0.05922	0.24897	0.03145	0.01160	0.26057
EST1-LAP1	0.00082	0.14655	0.04618	0.00036	0.14690
EST1-AcPH1	0.02546	0.13608	0.04138	0.00004	0.13613
LAP1-AcPH1	0.01803	0.21690	0.05647	0.00048	0.21738

Tableau 20: "D-statistics": Les 5 indices obtenus dans la population de Doué la Fontaine (L2), étudiée en 1986.

Loci présentant un déséquilibre de liaison	Composante intra-sous-populations		Composante inter-sous-populations		Composante sur l'ensemble de la population
	D_{IS^2}	D'_{IS^2}	D_{ST^2}	D'_{ST^2}	D_{IT^2}
GOT2-EST1	0.00326	0.16622	0.03558	0.00334	0.16956
GOT2-LAP1	0.03308	0.07981	0.02529	0.01752	0.09733
GOT2-AcPH1	0.02133	0.22516	0.04968	0.00269	0.22785
EST1-LAP1	0.00997	0.12730	0.02219	0.00083	0.12813
EST1-AcPH1	0.00469	0.24038	0.04966	0.00145	0.24183
LAP1-AcPH1	0.02633	0.18396	0.03697	0.00108	0.18504

Tableau 21: "D-statistics": Les 5 indices obtenus dans la population d'Avion (L3), étudiée en 1987.

Loci présentant un déséquilibre de liaison	Composante intra-sous-populations		Composante inter-sous-populations		Composante sur l'ensemble de la population
	D_{IS^2}	D'_{IS^2}	D_{ST^2}	D'_{ST^2}	
GOT1-GOT2	0.00001	0.00571	0.00139	0.00000	0.00571
GOT1-EST1	0.00026	0.02310	0.00438	0.00004	0.02314
GOT1-LAP1	0.00002	0.15424	0.04943	0.00001	0.15424
GOT1-AcPH1	0.00037	0.16333	0.06245	0.00006	0.16339
GOT2-EST1	0.00009	0.01498	0.00291	0.00005	0.01503
GOT2-LAP1	0.00022	0.16188	0.04776	0.00023	0.16211
GOT2-AcPH1	0.00131	0.15475	0.06199	0.00130	0.15606
EST1-LAP1	0.00097	0.15588	0.04530	0.00012	0.15600
EST1-AcPH1	0.01876	0.14271	0.05270	0.00904	0.15176
LAP1-AcPH1	0.00323	0.21941	0.05549	0.00849	0.22790

Tableau 22: Valeur des χ^2 , comparaisons des déséquilibres de liaison entre les loci pris 2 à 2 à l'intérieur des sous-populations, dans la population de Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1985

Loci comparés	N1	SP1	N2	SP2	N3	SP3	N4	SP4	N5	SP5	N6	SP6
GOT2-EST1	-	-	19	0.00 (NS)	14	0.54 (NS)	17	1.87 (NS)	14	0.66 (NS)	11	1.18 (NS)
GOT2-LAP1	12	0.11 (NS)	20	7.30 (*)	13	4.67° (*)	16	0.00 (NS)	14	0.80 (NS)	9	0.66 (NS)
GOT2-AcPH1	10	1.46 (NS)	20	16.13 (***)	9	0.68 (NS)	10	0.78 (NS)	7	0.32 (NS)	6	0.20 (NS)
EST1-LAP1	-	-	19	0.01 (NS)	13	1.38 (NS)	15	0.01 (NS)	-	-	10	0.14 (NS)
EST1-AcPH1	-	-	18	4.15 (*)	9	7.14\$ (*)	10	1.83 (NS)	-	-	-	-
LAP1-AcPH1	-	-	19	4.80 (*)	-	-	9	0.91 (NS)	-	-	5	6.17\$ (*)

Tableau 23: Valeur des χ^2 , comparaisons des déséquilibres de liaison entre les loci pris 2 à 2 à l'intérieur des sous-populations, dans la population de Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1986

Loci comparés	N1	SP1	N2	SP2	N3	SP3	N4	SP4
GOT2-EST1	-	-	13	0.01 (NS)	8	0.40 (NS)	9	2.54 (NS)
GOT2-LAP1	15	2.77° (*)	13	8.75 (**)	8	0.85 (NS)	8	1.20 (NS)
GOT2-AcPH1	11	0.84 (NS)	10	0.27 (NS)	6	9.53\$ (**)	7	2.91 (NS)
EST1-LAP1	-	-	13	3.22 (*)	8	3.58\$ (*)	9	0.34 (NS)
EST1-AcPH1	-	-	10	0.21 (NS)	6	0.63 (NS)	7	2.20 (NS)
LAP1-AcPH1	11	13.28 (***)	10	0.48 (NS)	6	1.38 (NS)	7	0.06 (NS)

Nx : nombre de comparaisons dans la sous-population x
 SPx: numérotation des sous-populations
 - : allèle fixé à 1 ou 2 loci
 \$: déséquilibre dû à la faible taille de l'échantillon
 NS : non significatif
 * : significatif pour P<0.05
 ** : significatif pour P<0.01
 ***: significatif pour P<0.001
 ° : présence allèles rares

Tableau 24: Valeur des χ^2 , comparaisons des déséquilibres de liaison entre les loci pris 2 à 2 à l'intérieur des sous-populations, dans la population d'Avion (L2) étudiée en 1987.

Loci comparés	N1	SP1	N2	SP2	N3	SP3
GOT1-GOT2	-	-	21	0.11 (NS)	-	-
GOT1-EST1	-	-	21	0.77 (NS)	-	-
GOT1-LAP1	-	-	19	0.04 (NS)	-	-
GOT1-AcPH1	-	-	17	1.06 (NS)	-	-
GOT2-EST1	-	-	20	0.40 (NS)	26	0.14 (NS)
GOT2-LAP1	-	-	18	0.66 (NS)	25	0.19 (NS)
GOT2-AcPH1	-	-	16	1.83 (NS)	25	1.89 (NS)
EST1-LAP1	12	0.51 (NS)	19	0.04 (NS)	26	0.39 (NS)
EST1-AcPH1	10	2.35 (NS)	16	28.42° (***)	26	0.68 (NS)
LAP1-AcPH1	10	0.61 (NS)	14	2.21 (NS)	25	1.35 (NS)

Nx : nombre de comparaisons dans les sous-populations x

SP1---SP3 : numérotation des sous-populations

NS : non significatif

***: significatif pour $P < 0.001$

° : déséquilibre dû à la présence d'allèles rares

- : allèle fixé à 1 ou 2 loci

C'est essentiellement dans la sous population 2 de Doué la Fontaine que l'on observe les déséquilibres de liaison. Cette sous population montre des fréquences alléliques très différentes du reste de la population (Tableaux 12 et 13, p.110). Il est donc fort probable que les individus de cette sous-population proviennent d'une fondation différente du reste de la population. Le déséquilibre de liaison systématique inégal indique que dans cette sous population, les combinaisons alléliques sont associées d'une manière qui diffère des autres sous populations. Cette association allélique résulte soit de la sélection, soit d'un mécanisme qui agit pour maintenir ensemble des combinaisons alléliques particulières chez les individus (par exemple l'autogamie). Les descendance maternelles des divers individus de la population ont donc été étudiées pour trancher entre ces deux hypothèses.

5.3.2. ESTIMATION DU TAUX D'AUTOFECONDATION CHEZ LES PLANTES DE LA GENERATION G0.

Les génotypes des différents descendants (génération G1) étudiés dans les deux populations sont donnés dans l'annexe 9. C'est à partir de ces données que les estimations du taux d'autofécondation ont été effectuées.

L'estimation "multi-loci" du taux d'autofécondation moyen, obtenue à partir des descendance, peut être comparée à la moyenne des estimations "simple-locus" dans le Tableau 25. Cette moyenne n'est pas significativement supérieure à l'estimation "multi-loci". Ce résultat confirme donc l'étude "F-statistics": l'essentiel de la consanguinité est due à de l'autofécondation ou des croisements entre apparentés plutôt qu'à

Tableau 25: Estimation du taux d'autofécondation moyen "Multiloci" et "simple locus" dans les populations.

Populations	Multilocus S	Moyenne des estimations "simple" locus E	LOCI			
			GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
Doué la Fontaine étudiée en 1985	0.317 (0.032)	0.341 (0.050)	0.334 (0.061)	0.343 (0.078)	0.283 (0.070)	0.404 (0.054)
Doué LA Fontaine étudiée en 1986	0.360 (0.074)	0.374 (0.190)	0.262 (0.129)	0.643 (0.123)	0.217 (0.124)	-
Avion	0.567 (0.061)	0.603 (0.220)	0.891 (0.073)	0.347 (0.173)	0.566 (0.071)	-

S = Taux d'autorecondation "réel" obtenu par l'estimation multiloci
 Doué en 1985, l'estimation est faite sur 39 familles soit 572 descendants
 Doué en 1986, l'estimation est faite sur 16 familles soit 258 descendants
 Avion en 1987 l'estimation est faite sur 19 familles soit 238 descendants
 E = "effective selfing rate": moyenne des 4 estimations simple locus pour
 Doué en 1985, et des 3 estimations simple locus pour Doué en 1986 et Avion 1987

Les chiffres entre parenthèses représentent les erreurs standards.

- = systèmes non révélés (parce que les AcPH ne sont pas révélées quand l'étude a été faite sur les graines).

une différenciation de la population en sous-populations.

On peut alors comparer l'estimation "multi-loci" du taux d'autofécondation effectuée sur les descendances à celle obtenue avec le FIS effectuée sur les plantes mères (Haldane, 1924, cf. Matériels et Méthodes):

	S("multi-loci")	S(FIS)
L2 (1985)	0.317	0.308
L2 (1986)	0.360	0.474
L3 (1987)	0.567	0.329

Ces deux estimations concordent relativement bien pour la population de Doué la Fontaine (surtout pour l'année 1985) mais beaucoup moins bien pour la population d'Avion. Ritland and El-Kassaby (1985) recommandent d'utiliser un minimum de 4 loci pour avoir une estimation non biaisée du taux d'autofécondation, or on observe une moins bonne concordance entre les deux indices lorsque l'estimation "multi-loci" est faite sur 3 loci. Il est donc fort probable que les résultats obtenus dans la population d'Avion soient biaisés.

Les estimations "simple-locus" et "multi-loci" du taux d'autofécondation, calculées sur chaque individu de la génération G0 (plantes mères), sont données dans l'Annexe 10 pour chaque population. Pour certaines plantes mères, une mauvaise convergence a été notée dans l'estimation du taux d'autofécondation (Annexe 10). Les familles montrant une mauvaise convergence ont été éliminées des résultats qui vont suivre. Nous avons utilisé les estimations "multi-loci" (S) pour classer les

Tableau 26: Classification des individus de la génération G0 en autogames, plantes à système de reproduction mixte et allogames, selon leur taux d'autofécondation (S: estimation "multi-loci") dans les trois échantillonnages.

Population	Autogames ($S \geq 0.50$)	Régime mixte ($0.05 \leq S < 0.50$)	Allogames ($S < 0.05$)	N
Doué la Fontaine étudiée en 1985	0.25	0.50	0.25	24
Doué la Fontaine étudiée en 1986	0.30	0.50	0.20	10
Avion étudiée en 1987	0.64	0.36	0.00	11

N = Effectif total

S = Estimation "multi-loci" du taux d'autofécondation

Tableau 27: Fréquences alléliques observées aux 4 loci chez les individus appartenant aux 3 types de système de reproduction dans la population de Doué la Fontaine étudiée en 1985.

Loci	GOT2			EST1			LAP1			AcPH1		
	1	2	N	1	2	N	1	2	N	1	2	N
Autogames	0.08	0.92	6	0.08	0.92	6	0.00	1.00	6	0.42	0.58	6
Régime mixte	0.33	0.67	12	0.13	0.88	12	0.21	0.79	12	0.58	0.42	12
Allogames	0.67	0.33	6	0.08	0.92	6	0.17	0.83	6	0.75	0.25	6
$P(\chi^2)$	P(9.69;2ddl)<0.01			non testable			non testable			P(2.80;2ddl)>>0.05		

N = nombre d'individus

plantes mères, selon leur système de reproduction, dans 3 catégories:

- (1) les autogames quand S est supérieur ou égal à 0.50;
- (2) les plantes à système de reproduction mixte quans S est compris entre 0.50 et 0.05;
- (3) les allogames quand S est strictement inférieur à 0.05.

On peut comparer les fréquences obtenues dans les trois classes entre les différentes populations dans le Tableau 26. Les résultats obtenus dans la population de Doué la Fontaine sont assez semblables entre les deux années. 25% à 30% des plantes sont plutôt autogames, 50% présentent un système de reproduction mixte et seulement 20% à 25% se comportent comme des allogames. Les résultats obtenus dans la population d'Avion se distinguent nettement des précédents puisqu'on observe une majorité de plantes autogames (64%), 36% des individus ont un régime de reproduction mixte et aucune plante n'est allogame.

Ces résultats montrent trois points importants:

- (1) d'une part, un polymorphisme pour le régime de la reproduction est mis en évidence dans différentes populations;
- (2) d'autre part, ce polymorphisme ne semble pas résulter d'une situation environnementale particulière, puisque les fréquences des 3 types d'individus restent identiques d'une année à l'autre;
- (3) enfin, les fréquences des 3 types de plantes (autogames, régime mixte et allogames) semblent varier d'une population à l'autre.

En ce qui concerne le dernier point, nous devons rester prudent vis à vis des résultats, car ils sont probablement biaisés par le faible nombre de loci étudiés et par le faible polymorphisme enzymatique présent dans la population d'Avion. Cependant, l'estimation du taux d'autofécondation sur quelques plantes provenant des deux populations (Avion et Doué la Fontaine), à partir de croisements non castrés réalisés en terrain expérimental entre des plantes de génotypes différents (Annexe 11), est de 0.20 pour les individus provenant de Doué la Fontaine et de 0.88 pour ceux provenant d'Avion. Il semble donc fort probable que le nombre de plantes autogames soit plus important dans la population d'Avion.

L'existence d'individus autogames peut entraîner des déséquilibres de liaison. Si les individus à régimes de reproduction différents proviennent de phénomènes de colonisation distincts, il est alors fort probable que certains allèles se trouvent corrélés avec un système de reproduction particulier. On pourra alors observer un déséquilibre de liaison systématique inégal dans la mesure où les individus provenant de colonisations différentes sont restés groupés entre eux dans la population. Pour tester cette hypothèse, nous avons calculé les fréquences alléliques aux 4 loci chez les individus appartenant aux 3 types de système de reproduction (Tableau 27). Ce calcul n'a pu être effectué que dans la population de Doué la Fontaine étudiée en 1985, en effet, le nombre de plantes mères étudiées dans chaque catégorie était tout juste suffisant pour tester les différences dans les effectifs alléliques. Les résultats montrent une variation significative dans les fréquences alléliques suivant les catégories au locus GOT2. L'allèle 1 est observé à une fréquence très faible chez les individus autogames, alors qu'il est très fortement majoritaire chez les allogames. L'allèle 1 se trouve donc corrélé avec un

système de reproduction allogame et l'allèle 2 à un régime autogame. Un résultat similaire bien que non significatif est obtenu au locus AcPH1 où l'allèle 1 est plus fréquent chez les allogames et l'allèle 2 plus typique des autogames. Rappelons, que nous avons mis en évidence une structuration allélique dans la population, particulièrement au locus GOT2 où les individus de la sous-population 2 (Tableau 12) se distinguaient fortement des autres par une forte fréquence de l'allèle 1. Ces deux résultats, (1) corrélation entre régime de la reproduction et certains allèles (aux loci GOT2 principalement et AcPH1 dans une moindre mesure) et (2) existence d'une différenciation allélique dans la population (pour les allèles du locus GOT2 en particulier), peuvent alors expliquer le déséquilibre systématique inégal observé entre les loci GOT2 et AcPH1 dans cette population.

5.3.3. ETUDE DE LA GENERATION G1.

Comme nous l'avons précisé plus haut (Matériels et Méthodes), ces résultats ont été obtenus sur les individus de la génération G1 cultivés dans une serre tunnel ouverte aux deux extrémités. Nous avons testé, tout d'abord, l'influence de ce mode de culture sur les estimations des fertilités calculées par la suite.

5.3.3.1. Importance des facteurs environnementaux sur l'estimation de la fertilité femelle.

Ce mode de culture laisse supposer que 2 facteurs (nombre de pollinisateurs et température) sont susceptibles de limiter la fertilité

Tableau 28: fertilités comparées (nombre de fruits/fleur et nombre de graines/fruit),
des individus de la génération G1 en fonction de leur position dans la serre.

POSITION DANS LA SERRE							
Périphérique (près de l'ouverture)				Centrale (éloignée de l'ouverture)			
Plantes mères (génération G0)	Individus (génération G1)	Fruits/Fleur	Graines/Fleur	Plantes mères (génération G0)	Individus (génération G1)	fruits/fleur	graines/fruit
B	1	0.089	1.450	B	3	0.067	1.889
B	2	0.970	3.000	B	4	0.063	2.000
C	5	0.770	7.118	D	9	0.030	2.400
C	6	0.129	5.227	D	10	0.070	4.666
C	7	0.106	0.106	D	11	0.066	3.350
D	8	0.088	4.238	F	14	0.081	4.273
F	12	0.093	2.667	F	15	0.083	4.308
F	13	0.154	2.238	F	16	0.116	5.353
G	17	0.167	3.500	G	18	0.045	5.667
J	21	0.096	5.867	G	19	0.131	2.909
K	23	0.114	2.688	G	20	0.048	2.538
K	24	0.080	6.304	G	22	0.053	3.308
L	28	0.114	2.500	K	25	0.082	5.467
L	29	0.094	3.000	K	26	0.102	4.667
M	33	0.087	6.700	K	27	0.115	5.909
				L	30	0.080	6.500
				L	31	0.043	6.714
				L	32	0.240	0.000
				M	34	0.088	4.000
				M	35	0.054	6.000
Moyenne		0.106	4.131			0.072	4.103
Erreur standard		0.026	1.830			0.029	1.776

femelle en fécondation libre (cf. Matériels et Méthodes). On va alors comparer les fertilités obtenues en fécondation libre sur les individus situés dans la partie de la serre proche de l'ouverture, à celles obtenues sur ceux situés dans la partie centrale (Tableau 28). L'effet pollinisateur est testé par le rapport nombre de fruits produits par fleurs et l'effet température par le rapport nombre de graines produit par fruits. Le Tableau 28 montre que en moyenne les individus situés vers l'ouverture de la serre sont mieux pollinisés que ceux situés dans la partie centrale; en revanche, aucune différence dans la maturation des graines n'est observée entre les 2 parties de la serre.

Les individus testés sont des descendants de diverses plantes mères. Pour tester si les différences mises en évidence sont bien dues à la différence de position dans la serre et non pas à l'appartenance à des familles différentes, nous avons effectué des analyses de variance pour tester ces deux effets sur la production de fruits par fleurs (Tableau 29a) et sur la production de graines par fruits (Tableau 29b). Les résultats montrent que dans aucun cas l'effet famille n'est significatif. Alors que la température ne semble pas intervenir sur les résultats (Tableau 29b), le nombre de pollinisateur, au contraire, se révèle être un facteur limitant de la fertilité (Tableau 29a) dans nos conditions expérimentales.

5.3.3.2. Evaluation de l'aptitude à l'autofécondation.

Pour corriger l'effet du facteur limitant la pollinisation, nous avons estimé les fertilités femelles (obtenues en autofécondation et en fécondation libre) sur les deux "meilleures" inflorescences c'est-à-dire celles qui ont produit le plus grand nombre de fruits. La variation de

Tableaux 29: Analyse de variance pour tester l'effet de la répartition des plantes dans la serre sur leur fertilité.

a) Analyse de variance à deux facteurs, famille (appartenant à une même descendance), position (des plantes dans la serre), sur la production de fruits par fleur.

Source de variation	Degrés de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité
Famille	8	9.04 10^{-4}	1.226	P>0.05
Position	1	90.00 10^{-4}	12.221	P<0.01
Interaction	7	7.17 10^{-4}	.973	P>>0.05
Résiduelle	18	7.37 10^{-4}		

b) Analyse de variance à deux facteurs, famille (appartenant à une même descendance), position (des plantes dans la serre), sur la production de graines par fruit.

Source de variation	Degrés de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité
Famille	8	5.117	1.800	P>0.05
Position	1	0.903	0.430	P>0.05
Interaction	7	2.102	0.740	P>0.05
Résiduelle	18	2.842		

réponse entre les deux inflorescences permettra de calculer une erreur standard pour chaque individu. Les différentes composantes de la fertilité femelle obtenues alors, en autofécondation stricte, en autofécondation répétée et en fécondation libre sont données dans l'Annexe 12. Chez tous les individus sauf un, aucune graine n'est produite en autofécondation stricte (Annexe 12). Ce résultat confirme les observations du chapitre précédent: la stimulation du stigmate est nécessaire pour la réussite de la fécondation. Malgré les forts taux d'autofécondation estimés dans les populations, ce résultat souligne que les individus de cette espèce se comportent avant tout comme des plantes allogames.

L'aptitude à l'autofécondation sera donc estimée par la comparaison des fertilités femelles obtenues en fécondation libre et en autofécondation répétée. Le Tableau 30 présente le succès reproducteur femelle calculé pour chaque individu de la génération G1, pour les deux types de croisements: autofécondation répétée et fécondation libre; et l'indice d'autofécondation qui en découle. Les indices d'autofécondation varient entre 0 et 1 suivant les individus. Des valeurs supérieures à 1 sont même observées. Ce résultat est assez difficile à interpréter car il signifie que le succès reproducteur est meilleur en autofécondation qu'en fécondation libre. L'explication la plus plausible est que le nombre de pollinisateur a été limitant chez ces individus.

On distingue donc 3 catégories d'individus.

(1) Ceux qui ont produit des graines uniquement en fécondation libre. Ces plantes ont un indice d'autofécondation de 0 et peuvent être classées comme strictement allogames.

Tableau 30: Comparaison du succès reproducteur femelle moyen en fécondation libre et en autofécondation répétée, et indice d'autofécondation des individus de la génération G1.

Familles (G0)	Individus (G1)	FECONDATION LIBRE		AUTOFECONDATION REPETEE		INDICE D'AUTOFECONDATION
		Moyenne*	Erreur standard	Moyenne*	Erreur standard	Moyenne°
A	1	0.048	0.001	0.000	0.000	0.000
B	1	0.073	0.037	0.000	0.000	0.000
	2	0.064	0.011	0.073	0.001	1.149
	3	0.032	0.027	0.000	0.000	0.000
	4	0.030	0.003	0.000	0.000	0.000
C	1	0.149	0.036	0.000	0.000	0.000
	2	0.153	0.020	0.210	0.088	1.378
	3	0.121	0.011	0.000	0.000	0.000
D	1	0.059	0.021	0.131	0.005	2.194
	2	0.006	0.006	0.000	0.000	0.000
	3	0.102	0.018	0.000	0.000	0.000
	4	0.067	0.002	0.000	0.000	0.000
E	1	0.087	0.022	0.000	0.000	0.000
	2	0.114	0.011	0.164	0.016	1.431
	3	0.148	0.015	0.057	0.052	0.349
	4	0.094	0.032	0.098	0.020	1.035
	5	0.009	0.005	0.000	0.000	0.000
F	1	0.051	0.019	0.000	0.000	0.000
	2	0.059	0.013	0.048	0.014	0.820
	3	0.084	0.020	0.008	0.008	0.099
	4	0.055	0.000	0.000	0.000	0.000
	5	0.079	0.002	0.000	0.000	0.000
G	1	0.100	0.017	0.104	0.018	1.036
	2	0.056	0.002	0.069	0.002	1.238
	3	0.069	0.031	0.020	0.005	0.295
H	1	0.044	0.009	0.049	0.005	1.131
	2	0.012	0.012	0.034	0.005	2.882
	3	0.042	0.010	0.064	0.031	1.505
	4	0.000	0.000	0.055	0.031	0.000
	5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
I	1	0.137	0.041	0.139	0.035	1.011
J	1	0.068	0.010	0.159	0.035	2.337
	2	0.105	0.001	0.000	0.000	0.000
K	1	0.101	0.173	0.000	0.000	0.000
	2	0.158	0.022	0.151	0.007	0.955
	3	0.083	0.083	0.149	0.042	1.804
	4	0.113	0.010	0.079	0.019	0.694
	5	0.020	0.020	0.057	0.038	2.887
L	1	0.035	0.001	0.000	0.000	0.000
	2	0.057	0.000	0.000	0.000	0.000
	3	0.115	0.017	0.072	0.005	0.624
	4	0.072	0.014	0.036	0.001	0.504
	5	0.000	0.000	0.107	0.022	0.000
M	1	0.087	0.013	0.122	0.030	1.401
	2	0.113	0.015	0.000	0.000	0.000
	3	0.123	0.046	0.049	0.001	0.401

*: Moyenne du succès reproducteur femelle (Graines/Ovules x Gousses/Fleur)

°: l'indice d'autofécondation (rapport du succès reproducteur femelle en autofécondation sur le succès reproducteur femelle en fécondation libre) est calculé sur les moyennes.

(2) Ceux qui produisent plus de graines en pollinisation libre qu'en autopollinisation répétée. Ces plantes ont un indice d'autofécondation compris entre 0 et 1, et semblent montrer un régime de reproduction mixte.

(3) ceux qui produisent autant ou plus de graines en autofécondation qu'en fécondation libre. Ces plantes ont un indice d'autofécondation de 1 ou supérieur à 1, et peuvent être classée comme strictement autogames.

Ces différences entre les individus de la génération G1 ont été testées par une analyse de variance croisée à deux facteurs (individu et type de croisements) effectuée sur le succès reproducteur femelle obtenu sur chaque inflorescence (ceci permet d'avoir deux répétitions pour chaque individu et chaque type de croisement). Les résultats montrent (Tableau 31) que le facteur individu est significatif c'est-à-dire que la fertilité femelle varie significativement suivant les individus. Le facteur Type de croisement est aussi significatif, en effet, la fertilité femelle obtenue en fécondation libre est en moyenne supérieure à celle obtenue en autofécondation. L'interaction entre ces deux facteurs est aussi significative: la fertilité femelle obtenue pour les deux types de croisements varie de manière différente suivant les individus. Ce dernier résultat confirme l'existence d'une différence significative entre les individus de la génération G1 quant à leur aptitude à s'autoféconder.

Ces résultats ont ensuite été analysés en tenant compte des relations génétiques entre les individus de la génération G1, c'est-à-dire de leur appartenance à une même famille. On a donc identifié les individus de la génération G1 issus d'une même mère (génération G0), et on a calculé la

Tableau 31: Analyse de variance croisée à deux facteurs, Individu et type de croisement, sur le succès reproducteur femelle des individus de la génération G1.

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité (>F)
Individu	45	.007	7.445	P<0.001
Type de croisement	1	.026	7.247	P<0.001
Interaction	45	.004	3.823	P<0.001
Résiduelle	92	.001		

moyenne par famille de la fertilité femelle dans les deux types de croisements (Tableau 32). Les indices d'autofécondation ainsi obtenus (Tableau 32) varient entre 0 pour certaines familles jusqu'à des valeurs supérieures à 1 pour d'autres descendance. L'examen des erreurs standard montre que la variabilité intra famille est très importante. Pour tester si les différences entre famille sont significatives, nous avons donc effectué une analyse de variance à deux facteurs (Famille et Type de croisement) sur ces données. Dans cette analyse de variance, les répétitions sont les différents individus étudiés dans une même famille. Nous avons supprimé de l'analyse, les familles A et I qui ne présentaient qu'un seul descendant (Tableau 32). L'analyse de variance (Tableau 33) montre que les différences entre familles ne sont pas significativement différentes. Le F obtenu est à la limite de la signification ($p < 0.08$). La forte variabilité intra famille pourrait s'expliquer par l'importance des effets environnementaux (hétérogénéité des conditions suivant la position des individus dans la serre): les différences environnementales masqueraient partiellement les différences génétiques. L'effet type de croisement reste significatif (Tableau 33). Le succès reproducteur femelle est toujours plus grand en fécondation libre par rapport à l'autofécondation. L'analyse de variance montre que l'interaction entre les deux facteurs (Tableau 33) n'est pas significative. On ne met donc pas en évidence un polymorphisme pour le régime de la reproduction dans la génération G0.

Ces résultats ne confirment pas l'étude effectuée en populations. Un polymorphisme pour le régime de la reproduction est bien mis en évidence sur les individus de la génération G1, mais ce polymorphisme semble être dû à des différences de conditions environnementales plutôt qu'à des différences génétiques. La mauvaise concordance entre l'indice

Tableau 32: Moyennes par famille du succès reproducteur femelle en fécondation libre et en autofécondation répétée, et indice d'autofécondation moyen.

Familles (G0)	Nombre d'individus (G1)	FECONDATION LIBRE		AUTOFECONDATION REPETEE		INDICE D'AUTOFECONDATION	
		Moyenne*	Erreur standard	Moyenne*	Erreur standard	Moyenne	Erreur standard
A	1	0.10	0.002	0.00	0.00	0.00	0.00
B	4	0.15	0.004	0.05	0.10	0.29	0.29
C	3	0.56	0.11	0.45	0.37	0.46	0.46
D	4	0.14	0.03	0.13	0.17	0.55	0.55
E	5	0.27	0.06	0.30	0.19	0.56	0.29
F	5	0.15	0.02	0.02	0.08	0.18	0.16
G	3	0.17	0.04	0.23	0.18	0.86	0.29
H	5	0.04	0.01	0.14	0.12	1.10	0.54
I	1	0.55	0.16	0.50	0.37	1.01	0.00
J	2	0.28	0.06	0.48	0.38	1.17	1.17
K	5	0.26	0.07	0.33	0.18	1.27	0.50
L	5	0.15	0.05	0.13	0.13	0.235	0.14
M	3	0.30	0.08	0.21	0.22	0.60	0.42

*: Moyenne du succès reproducteur femelle (Graines/Ovules x Gousses/Fleurs)

Tableau 33: Analyse de variance croisée à deux facteurs, famille et type de croisement, sur le succès reproducteur femelle des individus de la génération G1.

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité (>F)
Famille	12	.005	1.762	P<0.08
Type de croisement	1	.013	9.380	P<0.05
Interaction	10	.001	0.556	P>>0.05
Résiduelle	68	.003		

Tableau 34: Analyse de variance à un facteur (famille), sur la fertilité mâle des individus de la génération G1.

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité (>F)
Famille	12	2.561 10 ₈	1.409	P>>0.05
Résiduelle	33	1.818 10 ₈		

Tableau 35: Analyse de variance à un facteur (famille), sur le pollen/ovule ratio observé sur les individus de la génération G1.

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité (>F)
Famille	12	828521.46	1.782	P>0.05
Résiduelle	33	465032.84		

d'autofécondation (IA) (tableau 30) calculé ici et le taux d'autofécondation (S) estimé pour chaque famille dans le paragraphe précédent est mise en évidence par la valeur du coefficient de corrélation entre ces deux variables ($r=-0.29$, pour 11 ddl, non significatif).

5.3.3.3. Allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle.

Corrélation entre fertilités mâle et femelle.

L'estimation de fertilité mâle a été effectuée sur ces mêmes individus (Annexe 13). Pour tester si les différences de fertilités sont dues à un effet génétique ou environnemental, une analyse de variance à un facteur (Famille) a été effectuée. Les résultats (Tableau 34) montrent que les différences de fertilités inter familles ne sont pas significatives. Les différences de fertilités mises en évidence, sur la fertilité mâle comme sur la fertilité femelle sont donc essentiellement phénotypiques.

La corrélation entre la fonction mâle et femelle que ce soit au niveau individu ($r=0.15$, pour 44 ddl) ou au niveau famille ($r=0.21$, pour 10 ddl) n'est pas significative. Ce résultat n'est pas surprenant puisque les corrélations étudiées sont des corrélations phénotypiques et non pas des corrélations génétiques.

L'autre estimation de l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle est fournie par l'examen des pollen/ovule ratios (ovules comptés dans l'ovaire et non dans la gousse) (Annexe 13). L'analyse de variance (Tableau 35) montrent que ces ratios ne sont pas significativement différents entre les familles ce qui confirme le résultat précédent.

Tableau 36: corrélations entre indice d'autofécondation* et le pollen/ovules ratio au niveau des individus de la génération G1 et au niveau des familles.

Niveau	Coefficient de corrélation	ddl	signification
Individus de la génération G1	-0.1003	44	P >> 0.05
Familles (génération G0)	-0.0575	11	P >> 0.05

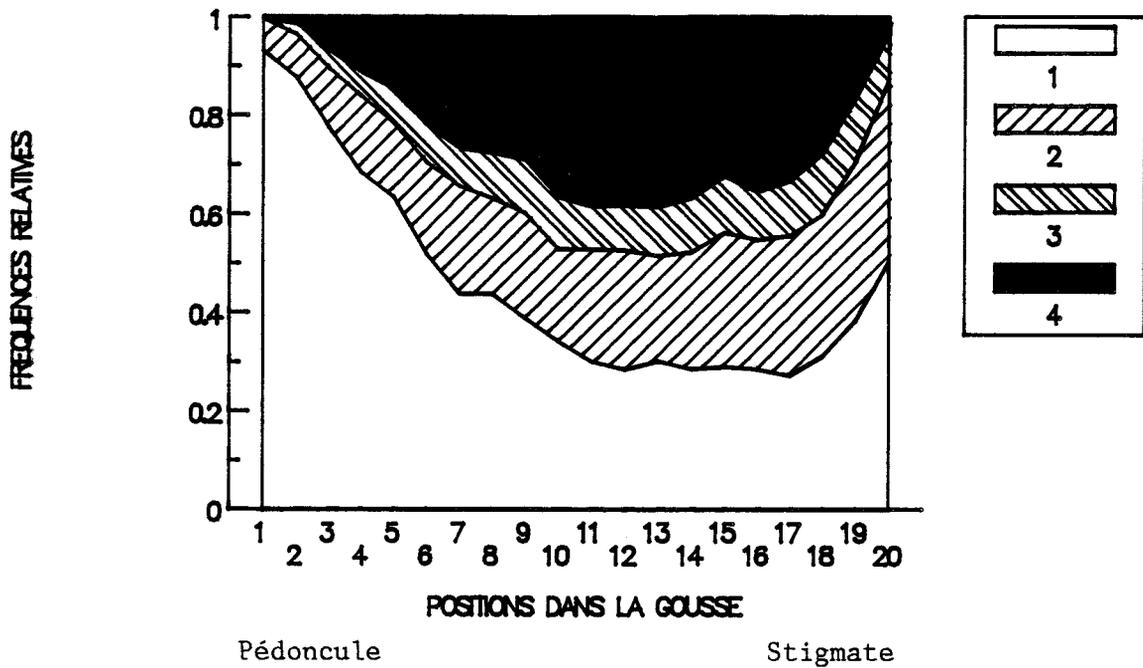
* : L'indice d'autofécondation est le rapport de la fertilité femelle (GR/OV x GO/BTF) en autofécondation sur la fertilité femelle en fécondation libre.

Ces résultats ne montrent donc pas de corrélation négative entre les fonctions mâle et femelle contrairement à ce que la théorie de l'allocation des ressources suggère (Charnov, 1979; 1982). Cette absence de corrélation négative s'explique sans doute par le fait que les variations mises en évidence sont des variations phénotypiques chez lesquelles les effets environnementaux masquent les effets génétiques. Cette théorie prédit que l'investissement dans les fonctions mâle et femelle devrait varier suivant le régime de la reproduction, l'investissement dans la fonction mâle étant plus faible chez les plantes autogames. Nous avons testé cette hypothèse sur nos observations (malgré la réserve faite plus haut sur l'importance des effets environnementaux) en calculant la corrélation entre les ratios pollen/ovule et l'indice d'autofécondation. Les coefficients de corrélations obtenus sont bien négatifs (Tableau 36) mais non significatifs.

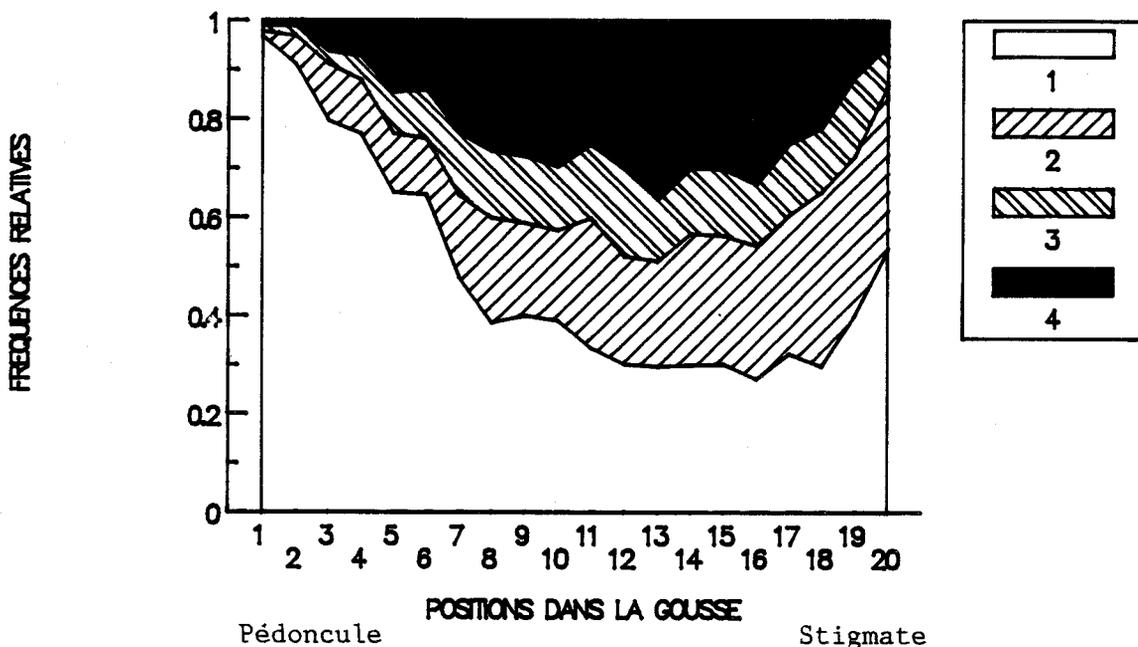
Etude du compartiment gousse

Hossaert et Valero (1988) ont montré que le mode d'avortement dans la gousse des Lathyrus pouvait être interprété comme une balance entre la probabilité d'être fécondé dans la partie proche du stigmate (effet mâle), et l'avantage d'être à proximité des nutriments maternels (effet femelle) d'autre part. Nous avons comparé la position des différents types d'"ovules" dans les gousses obtenues en fécondation libre et en autofécondation pour tester si des différences dans l'allocation aux fonctions mâle et femelle pouvaient être corrélées aux différences dans le régime de la reproduction. Les fréquences relatives de chaque type d'"ovules" ont été calculées pour les différentes positions dans la gousse.

FIGURE 25 :
(a) FREQUENCE DES DIFFERENTS TYPES D'OVULES
EN FECONDATION LIBRE



(b) FREQUENCE DES DIFFERENTS TYPES D'OVULES
EN AUTOFECONDATION



- 1: ovules non fécondés
- 2: graines avortées précoces
- 3: graines avortées tardives
- 4: graines saines

La Figure 25 montre les résultats obtenus sur la moyenne des gousses produites en fécondation libre (Figure 25a) et en autofécondation (Figure 25b). Pour les deux types de fécondations, la répartition des graines dans la gousse est très similaire: la majorité des graines saines formées se trouvent dans les positions proches du stigmate. C'est donc le facteur pollinisation qui apparaît prédominant en fécondation libre comme en autofécondation.

Etude de la position des fruits dans l'inflorescence.

Le nombre de fruits par fleurs et le nombre de graines par fruit obtenus dans la partie haute et basse de l'inflorescence (Matériels et Méthodes) sont donnés pour chaque individu et pour chaque type de fécondations dans l'Annexe 14. Les moyennes sur l'ensemble des individus sont données dans le Tableau 37. Ces deux fertilités sont toujours plus fortes dans la partie basse de l'inflorescence (proche de la mère) pour les résultats obtenus en fécondation libre. En revanche, le nombre de fruits par fleurs est plus faible dans la partie basse pour les résultats obtenus en autofécondation. L'analyse de variance à 3 facteurs (Individu, Type de croisement et Partie de l'inflorescence) montre cependant, que les fertilités ne varient pas significativement entre les deux parties de l'inflorescence (Tableau 38a et 38b). Les seuls résultats significatifs ont déjà été commentés plus haut: le nombre de graines produites par fruits varie significativement suivant les individus et suivant le type de croisement (Tableau 38b).

Tableau 37: Moyenne des fertilités femelles obtenues dans les deux parties de l'inflorescence pour chaque type de "croisement".

Partie de l'inflo.	Type de croisement	Nombre de fruits/fleurs	Nombre de graines/fleurs	Nombre d'individus étudiés
Basse	fécondation libre	0.221 ± 0.019	3.810 ± 0.346	48
	autofécondation répétée	0.202 ± 0.019	3.420 ± 0.326	48
Haute	fécondation libre	0.151 ± 0.016	3.212 ± 0.344	48
	autofécondation répétée	0.246 ± 0.092	3.095 ± 0.353	48

Tableau 38: Analyse de variance croisée à trois facteurs, famille, type de croisement et classe (partie haute ou basse de l'inflorescence), sur les deux composantes de la fertilité fertilité femelle.

a) Nombre de fruits/fleurs

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité
Individu	23	0.140	1.180	P>>>0.05
Type de croisement	1	0.068	0.698	P>>>0.05
Classe	1	0.008	0.069	P>>>0.05
Interaction individu et type de croisement	23	0.098	0.875	P>>>0.05
Résiduelle	143	0.112		

b) Nombre de graines/fruits

Source de variation	Degré de liberté	Carrés moyens	F	Probabilité
Individu	23	21.957	5.790	P<<<0.001
Type de de croisement	1	3.073	7.117	P<0.025
Classe	1	10.217	2.694	P>0.05
Interaction individu et type de croisement	23	0.432	0.114	P>>>>0.05
Résiduelle	143	3.792		

5.4. CONCLUSION.

Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence les principales caractéristiques du système de la reproduction de L. latifolius.

L'approche conjointe des méthodes de l'autocorrélation spatiale et des F-statistics a permis de dégager plusieurs grands points sur l'origine de la consanguinité dans les populations. Tout d'abord, la consanguinité totale des populations de L. latifolius apparaît non négligeable, les F_{IT} obtenus, compris entre 0.21 et 0.35, sont tous significativement positifs. Ce déficit en hétérozygotes a deux origines. D'une part, une reproduction par voisinages due à des flux géniques limités (F_{ST} non nul), la différenciation allélique se produisant sur des distances de 18 à 25 mètres dans les deux populations; et d'autre part, des autofécondations ou des croisements entre apparentés (F_{IS} compris entre 0.18 et 0.30), les flux géniques ne dépassant pas des distances de 3 mètres. Les taux d'autofécondation estimés à partir des F_{IS} sont voisin de 0.30.

L'étude génotypique des descendances (génération G1) issues de pollinisation libre (méthode de Ritland and El-Kassaby, 1985) permet de faire une autre estimation du taux d'autofécondation moyen dans chaque population. Les estimations "multi-loci" (S) ainsi réalisées montrent des différences significatives entre les deux populations, la population d'Avion présentant un taux d'autofécondation voisin de 0.57 donc nettement plus élevé que celle de Doué-la-Fontaine ($S=0.30$). Les deux estimations

(F_{IS} et "multi-loci") concordent autour d'une valeur de 0.30 dans la population de Doué la Fontaine, alors que dans la population d'Avion, le taux d'autofécondation obtenu sur les descendance est nettement plus fort que celui observé dans la population. Il semble que dans cette dernière population, l'estimation "multi-loci" soit biaisée.

Les taux moyens d'autofécondation obtenus peuvent résulter de deux situations contrastées: soit d'une coexistence entre plantes caractérisées par des régimes de reproduction différents et, dans ce cas, la population est polymorphe; soit de la présence d'individus montrant tous le même régime de reproduction mixte, et dans ce cas, la population est monomorphe. L'examen des estimations "multi-loci" du taux d'autofécondation pour chaque plante mère (génération G₀) révèle l'existence d'un polymorphisme pour le régime de la reproduction dans les deux populations. Trois types d'individus sont observés, des autogames, des allogames et des individus à régime mixte. Ce polymorphisme ne semble pas résulter d'une situation environnementale particulière, puisque les fréquences des 3 types de plantes restent identiques d'une année à l'autre dans une même population.

Les résultats obtenus sur les déséquilibres de liaison d'une part, et sur les estimations "multi-loci" d'autre part, montrent que le polymorphisme pour le régime de la reproduction observé dans la population de Doué la Fontaine provient sans doute d'une fondation par au moins 2 groupes d'individus originaires de populations différentes, l'un plutôt allogame et l'autre plutôt autogame. Il semble donc que le polymorphisme observé correspond à une situation de non-équilibre dans cette population. Le maintien du polymorphisme ne pourrait alors s'expliquer qu'à une échelle supérieure: la métapopulation.

Pour tester si cette différence dans le régime de la reproduction était héritable, nous avons étudié l'aptitude à l'autofécondation de la génération G1 sachant celle de la génération G0. Les résultats ne permettent pas de conclure car de forts effets environnementaux masquent les effets géniques. De même, l'étude de l'allocation différentielle aux fonctions mâle et femelle suivant le régime de la reproduction ne montre que des corrélations phénotypiques toujours à cause des forts effets environnementaux.

REFERENCES

- ALEXANDER M.P. 1969: Differential staining of aborted and non-aborted pollen. *Stain Techn.* 44 (3) 117-122.
- BROWN A.H.D. & R.W. ALLARD. 1970: Estimation of the mating system in open-pollinated maize using isozyme polymorphisms. *Genetics*, 66: 133-145.
- CAHALAN C.M. & C. GLIDDON. 1985: Neighbourhood sizes in Primula vulgaris. *Heredity* 54: 65-70.
- CHARLESWORTH D. & B. CHARLESWORTH. 1987: The effect of investment in attractive structures on allocation to male and female functions in plants. *Evolution*, 41: 948-968.
- 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.
- 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.
- COUVET D. GOUYON P.H. KJELLBERG F. OLIVIERI I. PONENTE D. & G. VALDEYRON. 1985: De la métapopulation au voisinage: la génétique des populations en déséquilibre. *Gen. Sel. Evol.*, 17: 407-414.
- CRAWFORD T.J. 1984: The estimation of neighbourhood parameters for plant populations. *Heredity*, 52 (2): 273-283.
- 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.
- 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 <different mating systems> on the composition of Mendelian populations and on natural selection. *Proc. Camb. Phil. Soc. Biol. Sci.*: 158-163.
- 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 1988: Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in 2 species of Lathyrus (Leguminosae: Papilionoidae). Amer. J. Bot., 75: 1714-1731.
- 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.
- 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.
- MAYNARD SMITH J. 1978: The Evolution of Sex. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K..
- OLIVIERI I. 1987: Sélection et optimisation: au carrefour de la Génétique, de la Démographie et de l'Ecologie. Thèse de Doctorat d'Etat, USTL, Montpellier.
- 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.
- SCHALL B. 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.
- SLATKIN M. & M.J. WADE 1978: Group selection on a quantitative character. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75: 3531-3534.
- SOKAL R.R. & N.L. ODEN. 1978: Spatial autocorrelation in Biology. I. Methodology. Biol. J. Linn. Soc., 10: 199-228.
- 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. Joh
- UYENOYAMA M.K. 1986: Inbreeding and the cost of meiosis: The evolution of selfing in populations practicing biparental inbreeding. Evolution, 40: 388-404.

- HOSSAERT M. & M. VALERO 1988: Effect of ovule position in the pod on patterns of seed formation in 2 species of Lathyrus (Leguminosae: Papilionoidae). Amer. J. Bot., 75: 1714-1731.
- 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.
- 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.
- MAYNARD SMITH J. 1978: The Evolution of Sex. Cambridge Univ. Press, Cambridge, U.K..
- OLIVIERI I. 1987: Sélection et optimisation: au carrefour de la Génétique, de la Démographie et de l'Ecologie. Thèse de Doctorat d'Etat, USTL, Montpellier.
- PECHAN P.M. and B.D. WEBSTER. 1985: Determination of pollen number of beans using an electrical particle counting device. Hortscience, 20 (3) 444-445.
- 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.
- SCHALL B. 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.
- SHAW D.V. & R.W. ALLARD. 1981: A multilocus estimator of mating system parameters in plant populations. proc. Nat. Acas. Sci. (USA), 78: 1298-1302.
- SLATKIN M. & M.J. WADE 1978: Group selection on a quantitative character. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75: 3531-3534.

- SOKAL R.R. & N.L. ODEN. 1978: Spatial autocorrelation in Biology. I. Methodology. Biol. J. Linn. Soc., 10: 199-228.
- 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. Joh
- UYENOYAMA M.K. 1986: Inbreeding and the cost of meiosis: The evolution of selfing in populations practicing biparental inbreeding. Evolution, 40: 388-404.
- WALLER D.M. 1984: Differences in fitness between seedlings derived from cleistogamous and chasmogamous flowers in Impatiens capensis. Evolution, 38: 427-440.
- 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? G.W. Barlow and J. Silverberg
- WRIGHT S. 1946: Isolation by distance under diverse systems of mating. Genetics, 31: 39-59.
- WRIGHT S. 1951: The genetical structure of populations. Ann. Eugenics, 15: 323-354.
- WRIGHT S. 1965: The interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating. Evolution, 19: 395-420.

CONCLUSION GENERALE.

Ce travail a permis d'apporter une certaine contribution au problème posé par le maintien de l'allogamie dans les populations naturelles.

Cette question a tout d'abord été abordée au niveau inter-spécifique. Les deux espèces entomophiles, bien que essentiellement allogames, diffèrent par leur système de reproduction. L. sylvestris montre une plus forte aptitude à l'autofécondation que L. latifolius. La différence dans le régime de la reproduction entraîne une structuration génétique différente dans les populations naturelles: L. sylvestris montre une différenciation inter-populations plus marquée et une consanguinité intra-population plus forte. Cette différence dans le régime de la reproduction est corrélée avec une différence dans l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle. L'espèce la plus allogame (L. latifolius) investit plus dans la fonction mâle que l'espèce la moins allogame (L. sylvestris).

L'étude approfondie du système de reproduction a ensuite été effectuée sur deux populations de L. latifolius. Trois types de plantes sont observées dans ces populations: des allogames, des autogames et des individus à régime mixte. Un polymorphisme pour le régime de la reproduction est donc mis en évidence. Les résultats semblent montrer que ce polymorphisme ne correspond pas à une situation d'équilibre. Pourtant, cette variabilité du système de la reproduction ne semble pas être un phénomène rare puisqu'elle se maintient d'une année à l'autre et que d'autre part, elle se retrouve dans les deux populations étudiées.

Le maintien du polymorphisme pourrait donc s'expliquer par des situations de déséquilibres perpétuels dans les populations. L'équilibre devrait donc être perçu à une échelle supérieure: la métapopulation.

Enfin, contrairement à l'étude inter-spécifique, les corrélations entre l'allocation différentielle dans les fonctions mâle et femelle et le système de la reproduction ne se retrouvent pas dans l'étude intra-population. Nous avons attribué cette absence de corrélation à l'intervention de forts effets environnementaux.

ANNEXE 1

PRODUITS ET
SOLUTIONS
UTILISES POUR
L'ELECTROPHORESE

1. Préparation de la solution d'extraction
2. Préparation de solutions tampons de gel et d'électrodes
3. Conditions de migration
4. Révélation de l'activité enzymatique
5. Composition des solutions de fixation



Annexe 1

1. Préparation de la solution d'extraction

Tampon d'extraction Tris HCl pH 7.6
(se conserve au froid: +4°C)

- Tris 6g
- H₂O bidistillée qsp 500 ml
- ajuster le pH à 7.6 avec HCl

Avant l'extraction rajouter:

- 100 g de polyéthylène glycol
- 100 g de thioglycolate dans 100 ml de tampon tris HCl pH 7.6

L'extraction se fait au froid (0-4°C). Le matériel végétal est pilé dans un mortier dans le tampon d'extraction et en présence d'une faible quantité de sable de Fontainebleau et de Polyvinyl-poly pyrrolidone.

Annexe 1

2. Préparation des solutions tampons de gel et d'électrodes

Tampons	Composition des solutions	Quantité pour 1 gel
Solution pour les gels	A: Tris 28,6 g	42,8 ml
	Temed 0,31 ml	
	HCl concentré 20 ml	
	H ₂ O bidistillée qsp 500 ml	
	pH= 8.9	
Solution pour les électrodes	C: Acrylamide 400 g	8,2 ml
	Bis-acrylamide 11,43 g	
	H ₂ O bidistillée qsp 1 l	
	PS: Persulfate NH ₄ 3,126 g	1 ml
	H ₂ O bidistillée qsp 100 ml	
Solution pour les électrodes	B: Tris 30 g	100 ml de solution B.
	Glycine 144 g	
	H ₂ O bidistillée qsp 1 l	
	pH= 8.7	

3. Conditions de migration

2 heures et demi - courant continu - 250 V - 50 m A

Annexe 1

4. Révélation de l'activité enzymatique

Système enzymatique	Composition des solutions tampon		Solution substrat	Solution coloration	Incubation
Estérase (EST)	Tris 19,40 g H ₂ O bidistillée 2 l pH= 7 [HCl]		α--naphtyl acétate 200 mg β--naphtyl acétate 100 mg à dissoudre dans 70 ml de tampon EST + Acétone 30 ml	Fast blue RR 200 mg Tampon EST 100 ml	(1)
Leucine-amino-peptidases (LAP)	Tampon de révélation	Tris 2,42 g	L.leucine naphtyl amide HCl 75 mg	Fast black K 100 mg	(2)
		Acide malique 2,688 g	Tampon de révélation LAP 50 ml	Tampon de révélation LAP 100 ml	
	Tampon d'incubation	H ₂ O bidistillée 1 l pH= 5.2			
		Acide borique 32 g Mg Cl ₂ 1,2 g H ₂ O bidistillée 1 l			
Glutamate-oxaloacétate transaminase (GOT)	Tris 24,2 g H ₂ O bidistillée 1 l pH= 8 [HCl]		Acid α-cetoglutarique 200 mg Acide aspartique 400 mg pyridoxal 5'-phosphate 1 gte Tampon GOT 50 ml	Fast blue BB 200 mg Tampon GOT 100 ml	(3)
Phosphatases acides (AcPH)	Acide acétique 10 ml Acétate Na 2.88 g H ₂ O bidistillée 2 l pH= 4		α-naphtyl acide phosphate 100 mg 10 gouttes MgCl ₂ 10% Tampon AcPH 50 ml	Fast Garnet 100 mg GCB Tampon AcPH 50 ml	(4)

Les colorants de tous les systèmes enzymatiques sont mélangés à la dernière minute.

- (1): Laisser le gel dans la solution substrat 5mm à l'étuve (38°C) et mettre la solution coloration: révélation immédiate, fixer dans fixateur.
- (2): Laisser le gel incubé dans la solution d'incubation pendant 3mm. Remplacer par la solution substrat, mettre à l'étuve pendant 5mm (38°C), ajouter la solution coloration, révélation immédiate, fixer dans fixateur.
- (3): Laisser le gel dans la solution substrat pendant 10mm à l'étuve (38°C), remplacer par la solution coloration, mettre 5mm à l'étuve, coloration assez rapide, fixer dans fixateur.
- (4): Mélanger la solution substrat et la solution coloration, laisser le gel dans ces solutions à l'étuve (38°C). Révélation lente, fixer dans fixateurs.

Annexe 1

5. Composition des solutions de fixation

- . Pour EST)
LAP) 1 volume d'alcool - 1 volume d'H₂O
AcPH)

- . Pour GOT 1 volume d'acide acétique - 4 volumes H₂O

ANNEXE 2

DIFFERENTES MATRICES DE DISTANCES

1. Distances de Nei (1972 et 1978)



Annexe 2 : Matrice de distance de Nei, (a): méthode de Nei (1972),
(b): méthode de Nei (1978)

(a)

Populations	L1	L2	L3	L4	S1	S2	S3	S4	S5	S6
L1	-									
L2	0.2451	-								
L3	0.0283	0.2826	-							
L4	0.2291	0.4387	0.1062	-						
S1	0.6924	1.1741	0.7681	0.9995	-					
S2	0.9034	1.6640	0.7788	0.6998	0.4295	-				
S3	0.9820	1.7460	0.9893	1.0981	0.1117	0.1319	-			
S4	1.0151	1.0525	0.9119	0.7791	0.8074	0.2920	0.5251	-		
S5	0.3302	0.5632	0.3888	0.5206	0.4096	0.2632	0.3409	0.4766	-	
S6	0.9617	1.7203	0.8267	0.6927	0.4159	0.0024	0.1219	0.3232	0.2654	-

(b)

Populations	L1	L2	L3	L4	S1	S2	S3	S4	S5	S6
L1	-									
L2	0.2432	-								
L3	0.0260	0.2801	-							
L4	0.2236	0.4330	0.1002	-						
S1	0.6911	1.1726	0.7662	0.9944	-					
S2	0.9021	1.6625	0.7769	0.6547	0.4286	-				
S3	0.9795	1.7432	0.9862	1.0917	0.1095	0.1297	-			
S4	1.0122	1.0493	0.9083	0.7724	0.8049	0.2895	0.5213	-		
S5	0.3288	0.5615	0.3868	0.5054	0.4086	0.2621	0.3385	0.4739	-	
S6	0.9603	1.7086	0.8247	0.6865	0.4148	0.0014	0.1196	0.3205	0.2642	-

ANNEXE 3

HETEROZYGOTES OBSERVES (H_o)
et
HETEROZYGOTES ATTENDUS (H_e)
CHEZ LES DEUX ESPECES



Annexe 3: Hétérozygotes observés (Ho) et attendus (He) aux cinq loci polymorphes pour L. sylvestris et aux quatre loci polymorphes pour L. latifolius

Loci	GOT1				GOT2				EST1				LAP1				AcPH1				
	N	Ho	He	χ^2	N	Ho	He	χ^2													
Populations L.L.	L1	106	0	-	nt	106	7	6.77	ns	98	40	36.06	ns	107	30	44.86	***	91	32	32.72	ns
	L2	89	0	-	nt	92	33	36.86	ns	89	15	15.38	ns	86	21	21.37	ns	62	15	25.96	***
	L3	59	2	1.98	nt	59	2	1.97	nt	60	6	10.80	***	57	18	18.95	ns	53	23	32.30	**
	L4	29	0	1.93	nt	18	10	8.31	ns	34	11	12.49	ns	30	5	7.88	*	10	0	1.80	nt
Populations L.S.	S1	170	50	79.81	***	176	0	-	nt	157	8	13.38	***	100	23	34.88	***	107	7	6.80	ns
	S2	103	0	-	nt	103	0	-	nt	76	14	12.71	ns	103	29	51.33	***	103	11	10.50	ns
	S3	43	12	10.33	ns	41	2	1.95	ns	43	0	-	nt	43	12	11.87	ns	39	27	20.72	*
	S4	20	0	-	nt	21	0	-	nt	20	4	7.50	*	8	1	0.94	nt	20	1	0.97	nt
	S5	25	6	10.88	*	25	0	-	nt	25	0	-	nt	25	9	16.46	**	25	5	4.50	ns
	S6	47	0	-	nt	47	0	-	nt	47	0	-	nt	46	15	22.47	*	46	0	-	nt

Populations L.L. : Populations de L. latifolius (L2, L2, L3, L4, voir chapitre 1)

Populations L.S. : Populations de L. sylvestris (S2, S2, S3, S4, S5, S6, voir chapitre 1)

- Ho: hétérozygotes observés
- He: hétérozygotes attendus
- N : nombre d'individus étudiés
- ns: χ^2 non significatif
- * : χ^2 significatif pour P<0.05
- ** : χ^2 significatif pour P<0.01
- ***: χ^2 significatif pour P<0.001
- nt : χ^2 non testable

ANNEXE 4

Article: VALERO M., A. YOUSSEF, Ph. VERNET & M. HOSSAERT. 1986:

Is there a polymorphism in the breeding system of Lathyrus latifolius ?

In "Lathyrus and Lathyrism", A.K. Kaul & D. Combes (eds.); 105-117.



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 Biocénologie 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 autopollination with pollen from the same flower (autogamy)

(x) : autogamy possible

.

.

(.) : 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	1983												1984				MEANS	
	A1	B2	B3	C29	D8	D23	D24	D38	E2	F12	B9	C1	D1	F3	\bar{x} , n	\bar{x} , N		
PLANTS	94	176	88	44	111	90	156	35	216	108	10	7	12	10	1177	14		
Control (cross n°1)	\bar{x} : 0.36 s: ± 0.15	0.95 ± 0.15	0.85 ± 0.20	1.75 ± 0.53	3.38 ± 0.39	0.78 ± 0.19	0.63 ± 0.38	1.17 ± 0.44	1.79 ± 0.23	2.40 ± 0.30	0.30 ± 0.20	0	1.42 ± 0.65	1.70 ± 0.87	1.32 ^a ± 0.06	1.25 ^a ± 0.23		
"Disturbance" (cross n°2)	\bar{x} : 0.10 s: ± 0.09	1.32 ± 0.45	1.11 ± 0.69	3.11 ± 0.94	4.91 ± 1.23	0.14 ± 0.14	0.28 ± 0.19	1.53 ± 0.82	2.26 ± 0.81	2.11 ± 0.87	0.20 ± 0.18	0.88 ± 0.59	0.75 ± 0.58	1.39 ± 0.61	1.26 ^a ± 0.18	1.44 ^a ± 0.34		
"Disturbance" and Pollination (cross n°4)	\bar{x} : 1.1 s: 0	9 ± 0.63	8 ± 0.69	7 ± 1.02	9 ± 1.5	17 ± 0.17	19 ± 0.39	26 ± 0.71	13 ± 0.95	12 ± 0.97	6 ± 0.23	10 ± 0.51	8 ± 0.98	6 ± 1.10	163 ± 0.22	14 ± 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

$$\bar{X} : \frac{\sum_{i=1}^N \bar{x}_i}{N}$$

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}_T n	\bar{x}_N N	
Control (cross n°1)	ni 94 \bar{x}_i 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)	ni 11 \bar{x}_i 0 s	10 0 ±0.63	9 0 ±0.69	9 1.33 ±1.02	8 0 ±1.50	26 0.42 ±0.17	14 0 ±0.39	19 0 ±	19 0 ±0.71	10 0 ±0.95	9 0 ±0.23	13 2.17 ±0.51	10 1.20 ±1.10	167 0.38 ^b ±0.09	13 0.39 ^b ±0.19	
"Disturbed" and pollinated (cross n°4)	ni 11 \bar{x}_i 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 ±	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)	ni 6 \bar{x}_i 2.67 s ±2.43	16 0 ±2.43	7 0 ±1.49	5 2.60 ±1.49	7 0 ±1.49	11 0 ±0.21	25 0.39 ±0.21	15 0 ±	13 0 ±	6 3.33 ±1.39	5 0.20 ±0.18	4 0 ±1.00	8 1.63 ±1.00	126 0.57 ^b ±0.19	13 0.83 ^b ±0.33	

-177-

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}	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}	0.44	0	0	0.50	0	0	0.90	0	0	1.00	5.75	3.00	0.80 ^{ab}	0.97 ^{ab}	
	s	±0.42			±0.48			±0.61			±0.64	±1.22	±1.41	±0.21	±0.48	
Paper Bag Castrated (cross n°9)	ni	17	19	10	8	15	5	19	16	9	10	5	7	140	12	
	\bar{x}	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}	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,	74	7
													Organdy Bag Castrated	\bar{x} ,	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	1963														1964					
	A1	B2	B3	C29	D8	D23	D24	D26	D38	F2	F5	F12	A3	B2	B9	C1	C33	D1	F3	
Control (cross n°1)	\bar{n}	94	176	68	44	111	156	73	35	116	58	108	—	18	10	7	7	12	10	
	\bar{x}	0.36	0.95	0.85	1.75	3.38	0.63	0.05	1.17	1.79	0.81	2.40	—	0.33	0.30	0	0	1.42	1.70	
	s	±0.15	±0.15	±0.20	±0.53	±0.39	±0.19	±0.38	±0.05	±0.44	±0.23	±0.29	±0.30	±0.32	±0.20	—	—	±0.65	±0.87	
Allogamy not castrated = Allogamy + Autogamy (crosses n°6 and 8)	\bar{n}	29	22	17	22	22	18	17	14	7	10	—	—	—	21	14	—	16	—	
	\bar{x}	0.59	0	0	0.59	0.77	0	1.00	0	1.64	0.43	—	—	—	0.67	1.50	—	4.75	—	
	s	±0.34	—	—	±0.33	±0.43	±0.46	±0.84	±0.28	—	—	—	—	±0.38	±0.55	—	±1.08	—		
Allogamy (castrated) (crosses n°7 and 9)	\bar{n}	17	19	10	8	15	5	19	16	16	7	10	44	16	41	14	10	12	25	
	\bar{x}	0	0.21	0	0.25	0	0	0	0	0.71	0	1.43	0.38	0.39	2.07	0.24	0.75	0	2.68	
	s	±0.20	±0.23	±0.23	±0.21	±0.66	±0.42	—	—	—	—	—	±0.36	±0.22	±0.79	±0.18	±0.52	—	±0.69	
Geitonogamy (not castrated) = geitonogamy + autogamy (crosses n°12 and 15)	\bar{n}	9	9	5	9	16	9	8	17	9	10	—	—	—	21	11	—	18	—	
	\bar{x}	0	0	0	0.22	0	0	0	0	0	—	—	—	—	0.10	0	—	3.67	—	
	s	—	—	—	±0.21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±0.09	—	—	±0.79	—	
Autogamy (crosses n°10, 11 and 14)	\bar{n}	18	49	23	47	69	31	42	51	41	20	55	—	19	18	18	11	26	11	
	\bar{x}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	0	0	0	0	1.08	0	
	s	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±0.55	—	
Geitonogamy (castrated) (crosses n°13 and 16)	\bar{n}	14	16	6	36	30	29	40	35	38	24	—	—	5	15	16	16	16	13	
	\bar{x}	0	0	0	0.11	0	0	0.10	0	0	0	—	—	1.20	0.07	0	0	0.50	1.08	
	s	—	—	—	±0.11	—	±0.10	—	—	—	—	—	—	±0.86	±0.08	—	±0.46	±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
(cross n°1)	2.34 ±0.28	2.05 ±0.25	1.42 ^a ±0.65	1.13 ^a ±0.09	0.88 ^{ac} ±0.22
Allo + Autogamy	—	—	16	233	13
(cross n°6 and 8)	—	—	4.75 ^d ±1.08	0.54 ^{bc} ±0.11	0.55 ^{bc} ±0.15
Allogamy	69	2	12	235	16
(cross n°7 and 9)	1.88 ±0.37	2.06 ±0.44	0	0.31 ^{bf} ±0.08	0.31 ^{bf} ±0.13
Auto + Geitonogamy	—	—	18	133	12
(cross n°12 and 15)	—	—	3.67 ^d ±0.79	0.03 ^c ±0.02	0.03 ^c ±0.02
Autogamy	—	—	26	471	15
(cross n°10, 11 and 14)	—	—	1.08 ^{ac} ±0.55	0	0
Geitonogamy	—	—	13	326	15
(cross n°13 and 16)	—	—	1.08 ^{ac} ±0.60	0.06 ^c ±0.02	0.13 ^{cf} ±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 ovarian 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.



ANNEXE 5

Article: VALERO M., M. HOSSAERT, B. CARON, A. YOUSSEF & Ph. VERNET. 1987:
Allocation des ressources chez deux espèces de Légumineuses: Lathyrus
latifolius et Lathyrus sylvestris. Coll. Nat. CNRS "Biologie des Popula-
tions", J.M. Legay (ed.): 141-148.

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*.

		Témoïn	AUTOFECONDATION	
			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)
1 individu	Gousses /fleurs	0.47	0	0
5 individus	Gousses /fleurs	0.50 (±0.17)	0	0.21 (±0.11)
7 individus	Gousses /fleurs	0.48 (±0.19)	0.11 (±0.09)	0.28 (±0.21)

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.

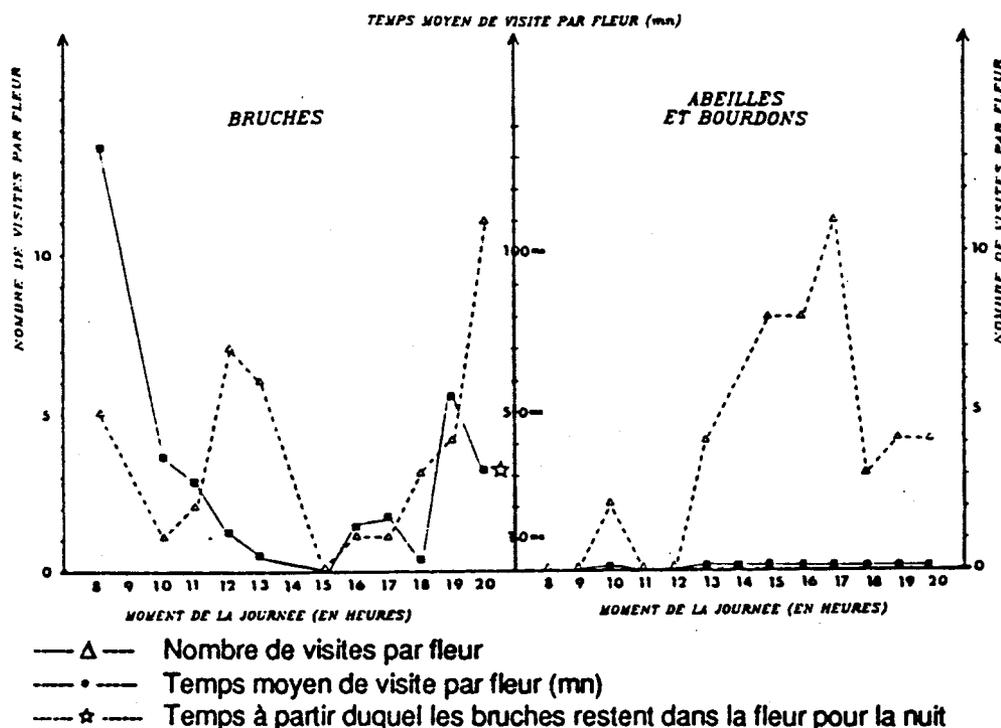


Figure 1: Nombre et temps de visite par fleur chez *L. latifolius*.

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.

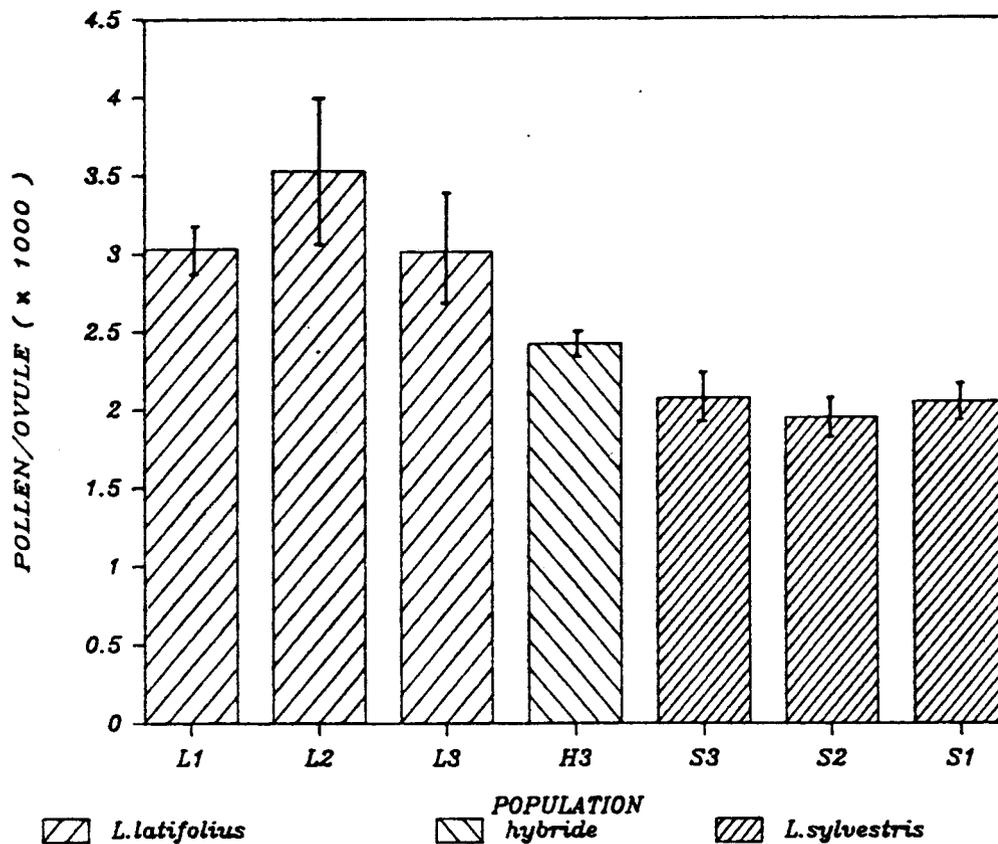
Il était donc particulièrement intéressant de mesurer l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle chez les individus des deux espèces. Ceci a été effectué par l'examen du pollen/ ovule ratio (Cruden, 1977) et par l'étude de la répartition des graines à l'intérieur des gousses (Bawa et Webb, 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.).



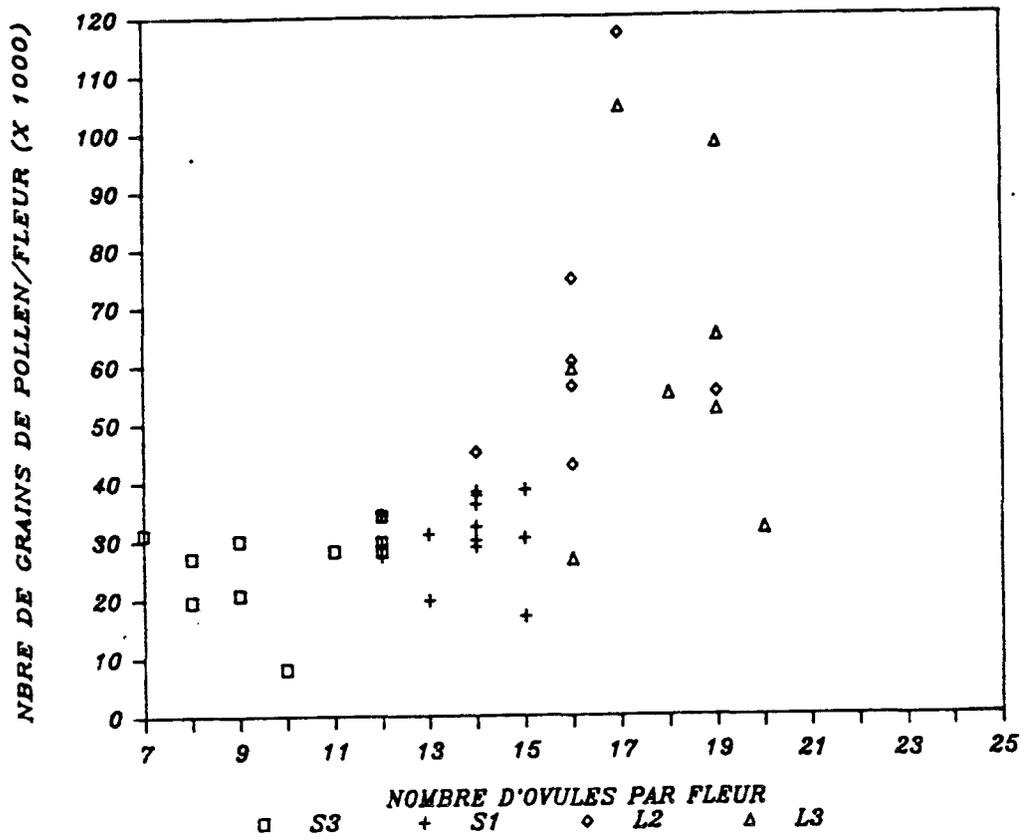
Populations de *L. latifolius*
 L1 (n = 15): AVION (Nord)
 L2 (n = 5): CADILLON (Béarn)
 L3 (n = 8): LESSINES (Belgique)

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.



Populations de *L. latifolius*
 L2 (n = 5): CADILLON (Béarn)
 L3 (n = 8): LESSINES (Belgique)

Populations de *L. sylvestris*
 S1 (n = 6): URDOS (Béarn)
 S3 (n = 10): LESSINES (Belgique)
 (n = taille de l'échantillon)

Figure 3: Allocation des ressources dans les fonctions mâle et femelle.

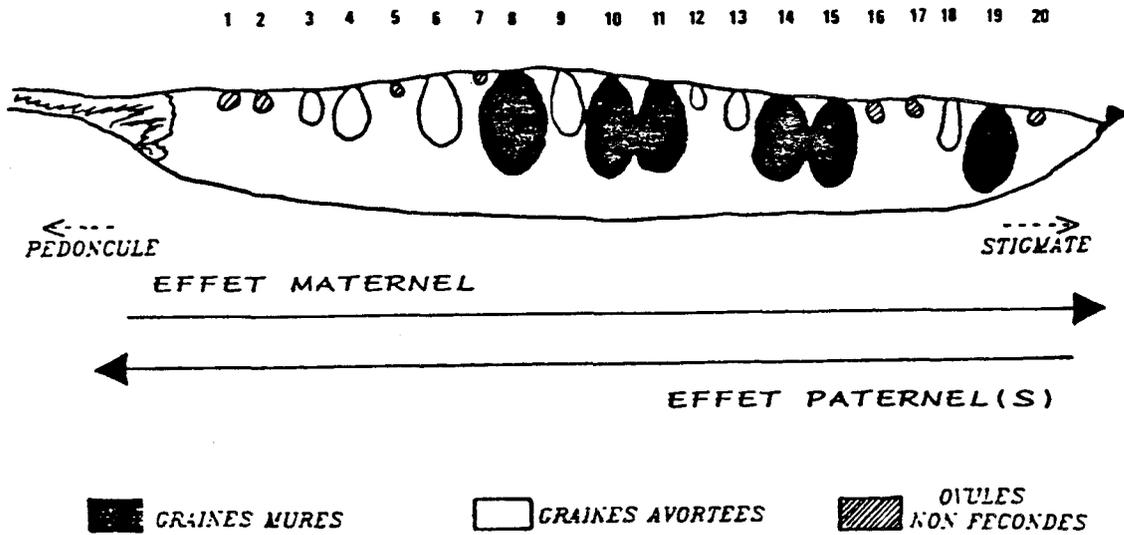


Figure 4: Modèle gousse - Position des ovules.

FIGURE 5a: LATHYRUS LATIFOLIUS (N = 627)

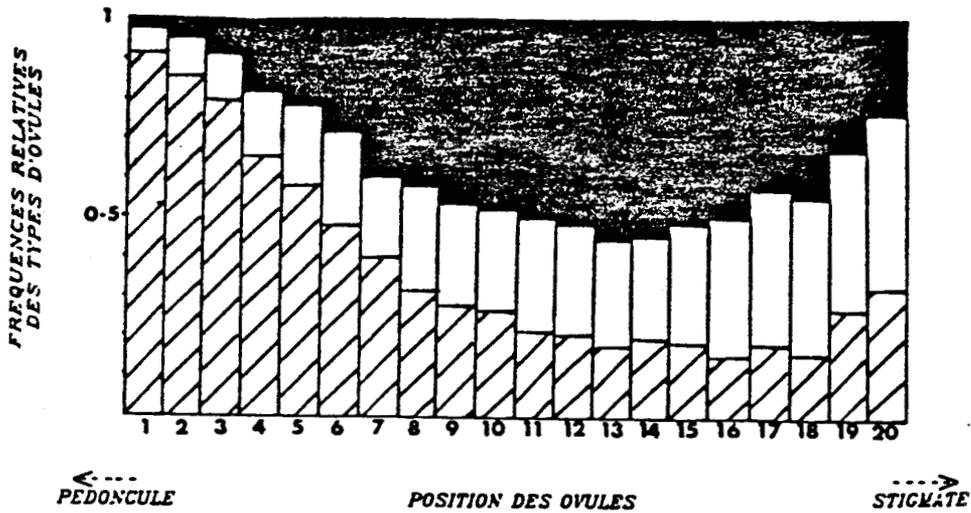
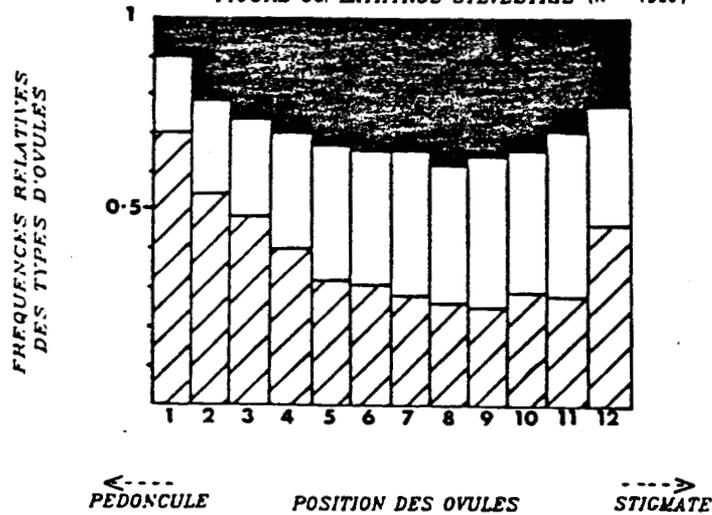


FIGURE 5b: LATHYRUS SYLVESTRIS (N = 1320)



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 gousses 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

(10)



ANNEXE 6

GENOTYPES DES INDIVIDUS DE LA GENERATION G0 (PLANTES MERES IN SITU)

- Annexe 6a: individus de la population
de Doué la Fontaine étudiée
en 1985
- Annexe 6b: individus de la population
de Doué la Fontaine étudiée
en 1986
- Annexe 6c: individus de la population
d'Avion étudiée en 1987

Annexe 6a: individus de la population de Doué la Fontaine étudiée en 1985

FICHER DES PLANTES MERES RECOLTEES EN 1985 DANS LA POPULATION
DE DOUE LA FONTAINE (L2).

FAM, FA OU F= NUMEROTATION DES DESCENDANCES MATERNELLES ETUDIEES EN 1986.

IND85= NUMEROTATION SUR LES CARTES DES INDIVIDUS ETUDIES EN 1985.

IND86= NUMEROTATION DES INDIVIDUS SUR LES CARTES ETUDIES EN 1986.

LES CHIFFRES ENTRE PARENTHESES SIGNALENT LES INDIVIDUS POUR
LESQUELS LA CORRESPONDANCE N'EST PAS SURE ENTRE LES DEUX ANNEES.

X ET Y= COORDONEES SUR LES CARTES (L2 1985).

LAP1= GENOTYPES AU LOCUS LAP1

EST1= GENOTYPES AU LOCUS EST1

GOT2= GENOTYPES AU LOCUS GOT2

ACP1= GENOTYPES AU LOCUS ACPH1

1= ALLELE 1

2= ALLELE 2

0= GENOTYPE INDETERMINE

FAM	IND85	X	Y	GOT2	EST1	LAP1	ACP1	IND86
FAM1	6	8	0	22	22	22	11	
	8	10	0	22	22	22	11	
F101	9	11	0	22	22	22	22	
	10	12	0	22	22	22	11	6
	11	13	0	22	22	22	11	
FAM2	12	14	0	22	22	22	12	
F102	13	15	0	22	22	22	11	
F103	14	16	0	12	22	22	12	
F104	15	17	0	22	22	22	11	
F105	16	18	0	22	22	22	11	
	17	19	0	22	22	12	00	11
	18	20	0	22	22	22	00	12
FAM3	19	21	0	22	22	22	22	
	20	22	0	22	22	22	22	
	21	23	0	12	22	12	12	
F106	22	24	0	22	22	22	22	
F107	23	25	0	12	12	12	11	
F111	25	27	0	12	12	12	12	
F108	26	28	0	12	22	22	22	
	27	29	0	12	22	12	22	
	28	29	1	12	00	00	11	
F110	29	30	0	22	22	22	12	
F112	30	31	0	12	12	12	11	
	31	32	0	12	00	00	00	(19)
FAM5	32	33	0	22	12	22	11	20
FAM6	33	34	0	11	22	11	11	
FAM9	34	35	0	11	22	22	11	
	35	36	0	11	00	12	11	
FAM7	36	37	0	11	22	12	11	
FAM8	37	38	0	11	22	12	11	
FA10	38	39	0	11	12	22	11	
FA11	39	40	0	22	22	22	12	
	40	41	0	22	22	12	00	

FAM	IND85	X	Y	GOT2	EST1	LAP1	ACP1	IND86
FA12	41	42	0	22	12	22	12	
FA13	42	43	0	22	22	22	11	
FA14	43	44	0	22	11	22	22	
	44	45	0	11	12	12	00	
FA15	45	46	0	12	12	22	22	27
	46	47	0	12	12	12	00	
FA16	47	48	0	12	22	22	12	
	48	49	0	22	22	22	11	
FA17	49	50	0	12	12	22	11	
F113	50	52	0	12	22	22	12	
F114	51	53	0	22	22	22	11	
FA18	52	55	0	22	22	22	12	
	53	56	0	22	22	00	00	
	54	57	0	12	22	22	00	
	56	59	0	22	12	22	00	
	57	61	0	22	00	12	00	
FA19	58	63	0	11	12	22	11	
	59	64	0	22	22	00	11	
F115	60	66	0	12	22	11	22	
	61	67	1	22	22	12	00	
FA22	62	68	0	12	22	12	11	
	63	69	0	22	22	22	00	
F116	64	70	0	12	22	12	11	
	65	72	0	12	22	22	11	
	66	73	0	22	12	12	11	36
	67	80	0	22	22	22	00	37
	68	56	24	22	22	22	00	
	69	57	24	12	22	12	00	
	70	58	24	11	22	22	00	
	71	59	24	12	00	22	00	
	72	60	24	12	22	22	00	
	73	61	24	12	22	22	11	
F117	74	62	24	22	22	22	11	
	75	63	24	22	22	22	22	
	76	64	24	22	22	22	22	
	77	65	24	00	22	22	00	
F118	78	66	24	12	22	22	12	
	79	66	25	22	22	22	00	
	80	67	24	22	22	22	11	43
	81	68	24	22	22	22	00	
	82	69	24	22	12	00	00	
	83	71	24	22	22	22	11	
	84	73	24	12	22	00	00	
	85	75	24	00	22	22	00	
F119	86	78	24	12	22	22	11	
	87	80	24	22	12	22	00	40
	88	82	24	22	22	22	00	
	89	83	24	12	22	22	00	
	90	84	24	12	22	12	12	39
	91	85	24	22	22	22	00	
	92	86	24	12	22	00	12	
	93	87	24	22	22	22	11	38
	94	88	24	12	22	22	11	

FAM	IND85	X	Y	GOT2	EST1	LAP1	ACP1	IND86
	95	89	24	12	22	22	11	
	96	75	4	22	22	22	00	
FA20	97	72	4	22	22	12	11	
	98	71	4	22	22	22	00	
FA21	99	69	4	22	22	22	22	
	100	66	4	22	22	12	12	
	101	67	4	12	22	00	00	
	102	68	4	12	22	22	00	

Annexe 6b: individus de la population de Doué la Fontaine étudiée en 1986.

FICHER DES PLANTES MERES RECOLTEES EN 1986 DANS LA POPULATION DE DOUE LA FONTAINE (L2).

FAM= NUMEROTATION DES DESCENDANCES MATERNELLES ETUDIEES EN 1986.
 IND= NUMEROTATION SUR LES CARTES DES INDIVIDUS ETUDIES EN 1986.
 IND85= NUMEROTATION DES INDIVIDUS SUR LES CARTES ETUDIES EN 1985.
 LES CHIFFRES ENTRE PARENTHESES SIGNALENT LES INDIVIDUS POUR LESQUELS LA CORRESPONDANCE N'EST PAS SURE ENTRE LES DEUX ANNEES.
 X ET Y= COORDONEES SUR LES CARTES (L2 1986).

LAP1= GENOTYPES AU LOCUS LAP1
 EST1= GENOTYPES AU LOCUS EST1
 GOT2= GENOTYPES AU LOCUS GOT2
 AC1= GENOTYPES AU LOCUS ACPH1
 1= ALLELE 1
 2= ALLELE 2
 0= GENOTYPE INDETERMINE

FAM	IND	X	Y	LAP1	EST1	GOT2	AC1	IND85
FAM18	1	0	-2	22	22	22	11	(1)
FAM28	2	5	0	11	22	22	22	
	3	6	0	22	22	22	11	
FAM9	4	8	1	22	22	22	11	
	5	10	0	22	22	22	11	(7)
	6	11	0	22	22	22	11	(10)
	7	13	0	12	22	22	00	
	8	14	0	22	22	22	11	
FAM19	9	14.5	1	22	22	22	11	
	10	15	1	22	22	22	00	
	11	17.5	0	12	22	22	00	17
FAM7	12	19	0	22	22	22	00	18
	13	20	0	12	22	00	00	
	14	21	0	12	22	12	11	
	15	21.5	1	12	22	12	11	
	16	22	0	22	22	22	12	
	17	22.5	1	11	22	11	00	
	18	23	0	22	22	22	11	
	19	25	1	12	22	12	12	(31)
	20	25.5	0	22	12	22	11	32
	21	27	1	11	22	22	00	
	22	29	0	12	22	11	11	
FAM10	23	31	0	22	22	22	00	
FAM3	24	33	0	22	12	22	11	
	25	35	0	22	22	22	22	
FAM11	26	37	0	12	12	11	12	
FAM20	27	39	1	22	12	12	22	45
FAM2	28	40	0	22	12	22	12	
	29	41.5	0	22	12	12	22	
	30	43	0	22	22	12	11	
	31	45	0	12	22	22	11	
FAM13	32	47	0	22	22	22	00	
	33	49.5	0	22	22	12	22	
	34	52	0	22	22	22	11	
FAM14	35	56	0	22	22	22	11	
	36	65	0	12	12	22	11	66

FAM	IND	X	Y	LAP1	EST1	GOT2	AC1	IND85
FAM1	37	73	0	22	22	22	00	67
	38	80	24	22	22	22	11	93
FAM16	39	75	24	12	22	12	12	90
	40	73	24	22	12	22	00	87
FAM15	41	60	24	22	22	22	12	
	42	66	24	22	12	11	11	
	43	60	24	22	22	22	11	80
FAM17	44	55	24	22	22	22	22	
	45	50	24	22	22	12	00	
	46	59	20	22	22	22	22	

Annexe 6c: Individus de la population d'Avion étudiée en 1987

FICHER DES PLANTES MERES RECOLTEES EN 1987 DANS LA POPULATION AVION (L3).

FAM OU FA: NUMEROTATION DES DESCENDANCES MATERNELLES ETUDIEES EN 1987.

IND= NUMEROTATION DES INDIVIDU SUR LES CARTES.

X ET Y= COORDONEES SUR LES CARTES.

GT1= GENOTYPES AU LOCUS GOT1.

GT2= GENOTYPES AU LOCUS GOT2.

ES1= GENOTYPES AU LOCUS EST1.

LAP= GENOTYPES AU LOCUS LAP1.

AC1= GENOTYPES AU LOCUS ACPH1.

1= ALLELE 1

2= ALLELE 2

3= ALLELE 3

4= ALLELE 4

5= ALLELE 5

0= GENOTYPE INDETERMINE

FAM	IND	X	Y	GT1	GT2	ES1	LAP	AC1
	1	18.5	69	11	11	11	12	23
	2	19.5	70.5	11	11	22	12	23
	3	17	68.5	11	11	12	11	23
FAM1	4	21	73	11	11	22	11	00
FA13	5	22	73	11	11	22	12	13
FAM2	6	23	74	11	11	22	12	13
FA14	7	11	67	11	11	22	22	23
	8	31	78	11	11	22	12	23
	9	0	18	11	11	22	22	22
	10	1	17	11	11	22	22	12
	11	2	17	11	11	22	11	12
	12	2	19.5	11	11	22	11	00
	13	24	16	11	11	22	12	00
	14	35	16	11	11	22	12	00
	15	34	16	11	11	22	11	00
	16	37	16	11	11	22	12	11
FA15	17	38	16	11	11	22	11	11
	18	40	16	11	11	22	11	25
	19	41	15.5	11	11	12	12	25
	20	42	14.5	11	11	12	11	00
	21	44	15	11	12	22	11	11
	22	46	15	11	11	22	12	12
	23	48	15	11	11	22	11	22
	24	48	16	11	11	22	11	11
	25	50	16	11	12	22	11	11
FA18	26	51	16.5	11	11	22	11	13
	27	52	17	11	11	22	11	11
FA19	28	53	16	11	11	12	12	12
	29	54	16	11	11	22	11	11
	30	55	16	11	11	22	11	11
	31	56	16	11	11	22	11	11
	32	57	16	11	11	22	12	00
	33	58	16	11	11	22	12	11
FAM5	34	58	17	11	11	22	11	22
	35	52	21	11	11	22	11	22
	36	49	21	11	11	12	11	22
	37	48	21	11	11	22	11	22
FA20	38	47	22	11	11	12	11	11
FAM8	39	46	21	11	11	22	11	22
	40	44	20	11	11	22	11	12

FAM	IND	X	Y	GT1	GT2	ES1	LAP	AC1
	41	42	20	11	11	22	12	11
FAM4	42	41	19	11	11	22	12	12
	43	40	21	11	11	22	11	12
	44	39	21	11	00	22	11	12
	45	37	20	11	11	00	00	22
FAM7	46	36	20.5	11	11	22	12	00
FA10	47	32	0	13	11	22	12	12
	48	36	1	11	11	11	00	12
	49	38	1	11	11	11	00	44
	50	60	11	11	11	22	00	22
FAM9	51	61	10	11	11	22	11	11
FA11	52	61	13	11	11	22	11	44
FA21	53	62	13	11	11	22	11	22
	54	63	11.5	11	11	22	11	12
	55	64	2	11	11	22	11	11
	56	62	2	11	11	22	11	12
	50BIS	59	12	11	11	22	11	11
FAM3	49BIS	39	0	11	11	22	11	11
	22BIS	47	15	11	00	22	12	11
FAM6	49TER	39	1.5	11	11	22	11	11
FA12	47BIS	31	0	13	11	22	11	12

ANNEXE 7

HETEROZYGOTES
ATTENDUS ET OBSERVES:
CHEZ LES INDIVIDUS DE
LA GENERATION G0

- Annexe 8a: dans la population de Doué
la Fontaine étudiée en 1985
- Annexe 8b: dans la population de Doué
la Fontaine étudiée en 1986
- Annexe 8c: dans la population d'Avion
étudiée en 1987



Annexe 8a: Hétérozygotes observés (Ho) et attendus (He) aux 4 loci polymorphes dans les différentes subdivisions de la population de Doué la Fontaine (L2), étudiée en 1985.

Subdivisions	LOCUS															
	GOT2				EST1				LAP1				AcPH1			
	N	Ho	He	2	N	Ho	He	2	N	Ho	He	2	N	Ho	He	2
1	12	1	0.96	NT	12	0	-	NT	12	1	0.96	NT	10	2	3.20	NT
2	22	8	10.91	0.21 ^{NS}	19	6	5.05	0.41 ^{NS}	20	9	7.97	0.57 ^{NS}	20	5	9.37	*
3	14	6	5.71	0.85 ^{NS}	14	5	5.25	0.86 ^{NS}	13	2	1.85	NT	9	3	4.28	NT
4	18	6	6.22	0.88 ^{NS}	17	2	1.88	NT	16	7	6.47	0.74 ^{NS}	10	1	3.75	NT
5	15	5	5.37	0.79 ^{NS}	15	1	0.97	NT	15	1	0.97	NT	7	1	3.21	NT
6	11	7	4.77	0.12 ^{NS}	12	1	0.96	NT	10	1	0.95	NT	6	2	1.67	NT

N= nombre d'individus étudiés dans chaque subdivision

Ho= hétérozygotes observés

He= hétérozygotes attendues

*= significatif pour P<0.05

NS= non significatif

NT= χ^2 non testable

- = allèle fixé à un ou deux loci

Annexe 8b: Hétérozygotes observés (Ho) et attendus (He) aux 4 loci polymorphes dans les différentes sous-populations de Doué la Fontaine (L2), étudiée en 1986.

Loci	GOT2		EST1		LAP1		ACPH1									
	N	Ho	He	N	Ho	He	N	Ho	He							
sous-populations 1	15	2	1.87	NT	16	0	-	NT	16	5	5.47	NS	11	1	2.59	NT
sous-populations 2	13	3	5.88	NS	13	6	4.62	NS	13	3	5.12	NT	10	3	4.95	NS
sous-populations 3	8	2	1.75	NT	8	1	0.94	NT	8	2	1.75	NT	6	0	1.67	NT
sous-populations 4	9	2	3.11	NT	9	2	1.78	NT	9	1	0.94	NT	7	2	3.43	NT

Ho: hétérozygotes observés
 He: hétérozygotes attendus
 N : nombre d'individus étudiés
 NS: χ^2 non significatif
 NT: χ^2 non testable
 - : allèle fixé à 1 ou 2 loci

Annexe 8c: Hétérozygotes observés (Ho) et attendus (He) aux 4 loci polymorphes dans les différentes sous-populations d'Avion (L3), étudiée en 1987.

Loci	GOT1				GOT2				EST1				LAP1				AcPH1			
	N	Ho	He	2	N	Ho	He	2	N	Ho	He	2	N	Ho	He	2	N	Ho	He	2
sous-populations 1		0	-	NT	0	-	NT		1	2.62	NT		5	5.96	NS		9	6.35	NT	
sous-populations 2		2	1.91	NT	1	0.98	NT		2	5.14	NT		8	6.32	NS		9	9.79	NS	
sous-populations 3		0	-	NT	1	0.98	NT		3	2.83	NS		5	4.52	NS		5	14.02	****	

Ho: hétérozygotes observés
 He: hétérozygotes attendus
 N : nombre d'individus étudiés
 NT: χ^2 non testable
 NS: χ^2 non significatif
 - : allèle fixé à 1 ou 2 loci
 ****: χ^2 significatif pour $P < 0.001$



ANNEXE 8

CARTOGRAPHIES DES INDIVIDUS DE LA GENERATION G0 (PLANTES MERES)

POUR LES DIFFERENTS LOCI ETUDIES

Figure 1: locus GOT2, population de Doué la Fontaine étudiée en 1985

Figure 2: locus EST1, population de Doué la Fontaine étudiée en 1985

Figure 3: locus LAP1, population de Doué la Fontaine étudiée en 1985

Figure 4: locus AcPH1, population de Doué la Fontaine étudiée en 1985

Figure 5: locus GOT2, population de Doué la Fontaine étudiée en 1986

Figure 6: locus EST1, population de Doué la Fontaine étudiée en 1986

Figure 7: locus LAP1, population de Doué la Fontaine étudiée en 1986

Figure 8: locus AcPH1, population de Doué la Fontaine étudiée en 1986

Figure 9: locus GOT1, population d'Avion étudiée en 1987

Figure 10: locus GOT2, population d'Avion étudiée en 1987

Figure 11: locus EST1, population d'Avion étudiée EN 1987

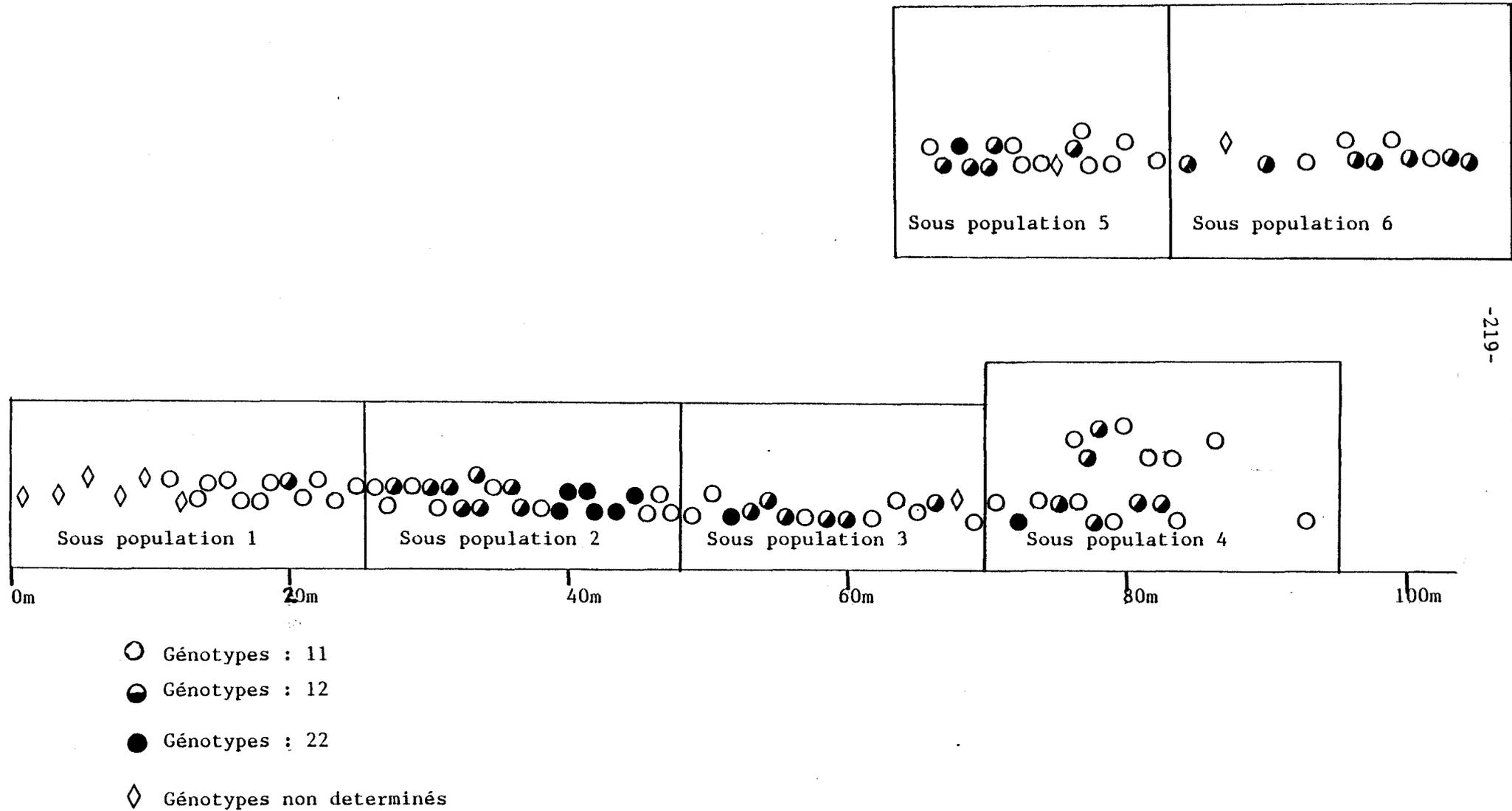
Figure 12: locus LAP1, population d'Avion étudiée en 1987

Figure 13: locus AcPH1, population d'Avion étudiée en 1987



Figure 1 : Distribution spatiale des génotypes au locus GOT2 dans la population

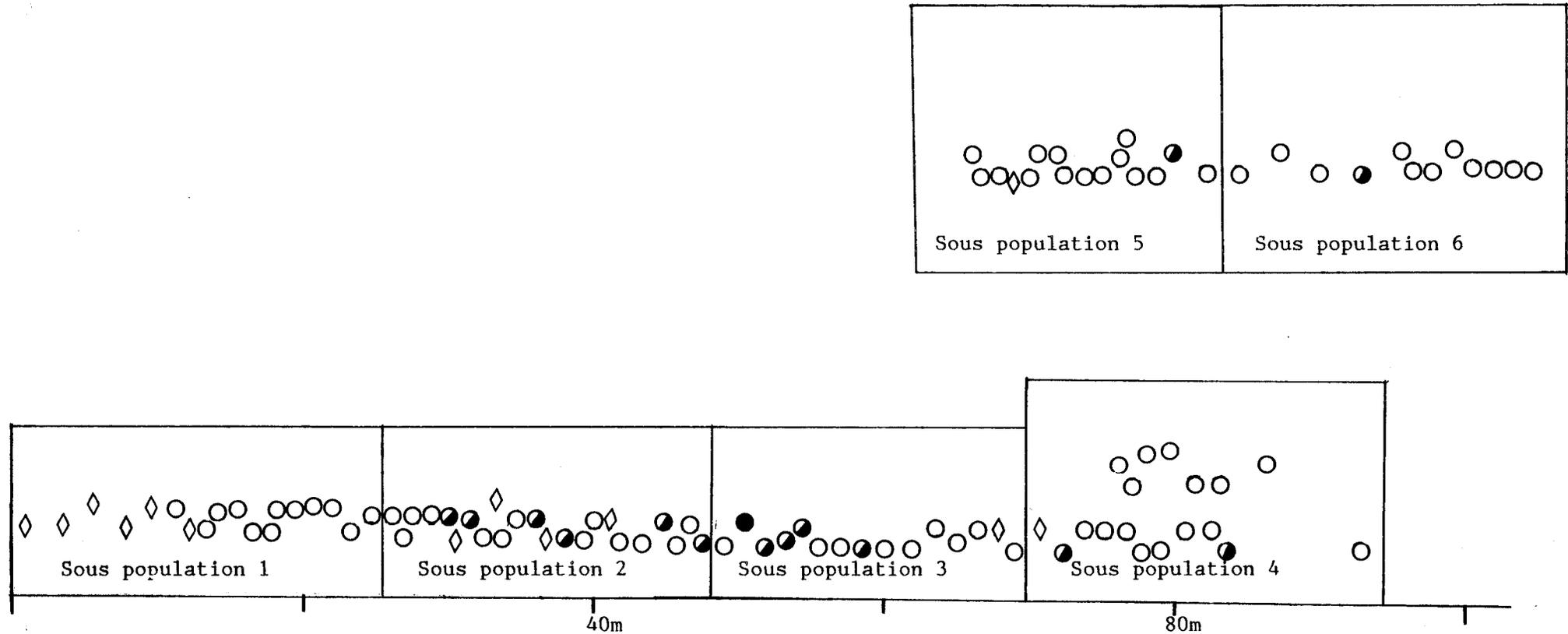
Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1985 .



Les frontières entre sous populations ont été mises tous les 20 mètres.

Figure 2: Distribution spatiale des géotypes au locus EST1 dans la population
Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1985 .

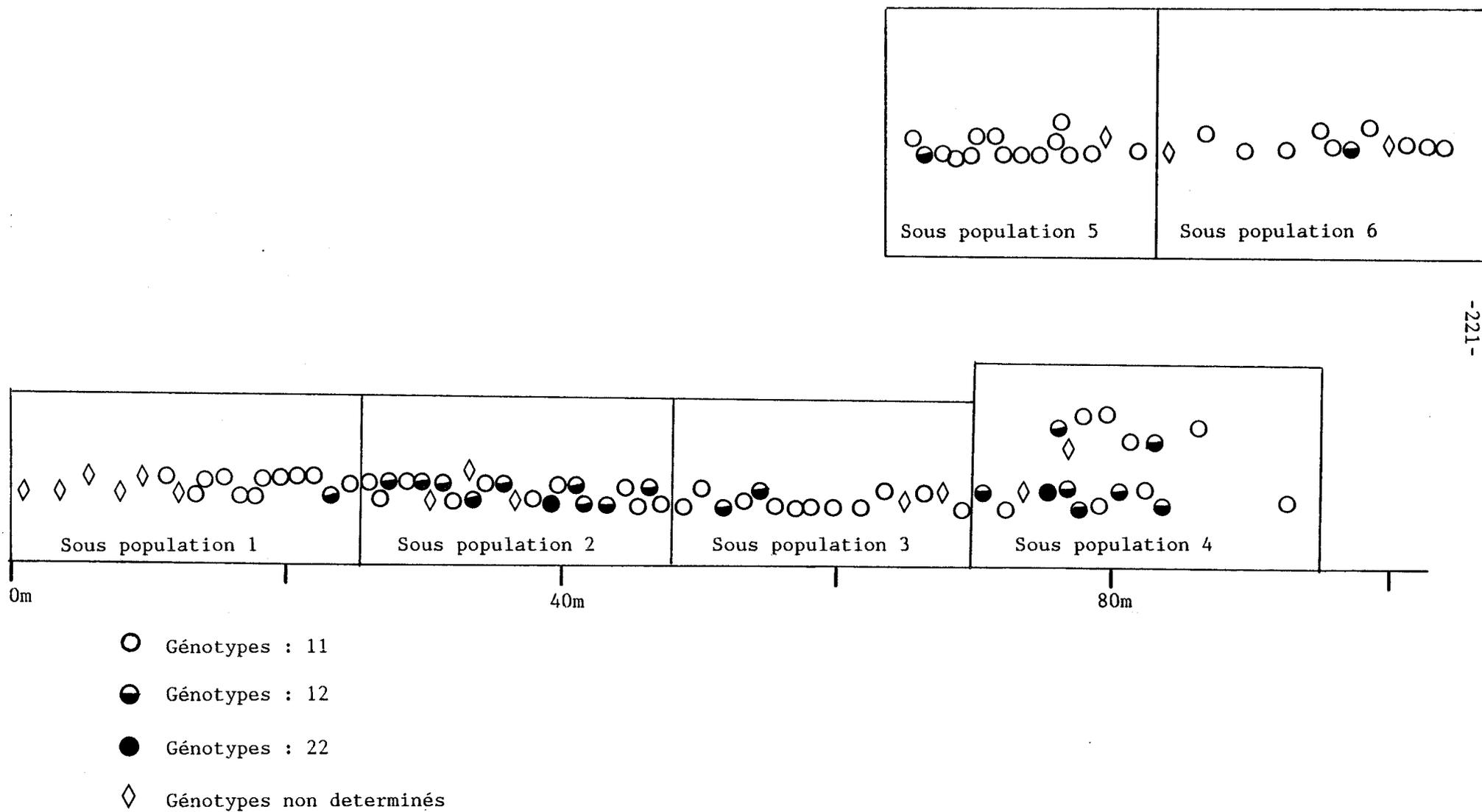
-220-



- Géotypes : 11
- Géotypes : 12
- Géotypes : 22
- ◇ Géotypes non déterminés

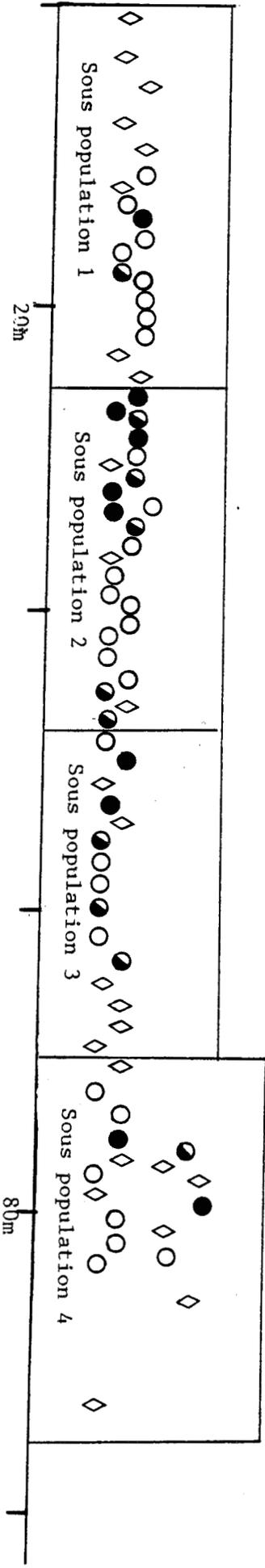
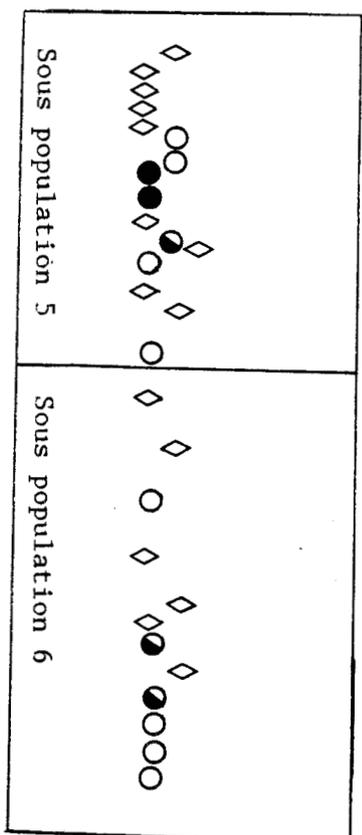
Les frontières entre sous populations ont été mises tous les 20 mètres.

Figure 3 : Distribution spatiale des génotypes au locus LAP1 dans la population
Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1985



Les frontières entre sous populations ont été mises tous les 20 mètres.

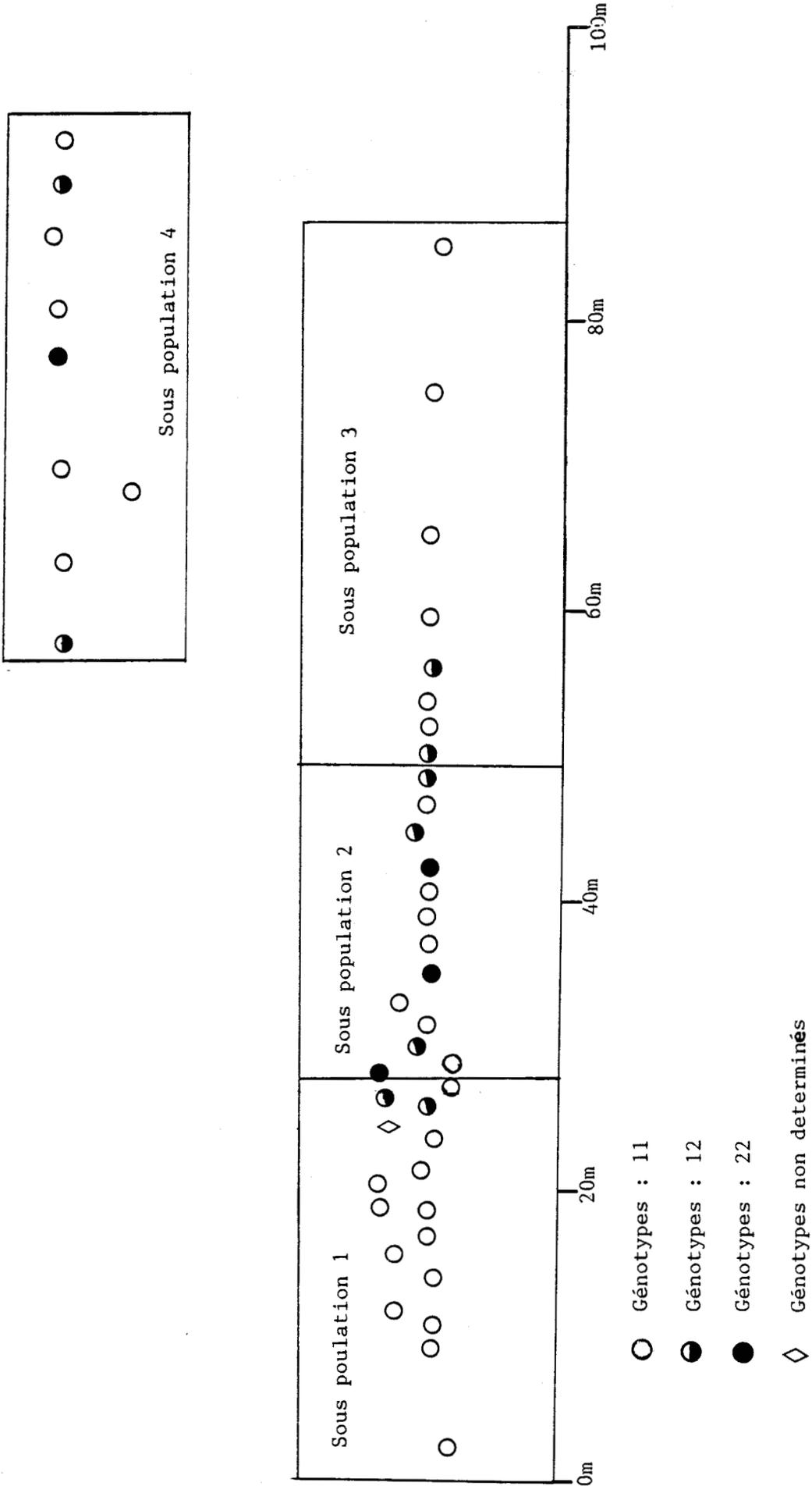
Figure 4 : Distribution spatiale des génotypes au locus AcPHI dans la population Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1985 .



- Génotypes : 11
- ◐ Génotypes : 12
- Génotypes : 22
- ◇ Génotypes non déterminés

Les frontières entre sous populations ont été mises tous les 20 mètres.

Figure 5: Distribution spatiale des génotypes au locus GOT2 dans la population Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1986 .



Les frontières entre sous populations ont été mises tous les 20 mètres.

Figure 6 : Distribution spatiale des génotypes au locus EST1 dans la population Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1986 .

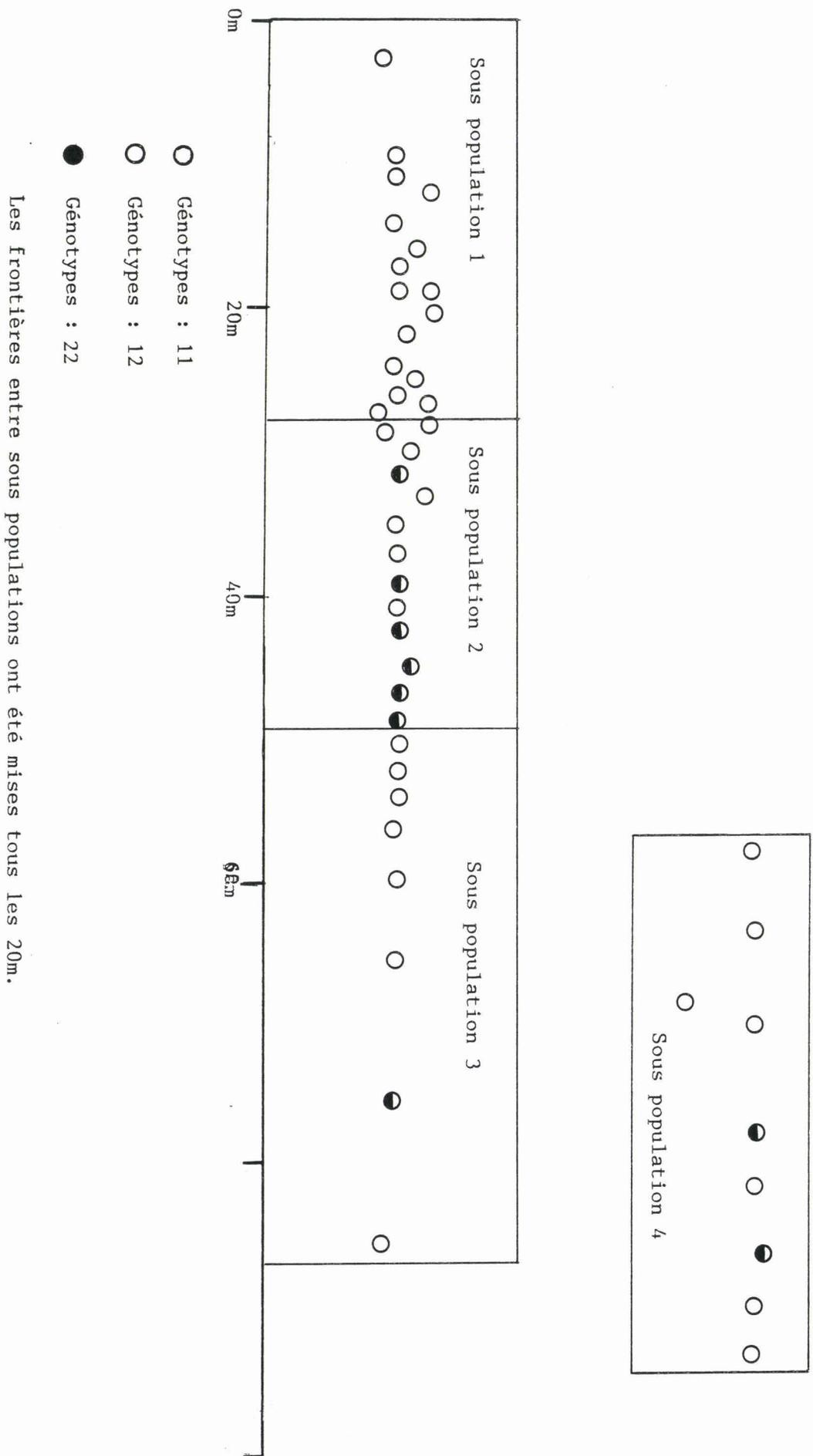
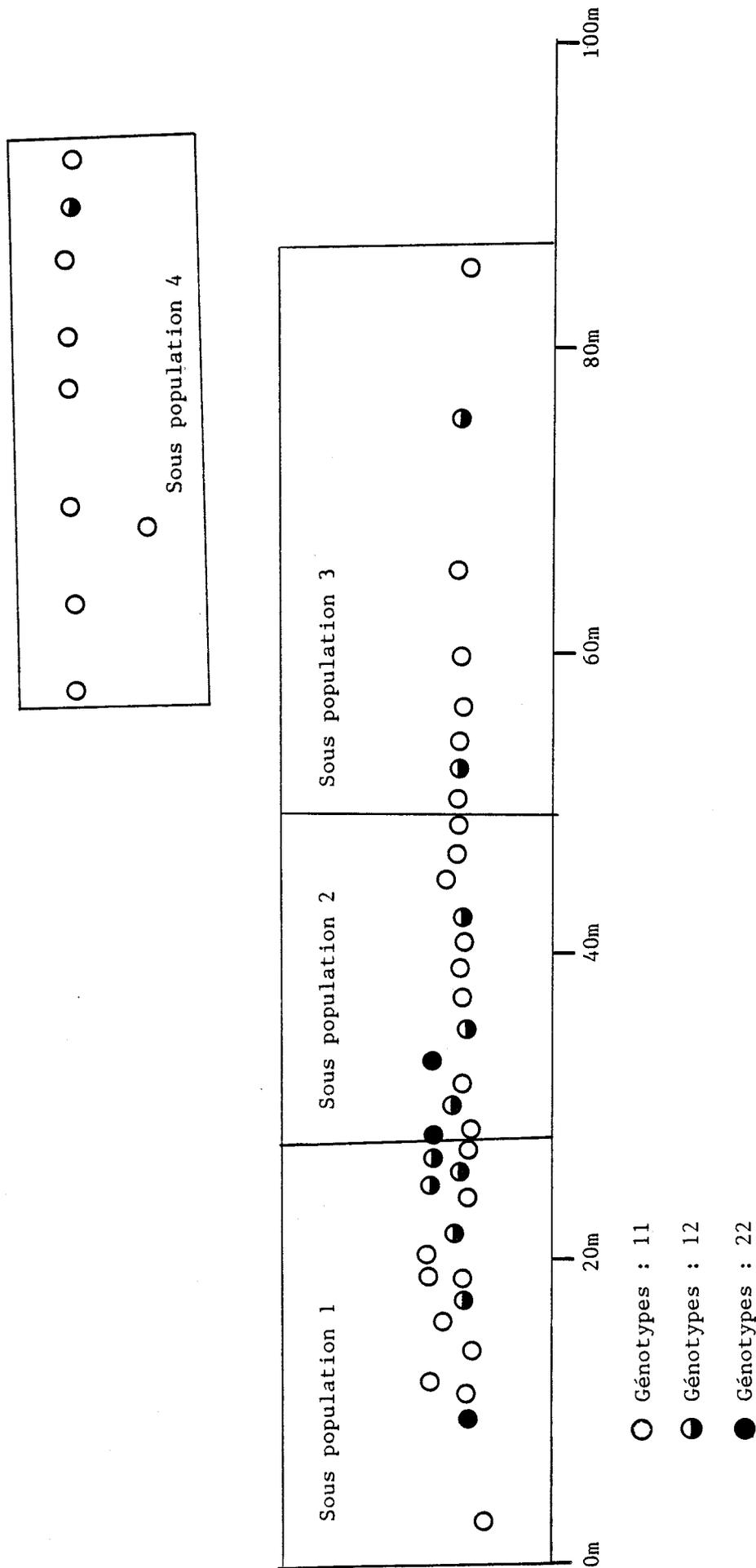


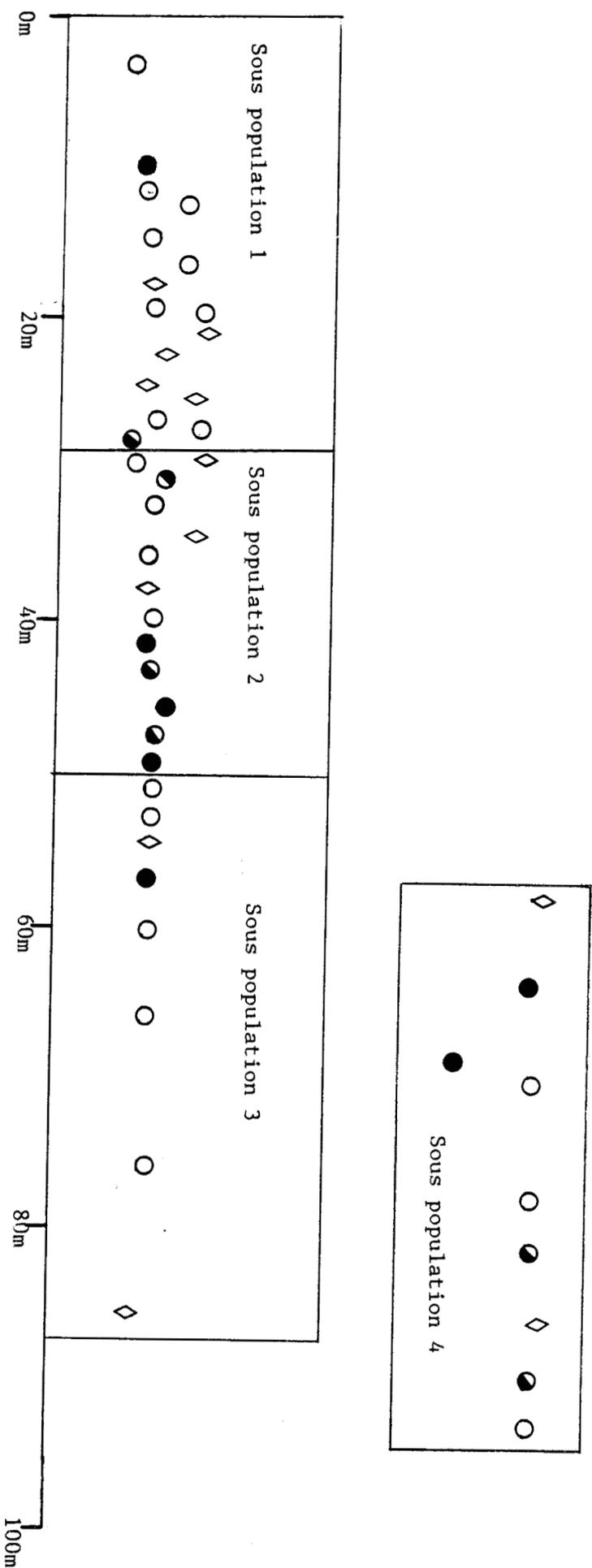
Figure 7 : Distribution spatiale des génotypes au locus LAP1 dans la population Doué la Fontaine (L2) étudiée en 1986.



Les frontières entre les sous populations ont été mises tous les 20 mètres.

Figure 8 : Distribution spatiale des génotypes au locus AcpH1 dans la population

Doué La Fontaine (L2) étudiée en 1986.



Les frontières entre sous populations ont été mises tous les vingt mètres.

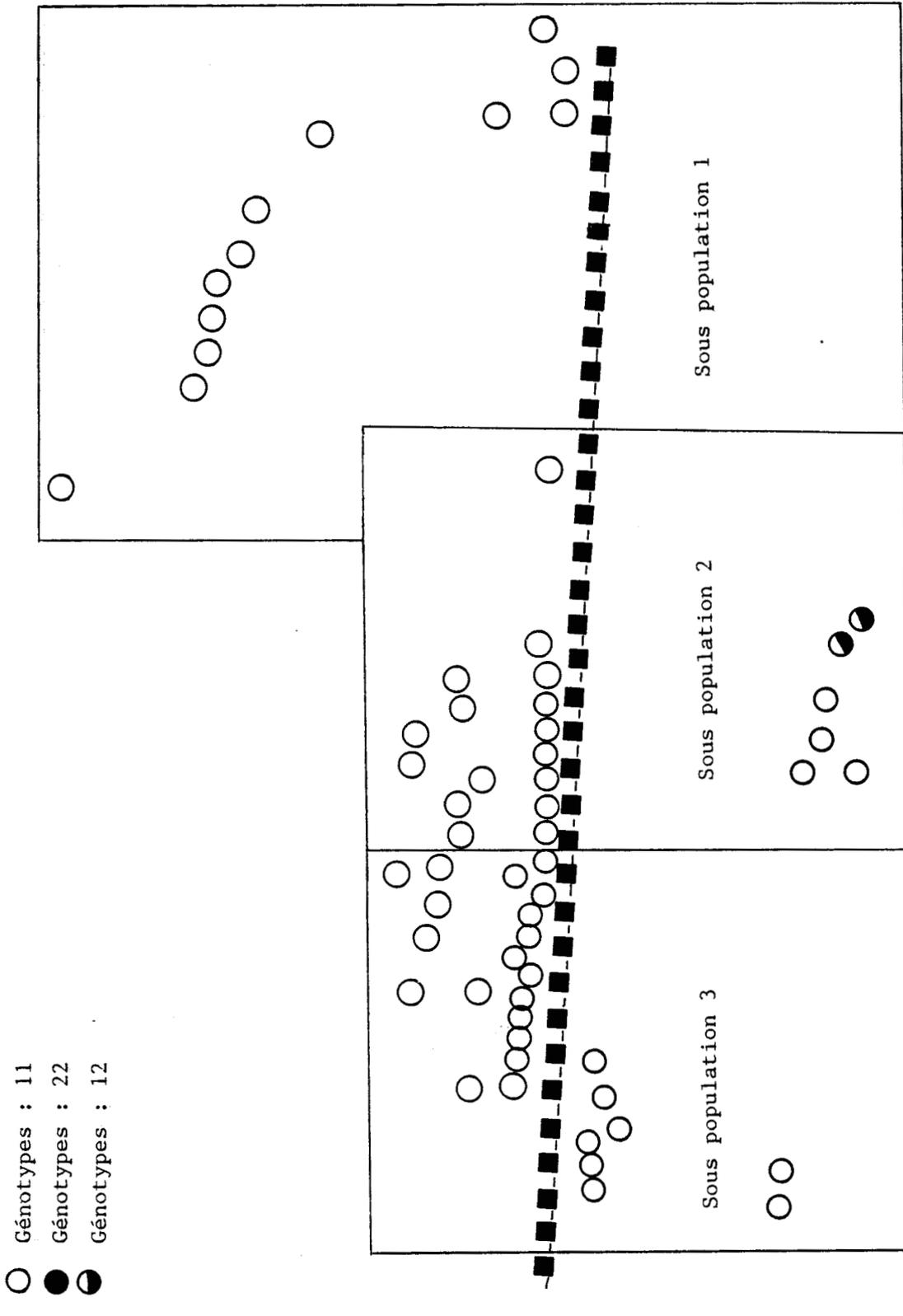


Figure 9: Distribution spatiale des génotypes au locus GOT1 dans la population AVION (L3) étudiée en 1987 .
Les frontières entre sous populations ont été mises à des distances de 25m

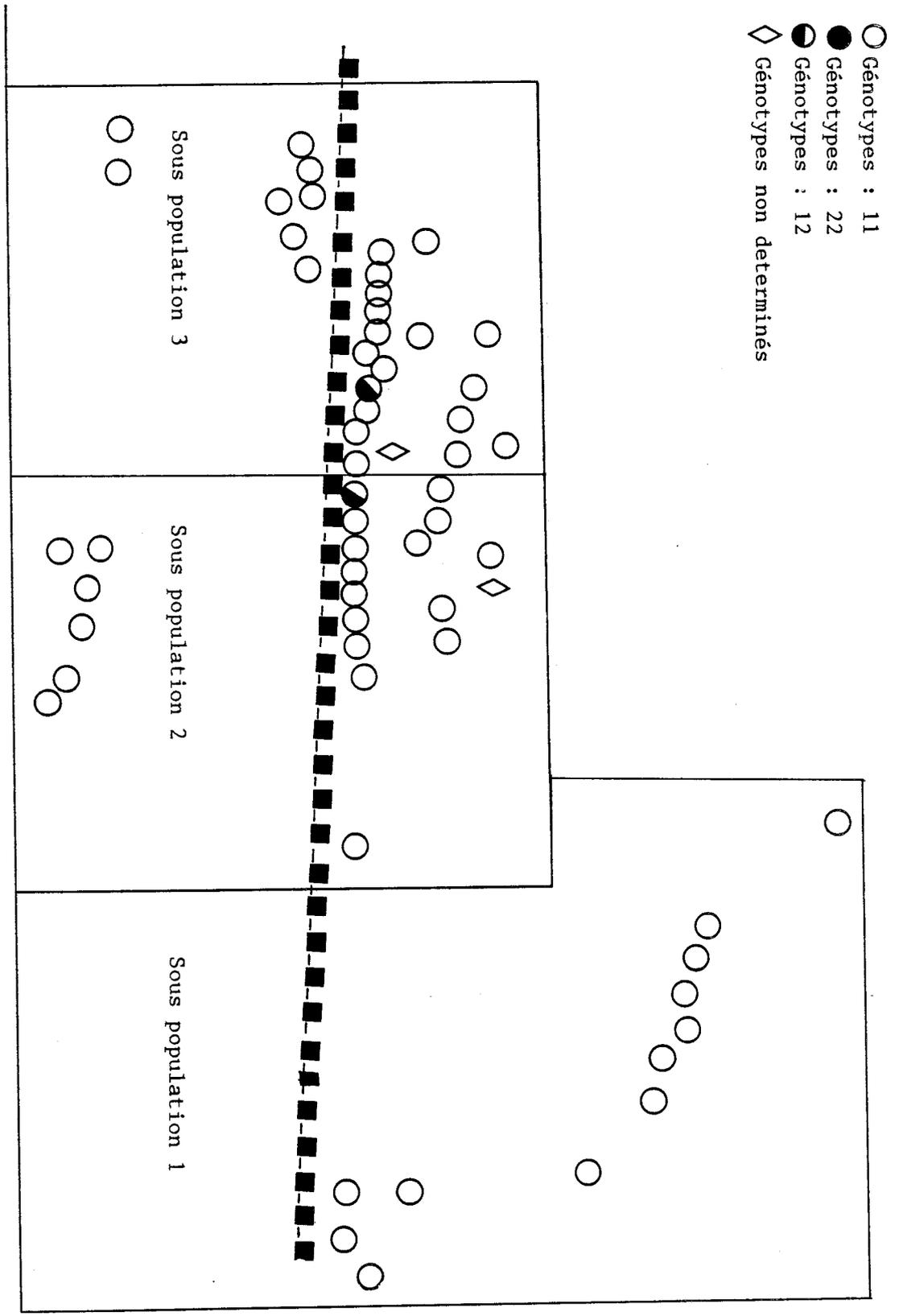


Figure 10: Distribution spatiale des génotypes au locus GOT2 dans la population AVION (L3) étudiée en 1987 .
Les frontières entre sous populations ont été mises à des distances de 25mètres.

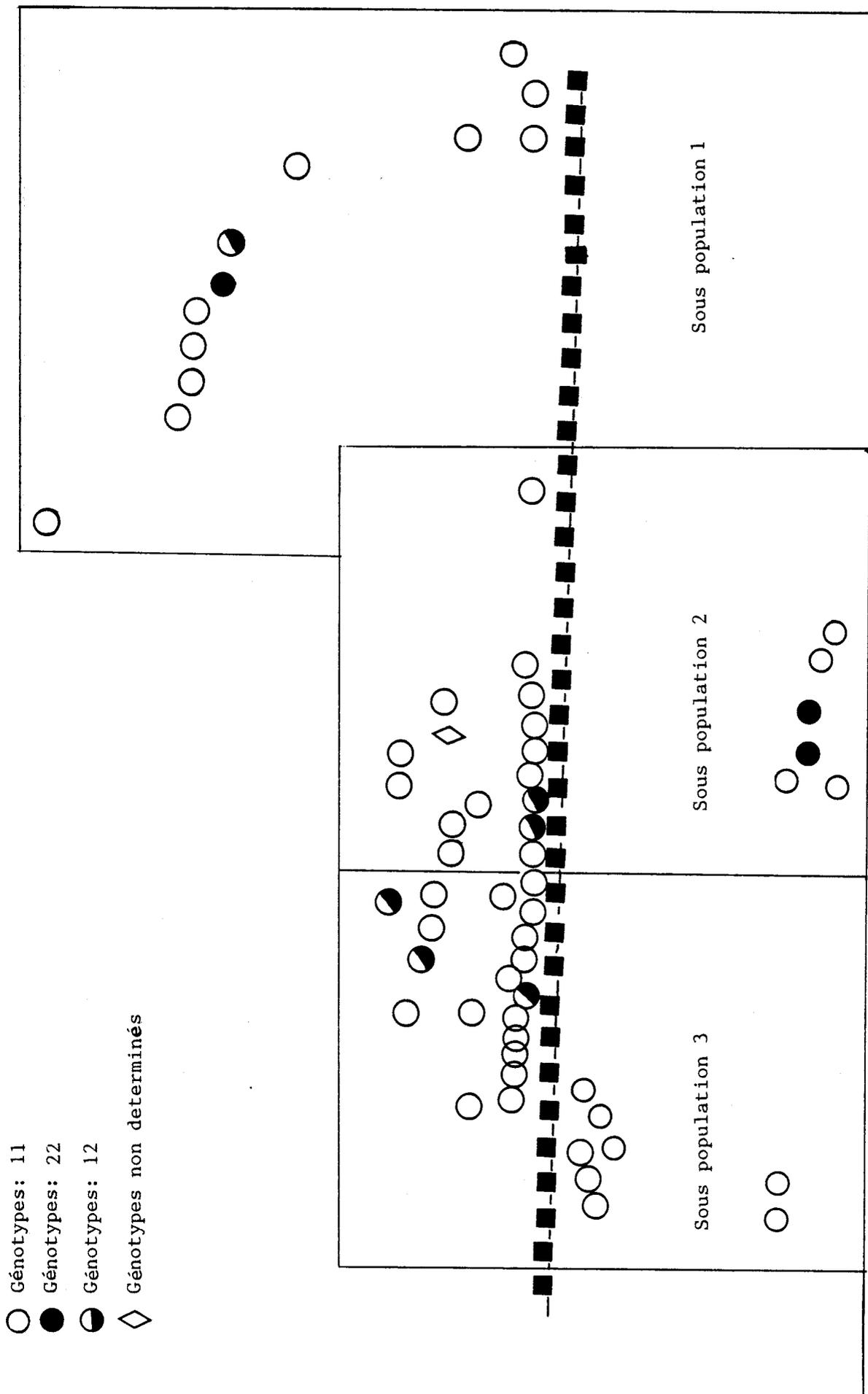


Figure 11: Distribution spatiale des génotypes au locus AVION (L3) étudié en 1987 .
Les frontières entre sous populations ont été mises à des distances de 25 mètres.

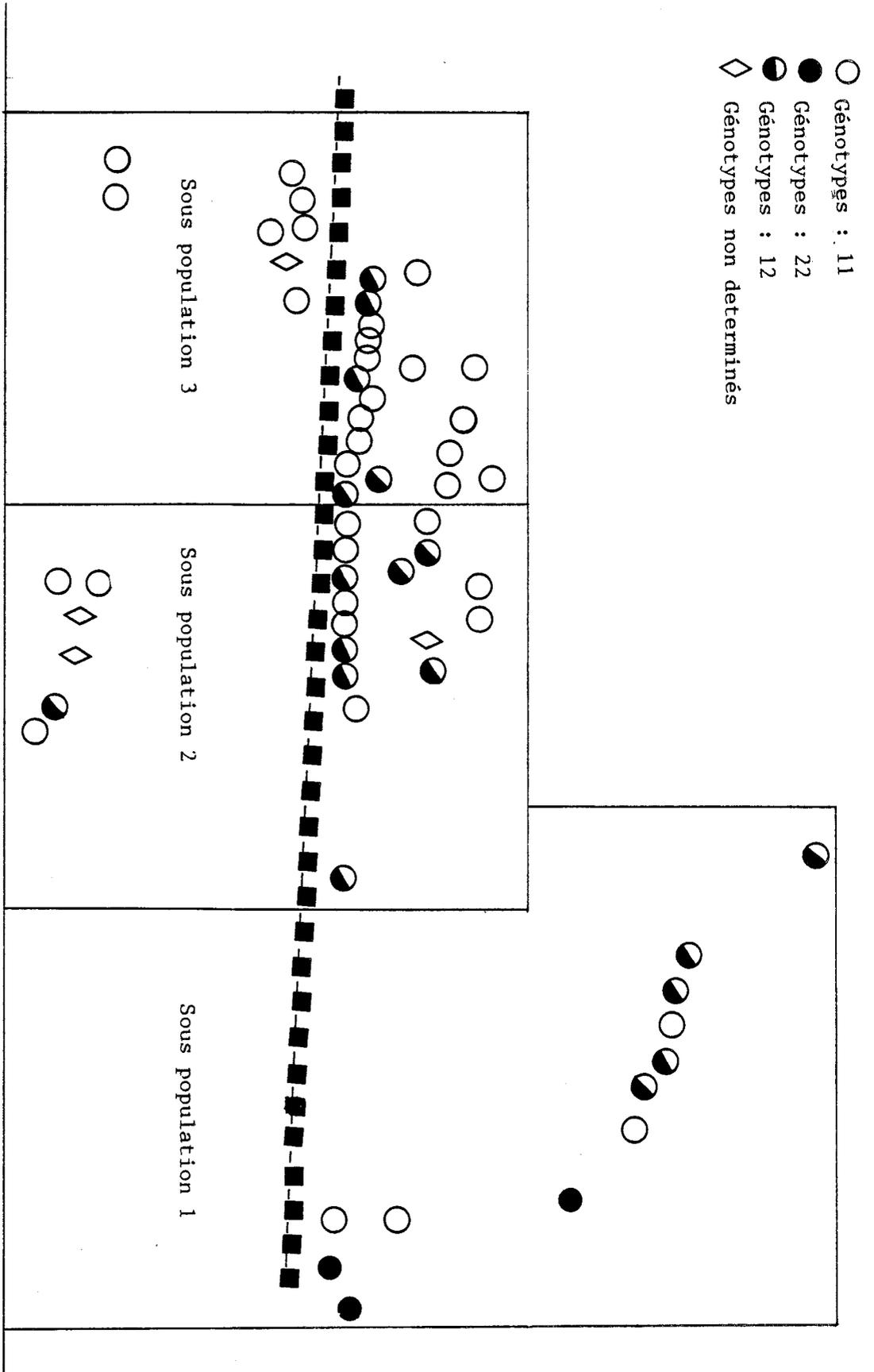


Figure 12: Distribution spatiale des génotypes au locus LAP1 dans la population AVION (L3) étudiée en 1987 .
Les frontières entre sous populations ont été mises tous les 25 mètres.

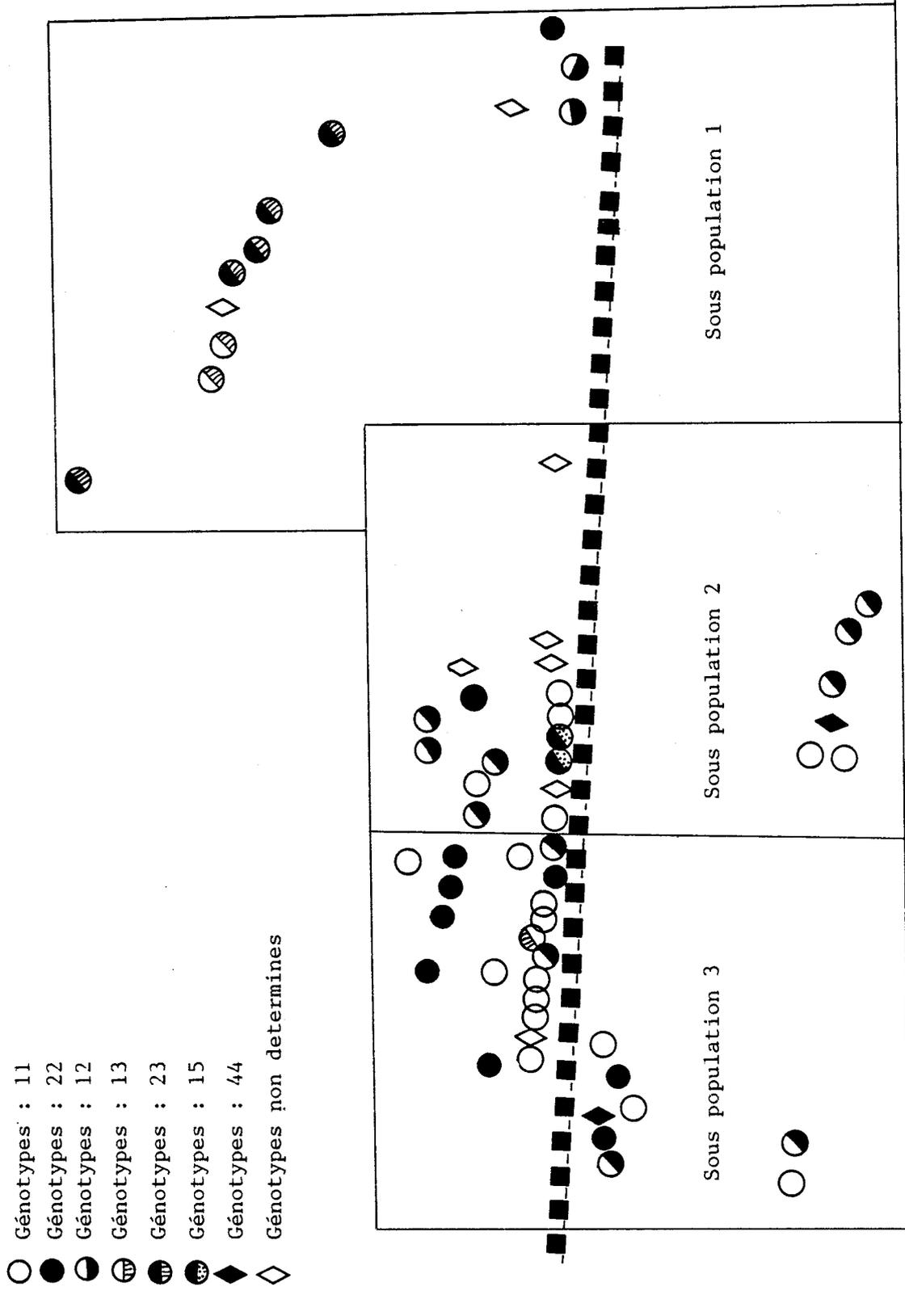


Figure 13: Distribution spatiale des génotypes au locus AcPHI dans la population AVION (L3) étudiée en 1987 .
Les frontières ont été mises tous les 25 mètres.

ANNEXE 9

**GENOTYPES OBSERVES
DANS LES DESCENDANCES
DES PLANTES MERES**

- Annexe 9a : population de Doué la Fontaine
étudiée en 1985**
- Annexe 9b : population de Doué la Fontaine
étudiée en 1986**
- Annexe 9c : population d'Avion étudiée
en 1987**

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
F105	1	2	3	2	1
F105	1	1	3	3	1
F105	1	2	3	2	1
F105	1	1	3	3	1
F105	1	1	3	3	1
F105	1	1	3	3	1
F105	1	1	3	3	1
F105	1	1	3	3	1
F105	1	1	3	3	0
F105	1	1	3	3	1
F105	1	1	3	3	1
F106	-1	-1	-3	-3	-3
F106	1	1	3	3	2
F106	1	1	3	3	3
F106	1	1	3	3	3
F106	1	1	3	3	3
F106	1	1	3	3	2
F106	1	1	3	2	2
F106	1	2	3	3	2
F106	1	2	3	3	0
F106	1	1	3	3	3
F106	1	1	3	3	3
F106	1	1	3	2	3
F106	1	2	3	3	3
F107	-1	-2	-2	-2	-1
F107	1	2	3	1	1
F107	1	1	3	2	1
F107	1	2	2	2	2
F107	1	2	2	2	1
F107	1	2	2	2	2
F107	1	2	2	2	1
F107	1	1	2	1	1
F107	1	1	2	3	2
F107	1	1	2	3	1
F107	1	2	2	2	1
F107	1	2	3	1	1
F107	1	2	2	2	1
F107	1	2	2	3	1
F107	1	2	2	3	2
F107	1	2	2	2	1
F107	1	1	3	3	1
F107	1	2	3	1	1
F107	1	1	2	1	1
F107	1	3	1	2	1
F107	1	1	2	2	1
F107	1	2	3	1	1
F107	1	2	2	2	1
F108	-1	-2	-3	-3	-3
F108	1	1	2	3	2
F108	1	2	3	3	2
F108	1	1	3	3	3
F108	1	2	3	3	2
F108	1	1	3	2	2

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
F108	1	2	3	3	2
F108	1	1	3	3	2
F108	1	1	3	2	0
F108	1	2	3	3	2
F110	-1	-1	-3	-3	-2
F110	1	1	3	3	3
F110	1	1	3	3	3
F110	1	1	2	2	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	2	3	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	3
F110	1	2	3	3	1
F110	1	1	3	3	1
F110	1	2	2	2	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	3
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	2	3	3	1
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	1
F110	1	2	3	2	1
F110	1	1	3	3	1
F110	1	2	3	2	1
F110	1	1	3	3	3
F110	1	1	2	3	1
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	1
F110	1	1	3	3	1
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	2
F110	1	1	3	3	1
F110	1	2	3	3	3
F111	-1	-2	-2	-2	-2
F111	1	1	3	3	1
F111	1	1	2	3	2
F111	1	2	2	2	3
F111	1	1	3	2	1
F111	1	2	3	2	1
F111	1	2	2	2	3
F111	1	1	3	2	2
F111	1	1	1	3	2
F111	1	2	2	2	2
F111	1	1	3	2	2
F111	1	1	3	2	1
F111	1	2	3	3	1
F111	1	3	3	3	2
F111	1	1	3	2	2

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
F111	1	1	3	3	1
F111	1	2	3	2	0
F111	1	2	2	1	1
F111	1	2	1	2	2
F111	1	1	2	2	2
F111	1	1	1	3	3
F111	1	1	2	3	3
F111	1	2	3	2	2
F111	1	2	3	3	1
F111	1	2	3	3	1
F111	1	2	2	3	1
F111	1	1	2	3	3
F111	1	2	3	3	1
F111	1	1	1	2	1
F111	1	3	3	3	2
F111	1	1	2	2	2
F111	1	1	3	3	1
F111	1	1	3	3	1
F111	1	2	3	1	3
F111	1	2	2	3	3
F111	1	3	1	2	3
F111	1	1	2	2	2
F111	1	2	3	2	1
F111	1	2	1	2	2
F111	1	2	2	3	2
F111	1	2	1	1	2
F111	1	1	3	3	0
F111	1	1	3	2	2
F111	1	2	3	2	0
F111	1	2	2	3	0
F111	1	2	2	2	1
F111	1	2	2	1	0
F111	1	2	2	2	2
F111	1	2	2	3	1
F111	1	1	2	1	0
F111	1	2	3	2	1
F112	-1	-2	-2	-2	-1
F112	1	1	2	3	1
F112	1	2	2	3	1
F112	1	2	2	2	1
F112	1	3	3	2	1
F112	1	2	3	2	1
FAM5	-1	-1	-2	-3	-1
FAM5	1	1	3	3	1
FAM5	1	2	3	3	0
FAM5	1	1	2	3	1
FAM5	1	1	2	3	2
FAM5	1	1	2	3	1
FAM5	1	1	1	3	1
FAM5	1	1	2	2	1
FAM5	1	1	2	3	1
FAM5	1	1	2	3	0
FAM5	1	1	3	3	2

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
FAM5	1	1	2	2	1
FAM5	1	1	2	3	0
FAM6	-1	-3	-3	-1	-1
FAM6	1	2	2	2	1
FAM6	1	3	3	2	1
FAM6	1	3	3	1	1
FAM6	1	2	2	2	1
FAM6	1	3	3	1	0
FAM6	1	2	3	0	1
FAM6	1	2	3	1	1
FAM6	1	3	3	1	1
FAM6	1	3	2	2	1
FAM6	1	2	3	1	2
FAM7	-1	-3	-3	-2	-1
FAM7	1	2	3	2	1
FAM7	1	3	3	2	1
FAM7	1	3	3	2	1
FAM7	1	3	3	3	1
FAM7	1	3	3	3	1
FAM7	1	3	2	2	1
FAM7	1	3	3	3	1
FAM7	1	3	3	2	1
FAM7	1	3	3	2	1
FAM8	-1	-3	-3	-2	-1
FAM8	1	2	3	2	1
FAM8	1	3	2	3	1
FAM8	1	2	3	2	1
FAM8	1	3	3	2	1
FAM8	1	2	2	2	1
FAM9	-1	-3	-3	-3	-1
FAM9	1	2	3	3	0
FAM9	1	2	3	3	1
FAM9	1	3	3	2	1
FAM9	1	2	3	0	2
FAM9	1	3	3	3	1
FAM9	1	2	0	3	2
FAM9	1	2	2	3	1
FAM9	1	2	3	2	1
FAM9	1	3	3	3	0
FAM9	1	2	3	0	1
FAM9	1	3	3	2	1
FAM9	1	3	3	3	1
FAM9	1	3	3	3	1
FAM9	1	2	3	3	0
FAM9	1	3	3	3	1
FAM9	1	3	3	3	1
FA10	-1	-3	-2	-3	0
FA10	1	2	2	3	0
FA10	1	2	2	3	2
FA10	1	2	3	3	1
FA10	1	2	3	3	2
FA10	1	3	3	3	1
FA10	1	3	2	3	1
FA10	1	2	2	3	0
FA10	1	2	2	3	1
FA10	1	2	3	3	1

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
FA10	1	3	3	2	0
FA10	1	3	3	3	0
FA10	1	2	3	3	2
FA11	-1	-1	-3	-3	-2
FA11	1	1	3	3	2
FA11	1	1	3	3	1
FA11	1	1	3	3	2
FA11	1	1	3	3	3
FA11	1	1	3	3	2
FA11	1	1	3	3	2
FA11	1	1	3	3	3
FA11	1	1	3	3	0
FA11	1	1	3	3	2
FA11	1	1	3	3	3
FA11	1	1	3	3	3
FA11	1	1	3	2	1
FA12	-1	-1	-2	-3	-2
FA12	1	1	3	3	0
FA12	1	1	3	3	1
FA12	1	1	3	3	1
FA12	1	1	3	2	1
FA12	1	1	2	3	2
FA12	1	1	2	3	0
FA12	1	1	3	3	1
FA12	1	2	2	2	2
FA12	1	1	3	3	0
FA12	1	1	1	2	0
FA12	1	1	1	3	0
FA12	1	1	3	3	2
FA12	1	1	3	3	2
FA13	-1	-1	-3	-3	-1
FA13	1	1	3	2	1
FA13	1	1	3	3	1
FA13	1	1	3	3	1
FA13	1	1	3	2	1
FA13	1	2	3	2	1
FA13	1	1	3	3	1
FA13	1	2	3	2	2
FA13	1	1	3	3	0
FA13	1	1	3	2	0
FA13	1	1	3	3	0
FA13	1	1	3	3	2
FA13	1	1	3	2	2
FA14	-1	-1	-1	-3	-3
FA14	1	2	2	3	3
FA14	1	1	2	3	2
FA14	1	1	2	3	3
FA14	1	1	1	3	3
FA14	1	2	1	3	3
FA14	1	2	1	3	3
FA14	1	2	2	3	0
FA14	1	1	1	3	3
FA14	1	1	1	3	3

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
FA14	1	2	2	3	3
FA14	1	1	2	3	0
FA14	1	2	2	3	3
FA15	-1	-2	-2	-3	-3
FA15	1	2	2	3	0
FA15	1	3	1	3	3
FA15	1	3	2	3	6
FA15	1	3	3	2	2
FA15	1	2	1	2	3
FA15	1	2	3	2	3
FA15	1	2	3	3	3
FA15	1	2	1	3	3
FA15	1	2	1	3	3
FA15	1	1	3	3	3
FA15	1	1	2	3	0
FA15	1	3	3	3	3
FA16	-1	-2	-3	-3	-2
FA16	1	2	3	3	0
FA16	1	1	2	2	1
FA16	1	2	3	2	1
FA16	1	2	2	2	1
FA16	1	2	3	3	1
FA16	1	2	2	2	2
FA16	1	2	3	2	3
FA16	1	2	2	3	2
FA16	1	2	2	2	1
FA16	1	1	3	3	2
FA16	1	1	3	3	1
FA16	1	3	2	3	1
FA17	-1	-2	-2	-3	-1
FA17	1	2	3	3	1
FA17	1	2	3	3	1
FA17	1	2	3	3	1
FA17	1	0	1	3	1
FA17	1	3	1	3	1
FA17	1	2	2	3	1
FA17	1	2	2	3	1
FA17	1	1	2	3	1
FA17	1	2	3	3	1
FA17	1	2	2	2	1
FA17	1	2	3	3	1
FA17	1	1	2	3	1
FA17	1	2	3	3	1
FA17	1	2	1	3	1
FA17	1	2	0	3	0
FA18	-1	-1	-3	-3	-2
FA18	1	1	3	3	4
FA18	1	1	3	3	1
FA18	1	1	3	3	1
FA18	1	1	3	3	1
FA18	1	1	3	3	6
FA18	1	1	3	3	2
FA18	1	1	3	3	2

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
FA18	1	1	3	3	2
FA18	1	1	3	3	1
FA18	1	1	3	3	0
FA18	1	1	3	3	4
FA18	1	1	3	3	2
FA18	1	1	3	2	2
FA19	-1	-3	-2	-3	-1
FA19	1	2	2	3	2
FA19	1	2	3	3	1
FA19	1	2	3	3	1
FA19	1	3	1	3	1
FA19	1	3	2	3	1
FA19	1	3	1	3	1
FA19	1	3	1	3	2
FA19	1	2	3	3	1
FA19	1	3	1	3	1
FA19	1	2	1	3	1
FA22	-1	-2	-3	-2	-1
FA22	1	2	3	3	2
FA22	1	2	3	2	0
FA22	1	1	3	3	0
FA22	1	2	3	3	1
FA22	1	3	3	3	2
FA22	1	1	3	3	1
FA22	1	2	2	2	0
FA22	1	1	3	2	1
FA22	1	1	3	2	1
F113	-1	-2	-3	-3	-2
F113	1	3	3	3	3
F113	1	2	3	3	1
F113	1	3	3	3	1
F113	1	1	3	3	1
F113	1	2	3	2	2
F113	1	1	3	3	2
F113	1	2	3	3	2
F113	1	2	3	2	2
F113	1	1	3	3	1
F113	1	1	3	2	1
F113	1	2	3	3	0
F113	1	2	2	2	0
F113	1	2	3	3	1
F113	1	1	3	3	0
F114	-1	-1	-3	-3	-1
F114	1	2	2	3	1
F114	1	2	3	3	1
F114	1	1	3	3	2
F114	1	1	3	3	1
F114	1	1	3	3	1
F114	1	1	3	3	1
F115	-1	-2	-3	-1	0
F115	1	3	0	1	3
F115	1	2	3	1	2

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
F115	1	1	3	1	2
F115	1	2	2	1	2
F116	-1	-2	-3	-2	-1
F116	1	0	3	2	1
F116	1	1	3	3	1
F116	1	1	3	3	1
F116	1	2	3	2	1
FA20	-1	-1	-3	-2	0
FA20	1	1	3	2	0
FA20	1	1	3	2	0
FA20	1	2	2	3	0
FA20	1	1	2	2	0
FA20	1	1	3	2	1
FA20	1	1	3	3	0
FA20	1	1	3	3	0
FA20	1	1	3	3	1
FA20	1	1	3	3	0
FA20	1	1	3	3	2
FA20	1	1	3	3	2
FA20	1	1	3	2	1
FA21	-1	-1	-3	-3	-3
FA21	1	1	3	3	2
FA21	1	2	3	3	2
FA21	1	1	3	3	3
FA21	1	1	2	3	2
FA21	1	1	3	3	3
FA21	1	1	3	3	2
FA21	1	1	3	2	2
FA21	1	1	3	3	0
FA21	1	1	3	3	3
FA21	1	1	2	3	2
FA21	1	1	3	3	3
FA21	1	1	3	3	0
FA21	1	2	2	3	3
FA21	1	2	3	3	0
FA21	1	1	3	2	2
F117	-1	-1	-3	-3	-1
F117	1	1	3	3	1
F117	1	0	3	2	1
F117	1	1	3	3	2
F117	1	1	3	3	1
F117	1	1	3	2	2
F118	-1	-2	-3	-3	-2
F118	1	2	3	3	0
F118	1	2	3	3	1
F118	1	0	3	3	3
F118	1	2	3	3	1
F118	1	1	3	3	1
F118	1	2	3	3	2
F118	1	1	3	3	2
F118	1	2	3	3	2
F118	1	2	3	2	1
F119	-1	-2	-3	-3	0

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
F119	1	1	3	3	2
F119	1	1	3	3	2
F119	1	2	3	3	1
F119	1	2	3	3	1
F119	1	1	3	3	0
F119	1	3	3	3	1
F119	1	2	3	3	2

FAM	GOT2	EST1	LAP1
FAM3	1	3	3
FAM3	0	1	3
FAM3	1	1	3
FAM3	1	3	3
FAM10	-1	-3	-3
FAM10	1	3	0
FAM10	1	2	3
FAM10	1	3	3
FAM10	1	3	3
FAM10	1	3	3
FAM10	1	0	3
FAM10	1	3	3
FAM10	1	3	3
FAM11	-3	-2	-2
FAM11	3	2	2
FAM11	2	3	3
FAM11	2	2	2
FAM11	2	3	2
FAM11	3	3	2
FAM11	2	3	2
FAM11	3	2	1
FAM11	2	3	2
FAM11	3	2	1
FAM11	2	3	3
FAM11	0	2	2
FAM11	3	2	3
FAM11	3	3	2
FAM11	2	2	2
FAM11	3	2	2
FAM20	-2	-2	-3
FAM20	1	1	3
FAM20	1	3	3
FAM20	2	3	3
FAM20	1	3	3
FAM20	2	3	3
FAM20	2	3	3
FAM20	2	2	3
FAM20	2	1	3
FAM20	2	2	3
FAM20	2	1	3
FAM20	2	1	3
FAM20	1	0	3
FAM20	1	3	3
FAM20	2	2	3
FAM20	0	3	3
FAM20	1	0	3
FAM20	1	3	3
FAM20	1	3	3
FAM20	1	0	3
FAM28	-1	-3	-1
FAM28	1	3	1
FAM28	1	3	0
FAM28	1	0	2
FAM28	1	3	2
FAM28	1	0	1
FAM28	1	3	2
FAM28	1	3	2

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1
FAM8	1	3	3	2
FAM8	1	3	3	1
FAM8	1	3	3	1
FAM8	1	3	3	1
FAM8	2	3	3	2
FAM8	1	3	3	1
FAM9	-1	-3	-3	-1
FAM9	1	3	3	1
FAM9	1	3	3	1
FAM9	1	3	3	1
FAM9	1	3	3	1
FAM9	1	3	3	2
FAM9	1	3	3	1
FAM9	1	3	3	2
FAM9	1	3	3	1
FAM9	1	3	3	2
FAM9	1	3	3	2
FAM9	1	3	3	2
FA10	-2	-3	-3	-2
FA10	2	3	3	2
FA10	3	3	3	2
FA10	2	3	3	2
FA10	1	3	3	3
FA10	1	3	3	2
FA10	1	3	3	1
FA10	2	3	3	2
FA10	2	3	3	2
FA10	1	3	3	2
FA10	2	3	3	1
FA10	2	3	3	2
FA10	1	3	3	3
FA10	1	3	3	2
FA11	-1	-3	-3	-1
FA11	1	0	3	1
FA11	1	3	3	1
FA11	1	3	3	1
FA11	1	3	3	1
FA11	1	3	3	2
FA11	1	3	3	1
FA11	1	3	3	2
FA11	1	3	3	1
FA11	1	3	3	1
FA11	1	3	2	2
FA11	1	3	3	1
FA11	1	3	3	1
FA12	-2	-3	-3	-1
FA12	1	3	3	1
FA12	1	3	3	1
FA12	2	3	3	1
FA12	2	3	3	1
FA12	1	3	3	2
FA12	2	3	3	1
FA12	2	3	3	2
FA12	2	3	3	2
FA12	3	3	3	2
FA12	1	3	3	2
FA12	1	3	3	1
FA12	2	3	3	1

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1
FA12	1	3	3	1
FA12	3	3	3	1
FA13	-1	-3	-3	-2
FA13	2	3	3	1
FA13	1	3	3	2
FA13	1	3	2	2
FA13	0	0	3	3
FA13	0	0	2	3
FA13	0	0	3	1
FA13	1	3	3	2
FA13	1	3	3	2
FA13	1	3	3	2
FA13	0	0	3	3
FA13	2	3	3	2
FA13	0	3	3	1
FA13	0	3	3	3
FA13	1	3	3	2
FA14	-1	-3	-3	-3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	2	3	3	3
FA14	2	3	3	3
FA14	2	2	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	2	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	2	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA14	1	3	3	3
FA15	-1	-3	-3	-3
FA15	1	3	3	3
FA15	1	3	3	3
FA15	1	3	3	3
FA15	1	3	3	0
FA15	1	3	3	0
FA15	1	3	3	3
FA15	1	3	3	3
FA15	1	3	3	3
FA18	-1	-3	-3	-1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	0	0	3	0
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA18	1	3	3	1
FA19	-1	-3	-2	-2
FA19	1	3	3	1

FAM	GOT1	GOT2	EST1	LAP1
FA19	1	3	2	1
FA19	1	3	3	2
FA19	1	3	3	1
FA19	1	3	3	1
FA19	1	3	2	2
FA19	1	3	1	1
FA19	1	3	2	1
FA19	1	3	2	1
FA19	1	3	1	1
FA19	1	3	2	1
FA20	-1	-3	-2	-1
FA20	1	3	3	2
FA20	1	3	2	2
FA20	1	3	2	2
FA20	1	3	0	1
FA20	1	3	3	1
FA20	1	3	3	1
FA21	-1	-3	-3	-1
FA21	1	3	3	1
FA21	1	3	3	1
FA21	1	3	3	1
FA21	1	3	3	1
FA21	1	3	3	1
FA21	1	3	3	1
FA21	1	3	3	1
FA21	1	3	3	2
FA21	1	3	3	2
FA21	1	3	3	2

ANNEXE 10

ESTIMATION "SIMPLE-LOCUS"
ET "MULTI-LOCI" DU TAUX
D'AUTOFECONDATION POUR CHAQUE
INDIVIDU DE LA GENERATION G0
(PLANTES MERES)

Annexe 10a : population de Doué la
Fontaine étudiée en 1985

Annexe 10b : population de Doué la
Fontaine étudiée en 1986

Annexe 10c : population d'Avion étudiée
en 1987



Annexe 10a : Estimations "multi-locus" et " simple-locus" du taux d'autofécondation dans la population de Doué La Fontaine étudiée en 1985.

Génotypes de la mère											
Famille	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1	N	S	E	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1
AUTOGAME: ($S > 0.5$)											
11	BB	BB	BB	AB	12	0.92	0.90	1.00	1.00	0.61	1.00
101	BB	BB	BB	BB	19	0.68	0.57	1.00	0.23	0.51	0.55
104	BB	BB	BB	AA	17	0.71	0.49	0.34	0.57	1.00	0.06
MIXTE: ($0.05 < S < 0.5$)											
2	BB	BB	BB	AB	12	*0.24	1.00	1.00	1.00	0.00	0.00
3	BB	BB	BB	BB	10	0.50	0.55	0.00	0.27	0.00	0.82
5	BB	AB	BB	AA	12	*0.23	0.34	0.53	0.31	0.22	0.29
6	AA	BB	AA	AA	10	0.25	0.49	0.39	0.00	0.44	0.65
9	AA	BB	BB	AA	13	0.15	0.27	0.35	0.39	0.00	0.42
13	BB	BB	BB	AA	12	0.32	0.53	0.06	1.00	0.00	0.00
14	BB	AA	BB	BB	12	0.16	0.73	0.00	0.32	1.00	0.86
15	AB	AB	BB	BB	12	0.55	0.85	1.00	0.84	0.00	0.71
17	AB	AB	BB	AA	15	*0.50	0.76	0.48	0.54	1.00	1.00
21	BB	BB	BB	BB	15	0.29	0.27	0.00	0.00	0.37	0.17
103	AB	BB	BB	AB	14	0.35	0.54	0.07	1.00	1.00	0.08
105	BB	BB	BB	AA	38	0.60	0.73	0.41	1.00	0.51	1.00
106	BB	BB	BB	BB	12	0.12	0.57	0.00	1.00	0.22	0.48
107	AB	AB	AB	AA	22	0.13	0.48	0.00	0.01	1.00	0.42
110	BB	BB	BB	AB	33	*0.65	0.32	0.00	0.11	0.43	0.42
111	AB	AB	AB	AB	50	*0.18	0.20	0.00	0.24	0.00	0.15
113	AB	BB	BB	AB	15	*0.29	0.43	0.34	0.51	0.00	0.00
114	BB	BB	BB	AA	6	0.24	0.74	0.00	0.00	1.00	0.47
115	AB	BB	AA	BB	4	0.25	1.00	0.99	0.00	1.00	1.00
117	BB	BB	BB	AA	6	0.20	0.62	1.00	1.00	0.00	0.00
119	AB	BB	BB	AA	7	0.47	1.00	0.23	0.00	1.00	0.00
ALLOGAME: ($S < 0.05$)											
1	BB	BB	BB	AA	13	0.00	0.51	0.57	0.44	0.00	0.00
7	AA	BB	AB	AA	9	0.00	0.68	0.86	0.19	0.00	1.00
8	AA	BB	AB	AA	5	0.00	0.64	0.27	0.00	0.00	1.00
10	AA	AB	BB	AA	12	0.00	0.40	0.19	0.00	0.61	0.00
12	BB	AB	BB	AB	13	*0.00	0.37	0.57	0.17	0.00	0.00
16	AB	BB	BB	AB	12	0.00	0.23	0.23	0.00	0.00	0.00
18	BB	BB	BB	AB	13	*0.00	0.88	1.00	1.00	0.64	0.00
19	AA	AB	BB	AB	10	*0.00	0.69	0.39	1.00	1.00	0.36
20	BB	BB	AB	AA	12	*0.00	0.53	0.53	0.00	0.00	0.00
22	AB	BB	AB	AA	9	*0.00	0.13	0.07	0.19	0.00	0.00
102	BB	BB	BB	AA	21	*0.00	0.80	1.00	1.00	1.00	0.20
108	AB	BB	BB	BB	9	0.00	0.19	0.00	0.19	0.00	0.00
112	AB	AB	AB	AA	5	*0.00	1.00	0.99	0.00	0.00	1.00
116	AB	BB	AB	AA	4	*0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	1.00
118	AB	BB	BB	AB	9	*0.00	0.74	0.00	1.00	0.48	0.00

AA = représentation des génotypes des plantes mères qui sont homozygotes pour l'allèle 1
 BB = " " " " " " " " " " " 2
 AB = " " " " " " " " " " " 12 hétérozygotes " " " "
 N = nombre des descendances étudiées
 S = Taux d'autofécondation vrai (selfing rate)
 E = Taux moyens d'autofécondation sur l'ensemble des loci (effective selfing rate).
 * = Mauvaise convergence de l'estimation

Annexe 10c: Estimations "multi-loci" et "simple-locus" des taux d'autofécondation dans la population d'Avion étudiée en 1987

Famille	Génotype de la mère					N	S	E	GOT1	EST1	LAP1
	GOT1	GOT2	EST	LAP1	AcPH1						
AUTOGAME: ($S \geq 0.50$)											
1	AA	AA	BB	AA	(-)	12	1.00	0.84	0.51	1.00	1.00
3	AA	AA	BB	AA	AA	8	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
15	AA	AA	BB	BB	AA	8	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
18	AA	AA	BB	AA	AC	13	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
MIXTE: ($0.05 < S < 0.50$)											
4	AA	AA	BB	AB	AB	13	0.13	0.10	0.10	0.00	0.00
5	AA	AA	BB	AA	BB	8	0.44	0.54	1.00	0.00	0.08
7	AA	AA	BB	AB	(-)	10	*0.13	1.00	1.00	0.00	0.00
8	AA	AA	BB	AA	BB	13	0.77	0.81	1.00	1.00	0.44
9	AA	AA	BB	AA	AA	11	0.42	0.70	1.00	1.00	0.11
10	AB	AA	BB	AB	AB	13	*0.14	1.00	1.00	1.00	1.00
11	AA	AA	BB	AA	DD	12	0.75	0.70	1.00	0.00	0.39
14	AA	AA	BB	BB	BC	14	0.56	0.86	0.58	1.00	1.00
21	AA	AA	BB	AA	BB	9	0.45	0.73	1.00	1.00	0.18
ALLOGAME: ($S < 0.05$)											
2	AA	AA	BB	AB	AC	16	*0.00	1.00	1.00	0.00	0.00
6	AA	AA	BB	AA	AA	15	*0.00	0.89	1.00	1.00	0.67
12	AB	AA	BB	AA	AB	13	*0.00	0.75	1.00	1.00	0.25
13	AA	AA	BB	AB	AC	14	*0.00	1.00	1.00	0.00	1.00
19	AA	AA	AB	AB	AB	11	*0.00	0.80	1.00	0.60	0.00
20	AA	AA	AB	AA	AA	6	*0.00	1.00	1.00	0.00	0.00

AA = représentation des génotypes des plantes mères qui sont homozygotes pour l'allèle 1
 BB = " " " " " " " " " " " " " " 2
 AB = " " " " " " " " " " " " " " 12
 AC = " " " " " " " " " " " " " " 13
 BC = " " " " " " " " " " " " " " 23
 DD = " " " " " " " " " " " " " " 4
 (-) = allèles non vus
 N = nombre des descendances étudiées
 S = Taux d'autofécondation vrai (selfing rate)
 E = Taux moyens d'autofécondation sur l'ensemble des loci (effective selfing rate).
 * = Mauvaise convergence de l'estimation

ANNEXE 11

Résultats des croisements contrôlés et des autofécondations effectués en terrain expérimental sur des plantes provenant des deux populations de L. latifolius (Doué la Fontaine (L2) et Avion (L3)).

- Tableau 1 : fertilité des différents types de croisements
- Tableau 2 : vérification des types de croisements effectuée par les marqueurs génétiques .



Tableau 1 : Fertilité des différents types de croisements dans les cages

Numéro de la station	Station	ALLOFECONDATION + AUTOFECONDATION		AUTOFECONDATION		
		intra population	inter population	STRICTE	REPETEE	
L2	Doué	Nb fl.	35	33	184	53
	la	Go/F	0.23	0.21	0	0.23
	Fontaine	Gr/Go	2.75	2.86	-	2.42
L3	Avion	Nb fl.	--	35	143	50
		Go/F	--	0.09	0.007	0.32
		Gr/Go	--	6.33	6	2.36

Nb fl. : nombre de fleurs
 Go/F : rapport gousses/fleur
 Gr/Go : rapport graines/gousse

- Il n'apparaît pas de différences entre la fertilité en croisements et la fertilité en autofécondations répétées. On peut donc se demander si le nombre de graines obtenues en croisements ne provient pas d'autofécondations. Une vérification génétique des descendants issus de croisements a donc été effectuée (Tableau 2)
- Si les résultats obtenus en croisements viennent d'allofécondations, les individus de Doué la Fontaine (L2) ne montrent pas de différences entre la fertilité des croisements intra-populations et la fertilité des croisements inter-populations.
- Il semble que les individus d'Avion (L3) montrent une plus grande aptitude à l'autofécondation, puisque certains individus sont capables de produire des graines en autofécondation stricte.

Tableau 2: Vérification des types de croisements effectuée par les marqueurs génétiques.

a) Croisement intra-population

Populations d'origine	LOCI					Position des graines dans la gousse	Issu d'allofécondation et d'autofécondation
	GOT1	GOT2	EST1	LAP1	AcPH1		
Doué (L2)							
	Génotype du père (A)	11	22	22	11	12	
Doué (L2)							
	Génotype de la mère (B)	11	22	22	22	12	
	Génotype de la descendance						
	Gousses						
	Individus						
	1	11	22	22	12	11	7
	1	11	22	22	12	11	9
	1	11	22	22	12	22	10
	1	11	22	22	12	22	13
	1	11	22	22	12	22	16
	3	11	22	22	22	12	8
	3	11	22	22	12	11	9
	3	11	22	22	22	11	11
	4	11	22	22	12	-	5
	4	11	22	22	22	11	7

b) Croisements Inter-populations

Doué (L2)								
	Génotype du père (C)	11	12	22	22	22		
Avion (L3)								
	Génotype de la mère (D)	11	11	22	12	11		
	Génotype de la descendance							
	Gousses							
	Individus							
	1	11	11	22	12	11	9	Autofécondation
	1	11	-	22	22	11	11	Autofécondation
	1	11	-	22	12	11	17	Autofécondation
	2	11	-	22	12	11	15	Autofécondation
	2	11	11	22	22	12	17	Allofécondation
	2	11	11	22	12	11	20	Autofécondation
	2	11	11	22	22	12	21	Autofécondation
	3	11	11	22	22	11	13	Autofécondation
Avion (L3)								
	Génotype du père (D)	11	11	22	12	11		
Doué (L2)								
	Génotype de la mère (C)	11	12	22	22	22		
	Génotype de la descendance							
	Gousses							
	Individus							
	2	11	12	22	22	12	14	Allofécondation
	3	11	11	22	12	12	7	Allofécondation
	3	11	12	22	12	12	13	Allofécondation
	4	11	12	22	12	12	12	Allofécondation

-: génotypes indéterminés

Commentaires sur le Tableau 2

En ce qui concerne les plantes provenant de la population de Doué la Fontaine, trois croisements différents permettent de détecter le pourcentage d'autofécondation obtenu lors des croisements non castrés. Au total, sur 15 descendants obtenus, trois proviennent d'autofécondation et 12 d'allofécondation. Le pourcentage d'autofécondation dans cette population est donc de $(3/15) \times 100$ c'est à dire 20%.

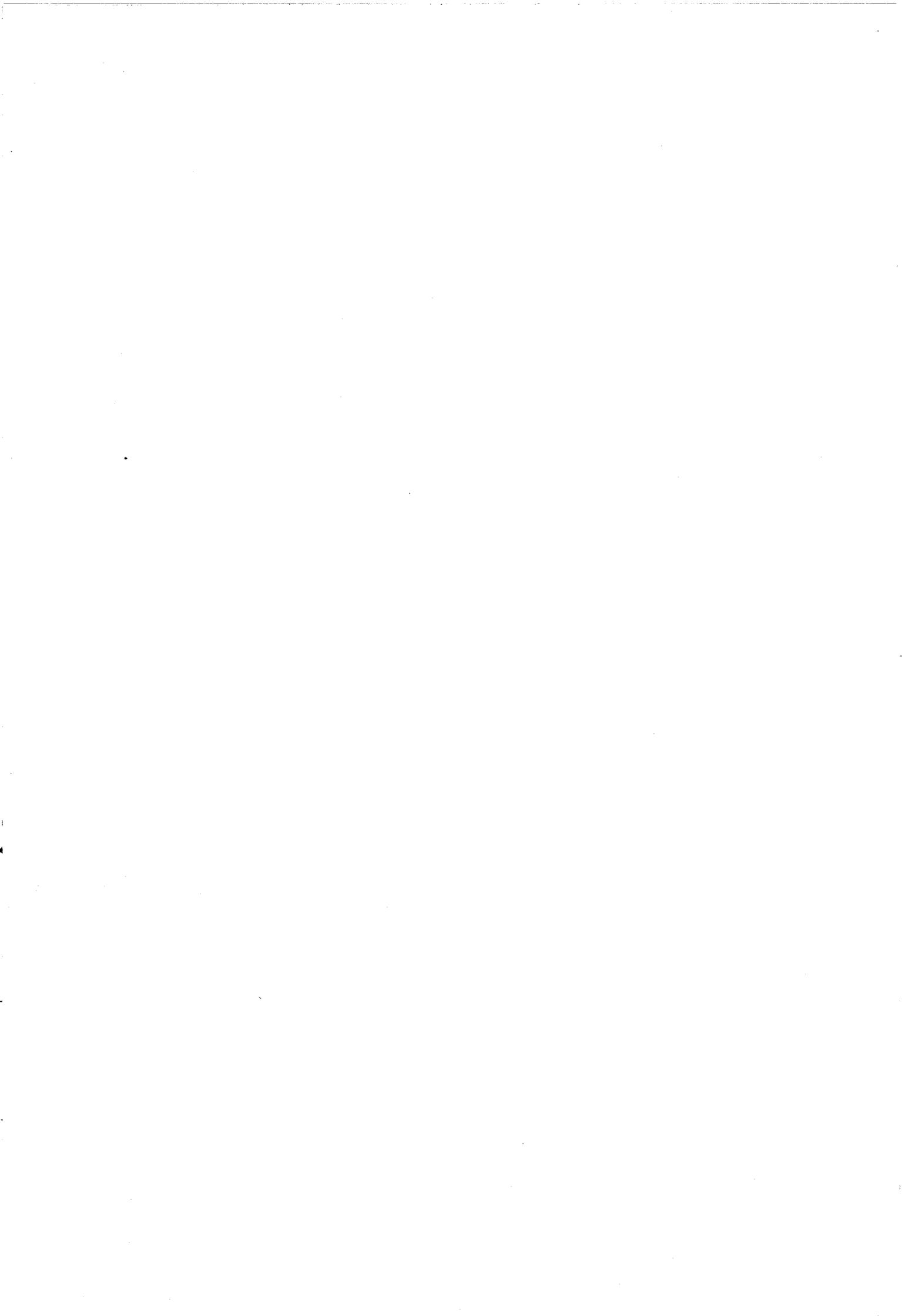
En ce qui concerne les plantes provenant de la population d'Avion, un seul croisement permet de détecter le pourcentage d'autofécondation obtenu lors des croisements non castrés. Sur 8 descendants obtenus, 7 proviennent d'autofécondation et 1 d'allofécondation. Le pourcentage d'autofécondation dans cette population est donc de $(7/8) \times 100$ c'est à dire 88%.

ANNEXE 12

DIFFERENTES COMPOSANTES
DE LA FERTILITE FEMELLE
OBTENUES SUR LES INDIVIDUS
DE LA GENERATION G1

Annexe 12a: fertilité femelle obtenue en
autofécondation répétée et
en fécondation libre

Annexe 12b: fertilité femelle obtenue en
autofécondation stricte



Annexe 12a: fertilité femelle obtenue en autofécondation répétée et en fécondation libre
 FERTILITES FEMELLES COMPAREES EN FECONDATION LIBRE ET EN AUTOFECONDATION
 SUR LES DESCENDANCES MATERNELLES RECOLTEES EN 1985 DANS LA POPULATION
 DE DOUE LA FONTAINE

IND= NUMEROTATION DES PLANTES MERES SUR LES CARTES
 CFA= CODAGE DES FAMILLES
 F= NUMEROTATION DES DESCENDANCES MATERNELLES ETUDIEES EN 1985
 CCFA= RECODAGE DES FAMILLES
 DESC= NUMERO DES DESCENDANCES APRES LE REPIQUAGE DANS LES POTS
 ND= RENUMEROTATION DES DESCENDANCES
 TCR= TYPE DE CROISEMENT
 1= FECONDATION LIBRE
 2= AUTOFECONDATION REPETEE
 INF= NUMEROTATION DES DEUX "MEILLEURES" INFLORESCENCES
 BT= NOMBRE DE BOUTONS FLORAUX SUR L'INFLORESCENCE
 GO= NOMBRE DE GOUSSES SUR L'INFLORESCENCE
 GR= NOMBRE DE GRAINES PRODUITES PAR L'INFLORESCENCE
 OV= NOMBRE D'OVULES PRODUITS PAR L'INFLORESCENCE
 GOBT= RAPPORT GOUSSES/BOUTONS FLORAUX
 GRBT= RAPPORT GRAINES/BOUTONS FLORAUX
 GRGO= RAPPORT GRAINES/GOUSSES
 GROV= RAPPORT GRAINES/OVULES
 SRR= SUCCES REPRODUCTEUR FEMELLE (GROV X GOBT)

IND	CFA	F	CCFA	DESC	ND	TCR	INF	BT	GO	GR	OV	GOBT	GRBT	GRGO	GROV	SRR
15	A	104	1	85	1	1	1	8	2	8	43	0.250	1.000	4.000	0.186	0.047
15	A	104	1	85	1	1	2	9	2	9	41	0.222	1.000	4.500	0.220	0.049
15	A	104	1	85	1	2	1	6	1	0	22	0.167	0.000	0.000	0.000	0.000
15	A	104	1	85	1	2	2	8	1	0	21	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
16	B	105	2	113	2	1	1	9	2	7	44	0.222	0.778	3.500	0.159	0.035
16	B	105	2	113	2	1	2	9	3	7	21	0.333	0.778	2.333	0.333	0.111
16	B	105	2	113	2	2	1	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
16	B	105	2	113	2	2	2	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
16	B	105	2	123	3	1	1	9	4	14	83	0.444	1.556	3.500	0.169	0.075
16	B	105	2	123	3	1	2	10	4	11	84	0.400	1.100	2.750	0.131	0.052
16	B	105	2	123	3	2	1	8	3	10	59	0.375	1.250	3.333	0.169	0.064
16	B	105	2	123	3	2	2	7	2	11	38	0.286	1.571	5.500	0.289	0.083
16	B	105	2	127	4	1	1	8	2	10	42	0.250	1.250	5.000	0.238	0.060
16	B	105	2	127	4	1	2	9	3	1	62	0.333	0.111	0.333	0.016	0.005
16	B	105	2	127	4	2	2	9	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
16	B	105	2	127	4	2	1	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
16	B	105	2	109	5	1	1	10	2	6	44	0.200	0.600	3.000	0.136	0.027
16	B	105	2	109	5	1	2	10	2	7	42	0.200	0.700	3.500	0.167	0.033
16	B	105	2	109	5	2	1	9	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
16	B	105	2	109	5	2	2	7	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	C	111	3	174	6	1	1	8	4	28	76	0.500	3.500	7.000	0.368	0.184
25	C	111	3	174	6	1	2	11	3	22	53	0.273	2.000	7.333	0.415	0.113
25	C	111	3	174	6	2	1	7	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	C	111	3	174	6	2	2	9	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	C	111	3	205	7	1	1	8	3	22	62	0.375	2.750	7.333	0.355	0.133
25	C	111	3	205	7	1	2	10	6	35	122	0.600	3.500	5.833	0.287	0.172
25	C	111	3	205	7	2	1	8	5	18	92	0.625	2.250	3.600	0.196	0.122
25	C	111	3	205	7	2	2	8	7	46	135	0.875	5.750	6.571	0.341	0.298
25	C	111	3	193	8	1	1	7	3	19	62	0.429	2.714	6.333	0.306	0.131
25	C	111	3	193	8	1	2	10	4	22	80	0.400	2.200	5.500	0.275	0.110
25	C	111	3	193	8	2	1	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
25	C	111	3	193	8	2	2	9	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

IND	CFA	F	CCFA	DESC	ND	TCR	INF	BT	GO	GR	OV	GOBT	GRBT	GRGO	GROV	SRR
26	D	108	4	212	9	1	1	12	4	9	77	0.333	0.750	2.250	0.117	0.039
26	D	108	4	212	9	1	2	10	3	16	60	0.300	1.600	5.333	0.267	0.080
26	D	108	4	212	9	2	2	10	4	26	77	0.400	2.600	6.500	0.338	0.135
26	D	108	4	212	9	2	1	11	4	27	78	0.364	2.455	6.750	0.346	0.126
26	D	108	4	315	10	1	1	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
26	D	108	4	315	10	1	2	8	3	2	60	0.375	0.250	0.667	0.033	0.013
26	D	108	4	315	10	2	2	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
26	D	108	4	315	10	2	1	11	2	0	40	0.182	0.000	0.000	0.000	0.000
26	D	108	4	214	11	1	1	9	2	21	39	0.222	2.333	10.500	0.538	0.120
26	D	108	4	214	11	1	2	8	2	13	39	0.250	1.625	6.500	0.333	0.083
26	D	108	4	214	11	2	2	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
26	D	108	4	214	11	2	1	9	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
26	D	108	4	207	12	1	1	8	2	11	42	0.250	1.375	5.500	0.262	0.065
26	D	108	4	207	12	1	2	8	2	11	40	0.250	1.375	5.500	0.275	0.069
26	D	108	4	207	12	2	1	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
26	D	108	4	207	12	2	2	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
29	E	110	5	244	13	1	2	7	2	15	39	0.286	2.143	7.500	0.385	0.110
29	E	110	5	244	13	1	1	9	2	12	41	0.222	1.333	6.000	0.293	0.065
29	E	110	5	244	13	2	2	11	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
29	E	110	5	244	13	2	1	9	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
29	E	110	5	230	14	1	1	9	3	23	61	0.333	2.556	7.667	0.377	0.126
29	E	110	5	230	14	1	2	10	3	22	64	0.300	2.200	7.333	0.344	0.103
29	E	110	5	230	14	2	2	10	5	29	98	0.500	2.900	5.800	0.296	0.148
29	E	110	5	230	14	2	1	9	5	31	96	0.556	3.444	6.200	0.323	0.179
29	E	110	5	245	15	1	1	7	3	19	61	0.429	2.714	6.333	0.311	0.133
29	E	110	5	245	15	1	2	7	3	24	63	0.429	3.429	8.000	0.381	0.163
29	E	110	5	245	15	2	1	7	3	14	58	0.429	2.000	4.667	0.241	0.103
29	E	110	5	245	15	2	2	8	1	0	18	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
29	E	110	5	219	16	1	2	10	4	25	79	0.400	2.500	6.250	0.316	0.127
29	E	110	5	219	16	1	1	9	4	11	79	0.444	1.222	2.750	0.139	0.062
29	E	110	5	219	16	2	1	10	6	24	123	0.600	2.400	4.000	0.195	0.117
29	E	110	5	219	16	2	2	10	4	16	82	0.400	1.600	4.000	0.195	0.078
29	E	110	5	256	17	1	1	10	1	1	22	0.100	0.100	1.000	0.045	0.005
29	E	110	5	256	17	1	2	10	1	3	21	0.100	0.300	3.000	0.143	0.014
29	E	110	5	256	17	2	2	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
29	E	110	5	256	17	2	1	7	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30	F	112	6	288	18	1	1	8	2	5	39	0.250	0.625	2.500	0.128	0.032
30	F	112	6	288	18	1	2	10	3	14	60	0.300	1.400	4.667	0.233	0.070
30	F	112	6	288	18	2	2	11	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30	F	112	6	288	18	2	1	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30	F	112	6	276	19	1	1	10	2	10	43	0.200	1.000	5.000	0.233	0.047
30	F	112	6	276	19	1	2	11	3	16	61	0.273	1.455	5.333	0.262	0.072
30	F	112	6	276	19	2	1	8	1	5	18	0.125	0.625	5.000	0.278	0.035
30	F	112	6	276	19	2	2	10	3	12	58	0.300	1.200	4.000	0.207	0.062
30	F	112	6	332	20	1	1	7	2	15	41	0.286	2.143	7.500	0.366	0.105
30	F	112	6	332	20	1	2	7	2	9	40	0.286	1.286	4.500	0.225	0.064
30	F	112	6	332	20	2	2	9	1	3	20	0.111	0.333	3.000	0.150	0.017
30	F	112	6	332	20	2	1	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30	F	112	6	266	21	1	1	8	2	9	41	0.250	1.125	4.500	0.220	0.055
30	F	112	6	266	21	1	2	9	2	11	44	0.222	1.222	5.500	0.250	0.056
30	F	112	6	266	21	2	1	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30	F	112	6	226	21	2	2	7	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
30	F	112	6	296	22	1	1	8	2	12	39	0.250	1.500	6.000	0.308	0.077
30	F	112	6	296	22	1	2	9	2	13	36	0.222	1.444	6.500	0.361	0.080
30	F	112	6	296	22	2	2	7	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

IND	CFA	F	CCFA	DESC	ND	TCR	INF	BT	GO	GR	OV	GOBT	GRBT	GRGO	GROV	SRR
30	F	112	6	296	22	2	1	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
50	G	113	7	325	23	1	1	9	3	20	57	0.333	2.222	6.667	0.351	0.117
50	G	113	7	325	23	1	2	8	2	13	39	0.250	1.625	6.500	0.333	0.083
50	G	113	7	325	23	2	2	8	4	19	78	0.500	2.375	4.750	0.244	0.122
50	G	113	7	325	23	2	1	8	5	14	102	0.625	1.750	2.800	0.137	0.086
50	G	113	7	298	24	1	1	9	2	9	37	0.222	1.000	4.500	0.243	0.054
50	G	113	7	298	24	1	2	9	2	10	39	0.222	1.111	5.000	0.256	0.057
50	G	113	7	298	24	2	2	8	3	10	56	0.375	1.250	3.333	0.179	0.067
50	G	113	7	298	24	2	1	11	3	15	58	0.273	1.364	5.000	0.259	0.071
50	G	113	7	331	25	2	2	10	1	3	20	0.100	0.300	3.000	0.150	0.015
50	G	113	7	331	25	2	1	10	2	5	39	0.200	0.500	2.500	0.128	0.026
50	G	113	7	331	25	1	1	8	2	6	40	0.250	0.750	3.000	0.150	0.037
50	G	113	7	331	25	1	2	7	2	13	37	0.286	1.857	6.500	0.351	0.100
51	H	114	8	307	26	2	2	8	2	7	39	0.250	0.875	3.500	0.179	0.045
51	H	114	8	307	26	2	1	8	2	8	37	0.250	1.000	4.000	0.216	0.054
51	H	114	8	307	26	1	2	7	2	5	41	0.286	0.714	2.500	0.122	0.035
51	H	114	8	307	26	1	1	9	2	9	38	0.222	1.000	4.500	0.237	0.053
51	H	114	8	301	27	2	2	5	2	4	40	0.400	0.800	2.000	0.100	0.040
51	H	114	8	301	27	2	1	7	2	4	40	0.286	0.571	2.000	0.100	0.029
51	H	114	8	301	27	1	1	10	1	5	21	0.100	0.500	5.000	0.238	0.024
51	H	114	8	301	27	1	2	10	1	0	20	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000
51	H	114	8	302	28	2	1	11	5	20	96	0.455	1.818	4.000	0.208	0.095
51	H	114	8	302	28	2	2	8	4	5	75	0.500	0.625	1.250	0.067	0.033
51	H	114	8	302	28	1	1	9	2	9	38	0.222	1.000	4.500	0.237	0.053
51	H	114	8	302	28	1	2	10	2	6	37	0.200	0.600	3.000	0.162	0.032
51	H	114	8	312	29	2	2	9	4	16	83	0.444	1.778	4.000	0.193	0.086
51	H	114	8	312	29	2	1	8	4	4	84	0.500	0.500	1.000	0.048	0.024
51	H	114	8	312	29	1	1	8	1	0	19	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
51	H	114	8	312	29	1	2	9	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
51	H	114	8	311	30	2	2	8	4	0	80	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000
51	H	114	8	311	30	2	1	8	3	0	63	0.375	0.000	0.000	0.000	0.000
51	H	114	8	311	30	1	1	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
51	H	114	8	311	30	1	2	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
60	I	115	9	318	31	2	2	6	3	12	58	0.500	2.000	4.000	0.207	0.103
60	I	115	9	318	31	2	1	8	4	25	72	0.500	3.125	6.250	0.347	0.174
60	I	115	9	318	31	1	1	9	4	30	75	0.444	3.333	7.500	0.400	0.178
60	I	115	9	318	31	1	2	8	4	15	78	0.500	1.875	3.750	0.192	0.096
64	J	116	10	382	32	2	2	8	6	29	112	0.750	3.625	4.833	0.259	0.194
64	J	116	10	382	32	2	1	10	6	23	112	0.600	2.300	3.833	0.205	0.123
64	J	116	10	382	32	1	1	10	4	11	76	0.400	1.100	2.750	0.145	0.058
64	J	116	10	382	32	1	2	11	2	15	35	0.182	1.364	7.500	0.429	0.078
64	J	116	10	400	33	2	1	9	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
64	J	116	10	400	33	2	2	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
64	J	116	10	400	33	1	2	9	3	21	66	0.333	2.333	7.000	0.318	0.106
64	J	116	10	400	33	1	1	9	4	19	81	0.444	2.111	4.750	0.235	0.104
74	K	117	11	380	34	2	2	6	1	0	21	0.167	0.000	0.000	0.000	0.000
74	K	117	11	380	34	2	1	7	2	0	35	0.286	0.000	0.000	0.000	0.000
74	K	117	11	380	34	1	1	10	4	23	78	0.400	2.300	5.750	0.295	0.118
74	K	117	11	380	34	1	2	9	2	15	40	0.222	1.667	7.500	0.375	0.083
74	K	117	11	381	35	2	2	10	5	29	92	0.500	2.900	5.800	0.315	0.158
74	K	117	11	381	35	2	1	8	3	20	52	0.375	2.500	6.667	0.385	0.144
74	K	117	11	381	35	1	1	8	3	21	58	0.375	2.625	7.000	0.362	0.136
74	K	117	11	381	35	1	2	7	3	24	57	0.429	3.429	8.000	0.421	0.180
74	K	117	11	384	36	2	1	8	5	29	95	0.625	3.625	5.800	0.305	0.191
74	K	117	11	384	36	2	2	8	4	17	79	0.500	2.125	4.250	0.215	0.108

IND	CFA	F	CCFA	DESC	ND	TCR	INF	BT	GO	GR	OV	GOBT	GRBT	GRGO	GROV	SSR
74	K	117	11	384	36	1	1	9	3	0	56	0.333	0.000	0.000	0.000	0.000
74	K	117	11	384	36	1	2	7	3	22	57	0.429	3.143	7.333	0.386	0.165
74	K	117	11	370	37	2	2	7	1	8	19	0.143	1.143	8.000	0.421	0.060
74	K	117	11	370	37	2	1	10	3	11	34	0.300	1.100	3.667	0.324	0.097
74	K	117	11	370	37	1	1	10	2	17	33	0.200	1.700	8.500	0.515	0.103
74	K	117	11	370	37	1	2	7	2	16	37	0.286	2.286	8.000	0.432	0.124
74	K	117	11	399	38	2	2	7	3	12	54	0.429	1.714	4.000	0.222	0.095
74	K	117	11	399	38	2	1	8	2	3	40	0.250	0.375	1.500	0.075	0.019
74	K	117	11	399	38	1	1	10	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
74	K	117	11	399	38	1	2	8	1	6	19	0.125	0.750	6.000	0.316	0.039
78	L	118	12	375	39	2	2	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
78	L	118	12	375	39	2	1	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
78	L	118	12	375	39	1	1	7	1	5	21	0.143	0.714	5.000	0.238	0.034
78	L	118	12	375	39	1	2	8	2	6	42	0.250	0.750	3.000	0.143	0.036
78	L	118	12	345	40	2	2	8	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
78	L	118	12	345	40	2	1	10	1	0	19	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000
78	L	118	12	345	40	1	2	11	2	13	42	0.182	1.182	6.500	0.310	0.056
78	L	118	12	345	40	1	1	8	1	10	22	0.125	1.250	10.000	0.455	0.057
78	L	118	12	360	41	2	2	10	2	12	36	0.200	1.200	6.000	0.333	0.067
78	L	118	12	360	41	2	1	8	2	12	39	0.250	1.500	6.000	0.308	0.077
78	L	118	12	360	41	1	1	10	3	19	58	0.300	1.900	6.333	0.328	0.098
78	L	118	12	360	41	1	2	11	4	29	80	0.364	2.636	7.250	0.362	0.132
78	L	118	12	390	42	2	2	7	2	5	38	0.286	0.714	2.500	0.132	0.038
78	L	118	12	390	42	2	1	6	1	4	19	0.167	0.667	4.000	0.211	0.035
78	L	118	12	390	42	1	1	10	3	16	56	0.300	1.600	5.333	0.286	0.086
78	L	118	12	390	42	1	2	9	2	10	38	0.222	1.111	5.000	0.263	0.058
78	L	118	12	348	43	2	1	8	3	18	52	0.375	2.250	6.000	0.346	0.130
78	L	118	12	348	43	2	2	10	6	16	113	0.600	1.600	2.667	0.142	0.085
78	L	118	12	348	43	1	1	11	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
78	L	118	12	348	43	1	2	8	1	0	18	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000
86	M	119	13	386	44	2	2	10	5	24	79	0.500	2.400	4.800	0.304	0.152
86	M	119	13	386	44	2	1	8	4	15	82	0.500	1.875	3.750	0.183	0.091
86	M	119	13	386	44	1	2	8	2	11	37	0.250	1.375	5.500	0.297	0.074
86	M	119	13	386	44	1	1	9	3	17	57	0.333	1.889	5.667	0.298	0.099
86	M	119	13	393	45	2	1	10	2	0	31	0.200	0.000	0.000	0.000	0.000
86	M	119	13	393	45	2	2	7	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
86	M	119	13	393	45	1	1	8	2	15	38	0.250	1.875	7.500	0.395	0.099
86	M	119	13	393	45	1	2	7	2	17	38	0.286	2.429	8.500	0.447	0.128
86	M	119	13	405	46	2	2	9	2	9	41	0.222	1.000	4.500	0.220	0.049
86	M	119	13	405	46	2	1	9	1	9	20	0.111	1.000	9.000	0.450	0.050
86	M	119	13	405	46	1	2	9	3	15	65	0.333	1.667	5.000	0.231	0.077
86	M	119	13	405	46	1	1	10	4	36	85	0.400	3.600	9.000	0.424	0.169

IND	CFA	F	CCFA	DESC	ND	INF	BT	GO	GR	OV	GOBT	GRBT	GRGO	GROV	SRR
26	D	108	4	207	12	3	8								
29	E	110	5	244	13	1	10								
29	E	110	5	244	13	2	9								
29	E	110	5	230	14	1	11								
29	E	110	5	230	14	2	10								
29	E	110	5	245	15	1	9								
29	E	110	5	245	15	2	12								
29	E	110	5	245	15	3	11								
29	E	110	5	219	16	1	7								
29	E	110	5	219	16	2	10								
29	E	110	5	219	16	3	7								
29	E	110	5	256	17	1	9								
29	E	110	5	256	17	2	7								
29	E	110	5	256	17	3	8								
30	F	112	6	288	18	1	10								
30	F	112	6	288	18	2	8								
30	F	112	6	288	18	3	9								
30	F	112	6	276	19	1	7								
30	F	112	6	276	19	2	7								
30	F	112	6	276	19	3	7								
30	F	112	6	332	20	1	10								
30	F	112	6	332	20	2	9								
30	F	112	6	266	21	1	8								
30	F	112	6	266	21	2	9								
30	F	112	6	266	21	3	7								
30	F	112	6	296	22	1	10								
30	F	112	6	296	22	2	8								
30	F	112	6	296	22	3	9								
50	G	113	7	325	23	1	8								
50	G	113	7	325	23	2	5								
50	G	113	7	325	23	3	8								
50	G	113	7	298	24	1	10								
50	G	113	7	298	24	2	7								
50	G	113	7	298	24	3	10								
50	G	113	7	331	25	1	5								
50	G	113	7	331	25	2	10								
50	G	113	7	331	25	3	7								
50	G	113	7	331	25	4	10								
51	H	114	8	307	26	1	7								
51	H	114	8	307	26	2	8								
51	H	114	8	307	26	3	6								
51	H	114	8	301	27	1	6								
51	H	114	8	301	27	2	5								
51	H	114	8	301	27	3	7								
51	H	114	8	302	28	1	9								
51	H	114	8	302	28	2	8								
51	H	114	8	312	29	1	9								
51	H	114	8	312	29	2	11								
51	H	114	8	312	29	3	9								
51	H	114	8	311	30	1	10								
51	H	114	8	311	30	2	8								
51	H	114	8	311	30	3	8								
51	H	114	8	311	30	4	10								
51	H	114	8	311	30	5	10								
60	I	115	9	318	31	1	8	1		0					

ANNEXE 13

DIFFERENTES COMPOSANTES DE
LA FERTILITE MALE
OBTENUES SUR LES INDIVIDUS
DE LA GENERATION G1

FERTILITES MALES OBSERVEES SUR LES DESCENDANCES MATERNELLES RECOLTEES
EN 1985 DANS LA POPULATION DE DOUE LA FONTAINE

IND=NUMEROTATION DES PLANTES MERES SUR LES CARTES

CFA= CODAGE DES FAMILLES

F= NUMEROTATION DES DESCENDANCES MATERNELLES ETUDIEES EN 1985

CCF= RECODAGE DES FAMILLES

DESC= NUMERO DES DESCENDANCES APRES LE REPIQUAGE DANS LES POTS

ND= RENUMEROTATION DES DESCENDANCES

ETA= NOMBRE TOTAL D'ETAMINES ETUDIEES

OV= NOMBRE D'OVULES PAR FLEUR (COMPTES DANS L'OVAIRE)

GRPL= NOMBRE DE GRAINS DE POLLEN PRODUIT PAR FLEUR

RPLOV= POLLEN/OVULE RATIO

PLVIBT= GRAINS DE POLLEN VIABLES/FLEUR

PLVIOV= GRAINS DE POLLEN VIABLES/OVULES

FRM= FERTILITE MALE (GRPL X PLVIBT)

IND	CFA	F	CCF	DESC	ND	ETA	OV	GRPL	RPLOV	PLVIBT	PLVIOV	FRM
15	A	104	1	85	1	20	16.5	58842	3566.18	0.9009	9.0909	53010.81
16	B	105	2	113	2	20	19.5	49298	2528.10	0.7723	6.4359	38073.22
16	B	105	2	123	3	20	22.0	35700	1622.73	0.8353	6.4545	29820.00
16	B	105	2	127	4	20	16.0	24896	1556.00	0.6033	5.6563	15020.59
16	B	105	2	109	5	20	17.5	37884	2164.80	0.9633	8.2571	36494.92
25	C	111	4	174	6	20	20.0	61656	3082.80	0.9110	7.6750	56167.34
25	C	111	4	193	7	20	20.0	51471	2573.55	0.9404	7.5000	48405.33
25	C	111	4	205	8	20	17.0	62370	3668.82	0.7959	8.0294	49641.43
26	D	108	5	315	9	20	19.5	61803	3169.38	0.7971	7.1538	49265.82
26	D	108	5	207	10	20	17.5	60239	3442.23	0.8047	7.8857	48472.20
26	D	108	5	214	11	20	19.5	53739	2755.85	0.9674	7.6154	51988.54
26	D	108	5	212	12	20	18.5	68418	3698.27	0.8955	8.1081	61269.85
29	E	110	6	219	13	20	19.0	60123	3164.37	0.8462	6.9474	50873.31
29	E	110	6	245	14	20	17.5	38315	2189.43	0.9010	8.0571	34520.22
29	E	110	6	230	15	20	20.0	57677	2883.85	0.9271	7.6250	53469.56
29	E	110	6	256	16	20	20.0	56018	2800.90	0.9169	7.7250	51363.69
29	E	110	6	244	17	20	15.5	49287	3179.81	0.8261	9.1935	40715.35
30	F	112	7	276	18	20	19.5	32645	1674.10	0.7973	6.1538	26029.24
30	F	112	7	332	19	20	18.0	47607	2644.83	0.7973	6.6667	37959.07
30	F	112	7	288	20	20	17.0	86982	5116.59	0.9321	8.8824	81075.81
30	F	112	7	266	21	20	20.5	75873	3701.12	0.9145	6.7805	69383.86
30	F	112	7	296	22	20	18.5	60648	3278.27	0.9555	8.7027	57948.53
50	G	113	8	325	23	20	19.0	49833	2622.79	0.9840	8.0789	49034.39
50	G	113	8	331	24	20	18.0	28980	1610.00	0.8000	7.7778	23184.00
50	G	113	8	298	25	20	18.5	43134	2331.57	0.9219	7.9730	39764.16
51	H	114	9	307	26	20	18.0	48531	2696.17	0.8909	8.3889	43234.11
51	H	114	9	302	27	20	19.0	62034	3264.95	0.8723	7.5526	54114.77
51	H	114	9	311	28	20	18.5	24591	1329.24	0.7574	6.2432	18624.66
51	H	114	9	312	29	20	19.5	44079	2260.46	0.8511	7.1795	37514.04
51	H	114	9	301	30	20	18.0	47208	2622.67	0.8413	7.3611	39714.67
60	I	115	10	318	31	20	19.0	55209	2905.74	0.8854	8.1316	48881.32
64	J	116	11	382	32	20	19.5	68985	3537.69	0.8515	6.6154	58739.70
64	J	116	11	400	33	20	19.0	70413	3705.95	0.9167	8.6842	64545.25
74	K	117	12	380	34	20	18.5	47208	2551.78	0.7185	5.8649	33920.98
74	K	117	12	384	35	20	17.5	60974	3484.23	0.6676	6.9429	40705.17
74	K	117	12	399	36	20	19.5	65310	3349.23	0.9261	8.3590	60485.97
74	K	117	12	381	37	20	19.0	53655	2823.95	0.8903	7.4737	47768.09
74	K	117	12	370	38	20	17.0	46368	2727.53	0.9119	8.8235	42280.85
78	L	118	13	348	39	20	18.5	41013	2216.92	0.6914	6.0541	28354.67

IND_CFA	F	CCF	DESC	ND	ETA	OV	GRPL	RPLOV	PLVIBT	PLVIOV	FRM	
78	L	118	13	360	40	20	19.5	52227	2678.31	0.9277	7.5641	48449.58
78	L	118	13	345	41	20	18.0	49959	2775.50	0.8987	7.6389	44897.79
78	L	118	13	375	42	20	20.5	34755	1695.37	0.8019	6.1220	27870.62
78	L	118	13	390	43	20	19.5	76997	3948.56	0.9548	7.5897	73519.72
86	M	119	14	393	44	20	20.0	37254	1862.70	0.6835	5.4000	25464.76
86	M	119	14	386	45	20	17.5	39081	2233.20	0.6910	5.9429	27006.14
86	M	119	14	405	46	20	20.5	55776	2720.78	0.9211	6.8293	51372.63

ANNEXE 14

NOMBRE DE FRUITS PAR FLEURS
ET NOMBRE DE GRAINES PAR FRUITS
OBTENUS DANS LES 2 PARTIES
DE L'INFLORESCENCE POUR CHAQUE
INDIVIDU DE LA GENERATION G1 ET
POUR CHAQUE TYPE DE "CROISEMENT"



NOMBRE DE FRUITS PAR FLEURS ET NOMBRE DE GRAINES PAR FRUITS OBTENUS
EN FECONDATION LIBRE ET EN AUTOFECONDATION REPETEE DANS LES 2 PARTIES
DE L'INFLORESCENCE

IND=NUMEROTATION DES PLANTES MERES SUR LES CARTES

CFA= CODAGE DES FAMILLES

F= NUMEROTATION DES DESCENDANCES MATERNELLES ETUDIEES EN 1985

CCFA= RECODAGE DES FAMILLES

DESC= NUMEROTATION DES DESCENDANCES APRES LE REPIQUAGE DANS LES POTS

ND= RENUMEROTATION DES DESCENDANCES

CLA= DIVISION DE L'INFLORESCENCE EN DEUX CLASSES

1: PARTIE BASSE (PROCHE DE LA MERE)

2: PARTIE HAUTE

INF= NUMERO DE L'INFLORESCENCE

BT= NOMBRE DE BOUTONS

GO= NOMBRE DE GOUSSES

GR= NOMBRE DE GRAINES

GOBT= NOMBRE DE GOUSSES / NOMBRE DE BOUTONS FLORAUX

GRGO= NOMBRE DE GRAINES PRODUITES / NOMBRE DE GOUSSES

FA	CFA	F	NFA	DESC	ND	TCR	CLA	INF	BT	GO	GR	GOBT	GRGO
15	A	104	1	85	1	1	1	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
15	A	104	1	85	1	1	1	2	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
15	A	104	1	85	1	1	2	1	8	1.0	4.0	0.1250	4.0000
15	A	104	1	85	1	1	2	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
15	A	104	1	85	1	2	2	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
15	A	104	1	85	1	2	2	1	8	1.0	4.0	0.1250	4.0000
15	A	104	1	85	1	2	1	2	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
15	A	104	1	85	1	2	1	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
16	B	105	2	123	2	1	1	2	7	1.5	9.0	0.2143	6.0000
16	B	105	2	123	2	1	2	2	7	0.5	2.0	0.0714	4.0000
16	B	105	2	123	2	1	2	1	8	1.0	3.0	0.1250	3.0000
16	B	105	2	123	2	1	1	1	8	2.0	7.0	0.2500	3.5000
16	B	105	2	123	2	2	1	1	8	1.0	1.0	0.1250	1.0000
16	B	105	2	123	2	2	1	2	7	1.5	9.0	0.2143	6.0000
16	B	105	2	123	2	2	2	1	8	1.0	2.0	0.1250	2.0000
16	B	105	2	123	2	2	2	2	7	0.5	2.0	0.0714	4.0000
25	C	111	3	205	3	1	1	1	8	3.0	12.0	0.3750	4.0000
25	C	111	3	205	3	1	2	1	8	2.0	6.0	0.2500	3.0000
25	C	111	3	205	3	1	2	2	8	3.0	18.0	0.3750	6.0000
25	C	111	3	205	3	1	1	2	8	4.0	28.0	0.5000	7.0000
25	C	111	3	205	3	2	2	2	8	3.0	18.0	0.3750	6.0000
25	C	111	3	205	3	2	2	1	8	2.0	6.0	0.2500	3.0000
25	C	111	3	205	3	2	1	1	8	3.0	12.0	0.3750	4.0000
25	C	111	3	205	3	2	1	2	8	4.0	28.0	0.5000	7.0000
26	D	108	4	212	4	1	1	2	10	2.0	12.0	0.2000	6.0000
26	D	108	4	212	4	1	1	1	11	2.0	14.0	0.1818	7.0000
26	D	108	4	212	4	1	2	2	10	2.0	14.0	0.2000	7.0000
26	D	108	4	212	4	1	2	1	11	2.0	13.0	0.1818	6.5000
26	D	108	4	212	4	2	1	2	10	2.0	12.0	0.2000	6.0000
26	D	108	4	212	4	2	1	1	11	0.5	1.5	0.0455	3.0000
26	D	108	4	212	4	2	2	1	11	2.0	13.0	0.1818	6.5000
26	D	108	4	212	4	2	2	2	10	2.0	14.0	0.2000	7.0000
29	E	110	5	230	5	1	1	2	10	3.0	18.0	0.3000	6.0000
29	E	110	5	230	5	1	1	1	9	3.5	24.0	0.3889	6.8571
29	E	110	5	230	5	1	2	1	9	1.5	7.0	0.1667	4.6667
29	E	110	5	230	5	1	2	2	10	2.0	11.0	0.2000	5.5000

FA	CFA	F	NFA	DESC	ND	TCR	CLA	INF	BT	GO	GR	GOBT	GRGO
29	E	110	5	230	5	2	1	2	10	3.0	18.0	0.3000	6.0000
29	E	110	5	230	5	2	1	1	9	1.5	7.0	0.1667	4.6667
29	E	110	5	230	5	2	2	2	10	2.0	11.0	0.2000	5.5000
29	E	110	5	230	5	2	2	1	9	3.5	24.0	0.3889	6.8571
29	E	110	5	245	6	1	1	1	7	1.5	9.5	0.2143	6.3333
29	E	110	5	245	6	1	2	1	7	1.5	4.5	0.2143	3.0000
29	E	110	5	245	6	1	1	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
29	E	110	5	245	6	1	2	2	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
29	E	110	5	245	6	2	2	2	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
29	E	110	5	245	6	2	2	1	1	7.0	1.5	4.5000	0.2100
29	E	110	5	245	6	2	1	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
29	E	110	5	245	6	2	1	1	7	1.5	9.5	0.2143	6.3333
29	E	110	5	219	7	1	1	2	10	3.0	12.0	0.3000	4.0000
29	E	110	5	219	7	1	2	2	10	1.0	4.0	0.1000	4.0000
29	E	110	5	219	7	1	2	1	10	2.0	9.0	0.2000	4.5000
29	E	110	5	219	7	1	1	1	10	4.0	15.0	0.4000	3.7500
29	E	110	5	219	7	2	2	1	10	2.0	9.0	0.2000	4.5000
29	E	110	5	219	7	2	2	2	10	1.0	4.0	0.1000	4.0000
29	E	110	5	219	7	2	1	2	9	1.0	4.0	0.1111	4.0000
29	E	110	5	219	7	2	1	1	10	4.0	15.0	0.4000	3.7500
30	F	112	6	276	8	1	2	2	10	1.0	3.0	0.1000	3.0000
30	F	112	6	276	8	1	2	1	8	1.0	5.0	0.1250	5.0000
30	F	112	6	276	8	1	1	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
30	F	112	6	276	8	1	1	2	10	2.0	9.0	0.2000	4.5000
30	F	112	6	276	8	2	1	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
30	F	112	6	276	8	2	1	2	10	2.0	9.0	0.2000	4.5000
30	F	112	6	276	8	2	2	1	8	1.0	5.0	0.1250	5.0000
30	F	112	6	276	8	2	2	2	10	1.0	3.0	0.1000	3.0000
50	G	113	7	325	9	1	1	1	8	2.0	6.0	0.2500	3.0000
50	G	113	7	325	9	1	1	2	8	2.0	11.0	0.2500	5.5000
50	G	113	7	325	9	1	2	1	8	3.0	8.0	0.3750	2.6667
50	G	113	7	325	9	1	2	2	8	2.0	8.0	0.2500	4.0000
50	G	113	7	325	9	2	2	2	8	2.0	8.0	0.2500	4.0000
50	G	113	7	325	9	2	2	1	8	3.0	8.0	0.3750	2.6667
50	G	113	7	325	9	2	1	2	8	2.0	11.0	0.2500	5.5000
50	G	113	7	325	9	2	1	1	8	2.0	6.0	0.2500	3.0000
50	G	113	7	298	10	1	2	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
50	G	113	7	298	10	1	2	1	11	0.0	0.0	0.0000	0.0000
50	G	113	7	298	10	1	1	1	11	3.0	15.0	0.2727	5.0000
50	G	113	7	298	10	1	1	2	8	3.0	10.0	0.3750	3.3333
50	G	113	7	298	10	2	1	2	8	3.0	10.0	0.3750	3.3333
50	G	113	7	298	10	2	1	1	11	3.0	15.0	0.2727	5.0000
50	G	113	7	298	10	2	2	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
50	G	113	7	298	10	2	2	1	11	0.0	0.0	0.0000	0.0000
50	G	113	7	331	11	1	2	2	10	0.0	0.0	0.0000	0.0000
50	G	113	7	331	11	1	1	2	10	1.0	3.0	0.1000	3.0000
50	G	113	7	331	11	1	1	1	10	1.0	3.0	0.1000	3.0000
50	G	113	7	331	11	1	2	1	10	1.0	2.0	0.1000	2.0000
50	G	113	7	331	11	2	2	1	10	1.0	2.0	0.1000	2.0000
50	G	113	7	331	11	2	2	2	10	0.0	0.0	0.0000	0.0000
50	G	113	7	331	11	2	1	1	10	1.0	3.0	0.1000	3.0000
50	G	113	7	331	11	2	1	2	10	1.0	3.0	0.1000	3.0000
51	H	114	8	307	12	1	2	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	307	12	1	2	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	307	12	1	1	1	8	2.0	8.0	0.2500	4.0000

FA	CFA	F	NFA	DESC	ND	TCR	CLA	INF	BT	GO	GR	GOBT	GRGO
51	H	114	8	307	12	1	1	2	8	2.0	7.0	0.2500	3.5000
51	H	114	8	307	12	2	1	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	307	12	2	1	2	8	2.0	7.0	0.2500	3.5000
51	H	114	8	307	12	2	2	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	307	12	2	2	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	301	13	1	2	1	7	2.0	4.0	0.2857	2.0000
51	H	114	8	301	13	1	1	1	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	301	13	1	1	2	5	1.5	3.0	0.3000	2.0000
51	H	114	8	301	13	1	2	2	5	0.5	1.0	0.1000	2.0000
51	H	114	8	301	13	2	1	1	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	301	13	2	1	2	5	1.5	3.0	0.3000	2.0000
51	H	114	8	301	13	2	2	1	7	2.0	4.0	0.2857	2.0000
51	H	114	8	301	13	2	2	2	5	0.5	1.0	0.1000	2.0000
51	H	114	8	302	14	1	2	2	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
51	H	114	8	302	14	1	1	1	11	3.5	14.0	0.3182	4.0000
51	H	114	8	302	14	1	2	1	11	1.5	6.0	0.1364	4.0000
51	H	114	8	302	14	1	1	2	8	3.0	5.0	0.3750	1.6667
51	H	114	8	302	14	2	1	1	11	3.5	14.0	0.3182	4.0000
51	H	114	8	302	14	2	1	2	8	3.0	5.0	0.3750	1.6667
51	H	114	8	302	14	2	2	2	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
51	H	114	8	302	14	2	2	1	11	1.5	6.0	0.1364	4.0000
64	J	116	10	382	15	1	2	2	8	3.0	16.0	0.3750	5.3333
64	J	116	10	382	15	1	2	1	10	3.0	10.0	0.3000	3.3333
64	J	116	10	382	15	1	1	1	10	3.0	13.0	0.3000	4.3333
64	J	116	10	382	15	1	1	2	8	3.0	13.0	0.3750	4.3333
64	J	116	10	382	15	2	1	1	10	3.0	13.0	0.3000	4.3333
64	J	116	10	382	15	2	1	2	8	3.0	13.0	0.3750	4.3333
64	J	116	10	382	15	2	2	2	8	3.0	16.0	0.3750	5.3333
64	J	116	10	382	15	2	2	1	10	3.0	10.0	0.3000	3.3333
74	K	117	11	380	16	1	1	2	6	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	380	16	1	1	1	7	2.0	0.0	0.2857	0.0000
74	K	117	11	380	16	1	2	2	6	1.0	0.0	0.1667	0.0000
74	K	117	11	380	16	1	2	1	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	380	16	2	1	1	7	2.0	0.0	0.2857	0.0000
74	K	117	11	380	16	2	1	2	6	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	380	16	2	2	2	6	1.0	0.0	0.1667	0.0000
74	K	117	11	380	16	2	2	1	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	381	17	1	2	2	10	1.0	6.0	0.1000	6.0000
74	K	117	11	381	17	1	2	1	8	1.0	7.0	0.1250	7.0000
74	K	117	11	381	17	1	1	1	8	2.0	13.0	0.2500	6.5000
74	K	117	11	381	17	2	1	1	8	2.0	13.0	0.2500	6.5000
74	K	117	11	381	17	2	1	2	10	4.0	23.0	0.4000	5.7500
74	K	117	11	381	17	2	2	1	8	1.0	7.0	0.1250	7.0000
74	K	117	11	381	17	2	2	2	10	1.0	6.0	0.1000	6.0000
74	K	117	11	384	18	1	1	1	8	2.0	14.0	0.2500	7.0000
74	K	117	11	384	18	1	2	1	8	3.0	15.0	0.3750	5.0000
74	K	117	11	384	18	1	1	2	8	2.0	9.0	0.2500	4.5000
74	K	117	11	384	18	1	2	2	8	2.0	8.0	0.2500	4.0000
74	K	117	11	384	18	2	1	2	8	2.0	9.0	0.2500	4.5000
74	K	117	11	384	18	2	1	1	8	2.0	14.0	0.2500	7.0000
74	K	117	11	384	18	2	2	2	8	2.0	8.0	0.2500	4.0000
74	K	117	11	384	18	2	2	1	8	3.0	15.0	0.3750	5.0000
74	K	117	11	370	19	1	1	1	10	2.0	7.0	0.2000	3.5000
74	K	117	11	370	19	1	2	2	7	1.0	8.0	0.1429	8.0000

FA	CFA	F	NFA	DESC	ND	TCR	CLA	INF	BT	GO	GR	GOBT	GRGO
51	H	114	8	307	12	1	1	2	8	2.0	7.0	0.2500	3.5000
51	H	114	8	307	12	2	1	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	307	12	2	1	2	8	2.0	7.0	0.2500	3.5000
51	H	114	8	307	12	2	2	2	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	307	12	2	2	1	8	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	301	13	1	2	1	7	2.0	4.0	0.2857	2.0000
51	H	114	8	301	13	1	1	1	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	301	13	1	1	2	5	1.5	3.0	0.3000	2.0000
51	H	114	8	301	13	1	2	2	5	0.5	1.0	0.1000	2.0000
51	H	114	8	301	13	2	1	1	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
51	H	114	8	301	13	2	1	2	5	1.5	3.0	0.3000	2.0000
51	H	114	8	301	13	2	2	1	7	2.0	4.0	0.2857	2.0000
51	H	114	8	301	13	2	2	2	5	0.5	1.0	0.1000	2.0000
51	H	114	8	302	14	1	2	2	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
51	H	114	8	302	14	1	1	1	11	3.5	14.0	0.3182	4.0000
51	H	114	8	302	14	1	2	1	11	1.5	6.0	0.1364	4.0000
51	H	114	8	302	14	1	1	2	8	3.0	5.0	0.3750	1.6667
51	H	114	8	302	14	2	1	1	11	3.5	14.0	0.3182	4.0000
51	H	114	8	302	14	2	1	2	8	3.0	5.0	0.3750	1.6667
51	H	114	8	302	14	2	2	2	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
51	H	114	8	302	14	2	2	1	11	1.5	6.0	0.1364	4.0000
64	J	116	10	382	15	1	2	2	8	3.0	16.0	0.3750	5.3333
64	J	116	10	382	15	1	2	1	10	3.0	10.0	0.3000	3.3333
64	J	116	10	382	15	1	1	1	10	3.0	13.0	0.3000	4.3333
64	J	116	10	382	15	1	1	2	8	3.0	13.0	0.3750	4.3333
64	J	116	10	382	15	2	1	1	10	3.0	13.0	0.3000	4.3333
64	J	116	10	382	15	2	1	2	8	3.0	13.0	0.3750	4.3333
64	J	116	10	382	15	2	2	2	8	3.0	16.0	0.3750	5.3333
64	J	116	10	382	15	2	2	1	10	3.0	10.0	0.3000	3.3333
74	K	117	11	380	16	1	1	2	6	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	380	16	1	1	1	7	2.0	0.0	0.2857	0.0000
74	K	117	11	380	16	1	2	2	6	1.0	0.0	0.1667	0.0000
74	K	117	11	380	16	1	2	1	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	380	16	2	1	1	7	2.0	0.0	0.2857	0.0000
74	K	117	11	380	16	2	1	2	6	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	380	16	2	2	2	6	1.0	0.0	0.1667	0.0000
74	K	117	11	380	16	2	2	1	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	381	17	1	2	2	10	1.0	6.0	0.1000	6.0000
74	K	117	11	381	17	1	2	1	8	1.0	7.0	0.1250	7.0000
74	K	117	11	381	17	1	1	2	10	4.0	23.0	0.4000	5.7500
74	K	117	11	381	17	1	1	1	8	2.0	13.0	0.2500	6.5000
74	K	117	11	381	17	2	1	1	8	2.0	13.0	0.2500	6.5000
74	K	117	11	381	17	2	1	2	10	4.0	23.0	0.4000	5.7500
74	K	117	11	381	17	2	2	1	8	1.0	7.0	0.1250	7.0000
74	K	117	11	381	17	2	2	2	10	1.0	6.0	0.1000	6.0000
74	K	117	11	384	18	1	1	1	8	2.0	14.0	0.2500	7.0000
74	K	117	11	384	18	1	2	1	8	3.0	15.0	0.3750	5.0000
74	K	117	11	384	18	1	1	2	8	2.0	9.0	0.2500	4.5000
74	K	117	11	384	18	1	2	2	8	2.0	8.0	0.2500	4.0000
74	K	117	11	384	18	2	1	2	8	2.0	9.0	0.2500	4.5000
74	K	117	11	384	18	2	1	1	8	2.0	14.0	0.2500	7.0000
74	K	117	11	384	18	2	2	2	8	2.0	8.0	0.2500	4.0000
74	K	117	11	384	18	2	2	1	8	3.0	15.0	0.3750	5.0000
74	K	117	11	370	19	1	1	1	10	2.0	7.0	0.2000	3.5000
74	K	117	11	370	19	1	2	2	7	1.0	8.0	0.1429	8.0000

FA	CFA	F	NFA	DESC	ND	TCR	CLA	INF	BT	GO	GR	GOBT	GRGO
74	K	117	11	370	19	1	1	2	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	370	19	1	2	1	10	1.0	4.0	0.1000	4.0000
74	K	117	11	370	19	2	1	1	10	2.0	7.0	0.2000	3.5000
74	K	117	11	370	19	2	1	2	7	0.0	0.0	0.0000	0.0000
74	K	117	11	370	19	2	2	2	7	1.0	8.0	0.1429	8.0000
74	K	117	11	370	19	2	2	1	10	1.0	4.0	0.1000	4.0000
78	L	118	12	360	20	1	2	1	8	1.0	6.0	0.1250	6.0000
78	L	118	12	360	20	1	1	1	8	1.0	6.0	0.1250	6.0000
78	L	118	12	360	20	1	2	2	10	2.0	12.0	0.2000	6.0000
78	L	118	12	360	20	1	1	2	10	0.0	0.0	0.0000	0.0000
78	L	118	12	360	20	2	1	2	10	0.0	0.0	0.0000	0.0000
78	L	118	12	360	20	2	1	1	8	1.0	6.0	0.1250	6.0000
78	L	118	12	360	20	2	2	2	10	2.0	12.0	0.2000	6.0000
78	L	118	12	360	20	2	2	1	6	1.0	2.0	0.1667	2.0000
78	L	118	12	390	21	1	1	1	6	1.0	4.0	0.1667	4.0000
78	L	118	12	390	21	1	1	2	7	1.0	1.0	0.1429	1.0000
78	L	118	12	390	21	1	2	1	6	0.0	0.0	0.0000	0.0000
78	L	118	12	390	21	1	2	2	7	1.0	4.0	0.1429	4.0000
78	L	118	12	390	21	2	1	2	7	1.0	1.0	0.1429	1.0000
78	L	118	12	390	21	2	1	1	6	1.0	4.0	0.1667	4.0000
78	L	118	12	390	21	2	2	2	7	1.0	4.0	0.1429	4.0000
78	L	118	12	390	21	2	2	1	6	0.0	0.0	0.0000	0.0000
78	L	118	12	348	22	1	2	1	8	2.0	12.0	0.2500	6.0000
78	L	118	12	348	22	1	2	2	10	3.0	8.0	0.3000	2.6667
78	L	118	12	348	22	1	1	2	10	3.0	8.0	0.3000	2.6667
78	L	118	12	348	22	1	1	1	8	1.0	6.0	0.1250	6.0000
78	L	118	12	348	22	2	1	2	10	3.0	8.0	0.3000	2.6667
78	L	118	12	348	22	2	1	1	8	1.0	6.0	0.1250	6.0000
78	L	118	12	348	22	2	2	2	10	3.0	8.0	0.3000	2.6667
78	L	118	12	348	22	2	2	1	8	2.0	12.0	0.2500	6.0000
86	M	119	13	386	23	1	2	2	10	2.0	8.0	0.2000	4.0000
86	M	119	13	386	23	1	2	1	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
86	M	119	13	386	23	1	1	2	10	3.0	16.0	0.3000	5.3333
86	M	119	13	386	23	1	1	1	8	3.0	15.0	0.3750	5.0000
86	M	119	13	386	23	2	1	1	8	3.0	15.0	0.3750	5.0000
86	M	119	13	386	23	2	1	2	10	3.0	16.0	0.3000	5.3333
86	M	119	13	386	23	2	2	1	8	1.0	0.0	0.1250	0.0000
86	M	119	13	386	23	2	2	2	10	2.0	8.0	0.2000	4.0000
86	M	119	13	405	24	1	1	1	9	1.0	9.0	0.1111	9.0000
86	M	119	13	405	24	1	2	2	9	0.5	1.5	0.0556	3.0000
86	M	119	13	405	24	1	1	2	9	1.5	7.5	0.1667	5.0000
86	M	119	13	405	24	1	2	1	9	0.0	0.0	0.0000	0.0000
86	M	119	13	405	24	2	2	2	9	0.5	1.5	0.0556	3.0000
86	M	119	13	405	24	2	2	1	10	0.0	0.0	0.0000	0.0000
86	M	119	13	405	24	2	1	2	9	1.5	7.5	0.1667	5.0000
86	M	119	13	405	24	2	1	1	10	1.0	3.0	0.1000	3.0000



RESUME

Le maintien de l'allogamie ou d'un système de reproduction mixte est une des questions importantes qui se pose aux évolutionnistes. Le problème posé est de comprendre pourquoi un mécanisme comme le sexe ou la fécondation croisée présentant un désavantage de deux pour les individus qui le possèdent (ils ne transmettent que la moitié de leur gènes à leur descendants) ait pu se répandre dans la majorité des espèces, vis à vis de la multiplication asexuée ou de l'autofécondation présentant l'avantage de transmettre la totalité des gènes aux descendants?

Ce travail se situe dans le cadre de l'étude de l'évolution des systèmes de la reproduction. Il consiste à étudier la variabilité du régime de la reproduction au niveau intra- et interspécifique, entre deux espèces de Lathyrus: L. sylvestris et L. latifolius.

Les résultats les plus marquants sont:

- L'organisation de la diversité génétique révèle l'existence d'un isolement reproductif entre les deux espèces.

- La différence dans le système de reproduction de deux espèces (L. sylvestris montre une plus forte aptitude à l'autofécondation que L. latifolius) entraîne une structuration génétique différente dans les populations naturelles: L. sylvestris montre une différenciation inter-populations plus marquée et une consanguinité intra-populations plus importante.

- Cette différence de régime de reproduction est corrélée avec une différence dans l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle: L. sylvestris (moins allogame) investit moins dans la fonction mâle que L. latifolius (plus allogame).

- L'étude approfondie de deux populations de L. latifolius a permis de mettre en évidence un polymorphisme dans le régime de reproduction, avec la présence de trois types d'individus (allogames, autogames et individus à régime mixte). Les résultats semblent montrer que ce polymorphisme ne correspond pas à une situation d'équilibre. Le maintien de ce polymorphisme ne pourrait alors s'expliquer qu'à une échelle supérieure: la métapopulation.

- Enfin, contrairement à l'étude inter-spécifique, l'allocation des ressources aux fonctions mâle et femelle montre uniquement des corrélations phénotypiques: les effets environnementaux auraient masqué les effets génétiques.

Mots-clés

- L. sylvestris et L. latifolius
- Structure spatiale
- Allocation des ressources
- Système de la reproduction
- Diversité génétique
- Autogamie, allogamie, régime mixte
- Polymorphisme