

140833

Université des Sciences et Technologies de Lille 1



N° attribué par la bibliothèque :

Année 2001

Thèse

En vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'Université des Sciences et Technologies de Lille 1

Discipline : Sciences de la Vie et de la Santé

Spécialité : Ecologie évolutive

Présentée et soutenue publiquement
par

Nina-Coralie HAUTEKEETE

le 1^{er} Juin 2001



L'évolution de la durée de vie dans le complexe d'espèces *Beta*

Directeur de thèse :
Pr. H. Van Dijk

Jury

Pr. H. Van Dijk, Université de Lille 1
Pr. I. Olivieri, Université de Montpellier II
Dr. T. de Jong, Université de Leiden (Pays-Bas)
Dr. I. Till-Bottraud, D.R., Université de Grenoble II
Dr. P. Boudry, IFREMER, La Tremblade
Dr. N. Perrin, Université de Lausanne (Suisse)
Dr. A. Teriokhin, Université de Moscou (Russie)

Directeur
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur

Table des matières

Chapitre I Introduction	1
A Présentation du contexte général.....	1
B La durée de vie vue au travers du cycle de vie et de la sénescence : les modèles et leur liens.....	7
1 Introduction	7
2 Modèles et théories.....	8
a <u>Modèles d'évolution de la semelparité.....</u>	<u>8</u>
<u>Modèles démographiques</u>	<u>8</u>
<u>Modèles d'effort reproducteur et d'allocation optimale des ressources</u>	<u>9</u>
b <u>Les théories évolutives de la sénescence</u>	<u>11</u>
<u>Accumulation de mutations.....</u>	<u>12</u>
<u>La pléiotropie antagoniste et le soma jetable</u>	<u>12</u>
3 Les liens.....	14
a <u>La sénescence dans les modèles démographiques d'évolution de la semelparité.....</u>	<u>14</u>
b <u>La sénescence dans les modèles d'allocation optimale</u>	<u>14</u>
c <u>La semelparité dans l'étude de la sénescence</u>	<u>15</u>
4 Conclusion.....	17
C Le complexe d'espèces <i>Beta</i> : présentation	18
1 Phylogénie.....	18
2 Situations géographiques et habitats	18
a <u><i>B. v. maritima</i> : répartition et habitat</u>	<u>18</u>
b <u><i>B. v. adanensis</i> : répartition et habitat.....</u>	<u>19</u>
c <u><i>B. patula</i> : répartition et habitat.....</u>	<u>19</u>
d <u><i>B. macrocarpa</i> : répartition et habitat.....</u>	<u>19</u>
3 Reproduction et cycle de vie : généralités et variabilité dans la section <i>Beta</i>	19
Chapitre II Investissement dans la survie et la reproduction le long d'un gradient d'itéroparité - semelparité du complexe d'espèces <i>Beta</i>	22
A Introduction.....	24
B Methods.....	27
1 Experimental design.....	27
2 Dry biomass distribution in plants	28
3 Estimations of reproductive effort and survival.....	28
4 Statistical analyses.....	29
C Results.....	30
1 Reproductive effort along the iteroparity-semelparity gradient.....	30
2 Plasticity of reproductive effort.....	31
3 Phenotypic correlations within life cycles.....	31
D Discussion	32
1 Reproductive effort in the semelparity-iteroparity gradient.....	32
2 Plasticity of reproductive effort.....	33
3 Phenotypic correlations within life cycles.....	34
E Conclusion	36
Chapitre III Variabilité de la sénescence et de l'activité méristématique en relation avec la production de boutons floraux et de fruits dans le complexe d'espèces <i>Beta</i>	41
A Introduction.....	43
B Materials and methods	46
1 Experimental design.....	46

2 Data collection.....	47
3 Statistical analyses.....	47
C Results	48
1 Effect of excision on the number of reproductive meristems	48
2 Effect of excision on the end of reproductive cycle (e.g. death in semelparous plants)	49
D Discussion	50
1 Effect of excision on reproduction	50
a <u>Iteroparous taxa</u>	50
b <u>Semelparous taxa</u>	52
2 Senescence.....	52
3 Bud vs fruit excision.....	53
4 Semelparous vs iteroparous beets.....	53
E Conclusion	54
Chapitre IV Déterminisme génétique de la sémelparité chez <i>Beta</i>	57
A Introduction.....	58
B Matériel et méthodes.....	59
1 Matériel biologique	59
2 Culture.....	59
3 Croisements	60
a <u>F1</u>	60
b <u>F2 ou backcross ?</u>	61
c <u>Contrôle des croisements</u>	62
4 Caractères mesurés	62
C Résultats du backcross	62
D Discussion	63
Chapitre V La durée de vie chez <i>B. v. maritima</i> : variation géographique et impact des flux géniques, de l'âge à la première reproduction et des perturbations	65
A Introduction.....	67
B Material and methods.....	69
1 Study species	69
2 Sampling and culture.....	69
3 Life span	70
4 Vernalization requirement.....	70
5 Geography and ecology.....	70
6 Cytotypes.....	71
7 Statistical analysis	71
C Results	72
1 Life span	72
2 Vernalization requirement.....	73
3 Cytotypes.....	74
4 Ecology.....	74
D Discussion	75
1 Life span	75
2 Vernalization requirement.....	76
3 Cytotypes.....	77
4 Ecology.....	78
E Conclusion	79

**Chapitre VI Le modelage par l'environnement des traits d'histoire de vie
chez la betterave maritime *Beta vulgaris maritima* : une approche**

d'optimisation évolutive.....	83
A Introduction.....	84
B Material and methods.....	86
1 The data: <i>B. v. maritima</i>	86
2 Model	88
C Results.....	95
1 <i>B. v. maritima</i>	95
a <u>PCA_{south}</u>	<u>95</u>
b <u>PCA_{north}</u>	<u>95</u>
c <u>Stepwise regression models</u>	<u>95</u>
2 Model	96
D Discussion	100
1 <i>B. v. maritima</i>	100
2 Model	101
3 <i>B. v. maritima</i> in the light of the model	103
E Conclusion	104
Chapitre VII Synthèse, discussion générale et perspectives	108
A Synthèse	108
B Discussion générale	110
C Perspectives	112
1 Physiologie	113
2 Ecologie.....	113
3 Génétique.....	116
Bibliographie des chapitres I, IV et VII.....	118
Annexes	125

Chapitre I Introduction

A Présentation du contexte général

Il faut rechercher les causes de la longévité chez certains animaux et de la courte existence chez les autres, et étudier en général la longueur et la brièveté de la vie. Le début nécessaire de cette recherche, c'est d'abord d'examiner les questions qu'elle pose.

En effet, ce n'est pas une chose évidente qu'une cause différente ou qu'une cause identique fasse pour tous les animaux et toutes les plantes que les uns vivent peu, et les autres, longtemps. En effet, parmi les plantes, certaines ont une existence annuelle, les autres une longue vie. De plus, ce n'est pas chose évidente que, parmi les êtres organisés naturellement, ce sont les mêmes qui vivent longtemps et qui sont naturellement en bonne santé, ou bien que la brièveté de la vie et la maladie sont choses distinctes (...).

Aristote, De la longévité et de la brièveté de la vie (in Parva Naturalia).

La variabilité de la durée de vie n'avait manifestement pas échappé aux premiers naturalistes : plus de trois siècles av. J.C., Aristote nous rapporte ses interrogations, et celles de ses contemporains, à ce propos. Sans jamais citer d'âge, Aristote échelonnait très aisément cependant la longévité des espèces, qu'il classait dans un gradient allant des plantes annuelles jusqu'au palmier ou à l'être humain. L'ancienneté de cette observation montre son évidence : cette variabilité est énorme et omniprésente (Encadrés 1 et 2). A l'opposé des espèces annuelles (ou des espèces vivant moins d'une année, comme chez les papillons, les rotifères et les plantes éphémères des régions désertiques), on trouve des espèces animales vivant jusqu'à plus de 100 ans (la tortue des Galápagos) ou même 120 ans (l'être humain), ainsi que des espèces végétales battant des records que les Anciens ne pouvaient probablement pas imaginer (le pin des White Mountains de Californie, *Pinus aristata*, pour n'en citer qu'un, peut vivre jusqu'à 4700 ans).

Au travers de plusieurs traités, Aristote cherchera à expliquer les causes de cette variabilité et de ce que nous appellerons plus tard la sénescence, c'est-à-dire (selon la définition évolutive moderne) la diminution avec l'âge des probabilités de reproduction et de survie, liée à une dégradation de la condition physiologique. Les tentatives d'explication arrivèrent donc très tôt dans notre histoire scientifique (tout aussi tôt que les descriptions des groupes vivants, ou que les premiers essais sur la respiration, le sommeil et autres étrangetés de la nature), mais après deux millénaires de progrès scientifiques, la durée de vie reste une énigme : en 1952, Sir Peter Medawar mentionne encore la sénescence comme « An unsolved problem of biology », du titre de son célèbre essai sur le vieillissement.

L'énigme de la durée de vie cache en fait plusieurs catégories de questions. La première est le « comment » de la mort, question purement physiologique qui ne sera pas abordée ici. La deuxième question, le « pourquoi », recherche les mécanismes évolutifs

Plantes

<i>Pinus aristata</i>	Pin de Californie	4700
<i>Sequoia gigantea</i>	Séquoia	3200
<i>Dacrydium franklinii</i>	Pin Huon	2200
<i>Juniperus communis</i>	Genévrier commun	2000
<i>Pinus cembra</i>	Pin Cembro	1200
<i>Fagus sylvatica</i>	Hêtre	600-930
<i>Olea europaea</i>	Olivier	700
<i>Pinus sylvestris</i>	Pin sylvestre	500
<i>Pyrus communis</i>	Poirier	300
<i>Juglans nigra</i>	Noyer	250
<i>Fraxinus excelsior</i>	Frêne	250
<i>Pyrus malus</i>	Pommier	200
<i>Hedera helix</i>	Lierre	200
<i>Salix arctica</i>	Saule arctique	130
<i>Cornus florida</i>	Cornouiller de Floride	125
<i>Betula verrucosa</i>	Bouleau verruqueux	120
<i>Populus tremuloides</i> (ramet)	Peuplier tremble	100
<i>Vitis vinifera</i>	Vigne	80-100
<i>Cyclamen europaeum</i> (tubercule)	Cyclamen d'Europe	60
<i>Calluna vulgaris</i>	Callune	42
<i>Vaccinium myrtillus</i>	Myrtille	28
<i>Sambucus racemosus</i>	Sureau	20
<i>Polygonatum multiflorum</i> (rhizome)	Sceau de Salomon	16-17
<i>Thymus chamaedrys</i> *	Thym petit-chêne	14
<i>Erica tetralix</i>	Bruyère quaternée	10
<i>Anemone ranunculoides</i> (rhizome)	Anémone fausse renoncule	7
<i>Anastatica hierochuntia</i> **	Rose de Jéricho	0.01-0.04

(= quelques jours)

* Actuellement *Thymus pulegioides*, thym faux-pouliot (G. Bonnier. 1990. Grande flore en couleurs. Réédition)

D'après Noodén (1988), sauf ** : Gorenflot (1998)

Clones végétaux

<i>Gaylussacia brachycerium</i>	Airelle	13000+
<i>Larrea tridentata</i>	Créosote	11000+
<i>Populus tremuloides</i>	Peuplier tremble	10000+
<i>Pteridium aquilinum</i>	Fougère aigle	1400
<i>Festuca ovina</i>	Fétuque des Ovins	1000
<i>Holcus mollis</i>	Houlque molle	1000
<i>Convallaria majallis</i> (Noodén, 1988)	Muguet	850

Encadré 1: Durées de vie maximales (en années) de différentes espèces végétales

menant à l'existence de la sénescence et sera notre propos. La dernière question est sans doute celle qui touche la plus large audience (comme le prouvent les succès de la DHEA, de la mélatonine etc.) : « Peut-on l'éviter ? ». Cette question, du domaine de la gérontologie, ne trouve de réponses qu'en fonction des avancées dans les deux premières thématiques, avec actuellement une part importante faite à la physiologie, et sera donc laissée aux spécialistes du domaine. Nous¹ nous focaliserons donc sur les aspects évolutifs de la durée de vie.

Darwin ne semble pas avoir abordé le problème de la durée de vie (Charlesworth 2000). Cependant à l'époque des premiers développements des théories évolutionnistes, Weismann (« The duration of life », 1889, cité dans Rose 1991) a suggéré que la physiologie ne pouvait être le seul déterminant de la durée de vie, et que cette dernière devait être dépendante de l'adaptation de l'espèce aux conditions extérieures et des « statistiques de destruction », c'est-à-dire les probabilités de mort accidentelle. Cette intuition a ensuite été reprise et développée au début du 20^{ème} siècle par Fisher, Haldane et Medawar (cités dans Rose 1991) et surtout Hamilton (1966). Ils posent le fondement des futures théories évolutives de la sénescence : en conséquence des risques de mortalité liée à des causes externes et incontrôlables, la force de la sélection naturelle diminue avec l'âge de l'individu. Nous verrons dans le chapitre I.B de cette introduction que cela suffit à expliquer la présence de déficiences génétiques ayant des conséquences physiologiques délétères croissant avec l'âge.

Un autre point essentiel à ces théories, qui fut mis en évidence par Weismann, est l'importance de l'existence d'un soma différencié. La lignée germinale est immortelle à la différence du soma. En effet, la lignée germinale est transmise d'une génération à l'autre, à l'infini. Au contraire il n'est pas utile de maintenir le soma éternellement car il est sujet à des accidents résultant de causes externes et incontrôlables. Le coût en serait trop important, et le limiter doit permettre une meilleure performance sur d'autres tâches, comme la reproduction.

Dans notre culture, reproduction et mort sont fortement liés comme étant les points remarquables du cycle de la vie (voir les vanités, représentations artistiques de la vanité de l'existence, dans lesquelles, très souvent, différents âges de la vie sont opposés à la mort). Mais ce lien va plus loin : Aristote lui-même avait remarqué l'existence de liens entre la quantité de reproduction et la durée de vie.

La plupart des arbres qui portent trop de fruits se dessèchent après la fructification quand il ne reste pas de nourriture pour leur organisme, et les plantes annuelles sont,

¹Ce travail, comme tout travail de recherche, est le fruit de diverses collaborations, tant en idées qu'en actions, et la première personne du pluriel sera généralement la plus adaptée. La première personne du singulier sera réservée à de rares points plus personnels.

Invertébrés

<i>Lamellibrachia</i> sp. (Bergquist et al., 2000)	Vestimentifère	170-250
<i>Cereus pedunculatus</i>	Anémone de mer	85-90
<i>Homarus</i> sp.	Homard	50
<i>Taeniorrhynchus saginatus</i>	Tænia armé	35+
<i>Neotermes castaneus</i>	Termite	25+
<i>Pecten maximus</i>	Coquille St Jacques	22
<i>Echinus esculentis</i>	Oursin comestible	8+
<i>Limax flavus</i>	Limace	3
<i>Asplanchna sieboldii</i> (Stearns, 1992)	Rotifère	0.03-0.06

Poissons

<i>Gadus callarias</i>	Morue	85
<i>Acipenser fulvescens</i>	Esturgeon de lac	82
<i>Cluppea harengus</i>	Hareng	22
<i>Thunnus thunnus</i>	Thon	13
<i>Solea vulgaris</i>	Sole	8+
<i>Hippocampus hudsonius</i>	Hippocampe	1

Amphibiens

<i>Bufo bufo</i>	Crapaud commun	36
------------------	----------------	----

Reptiles

<i>Testudo elephantopus</i>	Tortue des Galápagos	100+
-----------------------------	----------------------	------

Oiseaux

<i>Bubo bubo</i>	Hibou Grand-Duc	68
------------------	-----------------	----

Rongeurs

<i>Hystrix brachyura</i>	Porc-Épic	27
<i>Mus musculus</i>	Souris domestique	3

Mammifères

<i>Elephas maximus</i>	Eléphant	70
<i>Equus caballus</i>	Cheval	46
<i>Felis catus</i>	Chat	28
<i>Pan troglodytes</i> (Stearns, 1992)	Chimpanzé	44

<i>Homo sapiens</i>	être humain	122
---------------------	-------------	-----

Marsupiaux

<i>Antechinus stuartii</i>	Souris marsupiale	1 (mâles) 2 (femelles)
----------------------------	-------------------	---------------------------

(Bradley, 1980)

NB : Les mâles ne meurent pas si la reproduction est artificiellement évitée.

Encadré 2: Durées de vie maximales (en années) de différentes espèces animales

semble-t-il, dans le même cas, par exemple les légumineuses, le blé et les autres plantes de ce genre : elles consacrent toute la nourriture à la formation de la graine, car ce genre de plantes donne beaucoup de graines. De même, certaines poules qui sont trop prolifiques au point de faire deux œufs par jour meurent après cette ponte excessive. Les oiseaux comme les plantes s'épuisent complètement, et cet accident vient d'un excès de sécrétion résiduelle.

Aristote, *De la génération des animaux*, III, 1.

Malgré quelques aspects fantaisistes des théories aristotéliennes, cette remarque-ci préfigure les idées développées plus tard par Weismann (et peut-être aussi, selon Rose (1991), par Wallace, peu avant Weismann), d'une immortalité somatique potentielle abandonnée au bénéfice de la reproduction. Ceci expliquerait pourquoi un « monstre darwinien », se reproduisant infiniment et vivant éternellement ne pourrait exister. L'observation d'Aristote mène à cette dernière question : existe-t'il un lien entre reproduction et durée de vie, et dans le cas d'une réponse positive, quelle est sa nature et ses conséquences sur les schémas de vie ? En effet un lien de compensation entre la reproduction et la survie n'aura pas uniquement des conséquences en termes de sénescence, mais aussi sur tous les caractères qui définissent le schéma de la vie d'un individu (histoire de vie) : l'âge à la première reproduction, l'intensité de chaque reproduction à chaque âge et leur nombre, la durée de vie bien entendu, et bien d'autres caractères appelés couramment traits d'histoire de vie.

Comme le remarque Aristote, ce lien est fortement révélé par certaines plantes qui meurent immédiatement après la reproduction : les exemples sont nombreux, les plantes « mauvaises herbes » et les céréales cultivées étant particulièrement exemplaires à ce propos. Ces plantes sont dites monocarpes (terme venant de *mono* = un seul, et de *karpos* = fruit, mais qui signifie en fait « une seule reproduction », Figure 1²), mais d'une manière générale les organismes qui se reproduisent une seule fois avant de mourir sont dits sémelpares (de Sémélé³, et *parere* = enfanter). Les organismes mourant après plusieurs épisodes de reproduction sont dits polycarpes (pour les plantes) ou itéropares (*itero* = répété). Nous préférons ici les termes « sémelparité » et « itéroparité » pour leur caractère général, les théories de la sénescence et des histoires de vie dans leurs grandes lignes ne nécessitant pas

² Les figures, tableaux et encadrés seront numérotées par chapitre afin de respecter la nomenclature des articles. Pour éviter les confusions aucune référence à une figure, tableau ou encadré d'un autre chapitre ne sera faite et un en-tête rappelant le chapitre en cours figure sur chaque page.

³ Sémélé était, selon la mythologie grecque, princesse de Thèbes et l'une des multiples liaisons qu'avait Zeus avec des mortelles. Zeus s'était présenté à elle sous l'identité d'un prince. Héra, jalouse de leur liaison et de leur enfant à naître, se montra à elle sous les traits de sa nourrice et lui suggéra de demander à son "prince" de se montrer "dans le brillant appareil de sa prétendue puissance" car elle le pensait plus aventurier que de sang noble. Ce que fit Sémélé. Devant son insistance, Zeus accepta et apparut dans un fracas de foudre et de tonnerre, tuant Sémélé dans les flammes. Zeus mit l'enfant que Sémélé portait dans sa cuisse, le temps nécessaire pour

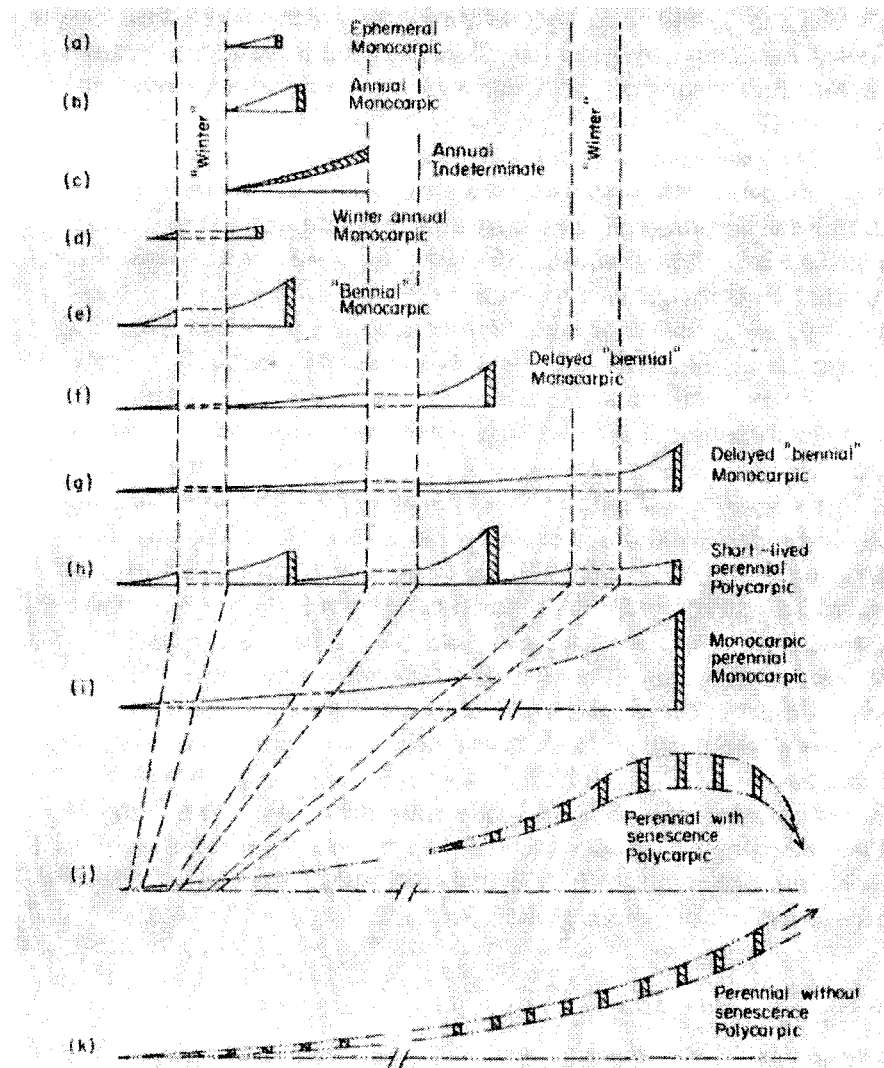


Figure 1. Diagrammes comparant les cycles de vie existant chez les plantes à fleurs. La période de reproduction est hachurée. D'après Harper (1977).

de faire la distinction des règnes. Il est à noter que la sémelparité n'est pas systématiquement synonyme d'annualité (Encadré 3) : on connaît des espèces sémelpares à longue durée de vie telles de certains Bambous ou Agaves, qui peuvent vivre 20 ans (ou plus, selon les espèces) à l'état juvénile, puis se reproduire et mourir dans la foulée. La sémelparité n'implique donc pas une durée de vie courte, mais il est remarquable chez ces organismes que la reproduction, souvent spectaculaire, est suivie d'une mort qui l'est tout autant par sa brutalité.

La sémelparité est particulièrement courante chez les espèces végétales (que l'on parle d'annuelles, bisannuelles ou même de sémelpares à longue durée de vie, voir Young et Augspurger 1991, Watkinson 1992) et polyphylétique (c'est-à-dire apparue à plusieurs reprises dans l'évolution). Elle est également courante chez les poissons (Finch 1990) et les invertébrés (bien que souvent discutable, notamment chez les insectes, selon Kirkendall et Stenseth 1985), mais peu représentée chez les mammifères (seules les souris marsupiales sont citées, voir Bradley et al. 1980, Finch 1990).

Des taxons comparables mais de longévité très variée, allant d'une itéroparité marquée jusqu'à l'annualité et subissant la sénescence de manière claire (soma et lignée germinale dissociés) sont donc particulièrement adaptés à l'étude évolutive de la durée de vie. L'adaptation aux conditions environnementales, en particulier au taux de mortalité liée à des causes externes, et le lien de compensation entre la reproduction et la survie seront des points majeurs d'une telle étude.

La section *Beta* du genre *Beta* (décrit plus en détail chapitre I.C) comprend à la fois des taxons sémelpares et des taxons itéropares (Letschert 1993), ce qui permet d'étudier l'évolution du caractère dans des taxons très proches et, éventuellement (si les croisements sont possibles), son déterminisme génétique. Son incapacité à la clonalité (c'est-à-dire que soma et lignée germinale sont parfaitement dissociés) en fait une des rares plantes pour lesquelles l'étude de la durée de vie et de la sénescence est relativement aisée. A l'époque où j'ai commencé cette thèse, H Van Dijk et P. Boudry avaient découvert des variations latitudinales de durée de vie au sein des populations du taxon *Beta vulgaris maritima*, la betterave maritime, dans le cadre d'une étude des caractères de cycle de vie initialement axée sur la variabilité de l'âge à la première reproduction. Le complexe d'espèces *Beta*, offrant une variabilité de durées de vie exceptionnelle, allant de l'annualité à une très longue durée de vie, se prête parfaitement à l'étude de la durée de vie.

qu'il vienne au monde. Cet enfant était Dionysos (d'après Genest 1984). D'une certaine façon, Sémélé mourut donc d'avoir porté un enfant.

<i>Phyllostachys bambusoides</i> et <i>P. henonis</i> (Finch, 1990)	Bambous	120
<i>Lobelia telekii</i> (Young, 1990)	Lobélías	40-60
<i>Caryota urens</i> (Harper, 1977)	Caryota	15
<i>Agave kaibabensis</i> (Ricklefs, 1995)	Agave	15
<i>Magicicada</i> sp. (Karban, 1997)	Cicades	13 ou 17
Anguillidae (Finch, 1990)		de 8 à 88 ans (selon les espèces)

Encadré 3: Age à la maturité (première reproduction) de quelques espèces végétales et animales
sémelpares à longue durée de vie (en années)

L'enjeu de cette thèse est d'analyser les mécanismes évolutifs qui sont à l'origine de cette variabilité.

Dans le contexte offert par le complexe d'espèces *Beta*, mêlant la variabilité de la durée de vie à celle des histoires de vie, il est nécessaire de connaître à la fois les théories d'évolution de la sénescence et celles de l'évolution de la semelparité, ainsi que leurs liens et points communs. Ces théories seront explicitées brièvement, comparées, et leurs liens seront mis en évidence dans le **chapitre I.B** de cette introduction. Dans le sous-chapitre suivant (**chapitre I.C**), les taxons du complexe d'espèces *Beta* seront décrits plus en détails : relations phylogénétiques, aires géographiques, habitats de prédilection, caractères de reproduction et de cycle de vie... points qui seront d'importance tout au long de ce manuscrit.

Au cours du **chapitre II** sera présentée une étude du lien entre la reproduction et la survie dans les taxons sauvages du complexe d'espèces *Beta*. En effet l'existence, au sein de taxons aussi proches, d'une variabilité à la fois pour le cycle de vie (semelparité - itéroparité) et pour la durée de vie, permet de vérifier la loi de compensation entre reproduction et durée de vie : en comparant l'investissement à la reproduction pour plusieurs types de plantes préalablement choisis pour leurs différences de durées de vie, bien sûr, mais aussi en regardant entre individus d'un même type les variations fines d'investissement à la reproduction et aux structures devant permettre la survie. Les questions qui y seront posées sont : (1) Existe-t'il des équilibres compensatoires entre effort reproducteur et durée de vie ? (2) L'allocation des ressources est-elle strictement dépendante du cycle de vie ou peut-elle varier avec la quantité de ressources du milieu ?

Puis, dans le **chapitre III**, le mécanisme de cette relation négative entre la reproduction et la survie sera discuté. Cette compensation pourrait n'être due qu'à l'épuisement des ressources par la reproduction, empêchant alors la survie. Cette idée est séduisante, et si elle est aussi simple que cela, empêcher la reproduction devrait empêcher la mort de la plante semelpare. Nous avons donc procédé, toujours chez les taxons sauvages du complexe d'espèces *Beta*, à l'excision patiente et minutieuse des parties reproductrices de ces plantes et observé l'effet de cette manipulation sur la durée de vie et l'investissement à la reproduction. (1) Les patrons d'allocation de ressources sont-ils réversibles au cours d'une saison ? (2) Les contraintes environnementales peuvent-elles prolonger la durée de vie d'une plante, en particulier semelpare ?

La transmission génétique du caractère est nécessaire dans toute théorie évolutive. Si le déterminisme génétique de la durée de vie est probablement extrêmement complexe, le

déterminisme génétique de la capacité à survivre après une première reproduction (passage de la sémelparité à l'itéroparité à courte durée de vie) devrait être plus simple. Son étude est possible dans le complexe d'espèces *Beta* (dont les taxons sont interfertiles) et sera exposée dans le **chapitre IV**.

Weismann avait reconnu l'importance de l'adaptation aux conditions environnementales dans la durée de vie. Il avait surtout perçu l'importance des causes externes de mortalité, mais reproduction et survie étant intimement liées, tout facteur environnemental modifiant la reproduction optimale peut avoir des conséquences sur la durée de vie. Les chapitres V et VI répondent à une même question générale : quels sont les facteurs écologiques majeurs influençant la durée de vie chez *B. v. maritima* ? Le **chapitre V** évalue l'impact des causes environnementales de mortalité externe (perturbations) et de l'âge à la première reproduction sur la variabilité des durées de vie, qui avait été précédemment observée par H. Van Dijk chez *B. v. maritima*. Le **chapitre VI** considère l'effet (complémentaire à celui de la mortalité due à des causes externes) de facteurs environnementaux variant avec la latitude, tels que la longueur de la bonne saison. Un modèle théorique y est confronté aux données de durée de vie et d'âge à la première reproduction, précédemment obtenues chez *B. v. maritima* et qui sont mises en liaison avec des données météorologiques.

Le **chapitre VII** sera consacré à une synthèse de ces travaux. Une étude ne s'achevant probablement jamais avec la fin de la thèse s'y rapportant, des perspectives la compléteront.

B La durée de vie vue au travers du cycle de vie et de la sénescence : les modèles et leur liens

1 Introduction

Les êtres humains donnent généralement la vie à plusieurs reprises et voient leurs enfants grandir bien longtemps avant de mourir. Si ce que nous appelons «mourir en couches» est pour nous rare et accidentel, beaucoup d'espèces animales et végétales meurent systématiquement à la suite d'un seul et unique épisode de reproduction massive. Un tel cycle de vie est appelé *sémelparité*. A l'opposé, le cycle défini par des épisodes répétés de reproduction avant de mourir est appelé *itéroparité* (Cole 1954, Gadgil et Bossert 1970, Kirkendall et Stenseth 1985).

Il existe des cas de *sémelparité* «apparente», où les individus meurent en conditions naturelles de causes externes comme le gel ou la sécheresse, mais survivraient en conditions protégées (Harper 1977, Ricklefs et Finch 1995). Il est nécessaire de dissocier cette *sémelparité* «apparente» de la *sémelparité* «vraie», dans laquelle les individus meurent après la reproduction quelles que soient les conditions environnementales. C'est précisément ce dernier cas qui constituera notre propos. Les *sémelpares* à longue durée de vie, qui vivent plusieurs dizaines d'années avant de se reproduire et mourir, fournissent des exemples particulièrement clairs de *sémelparité* «vraie» (voir Young et Augspurger 1991).

Un des aspects marquants de la *sémelparité* est l'aspect brutal que revêt la mort de l'individu après sa reproduction, comme chez les plantes annuelles que l'on voit se dessécher avec la formation des graines. A l'opposé, la grande majorité des espèces *itéropares* montre avec l'âge une augmentation lente du nombre ou de la gravité de déficiences physiologiques altérant la santé de l'individu. La sénescence est définie par les évolutionnistes comme le déclin associé à l'âge des probabilités de survie et de reproduction, lié à une détérioration physiologique (Charlesworth 1980, Rose 1991). Cette définition ne précise aucunement la durée du déclin physiologique subi par l'organisme sénescant, qui peut être aussi bien brutal (*sémelparité*) que progressif (*itéroparité*).

Il existe donc des liens implicites entre le cycle de vie et la sénescence (c'est la mort intrinsèque, et non extrinsèque, des individus qui est déterminante pour définir une espèce *sémelpare*). Cependant ces deux notions ont donné lieu aux développements de modèles théoriques à première vue distincts : des modèles d'évolution de la *sémelparité* et des théories d'évolution de la sénescence.

Il peut paraître paradoxal que l'évolution puisse aboutir à des organismes ne se reproduisant qu'une seule fois dans leur vie ou subissant la sénescence. En effet des gènes permettant une meilleure survie et un plus grand nombre de descendants devraient être favorisés. Nous résoudrons ce paradoxe dans une première partie, au cours de laquelle les modèles d'évolution de la semelparité et de la sénescence seront décrits rapidement. Dans une seconde partie leurs liens réciproques seront mis en évidence au travers de deux questions : (1) la mortalité pour des causes intrinsèques, nécessaire à la semelparité, peut-elle être atteinte par des mécanismes communs aux modèles d'évolution de la sénescence et à ceux de la semelparité, ou, au contraire, est-il nécessaire d'ajouter aux modèles d'évolution de la semelparité de nouveaux mécanismes pour expliquer l'évolution de la sénescence ? (2) Quelle est l'importance des organismes semelpares ou des théories de la semelparité dans le développement des modèles d'évolution de la sénescence ?

2 Modèles et théories

a Modèles d'évolution de la semelparité

Ces modèles peuvent selon Young (1990) être divisés en deux grandes catégories : les modèles démographiques et les modèles d'allocation ou d'effort reproducteur.

Modèles démographiques

Ces modèles sont basés soit sur la moyenne du taux de mortalité liée à des causes extrinsèques, soit sur sa variance.

L'avantage sélectif d'une reproduction unique n'est pas évident. En 1954, Cole a développé un modèle très simple comparant le nombre de descendants que doit produire un organisme annuel pour que sa population ait le même taux de croissance que celle d'un organisme itéropare. Dans ce modèle la mortalité juvénile et la mortalité adulte des individus itéropares étaient par simplicité toutes deux considérées comme nulles. Le modèle montre qu'il suffit pour un organisme annuel de produire un descendant de plus qu'un organisme itéropare, compensant ainsi sa propre mort (Cole 1954). La question devint alors plutôt celle de l'intérêt d'être itéropare, et ce résultat fut surnommé «paradoxe de Cole». Par la suite ce paradoxe a été résolu en élargissant le modèle. Gadgil et Bossert (1970) ont introduit la mortalité juvénile, ce qui a pour effet d'augmenter le nombre de descendants à produire pour l'organisme semelpare, puisqu'un unique juvénile qui survivrait mal compensera moins facilement la mort de l'adulte. Gadgil et Bossert ont ainsi montré que dans des conditions où

la mortalité juvénile est forte la sémelparité est moins favorisée que dans le modèle de Cole. Puis Charnov et Schaffer (1973) ont complété le modèle par la survie adulte, et Young (1981) a introduit l'âge à la maturité et le temps séparant deux épisodes de reproduction. Ces modèles ont atteint un niveau relatif de complexité, mais la tendance générale est claire : la sémelparité est favorisée par tout changement dans les paramètres démographiques réduisant la valeur reproductrice⁴ des adultes par rapport à celle des juvéniles. Par exemple une diminution de la survie adulte moyenne par rapport à la survie juvénile, une fécondité plus grande ou une maturité plus précoce favorisent la sémelparité par rapport à l'itéroparité.

L'effet de la mortalité externe adulte par rapport à la mortalité juvénile sur les traits d'histoire de vie a été testé par Reznick et al. (1990, 1996) sur le guppie *Poecilia reticulata*. La maturité est plus précoce et l'investissement dans la reproduction plus grand dans des localités où la forte prédation diminue la probabilité de survie adulte (Reznick et al. 1990, 1996). Chez les plantes les individus de *Poa annua* en habitat sec, où la mortalité extrinsèque est forte, sont quasi annuels, contrairement aux individus en situation irriguée qui montrent des caractéristiques typiquement itéropares (Till-Bottraud et al. 1990).

Les modèles basés sur la variance des taux de mortalité (Murphy 1968, Bulmer 1985, Orzack et Tuljapurkar 1989) suivent des approches très différentes qui ne seront pas détaillées ici. En fait la complexité des méthodes employées n'a d'égale que celle des résultats : s'il semble que la variabilité peut parfois favoriser l'itéroparité, il est clair que ce résultat est particulièrement sensible aux variations quantitatives des paramètres utilisés. Ces modèles sont de plus très délicats à tester du fait de leur complexité.

Modèles d'effort reproducteur et d'allocation optimale des ressources

Les ressources étant fondamentalement limitantes, pour des raisons externes de disponibilité comme pour des raisons internes de capacité d'acquisition (de Laguérie et al. 1991), celles qui sont allouées à la reproduction actuelle ne peuvent être allouées aux autres fonctions telles que la survie ou la reproduction future. Ce phénomène est appelé équilibre compensatoire ou trade-off⁵. L'investissement dans la reproduction va à l'encontre de la survie ou la reproduction future. Cette notion de coût de la reproduction a essentiellement été

⁴ le nombre de descendants qu'un organisme peut en moyenne avoir, depuis l'âge considéré jusqu'à la fin de sa vie, ce nombre étant pondéré par le taux de croissance de la population (voir par exemple Stearns 1992). En effet quand la population croît, la contribution des individus nés plus tard est moins importante que celle des individus nés plus tôt.

⁵ L'observation des trade-offs est un exercice difficile: ils peuvent être phénotypiquement masqués par la variabilité environnementale (Reznick 1985, Van Noordwijk et de Jong 1986, Reznick 1992), par des interactions génotype – environnement ou des déséquilibres de liaison (Partridge et Fowler 1992, Stearns 1992)

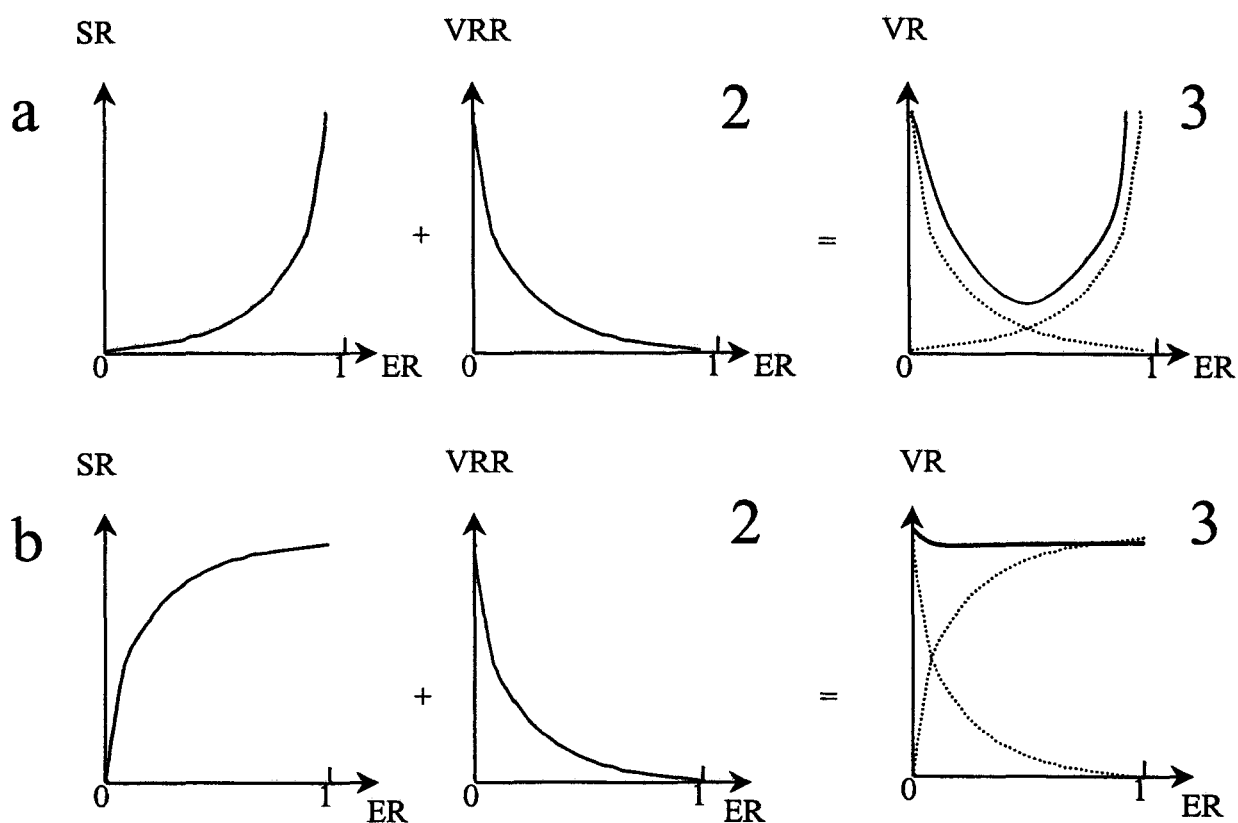


Figure 2. Modèle d'effort reproducteur (d'après Schaffer et Rosenzweig, 1977).

SR=succès reproducteur, VRR=valeur reproductrice résiduelle, VR=SR+VRR=valeur reproductrice, ER= effort reproducteur

développée par Williams (1966a, 1966b). Elle donnera naissance par la suite à deux notions : l'effort reproducteur et la pléiotropie antagoniste (abordée dans le paragraphe suivant).

L'effort reproducteur d'un individu est la part de son énergie disponible qu'il va allouer à la reproduction à un âge donné. L'augmentation de l'effort reproducteur à un âge x , et donc de la fécondité (Figure 2 a1 et b1), entraîne par effet de compensation la diminution de la survie et de la reproduction future. La valeur reproductrice résiduelle⁶ va alors diminuer avec l'effort reproducteur croissant (Figure 2 a2 et b2). La résultante de la courbe de fécondité et de la courbe de valeur reproductrice résiduelle est la valeur reproductrice (Figure 2 a3 et b3) et dépendra de leurs formes respectives. L'effort reproducteur optimal est celui qui fournit la valeur reproductrice maximale. Une relation concave entre l'effort reproducteur et la fécondité (Figure 2 a1) favorisera l'évolution d'un cycle de vie où l'effort reproducteur optimal est soit égal à 1, soit nul avant la maturité puis égal à 1 (la sémelparité, Figure 2 a3). Une courbe convexe (Figure 2 b1) favorisera l'évolution d'un cycle de vie où l'effort reproducteur optimal est intermédiaire (Figure 2 b3) : l'itéroparité (Gadgil et Bossert 1970, Schaffer 1974, Taylor et al. 1974, Schaffer et Rosenzweig 1977). La forme de la courbe définissant la relation entre l'effort reproducteur et la fécondité dépendra de facteurs internes ou externes à l'organisme qui seront discutés au chapitre VI. La mortalité externe va également modifier la courbe reliant la valeur reproductrice résiduelle à l'effort reproducteur et ainsi modifier la valeur de l'effort reproducteur optimal.

Les modèles d'allocation optimale des ressources exploitent également la notion d'effort reproducteur et de coût de la reproduction, bien que d'une manière moins directe (discussion dans : Kozlowski 1991, Perrin 1991). Le principe est que l'énergie doit être explicitement distribuée entre la reproduction, le stockage, la croissance et le maintien des structures internes régissant la survie intrinsèque. L'allocation optimale va maximiser la fitness. Elle peut changer avec l'âge. De nombreux modèles d'allocation optimale des ressources (Kozlowski 1992, Perrin 1992, Perrin et Sibly 1993, Perrin et al. 1993, Teriokhin 1998, Kozlowski et Teriokhin 1999) ont été développés afin de déterminer les valeurs optimales des traits caractérisant un cycle de vie (ou traits d'histoire de vie), tels que l'âge à la maturité, l'effort reproducteur à chaque âge, le moment d'arrêt de la croissance... De plus l'utilisation depuis les années 90 des méthodes de programmation dynamique développées

et les méthodes génétiques restent les plus recommandées (Reznick 1985), et l'on parlera de trade-off phénotypique ou génétique selon la méthode employée.

⁶ le nombre de descendants obtenus les années suivantes en tenant compte de la probabilité de survie du parent ainsi que de la croissance de la population, comme on le fait pour la valeur reproductrice

par Bellman (1957) a permis d'élargir ces modèles à des cas où la durée de vie n'est pas fixée et devient un trait à optimiser.

Modèles démographiques et d'effort reproducteur supposent plus ou moins explicitement l'existence de trade-offs entre la reproduction actuelle et la survie ou la reproduction future, ainsi que l'impact de causes environnementales de mortalité. La différence principale entre les deux catégories de modèles est la méthode : les modèles démographiques opposent deux stratégies préexistantes, l'une semelpare et l'autre itéropare, alors que les modèles d'allocation permettent la détermination de la stratégie optimale au sein d'un continuum de cycles de vie.

b Les théories évolutives de la sénescence

Les théories proximales (non évolutives) de la sénescence (dégradation de l'ADN, mort cellulaire, usure etc., voir Finch 1990, Beckman et Ames 1998, Perez-Campo et al. 1998, Finkel et Holbrook 2000) ne sont pas satisfaisantes en soi car elles ne peuvent expliquer des différences d'espérance de vie entre des organismes ayant par ailleurs des risques de dommages équivalents (Partridge et Barton 1993, Zwaan 1999). La sénescence doit être liée de manière proximale à de tels mécanismes de dégradation physiologique, mais les théories évolutives vont expliquer comment ces dommages vont être évités, réparés ou même favorisés par la sélection naturelle (Partridge et Mangel 1999). Ce point est d'importance. En effet, «toutes choses étant égales par ailleurs», la sénescence diminue la durée de vie et le nombre de descendants des individus. Il peut alors paraître surprenant que la sélection ait favorisé l'apparition de la sénescence chez tant d'organismes différents.

Les deux grandes catégories de théories évolutives de la sénescence vont résoudre ce problème de l'évolution de la sénescence en partant du même constat : du fait de la mortalité accidentelle liée à des causes externes, la probabilité de survie des individus décroît avec l'âge, même chez des organismes potentiellement immortels. L'intensité de la sélection décroît de même (Hamilton 1966).

Certains organismes n'ont pas de séparation soma – lignée germinale, et ne subissent pas de sénescence (Williams 1957, Bell 1984, Rose 1991). Cela ne signifie pas que tous les organismes se reproduisant de manière asexuée ne peuvent subir la sénescence. Cela reste possible chez le ramet dès l'instant où un soma est différencié alors que certaines cellules sont maintenues totipotentes (Martinez et Levinton 1992).

Ces deux catégories de théories évolutives de la sénescence sont complémentaires.

Accumulation de mutations

La pression de sélection diminuant avec l'âge, il a été proposé que les gènes agissant tard dans la vie sont moins bien adaptés que ceux agissant tôt, ou que des gènes modificateurs pouvaient être sélectionnés s'ils reculaient l'âge d'action de certains gènes déficients (Hamilton 1966). Ces hypothèses ont ensuite été considérées comme peu probables (Rose 1991, Charlesworth 2000). Edney et Gill (1968) ont ensuite proposé que la diminution de la pression de sélection avec l'âge permettrait l'accumulation de mutations délétères agissant tard. Cette hypothèse est généralement résumée par l'expression simplifiée «hypothèse d'accumulation de mutations». Charlesworth (1980) a montré mathématiquement que cet effet devrait augmenter avec l'âge. Cette hypothèse explique donc bien le syndrome de sénescence. Plusieurs auteurs l'ont testée par des expériences de sélection. Les théories évolutives de la sénescence suggèrent qu'en augmentant la force de sélection à des âges tardifs (reproduction tardive), la durée de vie devrait augmenter. Dans la théorie d'accumulation de mutations, un retour à une sélection pour de la reproduction précoce ne devrait pas diminuer la durée de vie (ainsi que d'éventuels caractères associés) avant un nombre élevé de générations de sélection. L'accumulation de mutations délétères est en effet un phénomène lent. Quelques expériences de ce type semblent confirmer cette théorie (Service et al. 1988, Partridge et Fowler 1992). Néanmoins les résultats sont dans l'ensemble mixtes (revues dans Rose 1991, Zwaan 1999), voire controversés (Promislow et Tatar 1998). Les risques de biais sont en effet nombreux dans de telles expériences, notamment à cause des risques de sélectionner par inadvertance un autre caractère, corrélé avec le caractère observé (Zwaan 1999, Harshman et Hoffman 2000). Des gènes à effet âge-spécifique ont été mis en évidence par Pletcher et al. (1998).

Il est possible de remettre en cause le rôle de l'accumulation de mutations délétères dans l'origine de la sénescence. Comment des mutations pourraient-elles agir tard alors même que la sénescence n'existerait pas ? En effet dans un organisme imaginaire et immortel le passage à la maturité est le dernier stade physiologique pouvant servir de repère de l'âge et déclencher l'expression d'une telle mutation (Kirkwood 1985, Zwaan 1999). Cette hypothèse reste cependant supportée comme renforcement d'autres mécanismes par la majorité des auteurs et est très fermement défendue par Partridge et Barton (1993, 1996).

La pléiotropie antagoniste et le soma jetable

En se basant toujours sur le principe d'une pression de sélection diminuant avec l'âge, Williams (1957) a posé l'hypothèse de la sélection (et non plus l'absence de contre-sélection)

de gènes pléiotropiques ayant un effet positif tôt dans la vie, mais négatif plus tard, ceci en termes de «vigueur» ou de survie. Charlesworth (1980) a confirmé ces hypothèses par le développement mathématique de la théorie. Il a également précisé que l'effet pléiotropique pouvait se faire aussi sur des caractères liés à la reproduction, ce qui sera repris par les auteurs suivants. Un gène ayant un effet positif tôt sur la reproduction peut donc être sélectionné en dépit d'un effet négatif sur la survie plus tard.

Cette théorie a suscité un très grand intérêt et a engendré de nombreux tests empiriques. On attend sous l'hypothèse de pléiotropie antagoniste, contrairement à l'hypothèse d'accumulation, que la sélection révèle une corrélation négative entre des composantes précoces et tardives de la valeur sélective (fertilité précoce et longévité par exemple, revue des plus anciens tests dans Rose 1991, quelques tests récents et particulièrement intéressants : Promislow 1995, Zwaan et al. 1995, Partridge et al. 1999, Sgrò et Partridge 1999). Les gènes ayant de telles propriétés sont activement recherchés. *Age-1* a été un bon candidat chez *Caenorhabditis elegans* (Friedman et Johnson 1987) : il allonge la durée de vie de l'individu, mais son action antagoniste sur la fertilité est plus controversée et semble environnement-dépendante (Zwaan 1999, Walker et al. 2000).

En conséquence des agressions extérieures évoquées dans les théories non évolutives, le soma doit être entretenu pour maintenir une intégrité physique suffisante à la survie. Cependant la réparation des dommages nécessite de l'énergie. Les ressources étant limitées il est nécessaire d'optimiser leur répartition entre la réparation et la reproduction, le critère d'optimisation étant toujours la fitness. Selon le même principe que précédemment, la pression de sélection diminue avec l'âge. Des gènes ayant un effet positif sur la reproduction tôt et négatif sur la réparation, c'est-à-dire sur la survie plus tard, seront favorisés (Kirkwood 1981, Kirkwood 1985, Kirkwood et Rose 1991, Kirkwood et Austad 2000, Shanley et Kirkwood 2000). L'intérêt de cette théorie est de faire le lien entre les mécanismes physiologiques et les théories évolutives de la sénescence (Zwaan 1999). Elle a été testée apparemment avec succès (Westendorp et Kirkwood 1998), mais sa proximité avec la théorie de pléiotropie antagoniste les rend difficilement distinguables (mais voir quand même : Ricklefs 1998, Sgrò et Partridge 1999).

La discrimination expérimentale des deux théories d'évolution de la sénescence (pléiotropie antagoniste et accumulation de mutations) est délicate. Hormis les méthodes de sélection, d'autres méthodes consistent en la mesure de la dépression de consanguinité, de la variance génétique de lignées «pures» et de la variance de dominance. Elles doivent

augmenter avec l'âge sous l'hypothèse d'accumulation de mutations, mais rester stables sous l'hypothèse de pléiotropie antagoniste (Charlesworth et Hughes 1996). Un tel test a été en faveur de l'hypothèse d'accumulation de mutations chez la drosophile (Charlesworth et Hughes 1996).

3 Les liens

a La sénescence dans les modèles démographiques d'évolution de la semelparité

La mortalité pour des causes externes tient une place prépondérante à la fois dans les modèles démographiques d'évolution de la semelparité (mortalité moyenne) et dans les théories évolutives de la sénescence. Du fait de ce mécanisme commun, accumulation de mutations délétères et pléiotropie antagoniste peuvent tout naturellement accompagner l'évolution de la semelparité et induire la mortalité intrinsèque. Il n'est nul besoin d'ajouter de nouvelles hypothèses, si ce n'est l'apparition des mutations de l'un ou l'autre type.

On peut s'interroger sur la réalité de mutations délétères agissant immédiatement après la reproduction et induisant une mort si brutale. Cependant pour Partridge et Barton (1993) ainsi que pour Argollo de Menezes et al. (1998) l'accumulation de mutations délétères peut permettre en soi l'installation de la semelparité par un phénomène auto-catalytique (sénescence «catastrophique»).

b La sénescence dans les modèles d'allocation optimale

Pléiotropie antagoniste et trade-off entre reproduction et survie sont deux aspects très proches du coût de la reproduction. La pléiotropie antagoniste a tout d'abord été utilisée dans les modèles évolutifs de la sénescence, mais plus tard avec le développement de modèles quantitatifs d'évolution des traits d'histoire de vie (Lande 1982), elle devient une explication des fameux trade-offs (Jönsson et Tuomi 1994). Selon Partridge et Barton (1996) la théorie de pléiotropie antagoniste fait partie des modèles d'optimisation d'allocation et ils pensent, contrairement à Blarer et al. (1995), que les modèles d'optimisation peuvent mener à la sénescence en eux-mêmes.

Les remarques précédentes concernant l'hypothèse d'accumulation de mutations délétères dans les modèles démographiques d'évolution de la semelparité sont valables également dans les modèles d'allocation. En effet selon Partridge et Barton (1993, 1996) la pléiotropie n'est pas nécessaire à l'évolution de la sénescence dans les modèles d'allocation

optimale. Cependant il reste peut-être toujours plus aisé d'imaginer l'accumulation de mutations en renforcement d'un phénomène déjà existant.

Enfin la mortalité externe n'est jamais exclue des modèles d'allocation et d'effort reproducteur (si bien que les prédictions des théories d'histoire de vie et de la sénescence à propos des conséquences de la mortalité externe sur la durée de vie, l'âge à la maturité etc. ont été testées au cours d'une unique expérience par Stearns et al. 2000). Les mêmes déductions que précédemment en découlent.

c La semelparité dans l'étude de la sénescence

Les théories d'évolution de la sénescence abordent régulièrement le cas des organismes semelpares. Notons cependant qu'il est naturel qu'elles ne puissent expliquer le cas des taxons semelpares à longue durée de vie, puisqu'elles ne peuvent déterminer l'âge à la reproduction optimal... c'est la brutalité de la mort semelpare ainsi que le lien apparent entre la mort et la reproduction qui peuvent être expliqués par ces théories.

Williams (1957) s'est interrogé sur le cas des organismes semelpares. Il pose l'hypothèse que ce cycle de vie serait lié à une mortalité externe élevée entre les saisons de reproduction, induisant la sélection des allèles pléiotropiques favorisant une reproduction très forte dès la première année, jusqu'à ne laisser aucun délai entre la reproduction et la mort. Le fait que certaines plantes semelpares dont on enlève les fruits vivent plus longtemps lui fait penser à une séquence développementale fixe : pas de reproduction, pas de mortalité intrinsèque.

Les organismes semelpares sont plus énigmatiques pour d'autres théories. Kirkwood (1981) cite le cas de certaines pieuvres, mourant de faim après la reproduction à moins que leur glande optique soit retirée, ainsi que le cas de plantes pour lesquelles l'effet des hormones sur la sénescence a été suggéré, mais regrette qu'aucun lien avec la réparation ne puisse être fait.

Les espèces semelpares et leur sénescence si brutalement liée à la reproduction ont permis de tester les hypothèses de trade-offs entre reproduction et survie dus à des ressources limitantes. L'excision de fleurs ou de fruits retarde en effet la sénescence chez de nombreuses espèces telles que le soja (revue dans Noodén 1988c). La castration a le même effet chez le saumon (Robertson 1961). On a donc parlé de déplétion des ressources due à la reproduction. Cependant cette hypothèse n'est pas forcément suffisante puisque l'ablation des parties reproductrices ne retarde pas la sénescence chez toutes les espèces semelpares (revue dans

Noodén 1980, 1988c et chapitre III) et la reproduction n'est pas nécessaire à l'induction de la sénescence chez certaines espèces (revue dans Noodén 1980, 1988c, Keeley et Bond 1999). Un intermédiaire entre la reproduction et la survie a alors été recherché et les hormones se sont alors révélées être de formidables candidats chez les plantes (Noodén et al. 1979, 1980, 1997, Wilson 1997) comme chez les animaux sémelpares (souris marsupiale de Bradley et al. 1980, cité dans Rose 1991). De tels organismes sémelpares montrent la connexion entre l'activité reproductrice, les hormones et le syndrome de sénescence... c'est-à-dire la physiologie de certaines formes de pléiotropie antagoniste (Rose et Bradley 1998, voir aussi Hsin et Kenyon 1999).

Les organismes sémelpares à longue durée de vie ont une place à part dans les théories de l'évolution de la sénescence. Tout d'abord parce qu'ils n'offrent pas les facilités expérimentales des espèces annuelles, mais également parce que les théories d'évolution de la sénescence ne sont pas faites pour expliquer leur cycle de vie. Les modèles d'allocation optimale d'évolution de la sémelparité montrent qu'un âge à la première reproduction tardif est favorisé quand le taux de croissance individuel et la mortalité juvénile sont faibles (Berrigan et Koella 1994). Les plantes sémelpares à longue durée de vie accumulent ainsi une grande quantité de ressources permettant un épisode massif de reproduction (Silvertown 1983). Quant à la sénescence de ces organismes il est nécessaire qu'elle soit liée à la reproduction. Prenons le cas d'une espèce sémelpare dont les individus se reproduisent et meurent à 20 ans environ. Il est difficilement concevable qu'avant la mise en place de la sénescence la courbe de survie chute brutalement à cet âge-là pour des causes externes. L'accumulation de mutations délétères et même la sélection de gènes pléiotropes ne seront pas directement liées à la diminution de la pression de sélection avec l'âge. Cependant on peut imaginer qu'une reproduction tardive et massive soit favorable pour les raisons citées précédemment, ce qui devrait sélectionner activement des gènes pléiotropes favorisant une forte reproduction au détriment de la survie. La pléiotropie antagoniste reste ici d'un très grand intérêt, que ce soit sous la forme classique d'allocation optimale des ressources ou d'un effet positif de la mortalité post-reproductive sur la survie des juvéniles (voir Keeley et Bond 1999). Les mécanismes d'accumulation de mutations renforceront la brutalité du syndrome de sénescence.

Les organismes sémelpares apportent une base de réflexion très importante dans les études de la sénescence, ce qui explique sans doute l'importance de mécanismes identiques dans les théories évolutives de la sénescence et de la sémelparité. De plus les modèles

d'évolution de la sémelparité complètent la vision des théories évolutives de la sénescence. Il apparaît que l'optimisation de l'allocation des ressources constitue une explication parfaitement autosuffisante de certains types de sénescence. Cependant il faut noter que l'apport réciproque est vrai : les modèles d'allocation optimale méritent d'être améliorées au vu des théories évolutives de la sénescence. En effet dans les modèles d'allocation optimale, la mort arrive parfois sans dégradation de la condition (Blarer et al. 1995), ce qui ne correspond pas à un syndrome de sénescence et peut être vu comme irréaliste et améliorable (McNamara et Houston 1996). Il suffit pour cela d'ajouter une variable de condition qui diminuera avec l'âge. C'est d'ailleurs ce qui est fait par Kirkwood (1981, 1985, 1991) dans la théorie du soma jetable, qui se trouve en fait être une théorie d'allocation optimale des ressources.

4 Conclusion

La sémelparité reste un cas extrême de sénescence «dramatique» (dans le sens de «spectaculaire»), et est ainsi souvent vue comme un cas particulier, mais l'étude comparée d'espèces proches ayant des histoires de vie aussi différentes que l'itéroparité et la sémelparité peut apporter de nombreux enseignements sur les mécanismes généraux de la sénescence. Enfin si la simplicité et l'élégance des modèles est nécessaire à leur compréhension et leur exploitation, l'aller-retour effectué par certains auteurs entre les théories évolutives de la sénescence et celles de la sémelparité reste cependant d'un grand intérêt en rappelant les quelques manques de l'une ou l'autre théories.

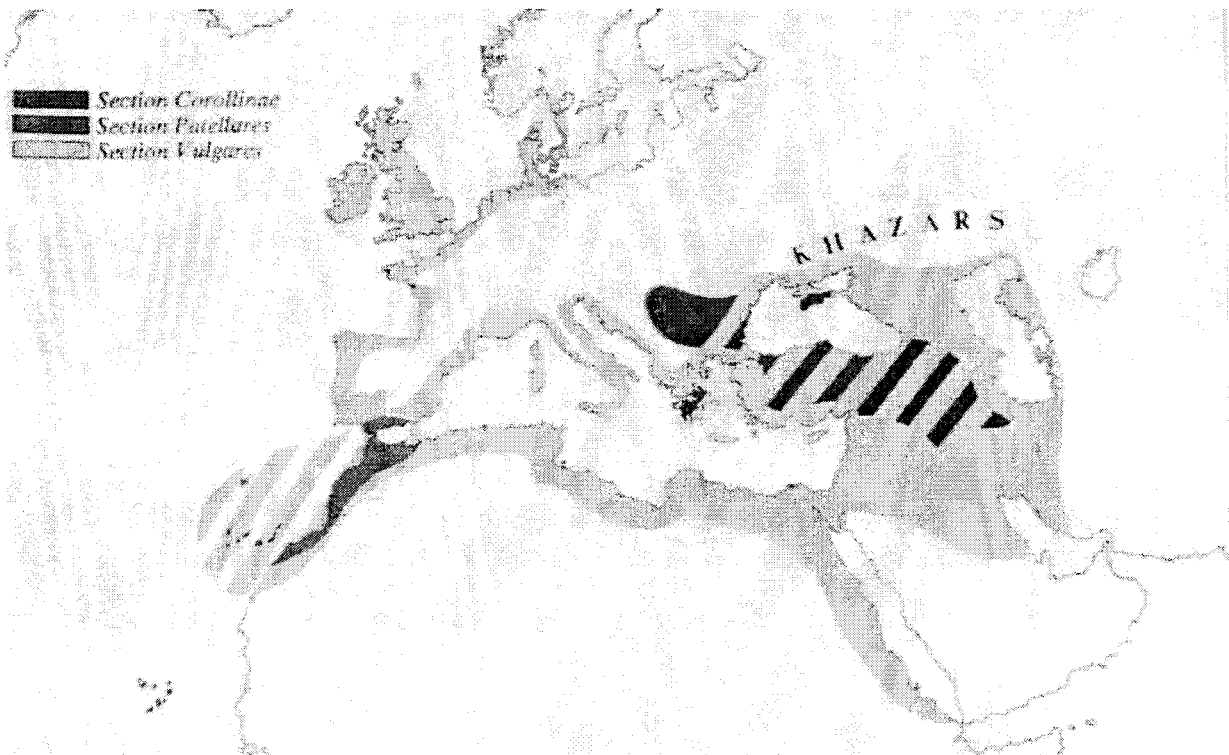


Figure 3. Localisation géographique des trois principales sections de *Beta*. D'après Deleplanque et Renard (1981).

La section "*Patellares*" est maintenant dénommée "*Procumbentes*", "*Vulgares*" est devenu "*Beta*". L'aire de répartition de la section actuelle *Nanae* n'est pas figurée car cette section fut longtemps incluse dans la section *Vulgares*. Elle n'est représentée que par *B. nana* dont l'aire de répartition est restreinte à la Grèce (Letschert, 1993)

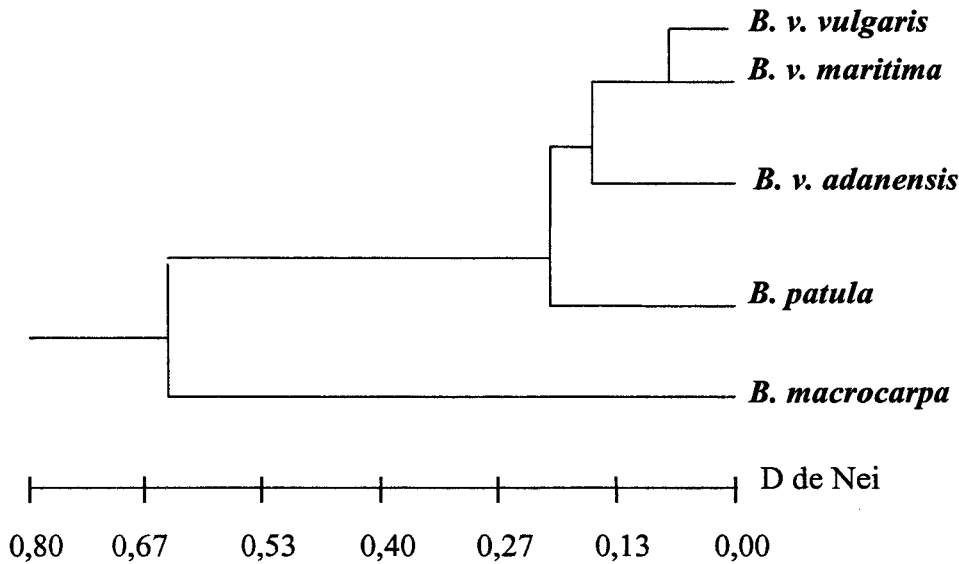


Figure 4. Phylogénie UPGMA du genre *Beta* section *Beta*, basée sur des allozymes, d'après Letschert (1993).

C Le complexe d'espèces *Beta* : présentation

1 Phylogénie

Le genre *Beta* (famille des Chenopodiaceae) est subdivisé en quatre sections, dénommées sections *Beta*, *Corollinae*, *Nanae* et *Procumbentes* (répartition Figure 3). Les taxons étudiés ici appartiennent tous à la section *Beta*, dont la taxonomie a été revue par Letschert (1993). Cet auteur a retenu trois espèces dans cette section : *Beta vulgaris*, *B. macrocarpa* et *B. patula*. L'espèce *B. vulgaris* est elle-même subdivisée en trois sous-espèces : *B. v. vulgaris*, la betterave cultivée (sous toutes ses formes : sucrière, fourragère, blette et betterave rouge, voir Letschert 1993, Desplanque 1999), *B. v. maritima* son parent sauvage le plus proche et enfin *B. v. adanensis* (Figure 4).

2 Situations géographiques et habitats

a *B. v. maritima* : répartition et habitat

B. v. maritima, la betterave maritime (Figure 5), est commune le long des côtes atlantiques européennes (principalement la France et la Grande-Bretagne, mais aussi dans une moindre mesure la Belgique, les Pays-Bas et l'Allemagne) ainsi que leurs îles proches. Elle est également trouvée dans le bassin méditerranéen dans son ensemble, le Moyen-Orient et même le sub-continent indien. On la trouve également sur les côtes d'Afrique du Nord et sur des îles éloignées telles que les Açores (Letschert 1993).

Dans sa zone nordique son habitat est généralement limité à une étroite bande littorale située autour des laisses de mer. Les habitats réputés favorables sont, selon Letschert (1993), les falaises rocheuses et les plages de galets, alors que les estuaires, les prairies salées, les marais salants, les plages sableuses et les sites perturbés seraient moins favorables. Letschert (1993) signale également que, dans son aire méditerranéenne et au Moyen-Orient, la betterave maritime est avant tout littorale mais est fréquemment trouvée à l'intérieur des terres, souvent dans des habitats perturbés (et Desplanque 1999, voir aussi Desplanque et al. 1999).



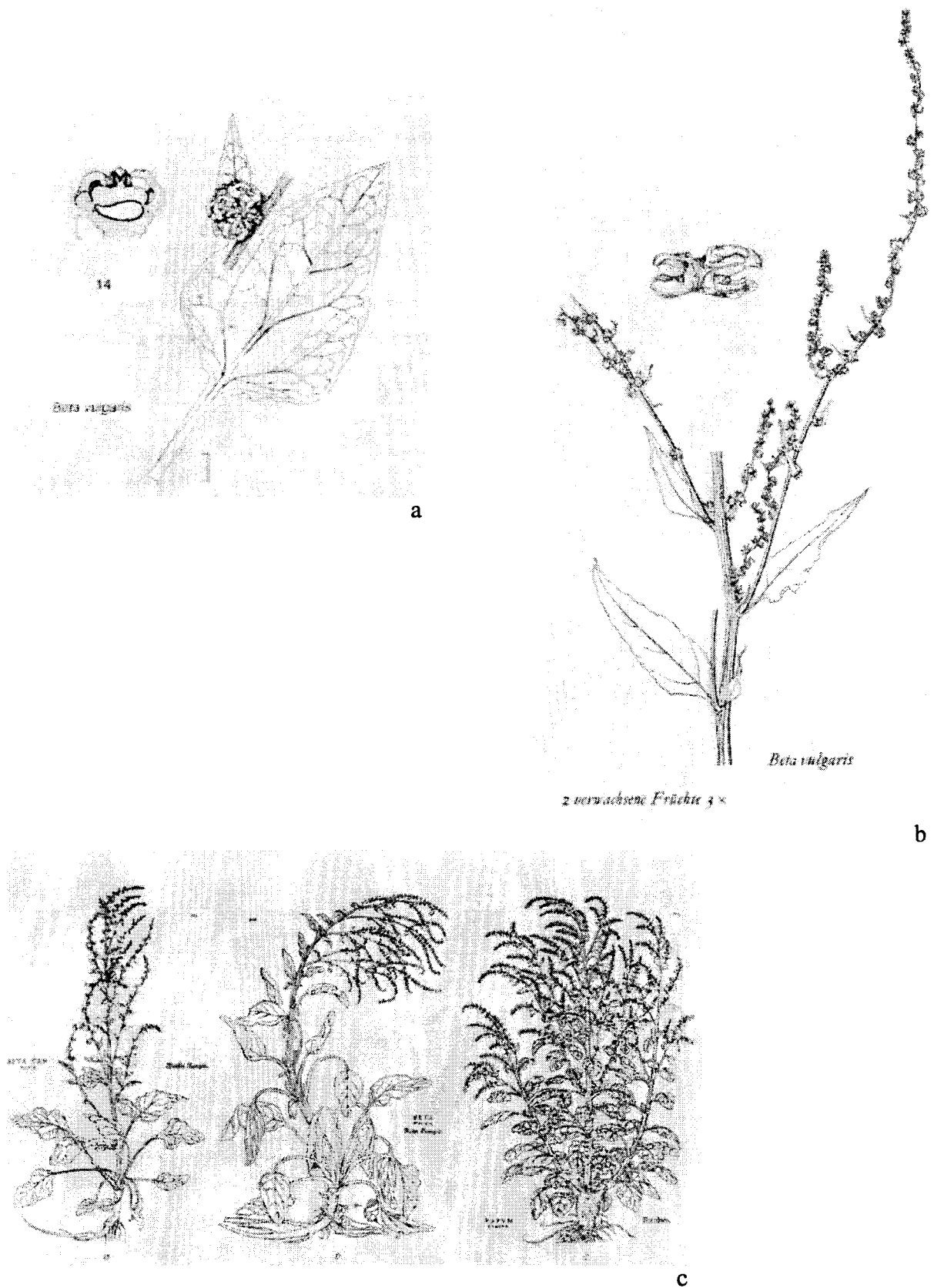


Figure 5. (a) *B. vulgaris* ssp., feuille et glomérule, d'après Jauzein (1995). (b) *B. vulgaris* ssp., tige florale et glomérule, d'après Hess (1976). (c) *B. candida*, *B. nigra*, *Rapum rubrum* (actuellement *B. vulgaris* ssp., Fuchs, De Historia stirpium. Basel, 1542, tiré de Letschert (1993).

b *B. v. adanensis* : répartition et habitat

B. v. adanensis (Figure 6) est trouvée dans les îles grecques, turques et syriennes, dans le Péloponnèse et à Chypre. Letschert (1993) signale sa présence sur les plages caillouteuses, ainsi que le long des bords de route ou de cultures comme mauvaise herbe.

c *B. patula* : répartition et habitat

B. patula (Figure 7) n'est plus trouvée que sur une petite île proche de Madère, appelée Ilheu dos Embarcaderos. Elle est réputée être isolée géographiquement des autres taxons. L'habitat n'est pas précisé.

d *B. macrocarpa* : répartition et habitat

Cette espèce (Figure 8) est signalée sur les côtes du pourtour méditerranéen et leurs îles (pour plus de précisions voir Letschert 1993), dans des sites très rudéraux (bords de champs ou de routes, vergers, décharges) ou dans les salines (au Portugal). Un variant tétraploïde est trouvé dans les îles Canaries.

3 Reproduction et cycle de vie : généralités et variabilité dans la section *Beta*

Les caractéristiques botaniques des taxons peuvent être trouvées dans les thèses de Letschert (1993) et Desplanque (1999) et ne seront pas détaillées. Cependant l'inflorescence sera brièvement décrite afin d'explicitier les expériences de ce manuscrit.

L'inflorescence est de type paniculé, de taille variable selon les taxons mais pouvant présenter plusieurs centaines (voire milliers) de fleurs. Les fleurs (semi-infères et à un seul ovule) sont regroupées en glomérules, groupements de deux à huit fleurs subsessiles. Le fruit appelé glomérule est donc en fait l'association de plusieurs fruits soudés. Lors de la maturation des graines le glomérule prend l'aspect d'un fruit sec (non charnu), les pièces périnthaires formant du liège autour des graines.

B. vulgaris est auto-incompatible et essentiellement anémophile. Les autres taxons sont auto-compatibles (Letschert 1993).

Les taxons de la section *Beta* sont interfertiles en croisements contrôlés, c'est pourquoi le terme de « complexe d'espèces » sera préféré au terme de « section » et reviendra régulièrement dans ce manuscrit.

Il est remarquable que le complexe d'espèces *Beta* comprend une grande variabilité de cycles de vie. Le premier caractère variable de cycle de vie est la durée de vie. *B. v. maritima* et *B. patula* sont décrites comme pérennes par Letschert (1993). *B. v. adanensis*

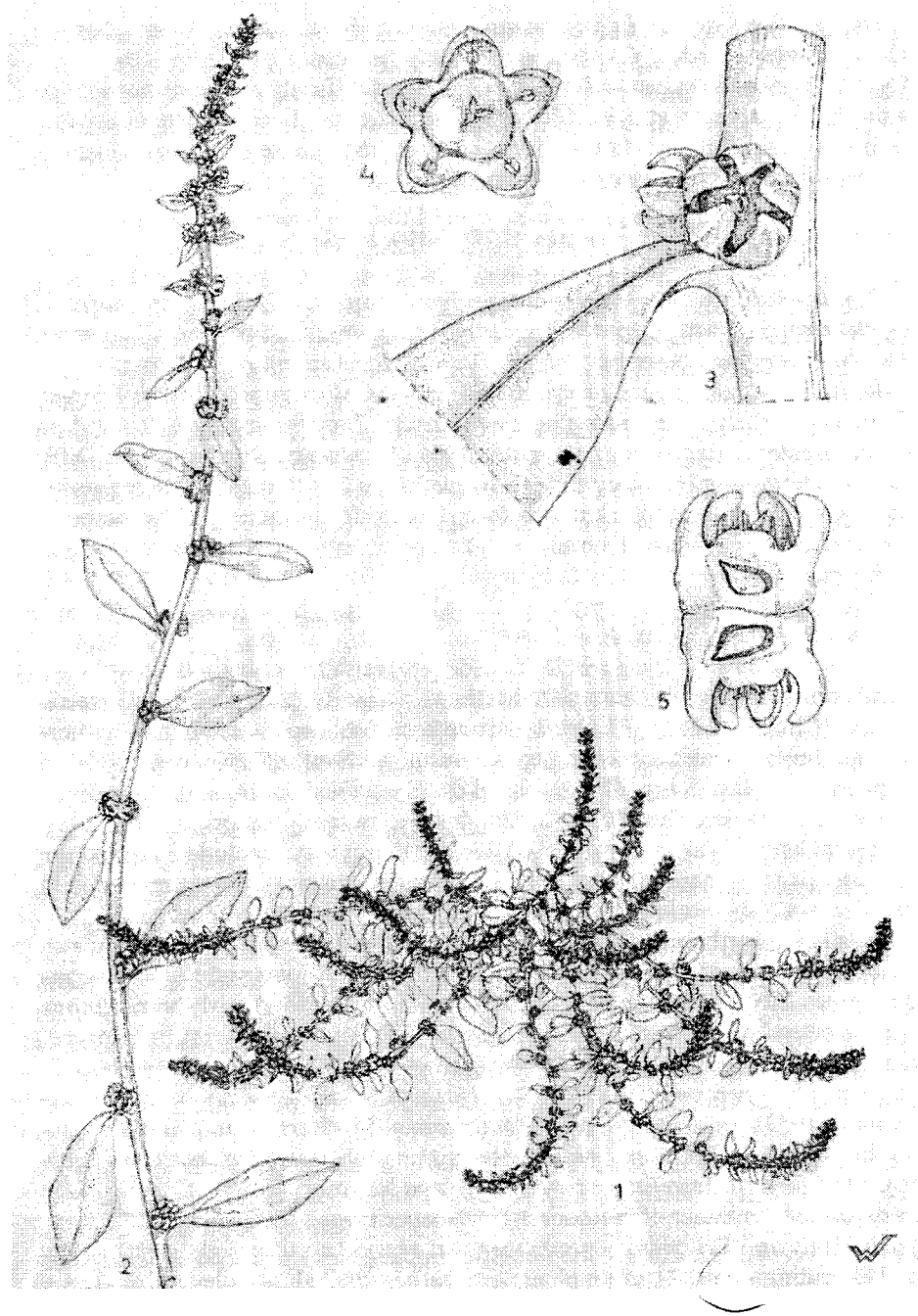


Figure 6. *B. v. adanensis*, d'après Letschert (1993). (1) Port (2) tige florale (3) position du glomérule (4) fleur (5) glomérule coupé longitudinalement.

quant à elle est décrite comme annuelle à pérenne et *B. macrocarpa* comme annuelle (Letschert 1993). Enfin Van Dijk et Desplanque (1999) ont signalé une grande variabilité de la durée de vie chez la betterave maritime (de deux à dix ans). Dès le chapitre II cependant les cycles de vie de certains taxons seront légèrement revus en fonction de nos propres observations. Après la première reproduction, en effet, la survie apparaît plutôt rare chez *B. patula* et n'a pas été observée chez *B. v. adanensis* (bien que la mort chez ce taxon ne semble pas aussi abrupte que chez *B. macrocarpa*).

B. v. vulgaris est dite bisannuelle, mais, dans ce cas précis, ce terme désigne en fait, par un abus de langage, l'âge à la première reproduction. Une plante bisannuelle fleurit à partir de la deuxième année (ce qui est effectivement le cas de la betterave cultivée) mais meurt après cet unique épisode de reproduction. Or la durée de vie de la betterave cultivée est en réalité mal connue (Boudry 1994) et peut apparemment dépasser deux ans (observations personnelles, H. Van Dijk et N. Hautekète). D'une manière générale, les caractères de cycles de vie de la betterave cultivée, mal connus et peu naturels, ne seront pas évoqués dans les chapitres suivants de ce manuscrit.

L'âge à la première reproduction est le deuxième caractère de cycle de vie montrant de la variabilité chez *Beta* et auquel on s'intéressera dans ce travail. *B. patula*, *B. v. adanensis* et *B. macrocarpa* et les origines méditerranéennes de *B. v. maritima* fleurissent dès la première année (Letschert 1993, Boudry et al. 1994, Van Dijk et al. 1997). Les origines plus nordiques de betteraves maritimes fleurissent cependant à partir de la deuxième année quand elles ne sont pas semées trop tôt au printemps. Pour fleurir lorsque les jours longs arrivent (environ 14 heures de photopériode), ces plantes doivent avoir été préalablement vernalisées, c'est-à-dire exposées à une période de froid de type hivernal (entre 5 et 9°C de manière optimale et entre trois et cinq semaines au minimum, voir Letschert 1993, et Boudry et al. soumis). Ce caractère, essentiel chez la betterave cultivée (puisque'il évite la montaison à graines avant la récolte automne, ce qui diminuerait substantiellement le taux de sucre et le poids des racines), a été très étudié. L'absence de besoin de vernalisation (floraison en première année) est déterminé chez *B. vulgaris* par l'allèle *B* d'un gène majeur, le besoin de vernalisation se manifestant chez les plantes de génotype *bb* (Abegg 1936, Boudry et al. 1994).

Les betteraves pérennes passent l'hiver sous forme d'une rosette de feuilles (et ceci quel que soit le taxon potentiellement pérenne, à l'exclusion toutefois de *B. patula*, qui ne forme jamais de rosette). Toutes les structures reproductives se dessèchent (excepté l'embryon des graines bien évidemment !) après maturation des graines. Les plantes annuelles

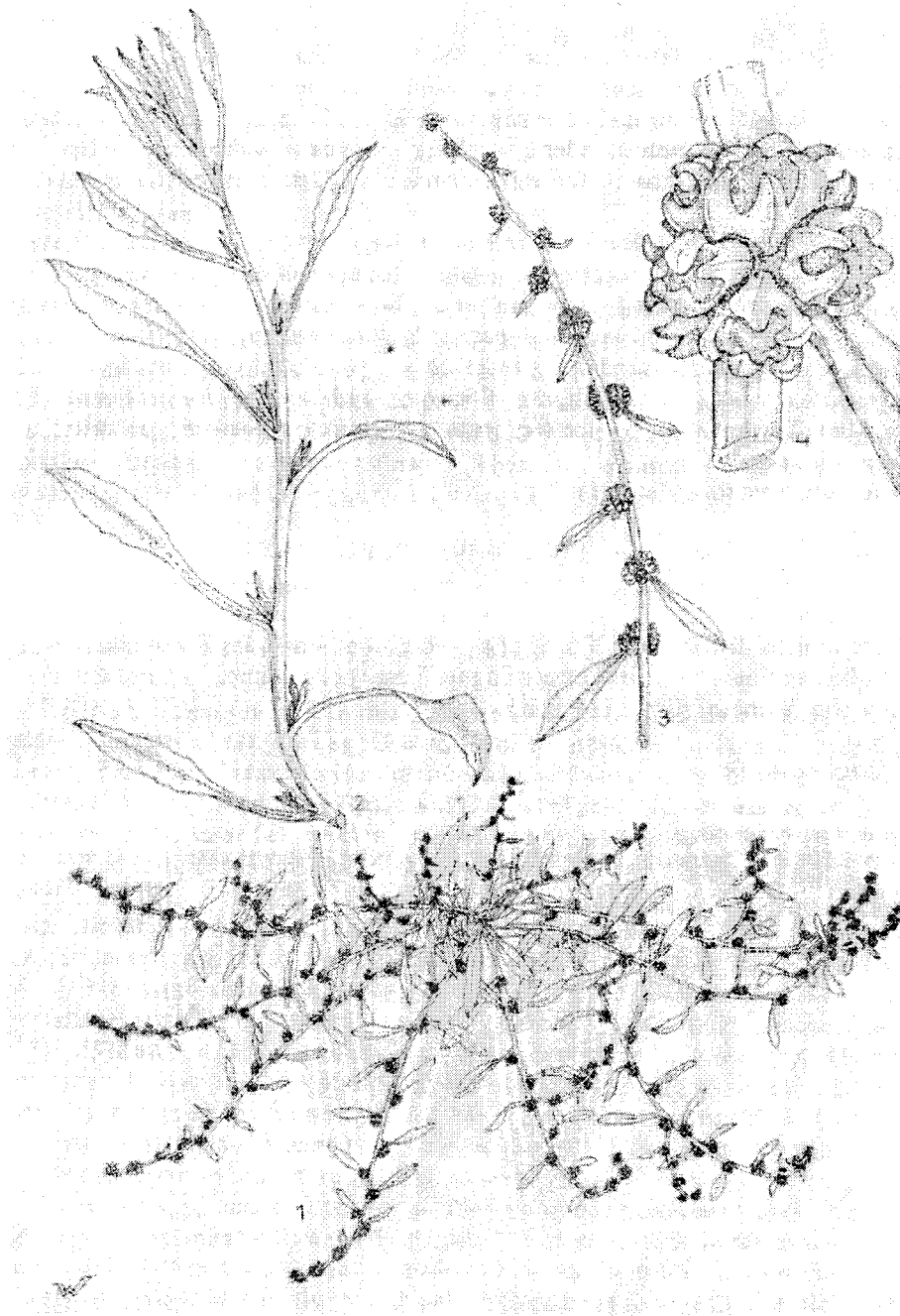


Figure 7. *B. patula*, d'après Letschert (1993). (1) Port (2) tige florale (3) position du glomérule (4) fleur (5) glomérule coupé longitudinalement.

(ou pérennes à leur mort) quant à elles se dessèchent intégralement après la formation des graines.

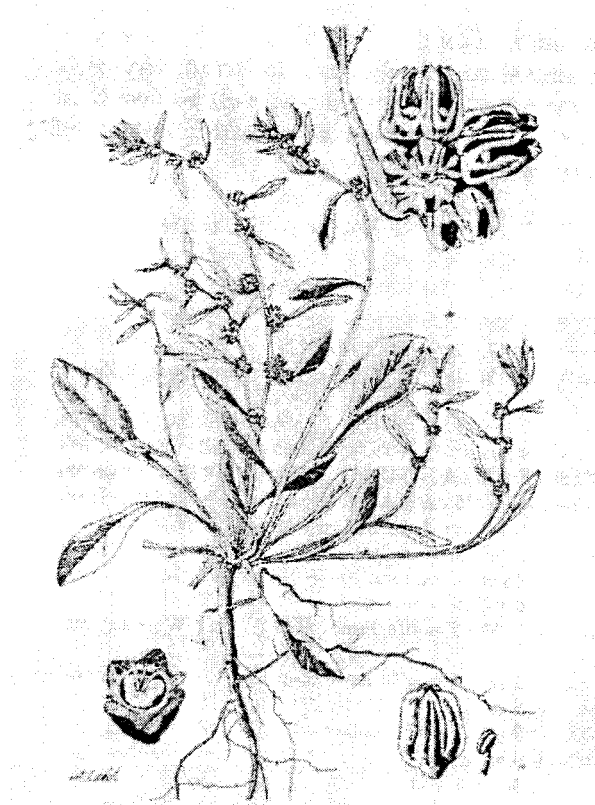


Figure 8. *B. macrocarpa*, d'après Letschert (1993). Glomérule en haut à droite, ovaire en bas à gauche et fleur en bas à droite.

Chapitre II Investissement dans la survie et la reproduction le long d'un gradient d'itéroparité - sémelparité du complexe d'espèces *Beta*

(soumis à Journal of Evolutionary Biology, modifications majeures)

L'existence de trade-offs, ou équilibres compensatoires, entre la reproduction à un moment donné et la survie (ou la reproduction future) est un postulat majeur des modèles d'évolution de la sémelparité et de l'hypothèse de pléiotropie antagoniste d'évolution de la sénescence. Le complexe d'espèces *Beta* présente une grande variabilité taxonomique pour la durée de vie, offrant un gradient allant de l'annualité à l'itéroparité, et un gradient de durées de vie chez *B. v. maritima* (Chapitre I.C). La section *Beta* permet l'étude des trade-offs entre survie et reproduction par l'observation de l'effort reproducteur de plantes ayant des durées de vie très différentes (d'annuelles à pérennes à longue durée de vie, avec tous les cycles intermédiaires), évitant ainsi la dichotomie sémelparité - itéroparité trop bien connue, ainsi que par la recherche de trade-offs chez les plantes itéropares de différentes durées de vie.

Les résultats présentés dans cet article confirment l'existence de trade-offs chez *Beta*. Ces trade-offs sont observables à la fois entre cycles de vie, par les relations négatives entre durée de vie et effort reproducteur, et intra-cycle de vie, par les corrélations phénotypiques négatives entre biomasses attribuables à la reproduction et à la survie. Les trade-offs phénotypiques sont surtout observables chez les betteraves montrant l'itéroparité la plus marquée (longue durée de vie) et n'apparaissent plus pour des durées de vie plus courtes.

L'étude révèle également la variabilité annuelle du schéma d'allocation de ressource des plantes itéropares. Dans des conditions de ressources nutritives insuffisantes, les plantes peuvent shunter partiellement ou complètement l'investissement à la reproduction au profit de leur reproduction future.

Cette étude des traits d'histoire de vie a été réalisée en conditions environnementales contrôlées dans les serres expérimentales du laboratoire, de mars 1999 à janvier 2000. Les plantes utilisées dans le cadre de ce travail sont en partie issues d'une collection de graines constituée par Henk van Dijk depuis 1989.

Investment in survival and reproduction along a semelparity-iteroparity gradient in the *Beta* species complex

Nina-Coralie Hautekèete, Yves Piquot and Henk Van Dijk

Abstract

The *Beta* species complex shows a gradient of life histories from pronounced semelparity (big bang reproduction) to pronounced iteroparity (repeated reproduction). Models assume a trade-off between investment in reproduction and survival. Reproductive effort is thought to increase with decreasing life span, and to be invariable in semelparous plants and susceptible to environmental conditions in iteroparous plants. These assumptions and hypotheses were verified by a greenhouse experiment testing six different life cycles at three contrasting nutrient levels.

This study suggests that reproductive effort is negatively correlated with mean life span along the life-cycle gradient. Unlike semelparous beets, reproductive effort in iteroparous beets is extremely sensitive to nutrient level. Phenotypic correlation between allocation to reproduction and allocation to survival generally appeared significantly negative in the longest-lived iteroparous beets, non-significant in intermediate life histories and obviously positive in semelparous beets (no trade-off control).

Key-words: Reproductive effort, cost of reproduction, life histories, trade-off

A Introduction

Annual weeds share with Bamboos or Agaves, as well as with many animals such as Pacific Salmon or butterflies, a life history characterised by a single massive reproductive episode, followed by the death of the individual. This life history is called semelparity (sometimes referred to as monocarpy in plants, or big-bang reproduction, see Gadgil & Bossert, 1970; Kirkendall & Stenseth, 1985). Its alternative is iteroparity (polycarpy), *i.e.* repeated reproduction, which may be accompanied by progressive senescence. Semelparity has a polyphyletic origin in Angiosperms (Young & Augspurger, 1991; Watkinson, 1992). Both strategies may be observed in closely related species (Pitelka, 1977; Primack, 1979; Conti *et al.*, 1999), subspecies (Spira & Pollak, 1986; Huxman & Loik, 1997), populations (Till-Bottraud *et al.*, 1990) or even morphs within one single population (Grosberg, 1988).

Semelparity, as seen in some weedy annuals, may result simply from lethal environmental factors, such as frost or drought after the reproductive season (Harper, 1977). In very unpredictable environments, it may be a successful strategy to produce offspring continually during the reproductive season until accidental death of the individual (Harper, 1977; Stearns, 1992). Nevertheless most semelparous species die immediately after reproduction without any clear environmental cause, *e. g.* long-lived semelparous plants, such as Yuccas, Agaves (Young & Augspurger, 1991) or some Bamboos (Keeley & Bond, 1999). This suggests programmed death (Wilson, 1974; Young & Augspurger, 1991), involving internal mechanisms of abrupt senescence (Rose, 1991). In this paper we will refer only to this last category of semelparous taxa.

Two major and related categories of models have been developed to explain the evolution of semelparity (Young, 1990; Young & Augspurger, 1991). Both categories allow the evolution of programmed death. The first category of models confronts semelparous and iteroparous strategies as defined by their demographic parameters (*e.g.* adult and juvenile survival, age at first reproduction...). These models show that any demographic changes decreasing adult, relative to juvenile reproductive value should favour semelparity (Cole, 1954; Gadgil & Bossert, 1970; Bryant, 1971; Charnov & Schaffer, 1973; Stearns, 1992). Although the first category of models also assume costs of reproduction, models of the second category are generally called reproductive effort models (Stearns, 1992), because they are more directly based on allocation patterns. The part of an individual's energy which is allocated to reproduction during a given reproductive episode (the reproductive effort), is no

longer available for survival nor future reproduction, and vice versa. Since one function decreases while the other increases, this relationship is named trade off, and reproduction is said to be costly. The optimum reproductive effort here depends on the balance between the benefits of current reproduction (in terms of progeny) and its costs (in terms of mortality or future reproduction), which is also modified by external causes of mortality. If the optimum reproductive effort corresponds to the maximum possible value, semelparity should evolve, whereas iteroparity will be the probable outcome in other cases (Gadgil & Bossert, 1970; Schaffer, 1974; Taylor *et al.*, 1974; Schaffer & Rosenzweig, 1977). The notions of reproductive effort and of reproductive costs gave more recently rise to optimal allocation models in which energy is explicitly divided between reproduction, growth, survival and even maintenance (e.g. Kozlowski, 1991; Perrin, 1991; Kozlowski, 1992; Perrin, 1992; Perrin & Sibly, 1993; Perrin *et al.*, 1993; Teriokhin, 1998; Kozlowski & Teriokhin, 1999). Since both categories of models assume more or less explicitly the occurrence of trade-offs between current reproduction and survival (or future reproduction) and the influence of external causes of mortality, the main difference arises from the method: contrary to the others, reproductive effort models consider a continuum of strategies with semelparity being one extreme, which might be more realistic.

Trade-offs may be revealed through the observation of negative correlations between simple phenotypic measures of traits related to reproduction and survival. Unfortunately, using this approach, trade-offs may be masked by environmental variability (Reznick, 1985; Van Noordwijk & de Jong, 1986). Observation of trade-offs may even depend on the quantity of available resources (Van Noordwijk & de Jong, 1986). The search for phenotypic trade-offs therefore means keeping in mind the conditions in which phenotypic correlations constitute good representations of genetic correlations (Reznick, 1985; Chaverud, 1988; Pease & Bull, 1988; Willis *et al.*, 1991; Roff, 2000).

One theoretical prediction resulting from the trade-off assumption is that, whereas reproductive effort in semelparous taxa will be fixed to its physiological maximum (Stearns, 1992), iteroparous taxa may be able to change their reproductive effort in response to environmental factors, such as the quantity of available resources. This plasticity of reproductive effort can be of major importance in iteroparous taxa, which face different environmental conditions from one reproductive episode to the next (Hirshfield & Tinkle, 1975).

Families or genera with taxa differing in life history are ideal for the comparative

study of reproductive effort and trade-offs, since such organisms are otherwise similar in many ways. They are quite rare but much sought-after (for examples of interspecific comparisons between two, or rarely more, semelparous and iteroparous taxa, see: Pitelka, 1977; Primack, 1979; Marshall *et al.*, 1985; Young, 1990), (for intraspecific comparisons of two morphs or taxa, see: Spira & Pollak, 1986; Grosberg, 1988; Till-Bottraud *et al.*, 1990). The *Beta* species-complex is therefore of particular interest. It includes *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*, the cultivated beet, and four wild relatives. All are able to interbreed. Nevertheless such crosses are unlikely in the wild, which explains why some taxa are described as distinct species. The species *Beta vulgaris* includes *B. v. vulgaris*, its closest wild relative *B. v. maritima* and *B. v. adanensis*. The two other species of the complex are *B. patula* and *B. macrocarpa* (Letschert, 1993). Within the *Beta* species-complex, we observed a gradient from pronounced iteroparity to pronounced semelparity. Among populations of *B. v. maritima*, which is iteroparous, the variation of life expectancy is striking: under controlled conditions, mean life spans range from two to ten years (Van Dijk & Desplanque, 1999). *B. patula* is mostly semelparous but some individuals may survive and reproduce at least two years (Letschert, 1993, personal observations). According to our observations the subspecies *B. v. adanensis* is semelparous, although it is sometimes described as possibly iteroparous (Letschert, 1993). *B. macrocarpa* is strictly semelparous, dying immediately after seed maturity. The *Beta* complex is therefore ideal for comparisons between many phylogenetically closely related taxa or populations with contrasting life cycles, such as semelparous vs iteroparous life cycles, but also with gradual variations between these extreme life cycles. Furthermore, the study of life histories has received considerable attention in the zoological literature but is deficient in plant taxa, where most studies concentrate on traits related to reproductive systems. The *Beta* species complex combines the advantages of allowing tests of predictions in a new plant system, constituted of closely related taxa showing gradual variations in life histories.

In a controlled-conditions experiment, involving six different life cycles of the *Beta* species complex (from long-lived iteroparous to strictly semelparous plants), grown at three contrasting nutrient levels, we addressed the following questions: (1) Does reproductive effort decrease with increasing life span, from the reference maximum value found in strictly semelparous plants to a minimum value found in the longest-lived iteroparous beets? Is reproductive effort more plastic in iteroparous than semelparous taxa? (2) Are there any significant phenotypic correlations between allocation to survival and reproduction along the

taxon	origin	life cycle	code	number of individuals
<i>B. v. maritima</i>	French Atlantic coast 1	Iteroparous, 4.7 years $\pm$ 1.9	VI1	41
<i>B. v. maritima</i>	French Atlantic coast 2	Iteroparous, 5.5 years $\pm$ 2.0	VI2	22
<i>B. v. maritima</i>	Mediterranean 1	Iteroparous, 4.1 years $\pm$ 1.5	MI1	29
<i>B. v. maritima</i>	Mediterranean 2	Iteroparous, 2.8 years $\pm$ 1.2	MI2	30
<i>B. v. maritima</i>	Agen area 1	Iteroparous, 2.0 years $\pm$ 0.9	LI1	28
<i>B. v. maritima</i>	Agen area 2	Iteroparous, 2.0 years $\pm$ 1.0	LI2	29
<i>B. patula</i>	Madeira	Semelparous, or rarely iteroparous	SI	20
<i>B. v. adanensis</i>	Greece 1	Semelparous	LS1	27
<i>B. v. adanensis</i>	Greece 2	Semelparous	LS2	30
<i>B. macrocarpa</i>	Cyprus	Strictly semelparous	VS1	27
<i>B. macrocarpa</i>	Tunisia	Strictly semelparous	VS2	26

Table 1. Taxa, life cycles, codes and number of individuals of the various origins of the experiment. Labelling was chosen to obviate future necessity of cross-referencing to this table: long-lived iteroparous life-cycles or origins are referred to as VI for “very” and “iteroparous”, M means “medium”, L “less” and S simply means “semelparous”.

iteroparity gradient? What is their sign? Are these phenotypic correlations sensitive to the nutritive conditions?

B Methods

1 Experimental design

Six different life cycles were selected to represent the gradient: three mostly semelparous species, *B. macrocarpa*, *B. v. adanensis*, *B. patula* and three iteroparous life cycles of *B. v. maritima* with different life expectancies. To (1) separate life cycle effects from population effects and to (2) increase the probability of observing trade-offs (Van Noordwijk & de Jong, 1986), two origins were chosen per life cycle, except for *B. patula* (an endemic species from Madeira) for which only one population is known (Table 1).

Seeds of *B. macrocarpa* (origins VS1 and VS2, Table 1), *B. v. adanensis* (origins LS1 and LS2 from two different Greek localities), and *B. patula* (SI) were provided by L. Frese (BAZ Gene Bank at Braunschweig, Germany, each origin being collected as a bulk). These taxa are essentially autogamous, contrary to *B. v. maritima* which is self-incompatible. The *B. v. maritima* origins LI1 and LI2 (with a mean life span of two to three years) and MI1 and MI2 (three to four years) were part of our laboratory collections (Van Dijk *et al.*, 1997). In the very iteroparous origins (VI1 and VI2, with a mean life span of about five years) we had to increase the frequency of the dominant B allele, which suppresses the vernalization requirement, i.e. induction of flowering by exposure of the bb plants to low temperature during winter (Abegg, 1936; Boudry *et al.*, 1994). This was done by crosses (in VI1, both parent plants had at least one B allele: B- × B-; in VI2, one parent had at least one B allele, contrary to the other: B- × bb), thus obtaining at least 75 % and 50 % of plants (depending on the penetrance, see Boudry *et al.*, 1994) without vernalization requirement which were kept for this experiment. All *B. v. maritima* origins were full sibs.

Plants were sown during April and grown in a greenhouse under natural day-length at three different nutrient levels (3 dm³ pots): a rich and an intermediate medium of enriched turf (respectively 2 and 0.8 kg/m³ of 14:16:18 NPK fertiliser with microelements) and a low nutrient medium of a mix of vermiculite and 0.8 kg/m³ fertilised turf in proportions 1:9, thus containing 0.08 kg/m³ of fertiliser. Plants were randomised each fortnight during the experiment. Pollen donators were added to the experimental design to avoid seed-set

limitation.

This experiment therefore involved 11 origins and three nutritive treatments per origin. To obtain around 10 individuals per treatment, 360 plants were potted at the beginning of the experiment. After elimination of plants requiring vernalization or that had been accidentally damaged, 309 individuals remained for further analysis.

2 Dry biomass distribution in plants

Iteroparous beets overwinter as vegetative rosettes, which are produced at the end of the reproductive season. Except for the seeds, all other aerial parts (stems, leaves and flowers) dry out. At this unambiguous physiological stage, we harvested plants of all life cycles in their first year. All plants were harvested and divided into seeds, flowers (both aborted and non-fertilised), major roots, leaves, stems, rosette leaves and rosette stems. All those parts were dried in a 50°C oven for seven days (14 for the roots). Dry weight was used as an estimation of carbon allocation to the different parts of the plants.

3 Estimations of reproductive effort and survival

Reproductive effort is the relative investment of an individual in reproduction, which is expected to compete with future survival and reproduction. In annual plants reproductive effort is expected to be maximum, but this maximum will depend on the efficiency of converting the resources drained from the vegetative tissues into reproduction. This efficiency may depend on the evolutive stage: in a lineage that is evolving towards semelparity, reproductive effort is expected to continue to increase after the population has become semelparous. The aim here was to compare different taxa and origins differing by their life cycles. We used the only strictly semelparous taxon (e.g. *B. macrocarpa*) as a reference point in our comparisons. We defined major roots (able to stock resources) and rosette leaves (in charge of photosynthesis during winter) as investment in survival, which was a good compromise for the whole gradient, although the consequence is a potential allocation to survival in semelparous forms (albeit a weak one). Reproductive parts were restricted to seeds and non-seeding flowers. Dry leaves could be considered as devoted to both reproduction and survival since they are responsible for photosynthesis during the growth of both roots and flowering stems. Dry stems only develop when plants bolt for flowering, but they also bear

leaves and conduct the products of photosynthesis to the reserve organs. Therefore, we do not considered dry leaves and stems as reproductive structures as suggested by Thompson and Stewart (1981). Furthermore stems could introduce bias in the comparisons of reproductive allocation between species because they highly depend on the architecture of the plants. Thus reproductive effort was estimated as the dry biomass of parts devoted with certainty to reproduction (seeds and flowers) divided by the dry biomass of parts devoted with certainty to survival and reproduction (major roots plus rosette leaves and seeds plus flowers). In this way, what will be called reproductive effort later on reflects the trade off between current reproduction and future survival and reproduction and allows the comparison among all taxa of the *Beta* species complex. Obviously we checked that this method does not change the qualitative results compared with a classical reproductive effort (reproductive biomass divided by total biomass), and that it only enhances their clarity.

Survival was indicated by the production of rosette leaves at the end of the reproductive season. Since all plants were harvested, estimations of mean life spans per origin (Table1) were obtained from previous experiments (method in Van Dijk & Desplanque, 1999).

4 Statistical analyses

A mixed-model ANOVA (GLM procedure, SAS Institute, 1988) was applied to compare reproductive effort between life cycles, between origins within life cycles and between nutrient levels (treatments). Life cycle and treatment were fixed effects, all others were random. This model was a partially nested mixed model ANOVA:

$$Y_{ijkn} = \mu + \alpha_i + B_{ij} + \delta_k + (\delta\alpha)_{ik} + (\delta B)_{ijk} + e_{ijkn}$$

where Y_{ijkn} is the reproductive effort of the n th individual of the j th origin nested in the i th life cycle and cultivated in the k th treatment. μ is the mean, α_i is the fixed effect of the i th life cycle, δ_k is the fixed effect of the k th treatment, B_{ij} is the random contribution of the j th origin of the i th life cycle. $(\delta\alpha)_{ik}$ and $(\delta B)_{ijk}$ are, respectively, the life cycle $\times$ nutritive treatment interaction effect and the origin $\times$ nutritive treatment interaction effect, and e_{ijkn} is the error term. Test denominators were mean squares of origin(life cycle) for life cycle effect, of treatment $\times$ origin(life cycle) for treatment and treatment $\times$ life cycle effects and of the error term for other effects. F tests used type III sums of squares. This analysis of variance was first conducted for all origins and second for the semelparous (VS1, VS2, LS1, LS2, SI) and the

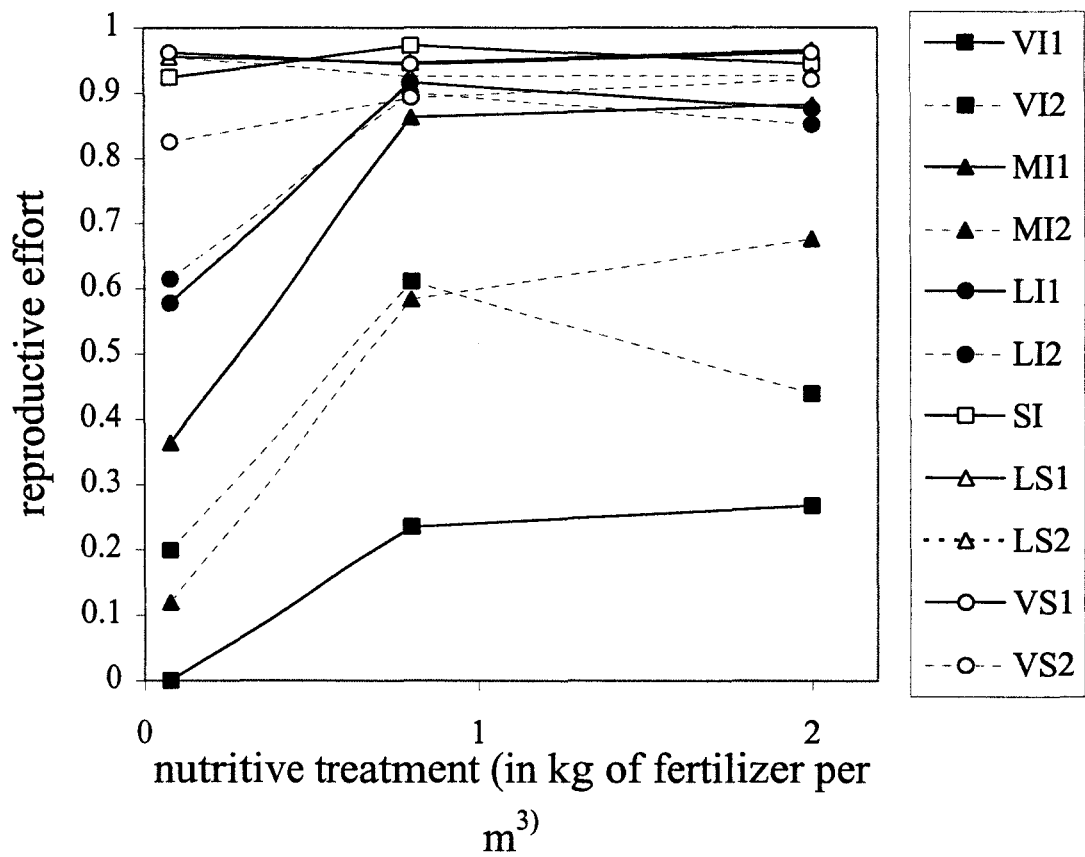


Figure 1. Reproductive effort with respect to treatment for the 11 origins

iteroparous origins (LI1, LI2, MI1, MI2, VI1 and VI2) separately. Reproductive effort data were arcsine transformed to meet the normality and homoscedasticity requirement of ANOVA (Sokal & Rohlf, 1995). In the analysis of variance conducted for all origins, a planned contrast opposing semelparous to iteroparous life cycles (with origin within life cycle as an error term) was conducted (Sokal & Rohlf, 1995).

Among-origins correlations between reproductive effort and life span were calculated for each treatment.

To investigate phenotypic trade-offs, data of the two origins from a same life cycle were pooled to increase genetic variability, thus increasing the probability of observing trade-offs (Van Noordwijk & de Jong, 1986). Since this confuses correlation due to covariance within and between origins, we partitioned the covariance, within life cycles, into within and between origins covariances (using PROC NESTED, SAS Institute, 1988): we observed that correlations were mostly due to the within-origins covariances. Pairwise Pearson correlations were therefore calculated among the seven types of biomass data (dry stems, flowers, seeds, dry leaves, major roots, rosette leaves and rosette stems) for each combination of life cycle and treatment (PROC CORR, SAS Institute, 1988). Tests were considered significant at $P < 0.05$. Significance levels were adjusted to multiple inferences by a sequential Bonferroni test (Rice, 1988), with $\alpha = 0.05$, 21 tests in iteroparous plants, and 10 tests in semelparous plants (since they do not have any rosette leaves nor stems). Semelparous life cycles were considered as control ones in which only positive correlations are expected.

In order to estimate consistency of correlation patterns among pairs of treatments, Mantel tests (Mantel, 1967) were conducted (using Genepop 3.2 Raymond & Rousset, 1995) among pairs of correlation matrices in a same life cycle (i.e. three tests per life cycle).

C Results

1 Reproductive effort along the iteroparity-semelparity gradient

Iteroparous plants generally have a small reproductive effort compared with the maximum value reached in the present study by annuals (figure 1). The planned contrast between semelparous and iteroparous life cycles reveals a highly significant difference between semelparous and iteroparous life cycles for reproductive effort ($P < 0.005$). The analysis of variance reveals significant effects of life cycle ($P < 0.05$, table 2, a), origin, treatment and life cycle $\times$ treatment interaction ($P < 0.0001$).

Source	(a) All plants		(b) Semelparous life cycles		(c) Iteroparous life cycles	
	df	F	df	F	df	F
Life cycles (L)	5	8.52*	2	0.32	2	5.06
Origin (O(L))	5	37.93***	2	10.99***	3	46.05***
Treatment (T)	2	74.01***	2	0.6	2	112.83***
L x T	10	14.08***	4	1.43	4	3.67
O(L) x T	10	1.55	4	1.26	6	1.62
Error	276		115		161	

*** : significant at $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$

Table 2. Mixed model analysis of variance (GLM) on arcsine transformed reproductive efforts. A first analysis has been conducted on all life cycles (a), two others have been conducted on semelparous life cycles (b) and on iteroparous life cycles (c) separately.

The correlation between reproductive effort and mean life span per origin is significantly negative whatever the treatment (low: $r = -0.893$, $P < 0.0001$; medium: $r = -0.757$, $P = 0.0051$; high: $r = -0.844$, $P = 0.0005$; $n = 11$).

2 Plasticity of reproductive effort

The analysis of variance of reproductive effort for all life cycles (Table 2a) reveals a significant effect of treatment ($P < 0.0001$). The life cycle $\times$ treatment interaction is highly significant ($P < 0.0001$), whereas the origin $\times$ treatment interaction is not. Semelparous life cycles have a constant reproductive effort among treatments (Figure 1, Table 2b), whereas in iteroparous life cycles reproductive effort increases significantly with treatment ($P < 0.0001$, Figure 1 and Table 2c). Origin $\times$ treatment interactions are not significant when semelparous and iteroparous life cycles are analysed separately (Tables 2b and c).

In VI1, all individuals of the low nutrient treatment stayed at rosette stage and did not flower. Similarly, two MI2 individuals did not flower in this treatment. Three individuals of *B. patula* (SI) maintained basal leaves after seed maturation in the low nutrient treatment. These leaves may be considered as rosette leaves, allowing individuals to survive in low nutrient environments. No surviving structure has been observed after seed maturation in *B. v. adanensis* nor in *B. macrocarpa*.

3 Phenotypic correlations within life cycles

After a sequential Bonferroni test, significant negative correlations were found exclusively between dry stems, flowers and seeds versus dry leaves, roots, rosette leaves and rosette stems (Tables 3a and b). Correlations between dry stems, flowers and seeds or between dry leaves, roots, rosette leaves and rosette stems, were either positive or non significant after a sequential Bonferroni test (Table 3b).

All negative correlations (significant at $\alpha = 0.05$) were obtained in iteroparous life cycles (Table 3a), and the sequential Bonferroni test supported negative correlations in the very long-lived iteroparous life cycle. The significant negative correlations became less numerous with decreasing iteroparity. On the other hand, positive correlations become progressively more numerous and more significant (Table 3a). Figure 2 illustrates the general tendencies of the phenotypic correlations between reproduction and survival.

Mantel tests among pairs of correlation matrices all reveal a significant consistency of

life-cycle	significant negative correlations			significant positive correlations		
	low nutrient treatment	medium nutrient treatment	high nutrient treatment	low nutrient treatment	medium nutrient treatment	high nutrient treatment
VI	3 (2)	10 (3)	6 (4)	0	0	0
MI	3 (0)	1 (0)	2 (0)	0	0	0
LI	1 (0)	2 (0)	1 (0)	3 (0)	1 (0)	4 (4)
SI	0	0	0	2 (0)	1 (1)	1 (0)
LS	0	0	0	4 (4)	3 (2)	6 (6)
VS	0	0	0	1 (1)	4 (4)	6 (6)

a

life-cycle	significant negative correlations			significant positive correlations		
	low nutrient treatment	medium nutrient treatment	high nutrient treatment	low nutrient treatment	medium nutrient treatment	high nutrient treatment
VI	0	0	0	4 (4)	4 (1)	7 (5)
MI	0	0	0	6 (1)	4 (2)	5 (1)
LI	0	0	0	1 (0)	1 (1)	3 (3)
SI	1 (0)	0	0	2 (1)	1 (0)	0
LS	0	0	0	3 (2)	2 (1)	4 (3)
VS	0	0	0	2 (0)	2 (2)	3 (3)

b

Table 3. Phenotypic correlations per life-cycle

a. Number of significant* negative and positive correlations between dry stems, flowers and seeds on the one hand, and dry leaves, roots, rosette leaves and rosette stems on the other hand.

* Significance is tested for $\alpha = 0.05$. Significant correlations after a sequential Bonferroni test are in parentheses. The total number of tested correlations were 12 in life cycles 1 to 3, as well as in life cycle 4, poor treatment, and six in all others, due to missing parts (rosette stems and leaves) in annual plants.

b. Number of significant[†] negative and positive correlations: other tests.

[†] Significance is tested for $\alpha = 0.05$. Significant correlations after a sequential Bonferroni test are in parentheses. The total number of tested correlations was nine in life cycles 1 to 3, as well as in life cycle 4, poor treatment. It was equal to four in all others.

correlation patterns among pairs of treatments ($P < 0.05$), except comparisons of low vs medium or low vs high nutritive treatments in the LS life cycle and of low vs medium nutritive treatments in the VS life cycle (i.e. 13 comparisons of 16 are significant at $\alpha = 0.05$).

D Discussion

1 Reproductive effort in the semelparity-iteroparity gradient

Our results show that reproductive effort ranges between the obvious high value found in semelparous taxa and a relatively low value found in the longest-lived iteroparous beet. To our surprise, there was no significant difference among life cycles within semelparous or iteroparous beet. *B. macrocarpa* and *B. v. adanensis* seemed to be truly semelparous but *B. patula* produced rosette leaves in low nutrient conditions, which reveals its capacity to invest in survival. Within the iteroparous taxon *B. v. maritima*, analysis of variance did not reveal any effect of life cycle. We can nevertheless note that reproductive effort was negatively correlated with mean life span. This observation of reproductive cost is consistent with life-history theory (Primack, 1979; Roff, 1992; Stearns, 1992). Many authors revealed that reproductive effort is higher in semelparous taxa than in iteroparous ones (e.g. Pitelka, 1977; Calow, 1978; Primack, 1979; Grosberg, 1988), but, to our knowledge, such evidence of negative relationship between reproduction and survival along a life-cycle gradient is only given by Leggett and Carscadden for the fish *Alosa sapidissima* (1978).

It is worth noting that our estimate of reproductive effort does not include investment in pollen. That might cause a problem for the comparison of the reproductive effort between semelparous plants, which are all selfers here, and iteroparous plants, which are outcrossers here. In selfing semelparous plants indeed, the smaller investment in pollen might allow a higher investment in flowers and seeds than in outcrossing iteroparous plants, even with a similar reproductive effort (including pollen). This is not much probable in terms of biomass (due to the so small biomass of stamens compared to seed biomass in wild beets), but might be investigated further in terms of energy amount.

The hypothesis of a higher reproductive effort in semelparous taxa relative to iteroparous taxa can be tested by using several semelparous and iteroparous related species, provided there is enough taxonomic diversity within each life cycle to randomise differences between taxa within life cycles (in order to eliminate the possibility of a phylogenetic

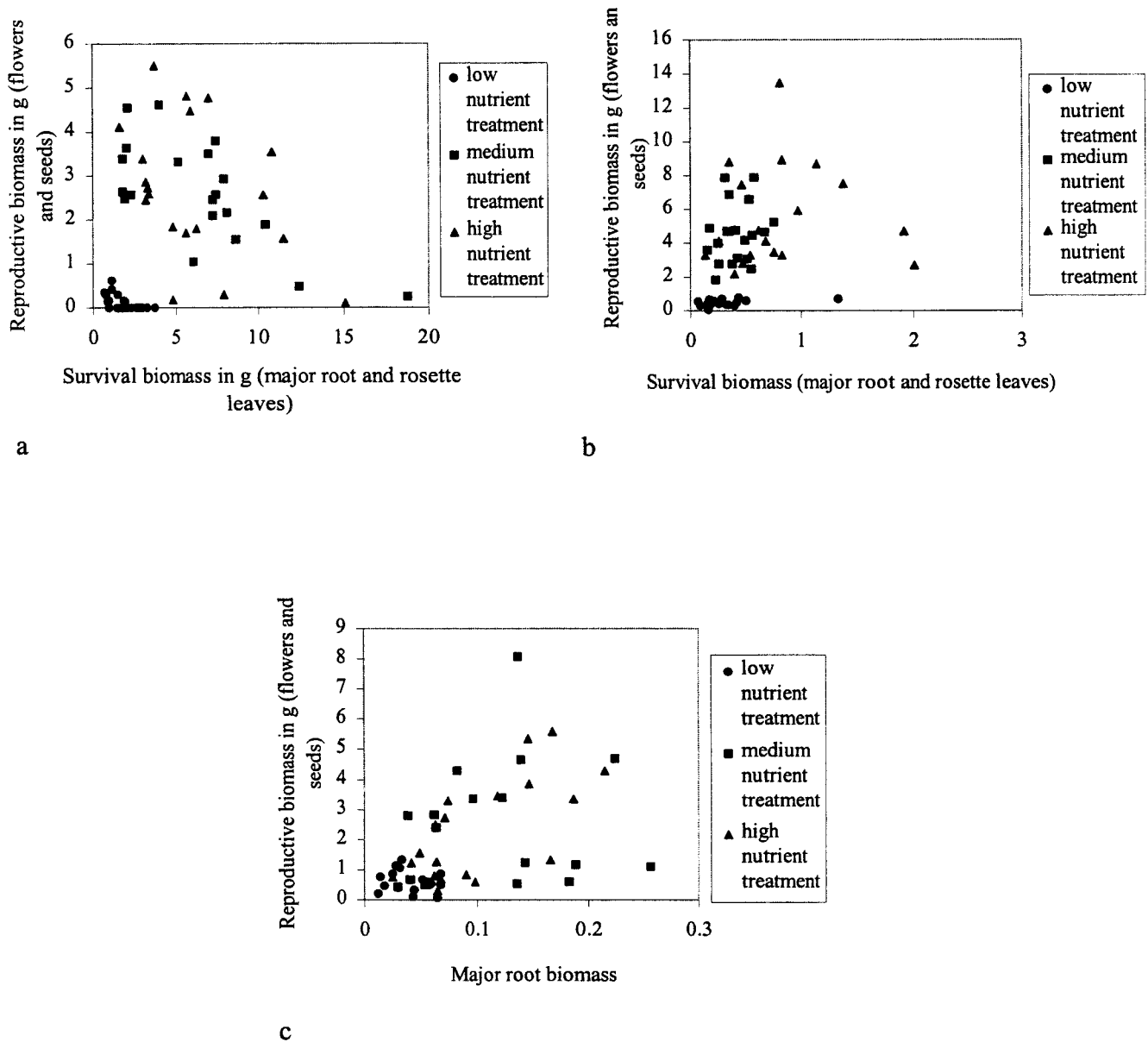


Figure 2. Reproductive biomass vs survival biomass in two extreme and an intermediate life cycles. Both origins of each life cycles are represented altogether.

- Long-lived iteroparous life cycle
- Short-lived iteroparous life cycle
- Strict semelparous life cycle

constraint on the trait). Here the actual iteroparous origins belong to the same subspecies, *B. v. maritima*, which would decrease the interest of comparing reproductive efforts of semelparous vs iteroparous taxa. However the most important result is the decrease of reproductive effort with increasing life span, which is observed in the overall life cycle gradient and is therefore not dependent on phylogenetic constraints. Furthermore the most important source of variance for reproductive effort is not the taxonomic level but the origin, especially within *B. v. maritima* (Figure 1).

2 Plasticity of reproductive effort

The analysis of variance in iteroparous beets revealed a significant effect of nutrient level on reproductive allocation: investment in reproduction is lower when resource level is low. The most striking example was VI1, the longest-lived iteroparous origin, in which no plant flowered in the low nutrient conditions. This is also true for the MI2 origin (moderately iteroparous), in which two individuals of ten did not flower in the low nutrient conditions, and for *B. patula*, which survived after reproduction in the low nutrient treatment. In the most semelparous beets, treatment has no significant effect on reproductive effort: the allocation to reproduction is at its maximum whatever the availability of resources. A similar pattern was observed by Grosberg (1988) in the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*.

This suggests that, in low nutrient environments, iteroparous *Beta* invest in survival rather than in reproduction. The longest-lived iteroparous ones may even skip a reproductive season in bad years. On the other hand, in good conditions, survival is more or less guaranteed and surplus resources are invested in reproduction. Two mechanisms of delaying first reproduction have been proposed. The first is the occurrence of a threshold size. Plants have to reach a certain size before being able to flower, e.g. in *Agave deserti* (Tissue & Nobel, 1990) and *Cynoglossum officinale* (Wesselingh *et al.*, 1997). Second, growth rate may also determine flowering. Smit (1983) showed that bolting rate (the percentage of plants that bolt and flower) is related to growth rate in cultivated beet, *B. v. vulgaris*. The phylogenetic proximity to *B. v. maritima* suggests that flowering in wild beets may also depend on growth rate.

Iteroparous plants will experience varying environmental conditions from one reproductive episode to another. Hirshfield and Tinkle (1975) suggested the possibility of fluctuating reproductive effort in variable environments in iteroparous plants. This strategy may evolve in seasonal environments with unpredictable conditions from year to year

(Stearns, 1976). On the other hand, semelparous plants, which are not able to survive, have to invest maximally in reproduction whatever the environmental conditions (Stearns, 1992).

3 Phenotypic correlations within life cycles

Phenotypic trade-offs between dry stems, flowers and seeds on the one hand, and dry leaves, roots, rosette leaves and rosette stems on the other, are exclusively found in the iteroparous plants, especially in the longest-lived iteroparous life cycles. Phenotypic correlations are strongly positive in pronounced semelparous taxa. In those plants, major root biomass is fixed to a minimum not devoted to survival: in semelparous plants the principal root is the architectural link between roots (devoted to foraging and fixation) and aerial parts. Major root biomass is therefore positively correlated to the size of the plant and variations in traits are due to variations in total biomass, resulting in positive correlations. Between these two extreme positions (long-lived iteroparous life cycles with trade-offs and strict semelparous life cycles with positive correlations), intermediate life cycles show mostly non significant correlations of both signs. Therefore the gradient of life cycles is not only accompanied by a gradient of reproductive efforts but also by a gradient with regard to the observation of phenotypic trade-offs.

Van Noordwijk and De Jong (1986) proposed a statistical model predicting the sign of a phenotypic correlation between traits linked by genetically determined trade-offs, based on an acquisition-allocation balance. They showed that negative correlations are observed in populations with a high genetic variability for resource allocation and a low variability in resource acquisition (for environmental reasons). Low genetic variability for resource allocation compared with a high variability in resource acquisition will result in positive correlations. Genetic differences in capacity for acquiring resources would lead to positive genetic correlations (de Laguérie *et al.*, 1991). In the very iteroparous life cycles of this experiment, genetic variability for the allocation to reproduction and survival probably dominates the weak environmental variability. In the very semelparous life cycles, allocation to survival is fixed to zero, all parts are related to reproduction, resulting in positive correlations due to environmental variation and genetic differences in resource acquisition and photosynthesis. Finally, in intermediate life cycles (LI and SI), investment in survival is weak and genetic variability for allocation to reproduction and survival becomes dominated by variability in resource acquisition, even in controlled conditions.

Some authors predict more negative correlations in the most limiting condition

(Reznick, 1985), in which reproductive and survival parts physiologically compete for limited resources. On the contrary, according to Van Noordwijk and De Jong (1986), for mathematical reasons, the average quantity of acquired resources has to be high to demonstrate variation in resource allocation and thus trade-offs. De Laguerie *et al.* (1993) showed that negative genetic correlations between fitness components are more likely to appear in intermediate environments because of saturation of response curves in very rich environments. Multi-environment experiments are therefore a good solution for this complex problem (Piquot *et al.*, 1998). An experiment in *Sparganium erectum* (Piquot *et al.*, 1998) showed more trade-offs in limiting and intermediate conditions, whereas limiting conditions revealed more trade-offs in *Lychnis flos-cuculi* (Biere, 1995). Our experiment suggests that trade-offs may be more numerous or more significant in rich environments although present at all resource levels. Phenotypic correlations appear very consistent among environments, which is to be expected for traits that are functionally related and under the same selective force (Vogler *et al.*, 1999).

Reproductive cost has been demonstrated in many plant species, *e.g.* as increased mortality rate with fruiting in *Podophyllum peltatum* (Sohn & Policansky, 1977), reduced probability of subsequent reproduction and reduced growth with fruit production in *Cypripedium acaule* (Primack & Stacy, 1998), *Pinguicula vulgaris* (Worley & Harder, 1996) and *Tipularia discolor* (Snow & Whigham, 1989). Trade-offs also appeared between rhizome and seed and between rhizome and corm in the grass *Amphibromus scabrivalvis* (Cheplick, 1995) and between several sexual and asexual traits in *Sparganium erectum* (Piquot *et al.*, 1998). Animal species also show various costs of reproduction: reduced subsequent reproduction in *Parus caeruleus* (Nilsson & Svensson, 1996), reduced immune response (Ots & Hórák, 1996; Deerenberg *et al.*, 1997; Oppliger *et al.*, 1997; Nordling *et al.*, 1998), weight loss in some male lizards (Abell, 2000), reduced survival due to internal mechanisms of death in *Drosophila melanogaster* (Zwaan *et al.*, 1995; Chapman *et al.*, 1998), *Callosobruchus maculatus* (Tatar & Carey, 1995) and the cricket *Modycogryllus confirmatus* (Tanaka & Suzuki, 1998) or to external mechanisms of death in *Sturnus vulgaris* (escape performance: Lee *et al.*, 1996). Our experiment shows decreasing survival (or future reproduction) with increasing investment in current reproduction, probably mediated by the decrease of the investment in reserve structures.

E Conclusion

Competition for resources between reproduction and survival is a recurrent hypothesis in evolutionary life history models (Williams, 1966; Gadgil & Bossert, 1970; Pitelka, 1977). In such models, current reproductive effort is expected to be inversely related to the probability of survival and of future reproduction. This prediction is supported in the *Beta* species-complex.

Iteroparous beets are very sensitive to resource conditions with respect to reproductive effort. They tend to give priority to survival and invest in reproduction in case of surplus resources and even skip a reproductive season in case of very low nutrient conditions. This strategy, predicted for variable environments (Hirshfield & Tinkle, 1975; Stearns, 1976), may be very useful for iteroparous plants which face environments varying from year to year (particularly in wild beets which live mainly at high water margins). They thus optimise reproductive effort not only as a function of the mean environment but also of its short-term variation.

Phenotypic trade-offs between reproductive effort and survival have been found in the longest-lived iteroparous beets. Their strength appears inversely related to iteroparity. In the shortest-lived iteroparous taxa, weaker genetic trade-offs (probably) become dominated by positive correlations induced by environmental or genetic variability. Long-lived iteroparous beets therefore add new evidence to the occurrence of trade-offs between reproduction and survival, while the life-cycle gradient gives further empirical information about possibility of observing phenotypic trade-offs in controlled experiments.

This species complex allowed us to study reproductive cost by means of two different approaches. Both are connected with a potential decrease in survival or a decrease in future fecundity via the decrease in reserve organs. First, reproductive effort decreases with increasing life span. It ranges from a nearly total investment in reproduction in strictly semelparous plants, to a weak or zero investment in long-lived iteroparous plants, intermediate life cycles showing intermediate reproductive effort. Second, phenotypic trade-offs have been found in the longest-lived iteroparous plants. Phenotypic correlations are obviously positive in semelparous life cycles, where all structures somehow participate to reproduction, and null in intermediate life cycles. Many questions remain but the *Beta* species-complex should allow us to answer many of them, particularly the dependence of life cycles on environmental stability, the existence of physiological constraints on iteroparity, the

occurrence of genetic trade-offs between current reproduction and survival or future reproduction (by *in-vitro* cloning) and the occurrence of a trade-off between reproduction and defence (a component of investment in survival).

Acknowledgements

We are grateful to J. Cuguen, C. Engel, T. de Jong, P. Klinkhamer, P. de Laguérie, T. Mitchell, I. Olivieri, A. Teriokhin, I. Till-Bottraud, M. Valéro, P. Vandenkoornhuyse, and K. Vrieling, as well as P. van Tienderen and two anonymous reviewers for constructive and thoughtful comments on earlier drafts of this manuscript. We finally thank R. Dron for precious assistance in the greenhouse and several undergraduate students for temporary technical assistance (you know who you are!).

References

- Abegg, F.A. 1936. A genetic factor for the annual habit in beets and linkage relationship. *J. Agric. Res.* **53**: 493-511.
- Abell, A.J. 2000. Costs of reproduction in male lizards, *Sceloporus virgatus*. *Oikos* **88**: 630-640.
- Biere, A. 1995. Genotypic and plastic variation in plant size: effects on fecundity and allocation patterns in *Lychnis flos-cuculi* along a gradient of natural soil fertility. *J. Ecol.* **83**: 629-642.
- Boudry, P., Wieber, R., Saumitou-Laprade, P., Pillen, K., Van Dijk, H. & Jung, C. 1994. Identification of RFLP markers closely linked to the bolting gene B and their significance for the study of the annual habit in beets (*Beta vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* **88**: 852-858.
- Bryant, E.H. 1971. Life-history consequences of natural selection: Cole's result. *Am. Nat.* **105**: 75-76.
- Calow, P. 1978. The evolution of life-cycle strategies in freshwater gastropods. *Malacologia* **17**: 351-364.
- Chapman, T., Miytake, T., Smith, H. & Partridge, L. 1998. Interactions of mating, egg production and death rates in females of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Proc. R. Soc. Lond. B* **265**: 1879-1894.
- Charnov, E. & Schaffer, W.M. 1973. Life-history consequences of natural selection: Cole's result revisited. *Am. Nat.* **107**: 791-793.
- Cheplick, G.P. 1995. Life history trade-offs in *Amphibromus scabrivalvis* (Poaceae) : allocation to clonal growth, storage, and cleistogamous reproduction. *Am. J. Bot.* **82**: 621-629.
- Cheverud, J.M. 1988. A comparison of genetic and phenotypic correlations. *Evolution* **42**: 958-968.
- Cole, L.C. 1954. The population consequences of life history phenomena. *Quarterly Review of Biology* **29**: 103-137.
- Conti, E., Soltis, D.E., Hardig, T.M. & Schneider, J. 1999. Phylogenetic relationships of the silver saxifrages (*Saxifraga*, Sect. *Ligulatae* Haworth): implications for the evolution of substrate specificity, life histories, and biogeography. *Mol. Phyl. Evol.* **13**: 536-555.
- de Laguérie, P., Olivieri, I., Atlan, A. & Gouyon, P.-H. 1991. Analytic and simulation models predicting positive genetic correlations between traits linked by trade-offs. *Evolutionary Ecology* **5**: 361-369.
- de Laguérie, P., Olivieri, I. & Gouyon, P.H. 1993. Environmental effects on fitness sets shape and evolutionary stable strategies. *J. Theor. Biol.* **163**: 113-125.
- Deerenberg, C., Arpanius, V., Daan, S. & Bos, N. 1997. Reproductive effort decreases antibody responsiveness. *Proc. R. Soc. Lond. B* **264**: 1021-1029.

- Gadgil, M. & Bossert, W.H. 1970. Life historical consequences of natural selection. *Am. Nat.* **104**: 1-24.
- Grosberg, R.K. 1988. Life-history variation within a population of the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. I. The genetical and environmental control of seasonal variation. *Evolution* **42**: 900-920.
- Harper, J.L. 1977. *Population biology of plants*, Academic Press, London.
- Hirshfield, M.F. & Tinkle, D.W. 1975. Natural selection and the evolution of reproductive effort. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**: 2227-2231.
- Huxman, T.E. & Loik, M.E. 1997. Reproductive pattern of two varieties of *Yucca whipplei* (Liliaceae) with different life histories. *Int. J. Plant Sci.* **158**: 778-784.
- Keeley, J.E. & Bond, W.J. 1999. Mast flowering and semelparity in bamboos: the bamboo fire cycle hypothesis. *Am. Nat.* **154**: 383-391.
- Kirkendall, L.R. & Stenseth, N.C. 1985. On defining "breeding once". *Am. Nat.* **125**: 189-204.
- Kozlowski, J. 1991. Optimal energy allocation models - an alternative to the concepts of reproductive effort and cost of reproduction. *Acta Oecol.* **12**: 11-33.
- Kozlowski, J. 1992. Optimal allocation of resources to growth and reproduction : implications for age and size at maturity. *Trends Ecol. Evol.* **7**: 15-19.
- Kozlowski, J. & Teriokhin, A.T. 1999. Allocation of energy between growth and reproduction: the Pontryagin maximum principle solution for the case of age- and season-dependent mortality. *Evol. Ecol. Res.* **1**: 423-441.
- Lee, S.J., Witter, M.S., Cuthill, I.C. & Goldsmith, A.R. 1996. Reduction in escape performance as a cost of reproduction in gravid starlings, *Sturnus vulgaris*. *Proc. R. Soc. Lond. B* **263**: 619-624.
- Leggett, W.C. & Carscadden, J.E. 1978. Latitudinal variation in reproductive characteristics of American Shad (*Alosa sapidissima*): evidence for population specific life history strategies in fish. *J. Fish. Res. Board Can.* **35**: 1469-1478.
- Letschert, J.P.W. 1993. *Beta section Beta*: biogeographical patterns of variation and taxonomy. *Wageningen Agric. Univ. Papers* **93**: 1-155.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* **27**: 209-220.
- Marshall, D.L., Fowler, N.L. & Levin, D.A. 1985. Plasticity in yield components in natural populations of three species of *Sesbania*. *Ecology* **66**: 753-761.
- Nilsson, J.-Å. & Svensson, E. 1996. The cost of reproduction: a new link between current reproductive effort and future reproductive success. *Proc. R. Soc. Lond. B* **263**: 711-714.
- Nordling, D., Andersson, M., Zohari, S. & Gustafsson, L. 1998. Reproductive effort reduces specific immune response and parasite resistance. *Proc. R. Soc. Lond. B* **265**: 1291-1298.
- Oppliger, A., Christe, P. & Richner, H. 1997. Clutch size and malarial parasites in female great tits. *Behavioral Ecology* **8**: 148-152.
- Ots, I. & Hórak, P. 1996. Great tits *Parus major* trade health for reproduction. *Proc. R. Soc. Lond. B* **263**: 1443-1447.
- Pease, C. & Bull, J.J. 1988. A critique of methods for measuring life history trade-offs. *J. Evol. Biol.* **1**: 293-303.
- Perrin, N. 1991. Reproductive effort, reproductive costs and optimal allocation models: a comment on Kozlowski's paper. *Acta Oecol.* **12**: 175-175.
- Perrin, N. 1992. Optimal resource allocation and the marginal value of organs. *Am. Nat.* **139**: 1344-1369.
- Perrin, N. & Sibly, R.M. 1993. Dynamic models of energy allocation and investment. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **24**: 379-410.
- Perrin, N., Sibly, R.M. & Nichols, N.K. 1993. Optimal growth strategies when mortality and production rates are size-dependent. *Evolutionary Ecology* **7**: 576-592.
- Piquot, Y., Petit, D., Valéro, M., Cuguen, J., de Laguérie, P. & Vernet, P. 1998. Variation in sexual and asexual reproduction among young and old populations of the perennial macrophyte *Sparganium erectum*. *Oikos* **82**: 139-148.
- Pitelka, L.F. 1977. Energy allocation in annual and perennial lupines (*Lupinus*: Leguminosae). *Ecology* **58**: 1055-1065.

- Primack, R. & Stacy, E. 1998. Cost of reproduction in the pink lady's slipper orchid (*Cypripedium acaule*, Orchidaceae): an eleven-year experimental study of three populations. *Am. J. Bot.* **85**: 1672-1679.
- Primack, R.B. 1979. Reproductive effort in annual and perennial species of *Plantago* (Plantaginaceae). *Am. Nat.* **114**: 51-62.
- Raymond, M. & Rousset, F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* **86**: 248-249.
- Reznick, D. 1985. Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* **44**: 257-267.
- Rice, W.R. 1988. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* **43**: 223-225.
- Roff, D.A. 1992. *The evolution of life histories*, Chapman & Hall, New York.
- Roff, D.A. 2000. Trade-offs between growth and reproduction: an analysis of the quantitative genetic evidence. *J. Evol. Biol* **13**: 434-445.
- Rose, M.R. 1991. *Evolutionary biology of aging*, Oxford University Press, Oxford.
- SAS Institute 1988. SAS. Cary, NC.
- Schaffer, W.M. 1974. Selection for optimal life histories: the effects of age structure. *Ecology* **55**: 291-303.
- Schaffer, W.M. & Rosenzweig, M.L. 1977. Selection for optimal life histories. II: Multiple equilibria and the evolution of alternative reproductive strategies. *Ecology* **58**: 60-72.
- Smit, A.L. 1983. Influence of external factors on growth and development of sugar-beet (*Beta vulgaris* L.). Thesis, Pudoc, Wageningen.
- Snow, A.A. & Whigham, D.F. 1989. Costs of flower and fruit production in *Tipularia discolor* (Orchidaceae). *Ecology* **70**: 1286-1293.
- Sohn, J.J. & Policansky, D. 1977. The costs of reproduction in the mayapple *Podophyllum peltatum* (Berberidaceae). *Ecology* **58**: 1366-1374.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1995. *Biometry*. 3rd edit, W. H. Freeman and Company, New York, USA.
- Spira, T.P. & Pollak, O.D. 1986. Comparative reproductive biology of alpine biennial and perennial gentians (*Gentiana* : Gentianaceae) in California. *Am. J. Bot.* **73**: 39-47.
- Stearns, S.C. 1976. Life-history tactics: a review of the ideas. *Quarterly Review of Biology* **51**: 3-47.
- Stearns, S.C. 1992. *The evolution of life histories*, Oxford University Press, Oxford.
- Tanaka, S. & Suzuki, Y. 1998. Physiological trade-offs between reproduction, flight capability and longevity in a wing-dimorphic cricket, *Modicogryllus confirmatus*. *Journal of Insect Physiology* **44**: 121-129.
- Tatar, M. & Carey, J.R. 1995. Nutrition mediates reproductive trade-offs with age-specific mortality in the beetle *Callosobruchus maculatus*. *Ecology* **76**: 2066-2073.
- Taylor, H.M., Gourley, R.S., Lawrence, C.E. & Kaplan, R.S. 1974. Natural selection of life-history attributes: an analytical approach. *Theor. Popul. Biol.* **5**: 104-122.
- Teriokhin, A.T. 1998. Evolutionary optimal age schedule of repair: computer modelling of energy partition between current and future survival and reproduction. *Evolutionary Ecology* **12**: 291-307.
- Thompson, K. & Stewart, A.J.A. 1981. The measurement and meaning of reproductive effort in plants. *Am. Nat.* **117**: 205-211.
- Till-Bottraud, I., Wu, L. & Harding, J. 1990. Rapid evolution of life history trait in populations of *Poa annua* L. *J. Evol. Biol* **3**: 205-224.
- Tissue, D.T. & Nobel, P.S. 1990. Carbon relations of flowering in a semelparous clonal desert perennial. *Ecology* **71**: 273-281.
- Van Dijk, H., Boudry, P., McCombie, H. & Vernet, P. 1997. Flowering time in wild beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) along a latitudinal cline. *Acta Oecol.* **18**: 47-60.
- Van Dijk, H. & Desplanque, B. 1999. *VIIth International IOPB Symposium. Plant evolution in man-made habitats*, Amsterdam, The Netherlands.
- Van Noordwijk, A.J. & de Jong, G. 1986. Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life history tactics. *Am. Nat.* **128**: 137-142.
- Vogler, D.W., Peretz, S. & Stephenson, A.G. 1999. Floral plasticity in an iteroparous plant: the interactive effects of genotype, environment, and ontogeny in *Campanula rapunculoides* (Campanulaceae). *Am. J. Bot.* **86**: 482-494.
- Watkinson, A. 1992. Plant senescence. *Trends Ecol. Evol.* **7**: 417-420.

- Wesselingh, R., Klinkhamer, P.G.L., de Jong, T.J. & Boorman, L.A. 1997. Threshold size for flowering in different habitats : effects of size-dependent growth and survival. *Ecology* **78**: 2118-2132.
- Williams, G.C. 1966. *Adaptation and natural selection*, Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Willis, J.H., Coyne, J.A. & Kirkpatrick, M. 1991. Can one predict the evolution of quantitative characters without genetics? *Evolution* **45**: 441-444.
- Wilson, D.L. 1974. The programmed theory of aging. In *Theoretical aspects of aging* (M. Rockstein, M. L. Sussman and J. Chesky, eds.), pp. 11-21. Academic Press, New York.
- Worley, A.C. & Harder, L.D. 1996. Size-dependent resource allocation and costs of reproduction in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae). *J. Ecol.* **84**: 195-206.
- Young, T.P. 1990. Evolution of semelparity in Mount Kenya lobelias. *Evolutionary Ecology* **4**: 157-171.
- Young, T.P. & Augspurger, C.K. 1991. Ecology and evolution of long-lived semelparous plants. *Trends Ecol. Evol.* **6**: 285-289.
- Zwaan, B., Bijlsma, R. & Hoekstra, R.F. 1995. Direct selection on life span in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **49**: 649-659.

Chapitre III Variabilité de la sénescence et de l'activité méristématique en relation avec la production de boutons floraux et de fruits dans le complexe d'espèces *Beta*

(En préparation pour New Phytologist)

L'origine des trade-offs est la limitation des ressources attribuables aux différentes fonctions biologiques, l'énergie attribuée à la reproduction ne pouvant aller à la survie, et vice versa. En appliquant ce principe simple de compensation des ressources à l'évolution de la durée de vie, empêcher la perte des ressources dans la reproduction devrait prolonger la durée de vie. Cette hypothèse a été testée dans le complexe d'espèces *Beta*, par l'ablation des boutons floraux et des fruits. Ce type d'étude classiquement mené sur des annuelles a ici été élargi à un gradient de cycles de vie. Nous avons observé l'effet de l'ablation sur les schémas d'allocation de ressources entre la reproduction et la survie en plus de l'effet sur la sénescence des sémelpares.

Cet article montre que la sénescence chez les betteraves sémelpares n'est pas retardée par l'ablation des parties reproductrices. Dans l'ensemble du gradient de cycles de vie, l'investissement à la reproduction, révélé par la production continue de nouveaux méristèmes reproducteurs, est maintenu, notamment chez les itéropares qui ne semblent donc pas réallouer leurs ressources vers la survie dans de telles conditions. L'allocation à la reproduction n'est donc pas réversible après l'initiation de la floraison, ce qui peut expliquer en termes de ressources l'effet nul de l'excision sur la sénescence.

Cette étude d'histoire de vie a été réalisée en conditions environnementales contrôlées dans les serres expérimentales du laboratoire. L'étude a débuté en février et a été prolongée jusqu'en décembre 1999.

Variations in senescence and meristematic activity in relation to bud and fruit excision in the *Beta* species-complex

Hautekèete N.-C., Piquot, Y. and Van Dijk, H.

Abstract

Removal of developing fruits delays senescence in many annual species. This has long been seen as the evidence that senescence is caused by resource depletion due to fruit development. Excision experiments mimic the damages caused by some herbivores and pathogens and can therefore be interpreted from an evolutionary-ecology point of view, through the observation of resource-allocation strategies. It should be optimal for excised plants to invest less in reproduction than control ones, to the benefit of vegetative growth and maintenance (which is indispensable to complete fruit development) and/or survival to the following year. Iteroparous plants (i.e. reproducing repeatedly) are good candidates to show decreased reproduction for the sake of survival to following year, whereas only in annual plants can one observe delayed senescence in short-term experiments. If the effect of fruit removal on age at senescence really lies on an energetic basis, then excision of reproductive organs at a very precocious stage, such as floral buds, in which less resources are already committed, should have a much greater effect on senescence and reproductive patterns.

We set a controlled-conditions experiment involving six life cycles, going from long-lived iteroparous plants to annual taxa of the *Beta* species-complex (wild beets), as well as three treatments of reproductive-parts excision (buds, fruits and control).

Treatment effect is similar in semelparous and iteroparous taxa of wild beets, although responses on reproduction are more obvious in iteroparous life cycles. Flower-bud removal tends to induce the allocation of resources to reproduction in all life cycles. It has no effect on senescence in semelparous beets (although this should not be optimal), and probably none on survival in most iteroparous plants that keep investing in reproduction. Fruit removal does not induce any allocation to reproduction nor survival.

Those results as well as the occurrence of between-origins variation are discussed in terms of optimal strategies considering ecology. The effect of sink removal on senescence should not be seen as a general reality. Between-taxa, between-populations and between-genotypes variability does exist and should be considered. To help understanding this variability, phylogeny and evolutionary ecology are essential points that should be taken into consideration.

A Introduction

Semelparity, or monocarpy, is the life history shared by annual and some long-lived perennial plants such as Bamboos or Agaves. It is characterised by a single massive reproductive episode, followed by the death of the individual (Gadgil and Bossert 1970, Kirkendall and Stenseth 1985). This life history is economically of major importance, since it is selected in crops (review in Noodén 1988b) as well as in ruderals (Grimes 1979). Its alternative is iteroparity or polycarpy, i.e. repeated reproduction, which may be accompanied by progressive senescence, or ageing, defined here as the persistent decline in the age-specific fitness components (survival and reproduction) of an organism, due to internal physiological deterioration (see Rose 1991). A distinction between whole plant senescence and somatic tissue senescence has to be made: leaves of deciduous trees fall each year due to somatic tissue senescence without any resulting negative consequence on fitness. In this paper we will therefore follow the above-cited evolutionary definition of senescence and use the word “senescence” for “whole plant senescence” and “end of reproductive cycle” for the “somatic tissue senescence” occurring each year after the reproductive season. Under the evolutionary definition of senescence, the difference between iteroparity and semelparity not only stands in the number of reproductive episodes but also in the pattern of senescence. Semelparous organisms undergo a very abrupt senescence whereas iteroparous organisms undergo a progressive or apparently absent senescence. This difference is so dramatic that some authors do not refer to senescence in semelparous (review in Rose 1991) or in iteroparous organisms (review in Noodén 1988c), depending on their point of interest, but in fact both types of life cycle undergo senescence as defined by evolutionists (Rose 1991).

All functions of an organism, such as reproduction, growth and survival, depend on the same limiting resources and are consequently related to each other by negative correlations, the so-called trade-offs (review in Stearns 1992). Trade-offs may be expressed as, for example, increased mortality rate with fruiting (Sohn and Policansky 1977) or reduced probability of subsequent reproduction and reduced growth with fruit production (Snow and Whigham 1989, Worley and Harder 1996, Primack and Stacy 1998). Trade-offs between reproduction and survival are central to the models of evolution of semelparity and senescence. Since the late 19th century, beginning with Wallace and Weismann, ideas that potential somatic immortality is sacrificed for the sake of reproduction are developed (review in Rose 1991). Gardeners and scientists observed that excision of developing fruits may delay

the onset of senescence or restore vegetative growth in some semelparous plant species (review in Noodén 1988c). This provided the first evidence of the occurrence of some physiological “communication” between fruits and other tissues of the plant, which was termed “correlative control” (see Hensel et al. 1994). It has been hypothesised that senescence results from the depletion of nutrients from somatic tissues due to their diversion to reproductive organs (see Rose 1991). This hypothesis, based on a very simple concept (reproduction and survival compete for limiting resources), is very attractive. Such excision experiments have therefore been carried out until today (with various results, see discussion) in hope of a better knowledge of senescence mechanisms.

Removal of flower buds, or of developing fruits, implies that some amount of resources will not be committed in the development of these fruits, as it normally should. The fate of these released resources will depend on (1) the allocation strategy of the plant and (2) its ability to modify this strategy after the reproductive structures are lost. The allocation strategy is the way individuals deal with the obligation to allocate their resources, that are limited, among several compartments. An individual can invest in three major compartments: reproductive structures, survival structures (i.e. reserves necessary to survival until the following reproductive season) and growth and maintenance of the vegetative structures which are necessary to the other compartments. The strategy is tightly related to the life cycle, e.g. iteroparous plants invest into all compartments, in proportions depending on their life history: long-lived iteroparous plants will invest more resources in survival than short-lived ones, and annual plants obviously do not invest in survival. Under one specific strategy, relative investment in each part will also vary along the season. For example, at the beginning of the reproductive season an annual plant will invest in growth, maintenance and reproduction, whereas at the end of the season it will invest all resources into reproduction. Allocation patterns are probably stated very early in the season: in low-nutrient conditions some iteroparous plants may not initiate flowering at all (Noodén 1980, Hautekèete et al. submitted). However the reversibility of the allocation patterns remains an unsolved question. If the strategy is irreversible, resources released by the excision of flower buds or developing fruits should be allocated to each compartment in proportions corresponding to the normal strategy of the plant. A part of the released resources should therefore be allocated to the production of new flower buds, whereas investment in vegetative growth and maintenance should not differ from control. However, these new flowers will need delayed plant senescence to give seeds, i.e. prolonged maintenance of the existing vegetative structures or production of some new vegetative structures. An irreversible allocation strategy is

consequently not optimal. Therefore only two optimal patterns of reversion of the allocation pattern are possible. (1) Reproduction continues, but is sustained by prolonged vegetative growth and maintenance, which allows seeds maturation. In some species investment in survival to the following year can also be increased. Senescence is delayed and reproduction continues after reproductive parts are excised. (2) Reproduction stops to the benefit of survival to the following year, through increased reserves and / or increased vegetative growth and maintenance. No new reproductive structure is produced, while survival to the following year is enhanced.

Phylogenetically related iteroparous and semelparous species are likely to share common characteristics due to their partly joint evolution. Families or genera with taxa differing in life history are therefore ideal for the comparative study of life-history traits. They also are complementary. Iteroparous taxa can invest both in reproduction and survival, and their investment to reproduction is known to be plastic (Noodén 1980, Hautekèete et al. submitted), contrary to semelparous taxa which normally only invest (at a constant maximum rate) in reproduction. In return, semelparous taxa might provide much more clear-cut patterns of senescence (Noodén 1988c). In other words, reversible reproductive effort should be more expected in iteroparous plants, whereas in short-term experiments, only in semelparous plants can one observe delayed senescence.

Finally if the relationship between reproduction and senescence is based on a trade-off due to the limitation of resources, the effect of bud removal should be more important than the effect of fruit removal, since less resources are already committed in reproduction.

The *Beta* species-complex is an ideal plant model for comparative studies. It indeed includes many phylogenetically closely related taxa or populations with contrasting life cycles. It includes the cultivated beet *Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* and four wild relatives. The species *Beta vulgaris* includes *B. v. vulgaris*, its closest wild relative *B. v. maritima* and *B. v. adanensis*. *B. patula* and *B. macrocarpa* are the two last species of the complex (Letschert 1993). Within the *Beta* species-complex, we observed a gradient from pronounced iteroparity (*B. v. maritima*) to pronounced semelparity (*B. macrocarpa*). Among populations of the iteroparous taxa *B. v. maritima*, the range of life span is very large: mean life spans range from two to ten years under controlled conditions. *B. patula* is mostly semelparous, although some individuals may survive and reproduce at least two years (Letschert 1993). The subspecies *B. v. adanensis* is semelparous, although it is sometimes described as possibly iteroparous (Letschert 1993). *B. macrocarpa* dies immediately after seed maturity and may

taxon	origin	life cycle	code	number of individuals
<i>B. v. maritima</i>	French Atlantic coast 1	Iteroparous, 4.7 years $\pm$ 1.9	VI1	41
<i>B. v. maritima</i>	French Atlantic coast 2	Iteroparous, 5.5 years $\pm$ 2.0	VI2	22
<i>B. v. maritima</i>	Mediterranean 1	Iteroparous, 4.1 years $\pm$ 1.5	MI1	29
<i>B. v. maritima</i>	Mediterranean 2	Iteroparous, 2.8 years $\pm$ 1.2	MI2	30
<i>B. v. maritima</i>	Agen area 1	Iteroparous, 2.0 years $\pm$ 0.9	LI1	28
<i>B. v. maritima</i>	Agen area 2	Iteroparous, 2.0 years $\pm$ 1.0	LI2	29
<i>B. patula</i>	Madeira	Semelparous, or rarely iteroparous	SI	20
<i>B. v. adanensis</i>	Greece 1	Semelparous	LS1	27
<i>B. v. adanensis</i>	Greece 2	Semelparous	LS2	30
<i>B. macrocarpa</i>	Cyprus	Strictly semelparous	VS1	27
<i>B. macrocarpa</i>	Tunisia	Strictly semelparous	VS2	26

Table 1. Taxa, life cycles, codes and number of individuals of the various origins of the experiment. Labelling was chosen to obviate future necessity of cross-referencing to this table: long-lived iteroparous life-cycles or origins are referred to as VI for “very” and “iteroparous”, M means “medium”, L “less” and S simply means “semelparous”.

therefore be termed strictly semelparous. All taxa of the *Beta* species-complex are able to interbreed (although such crosses are unlikely in the wild).

In a controlled-conditions experiment, involving six different life cycles of the *Beta* species complex and three excision treatments (excision of flower buds, of fruits and control), we addressed the following questions:

(1) What is the effect of the excision of reproductive organs (flower buds or developing fruits) on the pattern of allocation to reproduction and survival in semelparous and iteroparous taxa of the *Beta* species-complex: (a) Does excision induce the production of new reproductive structures in semelparous taxa, and does it delay senescence (which would correspond a change in strategy)? (b) Do iteroparous taxa produce new reproductive structures or stop investing in reproduction to instead reallocate to survival? (2) Is the effect of bud excision higher than the effect of a fruit excision?

B Materials and methods

1 Experimental design

We selected six different life cycles to represent the gradient of life history: three iteroparous life cycles of *B. v. maritima* with different life expectancies and three more or less semelparous species, *B. macrocarpa*, *B. v. adanensis*, *B. patula*. To separate life-cycle effects from population effects, two origins were chosen per life cycle, except for *B. patula* which is endemic to Madeira and for which only one population is known (Table 1).

Seeds of *B. macrocarpa* (origins VS1 and VS2, Table 1), *B. v. adanensis* (origins LS1 and LS2 from two different Greek localities), and *B. patula* (SI) were provided by L. Frese (BAZ Gene Bank at Braunschweig, Germany, each origin being collected as a bulk). These taxa are essentially autogamous, contrary to *B. v. maritima* which is self-incompatible. The *B. v. maritima* origins LI1 and LI2 (with a mean life span of two to three years) and MI1 and MI2 (three to four years) were part of our laboratory collections (Van Dijk et al. 1997). In the very iteroparous origins (VI1 and VI2, with a mean life span of about five years) we had to increase the frequency of the dominant B allele, which suppresses the vernalization requirement (Abegg 1936, Boudry et al. 1994) and allows the comparison of plants flowering in the first year. This was done by crosses (in VI1, both parent plants had at least one B allele: B- × B-; in VI2, one parent had at least one B allele, contrary to the other: B- × bb), thus obtaining at least 75 % and 50 % of plants (depending on the penetrance, see Boudry et

al. 1994) without vernalization requirement which were kept for this experiment. All *B. v. maritima* origins were full sibs.

Plants were sown during April and grown in a greenhouse under long-day photoperiod (16 hours, 400W High Pressure Sodium lamps). Plants were grown in enriched turf with 1 kg/m³ of 14:16:18 NPK and microelements fertiliser (3 dm³ pots). Fertiliser (8/6/16S with Mg) was supplied each fortnight beginning at the age 28. They were also randomised each fortnight all along the experiment.

Individuals were randomly distributed between the three treatments (bud excision, fruit excision and control).

In all taxa of the *Beta* species-complex, flowers are clustered in inflorescences of two to eight flowers called glomerules. Hundreds of glomerules are produced per individual, especially in *B. v. maritima*. Seeds of one glomerule mature as a seedball in which perianths form a corky pericarp firmly attached to the seeds (Letschert 1993). Each day during almost one year (330 days, beginning from sowing date) we proceeded to the excision of flower buds before bloom (bud excision treatment) and to the surgical excision of ovules in fruits before the formation of the corky pericarp (fruit excision treatment).

This experiment therefore involved 11 origins and three treatments per origin. To obtain around 5 individuals per treatment, 200 plants were potted at the beginning of the experiment. After elimination of the plants that required vernalization or that had been accidentally damaged, 151 individuals remained for further analysis.

2 Data collection

At the end of the reproductive season, iteroparous beets produce vegetative rosettes, which is their overwintering stage. All aerial parts (stems, leaves, flowers and seeds with the exception of embryos) degenerate and dry. This is obviously the fate of all organs of the semelparous plants. At this unambiguous physiological stage, which corresponds to the end of the reproductive cycle in iteroparous plants and to the senescence in semelparous plants, we recorded the age of the individual as well as the number of reproductive meristems.

3 Statistical analyses

A partially nested mixed-model ANOVA (GLM procedure, SAS Institute 1988) was conducted to compare age at end of reproduction and number of reproductive meristems between life cycles, between origins within life cycles and between treatments. Life cycle and treatment were fixed effects, all others were random. This model was as follows:

Source	df	Type III MS	F Value	<i>P</i> _value
Life cycle	5	27.7473	6.87	0.0272
origin(life cycle)	5	4.0414	15.61	0.0001
treatment	2	7.5151	26.02	0.0001
life cycle*treatment	10	0.5982	2.07	0.1333
treatment*origin(life cycle)	10	0.2888	1.12	0.3561
Error	117	0.2588		

Table 2. Mixed model analysis of variance (GLM) on ln-transformed number of flowering meristems. Significant effects at $\alpha = 0.05$ are in boldface. *P*-values are similar when the number of reproductive meristems is weighed by the age at end of reproductive cycle and are therefore not shown.

Source	df	Type III MS	F Value	<i>P</i> _value
Life cycle	5	0.2999	48.10	0.0052
origin(life cycle)	5	0.0204	3.27	0.0084
treatment	2	0.0246	2.04	0.1811
life cycle*treatment	10	0.0081	0.68	0.7201
treatment*origin(life cycle)	10	0.0119	1.91	0.0502
Error	117	0.0062		

Table 3. Mixed model analysis of variance (GLM) on ln-transformed age at death (semelparous taxa) or age at end of reproductive cycle (iteroparous taxa). Significant effects at $\alpha = 0.05$ are in boldface.

$$Y_{ijkn} = \mu + \alpha_i + B_{ij} + \delta_k + (\delta\alpha)_{ik} + (\delta B)_{ijk} + e_{ijkn}$$

where Y_{ijkn} is the reproductive effort of the n th individual of the j th origin nested in the i th life cycle and undergoing the k th treatment. μ is the mean, α_i is the fixed effect of the i th life cycle, δ_k is the fixed effect of the k th treatment, B_{ij} is the random contribution of the j th origin of the i th life cycle. $(\delta\alpha)_{ik}$ and $(\delta B)_{ijk}$ are, respectively, the life cycle $\times$ treatment interaction effect and the origin $\times$ treatment interaction effect, and e_{ijkn} is the error term. Test denominators were mean squares of origin(life cycle) for life cycle effect, of treatment $\times$ origin(life cycle) for treatment and treatment $\times$ life cycle effects, and of the error term for other effects. F tests used type III sums of squares. Data were ln-transformed to meet the normality and homoscedasticity requirements of ANOVA for treatments (Sokal and Rohlf 1995).

When the origin(life cycle) effect or the interaction treatment $\times$ origin(life cycle) were significant, we also conducted one-way ANOVAs per origin with treatment as factor. Significance levels were adjusted to multiple inferences by a sequential Bonferroni test (Rice 1988), with $\alpha = 0.05$ and 11 tests. Multiple comparisons among means were conducted following a Student-Neumann-Keuls procedure (Sokal and Rohlf 1995).

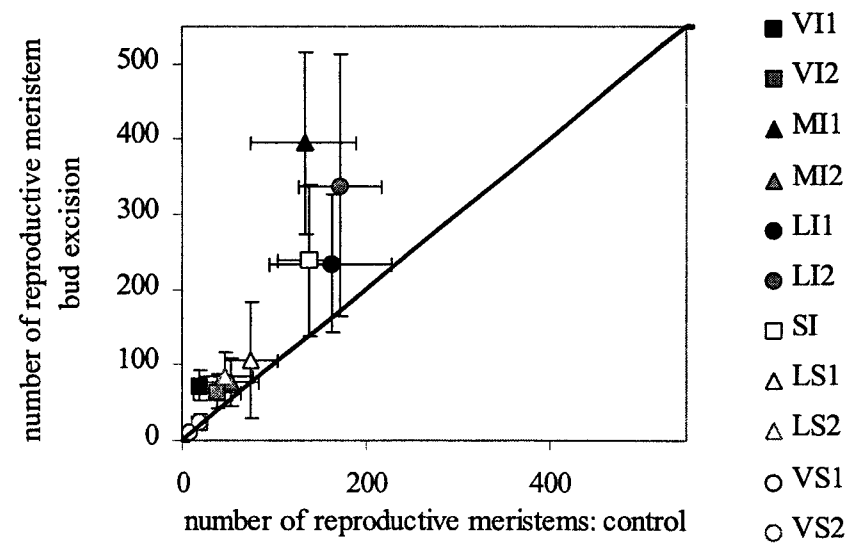
We finally tested the effect of treatment following the law of Bernoulli (probability test). The null hypothesis is that there is no effect of treatment. Under this null hypothesis, the probability of having a greater value (i.e. the number of meristems) under bud excision than in control group is 0.5. The probability that x origins of 11 have a greater value under bud excision than in control group follows a law of Bernoulli. Following the law of Bernoulli, with 11 origins and $\alpha = 0.05$, the null hypothesis is rejected if the number of success is equal or higher than nine (e.g. nine origins of 11 have a higher value under bud excision than in control group).

Since the number of reproductive meristems may depend on the age at end of reproductive cycle, we also conducted those analyses for a third parameter, e.g. the number of reproductive meristems weighted by the age at end of reproductive cycle.

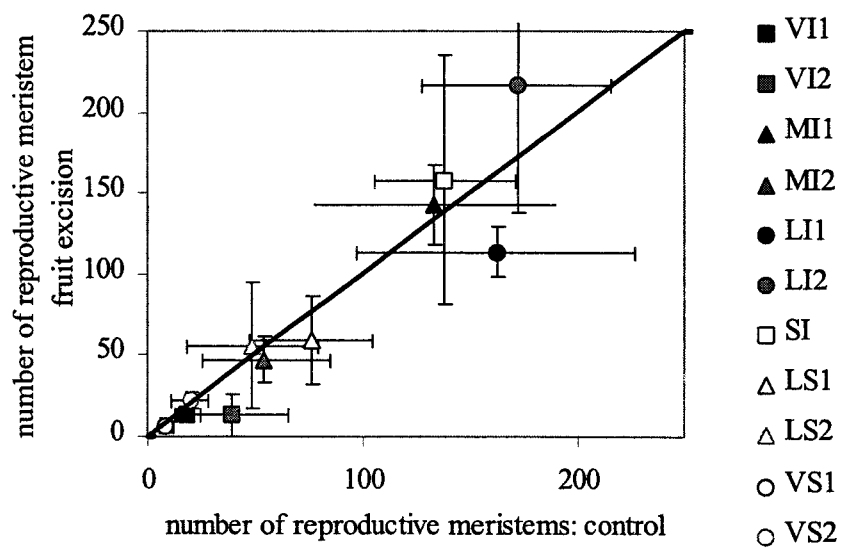
C Results

1 Effect of excision on the number of reproductive meristems

The mixed model analysis of variance reveals a significant effect of life cycle (Table 2), as well as highly significant effects of origin and treatment on the number of flowering



a



b

Figure 1. Average number of reproductive meristems produced (a) in bud excision and in control treatments, (b) in fruit excision and in control treatments. At the diagonal compensation line, plants in both treatments produce the same number of reproductive meristems.

meristems. The life cycle $\times$ treatment interaction and the origin $\times$ treatment interaction are not significant (Table 2).

The per-origin average number of reproductive meristems produced are always higher in bud excision treatment than in control (Figures 1 and 3), and do not appear to be different in fruit excision treatment from control (all values are around the diagonal compensation line, see Figure 1).

The one-way ANOVAs conducted per origin give significant or highly significant effect of treatment on the number of reproductive meristems in VI1, VI2 and MI1 ($P=0.0008$, $P=0.0262$, $P=0.0011$). Treatment effect is still significant after correction for multiple inferences (Bonferroni test) in VI1 and MI1. In those origins fruit-excision treatment was clustered with control and was significantly different from bud-excision treatment under a Student-Neumann-Keuls procedure.

Nevertheless, in all of the 11 origins the number of reproductive meristems is higher in the bud-excision treatment than in control, therefore the law of Bernoulli allows us to reject the null hypothesis that there is no effect of treatment at $\alpha = 0.0005$. This strongly supports the occurrence of a general effect of treatment on the number of reproductive meristems.

Results are strictly similar when the number of reproductive meristems is weight by the age at end of reproductive cycle and are therefore not shown.

2 Effect of excision on the end of reproductive cycle (e.g. death in semelparous plants)

We stopped the experiment at day 330 (day 0 is the sowing date), and at that moment all MI1 individuals were still producing new reproductive meristems. We therefore decided to record their age at end of reproductive cycle as 320 (the average value).

The mixed model analysis of variance (GLM) reveals very significant effects of life-cycle (Table 3), and of origin on age at end of reproductive cycle (e.g. death in semelparous plants). Treatment effect, life cycle $\times$ treatment and origin $\times$ treatment interactions are not significant (Table 2).

The per-origin average of ages at end of reproductive cycle do not appear to be different in bud-excision treatment from control, except in the MI1 origin (Figures 2 and 4). They also do not appear to be different in fruit-excision treatment from control (Figures 2 and 4).

The one-way ANOVAs conducted per origin give significant or highly significant effect of treatment on the age at end of reproductive cycle in VI1 and MI1 ($P=0.0472$ and

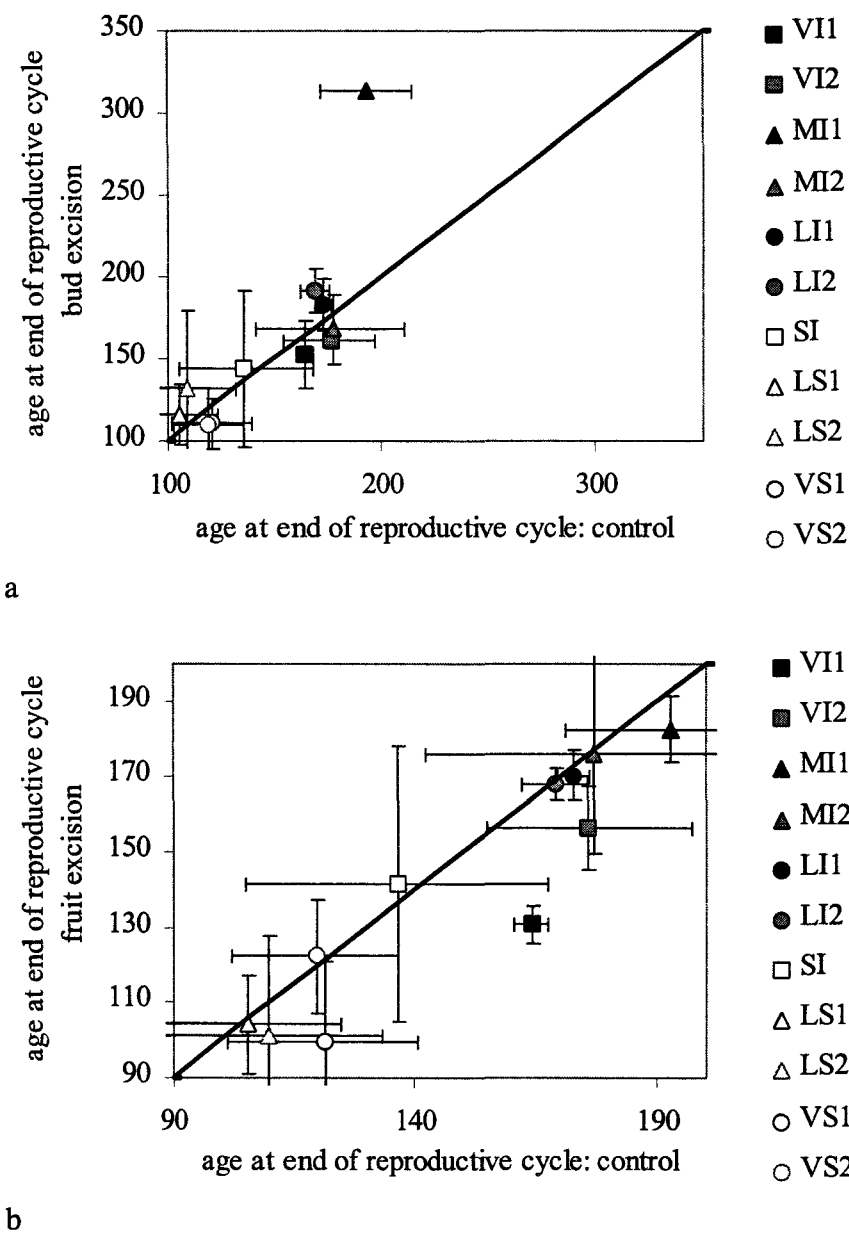


Figure 2. Average age at end of reproductive cycle (a) in bud excision and in control treatments, (b) in fruit excision and in control treatments. At the diagonal compensation line, plants in both treatments end their reproductive cycle at the same age. End of reproductive cycle means senescence and death in semelparous plants (origins VS1, VS2, LS1, LS2, SI) and the entering in a vegetative stage (rosette) in iteroparous plants (origins VI1, VI2, MI1, MI2, LI1, LI2).

$P < 0.0001$ respectively). Treatment effect is still significant after correction for multiple inferences (Bonferroni test) in MI1. In those origins fruit-excision treatment was clustered with control and was significantly different from bud-excision treatment under a Student-Neumann-Keuls procedure.

In only 6 origins, out of 11, the age at end of reproductive cycle is higher in the bud excision treatment than in control, therefore the law of Bernoulli does not allow us to reject the null hypothesis that there is no effect of treatment (at $\alpha = 0.05$).

D Discussion

1 Effect of excision on reproduction

Floral-bud excision induces the production of new reproductive meristems (i.e. originally quiescent meristems at leaf axils which are activated and produce a new inflorescence). This is particularly clear in iteroparous plants. However this is a general tendency in the *Beta* species-complex (as shown by the absence of life cycle $\times$ treatment and origin $\times$ treatment interactions, as well as by the probability test). This production of new reproductive meristems is not significantly affected by the length of the reproductive period.

a Iteroparous taxa

Floral buds or fruits act as sinks for nutrients and for the products of photosynthesis. Flower-bud and developing-fruit excision releases some amount of resources which then becomes available for reproduction or survival. Theoretically, iteroparous plants might be able to reallocate those resources to survival. The arrest of reproductive allocation in iteroparous plants was therefore expectable and then the release of resources would have turned out to the advantage of vegetative meristems. However the observed strategy is completely different, since iteroparous beets produce continually new floral meristems when sinks are removed. Allocation patterns appear to be fixed: released resources are probably not reallocated to survival but instead keep being allocated to reproduction.

Two non-exclusive explanations may be relevant. They are both based on the statement that bud excision probably mimics the damages caused by some common herbivores or parasites of wild beets or even the damages caused by some abiotic factors. Herbivores and abiotic factors may damage floral buds and apical meristems. Some pathogens are known to castrate plants (Clay 1990, Clay 1991). The sugar beet, *B. v.*

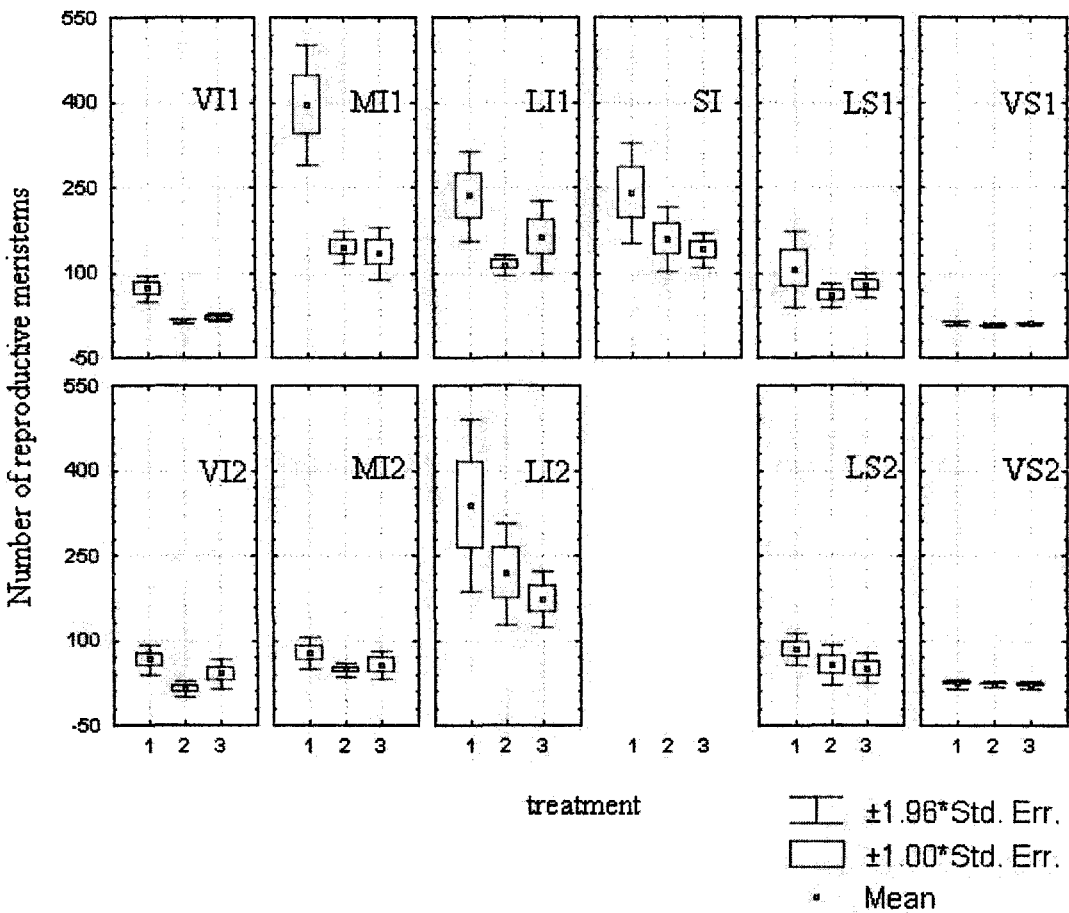


Figure 3. Box-wiskers plots for number of reproductive meristems produced in the three treatments: 1 = bud excision, 2 = fruit excision and 3 = control.

vulgaris, is a very close relative of the studied taxa and, as a crop, its enemies are obviously very well documented. Some herbivores and pathogens are known to cause the destruction of reproductive parts in the sugar beet: among them *Botrytis cinerea*, that dries the seeds up and *Aphis fabae*, that damages inflorescences (Lejealle et al. 1982). Moreover wild beets grow along seashores and their inflorescences are often highly damaged by the spray (personal observations). Since flower-bud or fruit excision has an ecological meaning, excision experiments may be interpreted in an ecologically-oriented view.

The first of these explanations is based on the annual probability of destruction of reproductive organs. If flower-bud destruction is sporadic and does not happen each year, herbivory or parasitism therefore constitutes a good clue for a bad season, and this may be advantageous to skip reproduction and wait for a better year to flower (Stearns 1976). This would furthermore allow a higher investment in survival, since resources are released by sink removal. At the opposite, if bud destruction is recurrent in wild beets and happens almost each year, investing in survival and future reproduction should not constitute a more valuable strategy. Plants would therefore keep allocating the released resources to reproduction, following the reproductive effort that is optimal in this environment. This is the most probable situation here.

The second possible explanation is based on the hypothesis that the cause of bud destruction is not continuous all along the reproductive season, and that herbivory gives information about the risk of future damage. If early herbivory is a good clue that risk of future damage is high, then induced resistance should be selected for (review in Karban et al. 1999). At the opposite, if early herbivory is a good clue that risk of future damage is low, e.g. in case of migratory herbivores (review in Karban et al. 1999), then overcompensation should be selected for, which means a higher reproduction with, than without, grazing (review in Belsky 1986, see also Paige and Whitham 1987, Gronemeyer et al. 1997, Lennartsson et al. 1997). In intermediate situations, tolerance might be selected for and plants would just compensate damages. Overcompensation and tolerance both fit to the pattern observed in wild beets.

The effect of bud removal on reproduction is highly origin-dependent. MI1 shows the most significant effect of treatment on the number of reproductive meristems and it is the only origin in which treatment effect on age at end of reproductive cycle is still significant after correction for multiple inferences. Under bud excision, individuals of the MI1 origin produce new reproductive meristems and end their reproductive cycle later through prolonged maintenance of the vegetative parts: this is the most coherent strategy, since seed

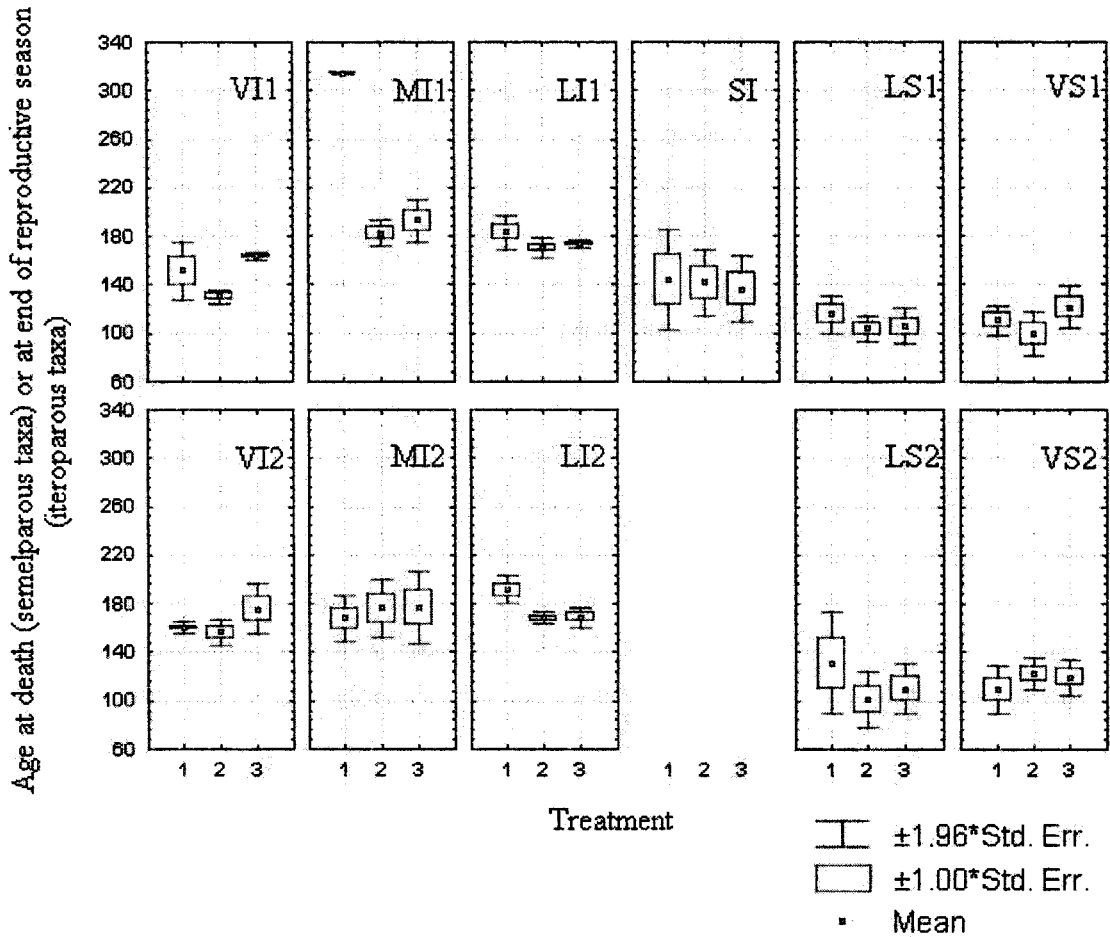


Figure 4. Box-wiskers plots for age at end of reproductive cycle in the three treatments: 1 = bud excision, 2 = in fruit excision and 3 = control. End of reproductive cycle means senescence and death in semelparous plants (origins VS1, VS2, LS1, LS2, SI) and the entering in a vegetative stage (rosette) in iteroparous plants (origins VI1, VI2, MI1, MI2, LI1, LI2).

maturation is delayed in the new inflorescences. The observed variation might depend on the local ecological context: for example in *Gentiannella campestris* overcompensation is observed in the most grazed and late-flowering populations (Lennartsson et al. 1997). Another explanation based on ecological disparity would be that in some regions (e.g. in the Mediterranean or in south-western France), too much delay in the production of flowers may be inefficient because of summer drought, therefore selection for the production of new inflorescences would only be possible for a slight delay which would not be detectable. It is also noticeable that in our experiment the longest-lived iteroparous beets (VI1 and VI2) are not the most treatment-dependent. These plants are very long-lived (about five years) and might therefore have more chances of experiencing good years (and thus of producing many seeds) than shorter-lived iteroparous ones.

b Semelparous taxa

Although treatment effect on the number of reproductive meristems is not significant in semelparous origins, a general tendency to a higher number of floral meristems under bud excision treatment than in control is observed (Figures 1 and 3). Resources released by the flower-bud removal are still allocated to reproduction. Similarly, the activity of inflorescence meristems is dependent on the number of developing fruits in *Arabidopsis thaliana* (Hensel et al. 1994) and in *Glycine max* (Proebsting et al. 1976).

2 Senescence

Removal of reproductive organs does not delay whole-plant senescence in the *Beta* species-complex. This is obvious in semelparous plants, for which end of reproductive cycle coincides with whole-plant senescence. Fruit removal does not systematically result in delayed senescence in other plant species. The range of responses to such treatments (Leopold 1961, Carr and Pate 1967, Thrower 1967, Wareing and Seth 1967, Leopold 1980, Noodén 1980, Crafts-Brandner et al. 1984, McKersie et al. 1988, 1988a, Noodén 1988b, 1988c, Van Staden et al. 1988, Wilson 1997) is not surprising, since, due to the multiple origins of semelparity from iteroparous ancestors, semelparous senescence may have various mechanisms (Young and Augspurger 1991, Watkinson 1992, Bena et al. 1998). Furthermore, genotype effect on the delay of senescence induced by sink removal was demonstrated in maize by Crafts-Brandner et al. (1984), which suggests that ecological factors might have consequences on senescence mechanisms.

Senescence does not appear to be delayed at all in semelparous beets, however they produce new reproductive structures. Production of new reproductive structures without any increased vegetative growth or maintenance is not optimal: seed maturation cannot be complete. It is therefore probable that in their natural habitats, irreversible allocation strategies are not highly counter-selected, e.g. flower-bud herbivores and pathogens are rare or do not have extensive impact along the season. Simple physiological constraints are also possible.

It is plausible that survival does not increase in iteroparous beets either: they do not stop investing in reproduction and as a consequence they cannot invest surplus resources in survival. However very iteroparous beets do not invest much in reproduction and this might reflect a higher probability of survival to the following year.

3 Bud vs fruit excision

Stage at which floral organs are excised proved to be crucial in our experiment. Production of new reproductive meristems cannot be induced by sink removal when fruits begin to develop, whereas it is still possible at the floral bud stage. In the strawberry, compensation of flower removal is limited compared to compensation of bud removal (English-Loeb et al. 1999). That might be interpreted in terms of resources, since, contrary to later stages, few resources are already committed in reproduction at flower bud stage, and many resources are released by bud excision. Contrary to wild beets, developing-fruit removal allows the development of new inflorescences in *A. thaliana* (Hensel et al. 1994, Bleecker and Patterson 1997) and soybean (Proebsting et al. 1976). At early fruit stage, pods and siliques are not very developed, and their excision might release some resources, whereas excision of ovules in glomerules just before the formation of their corky pericarp might not release enough resources: they might not be important sinks at this stage. However the release of some kind of hormone at a particular stage (precocious in beets, late in soybean and *A. thaliana*) is an hypothesis that is not rejected by this result.

A non-significant decrease of age at death is observed in all beet taxa under fruit-excision treatment, which might be interpreted as a slight effect of stress due to excision.

4 Semelparous vs iteroparous beets

Tendencies in semelparous and iteroparous taxa of wild beets are similar despite different scales of response to the treatment. Bud removal induces the allocation of resources to reproduction and has null or undetectable effect on life span. Fruit removal does not induce

any allocation to reproduction nor survival. Reproduction and survival being negatively correlated in wild beets, the optimal resource allocation differed from an ecological context to the other (in terms of disturbance, richness or climate), leading to semelparity (100% reproduction) or iteroparity (reproduction and survival in various proportions). However this experiment suggests once more that semelparity and long-lived iteroparity are the extreme strategies of a continuum. Many architectural, physiological and, what is more surprising, life-history related characteristics, such as the control of meristematic activity by reproductive organs, are common to these phylogenetically related taxa.

E Conclusion

No radical change of strategy is observed in iteroparous beets: under flower-bud excision treatment they keep investing in reproduction. This is also the case in the semelparous taxa, and it is remarkable that they do not show delayed senescence. It is therefore probable that the strategy (investment in reproduction vs investment in survival) is stated at a precocious stage (see introduction) and is not reversible. Only one iteroparous population shows prolonged vegetative maintenance enabling complete seed maturation.

The effect of sink removal on senescence in semelparous plants should not be considered universal. Specific, populational or genotypic variability exists and should be kept in mind. To help understanding this variability, complementary information may be given by related iteroparous species in which the choice between reproduction and survival is clearer. The investment in reproduction is related to life span by trade-offs and, as a consequence, both senescence and reproductive meristematic activity should be jointly studied as related parts of a same strategy. Separate studies of iteroparous or semelparous species, life span or reproduction, might focus the attention on particular strategies resulting from phylogeny or from differential selective pressures in local habitats in relation to ecology. When too many discrepancies between studies are found, following experiments might require more evolutionary and ecological approaches.

Acknowledgements

We would like to thank A. Teriokhin for statistical advices and R. Dron and several undergraduate students for technical assistance at the greenhouse.

References

- Abegg, F. A. 1936. A genetic factor for the annual habit in beets and linkage relationship. - J. Agric. Res. 53: 493-511.
- Belsky, A. J. 1986. Does herbivory benefit plants? A review of the evidence. - Am. Nat. 127: 870-892.
- Bena, G., Lejeune, B., Prosperi, J.-M. and Olivieri, I. 1998. Molecular phylogenetic approach for studying life-history evolution: the ambiguous example of the genus *Medicago* L. - Proc. R. Soc. Lond. B 265: 1141-1151.
- Bleecker, A. B. and Patterson, S. E. 1997. Last exit: senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis*. - The Plant Cell 9: 1169-1179.
- Boudry, P., Wieber, R., Saumitou-Laprade, P., Pillen, K., Van Dijk, H. and Jung, C. 1994. Identification of RFLP markers closely linked to the bolting gene B and their significance for the study of the annual habit in beets (*Beta vulgaris* L.). - Theor. Appl. Genet. 88: 852-858.
- Carr, D. J. and Pate, J. S. 1967. Ageing in the whole plant. - In: Aspects of the biology of ageing., Cambridge University Press, pp. 559-599.
- Clay, K. 1990. Comparative demography of three graminoids infected by systemic, clavicipitaceous fungi. - Ecology 71: 558-570.
- Clay, K. 1991. Parasitic castration of plants by fungi. - Trends Ecol. Evol. 6: 162-166.
- Crafts-Brandner, S. J., Below, F. E., Harper, J. E. and Hageman, R. H. 1984. Differential senescence of maize hybrids following ear removal. I. Whole plant. - Plant Physiol. 74: 360-367.
- English-Loeb, G., Pritts, M., Kovach, J., Rieckenberg, R. and Kelly, M. J. 1999. Compensatory ability of strawberries to bud and flower removal: implications for managing the strawberry bud weevil (Coleoptera: Curculionidae). - Horticultural Entomology 92: 915-921.
- Gadgil, M. and Bossert, W. H. 1970. Life historical consequences of natural selection. - Am. Nat. 104: 1-24.
- Grimes, J. P. 1979. Plant strategies and vegetation processes. - John Wiley and sons.
- Gronemeyer, P. A., Dilger, B. J., Bouzat, J. L. and Paige, K. N. 1997. The effects of herbivory on paternal fitness in scarlet gilia: better moms also make better pops. - Am. Nat. 150: 592-602.
- Hautekèete, N.-C., Piquot, Y. and Van Dijk, H. submitted. Investment in survival and reproduction along a semelparity-iteroparity gradient in the *Beta* species complex. - J. Evol. Biol.
- Hensel, L. L., Nelson, M. A., Richmond, T. A. and Bleecker, A. B. 1994. The fate of inflorescence meristems is controlled by developing fruits in *Arabidopsis*. - Plant Physiol. 106: 863-876.
- Karban, R., Agrawal, A. A., Thaler, J. S. and Adler, L. S. 1999. Induced plant responses and information content about risk of herbivory. - Trends Ecol. Evol. 14: 443-447.
- Kirkendall, L. R. and Stenseth, N. C. 1985. On defining "breeding once". - Am. Nat. 125: 189-204.
- Lejealle, F., d'Aguillar, J. and d'Ambra, V. 1982. Ennemis et maladies de la betterave sucrière. - Deleplanque & Cie, Diffusion Sucre Union.
- Lennartsson, T., Tuomi, J. and Nilsson, P. 1997. Evidence for an evolutionary history of overcompensation in the grassland biennial *Gentiannella campestris* (Gentianaceae). - Am. Nat. 149: 1147-1155.
- Leopold, A. C. 1961. Senescence in plant development. - Science 134: 1727-1732.
- Leopold, A. C. 1980. Aging and senescence in plant development. - In: Senescence in plants. Thimann, K. V. (ed.), CRC Press, pp. 1-12.
- Letschert, J. P. W. 1993. *Beta* section *Beta*: biogeographical patterns of variation and taxonomy. - Wageningen Agric. Univ. Papers 93: 1-155.
- McKersie, B. D., Senaratna, T., Walker, M. A., Kendall, E. J. and Hetherington, P. R. 1988. Deterioration of membranes during aging in plants: evidence for free radical mediation. - In: Senescence and aging in plants. Noodén, L. D. and Leopold, A. C. (eds.), Academic Press, pp. 441-464.
- Noodén, L. D. 1980. Senescence in the whole plant. - In: Senescence in plants. Thimann, K. V. (ed.), CRC Press, pp. 219-258.
- Noodén, L. D. 1988a. Absciscic acid, auxin, and other regulators of senescence. - In: Senescence and aging in plants. Noodén, L. D. and Leopold, A. C. (eds.), Academic Press, pp. 329-368.
- Noodén, L. D. 1988b. The phenomena of senescence and aging. - In: Senescence and aging in plants. Noodén, L. D. and Leopold, A. C. (eds.), Academic Press, pp. 1-50.
- Noodén, L. D. 1988c. Whole plant senescence. - In: Senescence and aging in plants. Noodén, L. D. and Leopold, A. C. (eds.), Academic Press, pp. 391-439.

- Paige, K. N. and Whitham, T. G. 1987. Overcompensation in response to mammalian herbivory : the advantage of being eaten. - *Am. Nat.* 129: 407-416.
- Primack, R. and Stacy, E. 1998. Cost of reproduction in the pink lady's slipper orchid (*Cypripedium acaule*, Orchidaceae): an eleven-year experimental study of three populations. - *Am. J. Bot.* 85: 1672-1679.
- Proebsting, W. M., Davies, P. J. and Marx, G. A. 1976. Photoperiodic control of apical senescence in a genetic line of peas. - *Plant Physiol.* 58: 800-802.
- Rice, W. R. 1988. Analyzing tables of statistical tests. - *Evolution* 43: 223-225.
- Rose, M. R. 1991. Evolutionary biology of aging. - Oxford University Press.
- SAS Institute 1988. SAS. - Cary, NC.
- Snow, A. A. and Whigham, D. F. 1989. Costs of flower and fruit production in *Tipularia discolor* (Orchidaceae). - *Ecology* 70: 1286-1293.
- Sohn, J. J. and Policansky, D. 1977. The costs of reproduction in the mayapple *Podophyllum peltatum* (Berberidaceae). - *Ecology* 58: 1366-1374.
- Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. 1995. Biometry. - 3rd edit W. H. Freeman and Company.
- Stearns, S. C. 1976. Life-history tactics: a review of the ideas. - *Quarterly Review of Biology* 51: 3-47.
- Stearns, S. C. 1992. The evolution of life histories. - Oxford University Press.
- Thrower, S. L. 1967. The pattern of translocation during leaf ageing. - In: Aspects of the biology of ageing., Cambridge University Press, .
- Van Dijk, H., Boudry, P., McCombie, H. and Vernet, P. 1997. Flowering time in wild beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) along a latitudinal cline. - *Acta Oecol.* 18: 47-60.
- Van Staden, J., Cook, E. L. and Noodén, L. D. 1988. Cytokinins and senescence. - In: Senescence and aging in plants. Noodén, L. D. and Leopold, A. C. (eds.), Academic Press, pp. 281-328.
- Wareing, P. F. and Seth, A. K. 1967. Ageing and senescence in the whole plant. - In: Aspects of the biology of ageing., Cambridge University Press, .
- Watkinson, A. 1992. Plant senescence. - *Trends Ecol. Evol.* 7: 417-420.
- Wilson, J. B. 1997. An evolutionary perspective on the "death hormone" hypothesis in plants. - *Physiol. Plant.* 99: 511-516.
- Worley, A. C. and Harder, L. D. 1996. Size-dependent resource allocation and costs of reproduction in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae). - *J. Ecol.* 84: 195-206.
- Young, T. P. and Augspurger, C. K. 1991. Ecology and evolution of long-lived semelparous plants. - *Trends Ecol. Evol.* 6: 285-289.

Chapitre IV Déterminisme génétique de la sémelparité chez *Beta*

Au sein du complexe d'espèces *Beta*, les taxons sont interfertiles en croisements artificiels. Un croisement entre *B. v. maritima* (itéropare) et *B. v. adanensis* (sémelpare), suivi d'un rétro croisement sur le parent récessif (*B. v. maritima*) a été mené. Ce chapitre donne les résultats de l'analyse de ségrégation du caractère « survie après la reproduction ». Nous avons mis en évidence que deux locus pourraient être suffisants pour expliquer le déterminisme du caractère.

*Les croisements ont été réalisés au laboratoire lors des étés 1998 et 1999. La ségrégation a été contrôlée de mars à décembre 2000. Ce croisement a conjointement contribué à l'étude de Pascal Touzet sur l'auto-incompatibilité chez *Beta*, par son apport d'un croisement avec *B. v. adanensis*, taxon pour lequel le système d'auto-incompatibilité n'est pas connu.*

A Introduction

Le complexe d'espèces *Beta* est constitué de taxons potentiellement interfertiles. En effet les croisements artificiels sont parfaitement possibles dans la section *Beta* (et même entre sections, comme le montre le croisement effectué par Oléo et al. 1986). Ils se révèlent cependant plus ou moins aisés selon les contraintes de phénologie, l'architecture et surtout le taux d'allogamie des taxons considérés. Les croisements en populations naturelles s'avèrent soit impossibles pour des raisons d'allopatricie, soit relativement improbables pour des raisons de phénologie. *B. v. maritima* et *B. macrocarpa* semblent toutefois s'hybrider naturellement dans un site de sympatricie au Portugal (Hocquigny 1999).

L'interfertilité en croisements artificiels de taxons ayant des histoires de vie différentes (âge à la maturité, c'est-à-dire âge de la première reproduction, ou sémelparité vs itéroparité) doit permettre *a priori* d'obtenir des renseignements sur le déterminisme génétique de ces traits d'histoire de vie.

En ce qui concerne l'âge à la maturité ce type d'étude a été faite de manière très approfondie chez *B. vulgaris*. La maturité en deuxième année est en effet une caractéristique essentielle chez la betterave cultivée *B. v. vulgaris* : les plants installés au printemps restent à l'état de rosette jusqu'à la récolte, ce qui évite l'influence négative de la montée à graines sur la biomasse des racines et leur taux de sucre. L'âge à la maturité étant variable dans le complexe *Beta*, l'étude du déterminisme génétique de l'année de la première reproduction a été effectuée au travers de croisements interspécifiques entre *B. v. vulgaris* et *B. patula* (Rimpau, 1876, cité dans Abegg 1936), entre deux sous-espèces *B. v. vulgaris* et *B. v. maritima* (Boudry et al. 1994) ainsi que intra-espèce chez *B. v. vulgaris* (Abegg 1936). Ces croisements ont montré la dominance du caractère « reproduction dès la première année ». Il a été montré par la suite que l'âge à la première reproduction chez *B. vulgaris* est contrôlé principalement par le besoin de vernalisation, c'est-à-dire la nécessité de subir une certaine dose de froid avant de permettre l'initiation de la floraison. L'absence de besoin de vernalisation est déterminée par l'allèle dominant B (pour bolting) du gène de montaison (Abegg 1936, Boudry et al. 1994).

Les espèces agricoles sont souvent sémelpares (voir Noodén 1988b), notamment celles récoltées pour leurs graines. Bien que l'intérêt pour l'itéroparité commence à se développer en agriculture (Pimm 1997), les mécanismes génétiques de la sémelparité / itéroparité n'ont pas encore été étudiés chez *Beta*. Nous avons donc procédé à des croisements entre des taxons sémelpares et itéropares de ce complexe, afin dans un premier

temps d'estimer le nombre de gènes impliqués dans la capacité à survivre après le premier épisode de reproduction et à terme de localiser ces gènes.

B Matériel et méthodes

1 Matériel biologique

Les taxons utilisés sont, du côté itéropare, *B. v. maritima* et, du côté semelpare, *B. v. adanensis*. Ces deux sous-espèces de *B. vulgaris* ont l'avantage d'être particulièrement proches phylogénétiquement (Letschert 1993) ce qui augmente la probabilité que les gènes contrôlant le caractère semelpare / itéropare soient sur les mêmes locus. De plus ce croisement fournit plus de graines que le croisement de *B. v. maritima* avec *B. macrocarpa*, que *B. macrocarpa* soit donneur de pollen ou porte-graines. *B. macrocarpa* montre un syndrome d'autogamie extrêmement marqué, ce qui en fait un piètre donneur de pollen, de plus ce taxon est de petite taille et donne en conséquence peu de graines. *B. patula* est quant à lui un taxon dont le cycle de vie est intermédiaire entre l'itéroparité et la semelparité puisque certaines plantes survivent à une première reproduction et se reproduisent en deuxième année. Ceci explique que ce croisement n'ait pas été testé dans cette expérience.

Afin de se limiter aux gènes impliqués dans la capacité à survivre de la première saison de reproduction à la suivante (et éviter ainsi des gènes permettant une durée de vie plus longue), les *B. v. maritima* retenues avaient une durée de vie d'environ 2 ans. Ces plantes provenaient de familles de plein-frères, issues de sélection pour la précocité de floraison, ce qui simplifie grandement le protocole puisque leur âge à la première floraison était sensiblement identique à celui des *B. v. adanensis*.

La betterave cultivée n'a pas été retenue pour ces croisements car elle nécessite d'être vernalisée pour fleurir, ce qui complique le protocole, pour un résultat imprévisible car la durée de vie des betteraves cultivées est mal connue.

2 Culture

Les graines ont été semées en pots dans du terreau pour semis et bouturage (terreau à 0,5 kg/m³ d'engrais de type 14:16:18 en NPK avec micro-éléments), puis les plantules ont été repotées 21 jours après germination en pots de 3 L dans du terreau de repotage (terreau à 1 kg/m³ d'engrais de même type). Les plantes destinées aux croisements ont été cultivées en serre en photopériode longue au printemps (16 heures, lampes à Sodium haute pression de 400W) puis en photopériode naturelle en été. De l'engrais à dissolution lente (8/6/16S avec

Mg) a été fourni toutes les deux semaines à partir du 28^{ème} jour après repotage. A cette date les individus issus de backcross ont été placés en serre-champs, où la photopériode et la température sont naturelles du printemps à l'automne : ainsi la durée de floraison correspond à une durée normale en conditions naturelles (en photopériode longue elle aurait tendance à être allongée, ce qui risquerait de modifier le taux de mortalité par épuisement des réserves).

3 Croisements

Les croisements ont donc été menés afin de déceler des gènes impliqués dans le caractère sémelparité / itéroparité, mais également des QTLs (Quantitative Trait Locus, voir de Vienne 1990, Tanksley 1993) liés à des caractères quantitatifs supposés être associés à la sémelparité (tels que par exemple des mesures racinaires décrivant le stockage).

Des lignées isogéniques, qui ne diffèrent que par le caractère concerné et issues de backcross successifs, auraient été adaptées à la recherche des gènes impliqués dans le caractère sémelparité / itéroparité, mais n'étaient pas disponibles. Le temps de génération d'une betterave étant généralement de plus de 6 mois, la création de lignées isogéniques s'avère impossible dans le temps consacré à une thèse. Il reste en revanche possible d'utiliser des F2 issues d'autofécondation ou des backcross faits sur le parent récessif. Le regroupement de l'ADN des individus possédant le caractère sémelpare d'un côté, et celui des individus possédant le caractère itéropare de l'autre, permet de remplacer les lignées isogéniques de manière satisfaisante (Bulked Segregant Analysis, voir Michelmore et al. 1991, Wang et Paterson 1994).

a F1

Plusieurs croisements entre des individus *B. v. maritima* (itéropare de courte durée de vie et issus de sélection pour la précocité de floraison sous une photopériode de 24 h) et des *B. v. adanensis* ont été constitués. Seuls les croisements ayant pour porte-graines les *B. v. adanensis* ont abouti, peut-être à cause de problèmes purement techniques (les individus *B. v. maritima* ont un port érigé, alors que les individus *B. v. adanensis* ont un port prostré ou rampant avec, en sus, une production de pollen relativement faible, cf chapitre x). On peut éventuellement mettre en cause un phénomène de compatibilité croisée unidirectionnelle, appelé couramment en anglais « unilateral incongruity » : en croisement réciproque entre deux taxons apparentés seul l'un des deux taxons est réceptif au pollen de l'autre. Ceci est apparemment lié au système d'auto-compatibilité puisque généralement le pollen d'un taxon auto-compatible est rejeté par un taxon auto-incompatible (Bernacchi et Tanksley 1997).

C'est effectivement le cas dans notre croisement : *B. v. adanensis* est auto-compatible contrairement à *B. v. maritima*.

b F2 ou backcross ?

B. v. adanensis présente de forts taux d'autofécondation (Letschert 1993). Ceci engendre des difficultés techniques (nécessité de la castration des fleurs avant leur ouverture, afin d'éviter l'autofécondation) mais présente un avantage, puisque les allèles délétères ont alors été purgés. Or il faut absolument éviter de confondre allèle lié à la sémelparité et allèle délétère mis à l'état homozygote, deux cas qui peuvent éventuellement mener au même syndrome : la mort après la première floraison. Au contraire chez *B. v. maritima* les individus en populations naturelles s'allofécondent. Le fardeau génétique doit donc être important chez ce taxon. Ceci empêche d'effectuer une autofécondation de la F1. Avec un backcross, le problème se pose encore, car le caractère sémelpare est dominant (la F1 est entièrement annuelle) et un backcross devra donc être fait sur le parent récessif *B. v. maritima* avec, à nouveau, le risque de démasquer des allèles délétères. Dans ce cas un backcross mené sur des individus *B. v. maritima* issus d'autres familles que les parents de la F1 (et qui n'auraient donc pas les mêmes allèles délétères) constitue une bonne solution, et nous avons choisi cette voie.

D'un point de vue purement technique, la castration nécessite des manipulations répétées qui fragilisent la plante. Les croisements sont réalisés en sacs à pollinisation (manchons d'isolement en coton évitant la pénétration de pollen étranger) dans lesquels la photosynthèse est diminuée et l'atmosphère confinée. L'état phytosanitaire des plantes diminue donc très fortement et les plantes donnent en règle générale un faible nombre de graines. Cette technique a donc été limitée aux parents de la F1. En effet par la suite les individus hybrides F1 produisent une quantité suffisante de pollen (intermédiaire entre *B. v. maritima* et *B. v. adanensis*) pour prendre les parents *B. v. maritima*, auto-incompatibles, comme porte-graines, ce qui évite la castration manuelle lors du backcross. Ces couples ont été isolés dans des cellules de culture séparées pour éviter l'utilisation des sacs à pollinisation. Quelles que soient les conditions de croisements choisies, les fécondations ont été facilitées manuellement⁷ : des étamines en anthèse sont prélevées à l'aide d'une pince fine

⁷ Afin d'accroître la disponibilité du pollen, des hybrides F1 ont été clonés au laboratoire du Pr Van der Meijden (Leiden, Pays-Bas) et fournis par P. Klinkhamer, et bien que, pour des raisons basement techniques, ces croisements n'aient pas aboutis, la méthode a été réadaptée au laboratoire en vue d'expérimentations futures (Annexes).

(nettoyée entre chaque plante) et promenées sur les stigmates en phase de réceptivité (aspect plumeux).

c Contrôle des croisements

Un contrôle des croisements a été effectué par des techniques moléculaires. L'extraction d'ADN total a été effectuée selon la méthode dite « Dellaporta modifié » (Annexes, méthode originale: Dellaporta et al. 1983), puis, selon l'évolution des techniques employées au laboratoire, à l'aide du kit DNeasy 96 de Qiagen (méthode standard du kit, voir Degouy 2000). Une méthode rapide dite « Edwards » (voir Annexes) a également été employée pour vérifier le caractère hybride des individus de la génération F1, l'extraction longue ayant été faite uniquement sur les individus finalement mis en croisement.

Les marqueurs moléculaires choisis étaient des marqueurs microsatellites mis au point au GEPRV, appelés Bvm3 (Mörchen et al. 1996) et CAA1. Les amplifications (Annexes) ont été faites sur thermo-cycleurs (GeneAmp PCR System 9600, Perkin Elmer) à partir d'amorces marquées par des fluorochromes en 700 ou 800 nm. La migration des produits de PCR a été menée sur séquenceur automatique LiCor 4200L en gel dénaturant.

4 Caractères mesurés

L'âge à la floraison, l'âge à la mort et le diamètre racinaire (pris à la base du collet à la floraison) ont été relevés pour chaque individu issu de backcross (uniquement dans la famille contenant le plus d'individus : 79 en tout).

Parallèlement l'auto-compatibilité a été relevée pour chaque individu. Une partie de la tige florale a été ensachée avant ouverture des fleurs. La présence ou l'absence de fruits est observée trois semaines après. Le croisement concerné a en effet été exploité également dans une étude sur le déterminisme génétique de l'auto-compatibilité (menée au laboratoire GEPRV par P. Touzet). Ce croisement convient en effet parfaitement à une étude de l'auto-compatibilité (les hybrides F1, auto-compatibles, montrent la dominance du caractère auto-compatible observé chez *B. v. adanensis*) et il a donc été comparé à un backcross issu d'individus *B. v. vulgaris* et *B. v. maritima* mené par P. Touzet (Degouy 2000).

C Résultats du backcross

Le pourcentage d'individus mourant après la première reproduction est de 73 % (non significativement différent de 75 % après un test du χ^2 avec un seuil $\alpha = 0,05$). Leur âge à la mort suit une distribution de type normal, bien que légèrement pointue (kurtosis : 0,24) et

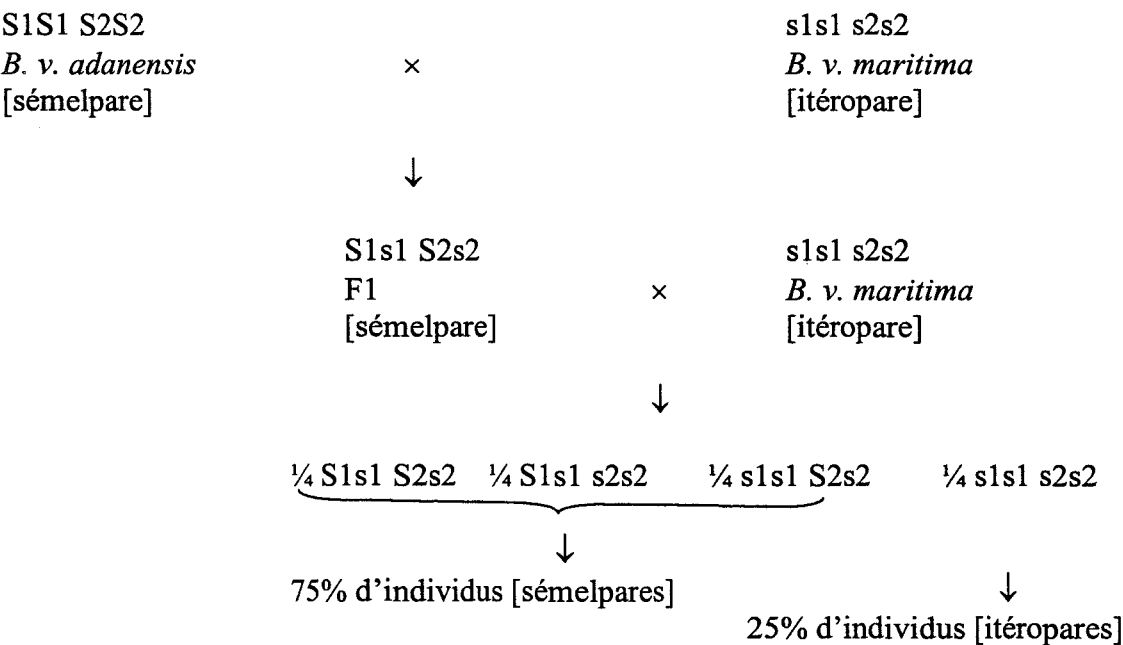


Figure 1. Schéma du plan de croisement réalisé entre *B. v. maritima* et *B. v. adanensis*. Phénotypes, ségrégation et hypothèse du déterminisme génétique. S1 et S2 allèles dominants pour la sémelparité des deux locus hypothétiques, s1 et s2 allèles récessifs.

asymétrique (coefficient d'asymétrie : 0,42). Semelpares et itéropares ne fleurissent pas à des âges significativement différents (moyennes respectives de 50 et 48,5 jours ; $P > 0,3$ avec un test de Student) et parmi les individus semelpares l'âge à la floraison n'est absolument pas corrélé à l'âge à la mort ($R = 0,0016$; $P > 0,05$). Les plantes semelpares n'ont pas un diamètre racinaire significativement différent de celui des itéropares (moyennes respectives de 0,50 et 0,43 ; $P > 0,05$ avec un test de Student).

D Discussion

Ces résultats semblent indiquer que le contrôle du caractère semelparité / itéroparité n'est pas monogénique mais polygénique. Le taux d'environ 75 % d'individus ayant le caractère semelpare dans une descendance backcross suggère que le déterminisme pourrait cependant être relativement simple (d'autant plus que le risque de mortalité pour des raisons non intrinsèques, les plantes utilisées étant dans l'ensemble assez fragiles, ne peut dans un tel croisement qu'augmenter le risque de surévaluer le nombre de locus impliqués). Deux locus non liés physiquement suffisent à expliquer ce taux (Figure 1), à condition qu'ils soient tous deux à l'état homozygote récessif chez *B. v. maritima* et qu'un allèle dominant sur un seul de ces deux locus suffise à rendre l'individu semelpare (mécanisme génétique que l'on pourrait qualifier d'«épistasie réciproque»).

Ce mécanisme génétique d'«épistasie réciproque» est original mais il peut indiquer notamment que les deux locus concernent des mécanismes tous deux indispensables à l'itéroparité. Ces deux locus peuvent, par exemple, concerner la capacité à réactiver des méristèmes (pour constituer de nouvelles rosettes), la capacité à faire des réserves racinaires (voire à modifier l'allocation de l'énergie en faveur des réserves mais en défaveur de la survie) ou de nombreux autres mécanismes... La réactivation de méristèmes quiescents n'est visible que par des études anatomiques extrêmement fines et l'observation de rosettes vivantes n'a pu être dissociée de l'observation de la survie. Nous n'avons, de plus, pas observé de différence majeure de floraison (l'effort reproducteur ne pouvant être mesuré de manière fiable sans détruire la plante) entre les individus semelpares et itéropares, ni d'effet significatif de la précocité de floraison sur la survie, ni encore de différence significative du diamètre racinaire. Les mécanismes nécessaires à l'itéroparité sont donc probablement à mettre en relation avec des mécanismes plus fins que ceux évalués dans cette étude. Ceci pourrait orienter une éventuelle approche en « gènes candidats » (locus connus chez les taxons considérés ou des apparentés et suspectés d'être impliqués dans le caractère étudié) pour la recherche de marqueurs liés au caractère semelparité / itéroparité, l'approche en

« gènes candidats » constituant une alternative rapide au criblage exhaustif de marqueurs couvrant le génome (possible cependant puisque chez *B. vulgaris* une carte de plusieurs types de marqueurs moléculaires et morphologiques a été constituée par Pillen et al. 1992, et qu'une carte de RAPDs a été développée par Uphoff et Wricke 1995).

Chapitre V La durée de vie chez *B. v. maritima* : variation géographique et impact des flux géniques, de l'âge à la première reproduction et des perturbations

(Soumis à Journal of Ecology)

Dans ce chapitre est étudiée la mortalité liée à des causes externes, autre élément majeur des théories évolutives de la sénescence et de la sémelparité.

La variabilité de la durée de vie chez *B. v. maritima* avait été décrite une première fois par H. Van Dijk et B. Desplanque (1999). Ces données ont été remises à jour, complétées par des données écologiques originales, et analysées à nouveau, en particulier par des méthodes d'autocorrélation spatiale. Le but était d'évaluer l'impact de la mortalité due à des causes externes, de l'âge à la maturité (dont les variations géographiques sont en partie très similaires à celles de la durée de vie) ainsi que l'effet, plus subtil, des flux géniques sur la distribution géographique de la durée de vie chez cette espèce.

Au cours de cet article, il est montré que les longues durées de vie semblent fortement associées à des milieux stables et les courtes durées de vie à des habitats perturbés et anthropisés. Cette hypothèse d'une relation entre durée de vie et perturbation est classique mais relativement peu démontrée par des données empiriques. Nous montrons également que la durée de vie semble être un caractère soumis à une sélection importante et que les flux géniques ont un effet sensible sur sa distribution géographique. L'âge à la maturité est précoce dans les milieux perturbés et anthropisés mais n'est pas parfaitement associée à la durée de vie sur l'ensemble de la zone étudiée.

*Les paramètres écologiques ont été obtenus lors de la prospection à l'origine de la collection de graines (1989, Pr. Doney, Pr. Laby et Pr. Van Dijk) ainsi que lors d'une étude écologique des populations naturelles de *B. v. maritima* de Bretagne du Nord et des Iles anglo-normandes (mai et juillet 2000). Des observations ont également été réalisées dans toutes les populations du littoral de la Manche.*

Life span in *Beta vulgaris maritima*: geographical variation and the impact of gene flow, age at first reproduction and disturbance

Nina-Coralie Hautekèete, Yves Piquot and Henk Van Dijk

Summary

1 Life span, an essential component of fitness, can be highly affected by other life-history traits, e.g. age at first reproduction (through trade-offs between reproduction and survival), and by the mortality regime imposed by the environment. In a long-term experiment under controlled conditions, we studied life span in an iteroparous plant species, the sea beet *B. v. maritima* (L.), from 104 wild populations sampled in France, Belgium, Great-Britain and the Netherlands. We estimated the intensity of selective pressures on life span, their relative importance compared with gene flow, as well as the specific impacts of age at first reproduction (first or second year, depending on the vernalization requirement for flowering) and of environmental disturbance.

2 Among *B. v. maritima* populations, mean life span increases with the latitude from about two years in the inland habitats of south-western France to about 11 years in North Brittany, then it decreases to about five years in the northernmost populations.

3 Comparing spatial autocorrelograms for life span and cytoplasmic neutral markers, we showed the importance of selective forces in life-span distribution and the short-distance effect of gene flow. Gene flow should therefore moderate, at short distances, the between-populations variations for life span due to habitat differences.

4 The effect of age at first reproduction on life span proved to be marginal within populations. Among populations no causal relationship appeared between those traits, although, in the southern part of the study area, a strong association between reproduction in the first year and short life span suggests common selective pressures.

5 Life span appeared to be highly associated to habitat type, as defined by mortality regimes, populations with the longest-lived individuals occurring in the most stable habitats and populations with the shortest-lived individuals occurring in the most disturbed locations.

Keywords

Age at maturity, latitude, gradient, life history, mortality regime

A Introduction

Life span appears to be one of the major life-history traits of an individual. It has obvious effects on the number of reproductive episodes in organisms reproducing repeatedly, on brood size or quality through negative correlations, also called trade-offs, between investment in survival and reproduction, and on demography (Schaffer & Rosenzweig 1977; Roff 1992; Stearns 1992). Longevity is therefore subject to natural selection as a major component of individual fitness (Kirkwood & Rose 1991; Partridge & Barton 1993).

Due to the trade-offs between current reproduction and survival, the direction of selection on life span will depend on the optimal compromise (in terms of total fitness) between those traits (Williams 1966a; 1966b; Schaffer & Rosenzweig 1977; Kirkwood 1981; 1985; Kirkwood & Rose 1991; Roff 1992; Stearns 1992). The optimal compromise is not only dependent on these intrinsic relationships between reproduction and survival, but also on the external factors that would influence any of the protagonists of the trade-off. Mortality due to external causes (herbivory, disturbance, drought...) may shift this optimal compromise towards shorter life spans, with annuality as the extreme possibility (Hamilton 1966; Edney & Gill 1968; Gadgil & Bossert 1970; Bryant 1971; Charnov & Schaffer 1973; Charlesworth 1980; Stearns 1992). Any between-populations differences in mortality regime will therefore induce between-populations variations in life span. At the opposite, between-populations gene flow might dim those variations.

In the *Beta* species-complex, the sea beet *B. v. maritima* (L.) presents a particularly high variability in life cycles (Letschert 1993): *B. v. maritima* is sometimes described as long-lived iteroparous (repeated reproduction, see Gadgil & Bossert 1970; Kirkendall & Stenseth 1985; Young & Augspurger 1991) in the northern part of its distribution area (Atlantic coasts of France, Belgium, the Netherlands and Great-Britain) and annual (short lived semelparous) in the Mediterranean area (Letschert 1993). Our first step will be to present the between-populations variation in life span in *B. v. maritima*.

Noteworthy variability has also been described in *B. v. maritima* for the vernalization requirement for flowering (Van Dijk *et al.* 1997), i.e. induction of flowering by exposure to low temperature during winter. Vernalization requirement for flowering is mainly determined by the recessive genotype at the B/b locus (Boudry *et al.* 1994). In Mediterranean populations individuals requiring vernalization are quite rare, whereas in northern populations all individuals require vernalization to bolt and flower. Between those regions, plants with or

without vernalization requirement may coexist at various rates in the same population (Van Dijk *et al.* 1997). If germination does not occur too early in the season, vernalization requirement delays flowering until the second year. In semelparous plants, the delay of reproduction, e.g. from the first to the second year, has obvious consequences for life span since death is also delayed (in that case to the second year). In iteroparous plants, as the Atlantic sea beet, the delay of flowering from the first to the second year may plausibly increase life span, because of the occurrence of trade-offs between reproduction and survival (both functions depending on the same limiting resources), but this is poorly documented. Fortunately, coexistence of plants flowering in their first or second year in the same population of sea beets, may provide useful information about the relationship between age at first flowering and life span. We therefore investigate the role that the gradient of vernalization requirement plays in the variations in life span observed in *B. v. maritima*.

Sea beet is known to occur in various habitats with contrasting disturbance regimes: its natural habitat is high water margins along the sea shores, but wild populations of sea beets are also found in man-disturbed habitats in the inland area of southern France (Van Dijk *et al.* 1997; Desplanque *et al.* 1999), which appear to be very disturbed habitats. Since disturbance is thought to greatly influence life span, through its modification of the mortality regime (Murphy 1968; Charnov & Schaffer 1973; Michod 1979; Bulmer 1985; Orzack & Tuljapurkar 1989; Charnov 1990; Benton & Grant 1999), we will assess the impact of disturbance on the distribution of life span in *B. v. maritima*.

Finally, Cuguen *et al.* (1994) and Forcioli *et al.* (1998) analysed the role of gene flow in the cytoplasmic genetic differentiation of populations of *B. v. maritima* through isolation by distance. Comparison of such neutral markers with selected traits, such as life span, may give insights about how gene flow weakens the between-populations differences in life span due to adaptation to local mortality regimes. It also enables us to assess the importance of natural selection, relative to random genetic drift, in shaping the pattern of distribution of life span. We here use spatial autocorrelation analysis to compare the genetic structure of neutral cytoplasmic markers to the distribution of life span in *B. v. maritima*.

In this study we address the following questions:

1. What is the range of variation in life span in *B. v. maritima*? How is this trait geographically distributed?
2. Does the delay of reproduction to the second year of life influence life span?

3. Is life span influenced by habitat, i.e. does life span decrease with disturbance?

4. What is the relative influence of gene flow and selection pressures on the distribution pattern of life span in *B. v. maritima*?

B Material and methods

1 Study species

B. v. maritima is self-incompatible and mostly wind-pollinated. It flowers in groups of two to eight flowers called glomerules. Seeds of one glomerule mature as a seedball in which perianths form a corky pericarp firmly attached to the seeds (Letschert 1993). This appears to be an adaptation to transport by seawater (Dale & Ford-Lloyd 1985).

B. v. maritima occurs along the Atlantic coasts of western Europe and of western North Africa as well as along coasts of the Mediterranean basin. Its distribution area ranges from Sweden to the Azores (Letschert 1993). Inland wild beets are also known in the south-western part of France (Desplanque *et al.* 1999).

2 Sampling and culture

Seeds were collected in 1989 (see Van Dijk *et al.* 1997). 104 populations were sampled, mostly along French coasts and inland (see in Figure 1), but also on Jersey and Guernsey, along Belgian and Dutch coasts and along the English coast in Kent. In each population, seeds were collected as half-sibs. Sample size (one to 30 half-sib families) varied according to population size.

Seeds were sown in September. After three months at long-day photoperiod and non-vernalizing temperatures (20°C), plants were grown in controlled conditions avoiding external causes of mortality, in a greenhouse with natural photoperiod and semi-natural temperatures (between 5 to 25°C). Plants were repotted each year with new turf for nutrient complementation (3L pots).

From 1990 to 1999 new seedlings were potted each year to minimise sowing year (cohort) effect. For each population and each year, at least one individual was grown. When possible, each year individuals belonged to a different family.

3 Life span

Since death could not be observed for all individuals, especially in the last cohorts, we estimated life span using a linear regression model.

We firstly calculated survival to age x per population as the percentage of x -year-old individuals relative to the number of individuals sown x years before. We did this separately for each of the participating cohorts and then calculated the unweighted mean, thus minimising any effect of accidentally unbalanced numbers of individuals per cohort. Survival to age x was arcsine transformed for normalisation. For each population, data were fitted to a linear regression model, with age as an independent variable and the arcsine-transformed survival percentage as the dependent variable. In this regression each age was weighted by the number of participating cohorts. Ages where survival stayed constantly equal to 0 or 100% were excluded from the regression. We were thus able to estimate for almost all populations the age at which 50% of the individuals were still alive. We will refer to this estimate as mean life span for convenience. For three populations insufficient mortality was observed during the experiment (starting in fall 1990 and ending at the end of the reproductive season in late summer 2000). In those populations mean life span was fixed by default to 11 years.

4 Vernalization requirement

Each plant in the experiment was easily characterised for vernalization requirement since their three first months of growth occurred at long days and non-vernalizing temperatures. Plants which did not flower the first year were considered as vernalization-dependent. Percentages of individuals requiring, or not, vernalization were calculated per population. As latitudinal variation in vernalization requirement was reported in a previous paper (Van Dijk *et al.* 1997), we will here focus on the impact of this trait on life span.

5 Geography and ecology

Populations were studied for their variation in geography and ecology by typological characterisation based on geography (latitude and longitude) and on habitat types (11 categories: roadside, near-building area, margin of fields, harbour, oyster basin, beach or dune, rocks, canal, estuary, seawall and cliff). We will present habitats (see table 2) in order of probable disturbance rate, from the least disturbed (natural granite cliffs) to the most disturbed (margins of fields, where beets are regularly mown or eliminated by hand or by herbicide treatments).

6 Cytotypes

Chlorotypes (40 populations with ca. five individuals per population) and mitotypes (38 populations with ca. five individuals per population) were previously described by Forcioli *et al.* (1998) and Cuguen *et al.* (1994) respectively.

7 Statistical analysis

Descriptive statistics were performed on life-span data sorted by geographical area. We defined six major geographical areas: (1) from the Netherlands and Great-Britain to North Brittany, (2) South Brittany, (3) Biscay (from the Bordeaux area to Spain, see Figure 1), (4) the inland area of south-western France (around Agen and Carcassonne, see Figure 1), (5) the Mediterranean coast, (6) sublittoral populations: non-coastal populations contiguous to Atlantic and Mediterranean populations.

Relative magnitude of variation in areas having different means was evaluated using Levene's test for the homogeneity of variances, performed on ln-transformed life-span data.

To test for the effect of age at first flowering, we selected populations in which plants flowering in their first and plants flowering in their second year were both present (28 populations). We then estimated mean life spans in both categories, per population, as described previously. Finally we conducted a two-way ANOVA without replication (PROC GLM: SAS Institute 1988; Sokal & Rohlf 1995) in which the first factor was age at first flowering and the second factor was the population, using the estimated life spans as the dependent variable.

A one-way ANOVA with habitat as a factor was performed to assess the effect of disturbance level on life spans. Multiple comparisons among means were conducted following a Student-Neumann-Keuls procedure (Sokal & Rohlf 1995).

Macrogeographic patterns of life span, percentage of flowering in the first year and cytotypes were assessed using spatial autocorrelation analysis, which expresses differentiation between populations as a function of distance. Transport of seedballs among coastal populations is thought to occur by the sea and is considered possible by land in the inland area of south-western France (under human influence). As the inland populations are distributed linearly from Narbonne to Agen (which does not correspond to a transect but seems to reflect the real distribution of populations, see Desplanque 1999), distances were calculated linearly, whatever the assumption about transport, after exclusion of non-continental populations. To

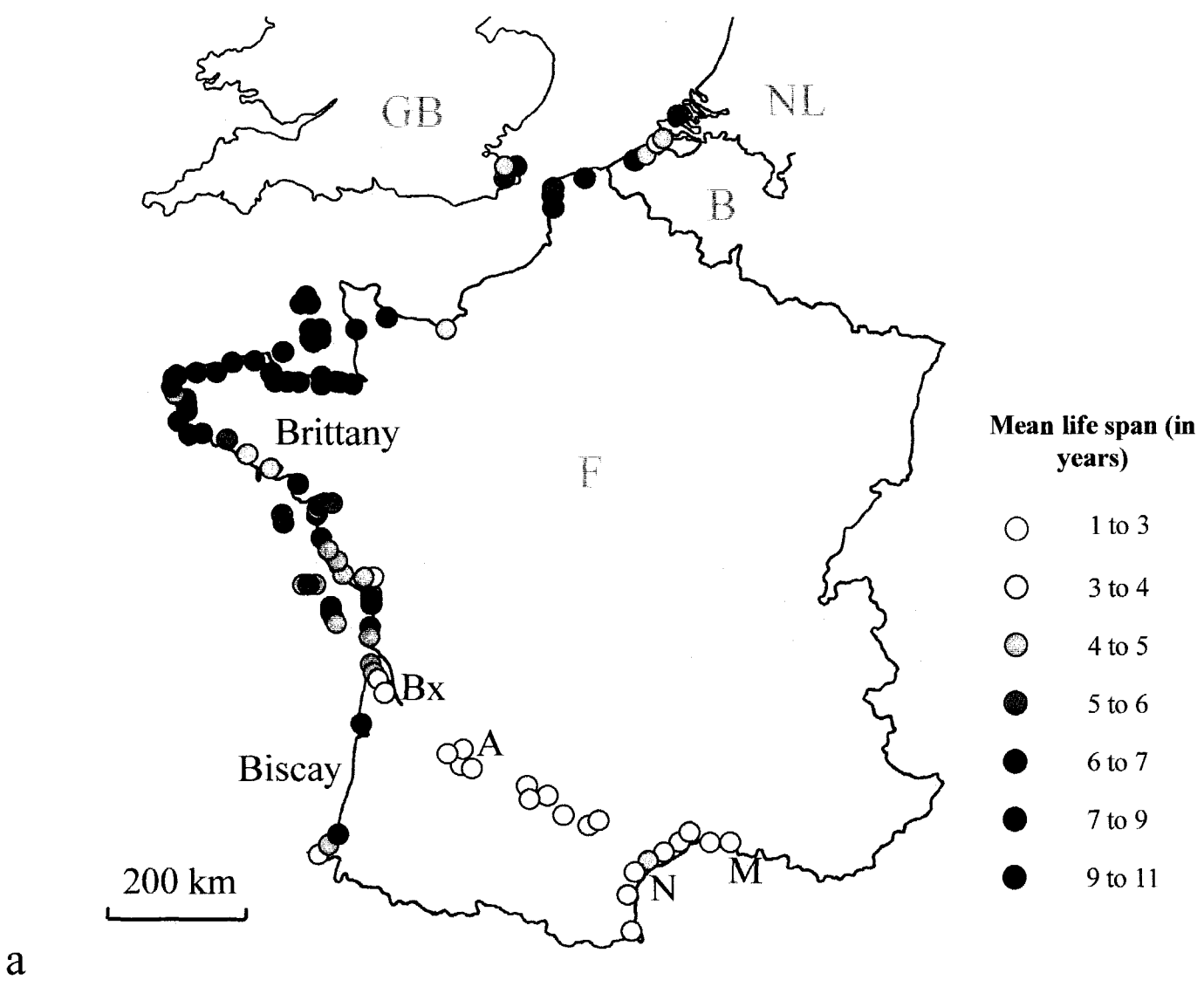


Figure 1a.

Figure 1. Maps:

- a. Life span
- b. Percentage of plants flowering in their first year (i.e. without vernalization)
- c. Habitats

F= France; B=Belgium; NL=the Netherlands; GB=Great Britain

Bx=Bordeaux; A=Agen; C=Carcassonne; N=Narbonne; M=Marseille

understand the relative contribution of southern and Atlantic populations in the life-history and genetic spatial structure, two trials of spatial autocorrelation analyses were performed for each trait. The first one included populations from the Netherlands to Biscay (path 1), the second one included populations from the Netherlands to Marseille via Bordeaux, Agen and Narbonne (path 2). Spatial autocorrelation analyses for life span and percentage of flowering in first year were performed using SAAP 4.3 (Wartenberg 1994), whereas spatial autocorrelation analyses for cytotypes were performed using AutocorG 2.0 (Hardy & Vekemans 1999; Hardy *et al.* 2000) due to the various nature of the data. Moran's I statistics (Sokal & Oden 1978) were computed in all analyses and significance was determined by two-tailed tests (Sokal & Rohlf 1995). Distance classes were defined for life-span analyses in such a way that they each contained an equal number of comparisons. The same distance classes were used in all other analyses of a same path. Upper distance bounds following path 1 were 113, 228, 347, 487, 625, 770, 946, 1174, 1482 and 2232 km, and upper distance bounds following path 2 were 102, 207, 317, 441, 569, 709, 850, 1055, 1354 and 2081 km. Analyses for life span and percentage of first-year flowering involved 57 and 70 populations following paths 1 and 2 respectively, whereas analyses for cytotypes involved 19 and 24 populations (each about five individuals), depending on how many populations were common to our three data sets. This did not changed the balance between distance classes for the number of comparisons.

C Results

1 Life span

Figure 1a shows a very high range for life span. A minimum mean life span of about two years is found in the inland area of south-western France, whereas a maximum mean life span of about 10 years is reached in many populations of North Brittany and the Channel Islands. Mean life span is underestimated by the fact that in these long-lived populations many individuals sown in the early 1990's are still alive. A very high variance of the trait is found in the northernmost geographical area between the Netherlands and North Brittany (Table 1). The lowest variances are found in the inland and Mediterranean areas (Table 1). Unbiased coefficients of variation (Sokal & Rohlf 1995) are similar among geographical areas, which is confirmed by a Levene's test for the homogeneity of variances performed on

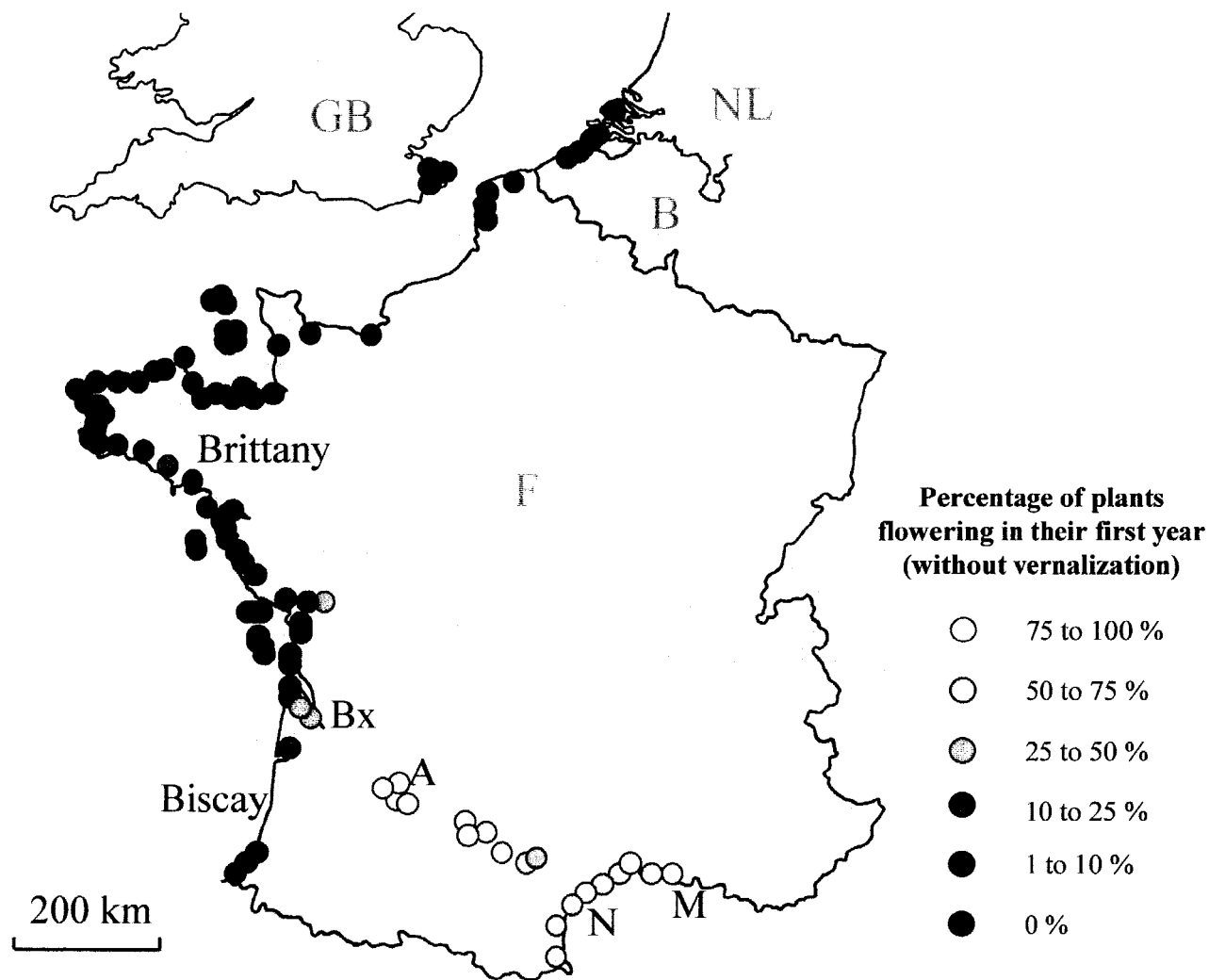


Figure 1b.

ln-transformed data ($P = 0.699$).

Life span in North Brittany (Figure 2) is maximal (11 years) in population Tbn and decreases gradually to the East (Gui) and to the West (Son). Values tend to increase again to the West (from Hub to Mmi).

The spatial autocorrelogram for life span (path 2: populations from the Netherlands to Marseille) is shown in Figure 3a. Moran's I values are significantly positive ($\alpha = 0.05$) for the four first distance classes (0 to 487 km) and significantly negative for the four last distance classes (769 to 2232 km). Moran's I values decrease from the first to the eighth distance class (from 0 to 1173 km) and increase in following distance classes (1173 to 2232 km). This pattern is also observed when only populations from the Netherlands to Biscay (path 1) are kept in the analyses (Figure 3b): significant positive Moran's I values ($\alpha = 0.05$) are found from the first to the third distance classes (0 to 317 km) and significant negative ones in the seventh to ninth distance classes (709 to 1354 km). The last one gives a significant positive Moran's I value (1354 to 2081 km).

2 Vernalization requirement

Figure 1b shows a very high rate of first year flowering in the inland area (75 to 100 % of the individuals flowered in their first year in most populations). All of the individuals in populations from South Brittany to the Netherlands and Great-Britain required vernalization for flowering.

Although mean life spans of plants flowering in their second year seems graphically to be slightly higher than mean life spans of plants flowering in their first year (Figure 4), the effect of age at first flowering is not significant in a two-way ANOVA without replication conducted as described previously ($F = 2.70$, $df = 1$, $P = 0.11$).

In a spatial autocorrelogram for percentage of plants requiring vernalization (populations from the Netherlands to Marseille; Figure 3c), Moran's I values are significant and positive ($\alpha = 0.05$) for the four first distance classes (0 to 487 km) and significantly negative for the four last distance classes (769 to 2231 km). Moran's I values decrease regularly from the first to the last distance classes. This pattern is slightly different when only populations from the Netherlands to Biscay are kept in the analyses (Figure 3d). Moran's I values still decrease regularly, but only the first, second and fourth distance classes (0 to 207 km and 317 to 441 km) give significant positive Moran's I values ($\alpha = 0.05$) and only the last

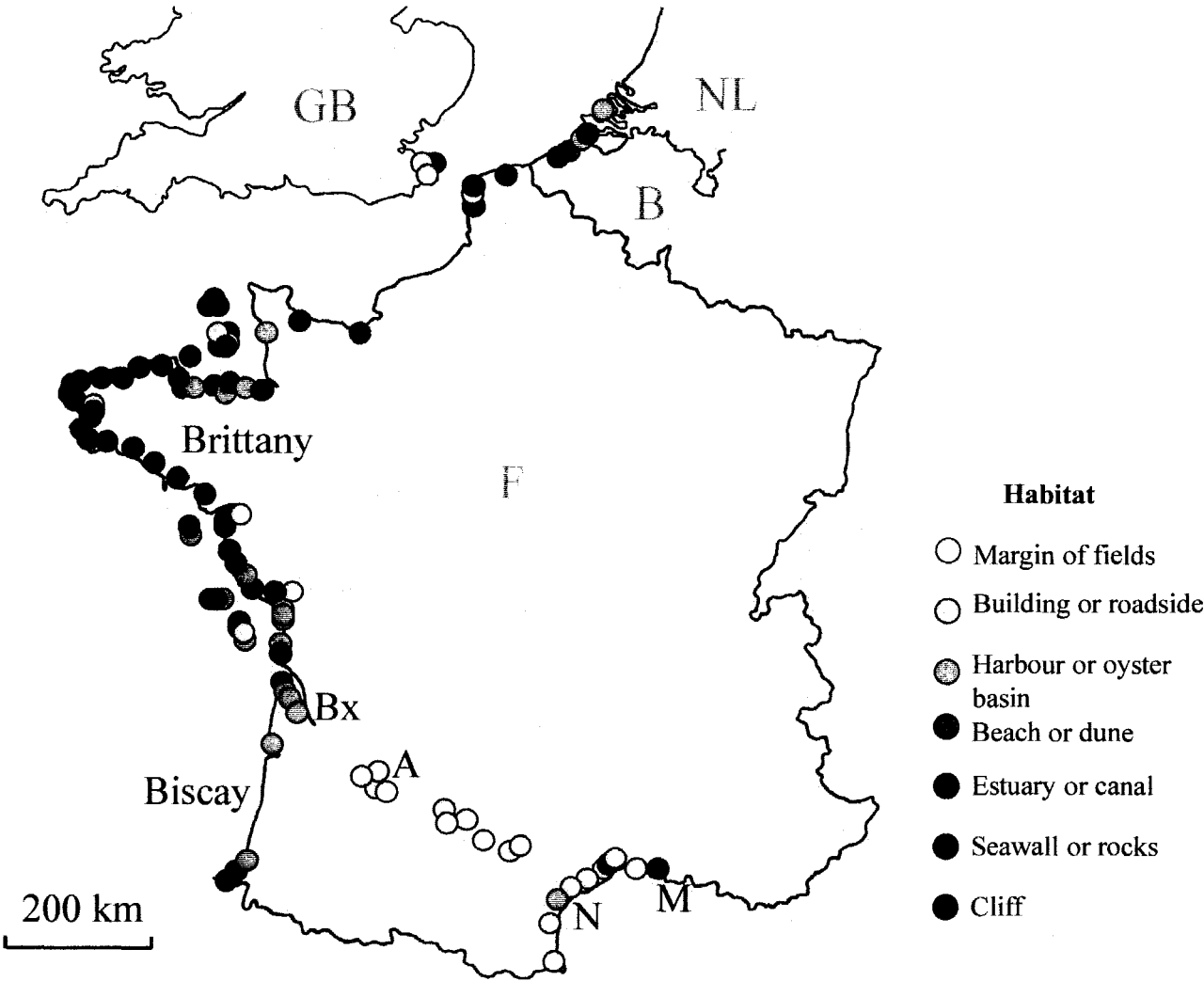


Figure 1c.

distance class (1354 to 2081 km) gives a significant negative value.

3 Cytotypes

Both cytoplasmic markers gave exactly the same pattern.

In a spatial autocorrelogram for chlorotypes (populations from the Netherlands to Marseille; Figure 3e), Moran's I values are significant and positive ($\alpha = 0.05$) for the first and fourth distance classes (0 to 113 and 347 to 487 km) and significant and negative for the third, sixth and eighth distance classes (228 to 347, 625 to 770, and 946 to 1174 km). The pattern is similar when only populations from the Netherlands to Biscay are kept in the analysis (data not shown).

In a spatial autocorrelogram for mitotypes (populations from the Netherlands to Marseille; Figure 3f), Moran's I values are significant and positive ($\alpha = 0.05$) for the first and fourth distance classes (0 to 113 and 347 to 487 km) and significant and negative for the third, sixth and eighth distance classes (228 to 347, 625 to 770, and 946 to 1174 km). The pattern is similar when only populations from the Netherlands to Biscay are kept in the analyses (data not shown).

4 Ecology

In the inland part of south-western France and along Mediterranean coasts, almost 100% of the populations occur at margins of fields, roadsides and near buildings (Figure 1c). Populations along the Atlantic coast around Bordeaux are mostly located in harbours and oyster basins. South Brittany and northern populations are generally found along estuaries, along canals, in rocks or on seawalls. Finally, cliff habitats are very common in North Brittany and in the area between Bordeaux and South Brittany. The range of habitats is very large in the northern part of the sampled area as well as between Bordeaux and South Brittany.

A one-way ANOVA with habitat as factor gives a significant effect of habitat on life span ($F = 5.97$, $df = 10$, $P_value = 0.0001$). Three non-exclusive clusters of habitat types are constructed (Table 2): margin of fields are significantly different for life span from all other habitat types except roadsides, roadsides and near-buildings areas are intermediate, and all other habitats types show similarly high life spans.

Geographical area	Mean life span	variance	coefficient of variation	Number of populations
From North Brittany to Great Britain and the Netherlands	7.16	3.28	25.45	39
Southern Brittany	5.88	1.22	19.20	12
Bordeaux area (coast)	5.37	1.05	19.23	29
South-western area	2.12	0.10	15.71	8
Sublittoral	3.27	0.87	29.64	6
Mediterranean	3.09	0.64	26.46	10

Table 1. Life span of *B. v. maritima* in various geographical habitats

Habitat	Number of populations	Mean life span	clusters
cliff	15	7.49	a
seawall	6	6.92	a
canal	4	6.14	a
rocks	15	5.77	a
estuary	7	5.76	a
beach or dune	11	5.74	a
harbour	14	5.48	a
oyster basin	7	5.40	a
near-buildings	12	4.69	a, b
roadside	10	2.97	b, c
margin of fields	3	2.11	c

Table 2. Effect of habitat on life span: Student-Neumann-Keuls test

D Discussion

1 Life span

The range of life spans among populations of *B. v. maritima* is very large (from two to more than 11 years), which suggests very different selection pressures or histories. No veritable annual population is found in our sample, contrary to some previous descriptions (Letschert 1993). The shortest-lived plants (two years) usually are plants that do not require vernalization, and therefore flower twice in their lifetime.

The life-span map (Figure 1a) shows a very high spatial patch structure at a large geographic scale. The highest values are clustered in North Brittany, Jersey and Guernsey, whereas the lowest values are found in the inland area (Figure 1a). Spatial autocorrelograms for life span (Figures 3a and b) also reveal that differentiation between populations for life span is significantly dependent on distance and that its pattern of variation with distance follows a macrogeographic patch structure.

Populations separated by short distances (less than 500 km) show similar life spans (Figure 3b), which corresponds to the occurrence of two patches, one in Brittany and the other in the inland area of south-western France and the Mediterranean (Figure 1a). At the opposite, populations separated by 700 to 1300 km are significantly different. This differentiation is particularly high between populations separated by distances of about 900 km (Figure 3b), which fits to the comparisons of North Brittany with Biscay, and of North Brittany with northern France, Belgium and the Netherlands (Figure 1a). The highest differentiation is observed between populations separated by distances of about 1100 km (Figure 3a), where North Brittany and southern populations are compared. Populations from the Netherlands, Belgium, Great-Britain and northern France have life spans similar to those of populations from Biscay (Figures 1a and 3b). This pattern is inconsistent with the occurrence of selection by a simple unidirectional environmental gradient (e.g. climatic factors varying with latitude: drought, length of the growth season, light), such as described in some other species (Cooper 1963; Leggett & Carscadden 1978). This pattern instead highly supports the existence of two environmental gradients, one from North Brittany to the south, and another gradient from North Brittany to the north-east. These two gradients may be caused by a single environmental factor, increasing from the south to North Brittany and then decreasing to the Netherlands, or by the combination of two factors or more (e.g. length of the growth season and disturbance).

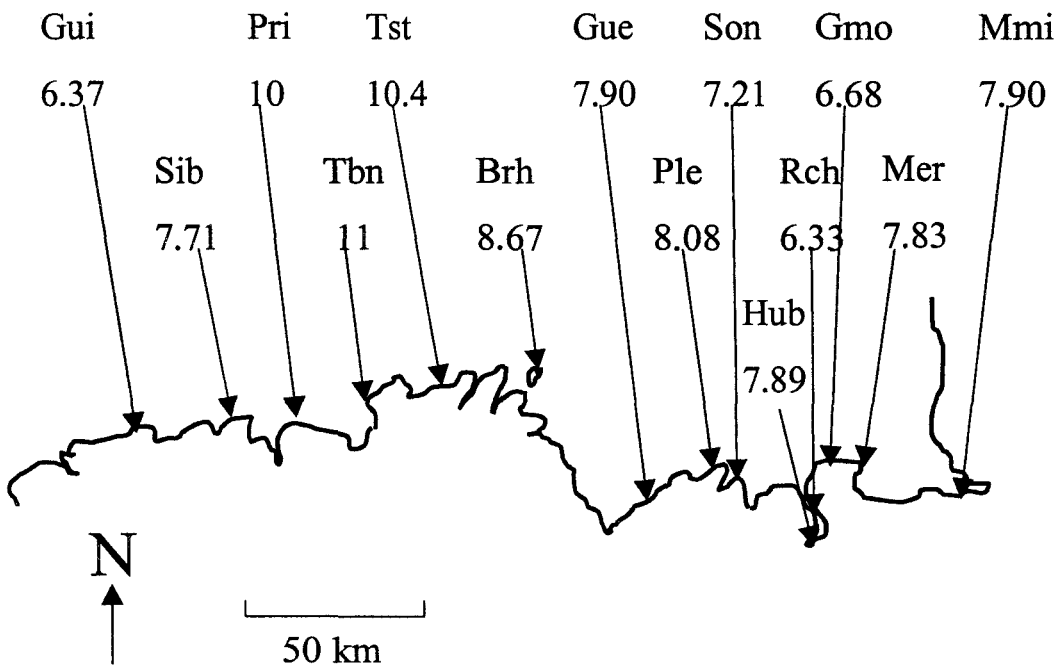


Figure 2

Figure 2. Mean life spans of North Brittany populations.

Gui: Guissény; Sib: Sibiril; Pri: Primel; Tbn: Trébeurden; Tst: Trestel; Brh: Bréhat; Gue: Val André; Ple: Pléhérel-plage; Son: Notre Dame du Guildo; Hub: Port St Hubert; Rch: La Richardais; Gmo: La Guimorais; Mer: Cancale; Mmi: Mont St Michel

2 Vernalization requirement

The effect of age at first flowering on life span within populations is not significant, in spite of a tendency to an increased life span with postponed reproduction. Actually the difference in life spans between plants flowering in their first or second year is estimated to be about one year (Figure 4), which may be too low to be statistically significant with this sample size.

Plants requiring vernalization for flowering will benefit from one season without spending resources into reproduction. This should therefore allow increased vegetative growth or a higher accumulation of reserves for survival or future reproduction (Fisher 1958; Williams 1966b; Gadgil & Bossert 1970; Calow 1973; Reznick 1992), as suggested by the numerous evidences of cost of reproduction on subsequent growth, reproduction or survival in plants (see, among others: Sohn & Policansky 1977; Snow & Whigham 1989; Worley & Harder 1996; Primack & Stacy 1998; Nicotra 1999). A tendency to a one-year increase in life span in sea beets flowering in their second year, compared to first-year flowering plants, is observed. The number of reproductive episodes is therefore independent of the age at first flowering, and plants flowering in the second year at least compensate for the first year without flowering. However in the field, when the length of the growing season is too short for an individual to achieve reproduction in the same year as germination, postponing reproduction might confer an advantage in reproductive output or survival (Reinartz 1984) that would not be observed in controlled conditions. Mixed populations (in which plants flowering in their first and plants flowering in their second year were both present) might be found in latitudes where years with sufficiently long growing seasons alternate with years with too short seasons to achieve reproduction.

Latitudinal distribution of vernalization requirement is described by Van Dijk *et al.* (1997). Spatial autocorrelation analysis from the Netherlands to the Mediterranean coast (Figure 3c) reveals the major differentiation of northern and southern populations for vernalization requirement and therefore reinforce their conclusion of a simple environmental gradient. Spatial autocorrelation analyses also support their suggestion of a particularly strong selection for flowering in first year in inland and Mediterranean populations, as suggested by the major effect of the introduction of those populations in the spatial autocorrelation analysis (Figures 3c and d).

The finding that vernalization-requirement distribution follows a simple unidirectional

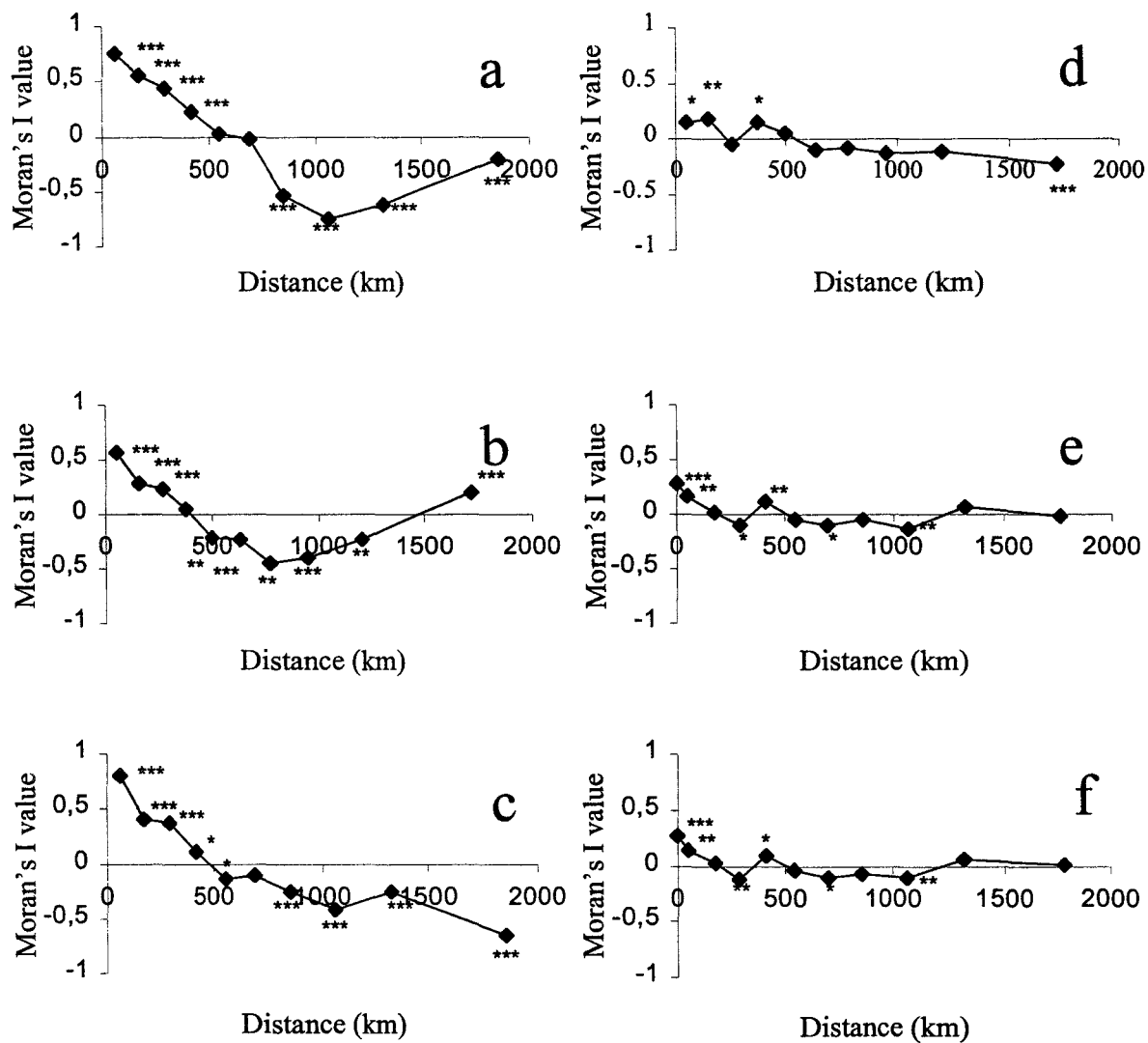


Figure 3

Figure 3. Spatial autocorrelograms:

a = life span, from the Netherlands to the Mediterranean coast

b = life span, from the Netherlands to Biscay

c = vernalization requirement, from the Netherlands to the Mediterranean coast

d = vernalization requirement, from the Netherlands to Biscay

e = chlorotypes, from the Netherlands to the Mediterranean coast

f = mitotypes, from the Netherlands to the Mediterranean coast

* significant at $\alpha = 0.05$; ** significant at $\alpha = 0.01$; *** significant at $\alpha = 0.001$

(north-south) environmental gradient contrary to life span, is another argument against the influence of vernalization requirement on life span, especially in northern populations in which the percentage of individuals requiring vernalization is fixed to 100% whereas life span decreases (Figure 1b). Therefore no causal relationship between the percentage of plants flowering in the first year and life span is detected among populations.

Flowering in the first year and short life span may be simultaneously selected by common environmental factors in Mediterranean and inland populations. In the inland area, producers of seeds of cultivated beet regularly eliminate wild beets to prevent hybridization (Desplanque 1999). This elimination is easier during reproductive season because of the high visibility of flowering stems. This should select for weedy characteristics, as rapid growth and flowering which is clearly not compatible with vernalization requirement, and a high seed output, implying a high reproductive investment, which trades off with life span. Similarly, mowing (along roadsides) increases adult mortality and may also select for both short life span and flowering in first year (Charnov & Schaffer 1973; Michod 1979; Charnov 1990).

3 Cytotypes

The similarity between the autocorrelograms for mitotypes and chlorotypes (Figures 3e and f) is probably a result of migration and of their common maternal inheritance, rather than a result of recurrent homoplastic mutations (Desplanque *et al.* 2000). Genetic similarity between populations decreases up to a distance of 200 km and shows no gradient at large distances. Therefore isolation by distance will have an effect at small distance classes and gene flow may explain the regular decrease of life span around population Tbn (Figure 2) despite strong differentiation in habitat types (Figure 1c).

Assuming negligible maternal and environmental (controlled condition experiment) effects on traits, the comparison of spatial autocorrelation analyses for neutral and selected traits gives an estimation of the importance of selection pressures on the pattern of distribution of the traits. Cytoplasmic genetic differentiation is expected to be very high (Ouborg *et al.* 1999), nevertheless, spatial differentiation is much higher for life span and vernalization requirement than for neutral markers (Figures 3a-d vs Figures 3e-f), which suggests that environmental selection on those traits is responsible for the pattern observed at a macrogeographical scale. However, to estimate the importance of the environmental selection, we first have to assess the importance of gene flow: if the gene flow is weak, selection pressures do not necessarily need to be high to determine spatial differentiation. In

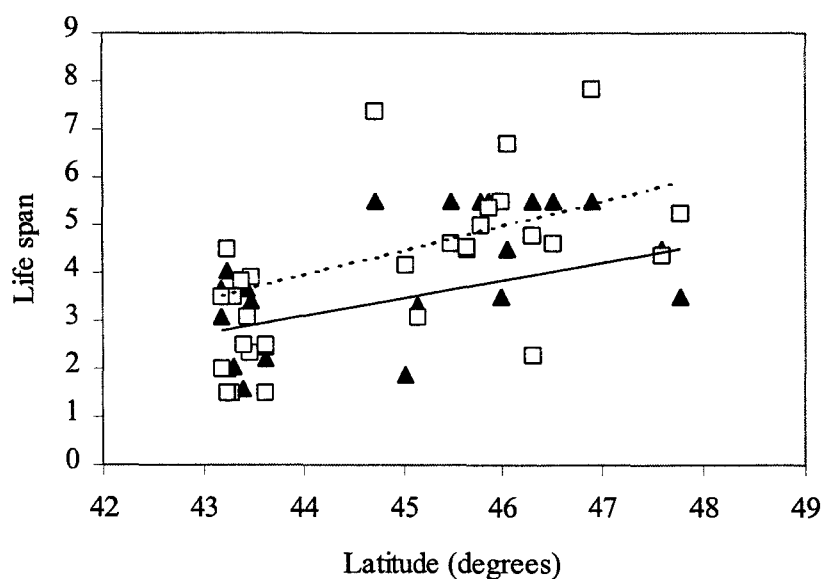


Figure 4

Figure 4. Mean life span of plants requiring vernalization or not (populations with both categories of plants). □ = plants requiring vernalization ◆ = plants without vernalization requirement. Dotted line = regression of life span on latitude (plants requiring vernalization). Plain line: regression of life span on latitude (plants without vernalization requirement)

this study, gene flow (via seeds) is still noticeable since spatial differentiation for neutral markers is limited. As a consequence, environmental selection pressures on life span (and vernalization requirement) should be strong.

4 Ecology

Spatial distribution of life span and habitats have roughly similar patterns. Two common major patches are found (Figures 1a and c): one patch including short-lived and highly man-disturbed populations in the inland and Mediterranean areas and another patch in North Brittany, including long-lived populations and a high proportion of cliffs compared to other populations. Other populations are intermediate concerning both characteristics.

Inland and Mediterranean populations appear to be very different from Atlantic and northern populations for many traits: life span, vernalization requirement and habitat, since they are found inland or in highly disturbed habitats. History may be put forward to explain this pattern. Desplanque et al (1999) showed that Mediterranean sea beets are the closest relatives of inland wild beets, despite the highest geographical proximity of Biscay. In fact, despite very fine scale exploration, no wild beet population is known between inland and Atlantic populations. Differentiation between inland and Atlantic populations may be explained by historical biogeography. Clausen *et al.* (2000), in a study on two species having the same habitat and distribution area as the sea beet (i.e. *Eryngium maritimum* and *Cakile maritima*), argued that presumed distributions of both species during the Würm glacial and post-glacial migrations may explain differentiation between the Mediterranean and Atlantic populations. At the opposite, North Brittany is very differentiated from other areas for life span without any known historical explanation. An exploration conducted in 2000 on a very fine scale in North Brittany (data not shown), revealed a general tendency to more stable (granite cliffs, rocks, pebbles...) and more natural habitats in this region. Many populations could therefore be long-lived in this area. Unstable habitats (estuaries, harbours...) are also found in North Brittany. However, gene flow between populations dims any differences due to contrasting habitats, wiping fine-scale effects of habitats out. Such gene flow is quite plausible in North Brittany, where sea currents along the coast and to Jersey and Guernsey (Garreau 1993; Salomon & Breton 1993) might allow seedball dispersion. This could also more generally explain the higher local homogeneity for life span than for habitats (Figures 1a and c) all over the study area.

A habitat effect is detected (one-way ANOVA) but is in fact hardly distinguishable

from effects related to latitude, such as the climate: some habitat types are not found at all latitudes. Despite their rarity, which unfortunately prevents any statistical test, sublittoral Atlantic populations are more ruderal and much shorter-lived than their fully littoral neighbours and sustain the hypothesis of disturbance effects on life span. The general tendency for the occurrence of short-lived and highly-disturbed populations vs long-lived and more stable populations points to disturbance as a plausible selective factor favouring a short life span. The pattern is probably complicated by the influence of climate and by gene flow which dims differences.

E Conclusion

In this long-term study we assessed the relative importance of several factors that may influence life span in *B. v. maritima*. Habitats, defined by their putative disturbance regime, seem to have a great influence on life span, probably moderated by gene flow among populations. The influence of vernalization requirement on life span is less evident, and this trait may simply be selected by the same environmental factors as life span. Nevertheless, other environmental factors are still to assess: herbivory (Michod 1979; Klinkhamer *et al.* 1997) and parasitism (Bazzaz *et al.* 1987; Sheldon & Verhulst 1996; Oppliger *et al.* 1997; Zangerl *et al.* 1997; Nordling *et al.* 1998) may both have considerable influence on life-history traits and hence constitute major selective forces. A better knowledge of the history of *B. v. maritima* populations (migrations or local disturbance regimes in the past) would also allow us to assess the former selective forces acting on life span. Finally, in the same way that precocious reproduction and short life span may be selected by the same environmental factor (external mortality), those life-history traits may be jointly selected by factors related to latitude, such as length of growth season, and this hypothesis is currently tested in an allocation model.

Acknowledgements

We are grateful to O. Hardy, J. Cuguen, C. Engel, M. Valéro and A. Teriokhin for constructive comments on earlier drafts of this manuscript. We also thank R. Dron for precious long-term assistance in the greenhouse.

References

- Bazzaz, F.A., Chiarello, N.R., Coley, P.D. & Pitelka, L.F. (1987) Allocating resources to reproduction and defense. *BioScience*, **37**, 58-67.
- Benton, T.G. & Grant, A. (1999) Optimal reproductive effort in stochastic, density-dependent environments. *Evolution*, **53**, 677-688.
- Boudry, P., Wieber, R., Saumitou-Laprade, P., Pillen, K., Van Dijk, H. & Jung, C. (1994) Identification of RFLP markers closely linked to the bolting gene B and their significance for the study of the annual habit in beets (*Beta vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, **88**, 852-858.
- Bryant, E.H. (1971) Life-history consequences of natural selection: Cole's result. *The American Naturalist*, **105**, 75-76.
- Bulmer, M.G. (1985) Selection for iteroparity in a variable environment. *The American Naturalist*, **126**, 63-71.
- Calow, P. (1973) The relationship between fecundity, phenology, and longevity: a systems approach. *The American Naturalist*, **107**, 559-574.
- Charlesworth, B. (1980) *Evolution in age-structured populations*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Charnov, E. & Schaffer, W.M. (1973) Life-history consequences of natural selection: Cole's result revisited. *The American Naturalist*, **107**, 791-793.
- Charnov, E.L. (1990) On evolution of age of maturity and the adult lifespan. *Journal of Evolutionary Biology*, **3**, 139-144.
- Clausing, G., Vickers, K. & Kadereit, J.W. (2000) Historical biogeography in a linear system: genetic variation of Sea Rocket (*Cakile maritima*) and Sea Holly (*Eryngium maritimum*) along European coasts. *Molecular Ecology*, **9**, 1823-1833.
- Cooper, J.P. (1963) Species and population differences in climatic response. In *Environmental control of plant growth* (ed. Evans, L.T.), pp. Academic Press, New York.
- Cuguen, J., Wattier, R., Saumitou-Laprade, P., Forcioli, D., Mörchen, M., Van Dijk, H. & Vernet, P. (1994) Gynodioecy and mitochondrial DNA polymorphism in natural populations of *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. *Genetics Selection Evolution*, **26**, 87s-101s.
- Dale, M.F.B. & Ford-Lloyd, B.V. (1985) The significance of multigerm seedballs in the genus *Beta*. *Watsonia*, **15**, 265-267.
- Desplanque, B. (1999) Betteraves mauvaises herbes et rudérales: diversité génétique, traits d'histoire de vie et flux de gènes au sein du complexe d'espèces cultivées-sauvages *Beta vulgaris* ssp. PhD Thesis. University of Lille 1, Lille, France.
- Desplanque, B., Boudry, P., Broomberg, K., Saumitou-Laprade, P., Cuguen, J. & Van Dijk, H. (1999) Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L. (Chenopodiaceae), assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **98**, 1194-1201.
- Desplanque, B., Viard, F., Forcioli, D., Bernard, J., Saumitou-Laprade, P., Cuguen, J. & Van Dijk, H. (2000) The linkage disequilibrium between cpDNA and mtDNA haplotypes in *Beta vulgaris* subsp. *maritima* (L.): the usefulness of both genomes for population genetic studies. *Molecular Ecology*, **9**, 141-154.
- Edney, E.B. & Gill, R.W. (1968) Evolution of senescence and specific longevity. *Nature*, **220**, 281-282.
- Fisher, R.A. (1958) *Genetical theory of natural selection*. Dover Publications, New York.
- Forcioli, D., Saumitou-Laprade, P., Valero, M., Vernet, P. & Cuguen, J. (1998) Distribution of chloroplast DNA diversity within and among populations of the gynodioecious species *Beta vulgaris* ssp. *maritima* (Chenopodiaceae). *Molecular Ecology*, **7**, 1193-1204.
- Gadgil, M. & Bossert, W.H. (1970) Life historical consequences of natural selection. *The American Naturalist*, **104**, 1-24.
- Garreau, P. (1993) Hydrodynamics of the North Brittany coast: a synoptic study. *Oceanologica Acta*, **16**, 469-477.
- Hamilton, W.D. (1966) The moulding of senescence by natural selection. *Journal of Theoretical Biology*, **12**, 12-45.
- Hardy, O. & Vekemans, X. (1999) *AutocorG*.

- Hardy, O.J., Vanderhoeven, S., Meerts, P. & Vekemans, X. (2000) Spatial autocorrelation of allozyme and quantitative markers within a natural population of *Centaurea jacea* (Asteraceae). *Journal of Evolutionary Biology*, **13**, 656-667.
- Kirkendall, L.R. & Stenseth, N.C. (1985) On defining "breeding once". *The American Naturalist*, **125**, 189-204.
- Kirkwood, T.B.L. (1981) Repair and its evolution: survival versus reproduction. In *Physiological ecology: an evolutionary approach to resource use* eds. Townsend, C.R. & Calow, P.), pp. 165-189. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Kirkwood, T.B.L. (1985) Comparative and evolutionary aspects of longevity. In *Handbook of the biology of aging* eds. Finch, C.E. & Schneider, E.L.), pp. 27-44. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Kirkwood, T.B.L. & Rose, M.R. (1991) Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B*, **332**, 15-24.
- Klinkhamer, P.G.L., Kubo, T. & Iwasa, Y. (1997) Herbivores and the evolution of the semelparous perennial life-history of plants. *Journal of Evolutionary Biology*, **10**, 529-550.
- Leggett, W.C. & Carscadden, J.E. (1978) Latitudinal variation in reproductive characteristics of American Shad (*Alosa sapidissima*): evidence for population specific life history strategies in fish. *J. Fish. Res. Board Can.*, **35**, 1469-1478.
- Letschert, J.P.W. (1993) *Beta* section *Beta*: biogeographical patterns of variation and taxonomy. *Wageningen Agric. Univ. Papers*, **93**, 1-155.
- Michod, R.E. (1979) Evolution of life histories in response to age-specific mortality factors. *The American Naturalist*, **113**, 531-550.
- Murphy, G.I. (1968) Pattern in life history and the environment. *The American Naturalist*, **102**, 391-403.
- Nicotra, A.B. (1999) Reproductive allocation and the long-term costs of reproduction in *Siparuna grandiflora*, a dioecious neo-tropical shrub. *Journal of Ecology*, **87**, 138-149.
- Nordling, D., Andersson, M., Zohari, S. & Gustafsson, L. (1998) Reproductive effort reduces specific immune response and parasite resistance. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences*, **265**, 1291-1298.
- Oppliger, A., Christe, P. & Richner, H. (1997) Clutch size and malarial parasites in female great tits. *Behavioral Ecology*, **8**, 148-152.
- Orzack, S.H. & Tuljapurkar, S. (1989) Population dynamics in variable environments. VII. The demography and evolution of iteroparity. *The American Naturalist*, **133**, 901-923.
- Ouborg, N.J., Piquot, Y. & van Groenendael, J. (1999) Population genetics, molecular markers, and the study of dispersal in plants. *Journal of Ecology*, **87**, 551-568.
- Partridge, L. & Barton, N.H. (1993) Optimality, mutation and the evolution of ageing. *Nature*, **362**, 305-311.
- Primack, R. & Stacy, E. (1998) Cost of reproduction in the pink lady's slipper orchid (*Cypripedium acaule*, Orchidaceae): an eleven-year experimental study of three populations. *American Journal of Botany*, **85**, 1672-1679.
- Reinartz, J.A. (1984) Life history variation of common mullein (*Verbascum thapsus*). I. Latitudinal differences in population dynamics and timing of reproduction. *Journal of Ecology*, **72**, 897-912.
- Reznick, D. (1992) Measuring the costs of reproduction. *Trends in Ecology and Evolution*, **7**, 42-45.
- Roff, D.A. (1992) *The evolution of life histories*. Chapman & Hall, New York.
- Salomon, J.-C. & Breton, M. (1993) An atlas of long-term currents in the Channel. *Oceanologica Acta*, **16**, 439-448.
- SAS Institute (1988) *SAS*.
- Schaffer, W.M. & Rosenzweig, M.L. (1977) Selection for optimal life histories. II: Multiple equilibria and the evolution of alternative reproductive strategies. *Ecology*, **58**, 60-72.
- Sheldon, B.C. & Verhulst, S. (1996) Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, **11**, 317-321.
- Snow, A.A. & Whigham, D.F. (1989) Costs of flower and fruit production in *Tipularia discolor* (Orchidaceae). *Ecology*, **70**, 1286-1293.

- Sohn, J.J. & Policansky, D. (1977) The costs of reproduction in the mayapple *Podophyllum peltatum* (Berberidaceae). *Ecology*, **58**, 1366-1374.
- Sokal, R.R. & Oden, N.L. (1978) Spatial autocorrelation in biology. I. Methodology. *Biological Journal of the Linnean Society*, **10**, 199-228.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995) *Biometry*. W. H. Freeman and Company, New York, USA.
- Stearns, S.C. (1992) *The evolution of life histories*. Oxford University Press, Oxford.
- Van Dijk, H., Boudry, P., McCombie, H. & Vernet, P. (1997) Flowering time in wild beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) along a latitudinal cline. *Acta Oecologica*, **18**, 47-60.
- Wartenberg, D.E. (1994) *SAAP spatial autocorrelation analysis program*.
- Williams, G.C. (1966a) *Adaptation and natural selection*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Williams, G.C. (1966b) Natural selection, the cost of reproduction and a refinement of Lack's principle. *The American Naturalist*, **100**, 687-690.
- Worley, A.C. & Harder, L.D. (1996) Size-dependent resource allocation and costs of reproduction in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae). *Journal of Ecology*, **84**, 195-206.
- Young, T.P. & Augspurger, C.K. (1991) Ecology and evolution of long-lived semelparous plants. *Trends in Ecology and Evolution*, **6**, 285-289.
- Zangerl, A.R., Arntz, A.M. & Berenbaum, M.R. (1997) Physiological price of an induced chemical defense: photosynthesis, respiration, biosynthesis, and growth. *Oecologia*, **109**, 433-441.

Chapitre VI Le modelage par l'environnement des traits d'histoire de vie chez la betterave maritime *Beta vulgaris maritima* : une approche d'optimisation évolutive

(en préparation pour American Naturalist)

L'impact des facteurs climatiques comme sources de perturbations ou comme ressources (eau, durée de la bonne saison etc) sur le cycle de vie est étudié dans ce chapitre. Les données sur la durée de vie dans les populations de *B. v. maritima* sont comparées à des données météorologiques et les résultats empiriques en découlant sont confrontés à un modèle d'allocation optimale. Ce chapitre est né de la collaboration avec le Dr. A. Teriokhin (Université de Moscou) et de la magie du courrier électronique. Au cours de l'année 2000 en effet, alors que nous développons déjà un modèle très descriptif sur cette thématique, j'ai fait la connaissance « électronique » d'Anatoli, qui s'est immédiatement intéressé à la question. En deux temps, trois mouvements, il m'avait proposé une manière particulièrement élégante de procéder, sous la forme d'un petit modèle tout simple. Au fur et à mesure de nos discussions, Anatoli a complété et approfondi ce modèle jusqu'à ce qu'il réponde parfaitement aux questions générées par la répartition géographique de la durée de vie chez *B. v. maritima*.

Cet article met en évidence la possibilité d'un impact des ressources sur la durée de vie et l'âge à la maturité. Il montre également que cet impact est restreint à des situations densité - indépendantes et que son ampleur est dépendante des hypothèses du modèle. Chez *B. v. maritima* un effet des ressources semble effectivement compléter l'impact de la mortalité externe.

Ce modèle a été réalisé au cours de l'année 2000. Les résultats ont été confrontés, début 2001, aux données de durées de vie et d'habitat traitées lors du chapitre précédent, associées à des données météorologiques (MétéoFrance).

The environmental moulding of life-history traits in the sea beet *Beta vulgaris maritima*: an evolutionary optimisation view

Hautekète, N.-C., Teriokhin, A., Piquot, Y. and Van Dijk, H.

A Introduction

Organisms, in order to maximise their fitness, have to optimise many intrinsic traits related to reproduction and survival. Such traits are called life-history traits. At evolutionary equilibrium, each observed combination of values of life-history traits is therefore the optimal strategy in a specific context (Stearns 1976). This context is composed of a set of possible values of the traits (e.g. dependent on genetic variability, or on relationships between traits) and of external factors corresponding to the biotic and abiotic environment of the organism. These external factors may act differently on survival probabilities of adults and juveniles, on resource availability, efficiency of investment in reproduction or survival and so on (see review in Roff 1992, Stearns 1992). Environmental variability will therefore induce a variation in optimal life-history strategy. Moreover, as reproductive and survival traits depend on the same limiting resources, they are related to each other by trade-offs (review in Stearns 1992), and therefore, a same external factor may have consequences for several life-history traits at the same time, e.g. life span, number of reproductive episodes and age at maturity.

Among the external factors influencing life-history strategies, mortality due to external causes (predation, disturbance, drought...) is certainly the most studied. Mean adult mortality due to external causes decreases the relative contribution to fitness of adults relative to juveniles (Stearns 1992), and consequently favours short life span, high investment in reproduction and precocious reproduction, with annuality as the extreme possibility (Gadgil and Bossert 1970, Charnov and Schaffer 1973, Michod 1979, Charlesworth 1980, Young 1981, Reznick et al. 1990, Reznick et al. 1996). Between-year variation in juvenile mortality rates has been suggested to select for longer life span and lower investment in reproduction (Murphy 1968, Schaffer 1974a), but this proved to depend on quantitative details and should not be generalised (Goodman 1984, Orzack and Tuljapurkar 1989, Benton and Grant 1999).

Another external factor potentially able to modify the optimal life-history tactic is the quantity of available resources. Gadgil and Bossert (1970) suggested that increasing resources should favour precocious reproduction and higher reproductive effort (which should therefore decrease life span consequently to trade-offs). However, Ronce and Olivieri (1997) specified that the opposed prediction should be taken for metapopulations. Effect of

resources have also been included in other models through growth rate or length of the growing season (e.g. Stearns and Koella 1986, Iwasa and Cohen 1989, Berrigan and Koella 1994), apparently without any congruent conclusion between models about the consequences for age at maturity, reproductive effort or life span.

It is obvious that numerous external factors have the potential to influence the same life-history trait, and, as a consequence, discriminating between the various factors might prove to be complicated. Many empirical studies are set up to evaluate the relationships between environmental variability and the diversity of life-history strategies (see, among many others, Law et al. 1977, Reinartz 1984, Till-Bottraud et al. 1990, Young 1990), especially within species (Venable 1984). At a large scale, the geographical distribution of life histories is likely to make clear which factors favour the observed tactics by eliminating background noise. In plants, age at maturity (in years, which is different from the within-year phenology) proved to be positively related to latitude (Smith 1927, Cooper 1963, Reinartz 1984, Lacey 1988, Wesselingh et al. 1994) or altitude (short review in Reinartz 1984). Numerous factors, such as length of the growing season or light and water availability, are related with latitude and altitude and might plausibly act on life histories (Cooper 1963, Harper 1977). Water can act as a simple resource (Harper 1977), but drought is also obviously thought to change optimal life histories through adult extrinsic mortality (Reinartz 1984, Young 1990). Length of the growing season plausibly acts on the quantity of resources acquired during the season. At high latitudes or altitudes, plants might achieve less vegetative growth. Flowering in their first year would therefore weaken survival and future reproduction without compensation by a sufficient current reproduction. A shorter growing season might consequently favour later age at maturity and high life span (which are highly interrelated, see Charnov and Berrigan 1990). Vernalization requirement for flowering, i.e. induction of flowering by exposure to low temperature during winter (Napp-Zinn 1987), enables later age at maturity in higher latitudes in many plant species.

The sea beet *Beta vulgaris maritima* (L.) shows a particularly high variability in life-history strategies. It occurs along the Atlantic coasts of western Europe and of western North Africa, from Sweden to the Azores, as well as along the coasts of the Mediterranean basin (Letschert 1993). Inland wild beets are also known in the south-western part of France (Desplanque et al. 1999). Mean life span (estimated per population) increases with latitude from about two years in the inland habitats of south-western France to over 10 years in North Brittany, then it decreases to about five years in the northernmost populations (Hautekèete et

al. submitted). Noteworthy variability has been described in *B. v. maritima* for the vernalization requirement (Van Dijk et al. 1997). Vernalization requirement for flowering is mainly determined by the recessive genotype at the B/b locus (Boudry et al. 1994). In Mediterranean populations individuals requiring vernalization form a minority, whereas in northern populations all individuals require vernalization to bolt and flower. Between these areas, plants with or without vernalization requirement coexist at various rates in the same population (Van Dijk et al. 1997). If germination does not occur too early in the season, vernalization requirement delays flowering until the second year.

Hautekèete et al. (submitted) suggested that disturbance was probably the most important factor favouring short life spans in *B. v. maritima*. However the vernalization requirement appeared to be highly correlated with life span in the southern part of the gradient (i.e. from the Mediterranean to North Brittany). In this area, factors favouring high age at maturity might favour higher life span too, e.g. short growing season at high latitude was suggested to induce poor growth and thus to favour higher age at maturity in *B. v. maritima* (Van Dijk et al. 1997). We will therefore investigate in this paper the length of the growing season as a selective pressure for vernalization requirement and life span. Since climate can act on the quantity of acquired resources as well as on external mortality, we will empirically investigate the impact of various climatic factors on life span and age at maturity. We will also consider disturbance since it was thought to favour short life spans. To estimate the respective influences of resources and of external causes of mortality, we will conduct multivariate analyses on meteorological data and disturbance estimators for the sea beet populations described in Hautekèete et al. (submitted) and Van Dijk and Desplanque (1999). Finally, for the same reasons, we will model the effect of available resources and of external causes of mortality on both age at maturity and life span.

To summarise, we addressed the following question: what are the theoretical and empirical impacts of climatic factors, in terms of both resources availability and external causes of mortality, on life-history traits in *B. v. maritima*?

B Material and methods

1 The data: *B. v. maritima*

Seeds were collected in 1989 in 104 populations of the distribution area of *B. v. maritima* (see Van Dijk et al. 1997). Plants were grown from seed in a greenhouse, in order to

avoid external causes of mortality by controlling environmental conditions. Life span and the percentage of individuals requiring vernalization for flowering were estimated for each population (for details see chapter VI). In this paper we restrict the data to the 94 populations for which we had homogeneous meteorological data: populations from the French Atlantic and Mediterranean coasts, Channel Islands (Jersey and Guernsey) and inland (south-western France).

Meteorological data were extracted from climatic statistics conducted on data recorded from 1961 to 1990 (MétéoFrance 2000). We selected 29 locations along the French coasts and in the inland area of south-western France to describe climate in the area of interest. We selected nine meteorological parameters: (1) an index of water deficit (IPT, the ratio of mean monthly precipitation on twice the annual temperature, which follows the scale of ombrothermic diagrams), (2) the number of months with minimum temperature higher than 8°C (MIN_8), which gives the assurance that vernalization is negligible, (3) the number of months between the first and last frosts (FRO), (4) an estimate of between-years variability of temperatures (YVT, the difference between the values of the highest and the lowest quintiles over all years), (5) an estimate of between-year variability of precipitation (YVP, same calculation), (6) an estimate of the between-season variability of temperatures (SDT, the standard deviation of temperatures calculated from the 12 monthly mean temperatures), (7) an estimate of the between-season variability of precipitation (SDP, calculated as described previously), (8) annual temperature (TEMP) and (9) annual precipitation (PPT).

For the 29 localities, we also calculated from surrounding populations three other variables: habitat stability (STA), a variable based on habitat types described in Hautekèete et al. (submitted), the mean life span (LSP) and percentage of individuals without vernalization requirement (B).

We defined seven categories for STA: (1) margin of fields, (2) near-building area or roadside, (3) harbour or oyster basin, (4) beach or dune, (5) canal or estuary, (6) rocks or seawall and (7) cliff. The values correspond to probable disturbance rate, from the most disturbed (1, margins of fields, where beets are regularly mown or eliminated by hand or by herbicide treatments) to the least disturbed (7, natural cliffs).

Since life span in *B. v. maritima* increases from the Mediterranean to North Brittany and decreases from North Brittany to northern France, we conducted two Principal Components Analyses (PCAs) to describe the relationships between the variables in both gradients (Software Statistica, StatSoft 1999). The first one (PCA_{South}, from the Mediterranean to North Brittany) involved 18 localities, and the second one (PCA_{North}, from North Brittany

to northern France) involved 12 localities, since one locality of North Brittany was included in both analyses to represent both gradients accurately. Since we wanted to explain life span (LSP) and the percentage of individuals without vernalization requirement (B) using the 9 climatic variables and stability, we introduced them as supplementary variables (program acpf.stb of Statistica, StatSoft 1999), which means that they did not participate to the construction of the axes, but were added afterwards in order to allow their comparison to other variables. In PCA_{north}, however, all sea beets require vernalization for flowering, which means that the variable B had to be eliminated from this PCA. Both PCAs were conducted on normalised data.

Stepwise regression models (using Statistica, StatSoft 1999) were adapted to the overall set of data and to both gradients to determine what variables were the most important to explain LSP and B. This method gained interest by combining several variables. The most successful combination revealed to be $PPT \times (TEMP + SDT)$: annual precipitation combined with an estimate of the growing season temperature.

2 Model

We suppose that the dynamics of population can be adequately described by the Leslie matrix model (Leslie 1945)

$$\begin{pmatrix} N_1(t+1) \\ N_2(t+1) \\ N_3(t+1) \\ \dots \\ N_T(t+1) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} b_1 & b_2 & \dots & b_T \\ p_1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & p_2 & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ 0 & 0 & \dots & p_{T-1} \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} N_1(t) \\ N_2(t) \\ N_3(t) \\ \dots \\ N_T(t) \end{pmatrix} \quad (1)$$

where $N_i(t)$ denotes the number of individuals in i -th age group at time t ; T the maximum lifespan (which will be taken in the model obviously greater than the real lifespan of the species to model); b_i the fertility at i -th age group; p_i the probability to survive from age i to age $i+1$. Both the time step of the model and all the age group intervals are supposed to be one year, or more exactly, the length of productive season. The age structure of the population tends to stabilize with augmenting t (Leslie 1945, Cole 1954) so that the equation (1) can be written in a simpler form

$$\begin{pmatrix} N_1(t+1) \\ N_2(t+1) \\ N_3(t+1) \\ \dots \\ N_T(t+1) \end{pmatrix} = \lambda \times \begin{pmatrix} N_1(t) \\ N_2(t) \\ N_3(t) \\ \dots \\ N_T(t) \end{pmatrix} \quad (2)$$

where λ ($\lambda \geq 0$) is the coefficient of multiplication of age group numbers in one time step (the logarithm of λ , usually denoted as r , is known as Malthusian parameter, or intrinsic rate of increase of population number). One can easily deduce from (1) and (2) the so-called Euler-Lotka equation (Lotka 1939, Schaffer 1974b)

$$\sum_{t=1}^T \lambda^{-t} b_t \prod_{s=0}^{t-1} p_s = 1 \quad (3)$$

where p_0 is set to 1. A remarkable property of this equation consists in that it links the population parameter λ with parameters b_t and p_t describing the life-history strategy of an individual. The parameter λ , or rather its equivalent r , is commonly used as a quantitative measure of Darwinian fitness (Sibly 1989, Kozłowski 1993). The problem of evolutionary optimisation consists consequently in searching for values of b_t and p_t which maximize λ .

The just formulated statement of the problem of evolutionary optimisation must, however, be completed by some biologically plausible constraints. Indeed, without such constraints, the optimal life strategy maximizing λ as given by equation (3) is unrealistic and uninteresting: all p_t should be equal to 1 and all b_t should be infinitely grand. The way to impose constraints in general, and especially the way we proceeded will be described later.

It can be shown (Taylor et al. 1974) that for maximizing λ as a function of b_t , p_t one can maximize $R(\lambda, b_t, p_t)$, the left-hand side of equation (3), for different fixed trial values of λ to find the maximum value of λ for which $R(\lambda, b_t, p_t)$ is equal to 1. The corresponding b_t , p_t will be the searched optimum life-history strategy.

In particular, when population size is stable and hence $\lambda=1$ the expression $R(1, b_t, p_t)$ gives the lifetime reproductive success of an individual so that in the case of stability we can take the lifetime reproductive success (that assumes density-dependence effects) instead of λ as a criterion of evolutionary optimality. Since such a choice simplifies the problem, or at least reduces the amount of computations, it is preferred in most publications on evolutionary optimisation of life history (Kozłowski 1993, Charnov 1997). However here, we are obliged,

because of investigating a large range of environmental conditions leading to largely varying rates of increasing of population number, to take as a criterion of optimality the parameter λ itself.

There are at least two ways to impose constraints. The first way is to impose direct constraints, so-called trade-off curves, which link b_t and p_t explicitly (Williams 1966, Calow 1979, Sibly and Calow 1986). This approach has an advantage of the possibility to test trade-off curves empirically calculating phenotypic correlations. The second way, that we use here, consists in imposing constraints on relations between b_t and p_t implicitly through a scheme of dividing common resources, usually called energy for brevity, among different needs of the individual such as growth, reproduction, repair, maintenance, etc. (Kozlowski 1991, Perrin and Sibly 1993). An advantage of this approach, as compared with trade-off curves, is that it allows to model in more detail the hypothetical physiological mechanisms underlying life history trade-offs.

It is usually supposed (Roff 1983, Ziolkowski and Kozlowski 1983, Day and Taylor 1997) that energy production rate is proportional, with a coefficient of proportionality D , to some power E , $0 < E < 1$, of individual's body size (weight) W_t

$$\frac{de_t}{dt} = DW_t^E \quad (4)$$

This equation is widely accepted for describing the basic metabolism of the organism. The only difference in our case is that we consider equation (4) as describing the production of only that part of energy which is taken into account in the model, namely, energy used for growth, reproduction, and interseasonal survival. We implicitly assume that these expenses constitute a roughly fixed proportion of the total energy produced by the individual at each moment. A consequence of that assumption is that the value of the parameter D in equation (4) is reduced in comparison with the value of this parameter in the full equation of basic metabolism.

We will consider the parameter D as reflecting the nutritional quality of the environment. In particular, we assume that D takes into account the length of productive part of season. The point is that we will always take here the length of productive season as the unit of time and as the time step of the model. A consequence is that the rate of energy production (instantaneous production related to a unit of time) is higher for longer productive

season, and we will reflect this increase simply by augmenting the value of D . In other words a longer season is considered as a season of same length but with more resources per unit time. The value of D evidently also depends on the units of size and energy we choose. We will assume that energy is measured in the same units as size.

The energy produced by the individual is divided at each t among several needs. A fraction s_t is invested in interseasonal survival. The residual, $(1 - s_t)$, is divided between growth, to which a fraction g_t is allocated, and reproduction, to which the residual $(1 - g_t)$ is allocated.

We suppose that there are two potential causes for the individual to die before the next season. The first cause is uncontrollable by the individual and we will relate it to the severity of the environment. In the model it is presented by a function of individual's age Q_t , the probability to survive environmental damaging in absence of other causes of death (in our simulations we will often consider Q_t simply as a constant Q not depending on age). The second cause of death is controllable by the individual, in the sense that the probability to survive this source of damaging (in absence of other causes) is equal to $(s_t)^S$. The parameter S so determines the efficiency of investment in survival: the lesser is S , the higher is this efficiency. We thus suppose that it is the fraction of energy invested in controllable survival which is important, but not its absolute value. It seems natural since the case in point is the physiological repair so that though bigger individuals produce more energy they also require more energy for repair.

We suppose that these two causes (they could be called environmental and physiological, or external and internal, or uncontrollable and controllable) act independently and hence the overall probability to survive up to the next season, p_t , is the product of Q_t (uncontrollable survival) and $P_t = (s_t)^S$ (controllable survival)

$$p_t = Q_t P_t \quad (5)$$

This means, in particular, that $p_t = 0$ if there is whether no investment in survival or a too severe environment to survive in. The individual can deliberately prevent any investment in winter survival and invest the thus economized energy for reproduction. This means that any one of two possible strategies can be chosen: determinate or indeterminate life span.

The next expense of energy is for growth. We could assume, as it is often done (e.g. Kozłowski and Teriokhin 1999), that at each moment t the increment in size is equal to the amount of energy invested in growth (so it is assumed that energy is measured in the same units as size)

$$\frac{dW_t}{dt} = g_t (1 - s_t) DW_t^E \quad (6)$$

where g_t is the fraction of residual (remaining after subtracting energy for survival) energy allocated in growth.

We will use the integrated version of (6) under the assumption that a fraction $(1 - s_t)$ of all energy produced at time t is spent for growth during the initial fraction g_t of the full season length. This gives the following equation for the size of the individual at moment $(t+g_t)$ in season t

$$W_{t+1} = W_{t+g_t} = [W_t^{1-E} + (1 - s_t)D(1 - E)g_t]^{1/(1-E)}, \quad W_{t=0} = W_0 \quad (7)$$

where W_0 is the individual's size at birth (in our simulations we consider W_0 as a constant, one of the parameters of the model). It also means that during the rest of the season the size remains constant and hence the total season amount of energy allocated to reproduction, r_t , is given by the equation

$$r_t = (1 - s_t)(1 - g_t)DW_{t+1}^E \quad (8)$$

The amount of reproductive energy accumulated at the end of t -th season, R_{t+1} , is given by the equation

$$R_{t+1} = (1 - f_t)(R_t + r_t) \quad R_{t=0} = 0 \quad (9)$$

where $f_t=1$ if reproductive energy was liberated at the end of t -th season (in form of offspring free of parental care) and $f_t=0$ if it was not. Accumulating reproductive energy is unnecessary if reproductive output is equal or proportional to the amount of energy invested in reproduction. We, however, assume, and it seems biologically plausible, that reproductive output b_t depends nonlinearly on liberated reproductive energy $\rho_t = f_t(R_t + r_t)$

$$b_t = \sigma(\rho_t) \quad (10)$$

where $\sigma(\rho_t)$ is a sigmoid function of the amount of liberated energy ρ_t at time step t . In some calculations we set simply the reproductive gain to a power C ($C>1$) of the reproductive investment ρ_t

$$b_t = (\rho_t)^C \quad (11)$$

The upper limit is provided automatically because the method of optimisation we use requires to set limits for the state variables (we assume that $0 < W_t < W_{\max}$ and $0 < R_t < R_{\max}$).

One consequence of this assumption is that it is not advantageous to liberate small amounts of reproductive energy.

In terms of mathematical theory of optimal control (e.g. Bellman 1957, Pontryagin et al. 1962), the time-dependent variables W_t and R_t are state variables of the modeled system (an individual life history). Still one state variable, we denote V_t , must be added which is set either to 1 if the individual is alive or to 0 if it is dead.

A second set of variables, called control variables, includes s_t , the fraction of all energy allocated in winter survival, and g_t , the fraction of residual energy allocated in growth. Still one control variable, we denote f_t , must be added to indicate whether the individual must save reproductive energy for the next year ($f_t=0$) or to liberate all the accumulated energy ($f_t=1$).

The third basic notion of optimal control problem statement is the notion of state equations, i.e. equations which describe the dynamics of state variables. The state equations for W_t and R_t are (7) and (9).

So we have in the model two state variables W_t , and R_t , with corresponding state equations (7) and (9), and three control variables s_t , g_t and f_t . Note that the right sides of the state equations can depend both on state and control variables.

Which criterion of optimality to select is central to optimal control theory. In our case it is the rate of population increase λ defined by equation (3) as a function of age-dependent fertilities b_t ($t=1, \dots, T$) and survivals p_t ($t=0,1, \dots, T-1$). The latter are defined by equations (5) and (10) and hence depend on the dynamics of state and control variables W_t , R_t , s_t , g_t and f_t . The problem of optimisation is formulated as searching for an optimal (i.e. maximizing the criterion of optimality) strategy of taking control decisions (i.e. of attributing values for control variables) knowing the individual's state (i.e. knowing the values of state variables). In other words we should determine s_t , g_t and f_t as such functions on W_t , R_t , and t

$$s_t = s_t(W_t, R_t, t), \quad g_t = g_t(W_t, R_t, t), \quad f_t = f_t(W_t, R_t, t) \quad (12)$$

that maximize λ . One way to do this is to use the method of dynamic programming (Bellman 1957, Mangel and C. 1988).

As it was noted, for maximizing λ as a function of b_t, p_t one can maximize $R(\lambda, b_t, p_t)$, the left-hand side of equation (3), for different fixed trial values of λ to find the maximum value of λ for which $R(\lambda, b_t, p_t)$ is equal to 1 (Taylor et al. 1974). We therefore apply the dynamic programming maximization repeatedly to find the maximum of $R(\lambda, b_t, p_t)$ for different values of λ to be able to choose the value of λ which makes $R(\lambda, b_t, p_t)$ equal to 1.

The central notion of the dynamic programming is the so-called gain function $F(W_t, R_t, t)$, the value of the optimized criterion, here $R(\lambda, b_t, p_t) = R(\lambda, b_t(W_t, R_t, t), p_t(W_t, R_t, t))$, at time t and at values W_t, R_t of state variables under the condition that the control strategy is optimal at all time steps after t . The value of gain function should be given at $t=T$ for all values of state variables (which are supposed, as well as t , to be discrete). We will suppose that at $t=T$ the individual is already dead so that $F(W_T, R_T, T)=0$ for all values of state variables. The values of the gain function at other time steps are calculated iteratively backwards from $t=T-1$ to $t=0$ in according with the so-called basic equation of dynamic programming. This equation allows to calculate the gain function for all values of state variables at any time step t on the basis of knowing this function at time step $t+1$. In our case the basic equation is as follows

$$F(W_t, R_t, t) = \max_{s_t, g_t, f_t} \{F(W_{t+1}, R_{t+1}, t+1)p_t + b_t\} \lambda^{-1} \quad (13)$$

where the values of state variables W_{t+1}, R_{t+1} are calculated according to equations (7), (9), (11) and p_t, b_t according to (5) and (10). What is very important is that at each iteration we find the optimal values of control variables s_t, g_t and f_t for all sets of values of state variables W_t, R_t , i.e. the searched optimal strategy.

The knowledge of the optimal strategy allows thereafter to find the optimal dynamics of state variables W_t, R_t by iterating forward the state equations (7), (9), (11).

a

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
IPT	-0.4789	0.1943	0.0175
MIN_8	0.1797	-0.4350	-0.3936
FRO	-0.0048	0.6132	-0.0733
YVT	0.0477	0.3035	0.3233
YVP	-0.0572	0.1587	-0.6867
SET	0.4153	0.2793	-0.1145
SEP	-0.3652	-0.3135	-0.1434
TEMP	0.2497	-0.1752	0.3860
PPT	-0.4399	0.2053	-0.0807
STA	-0.4136	-0.1749	0.2722

b

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
IPT	<u>-0.9445</u>	0.2780	0.0215
MIN_8	0.3544	-0.6224	-0.4837
FRO	-0.0094	<u>0.8773</u>	-0.0901
YVT	0.0940	0.4342	0.3972
YVP	-0.1127	0.2271	<u>-0.8439</u>
SET	<u>0.8190</u>	0.3995	-0.1407
SEP	<u>-0.7202</u>	-0.4485	-0.1762
TEMP	0.4925	-0.2507	0.4743
PPT	<u>-0.8674</u>	0.2937	-0.0991
STA	<u>-0.8157</u>	-0.2502	0.3344
LSP	<u>-0.7452</u>	-0.3381	0.2873
B	<u>0.7721</u>	0.2498	-0.1307

Table 1. ACP_{South}.

- a. Principal Components of the three first factors.
- b. Coordinates of the 10 active and of the 2 supplementary variables. Variables for which squared correlations are higher than 0.5 are underlined.

C Results

1 B. v. maritima

a PCA_{south}

The three first axes respectively account for 38.89 %, 20.47 % and 15.10 % of all variation. LSP and B are well represented (squared correlation higher than 0.5) on the first axis, which is principally composed of IPT, SDT, SDP, PPT and STA (Table 1 and Figure 1). LSP is associated with IPT, SDP, PPT and STA and opposed to SDT on the first axis, whereas B is associated with SDT on this first axis. In the southern gradient, life span is therefore strongly associated with stable habitats, variable precipitation between seasons but always high and biologically sufficient. Short life span and the lack of vernalization requirement are associated with a high between-season variability of temperatures and probably high temperatures (not significant, but see Figure 1).

b PCA_{north}

The three first axes respectively account for 39.14 %, 27.25 % and 17.10 % of all variation. LSP is well represented (squared correlation higher than 0.5) on the first axis, which is principally composed of FRO, YVT, SDT, SDP and STA (Table 2 and Figure 2). LSP is clustered with STA and SDP and opposed to FRO, YVT and SDT on the first axis. In this northern gradient, high life span is therefore associated with stable habitats and variable precipitation between seasons, and opposed to frost and all kinds of variability of temperatures.

c Stepwise regression models

The model developed for LSP in the overall data set is as follows:

$$LSP_{all} = 2.921 + 1.232 * STA - 0.000213 * PPT * (TEMP + SDT),$$

and describes very significantly the observed data ($R = 0.946$, $F_{2,26} = 109.8$, $P_{model} < 0.0000005$; $P_{STA} < 0.0000005$; $P_{PPT*(TEMP+PPT)} = 0.00023$).

Life span by meteorological sites are represented on a graph with the combination of precipitation with the estimate of the growing season temperature and habitat stability for axes (Figure 3).

The model developed for B in the overall data set is:

$$B_{all} = 0.560 - 0.180 * STA + 0.040 * TEMP,$$

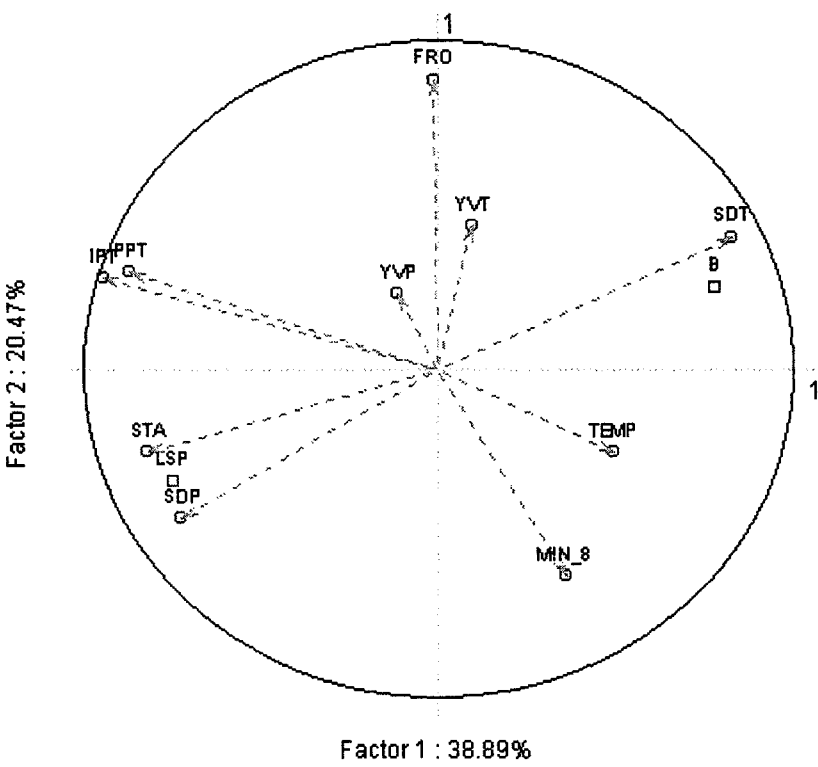


Figure 1. ACP_{south}. Circle of correlations.

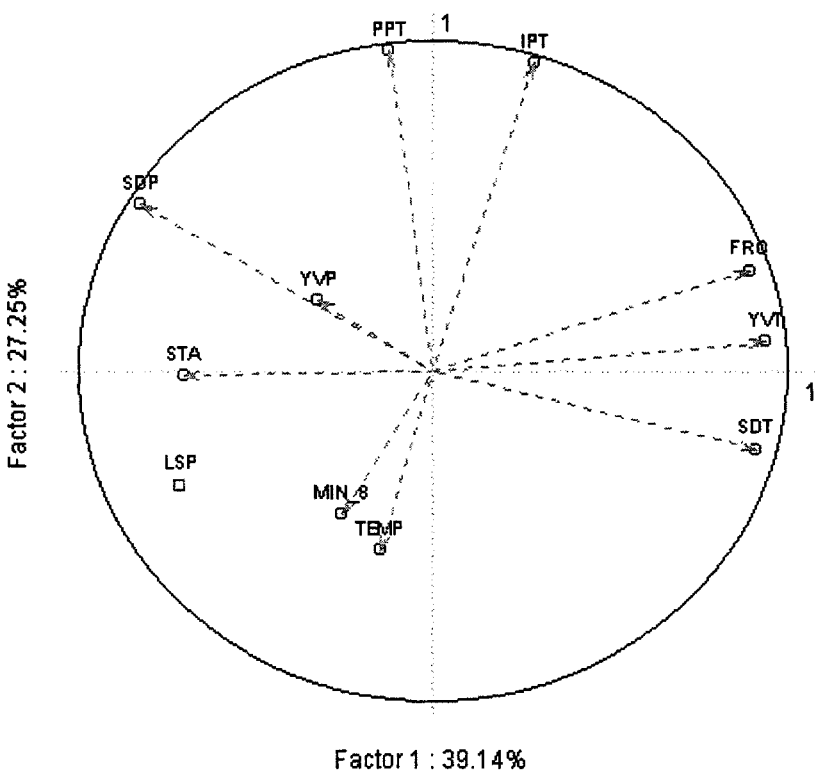


Figure 2. ACP_{north}. Circle of correlations.

and describes very significantly the observed data ($R = 0.89$, $F_{2,26} = 48$, $P_{\text{model}} < 0.0000005$; $P_{\text{STA}} < 0.0000005$; $P_{\text{TEMP}} = 0.030$). The percentage of plants flowering in the second year (no vernalization requirement, corresponding to the bb genotype) by meteorological sites are represented on a graph with annual temperature and habitat stability for axes (Figure 4).

The model developed for LSP in the northern gradient is as follows:

$$\text{LSP}_{\text{North}} = 8.3576 - 0.4661 * \text{FRO},$$

and describes significantly the observed data ($R = 0.698$, $F_{1,10} = 9.5614$, $P_{\text{model}} < 0.0115$; $P_{\text{FRO}} = 0.0115$).

From two models developed for LSP in the southern gradient, which were equivalent concerning significance ($R = 0.94$ and $R = 0.95$), we kept the most complete and biologically meaningful one:

$$\text{LSP}_{\text{South}} = 2.1616 + 1.1736 * \text{STA} - 0.000148 * \text{PPT} * (\text{TEMP} + \text{SDT}),$$

which describes very significantly the observed data ($R = 0.936$, $F_{2,15} = 53.4256$, $P_{\text{model}} < 0.0000005$; $P_{\text{STA}} < 0.0000005$; $P_{\text{PPT}*(\text{TEMP}+\text{PPT})} = 0.0410$).

2 Model

We used the described model of evolutionary optimisation to study the dependence of optimal life cycle strategies on the model parameters. The main attention was given to the influence of parameters D and Q which we associate with environmental food (resource) supply and winter survival. The range of variation for the survival Q (probability to survive the winter) was investigated almost entirely. As regards the food supply D , its range of variation was chosen in such a way as to obtain biologically plausible and interesting ranges of some life-history traits (for some given values of the other parameters, such as C , E and S). For example, as real values of λ do not differ greatly from 1, the ones obtained in modelling should not deviate much from 1 either. The dependence of the results on the abruptness of the sigmoidal relationship between reproductive output and reproductive investment is shown in Figure 5. The maximum life span was another life-history trait which was taken into account when choosing the values of parameters. These parameters were chosen in order to obtain large range of maximum life spans, from annuality to large values of maximum life span, because they approximate indeterminate life spans (in fact, in our simulations such "large" values were not very large: optimal strategies for life spans of 15-20 years did not differ much from those of indeterminate life spans).

a

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
IPT	0.1415	0.5637	-0.0433
MIN_8	-0.1277	-0.2608	-0.501
FRO	0.4463	0.1838	0.0849
YVT	0.4700	0.0536	0.1868
YVP	-0.1620	0.1279	0.5517
SET	0.4572	-0.1413	0.0157
SEP	-0.4162	0.3037	-0.0972
TEMP	-0.0742	-0.3276	0.559
PPT	-0.0615	0.5845	0.0252
STA	-0.3545	-0.0084	0.2788

b

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
IPT	0.2800	<u>0.9306</u>	-0.0565
MIN_8	-0.2528	-0.4305	-0.6551
FRO	<u>0.8830</u>	0.3035	0.1111
YVT	<u>0.9299</u>	0.0884	0.2443
YVP	-0.3206	0.2110	0.7214
SET	<u>0.9045</u>	-0.2332	0.0206
SEP	<u>-0.8235</u>	0.5012	-0.127
TEMP	-0.1468	-0.5407	0.731
PPT	-0.1217	<u>0.9648</u>	0.0329
STA	<u>-0.7073</u>	-0.0138	0.3646
LSP	<u>-0.7086</u>	-0.3439	0.1841

Table 2. ACP_{north}

- Principal Components of the three first factors.
- Coordinates of the 10 active and of the 2 supplementary variables. Variables for which squared correlations are higher than 0.5 are underlined.

In Figures 6-10, drawn using the data of Tables 6-10, respectively, we present the optimal strategies obtained for D varying from 0.5 to 3 and Q varying from 0.05 to 0.99, other parameters being set to the following fixed values: $C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$. Values of E are discussed in West et al. (1999), but both most accepted values (0.67 and 0.75) give similar results in our model and only results for $E=0.67$ will be shown. With $E=0.67$ the rate of energy production is proportional to the square of the cubic root of size, i.e. roughly proportional to the body surface.

Figure 6 and Table 6 show how the maturity age depends on food and survival in the case when λ is used as optimality criterion. Figure 7 and Table 7 illustrate the dependence of the maximum life span on the same parameters for the same criterion. The corresponding values of the optimality criterion λ are presented in Figure 10 and Table 10. We may observe that both the maturity age and the maximum life span increase when survival increases and/or food supply decreases. The shortest maximum life span equal to 1 year is optimal when either or both food is abundant or survival is low. As food becomes poorer and survival higher, annual life cycles transform firstly to biennial ones and then to life cycles of 3, 4, 5 and more years. For very poor food and sufficiently high survival the maximum life span becomes practically indeterminate. The maturity age in such situations and with the described values of the parameters attains 10 years. The impact of resources on the optimal life-history strategy (relative to the impact of external causes of mortality), increases with steeper sigmoidal relationship between reproductive output and reproductive investment (Figure 5).

Figures 8-9 and Tables 8-9 show the dependence of the maturity age and of the maximum lifespan on food and survival for the case when the lifetime reproductive success R_0 is used as criterion. We see, in particular, that nor the maturity age neither the maximum lifespan depend on food supply. It can be shown formally that, for a given W_0 and other model parameters, the optimal strategy of energy allocation does not depend on the food supply parameter D . It is sufficient for this to demonstrate that the components of optimal strategy $s_1, s_2, \dots, s_T, s_1$, and $g_1, g_2, \dots, g_T$ do not depend on food because they specify maturity age and maximum life span: maturity age is defined as the first year $t_M, t_M \leq T$, when the fraction of energy $(1 - g_{tM})$ allocated to reproduction is greater than 0 and maximum life span as the first year t_L when the fraction of energy $s_{tL}, t_L \leq T$, allocated to survival is 0.

Let us start with the case that the maximum admissible life span is bounded by 1 year, i.e. when $T=1$.

If we express (what is always possible) the initial size in the form

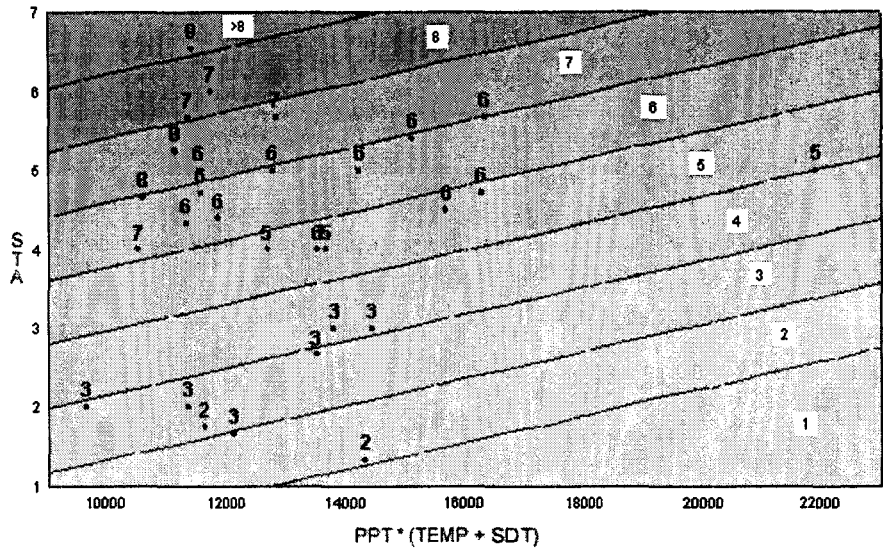


Figure 3. Mean life spans for the 29 meteorological sites. Horizontal axis: combination of precipitation with the estimate of the growing season temperature. Vertical axis: habitat stability.

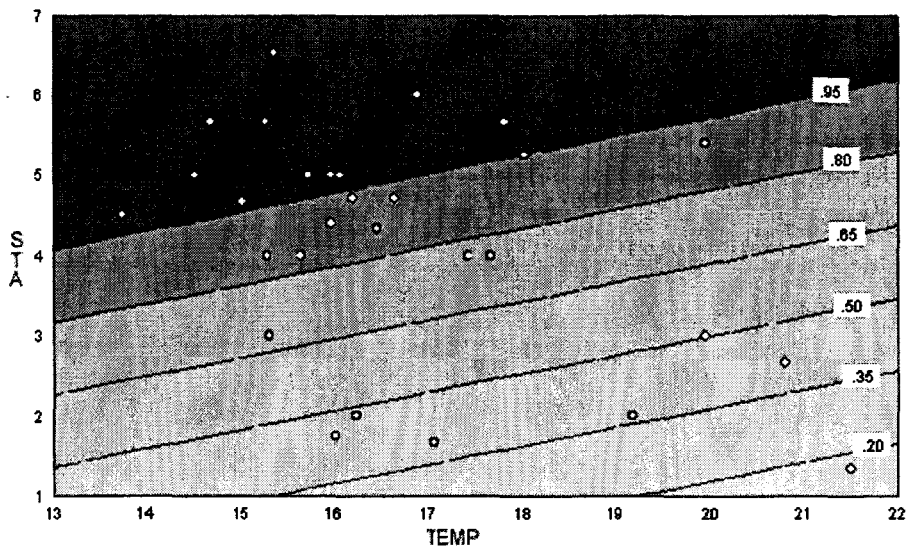


Figure 4. Mean proportions of plants flowering in second year for the 29 meteorological sites. Horizontal axis: annual temperature. Vertical axis: habitat stability.

$$W_0 = w_0 D^{\frac{1}{1-E}}$$

then the maximum size attained by the individual can be expressed in the following way

$$w_1 = [W_0^{1-E} + (1-s_1)g_1(1-E)D]^{\frac{1}{1-E}} = D^{\frac{1}{1-E}} [w_0^{1-E} + (1-s_1)g_1(1-E)]^{\frac{1}{1-E}} = D^{\frac{1}{1-E}} \alpha_1$$

where α_1 does not depend on D (but depends on initial size, on model parameters, and on the components of the optimal energy allocation strategy s_1 and g_1).

Next we can deduce that the fertility b_1 can be also presented as a product of some power of D by a multiplier not depending on D

$$b_1 = [(1-g_1)(1-s_1)Dw_1^E]^C = [(1-g_1)(1-s_1)D(D^{\frac{1}{1-E}}\alpha_1)^E]^C = D^{\frac{C}{1-E}} \beta_1$$

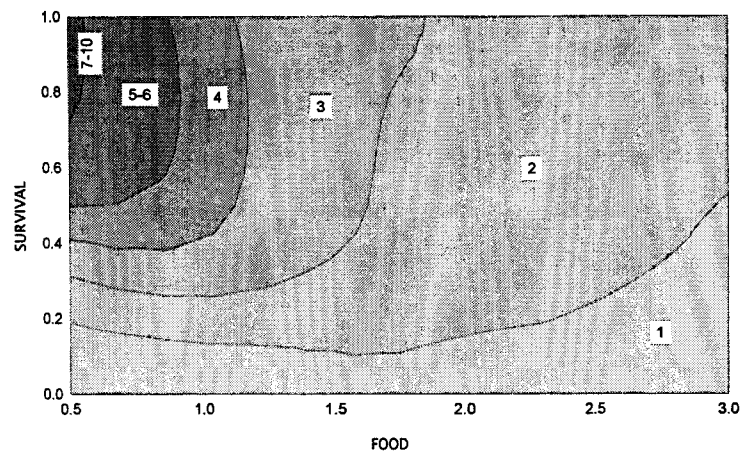
It can be deduced from this that the life-span reproductive success $R_0^{(1)}$ of the individual whose maximum admissible life span is bounded by 1 year can be presented as a product of two multipliers, one of which depends on D , but does not depend on the energy allocation strategy, whereas the other depends on the energy allocation strategy, but does not depend on D

$$R_0^{(1)} = b_1 p_0 = D^{\frac{C}{1-E}} \gamma_1$$

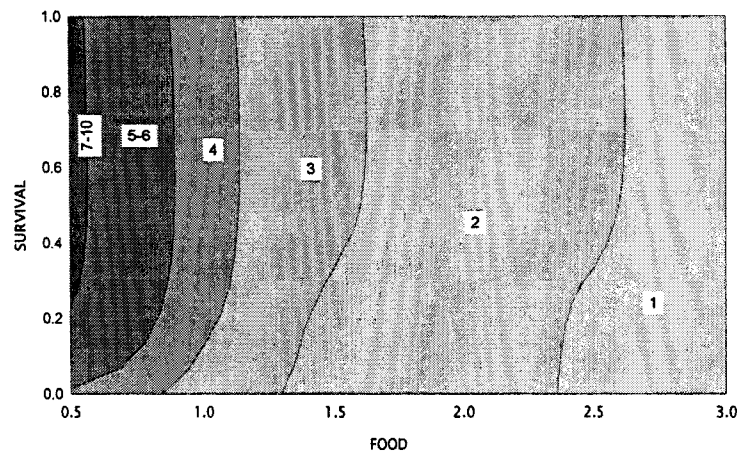
(p_0 equals 1 in our model). As D , C and E are positive constants it follows from the last equation that the optimal values of strategy components s_1 and g_1 do not depend on D (in this case only g_1 is concerned because it is evident that for the case of $T=1$ the optimal value for s_1 is 0).

Let us show now that for the case of $T=2$ the optimal energy allocation strategy does not depend on D either.

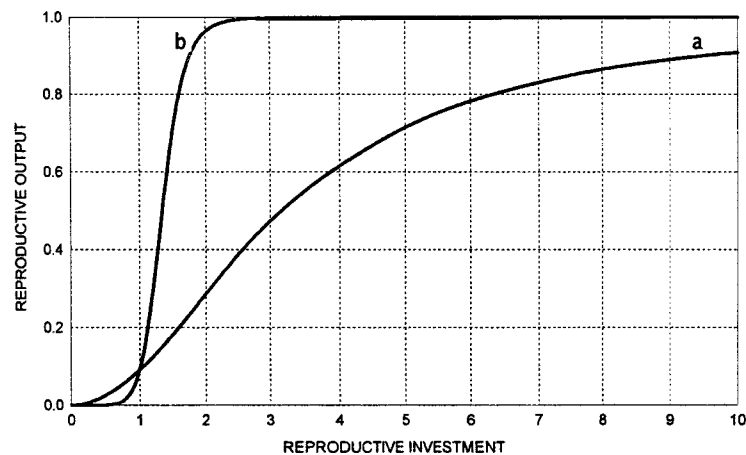
We have for w_2



a



b



c

Figure 5. The impact of resources relative to the impact of survival on life span in case of:
a. a slow (curve *a* in Figure c)

or

b. a steep (curve *b* in Figure c)

increase of reproductive output with increasing reproductive investment, following a sigmoidal relationship between them.

$$w_2 = [w_1^{1-E} + (1-s_2)g_2(1-E)D]^{\frac{1}{1-E}} = [(D^{\frac{1}{1-E}}\alpha_1)^{1-E} + (1-s_2)g_2(1-E)D]^{\frac{1}{1-E}} = D^{\frac{1}{1-E}}\alpha_2$$

that gives for b_2

$$b_2 = [(1-g_2)(1-s_2)Dw_2^E]^C = [(1-g_2)(1-s_2)D(D^{\frac{1}{1-E}}\alpha_2)^E]^C = D^{\frac{C}{1-E}}\beta_2$$

from where we obtain $R_0^{(2)}$

$$R_0^{(2)} = R_0^{(1)} + b_2 p_0 p_1 = D^{\frac{C}{1-E}}\beta_1 + D^{\frac{C}{1-E}}\beta_2 Qs_1^S / (1+P) = D^{\frac{C}{1-E}}\gamma_2$$

i.e. again the life span reproductive success $R_0^{(2)}$ of the individual can be presented as a product of some power of D by a multiplier not depending on D that implies that, indeed, the optimal energy allocation strategy does not depend on D for the case of $T=2$.

To show that the optimal energy allocation strategy does not depend on D for any T we can apply the method of full mathematical induction.

Let us suppose that w_i , b_i and $R_0^{(i)}$ can be presented (we have already succeeded to do this for $T=1$ and 2) as a product of some power of D by a multiplier not depending on D

$$w_i = D^{\frac{1}{1-E}}\alpha_i, \quad b_i = D^{\frac{C}{1-E}}\beta_i, \quad R_0^{(i)} = D^{\frac{C}{1-E}}\gamma_i$$

Then, as it follows from the below equations, w_{i+1} , b_{i+1} and $R_0^{(i+1)}$ can be presented so too

$$w_{i+1} = [w_i^{1-E} + (1-s_{i+1})g_{i+1}(1-E)D]^{\frac{1}{1-E}} = [(D^{\frac{1}{1-E}}\alpha_i)^{1-E} + (1-s_{i+1})g_{i+1}(1-E)D]^{\frac{1}{1-E}} = D^{\frac{1}{1-E}}\alpha_{i+1}$$

$$b_{i+1} = [(1-g_{i+1})(1-s_{i+1})Dw_{i+1}^E]^C = [(1-g_{i+1})(1-s_{i+1})D(D^{\frac{1}{1-E}}\alpha_{i+1})^E]^C = D^{\frac{C}{1-E}}\beta_{i+1}$$

$$R_0^{(i+1)} = R_0^{(i)} + b_{i+1} p_0 p_1 \dots p_i = D^{\frac{C}{1-E}}\beta_i + D^{\frac{C}{1-E}}\beta_{i+1} Qs_1^S \dots s_i^S / (1+P_i) = D^{\frac{C}{1-E}}\gamma_{i+1}$$



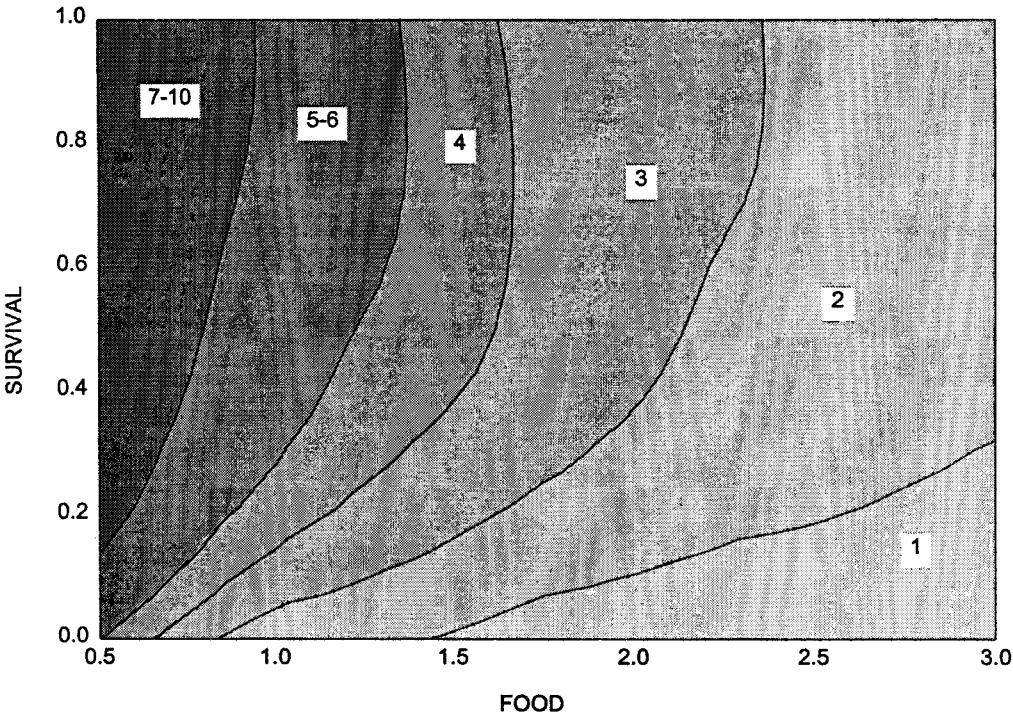


Figure 6. Dependence of the maturity age (years) on food (provisional units) and survival (probability to survive the winter) for the case when λ is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

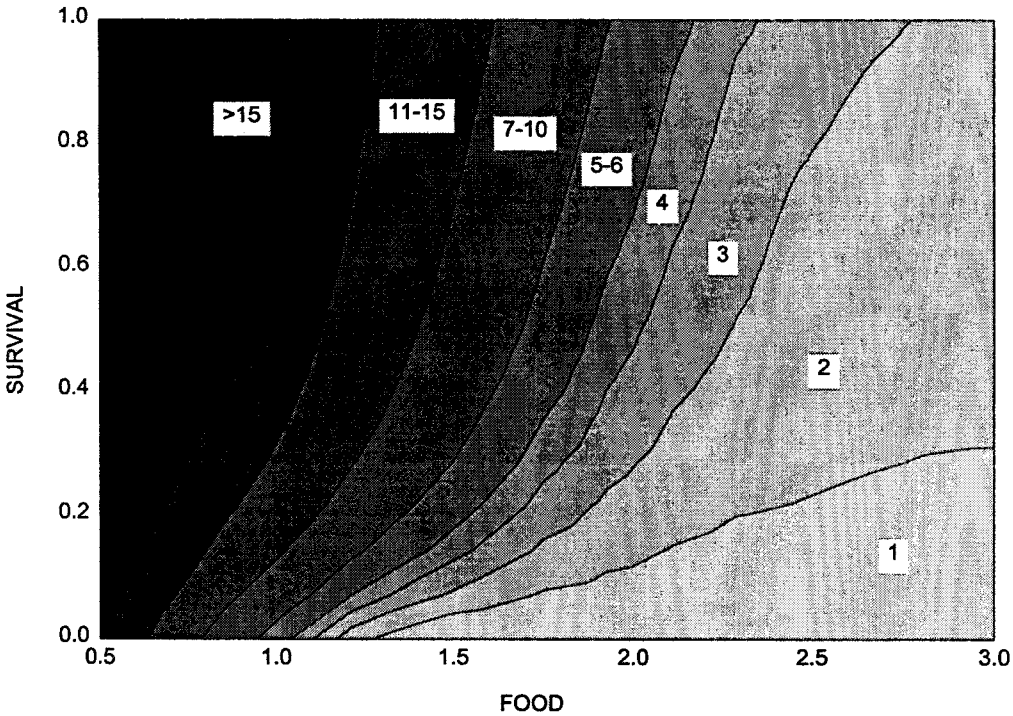


Figure 7. Dependence of the maximum lifespan (years) on food (provisional units) and survival (probability to survive the winter) for the case when λ is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

This shows that, indeed, the optimal energy allocation strategy does not depend on D for any T when R_0 is used as an optimality criterion.

An important question is what criterion we should apply? Roughly, it is reasonable to suppose that λ would be adequate for some earlier periods of the evolution of a species corresponding to its expansion (r-selection). On the contrary, we could expect that the most part of contemporary species have a stable population dynamics a hence for them R_0 is more suitable as criterion (K-selection). However, there are indications that even many present-day populations have a rate of increase greater than 1. We believe that when explaining current life histories both assumptions should be taken into account.

D Discussion

1 *B. v. maritima*

The general conclusion that can be drawn from both PCAs is that the longest life spans are favoured in stable habitats, with regard to both disturbance and climate. Principal components apparently do not reveal any effect of the length of the growing season on life span, but instead of biologically extreme climatic conditions, such as drought or frost, and of precipitation. Vernalization requirement is apparently favoured in the same environments as long life span: slightly disturbed habitats with biologically sufficient rain. Disturbance, drought and frost, as uncontrollable sources of mortality, are all susceptible to select for shorter life spans. In the southernmost part of the study area, water deficiency represents an additional external cause of mortality, selecting for short life span, high reproductive effort and precocious maturity. Several authors have suggested the negative influence of drought on age at maturity in plants along a latitudinal or altitudinal gradient (Clausen et al. 1948, review in Cooper 1963, Reinartz 1984, Jonas and Geber 1999). In the northernmost part of the study area, water inputs are biologically sufficient but temperature variations and, more particularly, frost are another source of mortality. This appears in PCA_{North} as well as in the stepwise regression model. Frost might obviously have an impact on adult mortality, which would select for shorter life span. When the growing season is short, frost might also increase the mortality of late-germinated juveniles, or, which is almost equivalent, decrease maturation of late-produced seeds (e.g. *Juniperus communis*, see Garcia et al. 2000). This would favour longer life spans. On the contrary from North Brittany to northern France

Survival	Food										
	0.5	0.75	1	1.25	1.5	1.75	2	2.25	2.5	2.75	3
0.99	10	8	6	5	4	3	3	3	2	2	2
0.9	10	8	6	5	4	3	3	3	2	2	2
0.8	10	8	6	5	4	3	3	3	2	2	2
0.7	10	7	6	5	4	3	3	3	2	2	2
0.6	9	7	5	5	4	3	3	2	2	2	2
0.5	9	7	5	4	4	3	3	2	2	2	2
0.4	9	6	5	4	4	3	3	2	2	2	2
0.3	8	6	5	4	3	3	2	2	2	2	1
0.2	8	5	4	3	3	2	2	2	2	1	1
0.1	6	5	3	3	2	2	2	1	1	1	1
0.05	5	3	2	2	2	1	1	1	1	1	1

Table 6. Dependence of the maturity age (years) on food (provisional units) and survival (probability to survive the winter) for the case when λ is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

Survival	Food										
	0.5	0.75	1	1.25	1.5	1.75	2	2.25	2.5	2.75	3
0.99	25	25	21	16	12	9	6	4	3	3	2
0.9	25	25	21	16	12	8	5	3	3	2	2
0.8	25	25	20	15	11	8	5	3	3	2	2
0.7	25	25	20	15	10	7	4	3	2	2	2
0.6	25	25	19	14	10	6	4	3	2	2	2
0.5	25	24	18	13	9	6	3	3	2	2	2
0.4	25	23	17	12	8	5	3	2	2	2	2
0.3	25	21	16	11	7	3	3	2	2	2	2
0.2	25	19	14	8	5	3	2	2	2	1	1
0.1	25	16	10	5	3	2	2	1	1	1	1
0.05	22	12	6	2	2	1	1	1	1	1	1

Table 7. Dependence of the maximum lifespan (years) on food (provisional units) and survival (probability to survive the winter) for the case when λ is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

(PCA_{north}), life span decreases with increasing disturbance and length of the frost season. This suggests that low temperatures particularly influences adult mortality. Nevertheless disturbance and frost are apparently not sufficiently high to favour precocious maturity too, since all individuals need vernalization for flowering.

Short growing season at high latitude was suggested to induce poor growth and thus to favour higher age at maturity in *Verbascum thapsus* (Reinartz 1984) and in *B. v. maritima* (Van Dijk et al. 1997). A slight resource effect of climate on life-history tactics is observed in *B. v. maritima* (stepwise regression models LSP_{all}, B_{all} and LSP_{South}): both mean annual temperature and mean temperature of the growing season combined with precipitation decrease life span and the age at maturity. This is not exactly the length of the growing season but this gives a good idea of climatic components of the growing season.

2 Model

The model we have built is in several aspects more general than previous ones used for solving similar problems. Though almost all features it includes are encountered in other models, here they are combined together in a single model in the hope that this will allow to reveal new particularities in the relationships between the environmental conditions and evolutionarily molded life-history traits. The model is based not on trade-off curves (e.g. Charnov 1997) but on an explicit resource allocation between different needs of the organism (e.g. Kozlowski 1991). In addition to the usually used resources division between growth and reproduction (e.g. Kozlowski and Teriokhin 1999, Iwasa 2000) we take here also into account the allocation of resources to survival (e.g. Perrin 1991, Teriokhin 1998), though we do not include in this model expenses for repair as it is done, for example, in Teriokhin and Budilova (2000). In contrast to the broad application of the lifetime reproductive success R_0 as measure of fitness (e.g. Kozlowski 1993, Charnov 1997) we essentially use the Malthusian parameter as criterion of evolutionary optimality (see also Heino and Kaitala 1997). The model takes into account seasonal changes in environments (in the manner similar to Kozlowski and Teriokhin 1999). Accumulations of reproductive energy and its periodic liberation in form of offspring is allowed (see also Teriokhin and Budilova 2000) instead of the often used continuous reproduction (e.g. Kozlowski and Teriokhin 1999). Instead of the often used linear dependence of the reproductive output on the reproductive investment (e.g. Kozlowski and Teriokhin 1999) we use two forms of nonlinear dependence - power and sigmoid functions (see also Teriokhin and Budilova 2000).

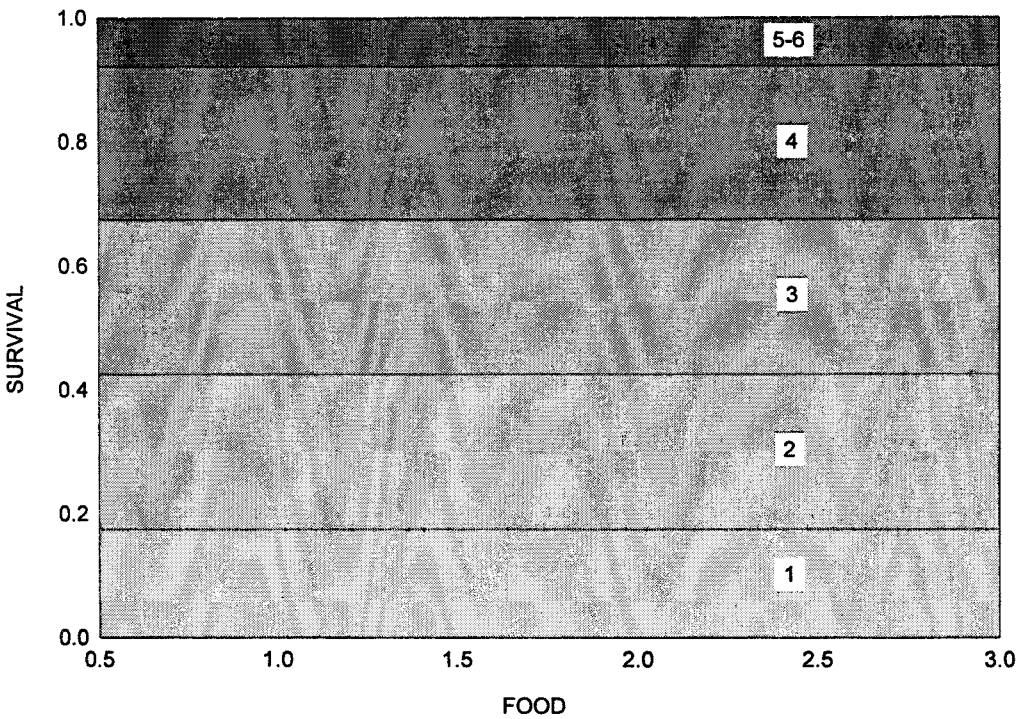


Figure 8. Dependence of the maturity age (years) on food (provisional units) and survival (probability to survive the winter) for the case when R_0 is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

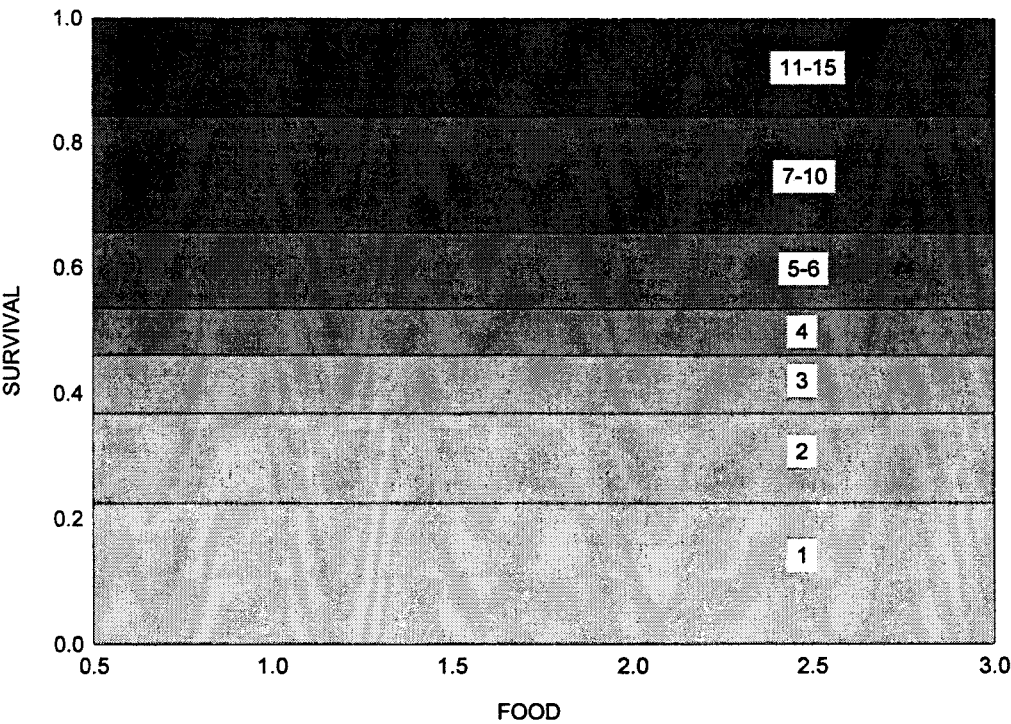


Figure 9. Dependence of the maximum lifespan (years) on food (provisional units) and survival (probability to survive the winter) for the case when R_0 is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

Density can influence age-dependent mortality or fecundity. Selection in density-independent and density-dependent condition is often referred to as *r*- and *K*-selection respectively, in reference to the intrinsic rate of increase and the carrying capacity of the environment (McArthur and Wilson 1967, see also Roff 1992). *r*-selection is typical of expanding populations, such as in colonising or weedy species, contrary to *K*-selection, which is suggested in stable populations. The use of λ as a measure of fitness is generally suggested in density-independent selection, whereas the use of R_0 (or LRS, Lifetime Reproductive Success) is suggested to be more appropriate in density-dependent situations (see, for example, Roff 1992, but see also). In our model, the use of λ as a criterion for optimality allows an influence of resources on life-history tactics, contrary to R_0 . It can be deduced that in growing populations, resources might decrease life span and age at maturity, whereas they would not in stable populations. In colonising and weedy species, short life span and age at maturity should be very advantageous, since the high or even maximum (in annuals) reproductive effort would allow an optimal dispersion, via seeds, before the following disturbance. Early-successional and disturbed-habitat species are generally annual or at least show a high reproductive effort (Southwood et al. 1988, Rydin and Borgegard 1991, Lavorel et al. 1999). However we do not intend to suggest that *r*- and *K*-selection correspond to *r*- and *K*-life-history strategy. Such a generalisation would be inappropriate, and has proved to cause confusion, since, among other reasons, density-dependent mortality and fecundity have different consequences according to age dependence (Charlesworth 1980, Roff 1992, Stearns 1992). Such terms would therefore mask the important hypotheses restricting their use.

The model also shows that hypotheses about the relationship between reproductive investment and fecundity are fundamental. When the relationship is sigmoidal (obviously under density-independent conditions), the impact of resources on the optimal life-history strategy might be very important relative to the impact of external causes of mortality, especially when this curve is particularly steep. Under the hypothesis of a very steep sigmoidal relationship between reproductive investment and fecundity, reaching a threshold size becomes essential, otherwise the gain in fecundity would be so small that it could not compensate the mortality due to external causes, whatever its rate (higher than zero). Therefore the strategy is almost entirely driven by the availability of resources: maturity (and hence death) is delayed until the threshold size is reached.

The sigmoidal (S-shaped) curve is perfectly plausible in many organisms. It can be seen as the combination of two other classical curves: a convex (exponential-like) and a

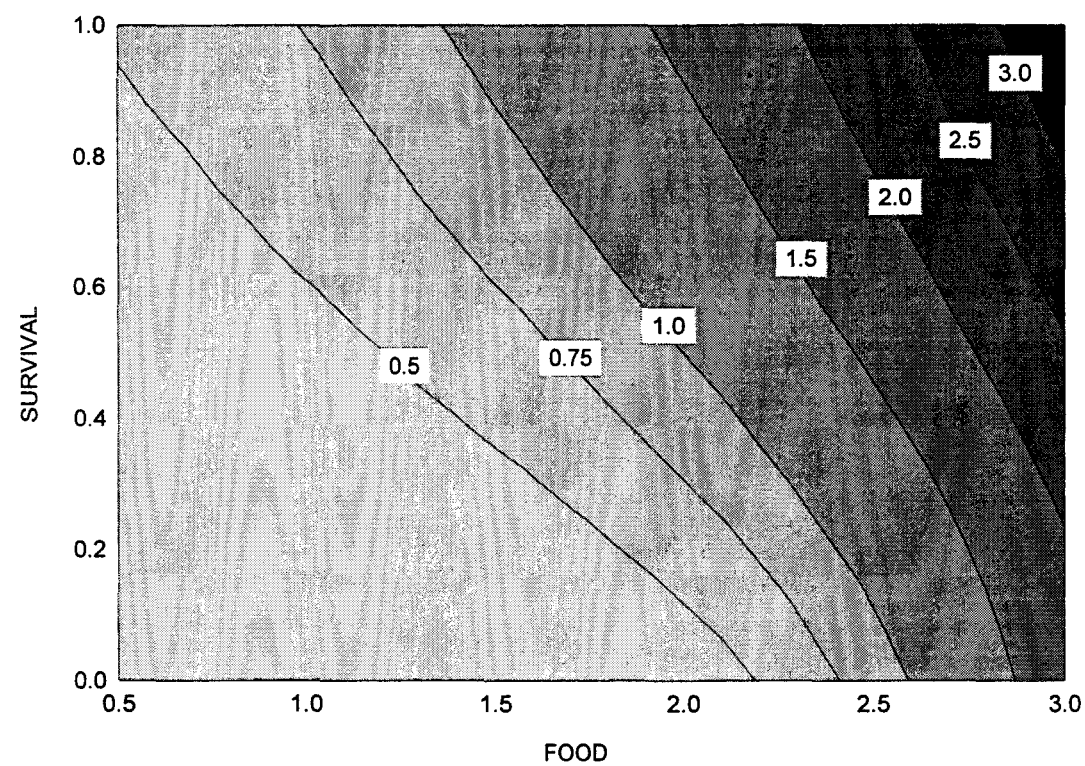


Figure 10. Dependence of the fitness (λ) on food (provisional units) and survival for the case when λ is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

concave (logarithmic-like) curves. Fecundity will increase exponentially with reproductive effort when pollinators are more attracted by tall inflorescences (short review in Young 1990), or when herbivores (e.g. seeds eaters) are more satiated, or, more generally, when flowers are less costly with increasing inflorescence size (which is plausible if secondary stems are thinner than the principal stem). The relationship between reproductive investment and fecundity will be concave (which means that the gain in fecundity slows down with investment) when the progeny is more costly with increasing reproductive investment. Birds might not be able to breed supplementary chicks, and in plants tall inflorescences might attract more herbivores or may broke more easily. Any combination of constraints from both categories is plausible and would give rise to a sigmoidal relationship between reproductive success and investment. Constraints may therefore enhance the impact of resources relative to external causes of mortality in determining the optimal life-history strategy.

3 *B. v. maritima* in the light of the model

The impact of uncontrollable causes of mortality on life-history strategies was already suggested in Hautekèete et al. (submitted) and is therefore not the main subject of this paper (however this effect is still verified in our model which is slightly different, on this point, from previous models). Our model mostly shows that the impact of resources is highly dependent on demography, and it moreover shows that the relative impact of resources compared to mortality is very dependent on the relationship between reproductive effort and reproductive success, this relationship depending on ecological or physiological factors. The fact that resource effect of climate or of the length of the growing season is quite slight in *B. v. maritima* is therefore absolutely not surprising.

In highly man-disturbed areas, selection might be density-independent. However, being sure of that would require very fine studies of population dynamics and of local causes of mortality. For example in the inland area of south-western France, where habitat is considered as highly man-disturbed in this study (mainly: margins of fields or roadsides), producers of seeds of cultivated beet regularly eliminate wild beets to prevent hybridisation (Desplanque 1999). In such habitats, despite the high mortality rate, density-dependent mortality is plausible since large populations are more conspicuous. However, in density-independent habitats, resources, and thus length of the growing season, light or water (in reasonable quantities, otherwise it would not be favourable) should select for shorter life span and precocious maturity. This is particularly plausible in the Mediterranean for example. At

Survival	Maturity age	Maximum lifespan
0.99	5	14
0.9	4	12
0.8	4	10
0.7	4	8
0.6	3	5
0.5	3	3
0.4	2	3
0.3	2	2
0.2	2	2
0.1	1	1
0.05	1	1

Table 8-9. Dependence of the maturity age (years) and maximum lifespan (years) on survival (probability to survive the winter) for the case when R_0 is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

Food											
Survival	0.5	0.75	1	1.25	1.5	1.75	2	2.25	2.5	2.75	3
0.99	0.52	0.64	0.76	0.92	1.11	1.30	1.61	1.85	2.24	2.79	3.42
0.9	0.47	0.59	0.70	0.85	1.03	1.22	1.50	1.74	2.13	2.66	3.26
0.8	0.43	0.53	0.63	0.77	0.94	1.12	1.39	1.61	2.00	2.50	3.07
0.7	0.38	0.47	0.57	0.69	0.85	1.02	1.27	1.47	1.87	2.34	2.88
0.6	0.33	0.41	0.50	0.61	0.76	0.92	1.14	1.35	1.73	2.17	2.66
0.5	0.28	0.35	0.43	0.53	0.66	0.81	1.01	1.23	1.58	1.98	2.43
0.4	0.23	0.29	0.36	0.45	0.56	0.70	0.87	1.10	1.41	1.77	2.17
0.3	0.18	0.23	0.28	0.36	0.46	0.57	0.73	0.95	1.22	1.53	1.96
0.2	0.12	0.16	0.21	0.27	0.34	0.46	0.60	0.77	1.00	1.36	1.93
0.1	0.07	0.09	0.12	0.17	0.23	0.32	0.42	0.62	0.93	1.36	1.93
0.05	0.04	0.05	0.08	0.12	0.16	0.26	0.41	0.62	0.93	1.36	1.93

Table 10. Dependence of the fitness (λ) on food (provisional units) and survival (probability to survive the winter) for the case when λ is used as optimality criterion ($C=2$, $E=0.67$, $S=0.5$).

the opposite, most northern populations are in more or less stable habitats, in which density-dependence is probable most of the time. This might be the reason why no resource effect of the climate is apparent in the northern gradient. The contrast of more disturbed habitats, associated with variations in the quality of climatic conditions, in southern France, to more stable habitats in the northern part of the study area, especially in North Brittany, explains quite well the overall pattern of life-history strategies in *B. v. maritima*. Reinforcement of this pattern, and the occurrence of slight differences may also be due to additional sources of uncontrollable mortality related to climate (frost or drought).

E Conclusion

Our model reveals the importance of assumptions at the basis of theoretical models. It appears that life-history strategies might depend on resources in density-independent situations, and that the form of the relationship between reproductive effort and reproductive success can change the intensity of this dependence. However deductions rising from any model clearly depend on its basic assumptions. Complementary assumptions might be tested, e.g. size-dependent survival.

In a previous paper (Hautekète et al. submitted) we evaluated the importance of disturbance relative to selective pressures acting on age at maturity (which were thought to be related to the length of the growing season) in determining life span in *B. v. maritima*. We suggested that disturbance was the major force selecting for shorter life spans, but we thought that, in the inland area of south-western France, precocious maturity could be selected at the same time. In this paper those results are completed. The joint selection of age at maturity and life span by external causes of mortality (i.e. disturbance, as well as drought and frost) may now be seen as the major factor shaping the distribution of life cycles in the French sea beets, whereas the length of the growing season or climatic factors modifying the quantity of acquired resources also seems to play a slight role in this pattern.

References

- Bellman, R. 1957. Dynamic programming. - Princeton University Press.
- Benton, T. G. and Grant, A. 1999. Optimal reproductive effort in stochastic, density-dependent environments. - *Evolution* 53: 677-688.
- Berrigan, D. and Koella, J. C. 1994. The evolution of reaction norms: simple models for age and size at maturity. - *J. Evol. Biol* 7: 549-566.
- Boudry, P., Wieber, R., Saumitou-Laprade, P., Pillen, K., Van Dijk, H. and Jung, C. 1994. Identification of RFLP markers closely linked to the bolting gene B and their significance for the study of the annual habit in beets (*Beta vulgaris* L.). - *Theor. Appl. Genet.* 88: 852-858.
- Calow, P. 1979. The cost of reproduction: a physiological approach. - *Biol. Rev.* 54: 23-40.

- Charlesworth, B. 1980. Evolution in age-structured populations. - Cambridge University Press.
- Charnov, E. and Schaffer, W. M. 1973. Life-history consequences of natural selection: Cole's result revisited. - Am. Nat. 107: 791-793.
- Charnov, E. L. 1997. Trade-off-invariant rules for evolutionary stable life histories. - Nature 387: 393-394.
- Charnov, E. L. and Berrigan, D. 1990. Dimensionless numbers and life history evolution: age of maturity versus the adult lifespan. - Evolutionary Ecology 4: 273-275.
- Clausen, J., Keck, D. D. and Hiesey, W. M. 1948. Experimental studies on the nature of species. III. Environmental responses of climatic races of *Achillea*. - The Lord Baltimore Press.
- Cole, L. C. 1954. The population consequences of life history phenomena. - Quarterly Review of Biology 29: 103-137.
- Cooper, J. P. 1963. Species and population differences in climatic response. - In: Environmental control of plant growth Evans, L. T. (ed.), Academic Press, .
- Day, T. and Taylor, P. D. 1997. Von Bertalanffy's growth equation should not be used to model age and size at maturity. - Am. Nat. 149: 381-393.
- Desplanque, B. 1999. Betteraves mauvaises herbes et rudérales: diversité génétique, traits d'histoire de vie et flux de gènes au sein du complexe d'espèces cultivées-sauvages *Beta vulgaris* ssp. - PhD Thesis, University of Lille 1, Lille, France.
- Desplanque, B., Boudry, P., Broomberg, K., Saumitou-Laprade, P., Cuguen, J. and Van Dijk, H. 1999. Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L. (Chenopodiaceae), assessed by RFLP and microsatellite markers. - Theor. Appl. Genet. 98: 1194-1201.
- Gadgil, M. and Bossert, W. H. 1970. Life historical consequences of natural selection. - Am. Nat. 104: 1-24.
- Garcia, D., Zamora, R., Gomez, J. M., Jordano, R. and Hodar, J. 2000. Geographical variation in seed production, predation and abortion in *Juniperus communis* throughout its range in Europe. - J. Ecol. 88: 436-446.
- Goodman, D. 1984. Risk spreading as an adaptive strategy in iteroparous life history. - Theor. Popul. Biol. 25: 1-20.
- Harper, J. L. 1977. Population biology of plants. - Academic Press.
- Hautekèete, N.-C., Piquot, Y. and Van Dijk, H. submitted. Life span in *Beta vulgaris maritima*: geographical variation and the impact of gene flow, age at first reproduction and disturbance. - J. Ecol.
- Heino, M. and Kaitala, V. 1997. Should ecological factors affect the evolution of age at maturity in freshwater clams? - Evolutionary Ecology 11: 67-81.
- Iwasa, Y. 2000. Dynamic optimization of plant growth. - Evol. Ecol. Res. 2: 437-455.
- Iwasa, Y. and Cohen, D. 1989. Optimal growth schedule of a perennial plant. - Am. Nat. 133: 480-505.
- Jonas, C. S. and Geber, M. A. 1999. Variation among populations of *Clarkia unguiculata* (Onagraceae) along altitudinal and latitudinal gradients. - Am. J. Bot. 86: 333-343.
- Kozłowski, J. 1991. Optimal energy allocation models - an alternative to the concepts of reproductive effort and cost of reproduction. - Acta Oecol. 12: 11-33.
- Kozłowski, J. 1993. Measuring fitness in life-history studies. - Trends Ecol. Evol. 8: 84-85.
- Kozłowski, J. and Teriokhin, A. T. 1999. Allocation of energy between growth and reproduction: the Pontryagin maximum principle solution for the case of age- and season-dependent mortality. - Evol. Ecol. Res. 1: 423-441.
- Lacey, E. P. 1988. Latitudinal variation in reproductive timing of a short-lived monocarp, *Daucus carota* (Apiaceae). - Ecology 69: 220-230.
- Lavorel, S., Rocheete, C. and Lebreton, J.-D. 1999. Functional groups for response to disturbance in Mediterranean old fields. - Oikos 84: 480-498.
- Law, R., Bradshaw, A. D. and Putwain, P. D. 1977. Life-history variation in *Poa annua*. - Evolution 31: 233-246.
- Leslie, P. H. 1945. The use of matrices in certain population mathematics. - Biometrika 33: 183-213.
- Letschert, J. P. W. 1993. *Beta* section *Beta*: biogeographical patterns of variation and taxonomy. - Wageningen Agric. Univ. Papers 93: 1-155.

- Lotka, A. 1939. A contribution to the theory of self-renewing aggregates, with special reference to industrial replacement. - Ann. Math. Stat. 10: 1-25.
- Mangel, M. and C., C. 1988. Dynamical modeling in behavioral ecology. - Princeton University Press.
- McArthur, R. H. and Wilson, E. O. 1967. The theory of island biogeography. - Princeton University Press.
- MétéoFrance 2000. Le climat de la France. - Toulouse, France.
- Michod, R. E. 1979. Evolution of life histories in response to age-specific mortality factors. - Am. Nat. 113: 531-550.
- Murphy, G. I. 1968. Pattern in life history and the environment. - Am. Nat. 102: 391-403.
- Napp-Zinn, K. 1987. Vernalization - environmental and genetic regulation. - In: Manipulation of flowering Atherton, J. G. (ed.), Butterworths, pp. 123-132.
- Orzack, S. H. and Tuljapurkar, S. 1989. Population dynamics in variable environments. VII. The demography and evolution of iteroparity. - Am. Nat. 133: 901-923.
- Perrin, N. 1991. Reproductive effort, reproductive costs and optimal allocation models: a comment on Kozłowski's paper. - Acta Oecol. 12: 175-175.
- Perrin, N. and Sibly, R. M. 1993. Dynamic models of energy allocation and investment. - Annu. Rev. Ecol. Syst. 24: 379-410.
- Pontryagin, L. S., Boltyanskii, V. G., Gamkrelidze, R. V. and Mishchenko, E. F. 1962. Mathematical theory of optimal processes. - Wiley.
- Reinartz, J. A. 1984. Life history variation of common mullein (*Verbascum thapsus*). I. Latitudinal differences in population dynamics and timing of reproduction. - J. Ecol. 72: 897-912.
- Reznick, D. A., Bryga, H. and Endler, J. A. 1990. Experimentally induced life-history evolution in a natural population. - Nature 346: 357-359.
- Reznick, D. N., Butler IV, M. J., Rodd, F. H. and Ross, P. 1996. Life-history evolution in Guppies (*Poecilia reticulata*) 6. Differential mortality as a mechanism for natural selection. - Evolution 50: 1651-1660.
- Roff, D. 1983. An allocation model of growth and reproduction in fish. - Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40: 1395-1404.
- Roff, D. A. 1992. The evolution of life histories. - Chapman & Hall.
- Ronce, O. and Olivieri, I. 1997. Evolution of reproductive effort in a metapopulation with local extinctions and ecological succession. - Am. Nat. 150: 220-249.
- Rydin, H. and Borgegard, S.-O. 1991. Plant characteristics over a century of primary succession on islands: lake Hjälmaren. - Ecology 72: 1089-1101.
- Schaffer, W. M. 1974a. Optimal reproductive effort in fluctuating environments. - Am. Nat. 108: 783-790.
- Schaffer, W. M. 1974b. Selection for optimal life histories: the effects of age structure. - Ecology 55: 291-303.
- Sibly, R. M. 1989. What evolution maximizes. - Funct. Ecol. 3: 129-135.
- Sibly, R. M. and Calow, P. 1986. Physiological ecology of animals: an evolutionary approach. - Blackwell Scientific Publications.
- Smith, H. B. 1927. Annual versus biennial growth habit and its inheritance in *Melilotus alba*. - Am. J. Bot. 14: 129-146.
- Southwood, T. R. E., Brown, V. R., Reader, P. M. and Mason, E. 1988. Some ecological characteristics of the primary trophic level of a secondary succession. - Proc. R. Soc. Lond. B 234: 11-44.
- StatSoft, I. 1999. Statistica. - Tulsa, OK.
- Stearns, S. C. 1976. Life-history tactics: a review of the ideas. - Quarterly Review of Biology 51: 3-47.
- Stearns, S. C. 1992. The evolution of life histories. - Oxford University Press.
- Stearns, S. C. and Koella, J. C. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: predictions of reaction norms for age and size at maturity. - Evolution 40: 893-913.
- Taylor, H. M., Gourley, R. S., Lawrence, C. E. and Kaplan, R. S. 1974. Natural selection of life-history attributes: an analytical approach. - Theor. Popul. Biol. 5: 104-122.
- Teriokhin, A. T. 1998. Evolutionary optimal age schedule of repair: computer modelling of energy partition between current and future survival and reproduction. - Evolutionary Ecology 12: 291-307.

- Teriokhin, A. T. and Budilova, E. V. 2000. Evolutionarily optimal networks for controlling energy allocation to growth, reproduction and repair in men and women. - In: Artificial Neural Networks. Application to Ecology and Evolution Lek, S. and Guegan, J. F. (eds.), Springer Verlag, pp. 225-237.
- Till-Bottraud, I., Wu, L. and Harding, J. 1990. Rapid evolution of life history trait in populations of *Poa annua* L. - J. Evol. Biol 3: 205-224.
- Van Dijk, H., Boudry, P., McCombie, H. and Vernet, P. 1997. Flowering time in wild beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) along a latitudinal cline. - Acta Oecol. 18: 47-60.
- Van Dijk, H. and Desplanque, B. 1999. - In: VIIth International IOPB Symposium. Plant evolution in man-made habitats, Amsterdam, The Netherlands.
- Venable, D. L. 1984. Using intraspecific variation to study the ecological significance of plant life-histories. - In: Perspectives on plant population ecology Dirzo, R. and Sarukhan, J. (eds.), Sinauer, pp. 166-187.
- Wesselingh, R. A., Klinkhamer, P. G. L., de Jong, T. J. and Schlatmann, E. G. M. 1994. A latitudinal cline in vernalization requirement in *Cirsium vulgare*. - Ecography 17: 272-277.
- West, G. B., Brown, J. H. and Enquist, B. J. 1999. The fourth dimension of life: fractal geometry and allometric scaling of organisms. - Science 284: 1677-1679.
- Williams, G. C. 1966. Natural selection, the cost of reproduction and a refinement of Lack's principle. - Am. Nat. 100: 687-690.
- Young, T. P. 1981. A general model of comparative fecundity for semelparous and iteroparous life histories. - Am. Nat. 118: 27-36.
- Young, T. P. 1990. Evolution of semelparity in Mount Kenya lobelias. - Evolutionary Ecology 4: 157-171.
- Ziolko, M. and Kozłowski, J. 1983. Evolution of body size: an optimization model. - Math. Biosci. 64: 127-143.

Chapitre VII Synthèse, discussion générale et perspectives

Chapitre VII Synthèse, discussion générale et perspectives

Ce manuscrit étant présenté sous la forme d'articles ou de chapitres indépendants, les résultats ont déjà été discutés au fur et à mesure de ces différentes parties. Ils gagneront cependant à être repris ensemble et succinctement, en vue d'une discussion générale.

A Synthèse

La relation de compensation entre reproduction actuelle et survie (et/ou reproduction future) est un postulat incontournable des théories évolutives de la sémelparité et de la théorie de pléiotropie antagoniste d'évolution de la sénescence. Cette relation de compensation a été étudiée et mise en évidence de diverses façons chez les espèces végétales et animales. Chez les plantes, il a été montré que la formation de fruits diminue le taux de survie ou la reproduction future (Sohn et Policansky 1977, Snow et Whigham 1989, Worley et Harder 1996, Primack et Stacy 1998). Chez les animaux la reproduction peut diminuer la reproduction future, la résistance aux maladies ou la survie en général (Zwaan et al. 1995, Nilsson et Svensson 1996, Ots et Hórák 1996, Deerenberg et al. 1997, Oppliger et al. 1997, Chapman et al. 1998, Nordling et al. 1998). L'intérêt du complexe d'espèces *Beta*, est de présenter un très large panel de durées de vie allant de la stricte annualité à des durées de vie très longues (plus de 11 ans), ce qui permet d'étudier directement la relation entre l'investissement à la reproduction et la durée de vie au sein d'un gradient de cycles de vie. A notre connaissance, ceci n'a été réalisé que chez le poisson *Alosa sapidissima* (Leggett et Carscadden 1978). Nous avons montré qu'au sein du complexe d'espèces *Beta*, **l'effort reproducteur diminue lorsque la durée de vie augmente** (chapitre II). Le complexe d'espèces *Beta* permet de comparer la relation entre reproduction actuelle et survie (et/ou reproduction future) entre différents cycles de vie. **Chez les betteraves itéropares à longue durée de vie, les corrélations phénotypiques nous ont montré que l'investissement à la survie est négativement corrélé à l'investissement à la reproduction.** Au contraire, chez les taxons sémelpares, la relation biomasse racinaire – biomasse reproductrice est positive : la racine principale ne permet pas le stockage en vue de la survie, mais est liée allométriquement et positivement aux autres parties de la plante. Pour les cycles intermédiaires (itéropares à courte durée de vie ou sémelpares facultatives) la corrélation n'est pas significative.

Nous avons montré également que, pour les **taxons itéropares** (contrairement aux taxons sémelpares), **l'effort reproducteur varie en fonction de la richesse nutritive du milieu**. L'effort reproducteur décroît lorsque la richesse en nutriments du milieu diminue, tant et si bien que les betteraves itéropares à longue durée de vie peuvent ne pas initier leur floraison si les conditions nutritives sont particulièrement pauvres. Les ressources sont limitantes pour les organismes, que ce soit pour des raisons de disponibilité des ressources dans l'environnement ou de capacité individuelle d'acquisition. De ce fait, les ressources utilisées à un instant donné pour la reproduction ne sont plus disponibles pour la survie ou la reproduction future ce qui entraîne des effets de compensation entre les fonctions biologiques. Empêcher la consommation des ressources par la reproduction devrait donc permettre de rallonger la durée de vie par une redistribution vers la survie des ressources ainsi économisées. De fait, l'excision de fruits au début de leur développement a dans de nombreux cas induit un retard du syndrome de sénescence. Globalement chez la betterave, **l'ablation de boutons floraux n'entraîne pas de redistribution des ressources vers la survie ou la maintenance** (chapitre III). **En particulier, l'ablation ne prolonge pas la durée de vie des taxons sémelpares**. Le schéma d'allocation de ressources est donc fixé avant la formation des boutons floraux, probablement dès l'initiation de la floraison. L'ablation des boutons induit cependant une floraison prolongée chez certaines origines itéropares, ce qui peut traduire un effet **écotypique** sur les schémas d'allocation. Les fruits en cours de développement semblent constituer un stade trop avancé en termes d'utilisation des ressources pour que leur ablation autorise l'observation d'un quelconque effet sur la reproduction ou la durée de vie.

La base génétique des caractères considérés dans les théories d'histoire de vie est essentielle pour que leur évolution (sous l'influence des pressions de sélection) soit possible. Le **chapitre IV** montre que le **déterminisme génétique de la capacité à survivre après la reproduction** (itéroparité) **pourrait bien être très simple** : deux locus (dominants pour le caractère sémelpare) seraient suffisants.

Parallèlement à l'existence d'équilibres compensatoires entre reproduction actuelle et survie (ou reproduction future), l'adaptation aux conditions extérieures, et principalement aux risques de mort accidentelle, est le deuxième grand thème des théories évolutives de la sénescence ou de la sémelparité. Ces « statistiques de destruction », évoquées par Weismann (1889, cité dans Rose 1991), ont été abordées lors du **chapitre V** en tant que facteur sélectif de la durée de vie. Les distributions géographiques de la durée de vie, de l'âge à la maturité, des habitats et de marqueurs moléculaires neutres ont été comparées chez *B. v. maritima* dont

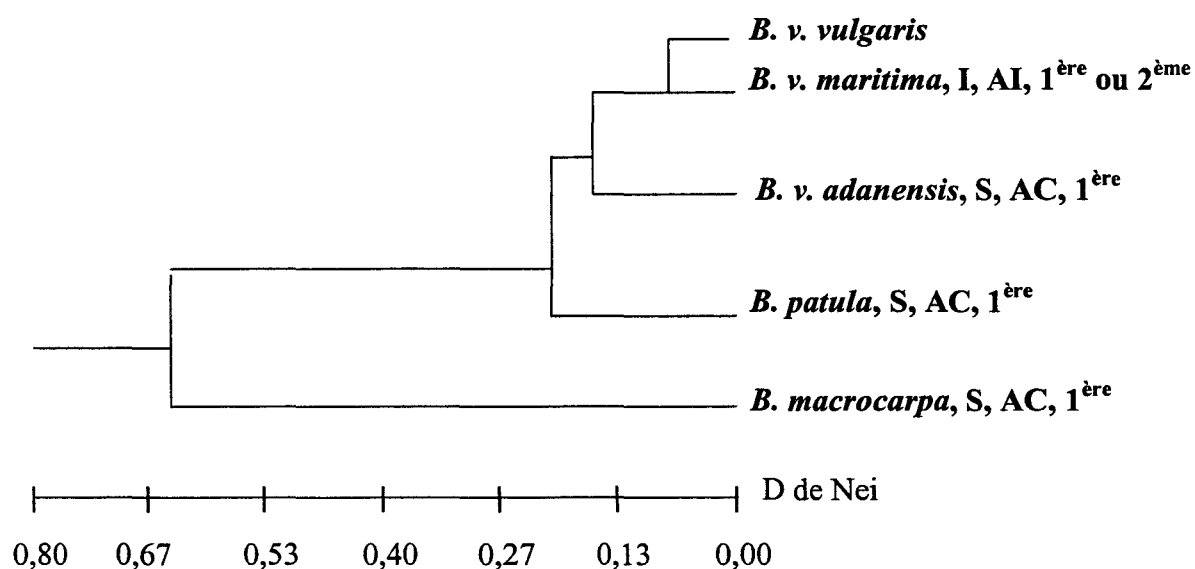


Figure 1. Phylogénie UPGMA du genre *Beta* section *Beta*, basée sur des allozymes, d'après Letschert (1993).

S= sémelpare, I= itéropare

AC= auto-compatible, AI= auto-incompatible

1^{ère}= floraison dès la première année, 2^{ème}= floraison dès la deuxième année

B. v. vulgaris n'est pas décrite, la domestication rendant les caractères difficilement interprétables dans la phylogénie.

la durée de vie individuelle moyenne varie de 2 à 12 ans selon les populations. La durée de vie semble être un caractère soumis à une **sélection** importante, puisque les **longues durées de vie sont associées à des habitats stables**, tels que les falaises granitiques du Nord de la Bretagne, tandis que les **courtes durées de vie sont très fortement associées à des habitats très anthropisés et perturbés**, tels que les bords de route ou de champs. L'âge à la maturité (floraison en première ou deuxième année) est un caractère fortement sélectionné et bien connu, qui pourrait par le jeu des équilibres compensatoires influencer la durée de vie. Cette dernière n'est en fait pas directement dépendante de l'âge à la maturité mais ce sont deux caractères qui apparaissent co-sélectionnés dans certains habitats.

Parmi les conditions environnementales pouvant imposer des pressions de sélection sur la longévité et le cycle de vie en général, les facteurs climatiques sont particulièrement susceptibles d'avoir un impact majeur. Les durées de vie chez *B. v. maritima* augmentent latitudinalement du sud de la France au nord de la Bretagne, pour diminuer à nouveau vers le nord de la France. Une influence du climat semble donc envisageable. Les facteurs climatiques peuvent avoir en fait deux grands types d'effets sur la durée de vie : par le biais de la mortalité externe (tempête, sécheresse, gelées...), mais aussi des ressources (pluie, soleil, longueur de la bonne saison...) dont l'impact sur les traits d'histoire de vie est mal connu. Le **chapitre VI** a été le terrain de la confrontation d'un modèle théorique aux données de durées de vie chez *B. v. maritima*. Le modèle est basé sur le principe d'optimisation de l'allocation des ressources. Il suggère que, **dans des conditions densité-indépendantes, de plus longues durées de vie et des âges à la maturité plus tardifs sont favorisés lorsque les ressources diminuent**. En conditions environnementales riches, l'annualité tend à être la stratégie favorable. **Chez *B. v. maritima*, un effet des ressources (précipitations et températures combinées) semble effectivement compléter l'impact de la mortalité externe sur les traits d'histoire de vie**. Le climat semble aussi ajouter de nouvelles causes externes de mortalité (gel, sécheresse) dans les populations naturelles de betterave maritime.

B Discussion générale

L'évolution de la durée de vie dans le complexe *Beta* n'a pas été orientée : le caractère ancestral (plésiomorphe) peut être soit l'annualité soit l'itéroparité à longue durée de vie. En se basant sur la phylogénie construite par Letschert (1993) il est possible d'émettre tout au moins quelques hypothèses quant à l'orientation de l'évolution du caractère sémelpare / itéropare. Trois des quatre taxons sauvages sont sémelpares (Figure 1). Le dernier est

itéropare. Selon Letschert (1993), les taxons des autres sections du genre *Beta* (*Corollinae*, *Nanae* et *Procumbentes*) sont tous itéropares. L'arbre étant raciné, l'itéroparité apparaît être ancestrale. Selon la conformation de l'arbre (Figure 1) on peut tout d'abord envisager trois mutations convergentes vers la sémelparité (la sémelparité est homoplasique). Une hypothèse plus parcimonieuse est l'apparition d'une mutation amenant la sémelparité chez l'ancêtre commun de la section *Beta* (la sémelparité est alors synapomorphique), suivie d'une mutation reverse vers l'itéroparité (soit dans la branche de *B. v. maritima*, soit chez l'ancêtre commun à *B. v. maritima* et à *B. v. vulgaris* en effet la betterave cultivée montre aussi une relative propension à l'itéroparité). L'évolution de l'itéroparité vers la sémelparité semble cependant être la plus facile puisqu'une perte de fonction suffirait (la capacité des méristèmes à être réactivés par exemple), dans un tel cas le critère de parcimonie n'est pas forcément déterminant.

D'autres caractères apparaissent très liés à l'itéroparité dans le complexe *Beta*. Le besoin de vernalisation n'apparaît que chez les betteraves itéropares et plus particulièrement dans les populations de durée de vie moyenne ou longue. Dans les chapitres V et VI il a été montré qu'un âge à la maturité tardif est défavorable en situation de mortalité adulte élevée. Dans de telles conditions, une courte durée de vie associée à un effort reproducteur élevé est favorisée. Par contre une maturité rendue plus tardive par le besoin de vernalisation sera favorable dans des conditions de mortalité adulte externe faible. Dans des conditions densité indépendantes, la quantité de ressources et la longueur de la bonne saison vont favoriser également un âge précoce de maturité et courte durée de vie en même temps. Dans un tel système il n'est pas étonnant que le besoin de vernalisation ne soit trouvé que dans les taxons itéropares.

L'auto-incompatibilité est très fortement associée à l'itéroparité dans le complexe *Beta*. Tous les taxons sémelpares sont auto-compatibles et autogames (Letschert 1993, pour des résultats plus récents sur *B. macrocarpa*, voir Hocquigny 1999). L'association entre l'annualité et l'auto-compatibilité est bien connue (Lloyd 1980). Chez les plantes, les espèces annuelles sont plus souvent autogames que les espèces pérennes et les autogames sont essentiellement annuelles ou sémelpares à courte durée de vie (Barrett et al. 1997, Hamrick et Godt 1997, Aarssen 2000). Plusieurs hypothèses ont été développées pour expliquer cette association (revue et discussion : Aarssen 2000). La première est appelée "assurance de reproduction". L'autogamie assure une fécondation même dans des conditions où les partenaires sont rares, comme en cas de colonisation, ce qui est très associé à l'annualité (Lloyd 1980, Aarssen 2000). La deuxième hypothèse est que les plantes pérennes subissent

un plus fort coût de l'autofécondation (Morgan et al. 1997), et qu'en conséquence peu de pérennes sont autogames. Relativement la part des annuelles chez les autogames est donc plus grande que celle des pérennes. La troisième hypothèse suggère que la sélection pour un développement très rapide de la plante (annualité) favorise un rapprochement dans le temps des phases de réceptivité des fonctions mâle et femelle. La dernière hypothèse suppose que la fécondité est limitée par le temps et que l'allofécondation nécessite plus de temps que l'autofécondation. L'autogamie pourra être favorisée dans les habitats perturbés dans lesquels l'annualité est sélectionnée (Aarssen 2000). Chacune de ces hypothèses peut être retenue dans le contexte de cycles de vie sélectionnés par la mortalité externe.

Seuls les chapitres V et VI consacrés à l'impact des facteurs environnementaux sur la durée de vie se sont focalisés sur *B. v. maritima*. Quelles sont alors les conditions écologiques rencontrées par les taxons sémelpares du complexe ? *B. v. adanensis* et *B. macrocarpa* ne sont trouvées que dans le bassin méditerranéen. *B. patula* n'est trouvée que dans une île proche de Madère, de climat très méditerranéen également. Les taxons sémelpares ne sont donc présents que dans des régions dont les conditions climatiques sont très similaires à celles trouvées le long de la côte méditerranéenne française, voire plus accentuées. De plus Letschert (1993) signale *B. v. adanensis* et *B. macrocarpa* dans de nombreuses situations rudérales : bords de route ou de champs peu éloignés de la côte. Il signale aussi *B. macrocarpa* comme étant fréquente à l'intérieur des terres. Dans l'ensemble la situation écologique des populations sémelpares est donc très ressemblante à celle des populations de courte durée de vie de *B. v. maritima*. Ceci suggère que des facteurs écologiques similaires pourraient expliquer les durées de vie des taxons de l'ensemble du complexe. *B. v. adanensis*, *B. macrocarpa* et *B. patula* ont cependant des cycles de vie extrêmes (annualité ou annualité facultative) et il reste à déterminer si ces facteurs écologiques sont réellement plus marqués dans leurs habitats.

C Perspectives

Des questions posées au cours de ce travail, certaines ont trouvé une réponse, mais comme souvent, beaucoup en ont fait fleurir de nouvelles. Quelques perspectives seront présentées au cours de ce paragraphe. Elles seront classées selon trois thématiques: les études physiologiques, écologiques et génétiques.

1 Physiologie

L'allocation des ressources chez *Beta* passe probablement par l'intermédiaire d'une régulation hormonale déclenchée avec ou par l'initiation de la floraison. Une fois la floraison initiée (ou la montaison), il est apparu impossible de modifier le schéma d'allocation des ressources par l'ablation de parties reproductrices. Cependant certaines hormones pourraient le permettre. Par exemple la sénescence du soja qui est déclenchée par la formation des fruits est retardée par l'application foliaire d'hormones (Noodén et al. 1979). Ce principe pourrait être appliqué chez *Beta* afin de mieux connaître la physiologie de l'allocation des ressources.

La première étape d'une telle étude serait la caractérisation d'une ou de plusieurs hormones retardant la sénescence chez *Beta*. Auxine et cytokinine ont fait leurs preuves (Noodén et al. 1979), mais l'acide abscissique et les gibberellines, directement impliquées dans les processus de "sénescence saisonnière" des parties végétatives, et quelques autres molécules sont également de bons candidats (Noodén 1988a). Il est possible de mesurer l'impact de ces hormones sur la sénescence des sémelpares, mais aussi sur leur reproduction. En effet lorsque la sénescence est retardée, l'allocation à la reproduction peut être supprimée ou simplement ralentie par l'action de l'hormone. Si la sénescence est retardée, une seconde étape, de contrôle de l'activité photosynthétique et des flux de nutriments, devient alors intéressante (Noodén et al. 1979, 1988c). Chez le soja par exemple une décroissance de l'activité photosynthétique et de la richesse en protéines accompagne en temps normal la sénescence. Or, l'ablation des fruits ralentit la décroissance de la quantité de protéines et le syndrome de sénescence mais pas la décroissance de l'activité photosynthétique (revue dans : Bleeker et Patterson 1997) : ceci suggère une grande importance de l'azote dans le syndrome de sénescence chez cette espèce. De telles expériences maintenant relativement classiques pourraient être menées sur l'ensemble du gradient, afin de déterminer si les plantes itéropares ont la même réponse aux traitements hormonaux que les sémelpares, et d'éventuellement de vérifier si les hormones impliquées dans la sénescence saisonnière sont les mêmes que celles impliquées dans la mort des plantes sémelpares.

2 Ecologie

Les cycles de vie courts sont associés chez *B. v. maritima* à des milieux pour lesquels la mortalité adulte extrinsèque est potentiellement élevée. Le suivi démographique des populations naturelles peut être d'un grand intérêt pour l'estimation des taux de mortalité liée à des causes environnementales et pour l'estimation des taux de recrutement. Les habitats de

la betterave sont dans la plupart des cas fortement affectés par les activités humaines, intenses dans les zones littorales (chasse, tourisme balnéaire, aménagement des rivages...). L'analyse démographique qui exige des suivis *in situ* à long terme n'est réaliste que si les populations témoins sont protégées et n'est donc pas envisagée dans l'avenir.

Il serait néanmoins réaliste et intéressant d'étendre l'étude écologique des populations naturelles faite chez *B. v. maritima* aux autres taxons du complexe d'espèces *Beta*. On utilisera les mêmes descripteurs écologiques que ceux utilisés chez *B. v. maritima* : habitats et niveaux estimés de perturbation, facteurs climatiques simples mais diversifiés tels que les précipitations et températures annuelles, leurs variabilités intra et inter annuelle, le nombre de jours de gel potentiel etc. La zone à étudier concerne essentiellement le bassin méditerranéen où sont trouvés tous les taxons sémelpares et plus particulièrement les côtes méditerranéennes où se trouve la grande majorité des populations.

B. macrocarpa et *B. v. maritima* sont parfois trouvés en sympatrie dans la péninsule ibérique (Hocquigny 1999), notamment dans une population portugaise de salines (Fuseta, région de Faro) dans laquelle de l'hybridation a été révélée par une analyse moléculaire (Hocquigny 1999). Des zones de sympatrie pour *B. v. adanensis* et *B. v. maritima* sont probables sur les îles grecques (observations de F. Viard-Leprêtre et J. Cuguen). Ces zones de sympatrie sont d'un intérêt majeur. La durée de vie individuelle de ces populations peut être estimée en conditions contrôlées. *B. v. maritima* peut alors s'y révéler annuelle ou quasi-annuelle, ce qui confirmerait l'influence majeure des conditions environnementales. Si au contraire dans les zones de sympatrie la durée de vie est sensiblement plus élevée chez *B. v. maritima* que chez *B. macrocarpa* ou *B. v. adanensis*, plusieurs types d'hypothèses sont à tester. La zone de sympatrie peut correspondre en fait à une zone de contact entre des populations des deux taxons adaptées à des habitats différents. Un des deux types au moins devrait alors être moins bien adapté dans la zone de contact que dans son aire principale. Des micro variations spatiales d'habitat peuvent également permettre la coexistence des deux types de cycles de vie. Une telle coexistence peut de même être favorisée par une certaine variabilité inter annuelle des facteurs environnementaux (Giesel 1976, Bulmer 1985).

Parmi les facteurs environnementaux biotiques, seules les perturbations d'origine anthropique ont été abordées. Or les parasites et les herbivores sont susceptibles d'avoir un impact majeur sur les traits d'histoire de vie (revue et modèle dans Klinkhamer et al. 1997). Ils modifient la survie ou la fécondité des individus (Bazzaz et al. 1987, Clay 1990, Clay 1991). Chez *Spartina anglica*, les épillets sont infestés et stérilisés par l'ergot *Claviceps purpurea* avec de très importants taux d'infestation en populations naturelles (jusqu'à 70%

des plantes en baie du Mont St Michel, Y. Piquot, données non publiées). En outre l'attractivité de la plante envers les pathogènes ou leurs vecteurs (mangeurs de pollen, pollinisateurs...) peut augmenter avec l'effort reproducteur. C'est le cas chez plusieurs espèces de Caryophyllacées, dont les individus sont rendus stériles par le champignon systémique *Microbotryum violaceum* transporté par les pollinisateurs (Thrall et al. 1993, Shykoff et Bucheli 1995). Chez *Beta* la pollinisation est normalement anémophile mais les syrphidés, mangeurs de pollen, sont communs et constituent de potentiels vecteurs de maladies. Plusieurs pathogènes sont connus pour diminuer la fertilité ou les réserves (par exemple par destruction des racines) de la betterave cultivée (Lejealle et al. 1982).

Puisque certains pathogènes affectent de manière différentielle la reproduction et la survie, ils peuvent constituer une force de sélection importante sur les traits d'histoire de vie. Mortalité et stérilité consécutives d'une infestation reproduction-dépendante peuvent favoriser un cycle de vie sémelpare (Klinkhamer et al. 1997). Une diminution de la reproduction actuelle, sans conséquence pour l'avenir, favoriserait plutôt l'itéroparité (Klinkhamer et al. 1997). Il existe une relation entre l'histoire de vie d'une plante et la probabilité qu'elle soit infestée : les espèces itéropares de Caryophyllacées sont cinq fois plus nombreuses à être infestées par *Microbotryum violaceum* que les annuelles (Thrall et al. 1993).

Selon les pathogènes trouvés localement, des cycles de vie différents pourraient donc évoluer chez les betteraves sauvages. Tester cette hypothèse serait particulièrement intéressant chez *B. v. maritima*. Il est préférable tout d'abord de rechercher les pathogènes ayant des effets connus sur la reproduction ou la survie des betteraves. Les connaissances agronomiques des pathogènes de la betterave cultivée seraient d'une valeur inestimable à cette étape, puisque les conséquences sur les réserves (biomasse racinaire, taux de sucre), la mortalité et la reproduction de près d'une centaine de pathogènes sont connues. La seconde étape pourrait être d'évaluer les taux d'infestation régionaux ou locaux de ces pathogènes, parasites ou herbivores, de définir les symptômes susceptibles d'être subis localement (diminution de la fertilité actuelle vs survie) et de les associer ou non avec les cycles de vie observés. Des études de la virulence sont nécessaires avant d'étudier en conditions contrôlées les conséquences sur les traits d'histoire de vie de ces pathogènes. De telles études en conditions contrôlées permettraient d'inclure des données précises dans un modèle comme celui de Klinkhamer et al. (1997) et de vérifier l'histoire de vie optimale. Il est également important de savoir si les attaques sont favorisées ou aggravées par l'état reproductif, ce qui

constitue un point important du modèle de Klinkhamer et al. (1997) et doit être vérifié en conditions contrôlées.

La durée de vie accroît la période d'interaction avec les parasites. Il est donc moins important pour un organisme annuel de développer des résistances aux pathogènes que pour un organisme pérenne. La compensation entre investissement à la survie (incluant les résistances) et à la reproduction suggère également qu'il n'est pas dans l'intérêt des plantes annuelles ou de courte durée de vie d'investir dans la résistance à des pathogènes qui n'auraient pas d'effet majeur sur leur fertilité. D'une manière générale il est donc attendu que le degré de résistance à différents parasites augmente avec la durée de vie. *B. v. maritima* qui présente une grande variation de durée de vie selon les populations d'origine serait un bon candidat pour la recherche d'une relation positive entre résistance et durée de vie. Un possible pathogène dans une telle étude est *Cercospora beticola*, un champignon systémique qui provoque une réduction des réserves racinaires. Il est donc susceptible d'induire une diminution de la survie et de la reproduction future et la résistance de son hôte devrait augmenter avec la durée de vie. Ce champignon est bien connu en agronomie puisqu'il s'attaque à la betterave cultivée. Sa culture *in vitro* ne semble pas poser de difficulté majeure, et des souches peuvent être obtenues auprès de l'Université de Louvain-la-Neuve en Belgique. En outre il est possible dans un premier temps de tester *in vitro* la résistance des individus (sur des feuilles isolées). Tous ces avantages devraient faciliter grandement l'obtention de premiers résultats et le calibrage des méthodes. Cette première étape est nécessaire avant de faire des tests sur des plantes vivantes qui nécessitent une infrastructure bien plus importante (serres isolées). Des souches issues de populations naturelles permettraient de contrôler par des tests de résistance croisée que nos résultats ne sont pas dépendants d'éventuelles adaptations locales.

3 Génétique

La relation de compensation entre l'investissement à la survie et l'investissement à la reproduction a été observée au moyen de corrélations phénotypiques négative. Il est indispensable de vérifier l'existence d'une corrélation génétique négative entre reproduction et survie (Reznick 1985). Les bases génétique de ces corrélations n'ont pas strictement été démontrées même si l'étude en conditions contrôlées réduit très fortement les variances d'origines environnementales. Le risque lié aux corrélations phénotypiques réside dans la possibilité d'observer des corrélations phénotypiques positives alors que les corrélations génétiques sont négatives. Les variations de l'environnement créent effectivement des

disparités entre individus, certains ayant plus de ressources à leur disposition que d'autres. Or un individu "riche" pourra allouer plus de ressources à la reproduction et à la survie à la fois qu'un individu "pauvre". La relation observée sera positive (Van Noordwijk et de Jong 1986). En utilisant des techniques de génétiques quantitatives il est possible d'éliminer la variabilité environnementale des données. Nous avons observé des corrélations phénotypiques négatives entre reproduction et survie dans les cycles de vie les plus itéropares, cependant une confrontation de ces résultats avec une méthode mesurant les corrélations génétiques permettrait une meilleure appréhension de ce type d'expérience. Une façon de créer le matériel adéquat serait de produire des croisements plein-frères ou demi-frères et d'appliquer les méthodes de génétiques quantitatives classiques (Falconer 1989). Une autre est utilisable : des clones de betterave sont maintenant faciles à obtenir au laboratoire (Annexes) et permettraient très facilement d'éliminer la variabilité environnementale (variabilité intra-clone).

Enfin les croisements effectués entre *B. v. maritima* et *B. v. adanensis* devraient permettre dans l'avenir de localiser les gènes impliqués dans la capacité à survivre après une première reproduction. L'ADN des individus issus du backcross a été conservé. Il est donc possible de regrouper l'ADN d'individus sémelpares d'un côté et l'ADN d'individus itéropares de l'autre et de tester des marqueurs sur ces deux groupes. Les marqueurs montrant une différence de réponse entre les deux groupes sont liés physiquement au locus concerné (technique dite de BSA, Bulkéd Segregant Analysis : Wang et Paterson 1994). Il est nécessaire pour cela d'avoir des marqueurs répartis très finement sur l'ensemble du génome. Chez *B. vulgaris* une carte de plusieurs types de marqueurs moléculaires et morphologiques a été constituée par Pillen et al. (1992) et une carte de RAPDs a été développée par Uphoff et Wricke (1995). La seule difficulté dans une étude sur la survie est le risque d'avoir des faux individus annuels (mort accidentelle non remarquée), la technique de BSA permettrait de ne pas retenir les individus morts vers la fin de la saison, les causes de la mort étant chez eux très ambiguës. Pour confirmer les résultats obtenus, des croisements entre des *B. v. adanensis* et des *B. v. maritima* de longue durée de vie sont déjà en cours.

Bibliographie

Bibliographie des chapitres I, IV, VII

- Aarssen, L.W. (2000). Why are most selfers annuals? A new hypothesis for the fitness benefit of selfing. *Oikos* **89** : 606-612.
- Abegg, F.A. (1936). A genetic factor for the annual habit in beets and linkage relationship. *Journal of Agricultural Research* **53** : 493-511.
- Argollo de Menezes, M., Racco, A. et Penna, T.J.P. (1998). Strategies of reproduction and longevity. *International journal of Modern Physics C* **9** : 1-5.
- Barrett, S.C.H., Harder, L.D. et Worley, A.C. (1997). The comparative biology of pollination and mating in flowering plants. 57-76 in *Plant life histories*, édité par Silvertown, J., Franco, M. et Harper, J.L. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Bazzaz, F.A., Chiarello, N.R., Coley, P.D. et Pitelka, L.F. (1987). Allocating resources to reproduction and defense. *BioScience* **37** : 58-67.
- Beckman, K.B. et Ames, B.N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews* **78** : 547-581.
- Bell, G. (1984). Evolutionary and nonevolutionary theories of senescence. *The American Naturalist* **124** : 600-603.
- Bellman, R. (1957). Dynamic programming. Princeton University Press, Princeton, NY.
- Bergquist, D.C., Williams, F.M. et Fisher, C.R. (2000). Longevity record for deep-sea invertebrate. *Nature* **403** : 499-500.
- Bernacchi, D. et Tanksley, S.D. (1997). An interspecific backcross of *Lycopersicon esculentum* x *L. hirsutum*: linkage analysis and a QTL study of sexual compatibility factors and floral traits. *Genetics* **147** : 861-877.
- Berrigan, D. et Koella, J.C. (1994). The evolution of reaction norms: simple models for age and size at maturity. *Journal of Evolutionary Biology* **7** : 549-566.
- Blarer, A., Doebeli, M. et Stearns, S.C. (1995). Diagnosing senescence: inferring evolutionary causes from phenotypic patterns can be misleading. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* **262** : 305-312.
- Bleecker, A.B. et Patterson, S.E. (1997). Last exit: senescence, abscission, and meristem arrest in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **9** : 1169-1179.
- Boudry, P. (1994). Evolution des caractères de cycle de vie dans les populations de betteraves sauvages et adventices (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*). Thèse de Doctorat. Université de Paris 6, Paris, France.
- Boudry, P., McCombie, H. et Van Dijk, H. (soumis). Vernalization requirement of wild beet *Beta vulgaris* ssp. *maritima*: among population variation and its adaptive significance. *Journal of Ecology* : -.
- Boudry, P., Wieber, R., Saumitou-Laprade, P., Pillen, K., Van Dijk, H. et Jung, C. (1994). Identification of RFLP markers closely linked to the bolting gene B and their significance for the study of the annual habit in beets (*Beta vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics* **88** : 852-858.
- Bradley, A.J., McDonald, I.R. et Lee, A.K. (1980). Stress and mortality in a small marsupial (*Antechinus stuartii*, Macleay). *Gen. Comp. Endocrinol.* **40** : 188-200.
- Bulmer, M.G. (1985). Selection for iteroparity in a variable environment. *The American Naturalist* **126** : 63-71.
- Chapman, T., Miyake, T., Smith, H. et Partridge, L. (1998). Interactions of mating, egg production and death rates in females of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* **265** : 1879-1894.
- Charlesworth, B. (1980). Evolution in age-structured populations. Cambridge University Press, Cambridge.
- Charlesworth, B. (2000). Fisher, Medawar, Hamilton and the evolution of aging. *Genetics* **156** : 927-931.
- Charlesworth, B. et Hughes, K. (1996). Age-specific inbreeding depression and components of genetic variance in relation to the evolution of senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **93** : 6140-6145.
- Charnov, E. et Schaffer, W.M. (1973). Life-history consequences of natural selection: Cole's result revisited. *The American Naturalist* **107** : 791-793.

- Clay, K. (1990). Comparative demography of three graminoids infected by systemic, clavicipitaceous fungi. *Ecology* **71** : 558-570.
- Clay, K. (1991). Parasitic castration of plants by fungi. *Trends in Ecology and Evolution* **6** : 162-166.
- Cole, L.C. (1954). The population consequences of life history phenomena. *Quarterly Review of Biology* **29** : 103-137.
- de Laguérie, P., Olivieri, I., Atlan, A. et Gouyon, P.-H. (1991). Analytic and simulation models predicting positive genetic correlations between traits linked by trade-offs. *Evolutionary Ecology* **5** : 361-369.
- de Vienne, D. (1990). L'analyse du déterminisme génétique des caractères quantitatifs chez les végétaux. *Médecine/Science* **10** : 11-16.
- Deerenberg, C., Arpanius, V., Daan, S. et Bos, N. (1997). Reproductive effort decreases antibody responsiveness. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* **264** : 1021-1029.
- Degouy, S. (2000). Recherche de marqueurs moléculaires d'un gène d'auto-incompatibilité chez la betterave. rapport de stage. Université de ISA, formation environnementaliste, Villeneuve d'Ascq, France.
- Deleplanque, J.P. et Renard, O. (1981). Les origines lointaines de la betterave. *Cultivar* **144** : 22-25.
- Dellaporta, S.L., Wood, J. et Hicks, J.B. (1983). A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology Reporter* **1** : 19-21.
- Desplanque, B. (1999). Betteraves mauvaises herbes et rudérales: diversité génétique, traits d'histoire de vie et flux de gènes au sein du complexe d'espèces cultivées-sauvages *Beta vulgaris* ssp. PhD Thesis. Université de Lille 1, Lille, France.
- Desplanque, B., Boudry, P., Broomberg, K., Saumitou-Laprade, P., Cuguen, J. et Van Dijk, H. (1999). Genetic diversity and gene flow between wild, cultivated and weedy forms of *Beta vulgaris* L. (Chenopodiaceae), assessed by RFLP and microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* **98** : 1194-1201.
- Edney, E.B. et Gill, R.W. (1968). Evolution of senescence and specific longevity. *Nature* **220** : 281-282.
- Falconer, D.S. (1989). Introduction to quantitative genetics. Longman, London.
- Finch, C.E. (1990). Longevity, senescence, and the genome. University of Chicago Press, Chicago.
- Finkel, T. et Holbrook, N.J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* **408** : 239-247.
- Friedman, D.B. et Johnson, T.E. (1987). A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. *Genetics* **118** : 75-86.
- Gadgil, M. et Bossert, W.H. (1970). Life historical consequences of natural selection. *The American Naturalist* **104** : 1-24.
- Genest, E. (1984). Contes et légendes mythologiques. Poche Nathan, Paris.
- Giesel, J.T. (1976). Reproductive strategies as adaptations to life in temporally heterogeneous environments. *Annual Review of Ecology and Systematics* **7** : 57-79.
- Gorenflot, R. (1998). Biologie végétale. Plantes supérieures : appareil végétatif. Masson, Paris.
- Hamilton, W.D. (1966). The moulding of senescence by natural selection. *Journal of Theoretical Biology* **12** : 12-45.
- Hamrick, J.L. et Godt, M.J.W. (1997). Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. 102-118 in Plant life histories, *édité par* Silvertown, J., Franco, M. et Harper, J.L. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Harper, J.L. (1977). Population biology of plants. Academic Press, London.
- Harshman, L.G. et Hoffman, A.A. (2000). Laboratory selection experiments using *Drosophila*: what do they really tell us ? *Trends in Ecology and Evolution* **15** : 32-36.
- Hess, H.E., Landolt, E. et Hirzel, R. (1976). Flora der Schweiz. Birkhäuser Verlag, Basel Stuttgart.
- Hocquigny, S. (1999). Diversité génétique et évolution des systèmes de reproduction chez deux taxons apparentés : *Beta vulgaris* ssp *maritima* et *Beta macrocarpa*. DEA. Université de Paris VI, XI et INA Paris-Grignon, Paris.
- Hsin, H. et Kenyon, C. (1999). Signals from the reproductive system regulate the lifespan of *C. elegans*. *Nature* **399** : 362-366.
- Jauzein, P. (1995). Flore des champs cultivés. INRA, Paris.

- Jönsson, K.I. et Tuomi, J. (1994). Costs of reproduction in a historical perspective. *Trends in Ecology and Evolution* **9** : 304-307.
- Karban, R. (1997). Evolution of prolonged development: a life table analysis for periodical cicadas. *The American Naturalist* **150** : 446-461.
- Keeley, J.E. et Bond, W.J. (1999). Mast flowering and semelparity in bamboos: the bamboo fire cycle hypothesis. *The American Naturalist* **154** : 383-391.
- Kirkendall, L.R. et Stenseth, N.C. (1985). On defining "breeding once". *The American Naturalist* **125** : 189-204.
- Kirkwood, T.B.L. (1981). Repair and its evolution: survival versus reproduction. 165-189 in *Physiological ecology: an evolutionary approach to resource use*, édité par Townsend, C.R. et Calow, P. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Kirkwood, T.B.L. (1985). Comparative and evolutionary aspects of longevity. 27-44 in *Handbook of the biology of aging*, édité par Finch, C.E. et Schneider, E.L. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Kirkwood, T.B.L. et Austad, S.N. (2000). Why do we age? *Nature* **408** : 233-238.
- Kirkwood, T.B.L. et Rose, M.R. (1991). Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B* **332** : 15-24.
- Klinkhamer, P.G.L., Kubo, T. et Iwasa, Y. (1997). Herbivores and the evolution of the semelparous perennial life-history of plants. *Journal of Evolutionary Biology* **10** : 529-550.
- Kozłowski, J. (1991). Optimal energy allocation models - an alternative to the concepts of reproductive effort and cost of reproduction. *Acta Oecologica* **12** : 11-33.
- Kozłowski, J. (1992). Optimal allocation of resources to growth and reproduction : implications for age and size at maturity. *Trends in Ecology and Evolution* **7** : 15-19.
- Kozłowski, J. et Teriokhin, A.T. (1999). Allocation of energy between growth and reproduction: the Pontryagin maximum principle solution for the case of age- and season-dependent mortality. *Evolutionary Ecology Research* **1** : 423-441.
- Lande, R. (1982). A quantitative genetic theory of life history evolution. *Ecology* **63** : 607-615.
- Leggett, W.C. et Carscadden, J.E. (1978). Latitudinal variation in reproductive characteristics of American Shad (*Alosa sapidissima*): evidence for population specific life history strategies in fish. *J. Fish. Res. Board Can.* **35** : 1469-1478.
- Lejealle, F., d'Aguillar, J. et d'Ambra, V. (1982). Ennemis et maladies de la betterave sucrière. Deleplanque & Cie, Diffusion Sucre Union, Maisons-Lafitte, France.
- Letschert, J.P.W. (1993). *Beta section Beta*: biogeographical patterns of variation and taxonomy. *Wageningen Agric. Univ. Papers* **93** : 1-155.
- Lloyd, D.G. (1980). Demographic factors and mating patterns in Angiosperms. 67-87 in *Demography and evolution in plant populations*, édité par Solbrig, O.T. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Martinez, D.E. et Levinton, J.S. (1992). Asexual metazoans undergo senescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **89** : 9920-9923.
- McNamara, J.M. et Houston, A.I. (1996). State-dependent life histories. *Nature* **380** : 215-220.
- Michelmore, R.W., Paran, I. et Kesseli, R.V. (1991). Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis : a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **88** : 9828-9832.
- Mörchen, M., Cuguen, J., Michaelis, G., Hänni, C. et Saumitou-Laprade, P. (1996). Abundance and length polymorphism of microsatellite repeats in *Beta vulgaris* L. *Theoretical and Applied Genetics* **92** : 326-333.
- Morgan, M.T., Schoen, D.J. et Bataillon, T.M. (1997). The evolution of self-fertilization in perennials. *The American Naturalist* **150** : 618-638.
- Murphy, G.I. (1968). Pattern in life history and the environment. *The American Naturalist* **102** : 391-403.
- Nilsson, J.-Å. et Svensson, E. (1996). The cost of reproduction: a new link between current reproductive effort and future reproductive success. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* **263** : 711-714.

- Noodén, L.D. (1980). Senescence in the whole plant. 219-258 in *Senescence in plants*, édité par Thimann, K.V. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Noodén, L.D. (1988a). Abscissic acid, auxin, and other regulators of senescence. 329-368 in *Senescence and aging in plants*, édité par Noodén, L.D. et Leopold, A.C. Academic Press, London.
- Noodén, L.D. (1988b). The phenomena of senescence and aging. 1-50 in *Senescence and aging in plants*, édité par Noodén, L.D. et Leopold, A.C. Academic Press, London.
- Noodén, L.D. (1988c). Whole plant senescence. 391-439 in *Senescence and aging in plants*, édité par Noodén, L.D. et Leopold, A.C. Academic Press, London.
- Noodén, L.D., Guimét, J.J. et John, I. (1997). Senescence mechanisms. *Physiologia Plantarum* **101** : 746-753.
- Noodén, L.D., Kahanak, G.M. et Okatan, Y. (1979). Prevention of monocarpic senescence in soybeans with auxin and cytokinin: an antidote for self-destruction. *Science* **206** : 841-843.
- Nordling, D., Andersson, M., Zohari, S. et Gustafsson, L. (1998). Reproductive effort reduces specific immune response and parasite resistance. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* **265** : 1291-1298.
- Oléo, M., Van Geyt, J.P.C., Lange, W. et De Bock, T.S.M. (1986). Investigations on an interspecific hybrid involving three species of the genus *Beta*, with special references to isozyme polymorphism. *Theoretical and Applied Genetics* **78** : 261-266.
- Oppliger, A., Christe, P. et Richner, H. (1997). Clutch size and malarial parasites in female great tits. *Behavioral Ecology* **8** : 148-152.
- Orzack, S.H. et Tuljapurkar, S. (1989). Population dynamics in variable environments. VII. The demography and evolution of iteroparity. *The American Naturalist* **133** : 901-923.
- Ots, I. et Hórák, P. (1996). Great tits *Parus major* trade health for reproduction. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* **263** : 1443-1447.
- Partridge, L. et Barton, N.H. (1993). Optimality, mutation and the evolution of ageing. *Nature* **362** : 305-311.
- Partridge, L. et Barton, N.H. (1996). On measuring the rate of ageing. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* **263** : 1365-1371.
- Partridge, L. et Fowler, K. (1992). Direct and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **46** : 76-91.
- Partridge, L. et Mangel, M. (1999). Messages from mortality: the evolution of death rates in the old. *Trends in Ecology and Evolution* **14** : 438-442.
- Partridge, L., Prowse, N. et Pignatelli, P. (1999). Another set of responses and correlated responses to selection on age at reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences* **266** : 255-261.
- Perez-Campo, R., Lopez-Torres, M., Cadenas, S., Rojas, C. et Barja, G. (1998). The rate of free radical production as a determinant of the rate of aging: evidence from the comparative approach. *Journal of Comparative Biology B* **168** : 149-158.
- Perrin, N. (1991). Reproductive effort, reproductive costs and optimal allocation models: a comment on Kozłowski's paper. *Acta Oecologica* **12** : 175-175.
- Perrin, N. (1992). Optimal resource allocation and the marginal value of organs. *The American Naturalist* **139** : 1344-1369.
- Perrin, N. et Sibly, R.M. (1993). Dynamic models of energy allocation and investment. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24** : 379-410.
- Perrin, N., Sibly, R.M. et Nichols, N.K. (1993). Optimal growth strategies when mortality and production rates are size-dependent. *Evolutionary Ecology* **7** : 576-592.
- Pillen, K., Steinrücken, G., Wricke, G., Herrmann, R.G. et Jung, C. (1992). A linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics* **84** : 129-135.
- Pimm, S.L. (1997). In search of perennial solutions. *Nature* **389** : 126-127.
- Pletcher, S.D., Houle, D. et Curtsinger, J.W. (1998). Age-specific properties of spontaneous mutations affecting mortality in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **148** : 287-303.
- Primack, R. et Stacy, E. (1998). Cost of reproduction in the pink lady's slipper orchid (*Cypripedium acaule*, Orchidaceae): an eleven-year experimental study of three populations. *American Journal of Botany* **85** : 1672-1679.

- Promislow, D.E.L. (1995). New perspectives on comparative tests of antagonistic pleiotropy using *Drosophila*. *Evolution* **49** : 394-397.
- Promislow, D.E.L. et Tatar, M. (1998). Mutation and senescence: where genetics and demography meet. *Genetica* **102/103** : 299-314.
- Reznick, D. (1985). Costs of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* **44** : 257-267.
- Reznick, D. (1992). Measuring the costs of reproduction. *Trends in Ecology and Evolution* **7** : 42-45.
- Reznick, D.A., Bryga, H. et Endler, J.A. (1990). Experimentally induced life-history evolution in a natural population. *Nature* **346** : 357-359.
- Reznick, D.N., Butler IV, M.J., Rodd, F.H. et Ross, P. (1996). Life-history evolution in Guppies (*Poecilia reticulata*) 6. Differential mortality as a mechanism for natural selection. *Evolution* **50** : 1651-1660.
- Ricklefs, R.E. (1998). Evolutionary theories of aging: confirmation of a fundamental prediction, with implications for the genetic basis and evolution of life-span. *The American Naturalist* **152** : 24-44.
- Ricklefs, R.E. et Finch, C.E. (1995). Aging. A natural history. Scientific American Library, New York.
- Robertson, O.H. (1961). Prolongation of the life span of kokanee salmon (*Oncorhynchus nerka kennerlyi*) by castration before beginning of gonad development. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **47** : 609-621.
- Rose, M.R. (1991). Evolutionary biology of aging. Oxford University Press, Oxford.
- Rose, M.R. et Bradley, T.J. (1998). Evolutionary physiology of the cost of reproduction. *Oikos* **83** : 443-451.
- Schaffer, W.M. (1974). Selection for optimal life histories: the effects of age structure. *Ecology* **55** : 291-303.
- Schaffer, W.M. et Rosenzweig, M.L. (1977). Selection for optimal life histories. II: Multiple equilibria and the evolution of alternative reproductive strategies. *Ecology* **58** : 60-72.
- Service, P.M., Hutchinson, E.W. et Rose, M.R. (1988). Multiple genetic mechanisms for the evolution of senescence in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **42** : 708-716.
- Sgrò, C.M. et Partridge, L. (1999). A delayed wave of death from reproduction in *Drosophila*. *Science* **286** : 2521-2524.
- Shanley, D.P. et Kirkwood, T.B.L. (2000). Calorie restriction and aging: a life-history analysis. *Evolution* **54** : 740-750.
- Shykoff, J. et Bucheli, E. (1995). Pollinator visitation patterns, floral rewards and the probability of transmission of *Microbotryum violaceum*, a venereal disease of plants. *Journal of Ecology* **83** : 189-198.
- Silvertown, J.W. (1983). Why are biennials sometimes not so few ? *The American Naturalist* **121** : 448-453.
- Snow, A.A. et Whigham, D.F. (1989). Costs of flower and fruit production in *Tipularia discolor* (Orchidaceae). *Ecology* **70** : 1286-1293.
- Sohn, J.J. et Policansky, D. (1977). The costs of reproduction in the mayapple *Podophyllum peltatum* (Berberidaceae). *Ecology* **58** : 1366-1374.
- Stearns, S.C. (1992). The evolution of life histories. Oxford University Press, Oxford.
- Stearns, S.C., Ackermann, M., Doebeli, M. et Kaiser, M. (2000). Experimental evolution of aging, growth, and reproduction in fruitflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **97** : 3309-3313.
- Tanksley, S.D. (1993). Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics* **27** : 205-233.
- Taylor, H.M., Gourley, R.S., Lawrence, C.E. et Kaplan, R.S. (1974). Natural selection of life-history attributes: an analytical approach. *Theoretical Population Biology* **5** : 104-122.
- Teriokhin, A.T. (1998). Evolutionary optimal age schedule of repair: computer modelling of energy partition between current and future survival and reproduction. *Evolutionary Ecology* **12** : 291-307.
- Thrall, P.H., Biere, A. et Antonovics, J. (1993). Plant life history and disease susceptibility - the occurrence of *Ustilago violacea* on different species within the Caryophyllaceae. *Journal of Ecology* **81** : 489-498.

- Till-Bottraud, I., Wu, L. et Harding, J. (1990). Rapid evolution of life history trait in populations of *Poa annua* L. *Journal of Evolutionary Biology* **3** : 205-224.
- Uphoff, H. et Wricke, G. (1995). A genetic map of sugar beet (*Beta vulgaris*) based on RAPD markers. *Plant Breeding* **114** : 355-357.
- Van Dijk, H., Boudry, P., McCombie, H. et Vernet, P. (1997). Flowering time in wild beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) along a latitudinal cline. *Acta Oecologica* **18** : 47-60.
- Van Dijk, H. et Desplanque, B. (1999). European *Beta*: crops and their wild and weedy relatives. VIIth International IOPB Symposium. Plant evolution in man-made habitats. 257-270.
- Van Noordwijk, A.J. et de Jong, G. (1986). Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life history tactics. *The American Naturalist* **128** : 137-142.
- Walker, D.W., McColl, G., Jenkins, N.L., Harris, J. et Lithgow, G.J. (2000). Evolution of lifespan in *C. elegans*. *Nature* **405** : 296-297.
- Wang, G.L. et Paterson, A.H. (1994). Assessment of DNA pooling strategies for mapping of QTLs. *Theoretical and Applied Genetics* **88** : 355-361.
- Watkinson, A. (1992). Plant senescence. *Trends in Ecology and Evolution* **7** : 417-420.
- Westendorp, R.G.J. et Kirkwood, T.B.L. (1998). Human longevity at the cost of reproductive success. *Nature* **396** : 743-746.
- Williams, G.C. (1957). Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* **11** : 398-411.
- Williams, G.C. (1966a). Adaptation and natural selection. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Williams, G.C. (1966b). Natural selection, the cost of reproduction and a refinement of Lack's principle. *The American Naturalist* **100** : 687-690.
- Wilson, J.B. (1997). An evolutionary perspective on the "death hormone" hypothesis in plants. *Physiologia Plantarum* **99** : 511-516.
- Worley, A.C. et Harder, L.D. (1996). Size-dependent resource allocation and costs of reproduction in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae). *Journal of Ecology* **84** : 195-206.
- Young, T.P. (1981). A general model of comparative fecundity for semelparous and iteroparous life histories. *The American Naturalist* **118** : 27-36.
- Young, T.P. (1990). Evolution of semelparity in Mount Kenya lobelias. *Evolutionary Ecology* **4** : 157-171.
- Young, T.P. et Augspurger, C.K. (1991). Ecology and evolution of long-lived semelparous plants. *Trends in Ecology and Evolution* **6** : 285-289.
- Zwaan, B., Bijlsma, R. et Hoekstra, R.F. (1995). Direct selection on life span in *Drosophila melanogaster*. *Evolution* **49** : 649-659.
- Zwaan, B.J. (1999). The evolutionary genetics of ageing and longevity. *Heredity* **82** : 589-597.

Méthode Dellaporta (Dellaporta et al. 1983), modifiée, d'extraction de l'ADN total

Cette technique permet d'extraire l'ADN total de 1 g de feuilles fraîches (conservées, soit à -20°C, soit séchées en vue de l'extraction).

- Verser dans autant de tubes Falcon que d'individus à extraire :
- 10 mL de tampon d'extraction (bloque l'action des DNases)
- 10 µL de β-mercaptoéthanol (anti-oxydant très toxique: manipuler sous la hotte)
- Placer les tubes au bain-marie à 65°C
- Verser 2 mL d'acétate de potassium 5M dans une série de tubes à centrifuger Nalgène (50mL)
- Broyer 1 g de feuilles dans un mortier avec de l'azote liquide.
- Transférer la poudre obtenue dans le tube Falcon contenant les 10 mL de tampon + 10 µl de β-mercaptoéthanol, agiter vigoureusement pour dissoudre le glaçon qui se forme.
- Ajouter 1 mL de SDS 20% (w/v).
- Placer les tubes sous agitation modérée 20 min à 65°C (ouvrir 1 fois le bouchon pendant l'incubation pour éviter une surpression liée au dégagement gazeux du SDS).
- Transférer dans les tubes Nalgène contenant l'acétate de potassium 5M.
- Agiter doucement et placer 1 heure dans la glace (précipitation des protéines et des polysaccharides sous la forme d'un complexe avec le dodécyl sulfate de potassium), toutes les 15 min, remuer le tube pour éviter une prise en masse de la solution.
- Centrifuger à 10 000 rpm 20 min à 4°C
- Filtrer à travers 2 épaisseurs de tissu Miracloth (Calbiochem USA) dans un tube Nalgène de 30 mL
- Ajouter dans chaque tube 10 mL d'isopropanol et mélanger très doucement jusqu'à obtention d'une phase homogène pour une bonne précipitation des acides nucléiques.
- Placer 1 heure à -20°C.
- Centrifuger 30 min à 12 000 rpm, 4°C.
- Jeter le surnageant et sécher en retournant les tubes sur papier absorbant.
- Verser 5 mL de TE dans chaque tube. Placer 5-10 min au bain-marie sous agitation lente à 65°C jusqu'à reprise du culot, puis en agitation douce à température ambiante.
- Centrifuger 5 min à 10 000 rpm à 4°C pour éliminer les matériaux non dissous
- Ajouter 0,5 mL de Na Acétate 3.3M, ou, si l'extrait est riche en polysaccharides, verser dans un tube Nalgène contenant 0,59 g de NaCl (2 M en concentration finale), et placer les tubes en agitation lente jusqu'à complète dissolution du sel.
- Ajouter 5 mL d'isopropanol et mélanger doucement jusqu'à obtention d'une phase homogène

- Placer 30 min à -20°C
- Centrifuger 30 mn à 12 000 rpm, 4°C.
- Jeter le surnageant et sécher en retournant les tubes sur papier absorbant, laver les culots 2 fois avec 2-5 mL d'éthanol à 70 % (v/v) glacé à -20°C (centrifuger 10 min à 12000 rpm après chaque lavage).
- Sécher les culots 5 min dans le four à vide (l'alcool restant gênera les digestions futures et un culot trop sec ne se dissout pas correctement).
- Reprendre les culots avec 0,5 mL de TE pendant une nuit sur la paillasse, si nécessaire finir de dissoudre au bain marie 10 min à 65°C. (pas plus, au delà on récupère beaucoup de sucres et d'ADN dégradé). Centrifuger en Eppendorf 5 min à 14 000 rpm pour éliminer ce qui ne s'est pas dissous, récupérer le surnageant dans les tubes de stockage étiquetés.
- Stocker les extraits à 4°C (stockage à court terme) ou à -20°C (stockage à long terme).

Solutions

Tampon extraction

- 100 mM Tris-HCl
- 500 mM NaCl
- 50 mM EDTA
- PVP 40 soluble à 2% (P/V) (le PolyVinyl-Polypyrrolidone, piège les composés phénoliques)
- pH=8,0 (ajusté avec HCl)

Acétate de potassium 5M

SDS 20%

NaAcétate 3.3M

TE

- 10 mM de Tris,
- 1 mM d' EDTA,
- pH=8

Extraction rapide d'ADN total d'après Edwards (modifié)

Méthode essentiellement adaptée en vue de PCR

- Numéroté une série de tubes 1,5 mL, les placer dans la glace et y déposer 10 à 50 mg de matériel frais (soit environ la section d'une feuille coupée en refermant un Eppendorf)
- Sortir les tubes de la glace, ajouter 200 µL de tampon d'extraction
- Ecraser avec un piston adapté à l'Eppendorf en veillant à ne pas tasser les tissus dans le fond du tube
- Rajouter 200 µL de tampon d'extraction de manière à nettoyer le piston et le retirer
- Laisser 20 min sur la paille. Pendant ce temps, numéroté une nouvelle série de tubes et allumer la pompe à vide (préchauffage de 30 min)
- Centrifuger 4 min à 14000 rpm (20°C). Si on extrait une grande série d'échantillons, centrifuger en deux lots
- Reprendre 300 µL de surnageant dans les nouveaux tubes
- Ajouter 300 µL d'isopropanol à 4°C. Mélanger doucement et incuber dans la glace (5 min minimum)
- Centrifuger 5 min à 14000 rpm (4°C)
- Vider le surnageant et décanter
- Sécher le culot 10 min au Speedvac
- Reprendre le culot dans 100 µL de TE (une nuit)
- Centrifuger et reprendre le surnageant dans une nouvelle série de tubes

Tampon extraction

- 100 mM Tris-HCl pH 8
- 250 mM NaCl
- 25 mM EDTA
- PVP 40 soluble 1% (P/V) (le PolyVinyl-Polypyrrolidone, piège les composés phénoliques)
- SDS 0,5%
- pH=8,0 (ajusté avec HCl)

TE

- 10 mM de Tris,
- 1 mM d' EDTA,
- pH=8

Motifs des locus microsatellites Bvm3 et CAA1

Locus	Motif
CAA1	(CAT) ₄ (CAA) ₁₄
BVM3	(CT) ₁₅ CC(T) ₁₀

Conditions de PCR pour les locus microsatellites Bvm3 et CAA1

	Concentration finale dans le mélange
Tampon	1 X
Eau	qsp 11 µL
BSA	0,2mg/mL
MgCl2	1,5mM
dNTP	200 µM
GTT1-F-700	1,5 pmoles
GTT1-R	1,5 pmoles
TAQ	0,5 U

Volume final de mélange =11 µL
Ajouter 4 µL (25 ng) d’ADN
⇒ volume total = 15 µL

- Conditions d’amplification :**
- Activation de la Taq : 3 min à 95 °C
 - N cycles (N = 25 pour Bvm3 et 35 pour CAA1) :
 - Dénaturation : 0 min 40 sec à 94 °C
 - Appariement : 0 min 40 sec à Tm = 54 °C
 - Elongation : 0 min 40 sec à 72 °C
 - Elongation terminale : 10 min à 72 °C

Mise au point d'une méthode de culture *in vitro* de la betterave :

- Cultivée : *B. v. vulgaris*

- Sauvage : *B. v. maritima* et *B. macrocarpa*

modifié d'après une méthode fournie par P. Klinkhamer et Karin

Préparation des milieux de culture

1) Milieu de germination :

- Peser 6g d'agar (6g/L) et 10g de saccharose (10g/L) et mettre le tout dans une bouteille Schott.
- Compléter à 1 litre avec de l'eau bi-distillée.
- Placer la bouteille Schott à l'autoclave pendant 25 minutes à 115° C.

2) Milieu de multiplication :

On utilise un milieu Murashige et Skoog ½ (Murashige et Skoog 1962).

- Dans une bouteille Schott, mettre environ 300 mL d'eau bi-distillée afin d'éviter la précipitation des éléments minéraux.
- Ajouter les macroéléments (à l'aide d'une pipette jaugée) à raison de 5 mL de chacune de ces cinq solutions :
 - ✓ NH_4NO_3 à 1650 mg/L
 - ✓ $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ à 332,02 mg/L
 - ✓ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ à 180,54 mg/L
 - ✓ KNO_3 à 1900 mg/L
 - ✓ KH_2PO_4 à 170 mg/L
- Puis ajouter 5 mL d'une solution de microéléments, toujours à l'aide d'une pipette jaugée. Cette solution contient (en mg/L):
 - ✓ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,025
 - ✓ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0,025
 - ✓ H_3BO_3 : 6,2
 - ✓ KI : 0,83
 - ✓ $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 16,9
 - ✓ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0,25
 - ✓ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 8,6
- Ensuite, ajouter 5 mL d'une solution à base de fer ($\text{NaFeEDTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$: 385 mg/L)
- Ajouter enfin 5 mL d'une solution de vitamines spécifiques au milieu Murashige et Skoog :
 - ✓ Glycine : 2 mg/L
 - ✓ myo-inositol : 100 mg/L
 - ✓ acide nicotinique : 0,5 mg/L
 - ✓ pyridoxine HCl : 0,5 mg/L

✓ Thiamine HCl : 0,1 mg/L

- Peser alors 30 g de saccharose, l'ajouter à la solution. Agiter pour dissoudre le saccharose.
- Le pH doit être égal à 5,5. S'il est inférieur, ajouter à l'aide d'une solution de NaOH N ou NaOH N/10 pour ramener le pH à 5,5 (pH optimum au développement des plantes).
- Poser la solution ainsi préparée sur une plaque chauffante, de façon à éviter sa gélification.
- Dans une autre bouteille, mettre environ 400ml d'eau bi-distillée, ajouter 5 g d'Agar en poudre. Mettre la solution à chauffer au micro-onde, en agitant de temps en temps, jusqu'à ce qu'elle devienne limpide.
- Mélanger alors les 2 solutions et compléter à un litre à l'aide d'eau bi-distillée .
- 660 mL de ce milieu sont répartis dans 48 tubes à essai : il faut donc mettre environ 14 mL du milieu dans chacun des tubes. Puis reboucher les tubes avec un bouchon en cellulose. Recouvrir chaque panier de papier Kraft sur lequel est mis un témoin d'autoclave. Les placer alors à l'autoclave pendant 25 min à 115°C, avec le reste du milieu.

Aseptisation des graines

Le traitement pour aseptisation spécifique de la chicorée s'est révélé être le plus adapté (moins de contaminations et meilleur taux de germination sur des tests sur *B. v. vulgaris*, *B. v. maritima* et *B. macrocarpa*) face au traitement classique de la betterave⁸ et à celui utilisé classiquement en culture *in vitro*⁹.

Ce travail se fait sous hotte aseptisante :

- Poste dépoussiéré à écoulement laminaire horizontal
- Marque : Flufrance Type Ariane 18
- Filtre : nombre 2 Dim 915x610x70
Efficacité 99%
- Préfiltre : 1 x (1780 x 410 x N)
Efficacité 95 %

Traitement spécifique de la chicorée = HgCl₂

- Placer une quinzaine de glomérules de chaque génotype dans une solution de chlorure de mercure HgCl₂ 1% à laquelle ajouter une goutte de Mercryl pour faciliter le contact entre la solution et les graines. Laisser pendant 20 min.
- Effectuer ensuite 3 rinçages à l'eau distillée.

⁸ Traitement au NaOH d'après Pedersen et al. (1993). Placer une quinzaine de glomérules de chaque génotype dans une solution de NaOH 5N pendant 30 min. Pendant ce temps, préparer une solution d'hypochlorite de sodium à 5% (= 50g/l). Peser alors 10g d'hypochlorite de sodium, que l'on met dans une bouteille Schott et compléter à 200 ml avec de l'eau distillé. Agiter, laisser reposer puis filtrer. Vider alors la solution de NaOH 5N et mettre celle d'hypochlorite de sodium à la place pendant 20 min. Enfin, faire trois rinçages à l'eau distillée.

⁹ Traitement à l'HypCa utilisé en culture *in vitro*. Prélever 15 glomérules de chaque génotypes que l'on place tout d'abord 1 min dans du Mercryl à 10%. Effectuer ensuite un passage à l'éthanol à 70 % (ce qui permet d'enlever la mousse). Préparer alors une solution d'hypochlorite de calcium à 9% (90g/L). Mettre dans une bouteille de Schott 18 g d'hypochlorite de calcium et compléter à 200 mL avec de l'eau distillée. Mettre alors, après avoir vidé l'éthanol, la solution d'hypochlorite de calcium. Laisser pendant 20 min. Faire enfin 3 rinçages à l'eau distillée.

Mise en culture des glomérules

- Couler le milieu de germination dans les boîtes de Pétri, attendre qu'il prenne, déposer les glomérules. Entourer de Parafilm afin d'éviter toute contamination.
- Les boîtes sont placées dans une salle de culture de photopériode de 14 h de lumière et de 20 h d'obscurité. La température est de 18-20 °C la journée et de 17-18 °C la nuit.

Clonage des jeunes plantules

Chaque jeune plantule est coupée dans le sens de la longueur en 2, de façon à laisser sur chaque moitié une feuille et un cotylédon (attention à toujours travailler en conditions aseptiques : hotte aseptisante, nettoyage à l'alcool et flamme des ustensiles). La tige et les racines sont enlevées, en coupant l'hypocotyle juste en dessous (1 à 2 cm) des cotylédons (ou du collet).

Les explants sont placés dans le milieu de multiplication (sans ajout d'hormones).

On observe, après deux semaines environ, un enracinement des plantules.

Bibliographie des annexes

- Dellaporta, S.L., Wood, J. et Hicks, J.B. (1983). A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology Reporter* **1** : 19-21.
- Murashige, T. et Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* **15** : 473-497.
- Pedersen, C., Hall, R.D. et Krens, F.A. (1993). Petiole as the tissue source for isolation and culture of *Beta vulgaris* and *Beta maritima* protoplasts. *Plant Science* **95** : 89-97.

