

143752

50376
2002
55

UNIVERSITE LILLE I
U.F.R. DE BIOLOGIE

THESE

pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE LILLE I
Discipline : Sciences de la vie et de la santé

présentée et soutenue publiquement

par

Sylvain FAUGERON

le 22 avril 2002



EPIDEMIOLOGIE, BIOLOGIE ET GENETIQUE DES POPULATIONS
DE *MAZZAELLA LAMINARIOIDES* (RHODOPHYTA) INFECTEE
PAR *ENDOPHYTON* SP. (CHLOROPHYTA)
ET *PLEUROCAPSA* SP. (CYANOBACTERIA)

Directeurs de thèse :

Myriam VALERO, Directrice de Recherche, CNRS Roscoff

et

Juan A. CORREA, Professeur, Université Catholique du Chili

JURY

Isabelle OLIVIERI	Professeur, Université Montpellier II	Rapporteur
Akira PETERS	PhD, Station Biologique de Roscoff	Rapporteur
Philippe POTIN	Chargé de recherche, CNRS Roscoff	Examineur
Joël CUGUEN	Professeur, Université Lille I	Examineur

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	11
----------------------------	----

1. MODELES BIOLOGIQUES ET CARACTERISTIQUES DES POPULATIONS ETUDIEES.....	23
---	-----------

1.1 L'hôte : <i>Mazzaella laminarioides</i>.....	23
---	-----------

1.1.1 Description taxonomique et morphologique.....	23
---	----

1.1.1.1 Aspects taxonomiques et phylogénétiques.....	23
--	----

1.1.1.2 Cycle de reproduction.....	25
------------------------------------	----

1.1.1.3 Morphologie.....	25
--------------------------	----

1.1.2 Aspects écologiques.....	27
--------------------------------	----

1.1.2.1 Distribution de l'espèce.....	27
---------------------------------------	----

1.1.2.2 Caractéristiques générales des populations.....	29
---	----

1.1.2.3 Dispersion.....	31
-------------------------	----

1.2 La cyanobactérie <i>Pleurocapsa</i> sp.	33
---	-----------

1.2.1 Description taxonomique et morphologique.....	33
---	----

1.2.2 Cycle d'infection et symptômes.....	34
---	----

1.2.3 Aspects écologiques et épidémiologiques.....	35
--	----

1.2.3.1 Distribution de l'espèce et spécificité d'hôte.....	35
---	----

1.2.3.2 Prévalence.....	36
-------------------------	----

1.2.3.3 Dispersion.....	36
-------------------------	----

1.2.3.4 Adaptation locale.....	39
--------------------------------	----

1.3 L'algue verte <i>Endophyton ramosum</i>.....	39
---	-----------

1.3.1 Description taxonomique et morphologique.....	39
---	----

1.3.1.1 Aspects taxonomiques et phylogénétiques.....	39
--	----

1.3.1.2 Morphologie et cycle de reproduction.....	41
---	----

1.3.2 Cycle d'infection et symptômes.....	41
---	----

1.3.3 Aspects écologiques et épidémiologiques.....	42
--	----

1.3.3.1 Distribution de l'espèce et spécificité d'hôte.....	42
---	----

1.3.3.2 Prévalence.....	43
-------------------------	----

1.3.3.3 Dispersion.....	43
-------------------------	----

1.4	Caractéristiques des populations étudiées	45
1.4.1	Caractéristiques de chaque population	45
1.4.1.1	Santo Domingo (STDO : 33°37'S, 71°40'O)	47
1.4.1.2	Matanzas (MAT : 33°58'S 71°53'O).....	49
1.4.1.3	Topocalma-Nord (TOPO-N : 34°30'S, 71°56'O).....	49
1.4.1.4	Topocalma-Milieu (TOPO-M : 34°50'S, 71°58'O).....	51
1.4.1.5	Topocalma-Sud (TOPO-S : 34°80S, 72°10'O).....	51
1.4.1.6	Constitución (CONS : 36°49'S 73°09'O).....	51
1.4.1.7	Pucatrihue (PUC : 40°33'S 73°43'O)	53
2.	GENETIQUE DES POPULATIONS HOTES.....	57
2.1	Introduction	57
2.1.1	Hiéarchisation spatiale de la diversité génétique neutre.....	57
2.1.2	Caractéristiques importantes chez les espèces marines	58
2.1.2.1	La dispersion pélagique.....	58
2.1.2.2	Les barrières physiques à la migration.....	60
2.1.2.3	L'écosystème côtier : un système à une dimension ?	61
2.1.3	Hypothèses et objectifs relatifs à <i>M. laminarioides</i>	61
2.1.3.1	Structure régionale	61
2.1.3.2	Structure locale.....	63
2.1.3.3	Objectifs	64
2.2	Matériel et Méthodes	64
2.2.1	Choix du marqueur.....	64
2.2.2	Stratégie d'échantillonnage	67
2.2.2.1	Echantillonnage hiérarchique	67
2.2.2.2	Sélection et traitement des échantillons	67
2.2.3	Analyses statistiques	68
2.2.3.1	Diversité génétique.....	68
2.2.3.2	Déséquilibre de liaison	70
2.2.3.3	Analyse de la différenciation génétique	71
2.2.3.4	Détection d'effets de fondation	74
2.2.3.5	Tests d'assignation.....	75
2.3	Résultats	76
2.3.1	Polymorphisme des locus RAPD	76
2.3.2	Diversité génétique.....	79
2.3.2.1	Diversité allélique	79
2.3.2.2	Diversité génotypique	79
2.3.3	Déséquilibre de liaison	80
2.3.4	Recherche de marqueurs influencés par la sélection	81
2.3.5	Analyse de la différenciation génétique.....	81
2.3.5.1	Analyse hiérarchisée de la variabilité génétique.....	81
2.3.5.2	Différenciation des populations et isolement par la distance.....	85
2.3.5.3	Différenciation entre zones infectées et non-infectées.....	85

2.3.6	Détection de potentiels goulots d'étranglement démographique	88
2.3.7	Analyses discriminantes et assignations	89
2.4	Discussion	93
2.4.1	Diversité génétique et régime de reproduction	93
2.4.2	Structure génétique à différentes échelles spatiales	96
2.4.3	Structure génétique à très petite échelle spatiale : des effets récents de goulot d'étranglement ?	98
2.4.4	Orientation des flux de gènes	100
2.5	Conclusions	102
3.	EFFETS DES INFECTIONS SUR LA VALEUR SÉLECTIVE DE	
M. LAMINARIOIDES		109
3.1	Introduction	109
3.1.1	Les effets pathogènes	109
3.1.2	Particularités du modèle algues : le cycle haploïde-diploïde	111
3.1.3	Situation du sujet chez les algues	112
3.1.4	Par quels mécanismes les endophytes peuvent-ils avoir des effets pathogènes chez <i>M. laminarioides</i> ?	115
3.1.5	Objectifs et plan du chapitre	118
3.2	Effets des infections sur la fertilité de <i>M. laminarioides</i>	119
3.2.1	Analyse préliminaire des effets des infections sur la densité de structures reproductives de <i>M. laminarioides</i> (Article 2)	119
3.2.2	Matériel et méthodes	121
3.2.2.1	Stratégie d'échantillonnage	121
3.2.2.2	Protocole expérimental	123
3.2.2.3	Analyses statistiques	124
3.2.3	Résultats	126
3.2.3.1	Distribution des infections	126
3.2.3.2	Effets des infections sur les différentes composantes de la fertilité	127
3.2.4	Discussion	136
3.2.4.1	Distribution des infections	136
3.2.4.2	Effets des infections sur la fertilité de <i>M. laminarioides</i>	137
3.2.4.3	Les mécanismes possibles conduisant aux effets pathogènes de <i>Pleurocapsa</i> sp. sur <i>M. laminarioides</i>	138
3.2.5	Conclusions de la première partie	139
3.3	Dynamique des populations d'hôtes et influence des endophytes	141
3.3.1	Matériel et méthodes	143
3.3.1.1	Stratégie d'échantillonnage	143
3.3.1.2	Distribution des endophytes et structure spatiale des populations d'hôtes	144
3.3.1.3	Dynamique des populations d'hôtes	146

3.3.1.4	Influence des endophytes sur la démographie de l'hôte	146
3.3.2	Résultats	147
3.3.2.1	Distribution des endophytes et structure spatiale des populations d'hôtes	152
3.3.2.2	Susceptibilité différentielle des haploïdes et des diploïdes aux endophytes	153
3.3.2.3	Dynamique des populations d'hôtes	155
3.3.2.4	Influence des endophytes sur la survie des hôtes.....	155
3.3.3	Discussion	156
3.3.3.1	Distribution des endophytes.....	156
3.3.3.2	Dynamique des populations	157
3.3.3.3	Effets des infections sur la survie des individus de <i>M. laminarioides</i>	159
3.3.4	Conclusions de la deuxième partie.....	160
3.4	Effets des infections sur la valeur sélective de <i>M. laminarioides</i> et conséquences démographiques.....	161
3.4.1	Estimation de la valeur sélective.....	161
3.4.2	Relations entre valeur sélective et fréquences d'haploïdes et de diploïdes	163
3.5	Discussion	165
3.5.1	Les endophytes sont-ils des pathogènes ?.....	165
3.5.2	Quelles sont les capacités de réponse évolutive de <i>M. laminarioides</i> aux pressions de sélection exercées par les endophytes ?.....	166
3.5.3	Fonctionnement des (méta) populations de <i>M. laminarioides</i>	168
3.6	Conclusions du Chapitre 3	169
4.	ADAPTATION LOCALE CHEZ <i>PLEUROCAPSA</i> SP.	173
4.1	Introduction	173
4.1.1	Quelles sont les conditions favorisant l'adaptation locale ?	173
4.1.2	Comment tester l'adaptation locale ?.....	176
4.1.3	Hypothèses et objectifs.....	177
4.2	Protocole expérimental	178
4.3	Résultats	181
4.4	Discussion et conclusions	184
	CONCLUSION GENERALE	189
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	193

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

De l'interaction à la coévolution hôte-parasite

L'étude des relations entre les hôtes et leurs parasites pose deux problèmes évolutifs majeurs : celui de l'évolution de la spécialisation (lorsque les parasites attaquent plusieurs hôtes différents), et celui de la coévolution entre ces deux groupes. Le mot coévolution a souvent été utilisé pour désigner des processus très différents (Carton, 1988; Michalakis, 1992). Ici, on emploiera la définition de Futuyama & Slatkin (1983) admettant qu'on a coévolution lorsque "un caractère d'une espèce évolue en réponse à un caractère d'une autre espèce, qui a lui-même évolué en réponse au caractère de la première espèce". Ces changements évolutifs sont nécessaires, non pas pour augmenter mais plutôt pour maintenir l'adaptation à un milieu changeant en permanence. Bell (1982) a utilisé la métaphore de la Reine Rouge, introduite par VanValen (1973), pour décrire ce type d'interactions entre espèces, en référence aux personnages du roman « De l'autre côté du miroir » de Lewis Carroll : Alice, entraînée par la Reine Rouge, devait courir le plus vite possible pour rester à la même place dans un paysage changeant. L'hypothèse de la Reine Rouge reflète le besoin apparent pour une population d'hôtes d'évoluer continuellement afin d'éviter d'être irrésistiblement exterminée par les pathogènes.

Les potentialités évolutives des interactions hôte-parasite peuvent être formalisées en utilisant la théorie de la génétique des populations. Les deux paramètres critiques sont les flux géniques et la sélection naturelle. La différenciation des populations et les possibilités d'adaptation locale des parasites à leur(s) hôte(s)—et des hôtes à leur(s) parasite(s)—vont dépendre de l'équilibre entre ces deux paramètres. Un des aspects fondamentaux de la théorie de la Reine Rouge réside dans la sélection fréquence-dépendante : les parasites ont tendance à s'adapter aux phénotypes les plus communs de la population d'hôtes (et inversement, les hôtes

tendent à s'adapter aux phénotypes les plus communs de la population de parasites). Les phénotypes hôtes rares possèdent donc un avantage sélectif qui va diminuer à mesure qu'ils deviendront plus fréquents dans la population. La compréhension des potentialités coévolutives repose avant tout sur l'étude de la dynamique des populations et des gènes dans les populations.

Le développement de modèles théoriques combinant des paramètres épidémiologiques (densité d'hôtes et de parasites, virulence et résistance) avec des paramètres génétiques (fréquences des gènes, valeurs sélectives) (Anderson & May, 1979; May & Anderson, 1979; May & Anderson, 1983; Franck, 1991; Franck, 1993a; Franck, 1997) a permis de montrer que : (1) les parasites peuvent faire fluctuer la taille des populations d'hôtes, éventuellement jusqu'à l'extinction ; (2) ces pressions de sélections exercées sur les populations d'hôtes dépendent de la fréquence des gènes de résistance et vont affecter les phénotypes les plus communs ; (3) la composition génétique d'une population va dépendre à la fois de la sélection fréquence-dépendante qui opère à l'intérieur de la population et des flux de gènes entre populations. Le rôle exact des flux de gènes est assez variable selon les situations. On s'attend intuitivement à ce que l'adaptation locale diminue lorsque les flux de gènes augmentent et homogénéisent la variabilité génétique entre les populations. Les modèles précédemment décrits montrent que l'introduction de nouveautés génétiques par la migration entre populations génétiquement différenciées peut effectivement réduire la fréquence des gènes de résistance dans la population, et par conséquent réduire l'adaptation des hôtes aux parasites locaux. Mais la migration vient également introduire de nouveaux gènes qui, par leur rareté, vont pouvoir augmenter rapidement en fréquence et rétablir le processus d'adaptation locale (Lively & Apanius, 1995). Gandon *et al.* (1996) ont montré que, lorsqu'il y a coévolution hôte-parasite, et que la différenciation des populations est non seulement spatiale mais aussi temporelle, le rôle des flux de gènes est plus compliqué : lorsque le parasite migre plus que son hôte, il sera généralement adapté à ses populations locales d'hôtes. Inversement, lorsque c'est l'hôte qui migre plus que le parasite, il est adapté aux populations locales de parasites. Les possibilités d'adaptation locale sont

donc à la fois sous l'influence des dynamiques locales qui génèrent la différenciation et des échanges entre populations génétiquement différenciées.

En résumé, trois éléments sont susceptibles d'influencer la dynamique des gènes de virulence et de résistance dans les populations, et donc de favoriser la coévolution entre les parasites et leurs hôtes : (1) les pressions de sélection exercées par le parasite sur la valeur sélective de son hôte (et *vice versa*), (2) la dynamique des populations et (3) les flux de gènes entre populations.

Les parasites sont universellement répandus et affectent tout type d'organisme : des animaux aux végétaux, en passant par les bactéries et les champignons. L'ADN renferme même des séquences, comme les plasmides ou les transposons, qu'on qualifie d'ADN parasite. Outre la diversité de ressources et de types d'habitats offerts aux parasites, l'ensemble des organismes hôtes représente également une formidable richesse de traits d'histoire de vie auxquels le parasite doit s'adapter. A ce titre, les algues constituent un modèle particulièrement intéressant de par la diversité et la complexité des cycles de reproduction. En effet, une multitude de types de cycle est observée et forme un continuum du cycle haploïde (seul le zygote est diploïde et la méiose a lieu immédiatement après sa formation) au cycle diploïde (seuls les gamètes sont haploïdes et la méiose a lieu juste au moment de leur formation) en passant par le cycle haploïde-diploïde¹ (coexistence d'individus haploïdes et d'individus diploïdes), et pouvant inclure une part variable de reproduction végétative (Valero *et al.*, 1992). Les travaux sur la théorie de l'évolution des cycles de vie montrent que le fardeau génétique (l'accumulation d'allèles délétères) est deux fois plus grand dans les populations diploïdes que dans les populations haploïdes (Crow & Kimura, 1965; Perrot *et al.*, 1991). Dans le contexte des interactions hôte-parasite, ce fardeau peut être représenté par l'accumulation, sous la forme de génotypes hétérozygotes, de gènes récessifs ne conférant aucune résistance aux parasites. L'existence d'une phase haploïde individualisée permettrait de réduire ce fardeau, en particulier dans le cas d'une

¹ Cette expression est préférée à celle de « cycle haplo-diploïde » utilisée généralement dans les études portant sur les cycles de vie des algues car elle permet de distinguer les cycles à alternance de générations haploïdes et diploïdes des cycles haplo-diploïdes décrits pour les insectes (où les femelles diploïdes peuvent produire soit des femelles diploïdes soit des mâles haploïdes).

espèce isomorphe où on s'attend à ce que les mêmes gènes soient exprimés dans les deux phases (Richerd *et al.*, 1993; Otto & Marks, 1996). La sélection contre les gènes récessifs serait alors plus efficace dans le processus d'adaptation locale. Mais nous verrons qu'il existe des situations où, bien que le cycle soit isomorphe, il existe des différences physiologiques (en particulier, la sensibilité aux parasites peut être différente entre la génération haploïde et la génération diploïde Correa & MacLachlan, 1991). D'autre part, chez les organismes haploïdes-diploïdes, il existe trois vecteurs de dispersion (les gamètes mâles, les spores diploïdes et les spores haploïdes), ce qui devrait affecter les flux géniques par rapport aux plantes terrestres par exemple qui ne possèdent que deux vecteurs de dispersion (le pollen et les graines).

Situation du sujet chez les algues

Chez les algues, contrairement aux animaux et aux plantes supérieures, les interactions hôte-parasite sont peu étudiées. Les premières études détaillées sur les maladies infectieuses chez les algues datent de la fin des années soixante dix, avec une première revue critique du sujet écrite par (Andrews, 1976). Rapidement, et malgré le tout récent développement de cette discipline en phycologie, plusieurs revues différant dans leurs objectifs furent publiées. Goff & Glasgow (1980) constituèrent une liste exhaustive des organismes associés à divers symptômes décrits chez les algues marines. Les différences entre épiphytisme et endophytisme furent précisées dans le contexte des maladies infectieuses par Goff & Glasgow (1983; voir également Correa, 1994). Plus récemment, des revues traitant d'espèces d'algues d'intérêt commercial furent publiées : Fujita (1990) pour les espèces du genre *Porphyra* et Craigie & Correa (1996) pour *Chondrus crispus* (voir également Ishakawa & Saga, 1989). Enfin, une revue générale des connaissances et approches récentes dans ce qu'on pourrait appeler la « phycopathologie » (terme introduit par Bouarab *et al.*, 2001b), en référence à la phytopathologie des plantes terrestres), avançait en particulier les difficultés et insuffisances pour une meilleure compréhension des interactions hôte-parasite chez les algues (Correa, 1997).

Deux aspects importants sont à prendre en compte lorsqu'on considère les informations disponibles sur les maladies infectieuses chez les algues : (1) la causalité des symptômes n'est généralement pas démontrée ; (2) l'effet pathogène d'un organisme est souvent avancé de façon circonstancielle, d'après les symptômes observés. Néanmoins, la nature descriptive des premières études, principalement dédiées aux descriptions taxonomiques des supposés pathogènes, a été graduellement remplacée ces dernières années par de rigoureux protocoles d'observations et d'expérimentations largement inspirées de ceux appliqués aux plantes terrestres. Ces protocoles, introduits en phycologie par Andrews (1977) et élargis par Andrews & Goff (1984), servent de standard pour les études en cours sur les maladies infectieuses chez les algues (voir également Correa, 1995; 1997).

Les approches actuelles dans l'étude des maladies infectieuses chez les algues

Lorsqu'on découvre une maladie infectieuse nouvelle, ce qui est souvent le cas chez les algues (Correa, 1997), plusieurs étapes complémentaires sont développées au fur et à mesure de l'acquisition des connaissances. La première est basée essentiellement sur des observations de terrain et de laboratoire dans le but d'individualiser le pathogène et de décrire les symptômes associés à la présence de cet organisme. Comme indiqué plus haut, la plupart des publications ne dépassaient pas, jusqu'à très récemment, cette étape. De plus, les informations ainsi obtenues étaient généralement basées sur un unique individu hôte (ou un nombre très restreint), ce qui ne permettait pas d'évaluer l'effet potentiel de l'infection sur l'individu hôte, ni ses répercussions à l'échelle des populations ou des communautés. Cette approche descriptive est cependant essentielle, quelque soit l'objectif du chercheur (aquaculture, gestion de stocks naturels, écologie ou évolution). C'est ainsi, par exemple, que furent caractérisées dans le détail les interactions cellulaires et les relations phylogénétiques très particulières des adelphoparasites avec leurs hôtes. Ces parasites sont des algues rouges endophytes de leur hôte dont elles sont phylogénétiquement très proches (Goff *et al.*, 1996; Goff *et al.*, 1997). Des interactions cellulaires ont lieu à travers des pores spéciaux (pit-connexions)

permettant des communications entre cytoplasmes de l'hôte et du parasite, avec en particulier le transfert du noyau et de la plupart des organelles du parasite dans les cellules de l'hôte (Goff & Coleman, 1984; Goff & Zuccarello, 1994). Ces recherches ont abouti à l'hypothèse selon laquelle les parasites auraient évolué à partir de leur espèce hôte (Goff & Zuccarello, 1994). L'analyse phylogénétique indique en effet que les différentes espèces d'adelphoparasites ont chacune divergé récemment de leur espèce hôte (Goff *et al.*, 1997).

La seconde étape consiste à établir la causalité des symptômes. Cette démonstration est possible en appliquant une procédure standard souvent utilisée chez les plantes terrestres (voir Agrios, 1988), introduite en phycologie par (Andrews, 1977) et connue sous le qualificatif des postulats de Koch. La manipulation en laboratoire des deux organismes (hôte et pathogène) est une condition absolument nécessaire pour pouvoir satisfaire aux postulats de Koch, condition qui est parfois difficile à obtenir du fait de la biologie de l'un ou des deux organismes (exigences particulières pour la croissance, matériel de culture difficilement adaptable à la morphologie de l'organisme dans le cas de certaines macroalgues, etc). Cependant, cette opération a permis de poser un certain nombre de questions allant des mécanismes d'infection et des modes de développement des pathogènes dans leur hôte (Kasama & Fuller, 1970; Andrews, 1977; Molina *et al.*, 1988; Apt & Gibor, 1989; Correa & MacLachlan, 1994a; Weinberger *et al.*, 1994) à la spécificité d'hôte (Kazama, 1979; Correa & MacLachlan, 1991; Müller & Parodi, 1993; Sanchez *et al.*, 1996). Les effets des infections sur la physiologie de l'hôte ont ainsi pu être abordés grâce à la manipulation des hôtes et des parasites au laboratoire (Kremer, 1983; Wu *et al.*, 1983; Apt, 1984; Correa & McLachlan, 1992; Friedlander & Gunkel, 1992; Robledo *et al.*, 1994). Cette approche a en outre permis une avancée tout à fait remarquable dans la compréhension des mécanismes biochimiques de spécificités parfois très poussées. Le système *Chondrus crispus* (une algue rouge) / *Acrochaete operculata* (une algue verte) est l'exemple le plus détaillé. L'endophyte, *A. operculata*, infecte les individus diploïdes de *C. crispus* mais pas les individus haploïdes (Correa & MacLachlan, 1991), qui pourtant ne diffèrent des sporophytes que par la nature des polysaccharides des parois cellulaires :

carraghénanes de type lambda chez les diploïdes, carraghénanes de type kappa et iota chez les haploïdes. Une telle étiologie suggère que le type de polysaccharides des parois de l'hôte régule le pouvoir pathogène du parasite (Correa & McLachlan 1994). L'étude de ce système a révélé que les oligo- λ -carraghénanes générés au cours de l'infection stimulent la virulence du pathogène (on parle d'éllicitation), jusqu'à rendre possible l'infection des individus haploïdes (normalement résistants) après traitement de l'endophyte. A l'inverse, les oligo- κ -carraghénanes, tout en inhibant la virulence de l'endophyte, déclenchent chez l'hôte une cascade de réactions partant d'une libération importante de H_2O_2 (réaction de défense classique chez les végétaux), ce qui se traduit par une protection indirecte des individus hôtes diploïdes (Bouarab *et al.*, 1999; Bouarab *et al.*, 2001b). Ce même mécanisme a été retrouvé par la suite chez *Gracilaria conferta*, une autre algue rouge (Weinberger *et al.*, 1999; Weinberger & Friedlander, 2000) et chez l'algue brune *Laminaria digitata* (Küpper *et al.*, 2001).

L'information ainsi obtenue peut être suffisante pour aider les cultivateurs d'algues à prendre des mesures adéquates pour prévenir le développement de maladies infectieuses ou atténuer l'effet négatif des pathogènes. Ce fut le cas pour les infections touchant *Porphyra* (pour revue voir par Fujita, 1990), *Laminaria japonica* (Wu *et al.*, 1983) et *Chondrus crispus* (Craigie, 1990 ; Craigie & Correa, 1996). Cependant, les pathogènes ne s'attaquent évidemment pas aux seules populations artificielles des cultivateurs, mais également aux populations naturelles.

Une troisième approche dans l'étude des maladies infectieuses chez les algues concerne les effets des pathogènes sur la structure et la dynamique des populations naturelles d'hôtes, ainsi que des répercussions à l'échelle des communautés. Cette étape est certes optionnelle si l'objectif est le contrôle en conditions de culture. Mais elle constitue la base des aspects de biologie et d'écologie de la conservation, des études de structure et fonctionnement des populations et des communautés liées aux interactions hôte-pathogène, et des potentialités co-évolutives. Alors que les études de biologie des populations et d'écologie se sont fréquemment intéressées aux effets de la compétition entre espèces ou aux effets de l'herbivorie sur les populations et les communautés, les pathogènes ont été, d'une certaine façon, laissés de côté. Une des

raisons essentielles est le manque de connaissances, en général, dans la biologie de ces organismes, ainsi que la difficulté de les manipuler expérimentalement. C'est l'étude des effets des pathogènes sur la structure et la dynamique des populations d'hôtes que j'ai entrepris d'approfondir au cours de ma thèse.

Objectifs de la présente étude

L'objectif central de cette thèse est d'étudier les possibilités d'adaptation locale dans un système dont l'hôte est une algue marine. Ce travail est centrée sur l'étude de *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq, une algue rouge, infectée par *Endophyton ramosum*, une algue verte, et *Pleurocapsa* sp., une cyanobactérie. Il s'agit de comprendre le fonctionnement des populations de *M. laminarioides* dans le contexte des interactions avec ses parasites. Afin d'étudier les potentialités coévolutives de ce système, quatre types d'approches ont été développés : (1) structure génétique des populations d'hôtes, (2) épidémiologie, (3) démographie et (4) expérimentation en populations naturelles. Ces approches ont été menées afin (1) d'estimer les flux de gènes entre populations d'hôtes, (2) d'analyser les effets des infections sur la valeur sélective de leur hôte, (3) d'analyser la structure et la dynamique démographique des populations d'hôtes, et finalement (4) de tester l'adaptation locale entre endophytes et hôtes. L'objectif ultime est de déterminer quels sont les principaux mécanismes intervenant dans le processus d'adaptation locale. Les questions relevant de ces quatre approches sont présentées ci-dessous.

Estimer l'importance des flux géniques dans la différenciation des populations d'hôtes

L'analyse de la structure génétique des populations permet d'inférer des mécanismes responsables de la dynamique des gènes dans l'espace et dans le temps. Il est alors possible d'estimer les flux de gènes entre populations ainsi que l'influence de la sélection naturelle et des processus stochastiques (dérive génétique, effets de fondation et goulots d'étranglement) sur le maintien de la diversité dans les

populations et à l'échelle de la métapopulation². Comment se maintient la diversité dans les populations hôtes ? Comment se différencient les populations d'hôtes ? L'objectif sera ici d'analyser la différenciation génétique des populations à des locus neutres face à la sélection naturelle.

Déterminer les effets des infections sur la valeur sélective de l'hôte

Les différents paramètres de la valeur sélective, tels que la survie, la croissance et la fertilité, vont déterminer la contribution relative des individus aux futures générations et influencent donc la composition génétique des populations. Quelles sont les pressions de sélections que les endophytes exercent sur la valeur sélective de leur hôte ? Les endophytes sont-ils des pathogènes ou simplement des commensaux ? Ces pressions sont-elles identiques ou différent-elles entre les phases haploïde et diploïde ? L'objectif est de savoir si les endophytes exercent une pression de sélection (négative ou positive) sur la valeur sélective de leur hôte, c'est-à-dire, sur sa fertilité et sur sa mortalité.

Etudier la structure et la dynamique démographique des populations d'hôtes

Les caractéristiques démographiques telles que les taux de mortalité et de recrutement déterminent le taux de renouvellement des individus dans la population, ainsi que son taux de croissance. Chez une espèce pratiquant la reproduction sexuée, un renouvellement rapide de la population signifie que sa composition génétique peut changer rapidement, du fait de la recombinaison entre locus. Les caractéristiques démographiques déterminent donc en partie la capacité de réponse évolutive à un changement environnemental. Quelle est cette capacité de réponse évolutive de *M. laminarioides* face aux pressions de sélections des endophytes ? Les infections ont-elles une influence sur les caractéristiques démographiques des populations d'hôtes ? Les populations d'hôtes et/ou de parasites présentent-elles plutôt une stabilité ou bien

² Une métapopulation peut être définie comme un groupe de populations capables d'échanger des gènes par la migration. Pour une définition plus complète du concept de métapopulation et des différents modèles proposés dans la littérature, voir : Hanski & Simberloff (1997).

une stochasticité démographique (extinctions) ? L'objectif est d'analyser ces paramètres démographiques et de discuter de la dynamique des populations d'hôtes.

Etudier les possibilités d'adaptation locale des hôtes et des parasites

L'objectif est de confronter les caractéristiques précédemment décrites chez *M. laminarioides* (pressions de sélections, flux de gènes et dynamiques démographiques) aux possibilités d'adaptation des endophytes aux populations locales d'hôtes.

Ce document est divisé en quatre chapitres :

Le premier chapitre présente les modèles biologiques, les données préliminaires concernant leur interaction, et les populations étudiées.

Le deuxième chapitre analyse la structure génétique des populations de *M. laminarioides*.

Le troisième chapitre analyse les effets des infections sur la valeur sélective de l'hôte. Il est divisé en trois parties : la première étudie les effets des infections sur le potentiel reproductif de *M. laminarioides* (l'essentiel de ce travail concerne l'interaction avec la cyanobactérie *Pleurocapsa* sp.) ; la seconde partie décrit les caractéristiques démographiques de *M. laminarioides* et les effets des infections sur sa survie ; la troisième partie fait la synthèse des résultats des deux premières afin d'estimer les effets des infections sur la valeur sélective de *M. laminarioides*.

Le Chapitre 4 analyse le patron d'adaptation locale (l'essentiel de ce travail expérimental concerne l'adaptation de *Pleurocapsa* sp. aux populations locales de *M. laminarioides*).

CHAPITRE I :
Modèles Biologiques et
caractérisation des populations
étudiées

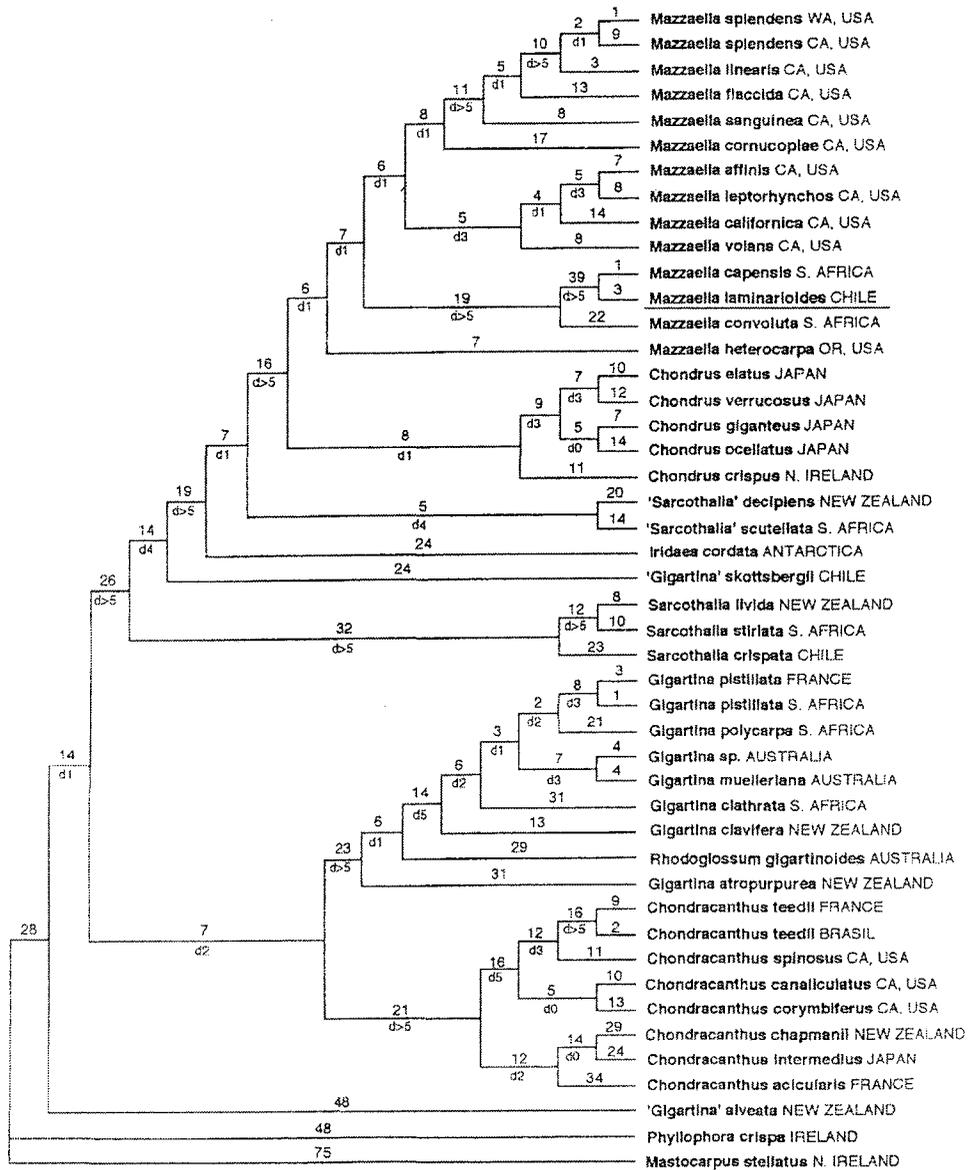


Figure 1.1 : Position phylogénétique de *M. laminarioides* au sein des Gigartinaeae, d'après Hommersand *et al.* (1994). Un des neuf arbres les plus parcimonieux obtenu à partir des séquences de la grande sous-unité de la RuBisCo (1133 bp.).

1. MODELES BIOLOGIQUES ET CARACTERISTIQUES DES POPULATIONS ETUDIEES

La première partie de ce chapitre concerne les caractéristiques de l'espèce hôte, *Mazzaella laminarioides*. Les deuxième et troisième parties concerneront les caractéristiques des espèces endophytes, la cyanobactérie *Pleurocapsa* sp. et l'algue verte *Endophyton ramosum*. Avant mon travail de thèse, des informations sur les interactions avec leur hôte, ainsi que des données épidémiologiques avaient été publiées. Ces connaissances préliminaires ont été déterminantes dans le choix de ce modèle biologique puisqu'il s'agissait d'un des systèmes les mieux étudiés chez les algues, tant au niveau de la caractérisation des interactions que pour les informations obtenues dans les populations naturelles.

La quatrième et dernière partie de ce chapitre présentera les caractéristiques des sites étudiés dans lesquels différentes approches (épidémiologique, génétique et démographique) ont été menées.

1.1 L'hôte : *Mazzaella laminarioides*

1.1.1 Description taxonomique et morphologique

1.1.1.1 Aspects taxonomiques et phylogénétiques

Mazzaella laminarioides (Bory) Fredericq (anciennement *Iridaea laminarioides* Bory, (Hommersand *et al.*, 1993) est une algue rouge de la famille des Gigartinaceae (ordre des Gigartinales, classe des Florideophyceae). Les algues rouges constituent une des plus anciennes lignées d'eucaryotes. Il s'agit d'un groupe monophylétique très diversifié, en partie du fait que les caractères utilisés pour la classification sont eux-mêmes très variables (VanDenHoek *et al.*, 1995). L'absence de flagelle chez les spores et gamètes est une caractéristique commune aux algues rouges. Le cycle de reproduction est, chez ces espèces, majoritairement haploïde-diploïde (alternance d'individus haploïdes et diploïdes). La classe des Florideophyceae forme un groupe homogène (Freshwater *et al.*, 1994), à l'intérieur duquel la famille des Gigartinaceae constitue une lignée qui aurait divergé à partir de la fin du

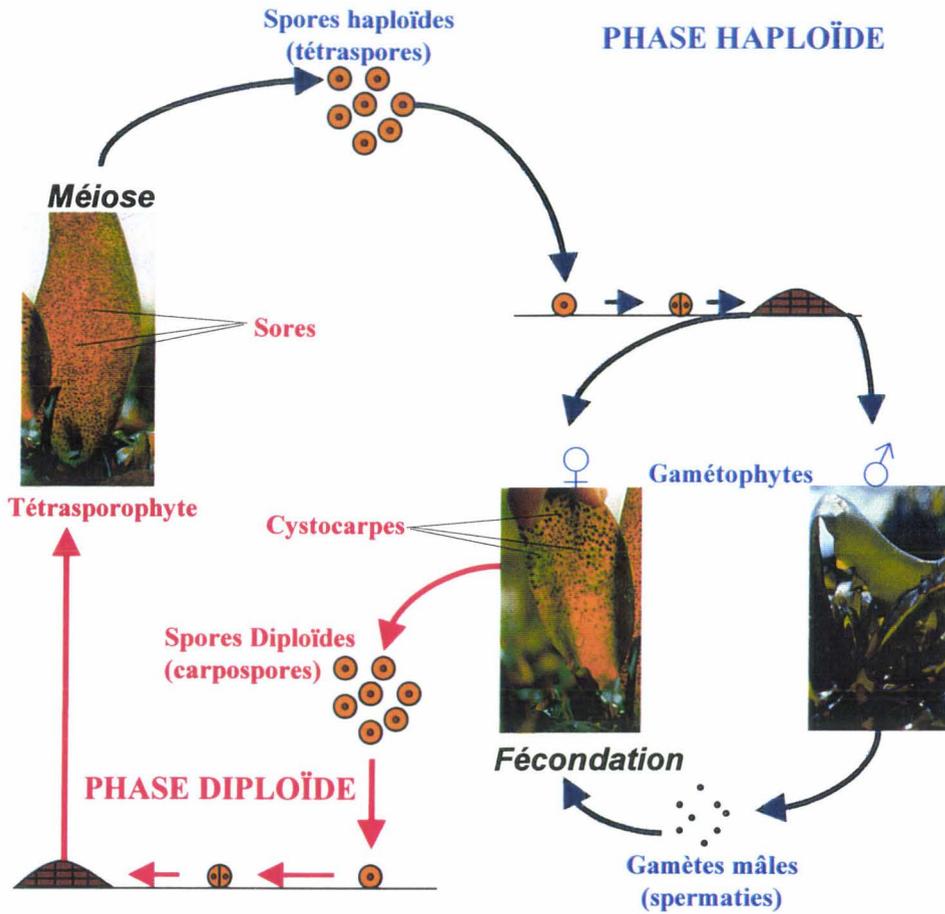


Figure 1.2 : Cycle de reproduction de *Mazzaella laminarioides*.

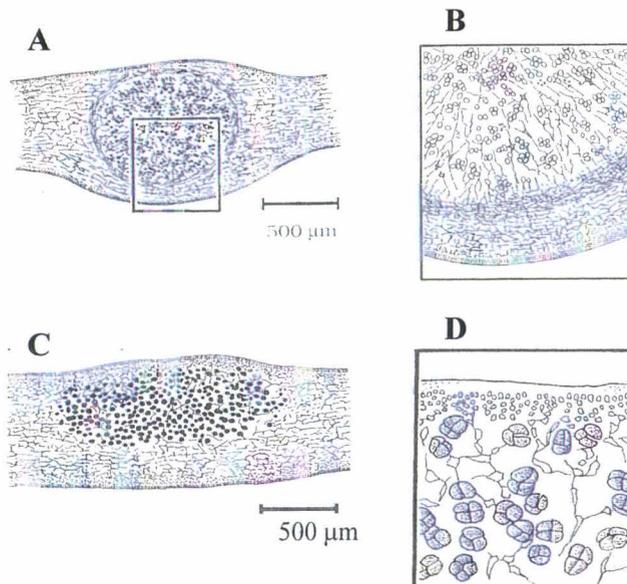


Figure 1.3 : Schémas des structures reproductives de *Mazzaella laminarioides* (d'après Hoffman et Santelices, 1998). A. Cystocarpe. Vue en coupe transversale. B. Détail des carpospores en formation dans le cystocarpe. C. Sore tétrasporangiale. Vue en coupe transversale. D. Détails des tétraspores en formation.

Mésozoïque lors de l'éclatement de la Pangée en différents continents (Hommersand *et al.*, 1994). *Mazzaella* est un genre très proche des *Chondrus*, des *Iridaea* et des *Sarcothalia* (Figure 1.1). Ces espèces présentent des caractéristiques écologiques communes : elles habitent généralement la zone de balancement des marées dans les régions tempérées ou froides. Une caractéristique commune des Gigartinaceae est la composition chimique de la paroi cellulaire, dont les carraghénanes en sont l'élément essentiel. Ces polysaccharides sont à l'origine de l'intérêt commercial pour ces algues puisqu'ils sont largement utilisés comme gélifiant et épaississants pour diverses industries. Au Chili, le terme *Luga* est utilisé par les récoltants et pêcheurs pour définir les diverses espèces de Gigartinaceae qu'ils récoltent (*Mazzaella*, *Gigartina*, *Sarcothalia*, *Iridaea*).

1.1.1.2 Cycle de reproduction

M. laminarioides présente un cycle de reproduction caractéristique des algues rouges de la classe des Florideophyceae (Figure 1.2). Les individus haploïdes (gamétophytes) sont dioïques. Les gamètes sont produits par mitose dans le thalle. Les gamètes mâles (spermaties) sont produits dans de petits renforcements (cryptes) à la surface du thalle. La fécondation a lieu sur la femelle et la caryogamie est suivie de processus cytologiques complexes aboutissant à la formation d'un organe macroscopique, le cystocarpe (Figure 1.3.A). Le cystocarpe est formé d'une enveloppe haploïde de cellules maternelles entourant un tissu diploïde, le gonimoblaste (ou carposporophyte), qui produit par mitoses successives des milliers de spores (les carpospores). Les carpospores libérées se fixent et se développent en un individu diploïde (le tétrasporophyte) morphologiquement identique aux individus haploïdes. La méiose a lieu sur le thalle diploïde dans des structures légèrement différenciées (les sores, Figure 1.3.B). Les spores haploïdes (tétraspores) ainsi produites sont libérées puis se fixent pour se développer chacune en un gamétophyte mâle ou femelle.

1.1.1.3 Morphologie

Les individus haploïdes (mâles et femelles) et diploïdes sont isomorphes. Seul l'examen des structures reproductives (cystocarpes et sores) permet de différencier à l'œil nu les femelles fécondées des tétrasporophytes diploïdes. Les cryptes mâles, des petits points blancs à la surface du thalle, sont facilement confondus avec des piqûres ou des attaques de bactéries et ne permettent donc pas d'identifier de façon fiable les individus de sexe mâle. Cependant, les individus des deux phases ne produisent pas le même type de carraghénanes (Waaland, 1975; McCandless *et al.*, 1983): le gamétophyte contient les types kapa et iota-



Figure 1.4 : Individu complet de *Mazzaella laminarioides* (ici un gaméophyte femelle fécondé).

A : frondes immatures.

B : fronde mature montrant des cystocarpes (taches brunes).

C : partie basale d'une fronde ancienne restant après sa dégradation.

carraghénanes, alors que le tétrasporophyte contient essentiellement du λ -carraghénane. Cette différence permet de discriminer les gamétophytes (haploïdes) des tétrasporophytes (diploïdes) par un test chimique simple (au résorcinol, Craigie & Leigh, 1978). Les individus se composent d'un disque de fixation de moins de 2mm d'épaisseur, à partir duquel émergent les méristèmes et auquel sont fixées les frondes (Figure 1.4). On observe chez un individu adulte un grand nombre de frondes (jusqu'à 50, Hoffmann & Santelices, 1997), dont seulement une à trois frondes à la fois sont de taille maximale (jusqu'à 30 cm) et matures. Les autres frondes sont généralement petites (maximum 5 cm en général) et immatures, positionnées en périphérie du disque. On observe également des frondes sénescents, en général encore matures mais très décomposées par les attaques de bactéries et champignons et en partie consommées par les herbivores, et qui finissent par être complètement éliminées en laissant une cicatrice sur le disque. Les frondes adultes ou en phase de croissance rapide ont une forme de fine lame ovale à lancéolée, composée d'un cortex (couche d'environ une dizaine de petites cellules) enfermant un tissu médullaire constitué de cellules à paroi épaisse. En surface, une cuticule est produite en permanence, donnant un aspect iridescent aux thalles en immersion, et qui permettrait aux thalles de résister plus facilement à la dessiccation, à l'action de certains herbivores (qui consommeraient en fait la microflore en surface du thalle) ou aux dégradations causées par les bactéries (Gerwick & Lang, 1977). Toutes les frondes sont rattachées à leur disque par une base étroite, épaisse et résistante, en forme caractéristique de croissant de lune (en coupe transversale).

1.1.2 Aspects écologiques

1.1.2.1 Distribution de l'espèce

M. laminarioides est présente dans les eaux tempérées à froides, le long des côtes chiliennes, dans tout l'extrême sud du continent sud-américain, autour du Cap Horn, en incluant le sud de l'Argentine et les îles Falkland (Hommersand *et al.*, 1993; Hoffmann & Santelices, 1997). Sa limite nord se situe aux environs du trentième parallèle (vers la localité de Coquimbo). Cette distribution est partagée avec plusieurs autres Gigartinaceae des genres *Iridaea* et *Sarcothalia* (Hannach & Waaland, 1986), et est vraisemblablement influencée par la présence de courants froids côtiers comme le Chile Coastal Current (Strub *et al.*, 1998).



Figure 1.5.A : Vue d'ensemble, à marée basse, d'une côte rocheuse couverte par *Mazzaella laminarioides*.



Figure 1.5.B : Vue rapprochée d'individus sur leur substrat rocheux.

1.1.2.2 Caractéristiques générales des populations

Habitat

M. laminarioides colonise les substrats rocheux de l'étage médio-littoral (milieu de la zone de balancement des marées) où elle est très souvent l'espèce dominante et forme des populations parfois très denses (Figure 1.5). Sa distribution est continue, dans les limites de la continuité du substrat rocheux. *M. laminarioides* rencontre essentiellement deux types de substrat rocheux : granitique dans le nord de la distribution, métamorphique dans le centre et le sud (Santelices, 1991). Les côtes granitiques sont caractérisées par un relief très accidenté alors que le substrat de roches métamorphiques se présente le plus fréquemment sous l'aspect de plates-formes. L'habitat est généralement très exposé aux vagues à marée haute et à la dessiccation et au rayonnement solaire à marée basse. Ces conditions peuvent être très variables à petite échelle spatiale du fait du relief accidenté (en particulier dans les côtes granitiques). D'autre part, les côtes chiliennes présentent de nombreuses zones de résurgence d'eau profonde, plus froide mais riche en nutriments (Shaffer *et al.*, 1999).

M. laminarioides coexiste avec plusieurs autres espèces d'algues (principalement *Notogenia fastigiata*, *Gelidium chilense*, *Gelidium lingulatum*, *Laurencia officinalis* pour les algues rouges, *Ulva rigida*, *Enteromorpha compressa* et *Codium fragile* pour les algues vertes, (Santelices, 1991). Les invertébrés sont également présents : les bivalves *Perumytilus purpuratus*, les balanes *Chtalamus scabrosus* et *Jehlius cirratus* et les gastéropodes des genres *Tegula*, *Fissurella*, *Collisella* et *Siphonaria* (Santelices, 1991), des amphipodes du genre *Hyale* et des isopodes (Buschmann & Santelices, 1987; Buschmann & Vergara, 1993). Il semblerait que les herbivores, en particulier les *Fissurella*, soient en grande partie responsables de la limite basse de la distribution de *M. laminarioides* dans la zone intertidale (Moreno & Jaramillo, 1983).

L'habitat peut être assez variable dans le temps. D'une part, la violence des tempêtes hivernales peut emporter avec elle une grande partie de la biomasse. Les peuplements de la région centrale sont également sujets à des ensablements fréquents dont l'amplitude et la durée sont variables dans le temps et dans l'espace. L'intervention humaine sur l'écosystème côtier, que ce soit en collectant *M. laminarioides*, ou en collectant les herbivores ou les prédateurs d'herbivores, en particulier le Loco (le gastéropode *Concholepas concholepas*), peut profondément altérer la composition de la communauté intertidale (Castilla, 1999; Castilla, 2000). Ces pressions peuvent être relativement variables dans le temps : la collecte de *M. laminarioides* à des fins commerciales a, par exemple, fluctué au cours de ces dernières

décennies, principalement en fonction des cours du marché (SERNAPESCA, 2000). Des pressions humaines indirectes et stochastiques sont en outre représentées par les événements de pollution qui peuvent affecter directement les écosystèmes côtiers (Correa *et al.*, 1999). Ces derniers peuvent également survenir naturellement, lors de fortes pluies sur la cordillère des Andes, en gonflant des rivières de boues qui atteignent rapidement (du fait de la proximité géographique) la côte de l'océan Pacifique. Outre les pressions humaines, les changements climatiques et océanographiques, avec en particulier le phénomène El Niño, peuvent se traduire par des changements importants dans la température de l'eau et sa circulation près des côtes (Strub *et al.*, 1998; Shaffer *et al.*, 1999). Enfin, les mouvements telluriques sont fréquents au Chili, et peuvent se traduire, comme ce fut le cas lors du tremblement de terre de 1985, par un soulèvement de la croûte terrestre de plusieurs dizaines de centimètres. Cet événement s'accompagna d'une mortalité massive dans les communautés de macro-algues du Chili central (Castilla, 1988).

Caractéristiques démographiques

Les trois types d'individus (mâles, femelles et tétrasporophytes) coexistent dans les populations. Il convient de préciser que l'essentiel des informations disponibles ne concernent que les frondes et pas les individus en tant que tels. La couverture (surface couverte par de la biomasse de frondes) peut atteindre 100 % du substrat (Aedo et Santelices, non-publié). La biomasse varie de 12 g.m⁻² de matière fraîche vers l'extrême nord de la distribution à 23 kg.m⁻² dans le sud (information réunie par Hannach & Waaland, 1986). Cette biomasse est essentiellement composée de frondes immatures qui sont de 10 à plus de 100 fois plus abondantes que les frondes matures (Hannach & Santelices, 1985; Santelices & Martínez, 1997). La biomasse de frondes est assez variable selon les saisons, avec un maximum en été (janvier-février) (Hannach & Santelices, 1985; Santelices & Norambuena, 1987). Il en va de même pour la proportion de frondes fertiles qui est plus forte en automne et hiver (Santelices & Martínez, 1997). On observe cependant des frondes matures tout au long de l'année (Santelices & Martínez, 1997). Dans les populations de la région centrale du Chili, les frondes haploïdes sont plus nombreuses que les frondes diploïdes, en particulier pour le segment de la population le plus haut sur l'estran (Hannach & Santelices, 1985; Santelices & Norambuena, 1987; Luxoro & Santelices, 1989). Cependant, tout comme pour les espèces voisines de *M. laminarioides* (pour revue, voir Hannach & Waaland, 1986), ces différences ne sont pas systématiquement observées (Luxoro & Santelices, 1989). On ne sait pas exactement quel est le ratio des individus haploïdes / individus diploïdes. Il en va de même pour le sexe-ratio

puisque aucune méthode n'a encore été développée pour reconnaître facilement et de manière fiable les mâles (qui sont généralement comptabilisés avec les immatures).

Une caractéristique particulière du développement de *M. laminarioides* est celle de la capacité de coalescence des spores et des disques (Santelices *et al.*, 1999). Il a été montré en effet que plusieurs disques, en se développant, peuvent fusionner pour ne former plus qu'un organisme dans lequel il est bien difficile de reconnaître les individus qui le compose. Les expériences de coalescence de disques juvéniles au laboratoire montrent que la zone de contact entre les deux individus est constituée de tissus fusionnés produisant un « individu » chimérique (Santelices *et al.*, 1999). Cependant, chaque individu (*sensu stricto*) dans ce disque chimérique conserve sa propre capacité à produire des frondes dans les phases initiales du développement. La coalescence des spores est également observée au laboratoire, et se traduit par la formation d'un disque paraissant issu d'une unique spore. Cette caractéristique a été interprétée comme une manière plus efficace d'occuper l'espace, en réduisant la compétition intra-spécifique (Santelices *et al.*, 1996; Santelices *et al.*, 1999).

1.1.2.3 Dispersion

Il existe trois éléments de dispersion : les spores haploïdes (tétraspores), les gamètes mâles (spermaties) et les spores diploïdes (carpospores). Aucune de ces propagules ne possède de flagelle ni ne présente de structure spécialisée de résistance ou de vie ralentie. Au contraire, il s'agit de cellules dont la membrane cytoplasmique n'est protégée par aucune paroi, mais sont simplement enveloppées dans du mucilage (Boney, 1975; VanDenHoek *et al.*, 1995). La durée de vie des spores n'est pas connue. Elle semble relativement limitée mais peut atteindre plusieurs jours (Hoffmann & Camus, 1989). Cependant, on ne sait pas si les spores qui restent longtemps dans la colonne d'eau conservent leur capacité de fixation et de germination. La vitesse de sédimentation des spores de *M. laminarioides* figure parmi les plus rapides : environ 50 % des spores obtenues en suspension ne sont plus dans la colonne d'eau 15 min après leur mise en suspension (Hoffmann & Camus, 1989). Ces caractéristiques font penser que les capacités de dispersion des spores sont réduites (Santelices, 1990; Norton, 1992), sans qu'aucune estimation n'ait été faite à ce jour. En ce qui concerne la viabilité et la dispersion des gamètes mâles, aucune donnée n'est disponible chez *M. laminarioides*. On peut cependant supposer que ces gamètes sont faiblement dispersés comme chez l'algue rouge *Gracilaria gracilis* (Destombe *et al.*, 1990).

La dispersion des spores pourrait être modulée par certains herbivores. En effet, des micro-herbivores, en particulier des amphipodes, aident à la libération de spores en ouvrant

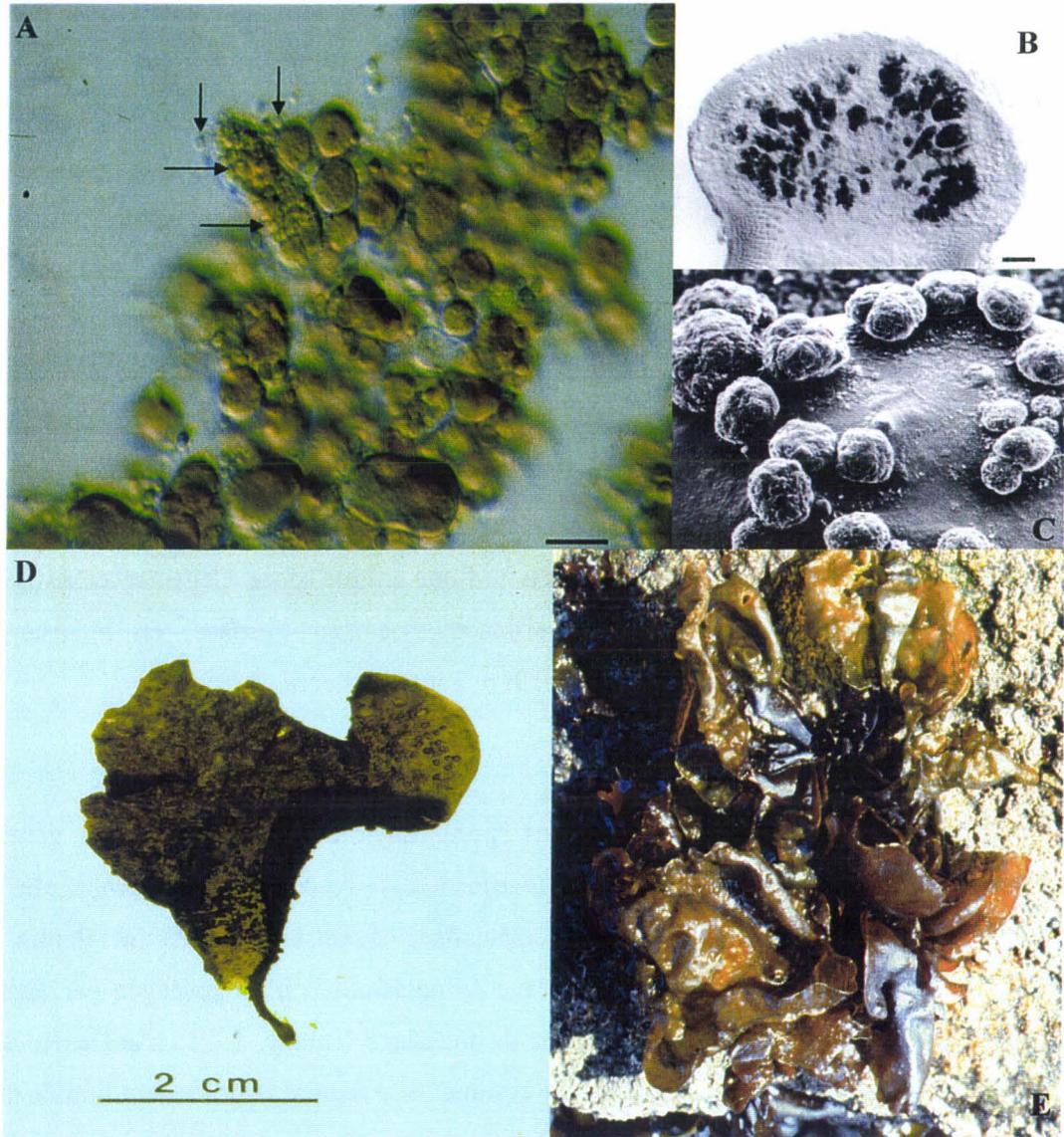


Figure 1.6 : *Pleurocapsa* sp. et les symptômes observés chez l'hôte *M. laminarioides*.

A. Cellules de *Pleurocapsa* sp. Isolées en culture. Les flèches horizontales indiquent les sporocystes ; les flèches verticales indiquent les spores libérées. Barre = 30 μm .

B. Coupe transversale d'une tumeur enfermant les cellules de *Pleurocapsa* sp. (en noir). Barre = 100 μm .

C. Vue des tumeurs en surface de la fronde par microscopie électronique à balayage.

D. Fronde sévèrement infectée et déformée.

E. Plante entière sévèrement infectée dans son environnement naturel.

les cystocarpes matures afin d'en consommer les spores (Buschmann & Santelices, 1987; Vergara *et al.*, 1990). Les observations de terrain semblent indiquer en outre que ces herbivores aident au recrutement de *M. laminarioides* (Vergara *et al.*, 1990). Des oursins de mer (Santelices *et al.*, 1983) et gastéropodes (*Fissurella* et *Siphonaria*) ont également été associés à la consommation de spores qui, résistant au passage à travers le tractus digestif, présentent un taux de croissance supérieur (dans le cas des spores consommées par les *Siphonaria*) à celles qui se développent directement (Santelices & Ugarte, 1987). Il semble donc que les mouvements de spores et leur recrutement puissent être en partie sous l'influence des mouvements de ces herbivores, c'est à dire, des déplacements sur de petites distances dans la zone de balancement des marées.

Une quatrième possibilité de dispersion repose sur les fragments de fronde arrachés à leur disque et pouvant éventuellement flotter et être transporté sur de plus grandes distances. Ces frondes ne possèdent pas la capacité de se fixer à nouveau sur le substrat, mais si elles sont matures, elles peuvent alors libérer des spores tout au long de leur migration. Il est difficile de prédire si ce mode de dispersion, qui pourrait constituer chez les macroalgues un moyen de dispersion sur de grandes distances (Hoffmann, 1987; Lu & Williams, 1994), est efficace chez *M. laminarioides*. En effet, chez *M. laminarioides*, il semble que les fragments de fronde aient tendance à couler rapidement puisqu'on ne retrouve que très rarement des fragments de frondes sur les plages (observations personnelles).

1.2 La cyanobactérie *Pleurocapsa* sp.

1.2.1 Description taxonomique et morphologique

Pleurocapsa sp. est une cyanobactérie de l'ordre des Pleurocapsales. Sa classification taxonomique est faite sur la base de caractères morphologiques et d'après le cycle de reproduction (Correa *et al.*, 1993). C'est un organisme unicellulaire, sphérique, d'environ 25 à 30 μm (Figure 1.6.A). Cet organisme se reproduit par divisions binaires successives à l'intérieur de la paroi de la cellule mère différenciée en sporocyste. Le sporocyste à maturité libère des spores de 4 à 5 μm qui vont croître jusqu'à la taille adulte. A ce stade, certaines cellules entament la série de divisions conduisant à la formation du sporocyste mature. Les autres peuvent rester un temps indéfini à la taille adulte sans participer à la reproduction.

1.2.2 Cycle d'infection et symptômes

La fixation de spores ou de cellules adultes (mais immatures) à la surface de l'hôte est suivie d'une dédifférenciation et d'une multiplication des cellules corticales de l'hôte. Le tissu cortical enveloppe la cellule de *Pleurocapsa* sp. qui entre alors en maturation. La partie du cortex de l'hôte enveloppant *Pleurocapsa* sp. prend les caractéristiques d'un tissu tumoral : les cellules sont totipotentes, hyperplasiques (de taille anormalement grande) et en multiplication rapide. A mesure que la galle se développe, *Pleurocapsa* sp. se multiplie à l'intérieur en organisant ses cellules en chapelet de nodules de plusieurs dizaines de cellules (Figure 1.6.B). L'aspect externe final d'une galle est celui d'un chou fleur miniature (Figure 1.6.C). Chaque chapelet de nodules présente des cellules proches de la surface qui, à maturité, vont libérer les spores vers l'extérieur.

La formation d'une galle s'accompagne d'une déformation locale de la fronde : on observe un renforcement sur la face opposée à la galle, juste sous l'emplacement de celle-ci. D'autre part, le développement de nombreuses galles peut affecter également la forme générale d'une fronde en altérant les zones méristématiques (Figure 1.6.D). L'aspect en feuille de laitue tout à fait anormal en est l'expression macroscopique (Figure 1.6.E). Les galles présentent une distribution plus ou moins homogène sur la surface du thalle hôte, à l'exception de sa base qui n'est jamais infectée. De même, le disque des plantes hôtes n'est jamais infecté. En surface d'une galle, l'absence de cellules corticales différenciées s'accompagne d'une absence de cuticule. Les cellules de l'hôte sont donc directement exposées au milieu extérieur, et en particulier aux attaques bactériennes. On n'observe cependant jamais de nécrose sur une galle en milieu naturel.

L'implication de *Pleurocapsa* sp. dans l'élaboration de ces galles n'a jamais été strictement démontré puisqu'il est très difficile de maintenir une fronde de *M. laminarioides* en culture jusqu'à ce que l'infection se traduise par une galle. Cependant, un faisceau d'indices suggère que *Pleurocapsa* sp. est effectivement l'agent responsable de l'apparition de ces structures (Correa *et al.*, 1993) : (1) on n'observe jamais de galles sans *Pleurocapsa* sp. ; (2) seul *Pleurocapsa* sp. est systématiquement isolé à partir d'une galle ; (3) *Pleurocapsa* sp. n'est jamais observé en tant qu'endophyte ailleurs que dans une galle. D'autre part, si de nombreux autres organismes sont capables de coloniser *M. laminarioides*, soit en tant qu'épiphyte, soit en tant qu'endophyte, aucun autre que *Pleurocapsa* sp. n'est associé au développement d'une galle. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer le développement tumoral du cortex. La première invoque la production d'hormones de croissance par la cyanobactérie, qui

pourraient provoquer la croissance anormale des cellules corticales de l'hôte (Apt, 1988a). En effet, il a été montré que les cyanobactéries sont capables de produire des phytohormones de type acide abscissique (Marsalek *et al.*, 1992), induisant une croissance chez les algues (Evans & trewavas, 1991). La seconde hypothèse repose sur le fait que le développement de la galle ressemble en de nombreux points à l'association symbiotique entre les bactéries parasites ou mutualistes (du genre *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Corynebacterium* ou *Pseudomonas*) et leurs plantes hôtes. Dans ce cas, il s'agit d'un transfert depuis la cyanobactérie vers les cellules de l'hôte, par l'intermédiaire de plasmides Ti (Tumor-induced), de gènes servant à la production d'hormones de croissance (Nester & Kosuge, 1981). C'est alors l'hôte qui traduit ces gènes et produit les hormones qui vont déclencher le développement de la galle.

Quelque soit le mécanisme, *Pleurocapsa* sp. serait un cas unique de cyanobactérie associée à la formation d'une galle chez les algues (Correa *et al.*, 1993). La seule référence à une cyanobactérie observée dans une galle d'algue est le cas de *Hyella linearis* Setchell et Geither, infectant l'algue rouge *Prionitis* sp. (Gardner, 1918). Mais cette observation était basée sur la seule plante infectée découverte dans une seule localité, et des réserves ont donc été émises quant à ce cas (Correa *et al.*, 1993). Les galles observées chez d'autres espèces d'algues sont le résultat d'une interaction avec des bactéries (Apt, 1988a; Apt & Gibor, 1989; Ashen & Goff, 1996, 1998) ou des champignons (Apt, 1988a, b). D'autre part, étant donné qu'on ne sait pas si *Pleurocapsa* sp. reste autotrophe dans la galle ou si elle détourne une partie des ressources de son hôte, le terme « endophyte » sera préféré à celui de « parasite » tout au long de ce document.

1.2.3 Aspects écologiques et épidémiologiques

1.2.3.1 Distribution de l'espèce et spécificité d'hôte

Le genre *Pleurocapsa* présente une distribution mondiale. Des souches de *Pleurocapsa* sp. ont été isolées à partir de substrats rocheux ou des coquilles de bivalves en Europe et en Amérique du Nord (l'institut Pasteur à Paris en possède une importante collection). Cependant, *Pleurocapsa* sp. est décrit en tant qu'endophyte uniquement au Chili, et n'a été observé sur aucune autre espèce d'algue. Mes campagnes de prospection m'ont amené à observer et isoler *Pleurocapsa* sp. à partir d'hôtes provenant de différentes localités allant de l'extrême nord de la distribution de *M. laminarioides* jusqu'à l'île de Chiloe (42°S 73°O). Une seule localité fut échantillonnée plus au sud, Punta Arenas, dans le détroit de Magellan,

mais aucune galle de *Pleurocapsa* sp. n'y fut observée. Par ailleurs, aucune information n'est disponible sur les populations de *M. laminarioides* du sud argentin ni des îles Falkland.

1.2.3.2 Prévalence

Les études réalisées jusqu'à ce jour sur le nombre de *frondes* infectées (et non pas sur le nombre d'*individus* infectés) montrent qu'une faible proportion de la population de *M. laminarioides* est infectée par *Pleurocapsa* sp. (Correa & Sanchez, 1996; Correa *et al.*, 1997). La distribution des infections est très agrégée, avec une majorité de la population saine ou faiblement infectée. Les zones infectées, à l'intérieur desquelles la grande majorité des frondes est sévèrement infectée, sont relativement bien délimitées du reste de la population (Correa & Sanchez, 1996). La sévérité des infections est estimée visuellement d'après la densité de galles et les déformations qu'elles provoquent sur la fronde. Ces zones où les frondes présentent une forte prévalence et une forte sévérité des infections par *Pleurocapsa* sp. sont appelées « **zones de haute infection** » (**ZHI**), par opposition au reste de la population qu'on appelle « **zone de basse infection** » (**ZBI**). Ces dénominations ont été introduites par Buschmann *et al.* (1997) et seront reprises tout au long du document.

L'analyse plus détaillée de l'incidence des infections montre que la majorité des frondes infectées (60 à 80 %) présentent une faible sévérité d'attaque (Correa *et al.*, 1997). Les plus sévèrement infectées représentent en général moins de 10 % des frondes infectées. D'autre part, les frondes infectées figurent parmi les plus grandes et les plus matures (Correa *et al.*, 1997). Les frondes matures sont d'ailleurs proportionnellement plus infectées que les immatures (Correa & Sanchez, 1996). La prévalence des infections montre finalement des variations saisonnières marquées, avec une augmentation en automne et en hiver (Correa & Sanchez, 1996), tout comme pour la maturité des frondes (Santelices & Martínez, 1997).

1.2.3.3 Dispersion

Pleurocapsa sp. se développant facilement en culture *in vitro* sans son hôte, on peut se demander si cet organisme possède une vie planctonique libre qui lui permette d'être dispersé sur de grandes distances. En fait, en culture, les spores sont fixées rapidement après leur émission. L'adhésion à la surface des supports de culture *in vitro* (en verre ou en plastique) est relativement forte puisqu'elle résiste à l'agitation. Ce comportement pourrait traduire la nécessité pour une spore d'adhérer à la surface de l'hôte suffisamment longtemps pour que la galle puisse se développer jusqu'à envelopper la spore. Cependant, on ne sait si les spores qui ne sont pas parvenues à se fixer après leur libération seront capables de le faire après un

séjour prolongé dans l'eau de mer, ou si elles pourront se reproduire en phase pélagique. Si cette hypothèse était vérifiée, elle révélerait une forte capacité de dispersion chez cette espèce.

D'autre part, la distribution agrégée des infections suggère deux hypothèses concernant la propagation de *Pleurocapsa* sp. La première postule que *Pleurocapsa* sp. est capable de se disperser sur de grandes distances mais que le succès d'infection dépend de conditions locales fortement hétérogènes. Il peut s'agir de différenciation génétique des populations hôtes à très petite échelle (point que j'aborderai dans le Chapitre 2). Il peut également s'agir d'une hétérogénéité. L'exposition aux vagues (une trop forte agitation de l'eau pourrait empêcher la fixation des spores à la surface de l'hôte) est une possibilité car, dans les localités de la région centrale du Chili, les zones de haute infection sont toujours observées dans les endroits les plus calmes. Cependant, ce n'est pas le cas dans les populations plus au sud où on observe une forte présence de *Pleurocapsa* sp. y compris dans des endroits relativement exposés aux vagues à marée haute. D'autres facteurs indéterminés pourraient encore affecter la physiologie de l'hôte en diminuant sa résistance aux attaques des endophytes. Finalement, la transmission des infections pourrait être sous l'influence des herbivores. Une étude récente a montré en effet que le gastéropode *Siphonaria lessoni* est plus abondant dans les zones de haute infection, et plus particulièrement sur les frondes infectées. Cependant, son exclusion n'implique apparemment pas une diminution de la prévalence des infections ni de leur sévérité (A. Buschmann, information non-publiée).

La seconde hypothèse est que *Pleurocapsa* sp. se disperse essentiellement de proche en proche. La transmission des infections aurait alors lieu à l'occasion des contacts physiques entre frondes. La forte densité de la population de *Pleurocapsa* sp. dans les zones de haute infection permettrait alors de maintenir un succès de transmission élevé. L'hypothèse d'une transmission de proche en proche, qui n'exclue pas l'intervention d'un ou plusieurs facteurs environnementaux dans le succès d'infection, suggérerait un mode de dispersion majoritairement à très courtes distances, alors que des événements plus rares de dispersion sur des longues distances permettraient d'infecter des individus sensibles dans le reste de la population d'hôtes et éventuellement entre populations d'hôtes. Un tel mode de dispersion signifierait que l'essentiel des flux de gènes (dispersion plus infection réussie) aura lieu à l'intérieur d'un peuplement de *M. laminarioides* (ce qui constituera mon hypothèse de travail dans le Chapitre 4 concernant l'adaptation locale).

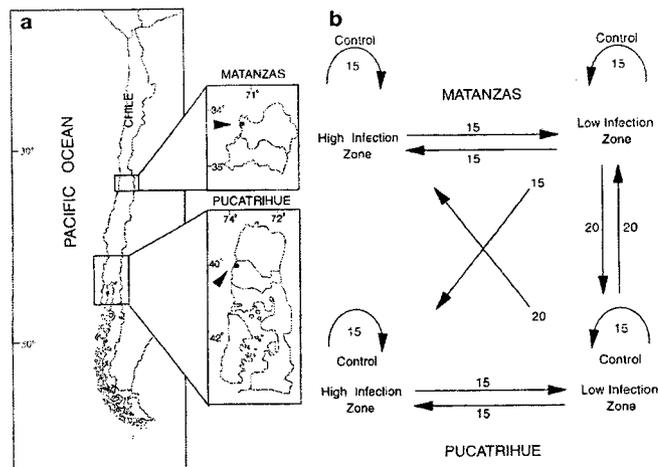


Figure 1.7 : Schéma expérimental des transplantations réciproques d'individus de *M. laminarioides* infectés par *Pleurocapsa* sp. effectuées entre les localités de Pucatrihue et Matanzas (distantes d'environ 900 km). D'après Buschmann *et al.* (1997).

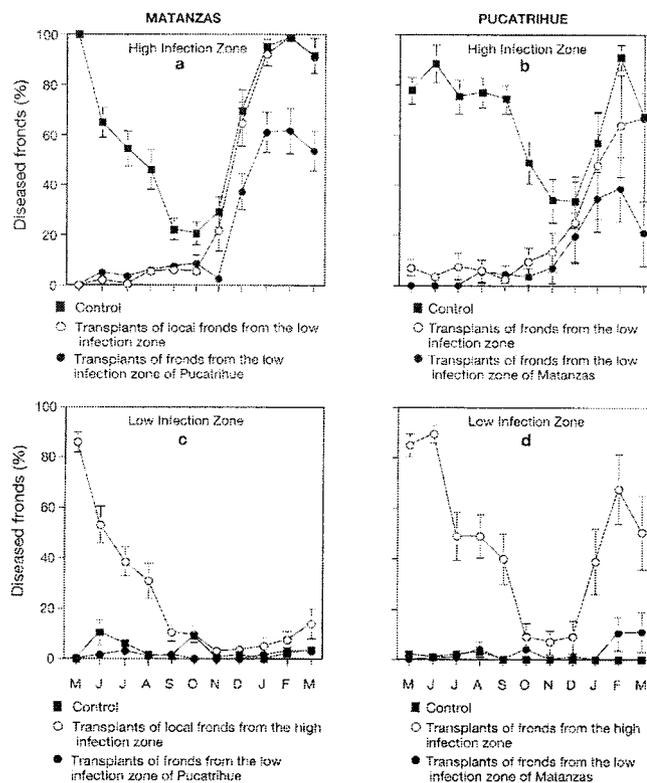


Figure 1.8 : Résultats des transplantations réciproques d'individus de *M. laminarioides* infectés par *Pleurocapsa* sp. effectuées entre les localités de Pucatrihue et Matanzas. D'après Buschmann *et al.* (1997).

1.2.3.4 Adaptation locale

L'adaptation locale de *Pleurocapsa* sp. a été testée par Buschmann *et al.* (1997) à l'aide de transplantations de *M. laminarioides* effectuées entre deux localités séparées par environ 900 km (Matanzas dans la région centrale et Pucatrihue dans la région des lacs (Figure 1.7). Les résultats indiquent que *Pleurocapsa* sp. n'est pas capable d'infecter les hôtes allopatriques aussi bien que ceux de sa population locale (Figure 1.8) (Buschmann *et al.*, 1997). Cela suggère que les populations d'hôtes et de parasites sont différenciées génétiquement pour les caractères intervenant dans l'interaction hôte-endophyte. Dans cette étude, des transplantations croisées ont également été effectuées entre zones de haute infection et de basse infection. Les résultats montrent que ces transplants locaux sont infectés de manière similaire, qu'ils proviennent de zones de haute ou de basse infection. Ce dernier résultat suggère que la distribution agrégée des infections ne serait pas le résultat d'une différenciation génétique de l'hôte à petite échelle spatiale, mais serait plutôt d'origine environnementale.

1.3 L'algue verte *Endophyton ramosum*

1.3.1 Description taxonomique et morphologique

1.3.1.1 Aspects taxonomiques et phylogénétiques

Le genre *Endophyton* ne contient qu'une seule espèce, *E. ramosum* (Gardner, 1909). Il s'agit d'une algue verte filamenteuse toujours observée à l'état d'endophyte chez différentes espèces d'algues rouges (O'Kelly, 1982). La position taxonomique d'*E. ramosum* a été révisée récemment : initialement classée dans l'ordre des Chaetophoraceae (classe des Ulvophyceae) d'après les critères morphologiques, elle est aujourd'hui regroupée, avec d'autres genres d'algues vertes filamenteuses endophytes ou épiphytes (les genres *Entocladia* et *Acrochaete*), dans l'ordre des Ulvales (O'Kelly & Floyd, 1984). Les caractéristiques ultrastructurales ont plus récemment confirmé l'appartenance du genre *Endophyton* à la famille des Ulvellaceae, de l'ordre des Ulvales (Leonardi *et al.*, 1997).

Afin de préciser la position phylogénétique de cette espèce, j'ai comparé les séquences du gène 18S de l'ARN ribosomique (un marqueur classiquement utilisé en phylogénie moléculaire) de deux souches chiliennes d'*E. ramosum* isolées sur *M. laminarioides* avec une souche canadienne isolée par J. Correa à partir d'une fronde de *Iridaea* sp. et des séquences de différentes espèces d'Ulvales disponibles dans GeneBank. Les résultats préliminaires

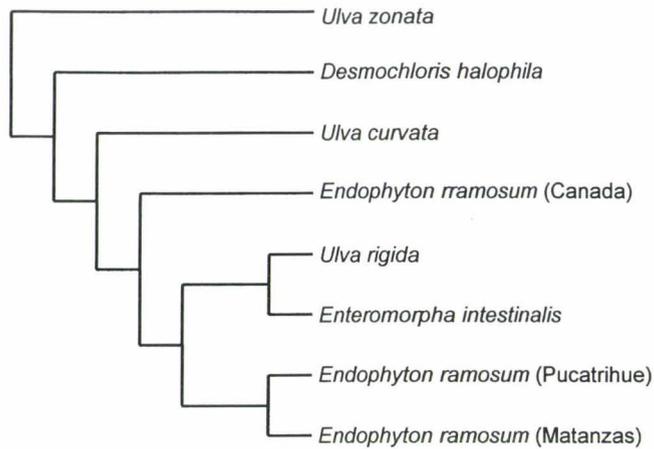


Figure 1.9 : Arbre le plus parsimonieux regroupant des souches d'*E. ramosum* de différentes provenances avec des espèces de l'ordre des Ulvales. Résultats basés sur l'alignement des séquences partielles du gène 18S de l'ARN ribosomique (461bp).

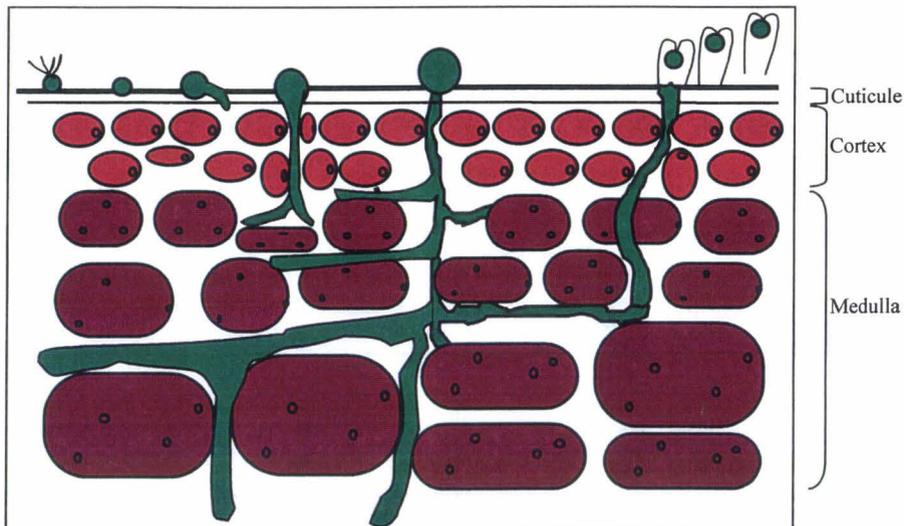


Figure 1.10 : Cycle d'infection d'*Endophyton ramosum* (en vert) dans *Mazzaella laminarioides*. Une spore (ici quadri-flagellée) se fixe à la surface du thalle hôte, germe, et le filament traverse immédiatement la cuticule pour pénétrer le cortex puis la medulla, en se développant dans la paroi cellulaire de l'hôte. Les parties du filament endophyte qui rejoignent la surface du thalle se différencient en structure reproductive et libère des spores (ici des gamètes bi-flagellés).

montrent que *E. ramosum* s'insèrent effectivement dans le groupe des Ulvales (Figure 1.9, voir également l'Annexe 1 pour le détail des alignements). Cependant, aucune séquence du groupe des algues vertes filamenteuses n'est disponible à titre de comparaison. Notons par ailleurs que la souche canadienne d'*E. ramosum* est éloignée des souches chiliennes. Il pourrait donc s'agir d'une espèce différente. Cette hypothèse nécessite une investigation plus poussée que je ne présenterai pas dans ce document.

1.3.1.2 Morphologie et cycle de reproduction

E. ramosum se présente en culture uni-algale sous la forme d'une masse de filaments fins (dont le diamètre varie de 3,5 à 10,0 μm) ramifiés. (O'Kelly, 1982) décrit un cycle de reproduction haploïde-diploïde isomorphe caractéristique des Ulvales. Les individus diploïdes produiraient des spores haploïdes quadri-flagellées (appelées zoospores) dans des structures spéciales en forme de poire (les sporocystes) à l'intérieur desquelles aurait lieu la méiose. Les zoospores (de 3,8 à 6,2 μm de diamètre) se fixent rapidement après leur libération en culture *in vitro*. La germination débute immédiatement par la formation d'un tube de germination, similaire au tube pollinique des plantes terrestres, et à l'intérieur duquel migre l'ensemble du cytoplasme. Le reste de la spore sert de point d'ancrage au substrat. La spore ainsi germée se développe en individus haploïdes (gamétophytes mâles ou femelles) tout à fait identiques morphologiquement aux individus diploïdes. Les gamétophytes produisent à leur tour des spores bi-flagellés pouvant avoir la fonction de gamètes. La rencontre entre ces gamètes mâle et femelle se ferait dans l'eau, et serait rapidement suivie de la fusion des cytoplasmes (syngamie), ce qui donne au zygote l'aspect d'une zoospore quadri-flagellée. Le zygote se fixe et germe de la même façon que les zoospores bi-flagellées.

E. ramosum serait en outre capable de reproduction asexuée, à partir de zoospores quadri-flagellées dites « neutres » qui n'auraient pas subi la méiose (apomixie) (O'Kelly, 1982). On ignore si les spores bi-flagellées sont également capables de germer sans avoir fusionné avec un gamète de sexe opposé.

1.3.2 Cycle d'infection et symptômes

Le processus d'infection (Figure 1.10) a été étudié en culture *in vitro* (Correa *et al.*, 1994). Il débute par la germination d'une spore fixée à la surface du thalle hôte, presque toujours à sa base (Correa & Sanchez, 1996). Le tube de germination traverse la cuticule et pénètre dans la paroi cellulaire. Il traverse ensuite rapidement le cortex pour se ramifier dans la medula. Il

arrive néanmoins que les filaments d'*E. ramosum* ne parviennent pas à atteindre la medula (il s'agit d'une spécificité de l'hôte dont nous reparlerons dans la section 3.3). Les filaments se développent exclusivement dans la paroi cellulaire et ne pénètrent jamais dans la cellule de l'hôte. Il peut arriver toutefois que, sous l'effet des pressions exercées par les filaments, des cellules de l'hôte meurent et l'endophyte peut alors donner l'impression d'occuper l'espace laissé vide. Les filaments qui rejoignent la surface du thalle se différencient en structures reproductives (sporocystes diploïdes ou gamétocystes haploïdes) et émettent des spores à l'extérieur. D'après les aspects cytologiques observés en microscopie électronique, le développement des filaments de l'endophyte dans les parois cellulaires ne semble pas affecter le fonctionnement des cellules de l'hôte (Correa *et al.*, 1994).

La présence de l'endophyte est facilement visible à l'œil nu par la coloration verte qu'il donne à la base des frondes hôtes ; d'où le nom de « maladie des taches vertes » (green patch disease, Correa *et al.*, 1994). *E. ramosum* continue d'ailleurs à produire des chloroplastes fonctionnels tout en étant dans son hôte, ce qui laisse penser qu'il reste autotrophe et utilise son hôte comme habitat. De même que pour *Pleurocapsa* sp., le terme « endophyte » sera donc préféré à celui de « parasite » tant que la démonstration ne sera pas faite que *E. ramosum* utilise les ressources de son hôte. La libération des spores s'accompagne cependant d'autant de ruptures dans la cuticule et le cortex qu'il y a de filaments reproductifs. Ces brèches sont rapidement investies par des bactéries, des protozoaires, des champignons et des nématodes qui vont dégrader les tissus de l'hôte. Ces dégradations fragilisent la base des frondes qui sont alors plus facilement arrachées que les frondes saines (Buschmann *et al.*, 1997).

1.3.3 Aspects écologiques et épidémiologiques

1.3.3.1 Distribution de l'espèce et spécificité d'hôte

E. ramosum a été observé et isolé le long des côtes pacifique et atlantique du continent américain, principalement en Amérique du Nord, depuis la Californie jusqu'en Colombie Britannique pour la côte ouest, dans le nord des Etats Unis et au Canada pour la côte est (O'Kelly, 1982). En Amérique du Sud, sa présence n'a été rapportée qu'au Chili. Cette distribution est partagée avec d'autres algues vertes filamenteuses endophytes ou épiphytes, en particulier du genre *Acrochaete* et *Entocladia* (O'Kelly, 1982).

Outre *M. laminarioides*, *E. ramosum* a été isolé de plusieurs espèces d'algues rouges : plusieurs espèces d'*Iridaea* et de *Nitophyllum*, ainsi que de *Gigartina corymbifera* (O'Kelly, 1982). De plus, cet endophyte peut infecter facilement *Chondrus crispus* ainsi que différentes

espèces du genre *Ahnfeltiopsis* et *Rhodoglossum* (Sanchez *et al.*, 1996). La spécificité d'hôte est donc plutôt faible. Il peut infecter de manière superficielle (en ne pénétrant que dans les premières couches de cellules corticales) différentes espèces des genres *Mastocarpus* et *Gelidium*, ainsi que *Gracilaria chilensis* (Sanchez *et al.*, 1996). Il est à noter que des espèces du genre *Acrochaete* qui infectent principalement *Chondrus crispus* dans l'hémisphère nord sont également capables d'infecter de nombreuses espèces d'hôtes, dont plusieurs sont communes à *E. ramosum* (Correa & MacLachlan, 1991). *Acrochaete* et *Endophyton* sont d'ailleurs deux genres voisins d'algues vertes (O'Kelly, 1982), tout comme le sont *Mazzaella*, *Iridaea* et *Chondrus* à l'intérieur des Gigartinaceae (Hommersand *et al.*, 1993). Le type d'infection ainsi que les symptômes observés sont tout à fait identiques entre les systèmes *E. ramosum*/*M. laminarioides* et *Acrochaete* sp./*Chondrus crispus* (Correa *et al.*, 1994; Correa & MacLachlan, 1994a).

1.3.3.2 Prévalence

Contrairement à *Pleurocapsa* sp., *E. ramosum* est fortement présent dans les populations de *M. laminarioides* (30 à 80 % des frondes sont infectées, (Correa *et al.*, 1997) et la distribution de cette algue verte est très homogène sur l'ensemble d'un peuplement de *M. laminarioides*. Cependant comme pour *Pleurocapsa* sp., la majorité (60 à 90 %) des frondes infectées par *E. ramosum* le sont faiblement (Correa & Sanchez, 1996; Correa *et al.*, 1997). Ce sont d'ailleurs les frondes les plus grandes et les plus matures qui sont les plus infectées (Correa *et al.*, 1997). La prévalence des infections montre finalement des variations saisonnières peu marquées, avec une légère augmentation en automne et en hiver (Correa & Sanchez, 1996).

1.3.3.3 Dispersion

Les capacités de dispersion d'*E. ramosum* n'ont pas été étudiées. Des observations personnelles indiquent que la durée de vie des spores et gamètes en culture s'il n'y a pas fixation est très courte (quelques heures), suggérant que leur dispersion est très limitée. D'autre part, même si on ne peut exclure la possibilité de dispersion via les fragments de fronde hôte, nous avons vu que ces fragments ont peu de chances de disperser sur des distances importantes.



Figure 1.11 : Position géographique des localités étudiées dans leur région respective.

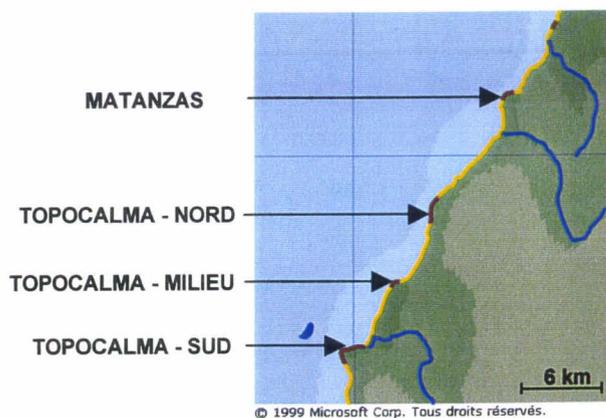


Figure 1.12 : Détails des zones rocheuses (marron) et sableuses (jaune), entrecoupées de rivières et lagunes (en bleu) entre Topocalma et Matanzas.

1.4 Caractéristiques des populations étudiées

Le choix des sites d'échantillonnage et d'expérimentation s'est fait à partir des deux principales localités ayant déjà fait l'objet d'observations et d'expériences sur *M. laminarioides* et ses endophytes (Matanzas et Pucatrihue). L'ajout de nouvelles localités répond à un choix de concentrer les efforts d'échantillonnage et d'expérimentation dans la région Centre du Chili (Figures 1.11 et 1.12).

1.4.1 Caractéristiques de chaque population

Entre Pucatrihue et Santo Domingo, la côte chilienne (Figure 1.11), offrant peu de baies, est largement exposée aux vents dominants et aux vagues (Santelices, 1991). Elle est principalement constituée d'une alternance de longues plages de sable et de côtes rocheuses, entrecoupée par de nombreuses rivières. De part son orientation, la côte chilienne s'étire le long d'un fort gradient latitudinal, montrant des différences climatiques importantes : les régions centrales subissent un fort ensoleillement en été, qui s'accompagne souvent de brumes côtières, alors qu'en hiver, le climat est doux ; les régions plus au sud bénéficient d'été doux mais subissent de fortes tempêtes hivernales. Les conditions océanographiques (température et salinité de l'eau, mouvements des masses d'eau) sont en revanche très homogènes entre ces régions (Strub *et al.*, 1998). La température sensiblement plus basse (12-15°C) à Topocalma indique cependant qu'il s'agit là d'une zone de résurgence. Les marées sont semi-diurnes, avec environ 2m d'amplitude. Le substrat rocheux est de type granitique dans la région centre (formant de gros rochers au relief irrégulier) et métamorphique au sud (formant des plates-formes étendues).



Figure 1.13 : Vue d'une partie du peuplement de *M. laminarioides* à Santo Domingo.



Figure 1.14 : Fronde de *M. laminarioides* émergeant du sable.

Les caractéristiques des sept localités retenues sont résumées ci-dessous et figurent dans le Tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Caractéristiques des localités étudiées et types d'approches réalisées. G : Génétique des populations ; D : Démographie ; F : effets des infections sur la Fertilité de l'hôte ; T : Transplantations.
* La côte rocheuse est apparemment longue mais entrecoupée de nombreuses plages de sable.

Région	Localité	Code	Taille du peuplement	Type d'habitat	Expérimentations
Centre	Santo Domingo	STDO	± 1 km	Gros rochers	G, D, F, T
Centre	Matanzas	MAT	± 1 km	Gros rochers	G, D, T
Centre	Topocalma-Nord	TOPO-N	± 2 km	Eboulis de falaise	G, T
Centre	Topocalma-Milieu	TOPO-M	< 1 km	Gros rochers et plates-formes	G, T
Centre	Topocalma-Sud	TOPO-S	> 2 km	Gros rochers, plates-formes et éboulis	G, T
Araucanie	Constitución	CONS	> 2 km*	Plates-formes	G
Région des lacs	Pucatrihue	PUC	± 2 km	Plates-formes étendues et éboulis	G, F, T

1.4.1.1 Santo Domingo (STDO : 33°37'S, 71°40'O)

Il s'agit d'une petite zone rocheuse d'environ 1 km de long, située dans la commune de Las Rocas de Santo Domingo. Cette zone rocheuse est délimitée au nord par une petite plage de sable (1,5 km de long) terminée par une importante rivière (río Maipo), puis le port industriel de San Antonio. En général, les courants chassent vers le nord les eaux boueuses et polluées (suite à la traversée du sud de l'agglomération de Santiago), mais il peut arriver que les courants rapportent ces eaux vers les côtes de Santo Domingo. Au sud, une plage de sable s'étend sur environ 25 à 30 km. Le substrat est composé de gros rochers de granite avec une présence importante de fer (qui se retrouve d'ailleurs dans l'eau en forte concentration : A. Moenne, communication personnelle). Le relief est très accidenté (Figure 1.13), ce qui permet à une grande partie de la population de *M. laminarioides* d'être relativement protégée des vagues. En revanche, cette plage est chaque année en hiver envahie par le sable et les pierres qui peuvent couvrir partiellement le peuplement de *M. laminarioides*.

Il est à noter que Santo Domingo est proche de la limite nord de la distribution de *M. laminarioides*. En effet, les peuplements qu'on peut rencontrer plus au nord, au delà de la ville de Valparaiso, sont en général beaucoup moins denses et constitués d'individus plus petits, souvent immatures et fortement dépigmentés.



Figure 1.15 : Vue du site d'échantillonnage de Topocalma-Nord



Figure 1.16 : Vue du site d'échantillonnage de Topocalma-Milieu

Les quatre types d'approches présentés dans ce travail de thèse ont été réalisés dans cette localité : l'étude des effets des infections sur la fertilité de l'hôte, la structure génétique des populations, la démographie et les transplantations.

1.4.1.2 Matanzas (MAT : 33°58'S 71°53'O)

Il s'agit d'une petite zone rocheuse d'environ 1 km de long, située dans la commune de Matanzas, à environ 45 km de Santo Domingo. C'est dans ce site que fut effectuée la plupart des observations et des expérimentations précédentes sur *M. laminarioides*. Elle est délimitée au nord par une plage de sable située au pied d'une falaise (quelques éboulis peuvent donc être colonisés par *M. laminarioides*) puis par une rivière importante (à 5 km), le río Rappel (Figure 1.12). Au sud s'étend une plage de sable de plusieurs kilomètres, entrecoupée par une petite rivière. Le substrat est composé de gros rochers et de plates-formes de granite. Le relief est très accidenté mais ne permet pas à *M. laminarioides* d'être protégée des vagues. Cette plage est chaque année en hiver envahie par le sable qui peut couvrir complètement, durant plusieurs semaines voir plus d'un mois, les zones habitées par *M. laminarioides* (Figure 1.14). Dans cette localité, l'intervention humaine est très importante tout au long de l'année. Les deux activités principales consistent à récolter le « Loco » (le gastéropode *Concholepas concholepas*) et *M. laminarioides*. Le peuplement d'algues de cette localité a subi une mortalité massive à la suite d'un soulèvement du sol de plus de 1 m, lors du tremblement de terre de 1985. Ce soulèvement aurait affecté l'ensemble de la côte de la région centrale, mais fut documenté essentiellement à Las Cruces (site de la station côtière de recherche marine, ECIM, de l'Universidad Católica de Chile, (Castilla, 1988)) et à Matanzas.

Les expériences qui y ont été conduites dans le cadre de cette thèse sont les suivantes : échantillonnage pour l'étude de la structure génétique des populations, suivis démographiques et transplantations.

1.4.1.3 Topocalma-Nord (TOPO-N : 34°30'S, 71°56'O)

Il s'agit d'éboulis de falaise s'étendant au nord de l'hacienda Topocalma (Figure 1.15), à environ 10 km au sud de Matanzas. Au sud s'étend une plage de sable d'environ 5 km jusqu'à Topocalma-milieu. L'ensablement de ce site n'est pas documenté. Les activités humaines y sont relativement réduites. Elles sont le fait d'une petite communauté de pêcheurs qui récoltent différentes algues (dont *M. laminarioides* deux à trois fois par an), le Loco et d'autres invertébrés.



Figure 1.17 : Vue du site d'échantillonnage de Topocalma-Sud



Figure 1.18 : Vue du site d'échantillonnage de Constitución

Ce site a été choisi pour l'étude de la structure génétique des populations et pour les transplantations.

1.4.1.4 Topocalma-Milieu (TOPO-M : 34°50'S, 71°58'O)

Cette petite pointe rocheuse de moins de 1 km de long est située au centre de l'hacienda Topocalma. Elle est entourée par 5 km de plage de sable de part et d'autre (Figure 1.16). Le substrat consiste en de longues plates-formes rocheuses accompagnées de gros blocs, plus ou moins fortement exposées aux vagues. L'invasion de sable y est modérée et n'atteint que rarement les peuplements de *M. laminarioides*. L'intervention humaine y est très faible en raison des difficultés d'accès, et consiste en une récolte occasionnelle de Loco et de Cochayuyo (algue brune : *Durvilea antarctica*).

Dans ce site ont été effectués l'échantillonnage pour l'étude de la structure génétique des populations et les transplantations.

1.4.1.5 Topocalma-Sud (TOPO-S : 34°80S, 72°10'O)

L'étendue exacte de cette longue côte rocheuse est inconnue mais dépasse les 2 km. Elle est limitée au nord par une lagune d'eau saumâtre séparée la plupart du temps de l'océan par la plage de sable qui mène à Topocalma-Milieu. Elle est constituée de gros rochers et petites plates-formes, plus quelques éboulis par endroits (Figure 1.17). L'invasion de sable y est modérée et n'atteint pas semble-t-il les peuplements de *M. laminarioides*. L'intervention humaine y est constante mais relativement faible. Elle est le fait d'une petite communauté de villageois qui récoltent différentes espèces d'algues (dont *M. laminarioides*) et de mollusques (y compris le Loco), et ont une activité de pêche artisanale.

Ce site n'a été échantillonné que pour l'analyse de la structure génétique des populations.

1.4.1.6 Constitución (CONS : 36°49'S 73°09'O)

Cette localité est caractérisée par des plates-formes rocheuses étroites mais étendues sur plusieurs centaines de mètres (Figure 1.18). La taille de la côte rocheuse s'étend sur plusieurs kilomètres, entrecoupées de nombreuses plages de sable (ce qui rend difficile une estimation de l'étendue du peuplement de *M. laminarioides*). Au nord se trouve la ville de Constitución, avec en particulier une usine de production de papier, caractérisée par des déchets polluants très proche du site d'échantillonnage, une rivière importante et un port. La pression humaine n'est pas précisément connue, mais elle semble faible, en particulier parce



Figure 1.19 : Vue du site d'échantillonnage de Pucatrihue

qu'il s'agit d'un site très exposé aux vagues. Seul l'échantillonnage pour l'étude de la structure génétique des populations y a été effectué.

1.4.1.7 Pucatrihue (PUC : 40°33'S 73°43'O)

Cette localité est constituée essentiellement de grandes plates-formes horizontales, entrecoupées de quelques éboulis (Figure 1.19). Elle s'étend sur environ 2 km. Elle est limitée au sud par une petite plage de sable (environ 2 km) et une rivière, au nord par une plage de sable de plusieurs kilomètres et une autre rivière. Les plates-formes sont directement exposées aux vagues. La pression humaine y est assez forte. L'importante communauté locale de pêcheurs se dédie à la récolte de Locos et d'algues (y compris *M. laminarioides*) lorsque les conditions météorologiques ne permettent pas une sortie en mer (ce qui arrive fréquemment en hiver).

Trois types d'approche ont été réalisés dans cette localité : l'étude des effets des infections sur la fertilité de l'hôte, la structure génétique des populations, et les transplantations. Elle est également un site dans lequel de nombreuses expériences et observations ont été effectuées par le passé sur *M. laminarioides*.

CHAPITRE II :
Génétique des populations hôtes

2. GENETIQUE DES POPULATIONS HOTES

2.1 Introduction

L'évolution des espèces repose principalement sur les changements dans la composition génétique des populations. Quatre forces font changer les fréquences des gènes dans les populations : la mutation (qui crée la nouveauté génétique), la migration (qui échange les gènes entre populations, on parle aussi de flux de gènes), la sélection (qui opère un tri parmi les différents allèles d'un même gène) et la dérive (qui modifie les fréquences alléliques de manière aléatoire). L'analyse de la structure génétique des populations permet de tester les hypothèses relatives à chacune de ces forces afin de mieux comprendre la cohésion de l'espèce et son potentiel évolutif.

Dans ce chapitre, nous aborderons la différenciation génétique des populations de *M. laminarioides* à l'aide de marqueurs génétiques neutres. L'intérêt de cette approche est de s'affranchir des effets de la sélection. La structure génétique des populations résulte alors de l'équilibre entre la migration et la dérive génétique (la mutation étant considérée comme rare et donc sans effet structurant majeur). L'objectif de ce chapitre est de comprendre comment et à quelle échelle spatiale les flux géniques cessent de compenser les effets de la dérive et permettent la différenciation génétique. La théorie de la génétique des populations prédit que même un faible taux de migration est " évolutivement significatif " dans le sens où il s'oppose au processus d'adaptation locale (Slatkin, 1987). Si les populations sont suffisamment isolées (et petites), l'effet de la dérive génétique peut devenir la principale force évolutive et favoriser leur divergence.

2.1.1 Hiérarchisation spatiale de la diversité génétique neutre

L'importance des flux géniques au sein d'une espèce dépend à la fois de facteurs intrinsèques (les traits d'histoire de vie tels que la stratégie de dispersion des gènes), des facteurs extrinsèques abiotiques (les capacités physiques du milieu) et de facteurs extrinsèques biotiques (l'intervention d'autres organismes dans la dispersion). Intuitivement, on s'attend à ce que les flux géniques diminuent à mesure que la distance qui sépare deux

populations augmente. Si la dérive agit localement, alors la différenciation augmente avec la distance. Ce phénomène, appelé " isolement par la distance ", a lieu entre populations lorsqu'elles sont séparées dans l'espace ou, dans les populations à distribution continue, lorsque la dispersion des gamètes et/ou des zygotes est limitée dans l'espace (Wright, 1943; Slatkin, 1985; Slatkin, 1993; Hardy & Vekemans, 1999).

Il existe différents modèles théoriques de migration. Le modèle en nombre infini d'îles (Wright, 1931), décrit une structure spatiale de populations ayant toutes la même probabilité d'échanger des gènes entre elles. Ce modèle, bien que peu réaliste, a permis de formaliser pour la première fois les statistiques de la différenciation génétique (Wright, 1931, 1951). D'autres modèles considèrent que la migration s'opère de proche en proche ou selon la distance qui sépare les populations : le modèle de migration pas à pas (ou " Stepping-stone ") considère que seules les populations voisines échangent des gènes (Kimura & Weis, 1964) ; le modèle de voisinage s'applique à une distribution continue où les croisements se font préférentiellement entre individus voisins et où la dispersion se fait selon une loi de distribution normale (Wright, 1943 ; Crawford, 1984).

La différenciation entre populations va avoir différentes interprétations selon l'échelle spatiale considérée : la différenciation à petite échelle spatiale résulte de processus locaux (tels que l'équilibre entre la migration et la dérive), alors que la différenciation entre populations très éloignées est le résultat de processus locaux et de processus historiques ayant affecté l'espèce (tel que les changements de l'aire de répartition). Il en résulte que la différenciation n'est pas toujours le reflet des flux géniques et de la dérive, car l'équilibre entre ces deux paramètres est affecté de manière différente par les processus historiques et locaux (Slatkin, 1993; Whitlock & MacCauley, 1999). Les modalités de la différenciation génétique des populations dépendent donc de l'échelle de l'étude.

2.1.2 Caractéristiques importantes chez les espèces marines

2.1.2.1 La dispersion pélagique

Une caractéristique biologique déterminante dans la différenciation des populations marines est celle du mode de développement. Par exemple, les espèces pélagiques ou celles possédant une phase larvaire planctonique sont censées disperser sur de longues distances, alors que chez les espèces à développement benthique direct, les descendants s'éloignent peu de leurs parents. En ce qui concerne plus particulièrement les espèces benthiques (les

organismes tels les algues ou de nombreux invertébrés marins qui sont fixés sur le substrat, ou bien les organismes libres mais vivant dans un écosystème côtier tel une barrière de corail ou la zone de balancement des marées), les avantages écologiques d'une phase planctonique sont de permettre d'éviter la compétition pour les ressources entre adultes et juvéniles, de réduire la probabilité de se reproduire entre apparentés, et de faciliter la colonisation de nouveaux territoires aussi bien que la re-colonisation d'un site ayant subi une extinction locale (Pechenik, 1999). En revanche, une phase planctonique présente le désavantage d'éloigner les individus de leur habitat d'origine vers des habitats potentiellement moins favorables ce qui pourrait freiner le processus d'adaptation locale.

De nombreux travaux ont clairement montré que l'existence d'une phase planctonique influence fortement la différenciation génétique (Palumbi, 1992 en fit la première revue). C'est par exemple le cas des gastéropodes du genre *Littorina* qui montrent des capacités d'adaptation locale et de la différenciation génétique à des plus petites échelles spatiales chez les espèces à développement benthique direct que celles développant des larves à vie pélagique (Behrens-Yamada, 1989; Kyle & Boulding, 2000). Il en va de même pour les bryozoaires (Goldson *et al.*, 2001), les oursins et les étoiles de mer (Poulin & Féral, 1996) ou les poissons côtiers (Waples, 1987; Shulman & Bermingham, 1995). D'une manière générale, il semblerait que la différenciation des populations d'invertébrés benthiques (et de poissons côtiers) à une échelle locale soit d'avantage la règle que l'exception (Hedgcock, 1986). Cependant, certaines situations ont révélé une différenciation à relativement faible échelle spatiale (quelques kilomètres à quelques dizaines de kilomètres) malgré une phase larvaire pélagique (Edmands & Potts, 1997; Kyle & Boulding, 2000).

D'une manière générale chez les algues, la structure génétique des populations présente des degrés de différenciation très variables selon les espèces (Sosa & Lindstrom, 1999). Les études de génétique des populations d'algues sont cependant encore trop peu nombreuses pour qu'on puisse conclure à une tendance générale comme pour les invertébrés marins. Cependant, on retrouve chez certaines espèces une relation entre le mode de dispersion et la différenciation génétique. Ainsi, l'existence de structures de flottaison sur les parties reproductives des thalles de l'algue brune *Halidrys dioica* expliquerait l'absence de différenciation génétique à petite échelle (Lu & Williams, 1994). En revanche, la forme de gouttière des thalles chez l'algue brune *Postelsia palmaeformis*, qui entraîne les spores vers le pied du sporophyte parent, s'accompagne d'une différenciation décelée à des distances inférieures à un mètre (Coyer *et al.*, 1997).

Etant donné que la dispersion est passive chez la majorité des organismes marins, que ce soit pour les algues comme pour les larves d'invertébrés et de poissons, une caractéristique commune en ce qui concerne la dispersion pélagique est d'être sous l'influence directe des courants marins. Une des conséquences possibles associées à la dynamique des courants est l'orientation des flux de gènes entre populations.

Les deux premières études testant spécifiquement cette hypothèse n'ont pas détecté de correspondance entre les principaux courants de surface et la structure génétique des populations du bivalve *Tridacna gigas* (Benzie & Williams, 1995) et de plusieurs espèces de poissons côtiers (Shulman & Bermingham, 1995). Cependant, les auteurs s'accordaient à préciser que le seul examen des courants de surface ne suffisaient probablement pas puisque les larves se distribuaient dans une colonne d'eau avoisinant les 100 m de profondeur, et que, par conséquent, d'autres courants pouvaient être responsables du transport des larves. D'autres études chez les poissons (Rocha-Olivares & Vetter, 1999) et différents invertébrés marins (Wares *et al.*, 2001) ont été plus concluantes en montrant une bonne corrélation entre la circulation des masses d'eau et la différenciation génétique. De même les courants marins côtiers permettent d'expliquer les différences génétiques entre populations de l'algue brune *Sargassum polyceratum* autour de l'île de Curaçao (Engelen *et al.*, 2001), ainsi que la structure génétique chez la plante marine *Thalassodendron ciliatum* (Bandeira & Nilsson, 2001). Au delà de l'influence des courants sur la différenciation génétique, notons que ceux-ci peuvent même être responsables de la limite de répartition de l'espèce, comme c'est le cas à Point Conception (Californie) pour de nombreuses espèces (Wares *et al.*, 2001).

2.1.2.2 Les barrières physiques à la migration

Différentes caractéristiques du milieu marin viennent compliquer le simple effet de la dispersion planctonique sur la structure génétique. Nous avons vu que la complexité des courants marins peuvent orienter la dispersion, et les courants giratoires peuvent aller jusqu'à isoler une population (Billot, 1999). La structure génétique peut donc ne pas être liée à la distance géographique et, même en pleine mer, l'habitat peut paraître "fragmenté" (Palumbi, 1994). D'autre part, les barrières physiques telles que les rivières (barrières d'eau douce), des résurgences (remontées en surface d'eau profonde, froide et plus salée), ou des sites industriels polluants, même s'ils ne représentent pas des barrières absolues, constituent un milieu peu propice à la survie des propagules, et peuvent donc réduire les flux de gènes (Riginos & Nachman, 2001). Même une petite interruption dans la distribution d'une espèce

peut constituer une barrière aux flux de gènes et favoriser la différenciation génétique (Giles & Goudet, 1997; Johnson & Black, 1998; Bernardi, 2000).

2.1.2.3 L'écosystème côtier : un système à une dimension ?

L'étroitesse de la zone côtière, en particulier dans la zone de balancement des marées, pourrait permettre de considérer l'écosystème côtier comme un système à une dimension. Néanmoins, l'environnement côtier présente souvent une forte hétérogénéité. Le milieu subtidal présente par exemple un fort gradient pour la lumière. Le milieu intertidal est spatialement et temporellement très hétérogène pour les conditions de dessiccation, de lumière, de l'action des vagues et de la circulation de l'eau. Cette hétérogénéité peut avoir des conséquences sur la structure génétique à petite échelle. Par exemple, Ruckelshaus (1998) a suggéré que les mouvements d'eau à l'intérieur de la zone de balancement des marées pourraient expliquer la plupart des cas où, chez les organismes marins fixés, une absence de corrélation entre différenciation génétique et distances géographiques est observée. Engel (2000) montre chez l'algue rouge *Gracilaria gracilis* que les flux de gènes entre populations hautes et basses sur l'estran suivent les courants d'eau résiduelle à marée basse. D'autre part, la structure même de l'habitat (rochers/plate-forme, position haute/basse sur l'estran) permet d'expliquer jusqu'à 80 % de la variabilité génétique locale chez le gastéropode *Littorina saxatilis* (Johanesson & Tatarenkov, 1997).

2.1.3 Hypothèses et objectifs relatifs à *M. laminarioides*

Chez *M. laminarioides*, la dispersion semble relativement limitée (voir Chapitre 1). Différents éléments suggèrent que la diversité génétique serait structurée à différentes échelles spatiales.

2.1.3.1 Structure régionale

Comme nous l'avons vu précédemment, *M. laminarioides* est inféodée aux zones rocheuses. Nous pouvons donc nous interroger sur les mouvements des gènes entre zones rocheuses et à l'intérieur de celles-ci (où la distribution est continue). D'autre part, même si la dispersion est importante au point de permettre des échanges entre populations géographiquement très éloignées, on s'attend intuitivement à ce que les flux de gènes aient lieu avant tout entre populations (ou zones rocheuses) voisines. Ce mode de migration pas à

pas devrait se traduire par une augmentation de la différenciation génétique en fonction de la distance géographique qui sépare les populations, c'est-à-dire un isolement par la distance.

Etant donné la forte dépendance de la dispersion des spores et des éventuels fragments de frondes aux mouvements des masses d'eau, l'hypothèse d'une orientation des flux de gènes en fonction des courants côtiers est avancée. Ces courants ont des caractéristiques assez particulières (détaillées par (Strub *et al.*, 1998). Le phénomène principal affectant la circulation des courants côtiers est celui de la résurgence qui affecte les côtes chiliennes et péruviennes durant le printemps et l'été essentiellement. Il s'agit d'un déplacement de la partie supérieure de la colonne d'eau (au-dessus du thermocline) vers le large (direction nord-ouest), résultat des vents sud à sud-ouest d'une durée supérieure à 1 jour. Cette eau qui se déplace vers le large est remplacée par l'eau froide des profondeurs, riche en nutriment. Les larves ou les spores situées au-dessus du thermocline (20 à 30m) sont donc emportés vers le large. La durée des vents favorables détermine l'importance du déplacement vers le large de la couche superficielle. Lorsque ce courant est suffisamment fort, il peut emporter les larves d'invertébrés tellement loin des côtes (plus de 100km, (Strub *et al.*, 1998) que leur recrutement s'en trouve fortement réduit (Roughgarden *et al.*, 1998). Ce mécanisme est toujours accompagné d'un courant orienté vers le nord, le Courant Côtier Chilien (Chile Coastal Current), d'une profondeur qui n'excède pas 30m et d'une largeur d'environ 20 à 30km depuis la côte. Juste en dessous (de 40 à 60m de profondeur) se situe le courant de Gunther, plus permanent et orienté vers le sud. En hiver, le vent côtier peut s'apaiser pendant des périodes courtes (3 à 19 jours) et le Courant Côtier Chilien prend alors une orientation au sud. De même, (Shaffer *et al.*, 1999) ont montré que les variations saisonnières peuvent être accentuées par des événements tels que l'oscillation sud El Niño (ENSO, phénomène qui affecte peu cependant les régions échantillonnées dans cette étude). Il semble tout de même que le principal et plus régulier courant côtier soit orienté strictement vers le nord.

Enfin, la forte mortalité qui a affecté les communautés de macro-algues de la région centrale du Chili lors du tremblement de terre de 1985 (Castilla, 1988), correspond à de multiples extinctions locales ou de très fortes réductions de la taille des populations de *M. laminarioides*. Dans ce contexte, même si la dispersion est importante, la dérive génétique a pu être suffisamment forte pour créer de la différenciation entre populations géographiquement proches.

2.1.3.2 Structure locale

A l'intérieur d'une zone rocheuse, lorsque la distribution est continue sur quelques centaines de mètres à quelques kilomètres, on peut se demander s'il existe une structure génétique, et si elle est le résultat d'une dispersion à courte distance des spores. D'une part, comme nous l'avons vu précédemment (Chapitre 1), les herbivores pourraient intervenir dans la dispersion et le recrutement de *M. laminarioides* (voir Chapitre 1). Dans ce cas, les distances de dispersion dépendraient essentiellement des mouvements des herbivores. (c'est-à-dire, de quelques mètres à quelques dizaines de mètres). On attend dans ce cas une différenciation à très petite échelle spatiale.

D'autre part, nous avons vu que la structure de l'habitat peut influencer la dispersion à très petite échelle spatiale (quelques mètres), notamment en orientant la circulation de l'eau dans la zone intertidale.

Finalement, la distribution agrégée des infections de *Pleurocapsa* sp. dans les peuplements de *M. laminarioides*, en supposant qu'elle ait une base génétique et pas seulement environnementale, est également un élément suggérant que la différenciation peut être observée à petite échelle spatiale. En effet, la présence de ces infections peut affecter les caractéristiques démographiques telles qu'une mortalité supérieure ou une densité plus forte (ou plus faible) d'individus hôtes par rapport aux zones de faible prévalence des infections, ou au contraire résulter d'une variabilité spatiale de ces mêmes caractéristiques. Dans ce cas, on peut se demander si la présence des infections s'accompagne de changements dans la taille efficace du segment infecté de la population, avec par conséquent des effets potentiels de la dérive plus importants que dans les zones non-infectées. D'autre part, si une mortalité sélective affecte les individus parasités, alors la composition génétique des zones infectées pourrait en être affectée. En effet, il est possible que seuls les individus qui tolèrent la pression exercée par des infections puissent se développer dans les zones où la prévalence est très forte. Les génotypes ne possédant pas les gènes ou la combinaison d'allèles conférant cette tolérance aux infections seraient éliminés. Cette pression de sélection s'apparente à la sélection d'arrière-plan, (une expression utilisée par (Godelle *et al.*, 1998) pour traduire le concept de "background selection") qui, en éliminant les allèles délétères, cause une réduction de la taille efficace des locus neutres situés sur le chromosome où agit la sélection, en particulier ceux qui sont proches du gène portant cet allèle délétère (Charlesworth *et al.*, 1993). Une fois encore, la dérive pourrait affecter plus fortement les zones infectées et éventuellement générer de la différenciation génétique à très petite échelle spatiale.

2.1.3.3 Objectifs

Le présent chapitre se propose de répondre aux objectifs suivants : (1) estimer la diversité génétique et décrire les possibles mécanismes qui la maintiennent, (2) décrire la structure génétique dans l'espace et comprendre l'importance des migrations par rapport à la dérive (et définir ainsi la taille d'une population), (3) tester si les populations ont effectivement subi un goulot d'étranglement démographique capable de générer une différenciation génétique, (4) tester si les courants marins orientent les flux de gènes.

2.2 Matériel et Méthodes

2.2.1 Choix du marqueur

Bien que les allozymes aient été utilisés avec succès dans l'examen de la structure génétique des populations chez de nombreux organismes, ils ne sont cependant pas des marqueurs idéaux chez les algues. En effet, les enzymes utilisées offrent généralement peu de locus analysables, lesquels sont de surcroît peu polymorphes (Sosa & Lindstrom, 1999 ; Valero *et al.*, 2001). Dans ce contexte, différents outils moléculaires (basés sur des fragments d'ADN exclusivement) ont été développés chez plusieurs espèces d'algues dans le but d'améliorer la résolution des études de génétique des populations. Ainsi, les microsatellites ont été développés chez l'algue rouge *Gracilaria gracilis* (Luo *et al.*, 1999), l'algue brune *Laminaria digitata* (Billot *et al.*, 1998) et l'algue verte *Cladophoropsis membranacea* (VanDerStrate *et al.*, 2000). Ces marqueurs hypervariables offrent l'avantage de révéler une plus grande diversité que les allozymes (Valero *et al.*, 2001), et ont permis des études détaillées sur la structure génétique des populations (Engel *et al.*, 1997; Billot, 1999; Engel-Palmiter, 2000), des modalités de croisement entre mâles et femelles (Engel *et al.*, 1999) ou de la contribution relative des haploïdes, des diploïdes et des clones dans la structure à petite échelle spatiale (van der Strate *et al.*, 2002). D'autres types de marqueurs moléculaires ont été développés récemment, tels les haplotypes d'ADN chloroplastique pour l'algue rouge *Caloglossa leprieurii* (Zuccarello *et al.*, 2000; Zuccarello *et al.*, 2001), ou d'ADN mitochondrial pour *Postelsia palmaeformis* (Coyer *et al.*, 1997). La majorité des études menées à ce jour concerne néanmoins des marqueurs dits "aléatoires" car utilisant des portions d'ADN dont la séquence est inconnue. C'est le cas des marqueurs AFLP (pour Amplified Fragment Length Polymorphism) développés pour l'algue brune *Alaria marginata* (Kusumo & Druehl, 2000), et des marqueurs RAPD (pour Random Amplified Polymorphic

DNA) chez plusieurs espèces d'algues rouges (van Oppen *et al.*, 1995; Meneses, 1996; Alberto *et al.*, 1997; Alberto *et al.*, 1999; Wright *et al.*, 2000; Meneses, 2001) et brunes (Coyer *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 2000; Engelen *et al.*, 2001).

Dans l'ensemble, ces études basées sur des marqueurs moléculaires, bien qu'encore peu nombreuses et toutes très récentes, ont permis de retracer l'histoire biogéographique des espèces (van Oppen *et al.*, 1995; Coyer *et al.*, 1997; Miller *et al.*, 2000), de décrire les flux de gènes, de l'isolement par la distance (Engel *et al.*, 1997; Billot, 1999; Engel-Palmiter, 2000) à l'orientation des flux de gènes (Engelen *et al.*, 2001), et ont révélé de la différenciation génétique à des échelles spatiales parfois très fines (Engel-Palmiter, 2000; Kusumo & Druehl, 2000; Wright *et al.*, 2000; Zucarello *et al.*, 2001; VanDerStrate *et al.*, 2002).

Pour analyser la diversité génétique chez *M. laminarioides*, le choix du marqueur s'est porté sur des fragments d'ADN amplifiés par des amorces aléatoires de 10 bases, communément appelé RAPD (Welsh & McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990). Ce marqueur consiste en une série de fragments d'ADN de tailles différentes, dont la séquence est inconnue, et qui, pour être détectés, sont simplement séparés par électrophorèse sur gel d'agarose. Le résultat consiste en un profil de bandes caractérisées par leur taille, et dont les présences ou absences changent entre individus lorsqu'il y a polymorphisme. Les marqueurs RAPD sont fréquemment utilisés pour les études de structure génétique des populations, et leurs avantages sont nombreux : relativement faciles à développer (par rapport aux marqueurs microsatellites, par exemple) et peu onéreux, ils amplifient de nombreuses régions du génome, générant un grand nombre de locus. Ceci permet en particulier d'éviter d'éventuels problèmes liés à l'analyse de différents locus qui, bien que possédant une histoire évolutive commune (au sein d'une même lignée), présentent parfois des propriétés différentes (Sunnucks, 2000).

L'inconvénient majeur de cette technique tient à la très grande sensibilité du résultat aux conditions d'amplification. Le marqueur RAPD a donc souvent été accusé de manquer de reproductibilité (Pérez *et al.*, 1998; Harris, 1999). Comme ce n'est pas un marqueur spécifique (les amorces peuvent amplifier tout fragment d'ADN présent dans le milieu de réaction), il est également très sensible aux éventuelles contaminations (Rabouam *et al.*, 1999). Il est cependant possible d'établir un protocole rigoureux et standardisé, de la méthode d'échantillonnage au protocole de comptage des bandes, en passant par la qualité des extractions d'ADN et l'uniformisation des conditions de PCR et d'électrophorèse (Harris, 1999). La dominance du marqueur est également un inconvénient. En effet, chez les

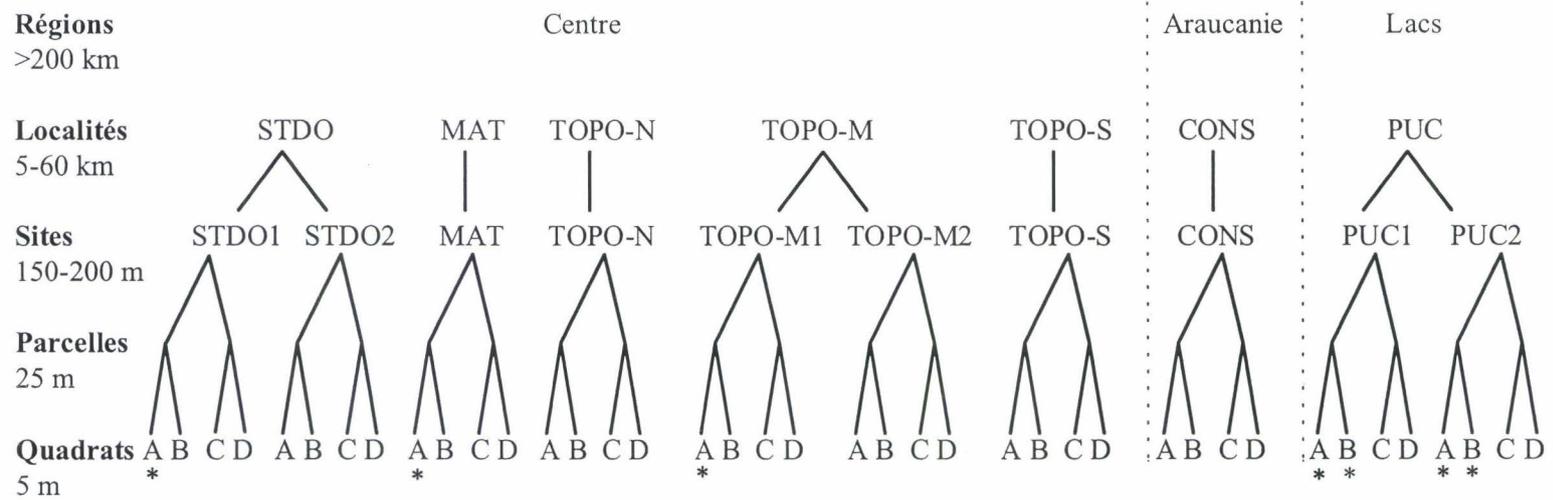


Figure 2.1 : Schéma du plan d'échantillonnage hiérarchique. Les distances représentées sont celles qui séparent les unités aux différents niveaux hiérarchiques. * indique que le quadrat est situé dans une zone fortement infectée par *Pleurocapsa* sp.

organismes diploïdes, la présence d'une bande ne permet pas de savoir directement s'il s'agit d'un homozygote (génotype "présent"- "présent") ou d'un hétérozygote (génotype "présent"- "absent"). Il n'est donc pas possible d'estimer les fréquences alléliques, sauf de manière indirecte (voir Lynch & Milligan, 1994). Cependant, la possibilité d'utiliser les individus haploïdes chez une espèce haploïde-diploïde comme *M. laminarioides* permet d'éviter cet inconvénient. On considère ainsi que chaque bande correspond à 1 locus à 2 allèles dont les fréquences sont estimées directement à partir de la présence et de l'absence des bandes. Chaque profile de bandes correspond à un génotype multilocus haploïde.

2.2.2 Stratégie d'échantillonnage

2.2.2.1 Echantillonnage hiérarchique

Afin de pouvoir détecter à partir de quelle échelle spatiale apparaît la différenciation génétique, un échantillonnage hiérarchique a été réalisé. Six niveaux ont été considérées (Figure 2.1) : (1) les régions séparées par 200 à 900 km ; (2) les localités séparées par 5 à 60km ; (3) les sites séparés par 150 à 200m à l'intérieur d'une même côte rocheuse (c'est à dire, à l'intérieur d'une distribution continue) ; (4) les parcelles séparés par 25 à 30m dans les sites ; (5) les quadrats séparés par 5m ; et (6) les individus échantillonnés dans les quadrats de 1m². Les sept localités présentées au chapitre 1 ont été échantillonnées. Les sites séparés par 150 à 200m sont au nombre de 2 dans les localités de Santo Domingo, Topocalma-Centre et Pucatrihue (les autres localités ne renferment qu'un site). Un total de 10 sites a donc été échantillonné. Chaque site est constitué de 2 parcelles, avec 2 quadrats par parcelle (Figure 2.1). Lorsque cela était possible, un quadrat (le quadrat A) était positionné dans une zone de haute infection par *Pleurocapsa* sp. Ce fut le cas à STD01, MAT et TOPO-M1. Dans les deux sites de Pucatrihue (PUC1 et PUC2), les zones de haute infection étaient si vastes que deux quadrats par site (quadrats A et B) y ont été échantillonnés.

2.2.2.2 Sélection et traitement des échantillons

Dans chaque quadrat, 35 à 40 frondes ont été prélevées en s'assurant de n'en prélever qu'une par disque (et donc par individu). Le détail du protocole de traitement de ces échantillons figure dans l'article 2. Précisons tout de même que seules les frondes juvéniles et saines ont été échantillonnées. Le niveau de ploïdie de ces frondes fut établi grâce au test du résorcinol (Craigie & Leigh, 1978). Seuls les individus haploïdes ont été retenus. Les frondes ont été examinées avec attention : les parties abîmées, malades, dépigmentées, visiblement

infectées par un endophyte ou un épiphyte ont été éliminées. Les échantillons ont ensuite subi un bain à ultrasons destiné décoller tout ce qui pouvait rester en surface. Après un ultime rinçage à l'eau distillée, les frondes ont été séchées et stockées en attendant l'extraction de l'ADN. A la suite de ce traitement, environ 20 individus par quadrat ont été retenus pour les analyses génétiques.

2.2.3 Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont divisées en 4 parties : 1) étude de la diversité génétique (estimation des diversités allélique et génotypique, étude des potentielles sources de variation des fréquences alléliques et de la diversité génétique), 2) analyse de l'association entre locus (déséquilibre de liaison), 3) analyse de la différenciation génétique à différentes échelles spatiales, et 4) étude de l'orientation des flux de gènes entre populations (assignations).

2.2.3.1 Diversité génétique

Diversité allélique

La connaissance des fréquences alléliques permet tout d'abord de calculer le nombre moyen d'allèles par locus, qui varie de 1 (un allèle est fixé dans toutes les populations) à 2 (les deux allèles sont en fréquences égales dans chaque population). Il est en outre possible de calculer un indice classique de diversité génétique, également appelé diversité allélique ou hétérozygotie, $H = 1 - \sum p_i^2$ (p_i désignant la fréquence de l'allèle i). On remarque que pour un locus à deux allèles (tel les RAPD), H varie de 0 (un allèle est fixé, l'autre en fréquence nulle) à 0.5 (quand les deux allèles sont en égale fréquence). Pour décrire la diversité allélique ainsi définie, l'indice H non-biaisé (corrigé par la taille de l'échantillon, (Nei, 1978)) a été choisi en raison du faible effectif parfois rencontré dans les quadrats.

Diversité génotypique

La diversité des génotypes multilocus haploïdes est estimée en comptant le nombre d'individus partageant un même génotype. Deux individus (ou plus) peuvent partager un même génotype s'ils sont le résultat d'une reproduction clonale, puisque dans ce cas l'absence de recombinaison fait que l'ensemble de la combinaison d'allèles (le génotype) est transmis à tous les descendants. Cependant, dans le cas d'une reproduction sexuée, avec recombinaison entre locus à chaque génération, l'espérance d'un génotype est déterminée par la fréquence des allèles qui le composent. Un génotype composé de nombreux locus, chacun avec plusieurs allèles en faibles fréquences, possèdera une très faible probabilité d'être partagé par deux

individus. En revanche, si les locus qui composent un génotype possèdent peu d'allèles (comme c'est le cas pour les locus RAPD qui ne possèdent que deux allèles), la probabilité qu'un génotype soit partagé par plusieurs individus pourra être relativement importante. Elle sera d'autant plus forte que les fréquences des allèles seront élevées. On s'attend également à ce que des populations voisines, possédant des fréquences alléliques semblables, présentent une probabilité de partager des génotypes plus forte que deux populations différenciées.

La proportion de génotypes partagés a été calculée pour chaque site et par paire de sites. Afin d'aborder, en première approche, l'importance de la différenciation des sites selon la distance qui les sépare, la régression entre le nombre d'haplotypes partagés entre sites et la distance qui sépare les sites a été calculée.

Recherche de marqueurs influencés par la sélection

De par la nature même des locus RAPD, il est important de s'assurer de leur neutralité face à la sélection naturelle. D'une manière plus générale, la sélection peut affecter les locus neutres s'ils sont liés à des locus sélectionnés. Par exemple, l'élimination des allèles délétères par la sélection d'arrière-plan peut affecter la taille efficace des locus avoisinant le gène sélectionné sur le chromosome (Charlesworth *et al.*, 1993). Selon un processus similaire, un allèle favorable, qui sera maintenu en forte fréquence dans la population, pourra réduire la diversité en entraînant par "auto-stop" certains allèles des locus qui lui sont liés. Par contre, d'autres modes de sélection (disruptive, stabilisante ou fréquence-dépendante) peuvent au contraire maintenir le polymorphisme aux locus liés. Quel que soit le processus, le résultat sera généralement une augmentation apparente de la différenciation entre populations, sauf dans le cas d'une sélection stabilisante qui réduira au contraire la différenciation.

Ces différences de comportement des locus par rapport à la moyenne représentent un moyen de détecter la sélection si elle agit sur les marqueurs utilisés. Beaumont & Nichols (1996) ont proposé d'examiner la distribution des F_{ST} observés en fonction des H_e . Les locus sélectionnés sont ceux qui s'écartent de l'intervalle de confiance des F_{ST} estimée par simulation à partir de modèles de mutation et de migration préalablement définis. Ici, cette intervalle de confiance a été estimé par 1000 bootstrap sur les locus, afin d'éviter l'utilisation d'un modèle de mutation peu représentatif des marqueurs RAPD. Cette analyse a été appliquée à plusieurs échelles spatiales (localités, région Centre, total). Les locus montrant systématiquement une forte ou une faible valeur de F_{ST} seront considérés comme potentiellement soumis à sélection. Il ne s'agit pas à proprement parler d'un test de neutralité mais simplement d'une exploration des données (Beaumont & Nichols, 1996).

2.2.3.2 Déséquilibre de liaison

Le déséquilibre de liaison (ou déséquilibre gamétique (Lewontin & Kojima, 1960)) est défini comme l'excès de gamètes portant une combinaison particulière d'allèles par rapport à ce qu'on attend sous l'hypothèse d'une association au hasard des allèles entre les différents locus. L'indice de déséquilibre de liaison, D , est défini comme la différence entre la fréquence d'un génotype et le produit des fréquences des allèles qui le compose.

Il existe plusieurs sources de déséquilibre de liaison :

- Dans le cas d'une liaison physique entre les locus (les locus se trouvent sur le même chromosome), les allèles ségrègent ensemble sans être soumis à l'effet de la recombinaison lors de la méiose.

- La reproduction végétative (ou clonale) se traduit par une absence d'événement de recombinaison entre locus, et fait donc en sorte que les allèles ségrègent ensemble comme s'il étaient liés physiquement. De même, l'autofécondation récurrente ou la reproduction entre individus apparentés se traduit par une proportion importante de locus homozygotes dans les génotypes. Une même combinaison d'allèles est donc systématiquement transmise à l'ensemble de la descendance, ce qui équivaut à une absence de recombinaison.

- La sélection fait augmenter en fréquence les combinaison d'allèles favorables, créant ainsi un déséquilibre de liaison stable (mettant en jeu les mêmes allèles).

- Au contraire, lorsque la migration est limitée, la recombinaison est moins efficace puisque l'union des gamètes entre unités panmictiques devient plus rare. Dans ce cas, la dérive fait fluctuer les fréquences alléliques aléatoirement dans les sous-populations, augmentant ainsi la variance dans le déséquilibre de liaison. On s'attend à ce que ces fluctuations augmentent avec l'importance de la différenciation génétique des populations. Il est possible de calculer les composantes intra- et inter-population de la variance du D moyen de la population entière (Ohta, 1982b). Cette partition de la variance de D permet d'estimer si les déséquilibres observés varient aléatoirement (s'ils sont le résultat des effets de la dérive) ou s'ils sont plus stables (sous l'action de la sélection, voir (Ohta, 1982a).

L'étude du déséquilibre de liaison permet donc d'évaluer à la fois l'indépendance des variables (les locus), et d'estimer indirectement (en première approche) l'importance de la recombinaison et de la structure génétique.

Le déséquilibre de liaison a été calculé pour chaque paire de locus et testé³ par des tests exacts sur les fréquences alléliques de chaque paire de locus (Slatkin, 1994). Ces tests ont été effectués dans les quadrats (la plus petite unité d'échantillonnage), dans les sites (en regroupant les 4 quadrats d'un même site en une seule unité), dans la région centrale et dans le total (en regroupant les quadrats de la région centrale et du total respectivement). L'analyse des composantes intra- et inter-population de la variance de D a été réalisée⁴ à l'échelle des sites, en comparant la variance de D dans chaque quadrat avec la variance entre quadrats, et à l'échelle globale, en comparant la variance de D dans chaque site avec la variance entre sites.

2.2.3.3 Analyse de la différenciation génétique

Analyse hiérarchique de la variabilité génétique

Comme l'échantillonnage était hiérarchique, les fréquences alléliques ont été traitées par une analyse hiérarchique de la variance : une AMOVA (pour Analysis of MOlecular VAriance, (Excoffier *et al.*, 1992)). Ce type d'analyse statistique estime les composantes de la variance des fréquences alléliques et calcule les statistiques F de (Wright, 1931, 1951). Pour un groupe d'individus constitué de plusieurs unités subdivisées en plusieurs sous-unités, le principe de l'AMOVA est de partager la variance⁵ totale entre les sous-unités (σ_T^2) en trois composantes : "entre unités" (σ_a^2), "entre sous-unités dans les unités" (σ_b^2), et "dans les sous-unités" (σ_c^2). L'indice classique de la différenciation génétique entre sous-unités, F_{ST} (Wright, 1951), ou plutôt dans le cas présent son estimateur non-biaisé θ (Weir & Cockerham, 1984), est alors obtenu d'après le rapport des covariances : $F_{ST} = (\sigma_a^2 + \sigma_b^2) / \sigma_T^2$. Tout comme pour la variance totale des fréquences alléliques, F_{ST} peut être partagé en F_{CT} (pour la différenciation entre unités, $F_{CT} = \sigma_a^2 / \sigma_T^2$), et en F_{SC} (pour la différenciation entre sous-unités dans les unités, $F_{SC} = \sigma_b^2 / (\sigma_b^2 + \sigma_c^2)$).

³ Les tests ont été réalisés à l'aide du logiciel ARLEQUIN (Schneider *et al.*, 2000).

⁴ Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel GENETIX, Logiciel sous WindowsTM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome et Populations, CNRS UPR 9060, Université de Montpellier II, Montpellier (France).

⁵ Il s'agirait en fait de covariance plutôt que de variance (Rousset, 2000).

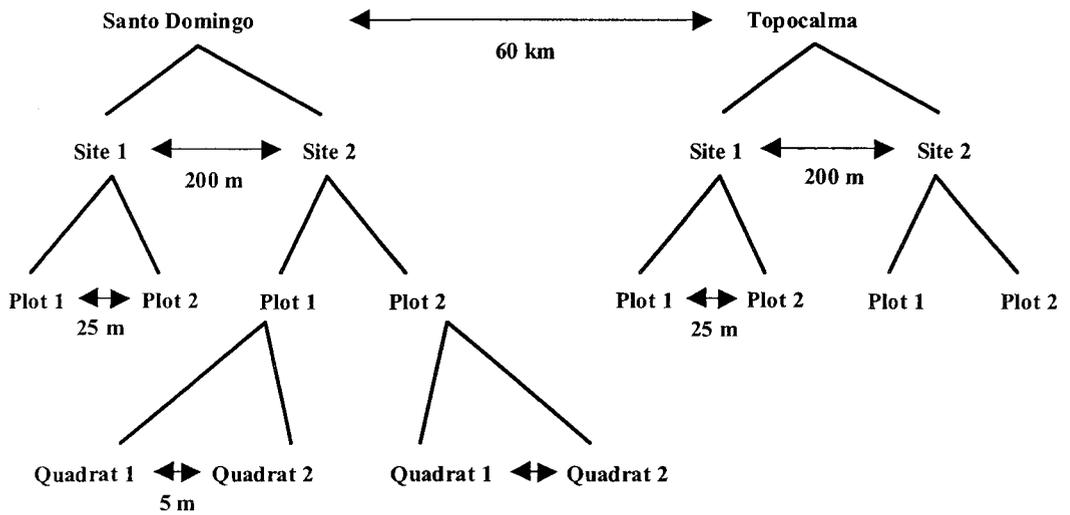


Figure 2.2 : Schéma expérimental utilisé pour les analyses hiérarchisées de la diversité génétique (AMOVA). Les quadrats ne figurent que dans le site 2 de Santo Domingo, mais sont présents dans chaque plot de chaque site.

Trois types d'analyses⁶ ont été appliqués en incluant 4 échelles spatiales (voir Figure 2.2) : les localités séparées par 60 km, les sites séparés par 150-200 m, les parcelles séparées par 25 m, et les quadrats séparés par 5 m. La première analyse (intra-région) inclut les localités de Santo Domingo et de Topocalma-Milieu, et partage la covariance entre sites en une composante "entre localités" et une composante "entre sites dans les localités". La deuxième analyse (intra-localité) inclut les localités de Santo Domingo, Topocalma-Milieu et Pucatrihue, et partage la covariance entre parcelles en une composante "entre sites" et une composante "entre parcelles dans les sites". La troisième analyse (intra-site) partage la covariance entre quadrats en une composante "entre parcelles" et une composante "entre quadrats dans les parcelles". Toutes ces analyses⁷ ont été d'abord effectuées pour chaque locus indépendamment, puis les résultats sont synthétisés en faisant la somme des composantes des covariances à chaque niveau hiérarchique. Ainsi, les statistiques F globales ne sont pas des moyennes sur les locus mais les rapports des sommes de chaque composante de la covariance sur tous les locus. La signification des statistiques F a été testée à l'aide de permutations (100 000 pour chaque test) : F_{CT} et σ_a^2 ont été testés en permutant les sous-unités entre unités, F_{SC} et σ_b^2 ont été testés en permutant les génotypes entre sous-unités dans les unités, et F_{ST} et σ_c^2 ont été testés en permutant les génotypes entre sous-unités et entre unités.

Différenciation des populations et isolement par la distance

Afin de tester la différenciation globale entre toutes les populations (qui seront définies comme le plus petit niveau hiérarchique à partir duquel la différenciation est observée, voir Résultats), un arbre de "Neighbour-Joining" a été construit à partir des distances de Reynolds ($d = -\text{Log}(1-F_{ST})$), (Reynolds *et al.*, 1983). La robustesse des nœuds a été estimée par la procédure de "bootstrap" (1000 bootstrap).

Afin de tester si la différenciation génétique augmente avec la distance séparant les unités (Slatkin, 1985), la matrice de distances génétiques ($F_{ST}/(1-F_{ST})$) est comparée à la matrice de distances géographiques⁸. Le test de Mantel (Mantel, 1967) calcule la corrélation entre ces deux matrices. Des permutations de lignes et de colonnes de chaque matrice permettent ensuite d'estimer une probabilité associée à cette corrélation.

⁶ Une quatrième analyse, basée sur seulement 16 locus, est proposée dans l'étude préliminaire (Article 1). Elle inclut les sites TOPO-N, TOPO-M1 et TOPO-S, et partage la variance entre quadrats en une composante "entre sites" (dans l'article, les sites sont séparés par 5 km) et une composante "entre quadrats dans les sites".

⁷ Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel ARLEQUIN v2.000 (Schneider *et al.*, 2000).

⁸ Dans le cas d'un système linéaire tel que l'écosystème côtier, ce sont les distances géographiques (et non leur logarithme comme initialement proposé par (Slatkin, 1985) qui sont utilisées (Rousset, 1997).

Différenciation entre zones infectées et non-infectées

Afin de tester la différenciation entre zones infectées et zones non-infectées, les fréquences alléliques ont été comparées entre les quadrats infectés et les quadrats non-infectés d'un même site à l'aide de tests exacts effectués à chaque locus (Raymond & Rousset, 1995). Le nombre de locus montrant une différenciation significative entre quadrats infectés et quadrats non-infectés a été comparé au nombre de locus montrant une différenciation significative entre quadrats non-infectés exclusivement (différenciation testé selon la même procédure). La signification de ces différences a été déterminée à l'aide d'un test exact⁹.

2.2.3.4 Détection d'effets de fondation

Afin de tester si la différenciation génétique est due, en partie au moins, à de récents goulots d'étranglement démographiques, l'hétérozygotie calculée à partir des fréquences alléliques (H) a été comparée avec celle (H_{eq}) attendue sous l'hypothèse d'un équilibre mutation/dérive. En effet, la réduction de la taille efficace s'accompagne d'une réduction du nombre moyen d'allèles par locus et de l'hétérozygotie (Nei *et al.*, 1975). Néanmoins, la perte d'allèles est plus rapide que la perte d'hétérozygotie parce que les allèles rares sont perdus rapidement durant un goulot d'étranglement, et qu'ils ont peu d'effet sur la valeur de H (voir (Luikart & Cornuet, 1998). Ainsi, plusieurs allèles peuvent être perdus sans avoir d'effet majeur sur l'hétérozygotie. Or, H_{eq} , l'hétérozygotie attendue à l'équilibre mutation/dérive (c'est-à-dire, sous l'hypothèse d'une taille de population constante) dépend directement du nombre d'allèles (voir (Crow & Kimura, 1970) : plus celui-ci est faible, plus H_{eq} est petit. Les populations ayant subi récemment un goulot d'étranglement montrent alors un excès d'hétérozygotie par rapport à ce qu'on attend à l'équilibre mutation/dérive ($H > H_{eq}$).

H_{eq} a été estimé dans chaque unité de base (ou population, voir la section Résultats pour une justification du choix de l'échelle spatiale). Les différences ont été testées à l'aide de deux tests (Cornuet & Luikart, 1996). Le premier est un test de signe établissant si la proportion de locus montrant un excès d'hétérozygotie est plus importante qu'attendu à l'équilibre. Le second détermine si la moyenne des différences standardisées entre H et H_{eq} est différente de zéro.

⁹ Test effectué à l'aide du sous-programme STRUCT du logiciel GENEPOP (Raymond & Rousset 1995).

2.2.3.5 Tests d'assignation

Si les statistiques appliquées précédemment nous renseignent sur la différenciation entre populations, ce qui nous permet d'avoir une idée de l'importance des flux de gènes, elles n'apportent aucune information sur l'orientation de ces flux. Les tests d'assignement, en revanche, sont des outils puissants permettant l'identification d'immigrants récents, même si la différenciation des populations est faible (Rannala & Mountain, 1997; Waser & Strobeck, 1998; Davies *et al.*, 1999). En effet, les individus assignés à une population autre que celle dans laquelle ils ont été échantillonnés peuvent être considérés comme de potentiels migrants récents depuis la population dans laquelle ils sont assignés vers la population dans laquelle ils sont observés. Il existe trois types de méthodes pour réaliser ces tests d'assignation. Le premier type calcule le maximum de vraisemblance ou la probabilité, pour un génotype, d'appartenir à une population. La seconde méthode assigne un génotype à une population à partir de la distance génétique entre le génotype et la population. Ces deux types de méthodes sont basés sur la distribution des fréquences alléliques dans les populations (Rannala & Mountain, 1997; Cornuet *et al.*, 1999; Pritchard *et al.*, 2000). La troisième méthode appelée analyse de fonctions discriminantes, consiste à déterminer un critère de classement qui maximise la différence entre les groupes (définis à priori) tout en minimisant le risque de mauvais classement des génotypes. Chaque groupe est caractérisé par un centre de gravité sur chacun des axes définis par les fonctions discriminantes. Le classement consiste à minimiser les distances entre la position de l'individu sur les différents axes et les centres de gravité des groupes correspondants. D'un point de vue statistique, il s'agit de classer une observation dans le groupe pour lequel la probabilité conditionnelle d'appartenir à ce groupe, étant données les valeurs observées, est maximale. En choisissant le critère de classification, l'analyse discriminante permet d'explorer de manière approfondie les causes de la structure génétique à différentes échelles spatiales.

Dans le cas de *M. laminarioides*, l'analyse discriminante a consisté à comparer les génotypes (chaque locus correspondant à une variable à deux états) en utilisant les sites (c'est-à-dire, les données de 4 quadrats réunies en un même groupe) comme critère de classement. Deux analyses ont été appliquées¹⁰ : la première inclut tous les sites échantillonnés, alors que la deuxième ne considère que les sites de la région Centre. La contribution de chaque variable

¹⁰ A l'aide du logiciel STATISTICA, (StaSoft, 1995)

aux différentes fonctions a été examinée à partir des coefficients standardisés de corrélation des variables aux fonctions discriminantes.

Afin de tester si les flux de gènes sont orientés, les géotypes mal classés ont été examinés en comparant le nombre d'assignations dans un site localisé au sud du site d'échantillonnage avec le nombre d'assignations dans un site localisé au nord du site d'échantillonnage. Les différences ont été examinées à l'aide d'un test de signe.

2.3 Résultats

2.3.1 Polymorphisme des locus RAPD

Un total de 695 individus haploïdes a été analysé à l'aide de 6 amorces RAPD sélectionnées pour la reproductibilité et le polymorphisme des profils d'amplification. Un total de 39 bandes reproductibles et polymorphes sur la globalité de l'échantillonnage ont été retenues. Chaque bande est considérée comme un locus à deux allèles, et nommée à partir du nom de l'amorce et de la taille du fragment d'ADN. Il existe néanmoins des données manquantes (souvent dus à des problèmes d'amplification) : les profils de l'amorce X17 (soit 9 locus) ne sont pas disponibles pour la localité de Constitución, ainsi que le locus A2-800 pour les individus de Matanzas. Ces locus ne sont donc pas considérés lorsque tous les sites sont analysés conjointement (les analyses sont alors basées sur 29 locus), mais sont inclus lorsque les analyses traitent les sites indépendamment, ou lorsque la localité de Constitución n'est pas considérée (toutes les analyses à l'intérieur de la région centrale).

Les fréquences alléliques (Annexe 2) montrent parfois des différences très marquées entre sites distants. Par exemple, le locus X1-790 n'est polymorphe qu'à Pucatrihue, X11-1250 est polymorphe surtout à Santo Domingo. Plus généralement, certains locus montrent des différences Nord/Sud marquées (X1-790, X1-750, X7-1110, X12-960, X12-500, X17-2100, X17-1750, X17-1025, A2-800, X11-1600, X11-860). D'autres (X7-570, X11-1940, X17-840 et A2-900) sont en forte fréquence dans les deux localités extrêmes (Santo Domingo et Pucatrihue) alors que leur fréquence est plus faible dans la région centrale.

Enfin, certains locus montrent des différences parfois très fortes entre sites d'une même localité ou entre quadrats d'un même site : X7-1375 à PUC2, X7-570 à STDO2, X12-500 à TOPO-M1, X17-1025 à TOPO-N, A2-1025 à STDO1, X11-1250 à STDO1 et STDO2, X11-860 à TOPO-S (voir Annexe 2 pour le détail). En revanche, aucune bande n'est associée systématiquement à un quadrat situé dans une zone de haute infection.

Tableau 2.1 : Indice de diversité allélique H (H_e non-biaisé, Nei, 1978), nombre moyen d'allèles par locus et pourcentages de génotypes partagés à l'intérieur de chacun des sites. Les moyennes sont calculées sur 39 locus. * Résultats sur 30 locus (données manquantes pour le locus X17).

Site	N	H	σ_H	Nbre moyen d'allèles par locus	% génotypes partagés
STDO1	73	0.254	0.197	1.82	1.4
STDO2	73	0.208	0.189	1.85	5.9
MAT	71	0.184	0.195	1.66	2.9
TOPO-N	78	0.180	0.177	1.72	1.3
TOPO-M1	73	0.206	0.191	1.69	0
TOPO-M2	67	0.192	0.181	1.79	3.1
TOPO-S	66	0.203	0.193	1.77	0
CONS*	77	0.135	0.166	1.60	13.6
PUC1	52	0.205	0.176	1.82	2.0
PUC2	65	0.188	0.187	1.74	3.2

Tableau 2.2 : Nombre et proportion de génotypes partagés dans chaque site et entre paires de sites. Pourcentage global (en regroupant les sites dans les localités) de génotypes partagés dans STDO : 6.6 %, dans TOPO-M : 5.0 %, et dans PUC : 5.4 %.

	STDO 1	STDO 2	MAT	TOPO-N	TOPO-M1	TOPO-M2	TOPO-S	CONS	PUC1	PUC2
STDO1	1 (1.4%)									
STDO2	4 (2.9%)	4 (5.9%)								
MAT	1 (0.7%)	0	2 (2.9%)							
TOPO-N	0	1 (0.7%)	6 (1.4%)	1 (1.3%)						
TOPO-M1	0	1 (0.7%)	0	4 (2.7%)	0					
TOPO-M2	0	0	1 (0.8%)	3 (2.2%)	0	2 (3.1%)				
TOPO-S	0	0	2 (1.5%)	3 (2.1%)	3 (2.2%)	1 (0.8%)	0			
CONS	0	0	0	0	0	0	0	9 (13.6%)		
PUC1	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (2.0%)	
PUC2	0	0	0	0	0	0	0	0	3 (2.7%)	2 (3.2%)

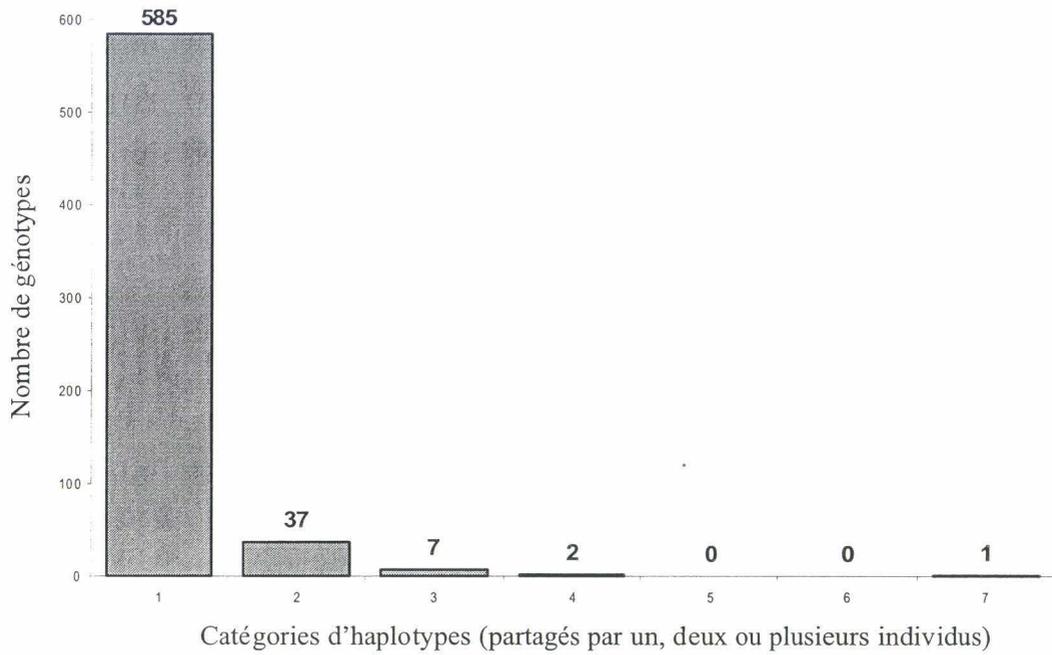


Figure 2.3 : Nombres de génotypes multilocus uniques et partagés par 2 ou plus individus. Les nombres au sommet des colonnes correspondent aux effectifs de chaque catégorie.

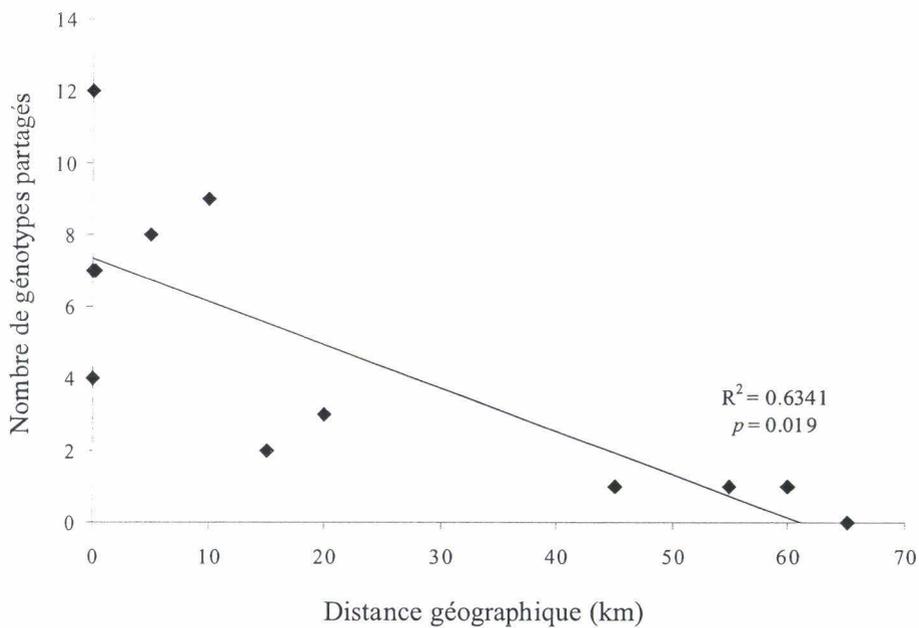


Figure 2.4 : Nombre de génotypes multilocus partagés en fonction de la distances entre les populations dans lesquelles ils sont observés.

2.3.2 Diversité génétique

2.3.2.1 Diversité allélique

La diversité allélique (Annexe 2) est très variable d'un locus à l'autre, allant de 0.0137 (locus X1-570) à 0.446 (locus X1-890). Douze locus (X1-530, X1-790, X7-1310, X12-700, X12-820, X12-960, X12-1100, X12-1700, X17-700, X17-790, X17-2100 et A2-740) sont très peu variables sur la globalité des quadrats ($H < 0.1$). Notons que seul le locus X12-960 est quasiment fixé pour l'allèle absent ; les autres locus peu polymorphes montrent une très forte fréquence de l'allèle présent. La moyenne de H sur les locus est, en revanche, généralement relativement élevée et homogène entre les quadrats d'un même site (Tableau 2.1), variant de 0.18 (MAT) à 0.254 (STDO1), sauf pour CONS ($H = 0.135$). Dans les quadrats, on observe des disparités légèrement plus importantes : H varie de 0.132 (PUC1D) à 0.255 (STDO1 C), de 0.119 à 0.146 pour CONS.

2.3.2.2 Diversité génotypique

Les 29 locus analysés sur l'ensemble de l'échantillonnage sont assemblés en génotypes dont la forte diversité est représentée par le nombre de combinaisons différentes d'allèles. Sur un total de 695 individus analysés, 630 génotypes différents sont observés. On trouve 585 génotypes qui ne sont portés que par un seul individu (soit 84.2 % des génotypes). La grande majorité des génotypes partagés l'est par deux individus seulement (Figure 2.2). On trouve tout de même un génotype partagé par un maximum de 7 individus. Si le partage des génotypes se fait majoritairement entre individus d'une même localité (27 sur les 47 génotypes partagés), on trouve également nombre de génotypes partagés par des individus de localités différentes (Tableau 2.2). C'est en particulier le cas du génotype partagé par 7 individus qui est observé dans MAT, TOPO-N, TOPO-M et TOPO-S. Cependant, les génotypes ne sont partagés qu'à l'intérieur des régions. Les trois régions possèdent des génotypes qui leur sont propres et ne les partagent pas entre elles. D'une manière générale, la fréquence de partage des génotypes diminue avec la distance géographique entre les populations (Figure 2.3). A l'intérieur des sites (Tableau 2.1), on retrouve une faible proportion de génotypes partagés (moins de 6%, sauf pour CONS : 13.6%).

Tableau 2.3 : Nombre et pourcentage des paires de locus significativement associées (après correction de Bonferroni pour les comparaisons multiples (Rice, 1990)) dans les sites et dans les quadrats de chaque site.

	Total	Quadrat A	Quadrat B	Quadrat C	Quadrat D
STDO1	19 (3.8 %)	9 (2.8 %)	7 (2.2 %)	5 (1.4 %)	19 (5.0 %)
STDO2	17 (3.2 %)	23 (7.1 %)	24 (9.5 %)	13 (7.6 %)	20 (7.2 %)
MAT	6 (2.0 %)	19 (14 %)	8 (5.9 %)	13 (6.2 %)	16 (6.3 %)
TOPO-N	8 (2.1 %)	11 (5.2 %)	5 (4.0 %)	10 (2.9 %)	4 (1.6 %)
TOPO-M1	6 (1.7 %)	14 (5.5 %)	17 (3.2 %)	8 (6.2 %)	24 (8 %)
TOPO-M2	7 (1.6 %)	12 (4.7 %)	7 (3.3 %)	13 (9.1 %)	22 (9.5 %)
TOPO-S	18 (4.1 %)	22 (8.0 %)	13 (5.5 %)	14 (5.6 %)	10 (3.1 %)
CONS	5 (2.9 %)	7 (9.0 %)	2 (2.2 %)	0	7 (5.7 %)
PUC1	41 (8.3 %)	24 (7.4 %)	20 (8.7 %)	1 (0.1 %)	4 (0.3 %)
PUC2	12 (3.4 %)	5 (2.6 %)	6 (5.0 %)	15 (6.5 %)	6 (3.2 %)

2.3.3 Déséquilibre de liaison

Un déséquilibre de liaison est observé dans tous les sites (Tableau 2.3). Les paires de locus en association sont cependant en faibles fréquences (entre 1.6 et 4.1% des paires de locus analysées). Les locus responsables sont variables d'un site à l'autre (voir l'Annexe 3 pour le détail des paires de locus en association dans les quadrats et dans les sites) : aucune paire de locus n'est observée systématiquement en association, ce qui indique qu'il n'y a pas de déséquilibre gamétique dû à une liaison physique entre locus. A l'intérieur des sites, on observe également du déséquilibre de liaison dans tous les quadrats (sauf CONS C). La proportion de paires de locus en association est très variable d'un quadrat à l'autre, mais n'atteint pas 10% (sauf MAT A : 14%). Enfin, dans les quadrats, il est fréquent d'observer que la majorité de ces déséquilibres soit due à un ou quelques locus (voir Annexe 3). Ces locus sont en général quasiment fixés pour un des deux allèles dans le quadrat.

Lorsqu'on regroupe les 7 sites de la région centre (STDO à TOPO-S) en une seule unité, la proportion des paires de locus en déséquilibre augmente à 10.0% (soit 70 paires de locus, dont 52 sont le fait de seulement 8 locus peu polymorphes). De même, lorsqu'on regroupe toutes les données (de STDO à PUC) en une seule population, on trouve alors 174 paires de locus en déséquilibre, soit 23.5%. Le fait que le déséquilibre de liaison augmente avec l'échelle spatiale laisse donc supposer que la diversité est structurée sur l'ensemble des sites analysés, mais aussi dans la région centre, entre les différents sites. L'analyse des composantes de Ohta pour chaque paire de locus indique qu'il s'agit bien d'un effet d'une structure due à de la dérive (voir Annexe 3). L'analyse des composantes de Ohta dans chaque site indique que la dérive est responsable de la variance du déséquilibre de liaison pour chaque paire de locus (résultats non-présentés).

2.3.4 Recherche de marqueurs influencés par la sélection

L'analyse de la distribution des F_{ST} en fonction des valeurs de H montre que de nombreux locus sortent de l'intervalle de confiance estimée (Figure 2.5). Parmi ceux qui sont au-delà de la limite maximale, on en observe deux qui apparaissent de manière récurrente : X17-1380 et X11-1250. Pour les rares cas où ils n'apparaissent pas en dehors de l'intervalle de confiance, ils sont en fait fixés ($H = 0$, voir Annexe 2) et ne permettent donc pas de calculer un indice de différenciation. Le fait que ces locus produisent systématiquement un fort F_{ST} , quelque soit l'échelle spatiale, suggère qu'ils sont sous l'influence de la sélection. On observe également plusieurs locus en deçà de la limite inférieure de l'intervalle de confiance. Seul le locus X1-980 est retrouvé systématiquement en deçà de la limite inférieure, quelque soit l'échelle spatiale (sauf à TOPO-M où il est quasiment absent). Ce locus est également un bon représentant de locus soumis à sélection. Dans ce cas, il s'agirait plutôt d'une sélection stabilisante qui favoriserait toujours un même allèle ou une même combinaison d'allèles, quelque soit l'endroit où on réalise l'observation.

Enfin, on observe que certains locus montrent un excès de différenciation seulement aux grandes échelles spatiales (Total et Centre). On peut se demander s'ils ne sont pas sous l'influence de la sélection également. On pense en particulier à un (éventuel) gradient latitudinal du fait de l'étirement Nord-Sud de la côte Chilienne. Cependant, par manque de répliquats à cette échelle spatiale, il est hasardeux de conclure à une action de la sélection sur ces marqueurs. Les trois locus X17-1380, X11-1250 et X1-980 retenus comme potentiellement sélectionnés sont retirés des analyses de la différenciation génétique, par mesure de précaution. Les 36 locus restant sont considérés comme neutres.

2.3.5 Analyse de la différenciation génétique

2.3.5.1 Analyse hiérarchisée de la variabilité génétique

La Figure 2.2 rappelle les distances considérées à chaque niveau hiérarchique.

Analyse intra-région

La différenciation entre localités de Santo Domingo et Topocalma-Milieu (séparées par 60 km) est très forte ($F_{CT} = 0.160$, $p = 0.0029$) et explique 16 % de la variance (Tableau 2.4). La différenciation entre sites dans les localités (séparés par 150 à 200 m), bien

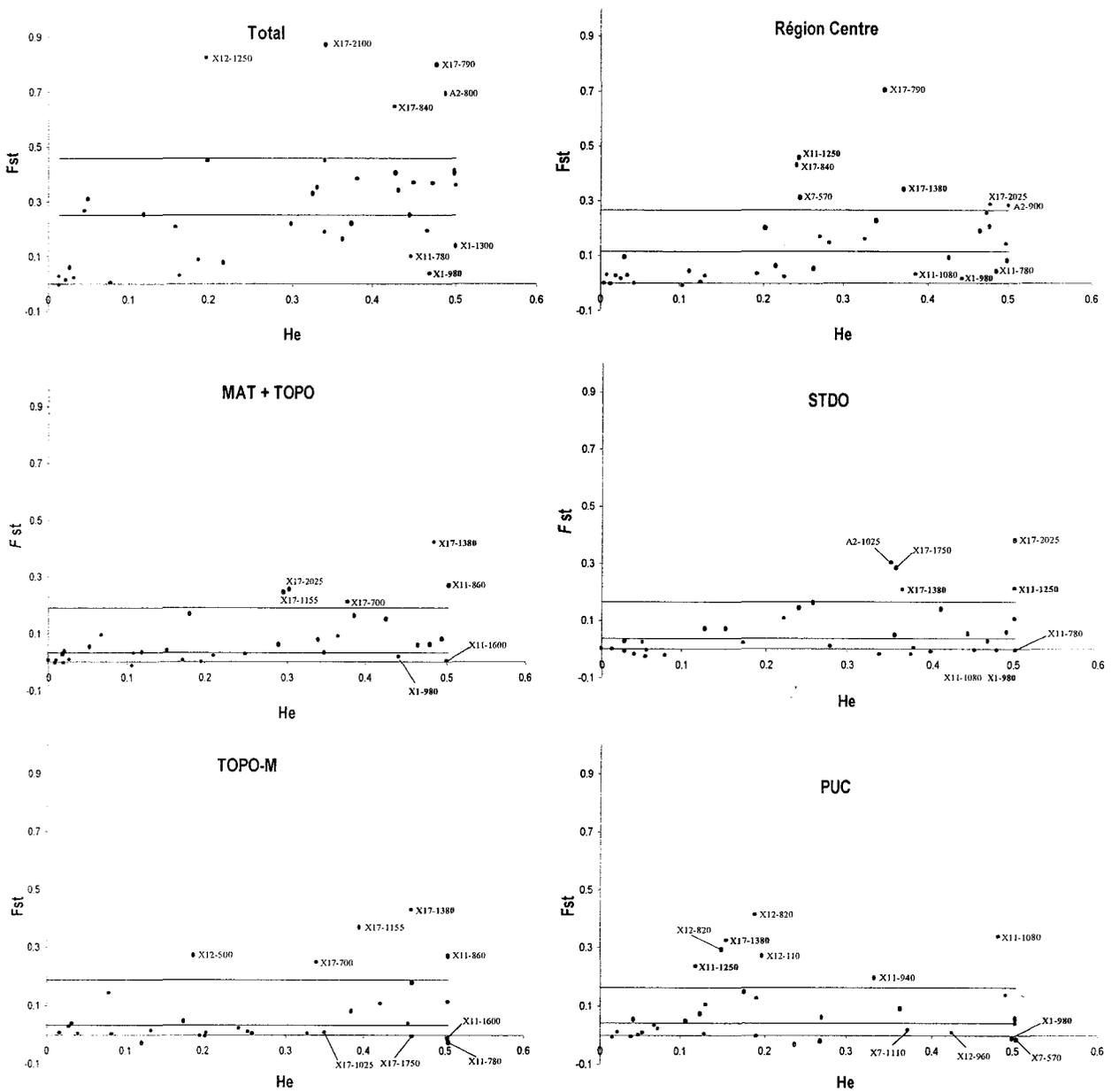


Figure 2.5 : Distribution des valeurs de F_{ST} en fonction de H_e pour chaque locus, à différentes échelles spatiales. Les lignes horizontales indiquent les limites de l'intervalle de confiance à 99 % du F_{ST} moyen (estimé par bootstrap sur les locus).

que nettement inférieure à la différenciation entre localités ($F_{SC} = 0.098$), reste très significative ($p < 10^{-4}$) et explique 8 % de la variance.

Tableau 2.4 : Résultats des AMOVA locus par locus effectuées à l'échelle de la région centre, entre les localités de Santo Domingo et Topocalma-Milieu, et à l'échelle des localités.

Niveau hiérarchique	d.d.l	Somme des carrés	% covariance expliquée
Région			
Localités	1	145.138	16.05
Sites dans les localités	2	64.896	8.20
Dans les Sites	282	1046.281	75.75
Localité			
Santo Domingo			
Sites	1	32.373	7.08
Parcelles dans les Sites	2	20.331	4.05
Dans les Parcelles	142	540.299	88.87
Topocalma-Milieu			
Sites	1	32.523	9.28
Parcelles dans les Sites	2	14.126	2.61
Dans les Parcelles	136	471.525	88.11
Pucatrihue			
Sites	1	22.571	6.36
Parcelles dans les Sites	2	17.394	5.11
Dans les Parcelles	113	368.470	88.52

Différenciation génétique	Indices de fixation	p
Région		
entre localités (F_{CT})	0.160	0.0029
entre sites dans les localités (F_{SC})	0.098	$< 10^{-4}$
globale entre Sites (F_{ST})	0.243	$< 10^{-4}$
Localité		
Santo Domingo		
entre Sites (F_{CT})	0.071	0.0059
entre Parcelles dans les Sites (F_{SC})	0.044	$< 10^{-4}$
globale entre Parcelles (F_{ST})	0.111	$< 10^{-4}$
Topocalma-Milieu		
entre Sites (F_{CT})	0.093	0.0029
entre Parcelles dans les Sites (F_{SC})	0.029	0.0010
globale entre Parcelles (F_{ST})	0.119	$< 10^{-4}$
Pucatrihue		
entre Sites (F_{CT})	0.064	0.0020
entre Parcelles dans les Sites (F_{SC})	0.055	$< 10^{-4}$
globale entre Parcelles (F_{ST})	0.115	$< 10^{-4}$

Analyses intra-localité

La structure est forte à l'intérieur des localités ($F_{ST} \simeq 0.11$, $p < 10^{-4}$). On retrouve les valeurs de différenciation entre sites importants dans chacune des trois localités analysées ($F_{CT} = 0.071$ à Santo Domingo, $F_{CT} = 0.093$ à Topocalma-Milieu et $F_{CT} = 0.064$ à Pucatrihue). Ces valeurs sont toutes très significatives (Tableau 2.4). Environ 6 à 9 % de la variance totale sont expliqués par ce niveau hiérarchique. La différenciation entre Parcelles dans les Sites est faible (F_{SC} varie de 0.03 à 0.055) mais toujours très significative ($p \leq 10^{-3}$). Le pourcentage de variance expliquée par ce niveau hiérarchique varie de 2.6 à 5.1 %.

Tableau 2.5 : Résumé des AMOVA locus par locus effectuées dans chaque Site, avec comme niveaux hiérarchiques les Parcelles séparés par 25m, et les Quadrats séparés par 5m dans les Parcelles. *** $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns : non-significatif. Les indices de fixation ont été fixés à 0 lorsque leur valeur est négative.

Covariance expliquée par niveau hiérarchique	STDO1	STDO2	MAT	TOPO-N	TOPO-M1	TOPO-M2	TOPO-S	CONS	PUC1	PUC2
Parcelles	7.67 %	-7.46 %	2.12 %	-0.29 %	1.40 %	2.21 %	-0.40 %	2.45 %	2.57 %	9.62 %
Quadrats dans les Parcelles	0.05 %	15.69 %	1.27 %	2.52 %	0.90 %	4.13 %	3.42 %	-0.40 %	14.74 %	2.88 %
Dans les Quadrats	92.28 %	91.77 %	96.60 %	97.77 %	97.70 %	93.66 %	96.98 %	97.95 %	82.69 %	87.50 %
Différentiation génétique										
entre Parcelles (F_{CT})	0.077***	0 ^{ns}	0.021 ^{ns}	0 ^{ns}	0.014 ^{ns}	0.022 ^{ns}	0 ^{ns}	0.024 ^{ns}	0.024 ^{ns}	0.096***
entre Quadrats dans les Parcelles (F_{SC})	0 ^{ns}	0.146***	0.013 ^{ns}	0.022 ^{ns}	0.009 ^{ns}	0.042**	0.034**	0 ^{ns}	0.152***	0.032*
globale entre Quadrats (F_{ST})	0.077***	0.082***	0.034*	0.025*	0.023*	0.063***	0.030**	0.020 ^{ns}	0.173***	0.125***

Analyses intra-site

L'analyse de la différenciation à l'intérieur des sites indique une structure généralement faible (F_{ST} varie de 0.02 à 0.08) sauf pour les deux sites de Pucatrihue qui montrent de fortes valeurs de F_{ST} (0.173 et 0.125, voir Tableau 2.5). Ces valeurs sont toutes significatives, excepté pour CONS. Cette structure n'est cependant pas hiérarchisée en fonction des distances entre quadrats dans les sites (sauf pour STDO1 et PUC2, voir Tableau 2.5). On observe en effet que, dans la plupart des cas, la différenciation entre quadrats dans les parcelles est plus forte que celle entre parcelles. De plus, les pourcentages de variance expliqués par les parcelles ou les quadrats dans les parcelles sont très variables, à caractère apparemment stochastique.

Les parcelles sont retenues comme unité de base, puisqu'il s'agit de la plus petite échelle spatiale à laquelle une différenciation a été observée (voir l'analyse intra-localité), et parce qu'il n'est pas possible d'établir de schéma de structure nette en deçà de cette échelle spatiale.

2.3.5.2 Différenciation des populations et isolement par la distance

L'arbre de "Neighbour-Joining" (Figure 2.6) présente 3 branches majeures séparant les trois régions échantillonnées. A l'intérieur de la région centre, les parcelles de Santo Domingo sont nettement différenciées du groupe "TOPO+MAT" dont il est distant de 45 à 60 km. Au sein de ce dernier groupe, si plusieurs nœuds sont robustes, la distance génétique ne permet pas de regrouper les parcelles en fonction des distances géographiques qui les séparent.

La comparaison des distances géographiques et génétiques entre parcelles montre néanmoins une forte corrélation ($r = 0.809$, Figure 2.7). Le test de Mantel est très significatif après 1000 permutations ($p < 10^{-4}$).

2.3.5.3 Différenciation entre zones infectées et non-infectées

Les tests exacts sur la distribution des fréquences alléliques montrent une différenciation significative entre quadrats infectés et quadrats non-infectés (Tableau 2.6A). On constate en outre que le nombre de locus montrant une différenciation significative est deux fois plus grand en comparant quadrats infectés et non-infectés qu'en comparant les quadrats non-infectés entre eux (Tableau 2.6B). Cette différence significative ($p = 8.5 \cdot 10^{-5}$)

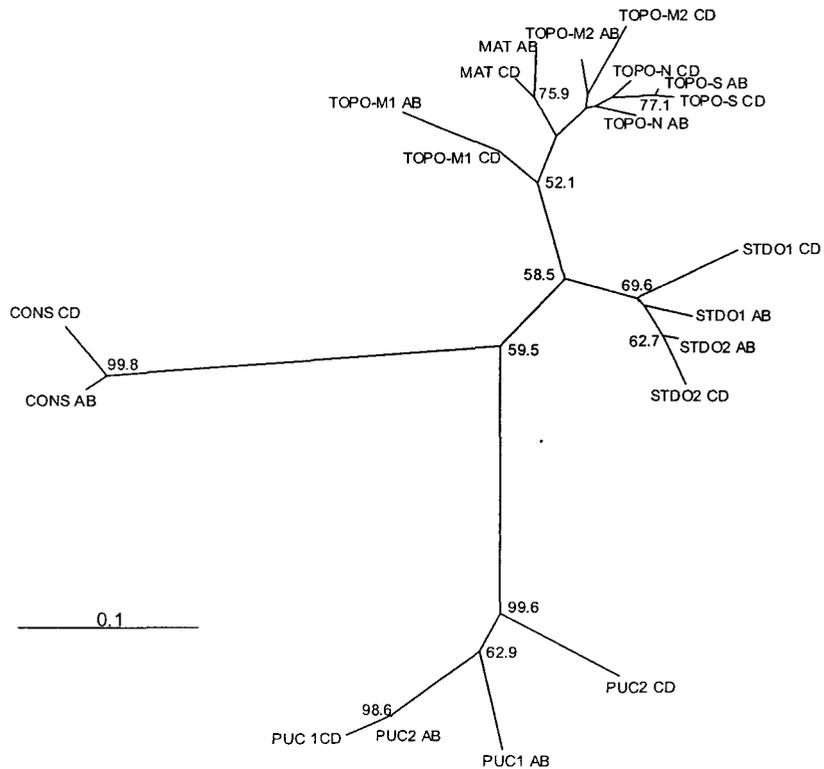


Figure 2.6 : Arbre “Neighbour-Joining” regroupant les parcelles d’après la distance de Reynolds (Reynolds *et al.* 1983). Les nombres correspondent aux valeur de Bootstrap.

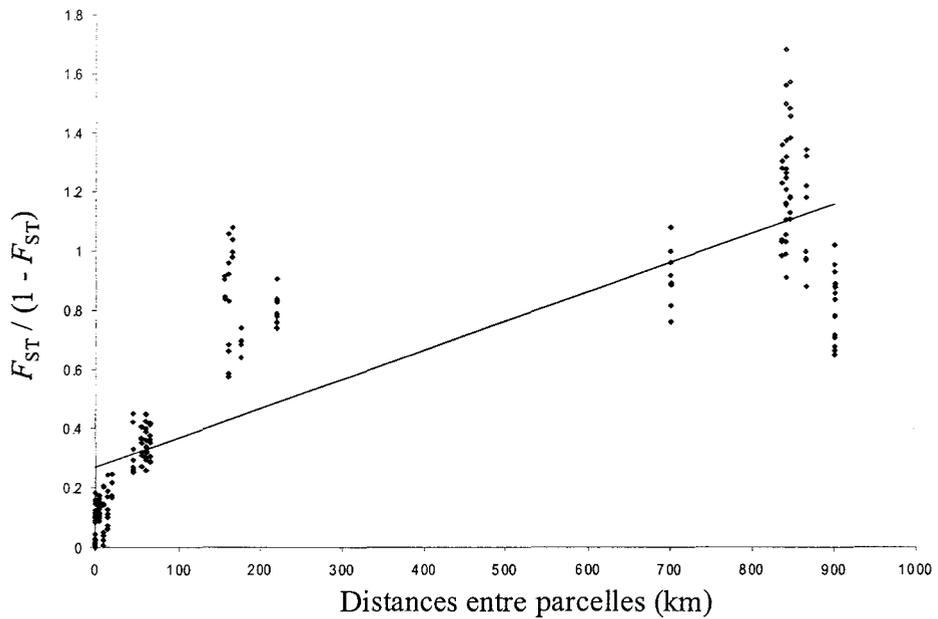


Figure 2.7 : Isolement par la distance entre parcelles (test de Mantel : $r = 0.809, p < 10^{-5}$)

Tableau 2.6 : Différenciation génétique entre quadrats infectés et non-infectés.

A. Probabilités des tests exacts sur la distribution des fréquences alléliques entre paires de quadrats. * indique les quadrats situés dans une zone infectée.

B. Nombre de paires de locus montrant une différenciation significative entre quadrats.

A.

Sites Quadrats	STDO1				MAT				TOPO-M1				PUC1				PUC2			
	A*	B	C	D	A*	B	C	D	A*	B	C	D	A*	B*	C	D	A*	B*	C	D
A																				
B	0.028				<10 ⁻³				0.017				<10 ⁻⁵				<10 ⁻³			
C	<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁵			<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁵			<10 ⁻³	0.395			<10 ⁻⁵	0.027			<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁵		
D	<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁵	0.026		0.004	0.001	0.043		<10 ⁻³	<10 ⁻³	<10 ⁻³		<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁴		<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁵	0.002	

B.

Site	Nombre de comparaisons significatives	
	entre infecté et non-infecté	entre non-infectés
STDO1	9	11
MAT	8	2
TOPO-M1	9	4
PUC1	18	11
PUC2	23	3
Total	67	31

est surtout le fait de la différenciation entre quadrats infectés et non-infectés dans la localité de Pucatrihue. En effet, un test exact sur les localités de la région Centre uniquement ne montre plus de différences ($p = 0.356$). En outre, les fréquences alléliques d'un même locus ne montrent jamais une distribution de l'allèle présent systématiquement dans l'un ou l'autre des niveaux d'infection (voir Annexe 2), suggérant par là qu'aucun locus n'est associé à la présence des infections.

Tableau 2.7 : Tests de comparaison des indices de diversité allélique H avec ceux attendus d'après le nombre moyen d'allèles par locus sous l'hypothèse d'une taille efficace constante (Heq , Cornuet & Luikart, 1996). Le test de signe de Wilcoxon teste l'hypothèse « le nombre de locus montrant $H > Heq$ est plus grand que le nombre de locus montrant $H < Heq$ ». * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; (*) $p < 0.06$; ns : non-significatif.

Parcelle	Test de signe de Wilcoxon		Différences standardisées		Signification globale
	N. déficit / N. excès	p	T2	p	
STDO1(A-B)	10/15	0.0128	2.186	0.0144	*
STDO1(C-D)	9/19	0.0064	2.523	0.0058	**
STDO2(A-B)	13/16	0.1107	0.980	0.1635	ns
STDO2(C-D)	12/13	0.2209	0.864	0.1937	ns
MAT(A-B)	5/12	0.0198	2.393	0.0083	**
MAT(C-D)	9/13	0.0829	1.607	0.0541	(*)
TOPO-N(A-B)	10/13	0.0755	1.318	0.0938	ns
TOPO-N(C-D)	13/13	0.2339	0.783	0.2167	ns
TOPO-M1(A-B)	8/16	0.0197	2.487	0.0064	**
TOPO-M1(C-D)	9/15	0.0476	2.271	0.0116	*
TOPO-M2(A-B)	8/14	0.0294	1.735	0.0414	*
TOPO-M2(C-D)	13/11	0.4277	0.434	0.3322	ns
TOPO-S(A-B)	11/14	0.0355	2.009	0.0223	*
TOPO-S(C-D)	11/15	0.0787	1.635	0.0510	(*)
CONS(A-B)	7/8	0.3394	0.500	0.3087	ns
CONS(C-D)	8/7	0.5980	-0.200	0.4209	ns
PUC1 (A-B)	14/14	0.1273	1.017	0.1545	ns
PUC1(C-D)	6/12	0.0594	1.554	0.0601	ns
PUC2(A-B)	7/13	0.0449	1.895	0.0290	*
PUC2(C-D)	10/13	0.0459	1.667	0.0478	*

2.3.6 Détection de potentiels goulots d'étranglement démographique

Les tests ont été réalisés en considérant la parcelle comme l'unité de base. Les résultats montrent que dans environ la moitié des parcelles, on peut considérer qu'un goulot d'étranglement démographique a récemment eut lieu (Tableau 2.7). Les tests sont significatifs dans 9 cas sur 20, dont 2 sont très significatifs (au seuil $\alpha = 0.01$). A ceux-là peuvent s'ajouter

des cas marginalement significatifs ($p < 0.06$). Les cas où les tests ne sont pas significatifs concernent généralement les deux parcelles d'un même site (STDO2, TOPO-N, CONS, PUC1). Inversement, les tests sont fréquemment significatifs pour les deux parcelles d'un même site (STDO1, TOPO-M1, PUC2, MAT et TOPO-S). Toutes les parcelles localisées dans une zone de haute infection par *Pleurocapsa* sp. (sauf PUC1AB) montrent une baisse significative de l'hétérozygotie. (Cornuet & Luikart, 1996) ont indiqué que les tests nécessitaient, pour être puissants, à la fois de nombreux locus (de 7 ou 8 locus) et au moins 40 individus haploïdes. Si le nombre de locus utilisés pour cette analyse satisfait pleinement les recommandations des auteurs, ce n'est généralement pas le cas pour le nombre d'individus. Ceci suggère un manque de puissance dans les tests. C'est pourquoi les résultats des deux parcelles MAT(C-D) et TOPO-S(C-D) ont été retenus comme marginalement significatifs.

2.3.7 Analyses discriminantes et assignations

A partir des données regroupées par site et des 27 locus analysés sur la totalité des échantillons (sans utiliser les locus manquants à Constitución et à Matanzas), l'analyse discriminante permet de séparer clairement les régions : la première fonction discriminante, qui représente 58.8 % de la variance (Tableau 2.8), sépare PUC et CONS du reste des sites (Figure 2.8) ; la seconde fonction (22.3 % de la variance expliquée) oppose CONS à PUC et STDO, les autres sites se trouvant dans une position intermédiaire ; la troisième fonction permet de différencier STDO du reste (avec 8.99 % de la variance expliquée). Ces trois fonctions ont un coefficient de corrélation canonique supérieur à 0.70, ce qui indique une forte corrélation globale des variables à ces trois fonctions.

Tableau 2.8 : Résultats de l'analyse discriminante effectuée sur les données totales ($N = 688$), regroupées par site, sur 27 locus. Wilks' $\lambda = 0.0090$, $F(252, 5666) \simeq 16.4376$, $p < 10^{-5}$. R : Coefficient de corrélation canonique.

Variables	Fonction 1	Fonction 2	Fonction 3	Fonction 4	Fonction 5	Fonction 6	Fonction 7	Fonction 8	Fonction 9
Valeur propre	6.029	2.289	0.923	0.368	0.202	0.183	0.106	0.099	0.062
% variance expliquée	58.80	22.31	8.99	3.58	1.97	1.79	1.03	0.96	0.61
R	0.930	0.883	0.709	0.503	0.446	0.385	0.303	0.286	0.254
Wilks' λ	0.006	0.044	0.198	0.398	0.533	0.665	0.780	0.859	0.936
p	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	0.0008

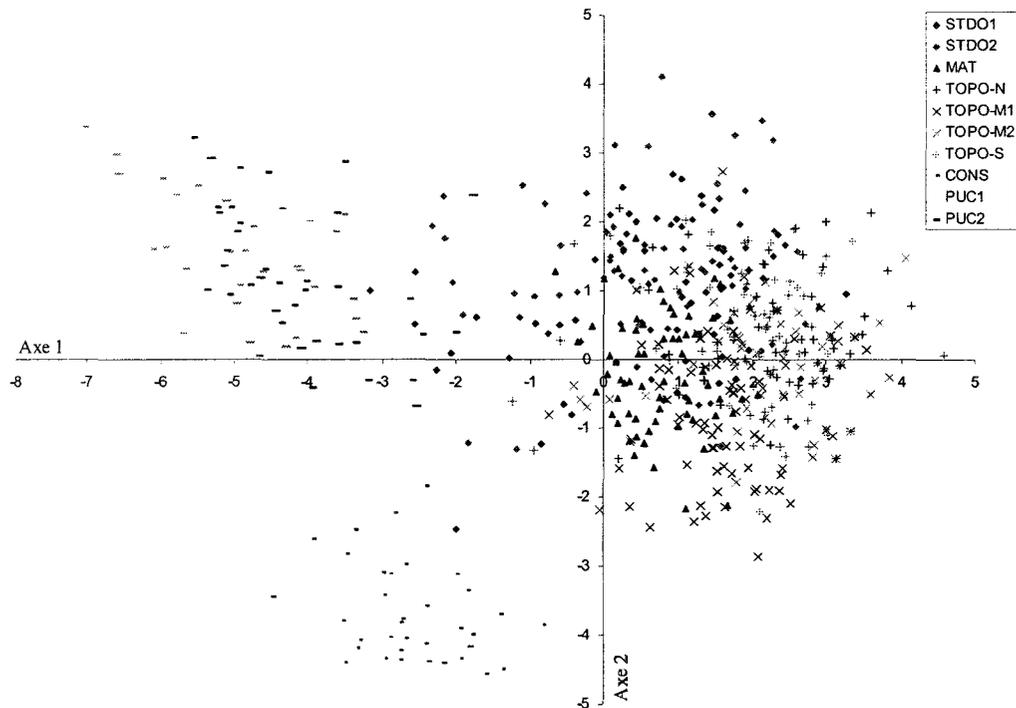


Figure 2.8 : Position de tous les individus analysés (N = 688) sur les axes 1 et 2 de l'analyse discriminante effectuée sur 28 locus. Différents symboles correspondent aux sites d'origine des échantillons.

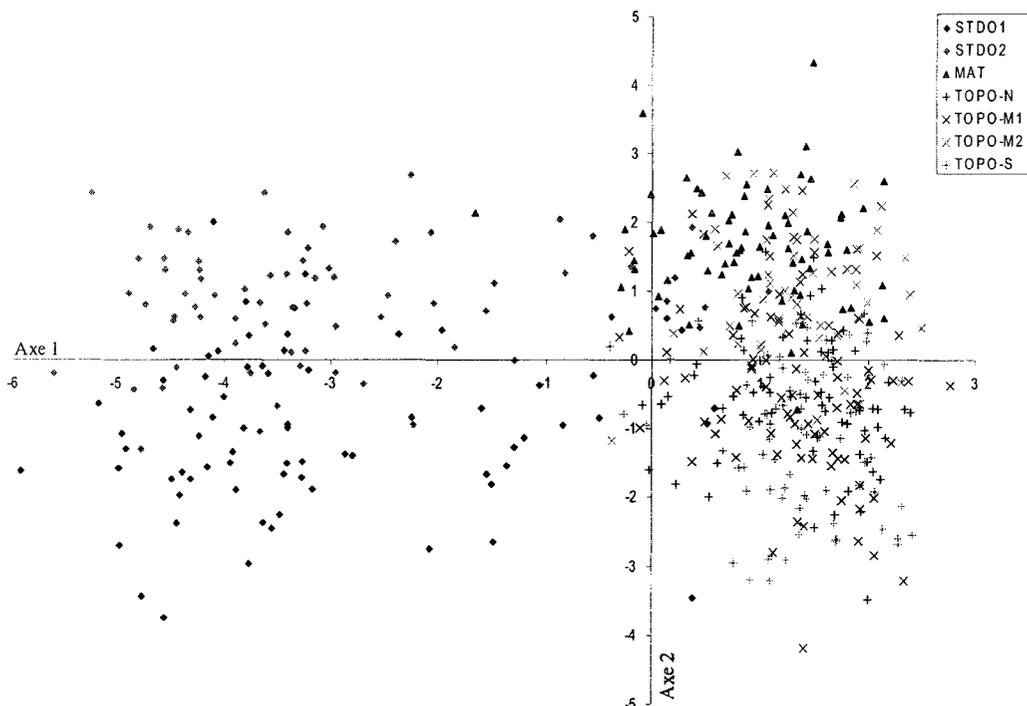


Figure 2.9 : Position des individus de la région centre (N = 503) sur les axes 1 et 2 de l'analyse discriminante sur 36 locus .

Tableau 2.9 : Assignations des individus dans les différents sites. D'après l'analyse discriminante effectuée sur les données totales regroupées par site.

	Sites d'assignement							Assignations			
	STDO1	STDO2	MAT	TOPO-N	TOPO-M1	TOPO-M2	TOPO-S	CONS	PUC1	PUC2	
STDO1	45	7	5	2	5	0	4	1	0	1	64.3 %
STDO2	23	39	3	3	1	3	2	0	0	1	52.0 %
MAT	9	0	52	0	0	8	2	0	0	0	73.2 %
TOPO-N	3	1	3	27	6	10	16	0	0	0	40.9 %
TOPO-M1	2	2	4	4	49	4	8	0	0	0	67.1 %
TOPO-M2	2	1	9	11	11	21	11	1	0	0	31.3 %
TOPO-S	3	0	2	11	7	7	48	0	0	0	61.5 %
CONS	0	0	0	0	0	0	0	77	0	0	100 %
PUC1	0	0	0	0	0	0	0	0	26	26	50.0 %
PUC2	2	0	0	0	0	0	0	0	5	58	89.2 %
Total	89	50	78	58	79	53	91	79	31	86	63.7 %

Les tests montrent que 63.7 % des individus sont correctement assignés dans leur localité d'origine (Tableau 2.9). Ce pourcentage assez faible s'explique en grande partie par les nombreuses assignations entre sites d'une même localité, en particulier au sein du groupe des populations les plus proches géographiquement (MAT+TOPO). Mais plus on compare des populations éloignées, plus le pourcentage d'assignation est correct. Aussi, 28 individus sur les 147 de STDO sont assignés dans le groupe (MAT+TOPO), et 23 individus sur 280 de (MAT+TOPO) sont assignés à STDO. En revanche, 100 % des individus de CONS sont correctement assignés, et seulement deux individus, prélevés à STDO1 et à TOPO-M2, sont assignés dans CONS. Enfin, on ne trouve que 2 individus sur les 111 de PUC qui sont assignés à STDO.

L'analyse discriminante a été refaite en ne considérant plus que les sites de la région centrale. Il était alors possible de considérer les 35 locus neutres et amplifiés sur tous ces échantillons. La première fonction, qui représente 62.8 % de la variabilité (Tableau 2.10), sépare STDO du reste (Figure 2.9). La deuxième fonction sépare MAT et TOPO-M2 du reste, avec 17.7 % de la variance expliquée. Les autres fonctions, bien que présentant une corrélation significative avec les données, ne représentent qu'un très faible pourcentage de la variabilité et présente un faible coefficient de corrélation canonique. En ce qui concerne les assignations, on trouve à présent que 71.77 % des individus sont correctement assignés dans

Tableau 2.10 : Résultats de l'analyse discriminante effectuée sur les données de la région centre (N = 503), regroupées par site, sur 36 locus. Wilks' λ = 0.0328, $F(222, 2731) \simeq 10.5245$, $p < 10^{-5}$. R : Coefficient de corrélation canonique.

Variables	Fonction 1	Fonction 2	Fonction 3	Fonction 4	Fonction 5	Fonction 6
Valeurs propres	3.985	1.123	0.539	0.305	0.259	0.137
% expliqué	62.76	17.69	8.49	4.81	4.09	2.16
R	0.894	0.727	0.592	0.484	0.454	0.347
Wilks' λ	0.033	0.164	0.347	0.535	0.698	0.879
p	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	$< 10^{-5}$	0.000353

Tableau 2.11 : Assignment des individus dans les différents sites. D'après l'analyse discriminante effectuée sur les données de la région Centre regroupées par site.

	Sites d'assignement							Total échantillonnés	Assignations corrects
	STDO 1	STDO 2	MAT	TOPO-N	TOPO-M1	TOPO-M2	TOPO-S		
STDO1	53	13	2	2	2	1	1	74	71.62 %
STDO2	7	55	8	0	1	1	1	73	75.34 %
MAT	0	1	57	3	0	9	1	71	80.28 %
TOPO-N	0	0	2	39	8	4	13	66	59.09 %
TOPO-M1	0	0	2	5	49	4	11	71	67.12 %
TOPO-M2	0	0	4	4	1	53	3	65	77.94 %
TOPO-S	0	0	7	12	5	4	55	83	70.51 %
Total	60	69	82	65	66	76	85	503	71.77 %

leur site d'origine (Tableau 2.11). Ce score varie de 59.1 % pour TOPO-N, qui échange beaucoup d'individus avec les autres sites de Topocalma, à 80.3 % pour MAT. Cette fois, on ne trouve qu'un seul individu sur les 356 du groupe (MAT+TOPO) assigné dans STDO, alors que 19 individus des 147 de STDO sont assignés dans le groupe (MAT+TOPO). La moitié de ces assignations incorrectes provient de MAT, le site le plus proche de Santo Domingo.

Tableau 2.12 : Orientation des flux de gènes. Pourcentages d'individus de chaque localité ayant immigré récemment du Nord vers le Sud et *vice versa* (d'après les résultats de l'analyse discriminante effectuée sur les données de la région centre).

Echelle spatiale	Localités comparées	Immigrants depuis le Nord		Immigrants depuis le Sud
5 km	TOPO-N / TOPO-M1	6.85 %	<	12.12 %
	TOPO-N / TOPO-M2	5.88 %	≤	6.06 %
	TOPO-M1 / TOPO-S	6.41 %	<	15.07 %
	TOPO-M2 / TOPO-S	5.13 %	>	4.41 %
10 km	MAT / TOPO-N	3.03 %	<	4.23 %
	TOPO-N / TOPO-S	15.38 %	<	19.70 %
15 km	MAT / TOPO-M1	5.48 %	>	0
	MAT / TOPO-M2	10.29 %	<	12.68 %
20 km	MAT / TOPO-S	2.56 %	>	1.41 %
45-65 km	STDO1 / MAT	0	<	2.70 %
	STDO1 / TOPO-N	0	<	2.70 %
	STDO1 / TOPO-M1	0	<	2.70 %
	STDO1 / TOPO-M2	0	<	1.35 %
	STDO1 / TOPO-S	0	<	1.35 %
	STDO2 / MAT	1.41 %	<	10.96 %
	STDO2 / TOPO-N	0	=	0
	STDO2 / TOPO-M1	0	<	1.37 %
	STDO2 / TOPO-M2	0	<	1.37 %
	STDO2 / TOPO-S	0	<	1.37 %

On observe un excès d'assignations d'individus dans des sites situés au sud de ceux dans lequel ils ont été échantillonnés (Tableau 2.12). Le test de signe indique que cette tendance est globalement significative ($p = 0.0095$). Une tendance opposée est observée dans seulement 3 cas sur les 19 comparaisons effectuées.

2.4 Discussion

2.4.1 Diversité génétique et régime de reproduction

La diversité génétique estimée chez *M. laminarioides* à partir des fréquences alléliques figure parmi les plus élevées des valeurs publiées chez les algues (voir (Sosa & Lindstrom, 1999) pour revue). Mais la comparaison n'est pas aisée puisque l'essentiel des informations est basé sur des allozymes, qui sont généralement considérés comme peu polymorphes (Valero *et al.*, 2001). Il n'existe pas à ma connaissance d'étude publiée sur l'analyse de la diversité génétique à partir des marqueurs RAPD qui ait spécifiquement analysé la diversité allélique. On peut néanmoins mentionner une étude sur l'algue rouge *Gelidium canariensis* chez laquelle une diversité légèrement plus forte que chez *M. laminarioides* ($0.25 < H < 0.30$) a été observée (Rapport BIOGAP, 1999). Ces valeurs observées à partir de marqueurs RAPD

chez *G. canariensis* correspondent, chez les plantes terrestres, à celles observées chez les espèces allogames, comme *Pinus cordata* pour laquelle $0.34 < H < 0.48$ (Thomas *et al.*, 1999), ou *Asimina triloba* ($0.22 < H < 0.29$, (Huang *et al.*, 2000)). Alors qu'elles sont plus faibles chez les espèces autogames ou fortement endogames : $0.11 < H < 0.25$ dans les populations de l'orchidée *Goodyera procera* (Wong & Sun, 1999) où les individus apparentés se croisent entre eux ; $0.16 < H_e < 0.19$ chez *Hordeum spontaneum* qui pratique l'autofécondation (Owuor *et al.*, 1997). Dans ces derniers exemples, les valeurs de H sont proches des valeurs observées chez *M. laminarioides*. Notons que dans l'analyse préliminaire (Article 1), les valeurs de diversité allélique étaient très proches des valeurs observées chez *G. canariensis*, alors que l'ajout de nouveaux loci et de nouvelles populations révèle une situation plus variable, avec des valeurs de H pouvant être relativement faibles et plus proches de ce qu'on rencontre chez les espèces endogames. *M. laminarioides* étant dioïque, on peut considérer que l'autofécondation n'est possible que si un gamétophyte mâle féconde un gamétophyte femelle issu du même individu diploïde (tétrasporophyte). L'endogamie est toutefois possible si la dispersion est très réduite (ce qui sera discuté dans la section "Structure génétique à très petite échelle spatiale"). Néanmoins, la forte diversité génotypique et la rareté du déséquilibre de liaison suggèrent que la reproduction ne se fait pas particulièrement entre apparentés.

En effet, l'analyse du déséquilibre de liaison indique que, bien que des associations statistiques entre allèles à différents loci soient détectées à toutes les échelles spatiales, il n'y a pas de paire de loci qui soit systématiquement observée en association. D'autre part, ces déséquilibres ne concernent à petite échelle spatiale qu'une très faible proportion des paires de loci analysées, lesquels sont généralement quasiment fixés pour l'un des allèles. La probabilité de les observer en association avec d'autres loci est alors très grande. On peut donc considérer que le déséquilibre de liaison est rare, et que la recombinaison vient régulièrement mélanger les allèles aux différents loci. La forte diversité génotypique confirme cette interprétation.

En effet, l'examen des génotypes indique que la grande majorité d'entre eux sont uniques. On n'observe qu'un génotype partagé par un maximum de 7 individus. Cette dernière observation suggère trois interprétations : (1) il existe une part de reproduction végétative chez *M. laminarioides* ; (2) ce génotype possède une forte probabilité d'être observé car les allèles qui le composent sont en fortes fréquences ; (3) le phénomène d'homoplasie introduit une erreur dans l'estimation de la présence d'une ou plusieurs bandes, et un même profil RAPD est attribué à des génotypes différents. Ces trois hypothèses ne sont pas exclusives,

mais ne concernent qu'un seul génotype, ce qui ne peut être considéré comme représentatif de la biologie de *M. laminarioides*. L'analyse du partage des génotypes est peu fréquente dans les études de diversité génétique des populations d'algues. Les deux études publiées testent spécifiquement l'effet d'une reproduction clonale ou apomictique¹¹ sur la diversité génotypique (Wright *et al.*, 2000; VanDerStrate *et al.*, 2002). Leurs résultats montrent effectivement que de nombreux génotypes sont partagés par plusieurs échantillons, dont un génotype partagé par 36 "individus" dans le cas de l'algue rouge *Delisea pulcra* (Wright *et al.*, 2000).

La recombinaison gamétique, ou plutôt devrait-on dire, dans le cas d'un cycle haploïde-diploïde, la *recombinaison gamétophytique* puisqu'elle a lieu à la formation des spores haploïdes qui vont donner les gamétophytes (et pas les gamètes comme c'est le cas pour les cycles diploïdes), semble donc être fréquente chez *M. laminarioides*. Ce résultat est en accord avec ce qu'on connaît des modalités de la reproduction de cette espèce dioïque, qui se reproduit exclusivement par reproduction sexuée. Ce résultat est, en outre, très intéressant puisqu'il indique une capacité théorique de réponse aux changements de pression de sélection de l'environnement et plus particulièrement des endophytes. En effet, la recombinaison produit de nouvelles combinaisons d'allèles parmi lesquelles certaines pourraient conférer une meilleure résistance ou une meilleure tolérance vis-à-vis des endophytes. Cette capacité est cruciale dans la course aux armements : la recombinaison permet de maintenir la valeur sélective de l'hôte qui doit sans cesse s'adapter aux évolutions rapides de la virulence de ses parasites (Hamilton, 1980; May & Anderson, 1983; Hamilton *et al.*, 1990). Il existe en fait trois principaux mécanismes par lesquels la recombinaison permet à l'hôte de répondre plus facilement aux changements de pression de sélection des parasites (Otto & Michalakis, 1998). Tout d'abord, la recombinaison peut générer des génotypes nouveaux comme nous l'avons dit dans le paragraphe précédent. Par rapport à une population asexuée qui n'obtiendra un nouveau génotype que par mutation ou immigration, la recombinaison puise dans le stock d'allèles de la population, ce qui lui permet une plus grande rapidité de réponse. C'est ce que Hamilton *et al.* (1990) ont appelé l'effet de stockage des gènes. Deuxièmement, la recombinaison rend chaque gène indépendant des autres, ce qui permet aux fréquences alléliques de fluctuer plus facilement selon les pressions de sélection. Enfin, un troisième mécanisme par lequel la recombinaison agit repose sur la sélection fréquence-dépendante : les

¹¹ Production d'individus diploïdes sans passer par la phase haploïde, ce qui s'apparente à de la parthénogenèse.

génotypes rares possèdent, en moyenne, un avantage sélectif sur les génotypes plus communs, auxquels les parasites tendent à être adaptés. La recombinaison génère ces génotypes rares, et réduit donc la valeur adaptative globale du parasite dans sa population d'hôtes. Par ce processus, la recombinaison permet donc aux fréquences génotypiques de ne pas être en phase avec les pressions de sélections exercées par le parasite (Nee, 1989). La recombinaison est donc, pour l'hôte, un moyen très efficace de répondre aux pressions de sélection variables des parasites.

2.4.2 Structure génétique à différentes échelles spatiales

Les premiers indices d'une différenciation génétique à différentes échelles spatiales ont été observés à partir de l'analyse du déséquilibre de liaison. En effet, celui-ci augmente à mesure qu'on passe de l'échelle des sites à celle de la région puis entre régions. En outre, la forte variance observée entre quadrats d'un même site suggère que la dérive agit très localement et on s'attend donc également à détecter une structure à très petite échelle spatiale. De même, l'analyse des génotypes partagés permet de différencier très clairement les régions, celles-ci ne partageant aucun génotype, et de montrer que la différenciation augmente avec la distance entre sites.

On observe effectivement que les régions sont très fortement différenciées. Ce résultat n'est pas très surprenant puisque, même chez les espèces possédant des structures favorisant la dispersion des thalles sur de longues distances, la différenciation est toujours observée à des distances de quelques centaines de kilomètres (vanOppen *et al.*, 1995; Coyer *et al.*, 1997; Wattier, 1998; Billot, 1999; Sosa & Lindstrom, 1999). Chez *M. laminarioides*, la différenciation des régions est très marquée d'après l'arbre regroupant les parcelles dans leur région respective. On y observe néanmoins que la localité de Santo Domingo est plus proche de la région Araucanie et de la région des Lacs que les autres localités de sa région. De plus, l'analyse discriminante montre que plusieurs individus sont assignés entre Santo Domingo et Pucatrihue, les deux localités les plus éloignées. Notons dans ce contexte que la nature du marqueur RAPD laisse supposer un taux d'homoplasie plus fort à mesure que les populations analysées sont plus éloignées (vanOppen *et al.*, 1996; Harris, 1999). En effet, l'apparition d'un mutant peut ne pas être détectée. On s'attend par ailleurs à ce que l'homoplasie soit plus forte pour l'allèle "absent" puisque de nombreuses mutations peuvent empêcher l'amplification d'un fragment d'ADN (diverses substitutions ou délétions sur le site d'amorce, délétion d'une région contenant un site d'amorce, délétion importante entre deux sites d'amorces, (Rieseberg,

1996; Pérez *et al.*, 1998; Rabouam *et al.*, 1999; Reineke *et al.*, 1999). L'accumulation de ce type de mutations qui ne sont pas détectées par les marqueurs RAPD pourraient expliquer pourquoi la population de Santo Domingo paraît plus proche de celle de Pucatrihue que les autres populations de la région Centre.

L'analyse hiérarchique de la diversité génétique dans la région centrale montre en outre que la différenciation diminue régulièrement depuis les distances de 60 km, où elle est très élevée, jusqu'à l'échelle des parcelles qui sont significativement différenciées à l'intérieur des sites. A l'intérieur des parcelles, les fréquences alléliques semblent varier de façon stochastique, et on n'observe pas de structure claire. En fait, la structure à l'intérieur des sites n'est pas hiérarchisée en fonction des distances entre parcelles ou entre quadrats. Néanmoins, la différenciation dans les sites est très significative et relativement forte lorsqu'on considère les parcelles comme le niveau hiérarchique le plus bas. L'unité panmixtique se situe donc très vraisemblablement à l'intérieur d'une aire d'environ 25 m de diamètre. Ce résultat figure parmi les plus petites échelles spatiales à partir desquelles une différenciation est observée dans les populations d'algues (Sosa & Lindstrom, 1999), voir également (Engel-Palmiter, 2000; Wright *et al.*, 2000; VanDerStrate *et al.*, 2002).

Lorsqu'on inclut les distances entre régions, la différenciation augmente linéairement en fonction de la distance géographique, pour atteindre des valeurs de F_{ST} très élevées ($F_{ST} \simeq 0.5$) entre les populations les plus éloignées. Cette très forte différenciation, même à des distances plus réduites ($F_{ST} \simeq 0.1$ entre sites) suggère fortement que les flux de gènes sont très réduits, même au sein d'une distribution continue. Il semble en outre que la présence de plages de sables de quelques kilomètres constitue des barrières efficaces aux flux géniques, puisqu'elles augmentent la différenciation de manière importante. La faible capacité de dispersion chez *M. laminarioides* semble donc confirmée par ces résultats. D'autre part, la tendance à une augmentation de la différenciation génétique avec la distance géographique indique que les échanges génétiques ont principalement lieu entre populations adjacentes. Mais cet isolement par la distance n'est pas totalement linéaire puisqu'on observe une augmentation rapide de la différenciation avec la distance jusqu'à environ 200 km, alors que la différenciation augmente très peu à des distances supérieures (jusqu'à 900 km). Tout ce passe comme si la dispersion présentait des modalités différentes selon la distance : à des distances régionales (moins de 200 km), l'essentiel des événements de migration ont lieu par la dispersion (de proche en proche) des spores et gamètes mâles, alors qu'à des distances supérieures, ce pourrait être un mécanisme de dispersion à longue distance (par les fragments de fronde) qui soit responsable des flux de gènes. (Engelen *et al.*, 2001) observent également

cette cassure dans l'isolement par la distance chez *Sargassum polyceratium*, dont les frondes semblent participer à la dispersion. Le rapide isolement par la distance aux petites échelles spatiales suggère cependant que la dispersion par fragment de thalle serait un événement rare puisqu'elle ne permet pas de générer suffisamment de flux de gènes pour empêcher la différenciation.

2.4.3 Structure génétique à très petite échelle spatiale : des effets récents de goulot d'étranglement ?

La structure à très petite échelle n'est pas rare dans les écosystèmes côtiers. En effet, elle a été observée chez de nombreuses autres espèces d'algues et d'invertébrés benthiques. Par exemple, une différenciation génétique fut détectée à partir de 10 m chez le bryzoaire *Celleporella hyalina* (Goldson *et al.*, 2001). Il semble que la distribution de la variabilité génétique était en grande partie expliquée par les conditions hydrodynamiques locales, tout comme dans le cas de la Gracilaire (Engel-Palmiter, 2000). Dans le cas du gastéropode *Littorina sitkana*, les auteurs invoquent les effets de goulot d'étranglement suite à des extinctions et re-colonisations répétées (Kyle & Boulding, 2000). Il semble que ce soit également le cas pour la plante aquatique *Zostera marina* (Ruckelshaus, 1998). Chez l'algue rouge *Caloglossa leprieurii* (Zucarello *et al.*, 2001), tout comme chez *Littorina saxatilis* (Johanesson & Tatarenkov, 1997), ce serait plutôt le type d'habitat qui expliquerait la différenciation à petite échelle spatiale. Mais dans ce dernier exemple, les différences seraient dues à des effets de la sélection sur les marqueurs allozymiques (Johanesson & Tatarenkov, 1997). Enfin, il y a des cas où la différenciation à petite échelle spatiale est tout simplement expliquée par de très faibles capacités de dispersion et un effet très localisé de la dérive (Johnson & Black, 1995; Williams & DiFiori, 1996; Johnson & Black, 1998; Wright *et al.*, 2000). Cette liste d'exemples de structure génétique à très petite échelle spatiale (quelques mètres à quelques dizaines de mètres) n'est pas exhaustive, mais elle illustre bien que le milieu aquatique n'est pas un milieu ouvert au point que les propagules puissent disperser sur de grandes distances et empêcher toute possibilité de différenciation génétique locale.

Les populations de *M. laminarioides* sont structurées à petite échelle spatiale, c'est-à-dire à l'intérieur d'un site (sauf à Constitución où les valeurs de F_{ST} ne sont pas significatives). Cependant, on n'observe pas de hiérarchisation de la variabilité à cette échelle spatiale. Une première hypothèse pour expliquer ce résultat consiste à invoquer une forte dérive très localisée. En effet, on observe parfois, pour certains locus, des variations

relativement fortes des fréquences alléliques entre quadrats d'un même site. D'autre part, l'analyse du déséquilibre de liaison a révélé une variance intra-site élevée, essentiellement le fait de la dérive (d'après l'analyse des composantes d'Ohta). Enfin, l'estimation des effets de goulot d'étranglement dans les parcelles a révélé des situations significatives dans environ la moitié des cas, suggérant une dynamique d'extinction/fondation à très petite échelle spatiale. L'analyse des caractéristiques démographiques (Chapitre 4) permettra de mieux comprendre ce phénomène très localisé de réduction de la taille efficace, en particulier dans les zones de haute infection, où les effets sont significatifs.

Notons au passage que la variance inter-quadrats des fréquences alléliques a pu augmenter la diversité allélique moyenne d'un site. Cette hypothèse permettrait d'expliquer la variabilité de H entre les différents sites, et pourquoi on observe un plus faible H à Constitución où aucun goulot d'étranglement ni aucune structure génétique n'ont été détectés. Constitución représenterait alors une population plus homogène et plus stable, probablement plus proche de l'équilibre migration/dérive que les autres localités analysées. L'absence de répétition d'un tel cas pose le problème de la validité de cette explication.

On peut envisager d'autres explications encore pour expliquer cette structure locale. Par exemple, la structure de l'habitat pourrait influencer la dispersion. En effet, Ruckelshaus (1998) suggère que la complexité de la circulation de l'eau dans la zone de balancement des marées est responsable de la structure génétique à petite échelle. Engel-Palmiter (2000) en fait la démonstration, en montrant que les flux de gènes suivent effectivement les petits courants d'eau résiduelle à marée basse. D'autre part, on peut s'interroger sur la participation effective des herbivores dans la dispersion et le recrutement de *M. laminarioides*. S'ils participent réellement à la dispersion, comme cela a été suggéré à plusieurs reprises (Santelices *et al.*, 1983; Santelices & Ugarte, 1987; Vergara *et al.*, 1990), les mouvements des herbivores sont hautement imprédictibles. Tout au plus peut-on penser qu'une partie d'entre eux va migrer du haut vers le bas de l'estran pour profiter au maximum de la marée. Au contraire, d'autres vont chercher refuge à marée basse dans les zones à forte densité d'algues. On peut donc s'attendre à ce que cela génère une structure indépendante de la distance. Cependant, contrairement aux effets de fondation, aucun élément ne vient appuyer concrètement l'hypothèse d'un effet de l'habitat ou de facteurs biotiques sur la dispersion et la structure génétique à très petite échelle spatiale (deux hypothèses qui ne sont pas exclusives).



2.4.4 Orientation des flux de gènes

L'analyse discriminante est un outil performant employé pour détecter les variables permettant au chercheur de discriminer entre différents groupes, et pour classer des échantillons dans différents groupes. Cette méthode fut appliquée par Taylor *et al.* (1994) pour définir l'origine de saumons capturés dans différentes régions du Nord de l'océan Pacifique. De 72 à 95 % des individus étaient correctement assignés à leur site d'échantillonnage ; ces derniers étant séparés par plusieurs milliers de kilomètres. A une échelle spatiale beaucoup plus réduite, les assignations par analyse discriminante ont été appliquées à partir de marqueurs RAPD dans le but de décrire la différenciation génétique (Fahima *et al.*, 1999; Semagn *et al.*, 2000). Dans ces deux études, les meilleures classifications sont obtenues en fonction du gradient écologique (notamment l'altitude) et non en fonction de la distance entre les sites d'échantillonnage. L'analyse de fonctions discriminantes a été utilisée plus spécifiquement pour déterminer l'origine des individus ayant fondé une population de wallaby, *Petrogale lateralis* (Eldridge *et al.*, 2001), ainsi que l'orientation des flux de gènes entre populations d'un même estran chez *Gracilaria gracilis* (Engel-Palmiter, 2000). Dans cette dernière étude, les assignations ont permis de montrer que les spores et gamètes migrent des populations du haut de l'estran vers celles du bas grâce aux écoulements d'eau résiduelle à marée basse.

Dans l'étude préliminaire basée sur 17 locus dans les localités de Santo Domingo et Topocalma, avec seulement un site par localité (Article 1), l'analyse discriminante montrait que 70 % des individus de *M. laminarioides* étaient correctement classés. Les fonctions discriminantes étaient toutes très significatives et la proportion d'assignations incorrects diminuait avec la distance, même lorsqu'on comparait différentes populations de Topocalma séparées par seulement 5 à 10 km. Cette analyse a mise en évidence des échanges dissymétriques entre les deux localités séparées par 60 km. On trouvait en effet un excès d'individus échantillonnés dans Santo Domingo et classés dans Topocalma (9 individus) par rapport à ceux échantillonnés dans Topocalma et assignés dans Santo Domingo (1 individu seulement). Ce résultat semblait indiquer que les flux de gènes étaient plutôt orientés du sud vers le nord. Un résultat en concordance avec les données halieutiques.

Lorsqu'on analyse à présent l'ensemble des sites de la région centrale avec 35 locus, on observe globalement 73.7 % d'assignations corrects, alors que les deux sites de Santo

Domingo et ceux de Topocalma-Milieu échangent beaucoup d'individus (situation qui n'était pas rencontrée dans l'analyse préliminaire qui ne considérait qu'un site par localité). En revanche, on n'observe pas de correspondance directe entre le nombre d'assignations incorrectes et les distances géographiques lorsqu'on compare les sites de Topocalma entre eux et avec Matanzas. Ce qui est différent des résultats de l'analyse préliminaire (Article 2) qui montraient une hiérarchie dans Topocalma, avec d'avantage d'assignations incorrectes à 5 qu'à 10km. A présent, TOPO-N et TOPO-S échangent plus d'individus qu'avec TOPO-M. TOPO-M2 échange surtout avec MAT. Notons que le fait de déterminer a priori les populations a pour conséquence d'assigner obligatoirement un individu à l'une des populations étudiées, même si en réalité, celui-ci ne provient d'aucune d'entre elles. Ceci peut constituer une source d'assignations incorrectes. Cependant, d'une manière générale, une certaine cohérence est observée puisqu'on trouve toujours (quelle que soit l'échelle spatiale à laquelle on se place) d'avantage d'assignations incorrectes des populations du nord dans les populations du sud.

Ces résultats s'accordent plutôt bien avec les informations disponibles sur la circulation des courants. Le manque de correspondance entre distance génétique et distance géographique à l'intérieur du groupe (MAT+TOPO), pour des distances n'excédant pas 20 km, semble néanmoins indiquer que la circulation des principaux courants n'est pas la seule explication à la structure génétique observée. D'une part, nous avons vu que les courants côtiers pouvaient s'inverser en hiver, lorsque les vents dominants s'arrêtaient. Il se peut donc que la circulation soit alternée suffisamment souvent et suffisamment longtemps pour permettre des flux de gènes du nord vers le sud sur ces petites distances. Certains courants très étroits peuvent entraîner les propagules à partir d'un point précis de la côte vers le large, et donc affecter plus particulièrement un site (Gaines & Roughgarden, 1985; Roughgarden *et al.*, 1998). La complexité des courants ne permet donc pas de trancher de manière catégorique sur l'orientation des flux de gènes à ces petites distances, mais n'enlèvent rien à la tendance Sud-Nord très marquée lorsqu'on considère des distances plus grandes. On peut d'ailleurs supposer que l'ajout de nouvelles localités régulièrement réparties le long de la côte chilienne permettrait d'affirmer l'hypothèse que les courants viennent influencer de manière déterminante l'orientation des flux géniques.

L'analyse discriminante se montre donc un outil très intéressant pour explorer la structure génétique des populations, en particulier parce que celles-ci sont différenciées génétiquement. On peut alors en effet tester des hypothèses concernant les facteurs influençant une telle structure, comme ici les courants marins. La plupart des études ayant utilisé l'analyse discriminante ont cherché à différencier les populations en fonction de

caractéristiques de l'habitat (Fahima *et al.*, 1999; Semagn *et al.*, 2000). Mais d'autres se sont tout simplement intéressées à ce type d'analyse pour les assignations, en cherchant à déterminer l'origine des individus (Taylor *et al.*, 1994; Rossetto *et al.*, 1999; Eldridge *et al.*, 2001). L'originalité de cette approche réside néanmoins dans la possibilité de déterminer l'origine des individus. Par exemple, dans le cas de *M. laminarioides*, la probabilité de définir correctement la population d'origine d'un individu est de 70 % à l'intérieur d'une région (sur des distances de 60 km), mais elle passe à 100 % entre régions (à partir de 200 km). Les conséquences appliquées peuvent être variées telles que la gestion des stocks, ou la détection de l'origine géographique d'une espèce invasive, dont la population nouvellement fondée peut ne pas être à l'équilibre migration/dérive et par conséquent difficilement analysable d'après les outils phylogénétiques traditionnels, (Davies *et al.*, 1999). Ces analyses constituent un complément aux statistiques de génétique des populations plus traditionnelles telles que celles basées sur les statistiques F de Wright.

2.5 Conclusions

Nous avons vu au cours de ce chapitre que la structure génétique des populations de *M. laminarioides* présente différents niveaux hiérarchiques, selon l'échelle spatiale considérée. Tout d'abord, les régions séparées par quelques centaines de kilomètres sont très fortement différenciées. Les populations séparées par quelques dizaines de kilomètres au sein de la région Centre du Chili sont également très fortement différenciées. A une échelle plus locale, les plages de sables de quelques kilomètres qui séparent les populations s'accompagnent d'une différenciation génétique plus faible mais qui reste significative. Et finalement, on détecte une structure génétique à l'intérieur même d'une distribution continue, sur des distances de quelques dizaines de mètres. Cette hiérarchisation de la différenciation génétique est due globalement à un isolement par la distance. Les flux géniques ne sont donc pas suffisants pour éviter l'effet de la dérive génétique dans les populations dès lors que celles-ci sont interrompues par une plage de sable. Mais ils maintiennent tout de même en contact les populations voisines, et la cohésion de l'espèce est assurée par ce processus de migration de proche en proche (ou "stepping-stone"). D'autre part, cette étude a permis de montrer que les flux de gènes tendent à être orientés des populations du sud vers celles du nord. Ce résultat est en accord avec ce qu'on sait de la circulation des principaux courants côtiers, en particulier le Chile Coastal Current, en contact direct avec la côte et strictement orienté au nord la plupart de l'année.

A petite échelle spatiale (moins de 200 m), de la différenciation est également détectée, mais sans hiérarchie apparente dans les niveaux inférieurs. On peut néanmoins conclure qu'à partir de 25 m, la différenciation est suffisante pour suggérer que la taille de voisinage (l'unité panmictique minimale dans le cas d'une distribution continue, (Wright, 1943)) est inférieure ou égale à cette distance. L'essentiel des événements de fécondation et de dispersion ont donc lieu à l'intérieur d'une aire restreinte à quelques dizaines de mètres. Ces résultats vont dans le sens de ce que laissaient supposer les capacités de dispersion de *M. laminarioides*. En effet, nous avons vu que les spores ont une durée de vie limitée, et surtout qu'elles ont une vitesse de sédimentation élevée, accompagnée d'une forte capacité de fixation dès leur libération. L'hypothèse était donc que les spores ont tendance à se fixer rapidement après leur libération. D'autre part, il semble que la dispersion à grande distance par les fragments de thalles soit un phénomène rare chez *M. laminarioides*, qui expliquerait pourquoi la différenciation est si forte dès les petites distances.

En deçà des 25 m, de la structure est souvent détectée, mais la différenciation n'est pas proportionnelle à la distance qui sépare les unités d'échantillonnage. Nous avons vu que des effets de fondation très localisés, avec donc une dérive très forte agissant très localement, pouvaient expliquer cette sous-structure. L'analyse des dynamiques démographiques (Chapitre 4) confirmera qu'il peut y avoir très localement de très fortes réductions de la densité d'individus. L'effet de cette dérive très forte et très localisée sur la structure globale des populations, en particulier sur la différenciation entre populations plus éloignées, reste à évaluer plus précisément.

Une perspective intéressante de cette étude concerne les possibilités d'adaptation locale. D'une part, la forte différenciation génétique de *M. laminarioides* suggère que les flux de gènes seront suffisamment réduits pour que chaque population puisse évoluer vers une meilleure adaptation à son milieu. Selon les effets des endophytes sur la valeur adaptative de leur hôte, on s'attend donc à ce que même de légères différences de pressions de sélection entre les différentes populations suffiront à générer de la différenciation pour les caractères concernant l'interaction hôte-endophyte. D'autre part, si l'adaptation des endophytes à leur population locale d'hôte dépend avant tout de l'importance de la migration de l'endophyte par rapport à celle de l'hôte, comme indiqué par les développements théoriques de (Gandon *et al.*, 1996), on peut se demander quelles seront les " besoins " des endophytes, en termes de flux de gènes, pour être localement adaptés à leurs hôtes. On peut supposer notamment que même de faibles flux géniques permettront l'adaptation locale des endophytes, tant qu'ils seront

supérieurs à ceux de *M. laminarioides*. Enfin, on peut se demander quelles seront les conséquences d'un flux de gènes orienté du sud vers le nord sur les possibilités d'adaptation locale des populations du sud et du nord. En termes pratiques, on peut s'attendre à ce que les endophytes du nord, s'ils sont adaptés aux populations d'hôtes du nord, peuvent également infecter les individus du sud qui immigrent régulièrement dans les populations du nord. En revanche, les endophytes du sud, qui ne côtoient jamais les génotypes d'hôtes du nord (différenciés génétiquement), devraient donc infecter plus difficilement les individus des populations du nord. Cependant, si l'endophyte migre plus que son hôte, alors on pourrait observer la situation contraire. Les résultats de la première étude de transplantations réciproques a montré justement que l'adaptation locale était plus marquée dans la population du nord (Matanzas) que celle du sud (Pucatrihue, voir Chapitre 1). Les résultats des transplantations à une échelle spatiale plus fine (la région centrale) montreront que l'adaptation locale à l'échelle régionale n'est pas mise en évidence à partir de 45-60 km (Chapitre 5). Il sera donc intéressant dans un futur proche d'analyser les flux de gènes des endophytes et de vérifier s'ils sont eux aussi sous l'influence des courants marins. Cette approche permettra de compléter l'étude de l'hôte afin de mieux cerner les possibilités d'adaptation locale au sein du système *M. laminarioides* – *Pleurocapsa* sp. – *E. ramosum*.

Cette étude, basée sur les marqueurs RAPD, a permis d'analyser la diversité génétique avec vaste éventail d'approches : analyse de la diversité génétique et détection d'effets de fondation, analyse de la recombinaison et discussion sur le régime de reproduction, analyse de la neutralité des marqueurs, analyse de la structure génétique à des échelles spatiales fines, isolement par la distance et flux géniques. Les marqueurs RAPD ont souvent été critiqués. Ils posent parfois de réels problèmes, en particulier des problèmes pratiques (nécessité de protocoles rigoureux et très standardisés, souvent coûteux en temps de manipulation). Ils sont néanmoins tout à fait adaptés aux travaux de génétique des populations. Dans le cadre de cette étude, le meilleur parti de ces marqueurs a pu être tiré grâce à l'analyse d'individus haploïdes, ce qui permet d'éviter le problème de la dominance et d'avoir accès aux fréquences alléliques sur un grand nombre de locus. Or, grâce à leur cycle de reproduction particulier, de très nombreuses espèces d'algues permettent cette approche. Sans doute convient-il d'insister en cette fin de chapitre sur la faisabilité d'une étude de la diversité génétique des populations d'algues. Ces études sont encore assez peu nombreuses, alors que l'intérêt commercial et écologique (en ce qui concerne les espèces invasives notamment) pour ces organismes ne

cesse de croître, et avec lui la nécessaire gestion des stocks naturels et des communautés marines.

CHAPITRE III

Effets des infections sur la valeur sélective de l'hôte

3. EFFETS DES INFECTIONS SUR LA VALEUR SÉLECTIVE DE M. LAMINARIOIDES

3.1 Introduction

3.1.1 Les effets pathogènes

Pour le médecin ou le spécialiste de la pathologie, l'impact des parasites sur les individus-hôtes est le sujet d'intérêt principal. Pour les écologues, biologistes des populations et évolutionnistes, l'impact des parasites sur les individus ne présente d'intérêt que s'il a des répercussions à des niveaux supérieurs du monde vivant, soit sur les populations d'hôtes, soit sur les communautés¹² (Combes 1995). Il existe de nombreuses définitions de l'effet pathogène. Une définition fonctionnelle dirait qu'il s'agit de l'habileté du parasite à interférer avec au moins une des fonctions vitales de l'hôte (Agrios, 1988). Une définition évolutionniste classique considère qu'il s'agit de l'effet du parasite sur la valeur sélective de son hôte. Quelle qu'en soit la définition, l'effet pathogène apparaît comme un sous-produit de la sélection du ou des caractères qui assurent au parasite le meilleur succès reproductif (Combes, 1995).

Il existe principalement deux catégories de pathogènes : ceux qui réduisent la survie de leur hôte, et ceux qui réduisent la fécondité de l'hôte sans affecter sa survie¹³. Survie et fécondité sont là deux paramètres cruciaux définissant à leur tour le concept de valeur sélective. La valeur sélective d'un individu représente sa participation au pool de gènes de la génération suivant la sienne. Plus sa survie sera grande, plus il aura de temps pour se

¹² L'impact des parasites à l'échelle des communautés a déjà fait l'objet de plusieurs revues (Dinoor & Eshed, 1984; Alexander, 1990; Toft, 1991; Burdon, 1993; Dobson & Crawley, 1994), et ne sera pas détaillé plus avant.

¹³ Il est également possible que la fécondité et la survie soient affectées en même temps lorsque l'effet pathogène est pléiotrope (Michalakis *et al.*, 1992).

reproduire, et plus sa fécondité sera grande, plus il aura de chances de laisser des descendants. Ce concept explique à lui seul comment agit la sélection naturelle : les individus qui ont la meilleure valeur sélective sont ceux qui vont se reproduire le plus, et donc participer le plus à la composition génétique de la génération suivante. Ceux qui sont contre-sélectionnés, parce qu'ils sont moins bien adaptés à leur environnement (c'est-à-dire, dans le contexte des interactions hôte-parasite, ceux qui souffrent un effet négatif des infections), vont moins bien se reproduire. Les effets pathogènes des endophytes constituent donc la pression de sélection exercée sur la valeur sélective de leur hôte. De cette force dépendra la nécessité de réponse adaptative de l'hôte.

Lorsqu'il existe un impact du parasitisme sur la valeur sélective de l'hôte, on s'attend à ce que celui-ci s'exprime sous la forme de changements dans la démographie des populations-hôtes, que ce soit par la réduction de la fécondité ou par l'augmentation de la mortalité de l'hôte. Anderson et May (1978) ont proposé de ne considérer un organisme comme pathogène que s'il a un effet négatif sur les caractéristiques démographiques des populations d'hôtes.

Que les parasites puissent tuer ou castrer leur hôte n'est contesté par personne. Qu'ils puissent influencer la démographie des populations d'hôtes est moins évident. Considérons tout d'abord l'effet du pathogène sur la survie de l'hôte : Combes (1995) rappelle les différences entre *mortalité additive* et *mortalité compensatoire*. La mortalité additive est celle qui, induite par le parasite, vient s'ajouter aux autres causes de mortalité dans la population. On peut considérer qu'il y a là une perte d'individus qui ne se serait pas produite en l'absence du parasite. Au contraire, la mortalité compensatoire n'affecte pas le taux de mortalité de la population. Elle est dirigée vers les individus les plus infectés qui sont alors plus facilement consommés par les prédateurs ou les herbivores, et qui prennent simplement la place d'autres individus qui seraient morts de toutes manières. La mortalité induite par le parasitisme n'est donc pas synonyme de rôle régulateur des populations d'hôtes. De même, en ce qui concerne la fécondité, il existe deux types d'interaction avec le parasite : soit celui-ci réduit directement la fécondité de l'hôte, auquel cas correspondra une baisse du taux de recrutement dans la population, soit il réduit la compétitivité de son hôte, ce qui favorisera les individus sains qui se reproduiront d'avantage et pourront maintenir le taux de recrutement de la population plus ou moins inchangé¹⁴. La régulation de la démographie des populations d'hôtes par les

¹⁴ Notons que le contraire peut également être observé : les plantes infectées peuvent réduire, dans certaines conditions, la fertilité des individus sains avoisinants (Marr, 1997).

parasites peut donc être difficile à mettre en évidence, même si le parasite réduit la fécondité et la survie des individus hôtes.

De nombreux modèles épidémiologiques ont traité des questions de dynamiques démographiques. En reprenant les modèles proie-prédateur de Lotka et Volterra, Anderson et May ont montré l'importance de la virulence des parasites dans le taux de croissance démographique de l'hôte et la persistance des parasites dans le système (Anderson & May, 1978, 1979; May & Anderson, 1979; Anderson & May, 1980; May, 1991, voir également Frank, 1991). Il existe également une vaste littérature concernant la confrontation de ces modèles aux données expérimentales chez les animaux. Chez les plantes, si les effets des herbivores, des pollinisateurs et des disperseurs de graines sur les populations ont fréquemment été examinés, relativement peu d'études ont concerné les conséquences démographiques des interactions entre les plantes et leurs micro-organismes symbiotiques (Alexander & Antonovics, 1988; Burdon & Leather, 1990; Clay, 1990; Jarosz & Burdon, 1992; Ingvarsson & Lundberg, 1993; Fowler & Clay, 1995). Celles-ci ont montré des effets très variables selon les espèces concernées, mais avec une majorité de cas où les parasites n'avaient pas ou peu d'effet sur la population d'hôtes (Clay, 1990; Jarosz & Burdon, 1992; Fowler & Clay, 1995).

3.1.2 Particularités du modèle algues : le cycle haploïde-diploïde

Une des particularités des espèces à cycle haploïde-diploïde est que deux types d'individus sont présents simultanément dans les populations. Si les pathogènes peuvent infecter les deux types d'individus, on peut considérer que le tri sélectif des génotypes sensibles aux infections s'exerce sur les deux phases. Par ailleurs, l'existence d'une phase haploïde permet d'exposer directement les allèles délétères (ou ceux qui ne confèrent aucune résistance aux pathogènes) à la sélection naturelle, en particulier pour les allèles récessifs (qui ne s'expriment pas dans un génotype diploïde hétérozygote). On devrait donc s'attendre à ce que les haploïdes tolèrent moins les infections.

La question se pose alors de savoir dans quelles proportions les infections vont altérer la valeur sélective des individus haploïdes ou diploïdes. S'il existe des différences de sensibilité entre les phases, ceci devrait avoir des répercussions variables (selon l'incidence des infections) sur la structure démographique de la population. En effet, dans un cycle haploïde-diploïde, la densité totale d'individus et sa dynamique sont déterminés par les taux

de mortalité et de recrutement des deux types d'individus. De plus, une survie élevée d'une phase augmente sa représentation, mais une fertilité élevée augmente la représentation de l'autre phase. Ainsi, les différences pouvant exister entre les deux phases pour ces paramètres déterminent les fréquences relatives des haploïdes et des diploïdes (Destombe *et al.*, 1989; Ang *et al.*, 1990). Enfin, dans le cadre de la théorie de l'évolution des cycles de reproduction, il a été montré que le maintien du cycle haploïde-diploïde, par rapport à un cycle diploïde ou un cycle haploïde, dépend essentiellement du rapport des différentes composantes de la valeur sélective (fécondité et survie) entre haploïdes et diploïdes en conditions d'équilibre démographique (Richerd *et al.*, 1993). Il est donc intéressant d'examiner les effets que les pathogènes peuvent avoir sur l'équilibre démographique des populations de *M. laminarioides*.

3.1.3 Situation du sujet chez les algues

Chez les algues, relativement peu d'études ont concerné l'effet pathogène des infections. En fait, les organismes symbiotiques, qu'ils soient endophytes ou épiphytes, ont souvent été qualifiés de pathogènes simplement d'après les symptômes qu'ils causaient. De plus, dans la plupart des cas, la causalité n'a pas été démontrée. Il existe de nombreux cas néanmoins pour lesquels l'intérêt commercial a poussé à mesurer l'effet d'agents infectieux sur la croissance de leur hôte (Correa, 1997). Un des cas les plus détaillés est celui de l'algue rouge *Chondrus crispus*, une algue cultivée dans de grandes fermes au Canada, et dont l'effet de différents pathogènes (bactéries, champignons et algues endophytes) a été mesuré en termes de perte de biomasse (Craigie, 1990; Correa & McLachlan, 1992; Correa & MacLachlan, 1994b; Craigie & Correa, 1996; Correa, 1997). Une approche expérimentale des effets des infections sur l'hôte a été développée pour la première fois par Kremer (Kremer, 1983), afin de déterminer le taux de fixation du carbone par l'algue rouge *Rhodomela confervoides* infectée par *Harveyella mirabilis*, une algue rouge également dépendant totalement de son hôte pour la ressource en carbone. L'auteur en conclut que la fixation du carbone par l'hôte était plus que suffisante pour fournir également le parasite, et que même plusieurs infections d'un même hôte n'affectaient pas sa vitalité. Une autre expérience de ce genre a permis de montrer, au contraire, que les capacités photosynthétiques des algues brunes du genre *Feldmania* étaient négativement affectées par les infections virales (Robledo *et al.*, 1994). Le taux de croissance de l'algue rouge *Hypnea musciformis* s'est vu effectivement réduit de 40 % sur le terrain, et jusqu'à 70 % au laboratoire par les infections de *Hypneocolax stellaris* (Apt, 1984). Enfin, les infections virales, qui affectent préférentiellement les

structures reproductives chez plusieurs espèces des genres *Feldmania* et *Ectocarpus* (Müller *et al.*, 1990; Müller & Frenzer, 1993; Parodi & Müller, 1994), peuvent aller jusqu'à la castration complète de l'hôte par lyse des cellules des organes de reproduction (Sanchez *et al.*, 1997). On peut mentionner également le cas de la bactérie responsable du CLOD (pour Coralline Lethal Orange Disease), une maladie létale chez les algues corallines qui est probablement apparue récemment dans l'Océan Pacifique (Littler & Littler, 1994), et qui est en expansion épidémique rapide, affectant au moins 16 espèces de la famille des Corallinaceae (Littler & Littler, 1995).

Par ailleurs, très peu d'études ont décrit l'impact des parasites dans les populations naturelles, en évaluant la prévalence des infections : prévalence d'infections virales (Parodi & Müller, 1994), prévalence d'épiphytisme sur les algues brunes *Lessonia nigrescens* et *L. trabeculata* (Martínez & Correa, 1993), prévalence d'algues endophytes de macro-algues (Correa & Sanchez, 1996; Correa *et al.*, 1997; Ellertsdóttir & Peters, 1997).

Ce bref aperçu bibliographique montre à quel point l'étude des interactions hôte-parasite chez les algues est peu développée, si ce n'est dans le cas d'espèces cultivées pour lesquelles les enjeux commerciaux ont nécessité une solution rapide et efficace aux pertes de biomasse induites par les parasites (Wu *et al.*, 1983; Craigie, 1990; Fujita, 1990; Craigie & Correa, 1996).

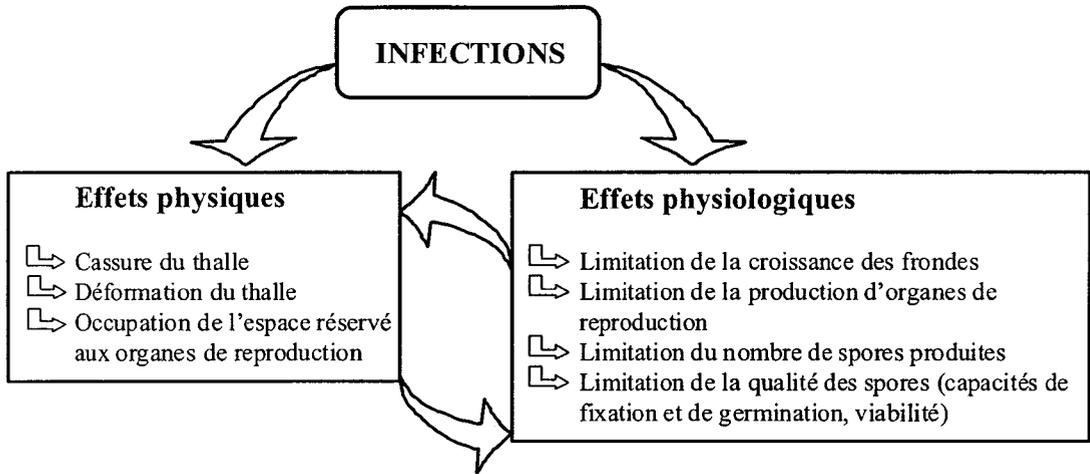


Figure 3.1 : Diagramme représentant les possibles effets pathogènes exercés par les endophytes sur leur hôte.

3.1.4 Par quels mécanismes les endophytes peuvent-ils avoir des effets pathogènes chez *M. laminarioides* ?

M. laminarioides est infectée par deux endophytes différents (une algue verte et une cyanobactérie) se développant chacun dans une partie distincte de la fronde (la base pour l'algue verte, la partie plane du thalle pour la cyanobactérie). On s'attend donc à ce que les effets des infections diffèrent selon l'endophyte considéré. Cependant, aucun des deux endophytes n'infecte de façon apparente le disque de fixation des individus de *M. laminarioides*. Rappelons que celui-ci assure, comme son nom l'indique, la fixation et la pérennité de l'individu, ainsi que la production de nouvelles frondes (partie reproductive de l'individu). On s'attend donc à ce que les infections aient des effets principalement sur la reproduction, et dans une moindre mesure sur la survie des individus. Chez *M. laminarioides*, on peut distinguer deux types d'effets pathogènes (Figure 3.1) : les effets physiques et les effets physiologiques.

Les effets physiques

Parmi les effets physiques, la cassure des thalles est probablement l'effet majeur exercé par *E. ramosum*. En effet, il a été montré que les infections fragilisaient la base des frondes, ce qui facilitait leur arrachage (Figure 3.2, (Buschmann *et al.*, 1997). On peut dès lors se demander quel est l'impact de ces arrachages de frondes sur la fertilité des individus. Les études précédentes ont montré que les frondes matures (portant des organes de reproduction) sont plus souvent infectées que les immatures (Correa & Sanchez, 1996; Correa *et al.*, 1997). Ces résultats semblent indiquer que le développement de *E. ramosum* dans la fronde hôte se fait en même temps que le développement de celle-ci. On ne connaît cependant pas quel degré de maturité les frondes infectées peuvent atteindre. En effet, dans ces études, la seule présence d'une structure reproductive suffisait à classer une fronde parmi les matures. Or, la densité d'organes de reproduction par fronde peut être variable, et semble être le résultat de la maturation progressive de celle-ci (Santelices & Martínez, 1997) : la densité de structures reproductives est positivement corrélée à la taille des thalles. La densité de structures reproductives représente donc une bonne estimation de la maturité des frondes. On peut également penser que l'arrachage des frondes limite photosynthèse et l'absorption de

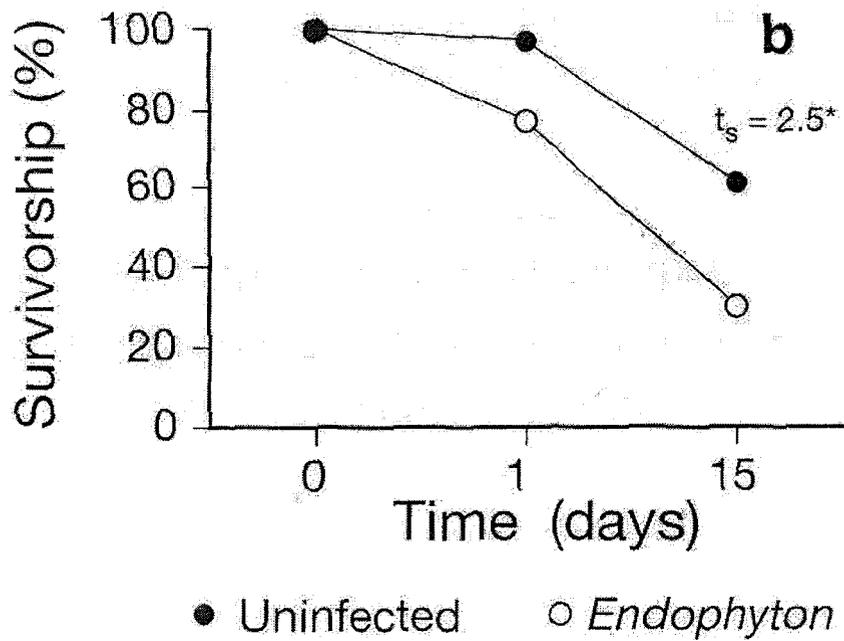


Figure 3.2 : Effet des infections par *Endophyton ramosum* sur la survie des frondes de *Mazzaella laminarioides*. A 15 jours, les différences entre infectées et non-infectées sont significatives d'après le test de Student (* indique $p < 0.05$). D'après Buschmann *et al.* 1997.

nutriments de l'individu, et par là même, l'apport énergétique. On voit donc ici que les effets physiques et les effets physiologiques sont intimement liés.

En ce qui concerne *Pleurocapsa* sp., les effets physiques ne semblent pas affecter la résistance à l'arrachage (Buschmann *et al.*, 1997). En revanche, les galles provoquent des déformations importantes du thalle (Figure 3.2), et on peut supposer que cela affecte ses performances physiologiques. D'autre part, les galles se développant à la surface des thalles, elles peuvent occuper la place d'organes de reproduction (cryptes mâles ou sores des tétrasporophytes), ou tout simplement gêner leur développement ou la libération des spores.

Les effets physiologiques

D'une façon générale, on peut supposer que les ressources sont limitées pour les individus de *M. laminarioides*, il pourrait y avoir une compétition pour les ressources entre l'hôte et ses endophytes (qui seraient alors des parasites au sens strict du terme). Ceci pourrait alors avoir une influence sur les performances de l'hôte. La théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie prédit que l'équilibre entre reproduction d'une part et croissance et survie d'autre part dépend de la quantité de ressources allouées à l'un ou à l'autre (Stearns, 1992). La compétition pour les ressources avec les parasites aurait alors deux types d'effets : soit de réduire la croissance des frondes (et indirectement la reproduction et la survie de l'individu), soit de réduire directement la fertilité de l'individu. On s'attend donc, indépendamment de l'allocation des ressources, à ce que les infections réduisent d'une manière ou d'une autre la fertilité.

Les galles, en incluant les cellules de *Pleurocapsa* sp. et celles de *M. laminarioides*, pourraient être en compétition avec le reste du thalle hôte pour les ressources en minéraux, lumière ou autres. Quelque soit le type de ressource pour laquelle l'hôte et l'endophyte sont en compétition, l'hypothèse est que les effets physiologiques qui en découlent pourraient affecter le potentiel reproductif de *M. laminarioides*. Il semble en effet que les frondes très sévèrement infectées par *Pleurocapsa* sp. soient rarement matures (Correa & Sanchez, 1996). Si cette observation est confirmée, alors on s'attend à observer chez les individus infectés soit une production de spores plus faible, soit une moindre qualité de spores (capacité de fixation et de germination). Cependant, on ne peut exclure que cette cyanobactérie photosynthétique soit fixatrice d'azote, comme le sont toutes les autres cyanobactéries symbiotiques semble-t-il (Bergman *et al.*, 1992). Si c'est le cas pour *Pleurocapsa* sp., des effets bénéfiques pourraient être envisageables.

3.1.5 Objectifs et plan du chapitre

Le principal objectif de ce chapitre est d'estimer les effets des infections sur la valeur sélective de *M. laminarioides*. La valeur sélective peut être décomposée en deux paramètres : fécondité et survie. Deux approches complémentaires ont été développées : une approche expérimentale au laboratoire et une approche démographique dans les populations naturelles. L'approche expérimentale a consisté à forcer les individus échantillonnés chaque mois sur le terrain à libérer leur spores en conditions contrôlées afin d'estimer la fécondité (nombre de spores produites) et la survie des juvéniles, c'est-à-dire de la fertilité des individus. L'objectif est ici de comparer la fertilité moyenne des plantes infectées et non-infectées, en s'intéressant à ses différentes composantes, depuis la maturité des frondes au nombre de jeunes recrues, en passant par le nombre et la qualité des spores libérées. L'approche démographique a consisté à réaliser des suivis dans les populations naturelles afin d'estimer la survie adulte et le recrutement (qui équivaut à la fertilité efficace moyenne des individus dans la population). En outre, cette approche permet d'estimer le taux de renouvellement démographique des populations d'hôtes. Il est ainsi possible de tester l'effet des infections à l'échelle des populations.

Ce chapitre est divisé en trois parties : la première examine les effets des infections sur l'ensemble du potentiel reproductif de *M. laminarioides* dans des conditions de laboratoire ; la deuxième s'intéresse à la dynamique démographique des populations naturelles d'hôtes ; la troisième fait la synthèse des différents paramètres de la valeur sélective estimés dans les deux premières parties.

3.2 Effets des infections sur la fertilité de *M. laminarioides*

L'objectif du présent chapitre est d'estimer les effets des infections sur les différentes composantes de la fertilité de *M. laminarioides*. Avant de présenter les résultats l'expérience concernant l'estimation de la fertilité, je résumerai rapidement les résultats publiés dans l'Article 2 sur les effets des deux endophytes sur la maturité des frondes.

3.2.1 Analyse préliminaire des effets des infections sur la densité de structures reproductives de *M. laminarioides* (Article 2)

Afin de tester si la présence des infections affecte la maturité des frondes de *M. laminarioides*, la densité de structures reproductives a été comparée entre frondes saines et infectées par *E. ramosum* et *Pleurocapsa* sp. J'ai pour cela ré-analysé des données déjà publiées sur la maturité des frondes (Santelices & Martínez, 1997) et sur leur niveau d'infection (Correa & Sanchez, 1996). L'échantillonnage avait été réalisé par ces auteurs dans la localité de Matanzas, en collectant des frondes au hasard dans la population. Ces frondes étaient destinées initialement à l'estimation de la fréquence et de la sévérité des infections (Correa & Sanchez, 1996). Parmi ces frondes, un sous-échantillonnage fut effectué afin d'estimer la densité de structures reproductives (Santelices & Martínez, 1997). Mon analyse a donc porté sur les données pour les frondes communes à ces deux études, et pour lesquelles les deux informations (sévérité des infections et densité de structures reproductives) étaient connues.

La densité de structures reproductives n'est généralement pas de différente entre frondes saines et infectées (Figure 3.3). Cela est vérifié lorsque les frondes sont infectées par *E. ramosum* seul ou par *E. ramosum* et *Pleurocapsa* sp. en même temps. En automne, les frondes infectées par *Pleurocapsa* sp. uniquement possèdent une plus forte densité de structures reproductives que les frondes saines. Comme ces résultats étaient obtenus sans tenir compte du niveau d'infection des frondes, une nouvelle série de comparaisons fut effectuée

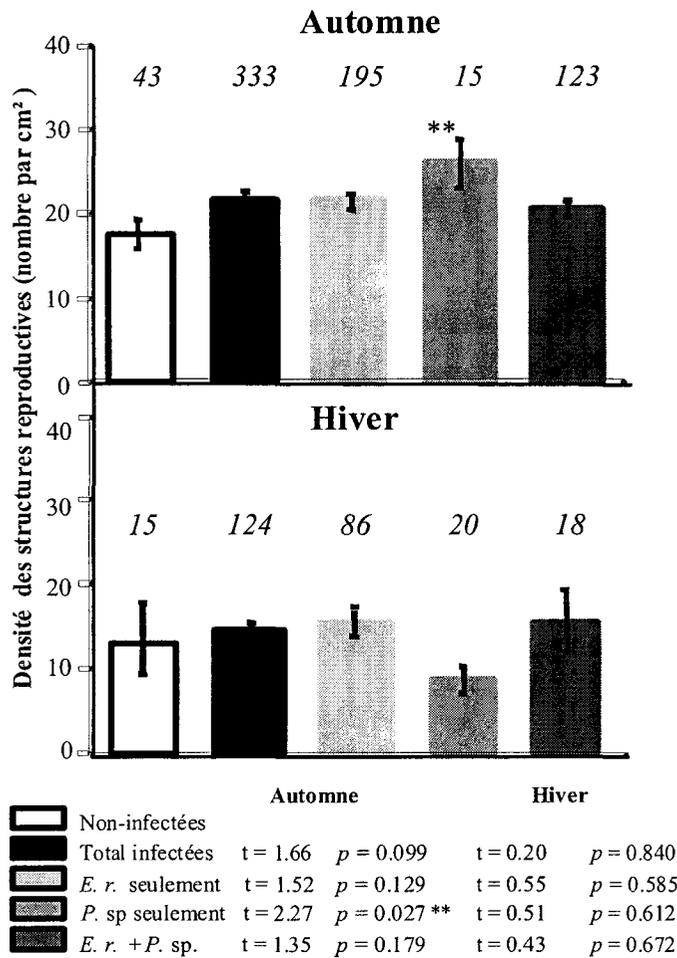


Figure 3.3 : Comparaison des densités de structures reproductives de frondes haploïdes femelles entre frondes saines et infectées par *Endophyton ramosum* (*E.r.*) seulement, *Pleurocapsa* sp. (*P.sp.*) seulement ou par les deux en même temps. Les nombres au sommet des colonnes correspondent aux frondes analysées. ** indique le seul cas significatifs après test t de Student (d'après Faugeron *et al.* 2000).

en ne considérant que les frondes présentant un niveau d'infection moyen à fort. Dans ce cas, aucune différence n'a été retrouvée. Tout ce passe donc comme si l'échantillon de frondes infectées par la cyanobactérie correspondait à la fraction la plus mature de l'ensemble de la population. Ces résultats indiquent que les endophytes n'affectent pas les étapes initiales du développement des structures reproductives, puisque le nombre total de structures était considéré ici. En ce qui concerne les frondes femelles par exemple, on peut considérer que les endophytes n'empêchent pas la fécondation du gamète femelle. Cependant, ces résultats ne prennent pas en compte le degré de maturité ni la quantité ou la viabilité des spores qui y sont produites. L'expérience qui suit reprend plus en détail chacune de ces composantes de la fertilité.

3.2.2 Matériel et méthodes

L'essentiel des expériences proposées concernent les effets des infections par *Pleurocapsa* sp. puisque cet endophyte est en interaction directe avec les organes de reproduction de son hôte.

3.2.2.1 Stratégie d'échantillonnage

Deux types d'échantillonnages non-aléatoires ont été réalisés dans les localités de Santo Domingo et Pucatrihue. Le premier a consisté à prélever **les frondes les plus matures** dans les Zones de Haute Infection (ZHI) et de Basse Infection (ZBI, voir Figure 3.4). Le deuxième a consisté à prélever **les frondes les plus sévèrement infectées** dans les Zones de Haute Infection. Les échantillonnages ont eut lieu chaque mois de avril 1999 à Juillet 2001 dans chaque localité. L'échantillonnage de juillet 2000 à Pucatrihue n'a pu être effectué à cause des violentes tempêtes. Celui de juin 2000 à Santo Domingo n'a pu être effectué car la Zone de Haute Infection ne présentait pas suffisamment de frondes matures.

Echantillonnage des frondes les plus matures

Cet échantillonnage avait pour objectif de comparer la fertilité maximale des individus entre ZHI et ZBI. Les ZBI et ZHI sont séparées par un maximum de 20 m à Santo Domingo et de 30 m à Pucatrihue. Dans chaque localité, 20 frondes diploïdes



Figure 3.4 : Echantillonnage des frondes dans la Zone de Haute Infection (en rouge) et la Zone de Basse Infection dans la localité de Santo Domingo.

et 20 frondes haploïdes femelles parmi les plus matures dans chacune des deux zones (soit un total de 80 frondes par localité) ont été prélevées chaque mois. Les frondes les plus matures étaient identifiées comme celles portant la plus forte densité de structure reproductives. Dans la mesure du possible, une seule fronde par individu était récoltée.

Echantillonnage des frondes les plus sévèrement infectées

Cet échantillonnage avait pour objectif de comparer la fertilité moyenne des individus les plus infectés à celle des individus de ZBI. Il permettait donc d'éviter le biais potentiel de l'échantillonnage précédent qui aurait pu prélever des frondes saines ou faiblement infectées. L'échantillonnage a été effectué dans la ZHI de chaque localité (Santo Domingo et Pucatrihue). Soixante frondes parmi les plus infectées (présentant les plus fortes densités de galles et les plus importantes déformations) étaient échantillonnées chaque mois, sans regarder ni leur taille ni leur maturité. Cet échantillonnage incluait donc des frondes fertiles, des frondes immatures et des frondes haploïdes mâles. Seules les frondes fertiles (pour lesquelles des structures reproductives étaient visibles) ont été conservées pour l'expérimentation.

3.2.2.2 Protocole expérimental

Au laboratoire, chaque fronde était traitée séparément. Elles étaient pesées (poids frais), puis examinées pour la présence de l'algue verte *E. ramosum* (observations qui seront reprises dans la deuxième partie de ce chapitre). Cinq fragments circulaires de 1 cm de diamètre étaient prélevés à l'emporte pièce sur chaque fronde afin d'homogénéiser la biomasse entre les différents traitements. Sur chaque fragment, les densités de galles et de structures reproductives ont été évaluées. La maturité des structures reproductives a été estimée d'après leur couleur : rouge foncé pour les matures, roses, jaunes ou blanches pour celles qui étaient encore en développement (selon Santelices & Martínez, 1997). Seules les structures reproductives matures ont été retenues pour les analyses. Les estimations des densités de galles et de structures reproductives n'a pas été réalisée sur les frondes sévèrement infectées car la densité de galles (souvent supérieure à 200 galles/cm²) rendaient difficile tout comptage.

Les cinq fragments de chaque frondes étaient ensuite conditionnés afin qu'ils libèrent les spores contenues dans les structures reproductives : après dessiccation pendant une heure à température ambiante, ils étaient placés dans 20 mL d'eau de mer stérile sous agitation. Les spores en suspension étaient ensuite recueillies et déposées dans des plaques de Petri multi-

puits (5 mL de suspension de spores) où elles étaient comptées après 2 h de sédimentation¹⁵. La quantité de spores comptées au fond des support correspond donc à la quantité de spores libérées par unité de surface de fronde. Le nombre de spores fixées était évalué après 24 h d'incubation (à 13°C, sous 40 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, avec une photopériode de 12h/12h) et après rinçage du support. Le nombre de spores ayant germé était compté 48 h après les mêmes conditions d'incubation. Enfin, la survie des recrues était évaluée en comptant le nombre de jeunes disques en formation sur ces mêmes supports après 3 semaines d'incubation dans de l'eau de mer enrichie (milieu SFC, même conditions d'incubation).

3.2.2.3 Analyses statistiques

Pour les frondes les plus matures

La première analyse a consisté à examiner la distribution des infections. Il s'agissait tout d'abord de vérifier que la sévérité des infections était bien plus forte en ZHI qu'en ZBI. D'autre part, il a été rapporté que la prévalence des infections était variable dans le temps (Correa *et al.*, 1997). Il est donc intéressant de tester si une telle variation temporelle existe pour les frondes échantillonnées dans cette expérience, et si elle est la même dans les deux localités analysées. Les densités moyennes de galles sur les 20 frondes de chaque traitement ont donc été comparées à l'aide d'une ANOVA à 4 facteurs croisés. Les facteurs Zone (SHI et ZBI), Localité (Santo Domingo et Pucatrihue), et Ploïdie (haploïdes et diploïdes) ont été considérés comme fixes. Alors que le facteur Date (les différentes dates d'échantillonnage) ont été considérés ici comme facteur aléatoire. Afin d'avoir des effectifs équilibrés, les mois présentant des données manquantes ont été retirés de l'analyse. Les données ont été transformées en rang pour satisfaire aux critères d'homogénéité des variances et de normalité. Le nombre de répétitions était insuffisant pour tester l'interaction des quatre facteurs qui a donc été incluse dans le terme d'erreur.

¹⁵ Une évaluation préliminaire (à partir de la densité initiale de spores en suspension estimée par comptage dans une cuve de Neubauer sous microscope optique) a montré qu'après ce laps de temps, plus de 99 % des spores en suspension se sont déposée sur le support.

Tableau 3.1 : Modèle à 3 facteurs croisés (Zone, Localité, Date d'échantillonnage), avec Date en tant que facteur aléatoire, utilisé pour les analyses de variance des différents paramètres de la reproduction des frondes les plus matures.

	Source	Terme d'erreur	Variance expliquée
1	Zone	6	(6) + Q[1,4]
2	Localité	5	(6) + 2(5) + Q[2,4]
3	Date	5	(6) + 2(5) + 4(3)
4	Localité*Zone	6	(6) + Q[4]
5	Date*Localité	6	(6) + Q(5)
6	Erreur		(6)

Les différents paramètres de la reproduction de *M. laminarioides* ont été examinés séparément : biomasse des frondes, densité d'organes de reproduction, nombre de spores libérées par unité de surface de fronde, pourcentage de spores qui parviennent à se fixer au substrat, pourcentage de spores fixées qui parviennent à germer, pourcentage de juvéniles survivants après 3 semaines d'incubation. L'effet des infections par *Pleurocapsa* sp. sur chacun de ces paramètres a été testé à l'aide d'une ANOVA à trois facteurs croisés (Zone, Localité et Date). Le facteur Zone est fixe et correspond au principale effet testé (l'infection). Comme pour l'analyse précédente, le facteur Date est aléatoire (variation temporelle). Les détails du modèle figurent dans le Tableau 3.1. Tout comme pour le modèle de l'analyse de la densité de galles, le manque de répétition est insuffisant pour tester l'interaction des trois facteurs (qui est donc incluse dans le terme d'erreur). Afin de traiter un tableau de données équilibré, les mois présentant des données manquantes n'ont pas été retenus pour les analyses. Les données étaient transformées, lorsque cela était nécessaire, pour satisfaire aux critères d'homogénéité des variances et de normalité (le détail de chaque transformation est indiqué en annexe pour chaque analyse).

Pour les frondes les plus sévèrement infectées

En ce qui concerne les frondes les plus sévèrement infectées, les effectifs de frondes reproductives sont très variables et souvent très inférieurs aux frondes les plus matures. La comparaison entre cette catégorie de frondes et les frondes les plus matures des ZBI a donc été effectuée à l'aide de tests non-paramétriques (tests de Mann-Whitney) pour chacune des composantes de la fertilité.

Tableau 3.2 : Résultats de l'ANOVA sur la densité de galles portées par les frondes les plus matures des Zones de Haute et de Basse Infection. **A.** Modèle complet ; Date est un facteur aléatoire, les autres sont fixes. **B.** Modèle sans le facteur Ploïdie et ses interactions.

A. Source		d.d.l	Carrés Moyens	Terme d'erreur	F	p
1	Localité	1	42053	11	55.31	<10 ⁻³
2	Zone	1	244343	9	251.81	<10 ⁻³
3	Ploïdie	1	7	10	0.02	0.884
4	Localité*Zone	1	1158	13	21.76	0.199
5	Localité*Ploïdie	1	976	14	2.69	0.116
6	Zone*Ploïdie	1	21	12	0.10	0.753
7	Localité*Zone*Ploïdie	1	343	15	1.15	0.295
8	Date	20	1717	15	5.78	<10 ⁻³
9	Date*Zone	20	970	15	3.27	0.005
10	Date*Ploïdie	20	335	15	1.13	0.394
11	Date*Localité	20	760	15	2.56	0.021
12	Date*Zone*Ploïdie	20	211	15	0.71	0.773
13	Date*Localité*Zone	20	656	15	2.21	0.042
14	Date*Localité*Ploïdie	20	362	15	1.22	0.330
15	Erreur	20	296.9			

B. Source		d.d.l	Carrés Moyens	Terme d'erreur	F	p
1	Localité	1	42053	5	55.31	<10 ⁻³
2	Zone	1	244343	6	251.81	<10 ⁻³
3	Date	20	1717	8	5.66	<10 ⁻³
4	Localité*Zone	1	1158	7	1.76	0.199
5	Date*Localité	20	760	8	2.51	0.002
6	Date*Zone	20	970	8	3.20	<10 ⁻³
7	Date*Localité*Zone	20	656	8	2.16	0.008
8	Erreur	84	303			

3.2.3 Résultats

3.2.3.1 Distribution des infections

Il existe bien des différences marquées dans la sévérité des infections entre Zones de Haute Infection (ZHI) et les Zones de Basse Infection (ZBI, voir Tableau 3.2) : on vérifie en effet que la densité de galles est en moyenne 10 fois plus grande dans les ZHI. Les résultats de l'ANOVA indiquent en outre que la sévérité des infections présente une variabilité temporelle (Tableau 3.2) qui affecte essentiellement les ZHI (Figure 3.5). On remarque que les frondes de la ZBI ne sont pas systématiquement saines, mais présentent plutôt une faible densité de galles (entre 3 et 4 galles/cm² en moyenne, voir Figure 3.5). Les deux localités sont également très significativement différenciées pour la densité de galles, qui est environ deux fois plus

forte en moyenne à Pucatrihue qu'à Santo Domingo (Tableau 3.2 et Figure 3.5). On n'observe pas de différences dans la densité de galles entre haploïdes et diploïdes (Tableau 3.2). De plus, aucune interaction du facteur Ploïdie avec un autre facteur n'est significative, indiquant que les individus des deux phases sont autant infectés, quelque soit l'endroit et le moment où on réalise l'observation.

Afin de tester plus précisément les interactions des facteurs Date, Localité et Zone, sur la densité de galles, une seconde analyse a été faite en enlevant le facteur Ploïdie et les interactions qui ne sont significatives. Les résultats indiquent que toutes les interactions sont pas significatives, sauf pour l'interaction Zone*Localité (Tableau 3.2B).

3.2.3.2 Effets des infections sur les différentes composantes de la fertilité

Pour l'ensemble des paramètres de la fertilité des individus les plus matures (biomasse, densité de structures reproductives, nombre de spores libérées, pourcentage de spores fixées, pourcentage de spores germées et taux de survie des juvéniles), on observe des valeurs moyennes plus faibles dans les ZBI que dans les ZHI (Tableau 3.3). Cet effet négatif des infections est vérifié chez les haploïdes et chez les diploïdes. Lorsqu'on examine ces différences dans chaque localité, on retrouve cette tendance, excepté pour la biomasse à Pucatrihue, et le taux de fixation des spores issues de frondes haploïdes à Santo Domingo (voir Tableau 3.3). Le Tableau 3.4 résume les différences significatives (les résultats détaillés des analyses de variance figurent en annexe). Les différentes composantes de la fertilité vont maintenant être examinées les unes après les autres.

Biomasse des frondes

Bien que la biomasse des frondes les plus matures soit globalement plus faible en ZHI qu'en ZBI (Tableau 3.3), la différence n'est pas significative (Tableau 3.4). Cette différence est retrouvée chez les haploïdes et les diploïdes. En revanche, les deux localités sont significativement différenciées pour la biomasse moyenne des frondes (Tableau 3.4), qui est plus importante à Santo Domingo qu'à Pucatrihue (Tableau 3.3). Les différences entre ZBI et ZHI s'inversent entre les deux localités (l'interaction Zone*Localité est forte, Tableau 3.4) : la biomasse est plus grande dans la ZBI de Santo Domingo et plus faible dans celle de Pucatrihue (Tableau 3.3). La biomasse est très variable au cours de l'année (le facteur Date est très significatif, Tableau 3.4) : globalement faible en hiver et au début du printemps (de juillet à novembre), elle est plus forte en été et en automne (Figure 3.6). La période de plus faible biomasse est plus longue à Pucatrihue.

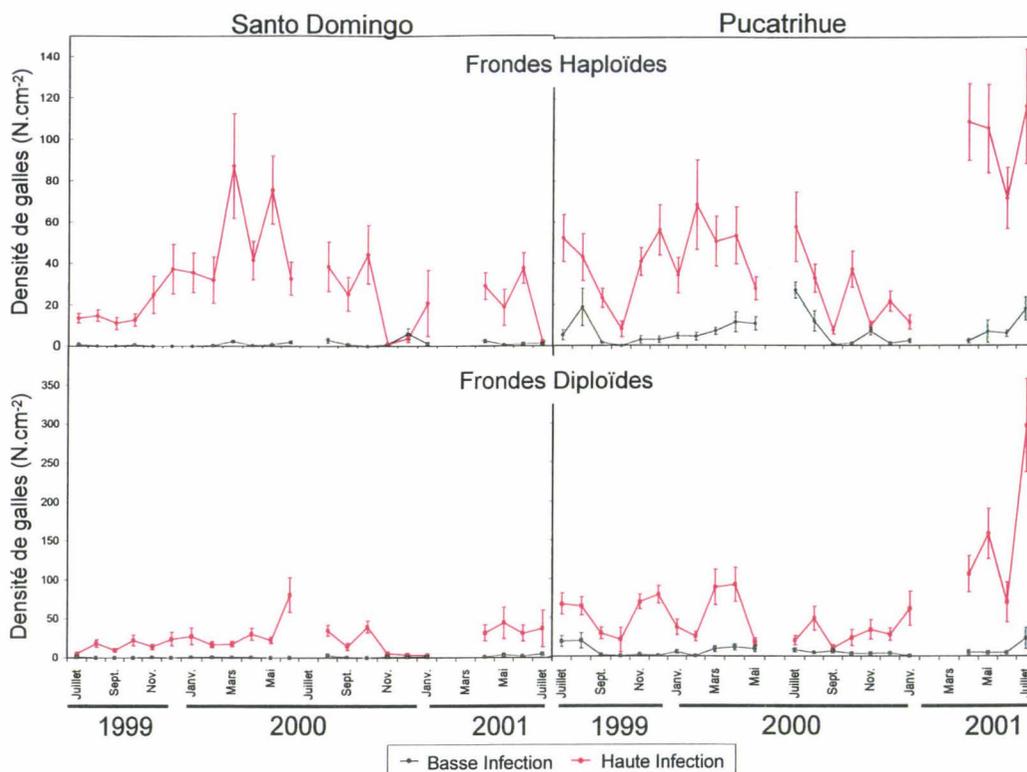


Figure 3.5 : Variation mensuelle de la densité de galles de *Pleurocapsa* sp. sur les frondes haploïdes femelles et diploïdes les plus matures des zones de haute et de basse infection de chaque localité (moyennes sur 20 frondes).

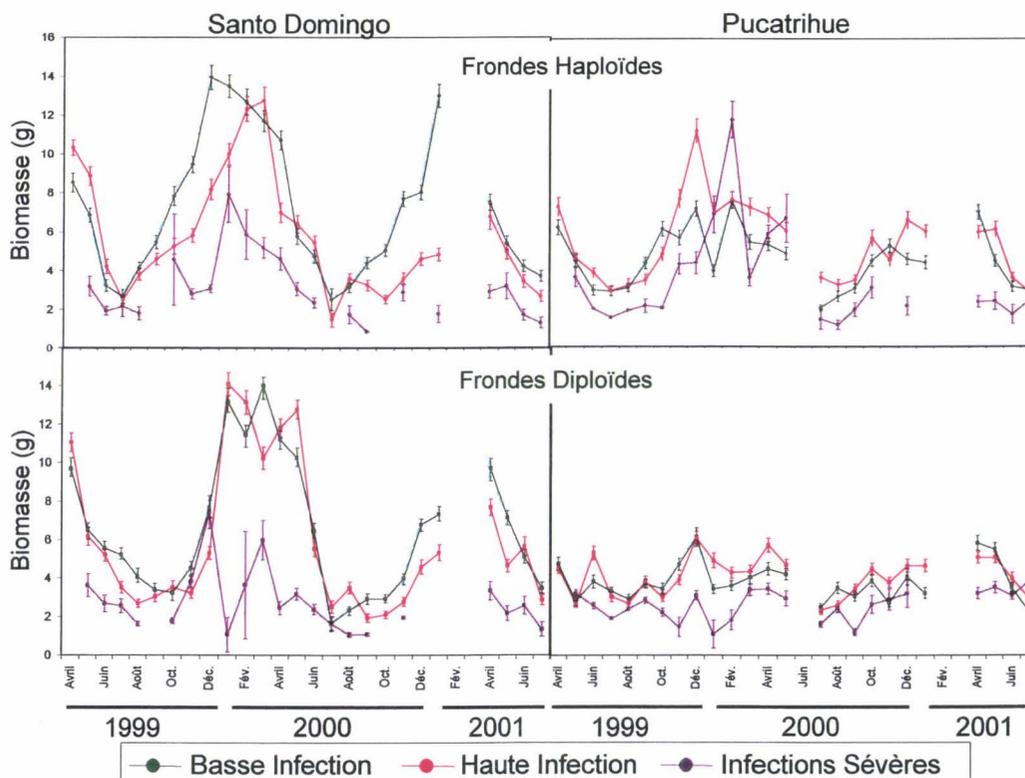


Figure 3.6 : Variation mensuelle de la biomasse des frondes.

En ce qui concerne les frondes les plus sévèrement infectées, on constate que leur biomasse est globalement plus faible que celle des frondes les plus matures de la ZBI (environ la moitié, Tableau 3.5). Ce résultat est retrouvé chez les haploïdes et les diploïdes, dans les deux localités.

Tableau 3.3 : Moyennes (\pm l'erreur standard) des différentes composantes de la fitness pour les deux facteurs responsables de la variation spatiale des effets des infections sur les frondes les plus matures. H : Frondes haploïdes ou spores issues de frondes diploïdes. D : Frondes diploïdes ou spores issues de frondes haploïdes.

		Facteur "Zone"		Facteur "Localité"		Interaction des facteurs			
		ZBI	ZHI	STDO	PUC	STDO	PUC	STDO	PUC
Biomasse	H	6.05	5.70	6.69	5.06	7.45	4.64	5.93	5.47
		± 0.54	± 0.37	± 0.48	± 0.26	± 0.73	± 0.29	± 0.62	± 0.42
	D	5.35	5.15	6.47	4.02	6.81	3.89	6.14	4.12
		± 0.44	± 0.45	± 0.55	± 0.15	± 0.73	± 0.21	± 0.83	± 0.21
Densité des organes de reproduction	H	10.87	9.91	12.53	8.25	12.97	8.78	12.09	7.72
		± 0.51	± 0.74	± 0.58	± 0.51	± 0.52	± 0.60	± 1.05	± 0.83
	D	22.73	19.38	22.91	19.20	24.30	21.17	21.53	17.23
		± 1.18	± 1.23	± 1.40	± 0.95	± 1.87	± 1.41	± 2.08	± 1.16
Nombre de spores libérées	H	10799	5746	10333	6213	13362	8237	7304	4188
		± 1952	± 1067	± 2058	± 837	± 3596	± 1439	± 1893	± 659
	D	10518	6744	8088	9173	8897	12140	7281	6206
		± 1246	± 1094	± 1247	± 1158	± 1567	± 1912	± 1960	± 1013
Taux de fixation (%)	H	30.02	28.85	22.85	36.02	19.88	40.15	25.82	31.88
		± 2.70	± 3.19	± 2.49	± 3.07	± 2.82	± 3.59	± 4.08	± 4.91
	D	26.56	25.02	20.51	31.07	20.95	32.17	20.08	29.96
		± 2.55	± 2.42	± 1.97	± 2.70	± 2.65	± 4.08	± 2.97	± 3.60
Taux de germination (%)	H	76.46	70.69	69.85	77.30	70.55	82.37	69.15	72.24
		± 2.62	± 3.50	± 3.21	± 2.90	± 4.16	± 2.87	± 4.99	± 4.99
	D	75.03	69.23	67.10	77.16	69.48	80.59	64.72	73.74
		± 2.78	± 3.34	± 2.77	± 3.16	± 3.86	± 3.71	± 4.03	± 5.17
Taux de survie des juvéniles (%)	H	64.55	63.75	56.06	72.24	56.74	72.35	55.37	72.13
		± 2.53	± 3.83	± 3.36	± 2.77	± 4.33	± 2.25	± 5.23	± 5.06
	D	60.58	57.17	55.23	62.54	56.83	64.33	53.64	60.75
		± 3.71	± 4.02	± 4.15	± 3.50	± 5.89	± 4.57	± 5.97	± 5.39

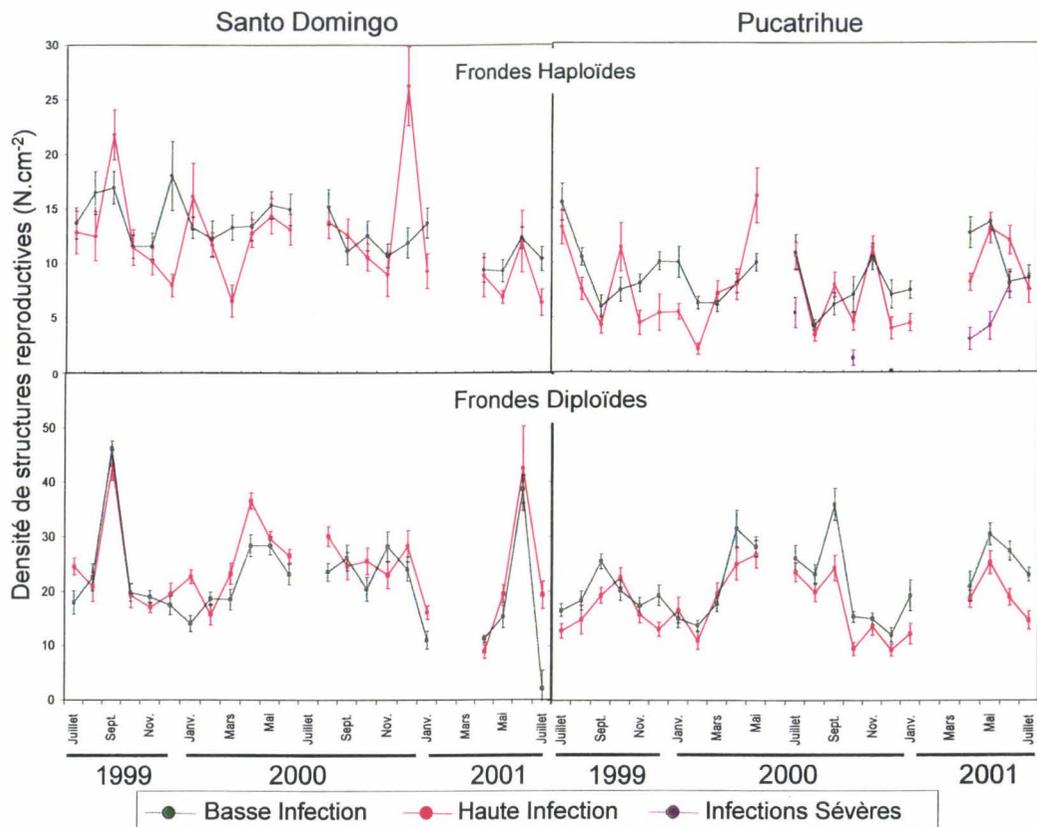


Figure 3.7 : Variation mensuelle de la densité de structures reproductives matures.

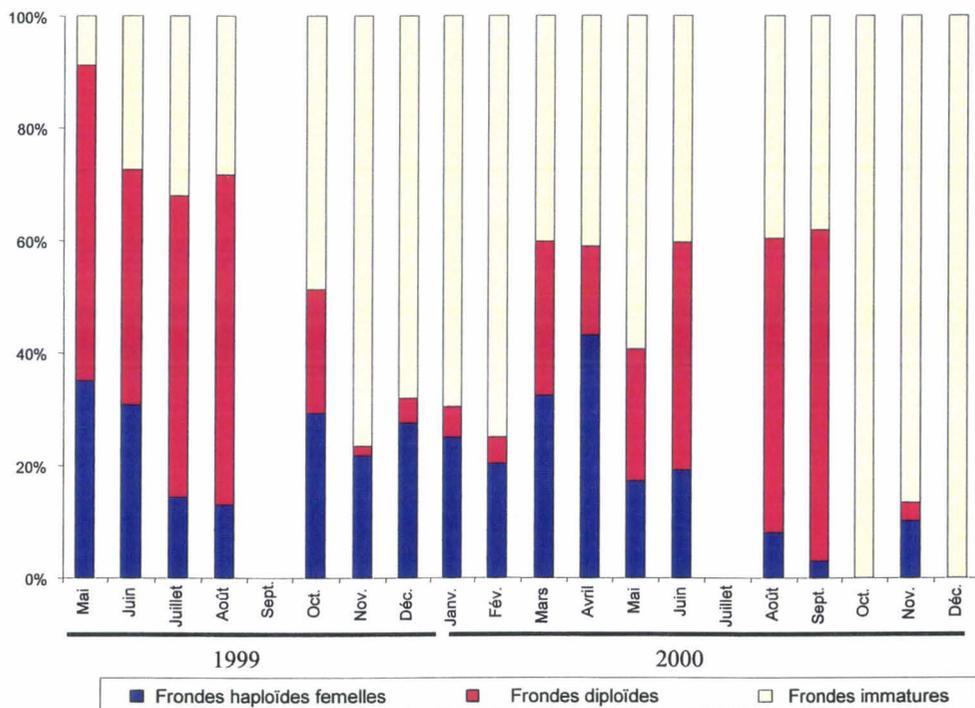


Figure 3.8 : Proportion de frondes matures et immatures parmi les frondes les plus infectées dans la localité de Pucatrihue.

Tableau 3.4 : Résumé des effets significatifs des différents facteurs testés (à l'aide d'ANOVA à trois facteurs croisés) sur les différentes composantes de la fitness des frondes les plus matures (pour le détail de ces résultats, voir Annexe). La catégorie Haploïde (ou Diploïde) renferme les frondes haploïdes (ou diploïdes respectivement) et les différents stades des spores issues de frondes haploïdes (ou diploïdes respectivement). – indique qu'aucun facteur ne présente d'effet significatif.

	Haploïdes		Diploïdes	
	Facteur	<i>p</i>	Facteur	<i>p</i>
Biomasse	Localité	<10 ⁻³	Localité	0.006
	Date	<10 ⁻³	Date	0.005
	Localité*Zone	<10 ⁻³	Date*Localité	<10 ⁻³
			Localité*Zone	0.003
Densité d'organes de reproduction	Localité	0.001	Zone	<10 ⁻³
	Date*Localité	0.002	Localité	0.047
	(Zone)	(0.122)	Date*Localité	<10 ⁻³
Nb. spores libérées	Zone	<10 ⁻³	Zone	<10 ⁻³
	Date	0.050	Date*Localité	<10 ⁻³
	Date*Localité	0.006	(Date)	(0.134)
% spores fixées	Localité	0.012	Date	0.041
	Localité*Zone	0.011	Localité	0.012
	Date*Localité	0.010	Date*Localité	0.001
% spores germées	Zone	0.048	Date*Localité	0.046
	Localité*Zone	0.010	(Zone)	(0.082)
	Date*Localité	<10 ⁻³	(Localité)	(0.070)
% juvéniles survivants	Localité	0.005	–	–

Tableau 3.5 : Comparaison de la biomasse des frondes provenant de la Zone de Basse Infection (ZBI) avec les plus Sévèrement Infectées de la Zone de Haute Infection (ZHI-SI). Test de comparaison de médianes de Mann-Whitney (intervalle de confiance fixé à 95 %).

		ZBI	ZHI-SI	<i>p</i>
		Médiane (g)	Médiane (g)	
Santo Domingo	Haploïdes	6.311	2.910	< 10 ⁻³
	Diploïdes	6.003	2.450	< 10 ⁻³
Pucatrihue	Haploïdes	4.457	2.338	0.0034
	Diploïdes	3.615	1.048	0.0001

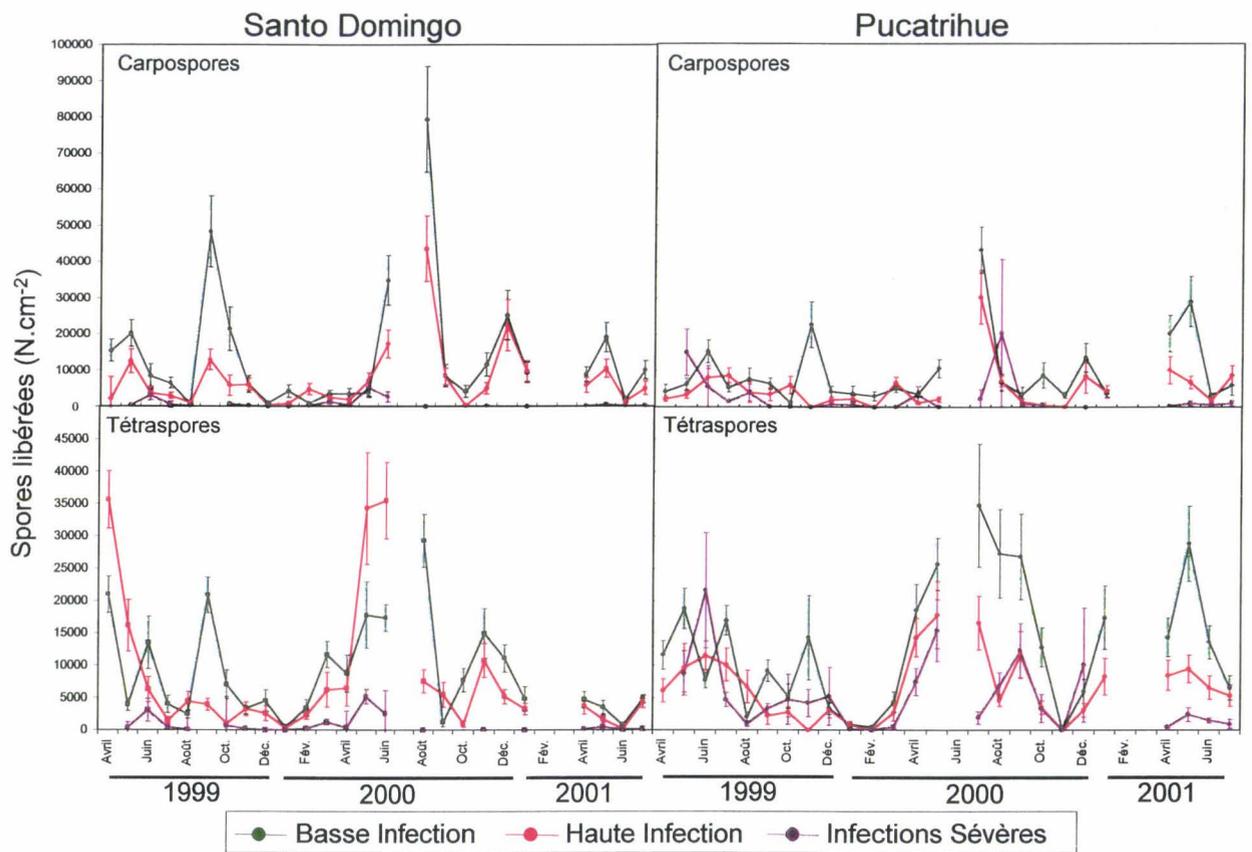


Figure 3.9 : Quantité de spores libérées par les frondes haploïdes femelles (Carpospores) et par les frondes diploïdes (Tétraspores).

Densité d'organes de reproductions

La densité de structures reproductives matures est significativement plus forte dans les ZBI que dans les ZHI pour les frondes diploïdes, alors que la tendance n'est pas significative pour les frondes haploïdes (Tableau 3.4). Ces différences sont en outre relativement faibles (Tableau 3.3). On observe néanmoins que les mois où la densité de structures reproductives est nettement supérieur sur les frondes de ZHI (Figure 3.7) correspondent à des mois où la sévérité des infection était très faible (Figure 3.5) : décembre 2000 pour Santo Domingo, octobre 1999 et mai 2000 pour Pucatrihue. Les localités sont significativement différenciées pour la densité de structures reproductives qui est en moyenne plus faible à Pucatrihue qu'à Santo Domingo. Bien que la maturité soit globalement stable au cours du temps (pas d'effet Date significatif, Tableau 3.4), l'interaction Date*Localité est très forte. Ce résultat est représenté par une variation de la densité d'organes de reproduction souvent en opposition de phase (lorsque la densité augmente dans une localité, elle diminue dans l'autre, et *vice versa*, Figure 3.7).

En ce qui concerne les frondes les plus sévèrement infectées, la proportion de frondes fertiles parmi les 60 frondes les plus sévèrement infectées échantillonnées chaque mois est très variable au cours de l'année : dépassant les 90 % en mai 1999, elle est nulle en octobre et en décembre 2000 (Figure 3.8).

Quantité de spores libérées

La quantité de spores libérées est fortement et significativement réduite dans les ZHI (Tableaux 3.3 et 3.4). Chez les haploïdes, on constate que les frondes de ZHI libèrent environ moitié moins de spores que celles issues de ZBI (Tableau 3.3). En ce qui concerne les frondes diploïdes, le rapport est approximativement de 2/3. On constate que ces différences sont accentuées lors des mois de forte production de spores (Figure 3.9). On observe des périodes de plus forte libération de spores, en particulier pendant les mois d'automne à hiver de l'année 2000 (Figure 3.9). L'interaction Date*Localité est forte (Tableau 3.4) à cause du décalage entre les pics de libération de spores entre les deux localités, ainsi que de la plus courte durée des périodes de forte libération de spores à Pucatrihue. Le nombre moyen de spores libérées n'est pas différent entre les deux localités.

Tableau 3.6 : Comparaison du nombre de spores libérées par les frondes provenant de la Zone de Basse Infection (ZBI) avec les plus Sévèrement Infectées de la Zone de Haute Infection (ZHI-SI). Test de comparaison de médianes de Mann-Whitney (intervalle de confiance fixé à 95 %).

		ZBI	ZHI-SI	
		Médiane	Médiane	<i>p</i>
Santo	Haploïdes	8433	223	$< 10^{-3}$
Domingo	Diploïdes	4816	685	0.0004
Pucatrihue	Haploïdes	5975	735	$< 10^{-3}$
	Diploïdes	12832	3377	0.0026

La production de spores des frondes sévèrement infectées est généralement très faible, même lors des périodes de forte production (Figure 3.9). Les valeurs sont environ 8 à 10 fois moins importantes que celles des frondes de ZBI, et ces différences sont très significatives (Tableau 3.6).

Taux de fixation des spores au substrat

Que ce soit pour les carpospores (issues des frondes haploïdes femelles) et les tétraspores (issues des frondes diploïdes), l'analyse des taux de fixation des spores au substrat montre des valeurs similaires pour les ZBI et les ZHI (Tableau 3.3). En revanche, le taux de fixation des spores est significativement plus grand à Pucatrihue qu'à Santo Domingo (Tableaux 3.3), mais cela varie au cours du temps (interaction Date*Localité significative, Tableau 3.4) et la situation peut s'inverser certains mois. Globalement, on ne détecte pas de variabilité temporelle dans le nombre de spores fixées chez les haploïdes, mais elle est marginale chez les diploïdes.

Globalement, les spores issues des frondes les plus sévèrement infectées ont un taux de fixation plus faible que celui des frondes de ZBI, soit environ la moitié pour les spores de Santo Domingo (Tableau 3.7A), et les deux tiers pour Pucatrihue (Tableau 3.7B). Ces différences ne sont cependant significatives qu'à Santo Domingo.

Tableau 3.7A : Comparaison des taux de fixation et germination des spores, et de la survie des juvéniles (pendant 3 semaines), entre frondes provenant de la Zone de Basse Infection (ZBI) et des plus Sévèrement Infectées de la Zone de Haute Infection (ZHI-SI), pour la localité de **Santo Domingo**. * indique une valeur significativement différente ($p \leq 0.05$) de la valeur pour ZBI (test de Mann-Whitney sur les taux moyens mensuels, intervalle de confiance fixé à 95 %).

		Carpospores	Carpospores	Tétraspores	Tétraspores
		ZBI	ZHI-SI	ZBI	ZHI-SI
Fixation	Moyenne	20.86	9.69*	22.06	13.39*
	Ecart type	14.37	13.54	13.58	13.73
Germination	Moyenne	71.68	65.42	69.01	62.58
	Ecart type	20.03	39.65	18.00	29.86
Survie	Moyenne	60.28	48.12	58.67	36.20
	Ecart type	20.78	34.02	28.27	26.11

Tableau 3.7B : Comparaison des taux de fixation et germination des spores, et de la survie des juvéniles (pendant 3 semaines), entre frondes provenant de la Zone de Basse Infection (ZBI) et des frondes les plus Sévèrement Infectées de la Zone de Haute Infection (ZHI-SI), pour la localité de **Pucatrihue**.

		Carpospores	Carpospores	Tétraspores	Tétraspores
		ZBI	ZHI-IS	ZBI	ZHI-IS
Fixation	Moyenne	41.22	34.67	32.11	25.04
	Ecart type	18.02	30.74	18.87	15.48
Germination	Moyenne	81.85	65.80	79.92	71.09
	Ecart type	13.79	33.19	17.57	26.57
Survie	Moyenne	70.31	71.79	63.65	61.74
	Ecart type	11.34	37.89	21.76	25.61

Taux de germination des spores fixées

Le taux de germination est légèrement supérieur en ZBI par rapport aux ZHI (Tableau 3.3), mais ces différences ne sont que marginalement significatives (Tableau 3.4). On remarque en outre que, pour les spores issues de frondes haploïdes, ces différences ne sont significatives qu'à Pucatrihue (d'où une interaction Localité*Zone).

Les taux de germination chez les spores issues de frondes sévèrement infectées, bien que plus faibles, ne sont pas significativement différents de ceux des spores issues de frondes de ZBI (Tableau 3.7).

Tableau 3.8 : Comparaison des nombres de juvéniles produits par unité de surface ($\approx 4 \text{ cm}^2$) de fronde parentale provenant des Zones de Basse (ZBI) et de Haute Infection (ZHI), et des frondes les plus Sévèrement Infectées de la Zone de Haute Infection (ZHI-SI). Les moyennes sont calculées sur les valeurs moyennes mensuelles.

	Juvéniles Diploïdes (issus de frondes Haploïdes)			Juvéniles Haploïdes (issus de frondes Diploïdes)		
	ZBI	ZHI	ZHI-IS	ZBI	ZHI	ZHI-IS
Moyenne	1479.1	1173.1	53.0	1276.5	827.6	81.1
Erreur standard	± 484.2	± 302.9	± 30.1	± 316.6	± 265.9	± 26.8

Taux de survie des juvéniles

Le pourcentage de juvéniles survivants après 3 semaines d'incubation est similaire dans les ZBI et ZHI (Tableaux 3.3 et 3.4). On détecte un effet significatif du facteur Localité chez les juvéniles issus de frondes haploïdes : la survie est plus faible à Santo Domingo. Les autres facteurs n'ont pas d'effet significatif sur la survie des juvéniles.

En ce qui concerne le pourcentage de juvéniles issus des frondes les plus sévèrement infectées et survivant après trois semaines, on ne détecte pas de différences significatives avec ceux issus de frondes de ZBI (Tableau 3.7).

Au total, les frondes sévèrement infectées produisent environ 20 fois moins de descendants atteignant 3 semaines de vie que les frondes les plus matures de ZBI (Tableau 3.8). Bien qu'on observe une tendance similaire entre les frondes les plus matures de ZHI et ZBI, ces différences ne sont pas significatives.

3.2.4 Discussion

3.2.4.1 Distribution des infections

Les résultats présentés dans cette étude confirment tout d'abord que l'incidence des infections par *Pleurocapsa* sp. est effectivement plus forte dans les zones que nous avons qualifiées de haute infection, et ceci, même pour les frondes les plus matures. L'échantillonnage, tel qu'il a été défini, permet donc de tester l'effet des infections sur la fertilité maximale des individus de *M. laminarioides* dans les deux localités analysées.

Les infections sont présentes tout au long de l'année. Bien que la sévérité des infections soit variable dans le temps, elle ne semble pas suivre une tendance saisonnière, contrairement à ce qui avait été décrit pour la prévalence des infections qui était plus faible en hiver (Correa *et al.*, 1997). Il est donc très probable que des facteurs autres que climatiques

viennent influencer le succès d'infection de *Pleurocapsa* sp. On note en effet une forte augmentation de la densité de galles pour les mois d'avril à juillet 2001 dans la localité de Pucatrihue. Par ailleurs, les deux localités sont différenciées pour la densité moyenne de galles par fronde. Dans l'étude sur la prévalence des infections (Correa *et al.*, 1997), la localité de Matanzas (région Centre) montrait une plus forte prévalence des infections que celle de Pucatrihue (région de Lacs). Les auteurs concluaient à un effet du gradient latitudinal. Les résultats présentés ici ne confirment pas cette tendance, puisque la localité de Santo Domingo (région Centre) est moins sévèrement infectée que celle de Pucatrihue. Les facteurs influençant la distribution des infections sont donc probablement caractéristiques de chaque localité.

3.2.4.2 Effets des infections sur la fertilité de *M. laminarioides*

Globalement, on détecte des effets négatifs des infections par *Pleurocapsa* sp. sur la fertilité de *M. laminarioides*. Le Tableau 3.3 montre que les valeurs moyennes de chaque paramètre de la fertilité sont toujours plus faibles dans les ZHI que dans les ZBI. L'examen détaillé indique que l'effet majeur des infections sur la fertilité de *M. laminarioides* concerne le nombre de spores produites, qui est réduit de moitié dans les Zones de Haute Infection. Les différences sont encore plus marquées en ce qui concerne les frondes sévèrement infectées, puisqu'elles libèrent jusqu'à 40 fois moins de spores. La quantité de spores produites par fronde infectée est donc fortement limitée par les infections. Or la densité de structures reproductives ne semble pas influencée par les infections. Il semble donc que l'estimation visuelle de la maturité des structures reproductives, basée sur la seule appréciation de leur couleur, n'était pas suffisante pour rendre compte du réel stade de développement de celles-ci. Sans doute aurait-il fallu estimer également la taille de ces structures, puisque que les plus grosses sont celles qui renferment le plus grand nombre de spores (Santelices & Martínez, 1997).

En ce qui concerne les autres composantes de la fertilité, l'effet des infections est beaucoup moins clair. Par exemple, les infections ont un effet significatif sur la maturité des individus diploïdes, alors que ce n'est qu'une tendance chez les haploïdes. On observe également que, pour tous les paramètres de la fertilité, les différences entre les ZBI et les ZHI sont très variables au cours du temps (interaction Date*Zone) et peuvent parfois s'inverser. Ainsi, les valeurs maximales de densité de structures reproductives sont observées dans les ZHI. Notons que cette situation est rarement rencontrée et correspond à des mois où la densité de galles est très faible. On ne retrouve pas non plus clairement le cycle saisonnier de

variation de la densité de structures reproductives précédemment décrit (Santelices & Martínez, 1997). On détecte également des interactions Localité*Zone, ce qui indique que les effets des infections sont variables selon la localité échantillonnée. Ainsi, le taux de fixation des spores est significativement réduit à Santo Domingo mais pas à Pucatrihue. Il semble donc que l'influence de *Pleurocapsa* sp. sur la qualité des pores soit fortement variable dans l'espace et dans le temps. Il pourrait s'agir là d'une action pléiotropique du pathogène sur son hôte : selon les conditions environnementales, l'action du pathogène sur son hôte est variable et peut éventuellement devenir bénéfique (Michalakis *et al.*, 1992). En revanche, une fois fixées et germées, les juvéniles présentent globalement la même capacité de survie et de développement. En effet, après les premières divisions mitotiques, le jeune disque en formation augmente rapidement de taille, ce qui signifie qu'il est devenu un organisme indépendant du point de vue énergétique.

3.2.4.3 Les mécanismes possibles conduisant aux effets pathogènes de *Pleurocapsa* sp. sur *M. laminarioides*

On peut se demander par quel mécanisme la présence des galles empêche la production des spores (multiplication mitotique du zygote dans le cystocarpe, méiose dans les spores du tétrasporophyte), sans altérer de manière systématique la qualité des spores. Si on considère que les divisions mitotiques et méiotiques ont un coût énergétique, on s'attend à ce que les effets physiologiques, en altérant le développement des structures reproductives, réduisent effectivement le nombre de spores produites. Dans ce cas, on peut supposer que les galles entrent en compétition avec l'hôte pour les ressources. Par ailleurs, bien que les cellules de *Pleurocapsa* sp. soient très pigmentées dans la galle (Correa *et al.*, 1993), on ne sait pas si cet endophyte y fait de la photosynthèse (ce qui laisserait supposer que l'endophyte ne dépend pas des ressources carbonées de son hôte). Les cyanobactéries sont rencontrées en symbiose avec un grand nombre d'organismes tels que les lichens, les bryophytes, les cycadales, les fougères, et une angiosperme du genre *Gunnera*. Chez ces hôtes, les cyanobactéries présentent une forte pigmentation bien que n'étant pas toujours en contact avec la lumière (Rai, 1990; Bergman *et al.*, 1992). La raison pour laquelle des organismes qui ne sont pas en contact avec la lumière - et qui sont entièrement approvisionnés en ressources carbonées par leur hôte - produisent autant voire plus de pigments photosynthétiques que lorsqu'ils sont isolés n'a pas encore été clarifiée. Dans le cas de *Pleurocapsa* sp., cela ne permet pas de conclure à une compétition pour les ressources (en particulier pour les ressources en carbone).

Un effet des infections liés aux contraintes physiques imposées à la fronde par les déformations peut également être envisagé, en particulier sur la croissance des frondes. En effet, les frondes les plus sévèrement infectées sont généralement de plus petite taille que les frondes les plus matures, et peuvent être parfois toutes immatures. Ce résultat indique que les infections peuvent empêcher une fronde d'arriver à maturité. De plus, étant donné que la maturité des frondes est liée à leur taille (Santelices & Martínez, 1997), on peut conclure que les frondes les plus infectées ont peu de chances d'atteindre la maturité maximale (celle observée en ZBI).

Par ailleurs, des différences environnementales entre ZBI et ZHI autres que le niveau d'infection sont à considérer dans l'interprétation des résultats. En effet, bien que les sites de prélèvement des frondes (ZBI et ZHI) ne sont séparés que de quelques mètres, les conditions environnementales peuvent être fort différentes en ce qui concerne par exemple l'agitation de l'eau (en particulier à Santo Domingo où ZHI est plus protégée des vagues que ZBI) ou la pression des herbivores (en particulier à Pucatrihue, voir (Vergara *et al.*, 1990). Ces autres facteurs pourraient expliquer en particulier pourquoi l'interaction Zone*Localité a souvent un fort effet sur les différents paramètres de la fertilité (en particulier pour la biomasse et la qualité des spores). Néanmoins, parce qu'on n'observe pas d'effet de l'interaction Localité*Zone pour la quantité de spores libérées (et aussi parce que les différences entre zones sont très fortes), on peut conclure avec une plus grande confiance sur un effet pathogène de *Pleurocapsa* sp.

3.2.5 Conclusions de la première partie

L'effet des infections par *Pleurocapsa* sp. sur la fertilité de *M. laminarioides* concerne essentiellement le nombre de spores libérées qui se trouve fortement réduit en cas d'infection. Les autres paramètres de la fertilité, tels que la densité d'organes de reproduction et les capacités de fixation et de germination des spores semblent peu affectés par les infections. Néanmoins, le nombre de descendants est sensiblement réduit par les infections, en particulier en ce qui concerne les frondes les plus sévèrement infectées, et ceci, dans les deux localités analysées.

En ce qui concerne les infections par l'algue verte *E. ramosum*, l'analyse préliminaire semble indiquer qu'il n'y a pas d'effet sur la maturité des frondes, même en ne considérant que les plus infectées. Néanmoins, l'hypothèse avancée par (Buschmann *et al.*, 1997; Correa

et al., 1997) selon laquelle les frondes infectées peuvent être éliminées avant d'atteindre la maturité complète n'a pas été spécifiquement testée. Il faudrait pour cela comparer la taille et la maturité des frondes infectées et qui sont arrachées, et plus particulièrement déterminer si l'arrachage dû à la présence de *E. ramosum* affecte aussi les petites frondes ou seulement les plus grandes et matures.

Les expériences décrites dans cette première partie ont concerné la fertilité estimée à partir de frondes prélevées dans les populations, mais examinées dans les conditions de laboratoire. Ceci a permis de décomposer la fertilité en différents paramètres et tester les effets des infections sur chacun d'entre eux, ce qui n'avait pas été fait dans les études publiées jusqu'à présent. En analysant chaque fronde indépendamment, il était alors possible d'estimer une fertilité moyenne des individus qui soit en même temps représentative des populations étudiées. Un des objectifs de la seconde partie est donc de confronter ces estimations de fertilité en conditions de laboratoire avec l'estimation de la fertilité efficace (le recrutement) dans les populations naturelles.

3.3 Dynamique des populations d'hôtes et influence des endophytes

Puisque les endophytes ne sont jamais rencontrés dans la partie pérenne de *M. laminarioides*, le disque de fixation, on peut se demander en effet si les infections vont affecter la survie des individus. Plusieurs éléments suggèrent néanmoins un possible effet des infections sur la survie des individus. Par exemple, il semblerait que l'arrachage fréquent des frondes dû à la présence de *E. ramosum* puisse changer la physiologie du disque (Gómez & Westermeier, 1991). De même, *Pleurocapsa* sp., en affectant le développement des frondes, pourrait altérer globalement la physiologie de l'individu hôte, y compris de son disque, et donc potentiellement réduire sa survie. La comparaison de la survie entre individus sains et infectés permettra de vérifier cette hypothèse. Si un effet des infections sur la survie des individus hôtes est attendu, on peut se demander quels en seront les conséquences démographiques.

Afin d'estimer les capacités de réponse évolutive de *M. laminarioides* aux pressions de sélections de ses endophytes, il est par ailleurs nécessaire de connaître ce taux de renouvellement des individus dans les populations. La dynamique des populations de *M. laminarioides* est mal connue. Cependant, le fait que cette espèce soit capable de coloniser des substrats variés, incluant des substrats très instables et furtifs comme des troncs d'arbre piégés entre les rochers de la zone intertidale (voir Figure 3.10) suggère un taux de renouvellement rapide. Enfin, nous avons vu que les fréquences relatives d'haploïdes et de diploïdes sont des paramètres importants déterminant la structure démographique des populations d'algues à cycle haploïde-diploïde telles que *M. laminarioides*. Les fréquences relatives d'haploïdes et de diploïdes n'ont été estimées que d'après l'observation de la biomasse de frondes (Hannach & Santelices, 1985; Luxoro & Santelices, 1989). On peut donc se demander quel est le véritable ploïdie-ratio (les proportions d'individus haploïdes et d'individus diploïdes) dans les populations de *M. laminarioides*.



Figure 3.10 : Individus de *M. laminarioides* ayant recruté sur un tronc d'arbre mort.

On peut également se demander quels seraient les effets d'une différence de sensibilité aux endophytes entre les phases haploïde et diploïde sur la structure démographique de *M. laminarioides*. Il a été montré par exemple que l'algue verte *Acrochaete operculata* infecte essentiellement les individus diploïdes de *Chondrus crispus* (Correa & MacLachlan, 1991; Correa & MacLachlan, 1994b). On pourrait donc se demander s'il en est de même pour l'interaction *E. ramosum* – *M. laminarioides* et si cela peut avoir des répercussions sur le ploïdie-ratio dans les populations.

Les objectifs de ce travail étaient donc d'analyser la structure et la dynamique démographique des populations de *M. laminarioides*. Il s'agira également d'examiner plus spécifiquement la survie des individus infectés par rapport aux non-infectés.

3.3.1 Matériel et méthodes

3.3.1.1 Stratégie d'échantillonnage

Afin d'estimer les taux de mortalité et de recrutement des individus de *M. laminarioides* dans les populations naturelles, un suivi démographique a été organisée sur deux années (2000 et 2001). Deux localités ont été retenues pour cette étude : Santo Domingo et Matanzas. Dans chacune, trois parcelles (numérotés de 1 à 3) séparés par environ 25 m ont été choisies de la façon suivante : les parcelles 1 et 2 sont dans une Zone de Basse Infection, et la parcelle 3 est dans la Zone de Haute Infection de *Pleurocapsa* sp. La parcelle de ZHI et une des parcelles de ZBI correspondent aux parcelles d'échantillonnage pour la diversité génétique de *M. laminarioides* : dans la localité de Santo Domingo, la parcelle STDO1 en démographie correspond à STDO1 CD en génétique des populations, STDO3 correspond à STDO1 AB, dans la localité de Matanzas, MAT1 correspond à MAT CD et MAT3 correspond à MAT AB. Les suivis ont été réalisés dans des quadrats de 25 cm de côté positionnés au hasard dans les parcelles. Il ont consisté à cartographier chaque individu de *M. laminarioides* présent à l'intérieur de ces quadrats, en notant la position relative du centre de chaque disque par rapport à deux points de référence (en l'occurrence, les deux angles supérieurs du quadrat).

Du fait de la dominance des individus haploïdes dans les populations de *M. laminarioides* (Luxoro & Santelices, 1989), un minimum de 100 individus a été cartographié et prélevé dans chaque parcelle afin d'obtenir au moins 30 individus haploïdes et 30 individus diploïdes (soit plus de 600 individus cartographiés au total). L'identification du niveau de

ploïdie de chaque individu a été réalisée par un test colorimétrique au résorcinol effectué au laboratoire (Craigie & Leigh, 1978). Un nombre variable de quadrats a ainsi été suivi, dépendant de la densité locale d'individus.

Du fait de la coalescence des disques (Santelices *et al.*, 1999), ce qui est considéré comme un individu peut être en réalité un individu chimérique, composé de deux ou plusieurs génotypes (voir Chapitre 1, section 1.2.2). Le nombre d'individus est donc sous-estimé dans cette expérience. Afin de corriger en partie cette erreur, plusieurs frondes ont été prélevées sur chaque disque et leur niveau de ploïdie a été établi. Les disques présentant des frondes des deux phases étaient alors considérés comme deux individus différents.

Le diamètre du disque, la biomasse des frondes et le niveau d'infection ont été déterminés *in situ*. La biomasse de frondes a été estimée d'après la méthode de (Aberg, 1990) basée sur une mesure du volume de l'ensemble des frondes d'un individu. Cette méthode s'est révélée efficace pour d'autres espèces d'algues ((Aberg, 1990, 1992a, b; Lindgren *et al.*, 1998; Engel *et al.*, 2001)). Le niveau d'infection a été estimé à l'œil nu, selon les critères établis par (Correa & Sanchez, 1996), en attribuant une valeur variant de 0 (individu non-infecté) à 3 (individu très sévèrement infecté). Il s'agit d'une appréciation qualitative estimée visuellement sur les frondes les plus infectées de chaque individu. En ce qui concerne la cyanobactérie *Pleurocapsa* sp., le niveau 1 correspond aux frondes ayant au plus quelques galles ; le niveau 2 correspond aux frondes présentant une densité de galles intermédiaire et ayant conservé leur forme normale (pas de déformation majeur) ; alors que le niveau 3 correspond aux frondes très déformées avec une forte densité de galles. Pour *E. ramosum*, le niveau 1 correspond aux frondes dont la base présente une petite tache verte indiquant une infection peu développée ; le niveau 2 correspond aux frondes dont la base présente une tache étendue (mais ne couvrant pas encore la totalité de la base) ou plusieurs taches vertes, indiquant soit une infection avancée soit plusieurs évènements d'infection ; le niveau 3 correspond aux frondes dont la base est entièrement verte et qui présente des signes évidents de dégradation ou de fracture des tissus.

3.3.1.2 Distribution des endophytes et structure spatiale des populations d'hôtes

Variation spatiale des infections

Afin de vérifier que *Pleurocapsa* sp. est principalement présente dans les ZHI, les fréquences d'infections ont été comparées entre ZBI et ZHI à l'aide d'ANOVA à un facteur (Parcelle, les quadrats étant considérés comme répétitions), en réalisant a posteriori un test de

Dunnnett (Dagnelie, 1975) de comparaisons multiples de moyennes à un témoin (ici la fréquence moyenne d'infection en ZHI).

En ce qui concerne *E. ramosum*, la distribution est considérée homogène. La variabilité spatiale de la fréquence des infections a été analysée à l'aide d'une ANOVA hiérarchisée à deux facteurs (Localité et Parcelles dans les Localités, les quadrats étant considérés comme des répétitions), puisque le dispositif expérimental avait été installé de façon aléatoire vis à vis de cet endophyte.

Effets de la densité d'individus hôtes sur l'incidence des endophytes

L'hypothèse d'une transmission densité-dépendante (par contact ou de proche en proche) a été testée (1) en calculant la corrélation entre le niveau d'infection et la fréquence des infections (en utilisant les quadrats comme répétitions), (2) en calculant les corrélations entre la fréquence (et la sévérité) d'infection avec la densité d'individus hôtes et leur biomasse moyenne, et (3) pour *Pleurocapsa* sp., en comparant la densité et la biomasse moyenne des individus hôtes entre les ZHI et ZBI à l'aide d'une ANOVA à un facteur (Zone, testé *a posteriori* à l'aide du test de Dunnnett). Enfin, la corrélation des distributions des deux endophytes a été calculée sur l'ensemble des parcelles, en utilisant les quadrats comme répétition.

Susceptibilité différentielle des haploïdes et des diploïdes aux endophytes

Afin de tester si la susceptibilité de l'hôte aux deux endophytes varie avec le niveau de ploïdie, la distribution des individus infectés et non-infectés a été comparée, pour chaque endophyte, entre individus haploïdes et diploïdes (test de χ^2 sur tableau de contingence).

Ces résultats seront comparés à ceux présentés dans la première partie de ce chapitre (expérience sur la fertilité de *M. laminarioides*), sur la distribution des densités de galles par fronde. Il est possible d'effectuer la même analyse pour la distribution des infections par *E. ramosum*, dont la présence avait été évaluée sur ces mêmes frondes. Je rappelle ici le modèle de l'ANOVA à 4 facteurs croisés : Zone (ZHI et ZBI), Localité (Santo Domingo et Pucatrihue), Date (les différentes dates d'échantillonnage pour l'examen de la fertilité de *M. laminarioides*, considérées ici comme facteur aléatoire) et Ploïdie (haploïdes et diploïdes). Le nombre de répétitions est insuffisant pour tester l'interaction des 4 facteurs (qui est donc incluse dans le terme d'erreur). Les données ont été transformées en $\text{Asin}(\sqrt{\text{Fréquence}})$.

3.3.1.3 Dynamique des populations d'hôtes

Les taux de mortalité et de recrutement des haploïdes et des diploïdes ont été estimés dans chaque quadrat à partir des effectifs 2000 et 2001 et du nombre de survivants. Les survivants ont été identifiés en superposant les cartographies des deux années et en relevant les disques dont la position et la phase étaient identiques sur les deux cartes.

Sur les 6 parcelles suivies la première année, seules 3 ont pu être évaluées la seconde année car les individus des deux parcelles situées en ZHI, ainsi que la parcelle STDO1 avaient disparu ou n'étaient pas identifiables (voir Résultats). Il n'est donc pas possible d'analyser les effets des infections par *Pleurocapsa* sp. sur la démographie de *M. laminarioides* en se basant sur le suivi démographique des ZHI. La variabilité spatiale (entre les parcelles suivies les deux années) des taux de mortalité et recrutement a néanmoins été testée à l'aide d'une ANOVA à un facteur (Parcelle).

Pour vérifier si les populations de *M. laminarioides* sont proches de l'équilibre démographique, les fréquences observées des individus haploïdes et diploïdes ont été comparées aux fréquences attendues dans les populations d'après la fécondité et la survie des individus de chaque phase. La formule suivante (simplifiée d'après (Destombe *et al.*, 1989) a été appliquée pour calculer la fréquence attendue d'individus haploïdes :

$$P' = (N_H(1 - M_H) + R_H) / (N_T(1 - M_T) + R_T)$$

P' : fréquence attendue des haploïdes à la génération suivante ; N_H : nombre d'individus haploïdes ; M_H : taux de mortalité haploïde ; R_H : nombre d'individus haploïdes ayant recruté ; N_T : nombre total d'individus ; M_T : taux de mortalité totale ; R_T : nombre total d'individus ayant recruté.

3.3.1.4 Influence des endophytes sur la démographie de l'hôte

Pour tester l'influence des endophytes sur la mortalité de *M. laminarioides*, le niveau global d'infection a d'abord été comparé entre les individus ayant survécu et ceux qui sont morts avant le second relevé. Le niveau global d'infection correspond à la moyenne sur les individus de la sévérité des infections en incluant les non-infectés (niveau d'infection 0), ce qui équivaut à une fréquence des infections pondérée par la sévérité. La comparaison s'est faite à l'aide d'une ANOVA à un facteur (l'état survivant ou mort) en utilisant le niveau d'infection de chaque individu comme variable dépendante. D'autre part, les taux de survie et de mortalité ont été comparés entre infectés et non-infectés, pour chaque endophyte, à l'aide de tests exacts de Fisher sur tableaux de contingence.

3.3.2 Résultats

Un total de 639 individus ont été cartographiés la première année (Tableau 3.9). Ils sont répartis dans deux à cinq quadrats dans chaque parcelles, ce qui correspond à une densité moyenne variant fortement entre les parcelles (de 387 à 968 individus/m²). Cette forte variabilité s'exprime principalement entre parcelles à l'intérieur de chaque localité (principalement entre ZBI et ZHI comme nous l'avons vu plus haut), alors que les différences entre localités ne sont pas significatives (Tableau 3.11). Le ploïdie-ratio présente également une variabilité entre parcelles (un quart de la variance est expliquée par ces différences, voir Tableau 3.11). On constate que le ploïdie ratio est majoritairement déséquilibré en faveur de la phase haploïde (on observe de 48 à 93 % d'individus haploïdes en moyenne dans les parcelles, Tableau 3.9). La distribution des infections par *Pleurocapsa* sp. est très variable entre parcelles, avec environ la moitié des individus infectés dans les Zones de Haute Infection, alors que moins de 10 % des individus sont infectés dans les Zones de Basse Infection. En ce qui concerne *E. ramosum*, les infections sont également variables, avec en moyenne de 2 à 35 % des individus qui sont infectés.

Tableau 3.9 : Informations concernant chaque quadrat lors du premier relevé en 2000. Les valeurs pour les parcelles correspondent aux moyennes calculées sur les quadrats. Les niveaux moyens d'infections sont calculés parmi les individus infectés.

Quadrats	N / quadrat	Densité (N. m ⁻²)	Biomasse moyenne par individu (cm ³)	% Haploïdes	<i>Pleurocapsa</i> sp.		<i>E. ramosum</i>	
					Fréquence	Niveau moyen	Fréquence	Niveau moyen
STDO1a	44	704	5.28 ± 1.27	72.7	0.023	1.0 ± 0.0	0.068	1.0 ± 0.0
STDO1b	51	816	4.76 ± 1.26	70.6	0.000		0.000	
STDO1c	17	272	18.61 ± 7.75	35.3	0.294	1.6 ± 0.40	0.000	
Moyenne STDO1		597.33 ± 165.85	9.55 ± 4.53	59.53 ± 12.13	0.106 ± 0.094	1.300 ± 0.245	0.023 ± 0.023	1.0 ± 0
STDO2a	38	608	10.02 ± 3.07	86.5	0.211	1.125 ± 0.158	0.132	1.80 ± 0.20
STDO2b	16	256	40.65 ± 20.44	100	0.125	1.0 ± 0.0	0.000	
STDO2c	12	192	105.56 ± 36.41	91.7	0.000		0.083	3.0 ± 0.0
STDO2d	45	720	9.83 ± 5.34	87.5	0.067	1.0 ± 0.0	0.022	3.0 ± 0.0
STDO2e	10	160	60.54 ± 19.78	100	0.200	1.0 ± 1.0	0.100	2.0 ± 0.0
Moyenne STDO2		387 ± 115.42	45.32 ± 17.87	93.14 ± 2.93	0.121 ± 0.040	1.031 ± 0.028	0.067 ± 0.025	2.45 ± 0.286
STDO3a	29	464	19.98 ± 8.41	92.9	0.483	2.36 ± 0.248	0.345	2.30 ± 0.213
STDO3b	50	800	7.88 ± 3.76	73.3	0.680	2.32 ± 0.113	0.360	2.67 ± 0.162
Moyenne STDO3		632 ± 168	13.93 ± 6.05	83.10 ± 9.80	0.582 ± 0.990	2.340 ± 0.002	0.353 ± 0.008	2.485 ± 0.185
Moyenne STDO		499 ± 83	28.31 ± 10.27	81.05 ± 6.12	0.208 ± 0.071	1.426 ± 0.190	0.111 ± 0.043	2.253 ± 0.228
MAT1a	39	624	6.32 ± 2.47	52.2	0.000	2.0 ± 0.0	0.462	2.39 ± 0.200
MAT1b	31	496	5.17 ± 1.72	64.7	0.000		0.065	1.50 ± 0.50
MAT1c	24	384	5.58 ± 1.25	62.5	0.000		0.042	2.0 ± 0.0
Moyenne MAT1		501.33 ± 69.33	5.69 ± 0.34	59.80 ± 3.85	0.009 ± 0.009	2.0 ± 0	0.190 ± 0.136	1.96 ± 0.260
MAT2a	37	592	0.89 ± 0.24	56.8	0.027	1.0 ± 0.0	0.378	2.79 ± 0.114
MAT2b	26	416	2.49 ± 0.66	46.2	0.000		0.577	2.73 ± 0.118
MAT2c	20	320	2.27 ± 0.36	80.0	0.000		0.000	
MAT2d	29	464	1.57 ± 0.44	60.0	0.000		0.000	
Moyenne MAT2		448 ± 56.57	1.80 ± 0.36	60.75 ± 7.06	0.007 ± 0.007	1.0 ± 0	0.239 ± 0.144	2.76 ± 0.02
MAT3a	54	864	1.22 ± 0.32	56.4	0.444	1.91 ± 0.129	0.000	
MAT3b	67	1072	2.67 ± 0.49	39.1	0.493	1.16 ± 0.067	0.373	2.17 ± 0.162
Moyenne MAT3		968 ± 104	1.95 ± 0.73	47.75 ± 8.65	0.469 ± 0.025	1.535 ± 0.375	0.187 ± 0.187	2.17 ± 0
Moyenne MAT		581 ± 77	3.13 ± 0.64	57.54 ± 3.68	0.107 ± 0.065	1.518 ± 0.162	0.211 ± 0.074	2.263 ± 0.153

Tableau 3.10 : Informations concernant chaque quadrat lors du second relevé en 2001. Les valeurs pour les parcelles correspondent aux moyennes calculées sur les quadrats. * les individus de STDO2 étaient réduits à leur disque (pas de fronde).

Quadrats	N / quadrat	Densité (N. m ⁻²)	Biomasse moyenne par individu (cm ³)	% Haploïdes	<i>Pleurocapsa</i> sp.		<i>E. ramosum</i>	
					Fréquence	Niveau moyen	Fréquence	Niveau moyen
STDO1a*	28*	448*						
STDO1b*	1*	16*						
STDO1c*	5*	80*						
Moyenne STDO1*		176 ± 136.7						
STDO2a	20	320	78.25 ± 27.68	94.74	0.37	1.43 ± 0.30	0.37	2.86 ± 0.14
STDO2b	7	112	268.68 ± 111.46	100	0.29	1.00 ± 0	0.14	2.00 ± 0
STDO2c	9	144	287.81 ± 80.07	77.78	0.33	1.67 ± 0.33	0.22	2.00 ± 0
STDO2d	40	640	14.90 ± 7.09	95.00	0.30	1.43 ± 0.25	0.00	
STDO2e	13	208	91.22 ± 39.30	92.86	0.27	1.00 ± 0	0.00	
Moyenne STDO2		288 ± 94.7	148.17 ± 54.73	92.07 ± 3.76	0.311 ± 0.018	1.306 ± 0.132	0.147 ± 0.070	2.287 ± 0.222
MAT1a	22	352	1.10 ± 0.36	81.82	0.00		0.00	
MAT1b	21	336	1.69 ± 0.87	80.95	0.24	2.8 ± 2.2	0.24	2.80 ± 0.20
MAT1c	60	960	3.27 ± 1.04	43.33	0.00		0.27	2.19 ± 0.14
Moyenne MAT1		549 ± 205.4	2.02 ± 0.65	68.70 ± 12.69	0.08 ± 0.08	2.8 ± 2.2	0.17 ± 0.085	2.495 ± 0.305
MAT2a	46	736	2.83 ± 0.75	71.74	0.00		0.02	1.00 ± 0
MAT2b	29	464	15.02 ± 5.02	79.31	0.07	1.00 ± 0	0.03	2.00 ± 0
MAT2c	24	384	4.20 ± 1.61	62.50	0.00		0.04	2.00 ± 0
MAT2d	40	640	12.76 ± 3.31	56.10	0.00		0.02	2.00 ± 0
Moyenne MAT2		560 ± 81.8	8.70 ± 3.04	67.14 ± 5.10	0.017 ± 0.017	1 ± 0	0.031 ± 0.005	1.75 ± 0.25



Figure 3.11 : Aspects de la Zone de Haute Infection de Santo Domingo lors du second suivi démographique (février 2001). On peut voir que la perte de biomasse s'est accompagnée d'une dégradation importante des diques de *M. laminarioides* (en bas à gauche).

Tableau 3.11 : Analyses de la variation spatiale des principales caractéristiques démographiques (moyennes sur l'ensemble des individus dans les quadrats dans chaque parcelle) obtenues lors de la première cartographie (année 2000). Biomasse : biomasse moyenne par individu (données transformées en log).

	d.d.l.	Carrés Moyens	% Variance expliquée	<i>F</i>	<i>p</i>
Densité					
Localité	1	42746.76	0	0.34	0.588
Plot(Localité)	4	129053.87	38.93	2.91	0.064
Erreur	13	44369.40			
Biomasse					
Localité	1	12.5204	63.44	7.92	0.046
Plot(Localité)	4	1.6396	14.50	2.97	0.061
Erreur	13	0.5524			
% Haploïdes					
Localité	1	2150.859	40.28	3.77	0.122
Plot(Localité)	4	594.093	28.34	3.71	0.032
Erreur	13	160.338			

Le fait majeur concernant la situation au second relevé (en 2001) est la perte quasi-totale de biomasse dans trois parcelles (sur les six cartographiés la première année), dont les deux parcelles situés en Zone de Haute Infection (Tableau 3.10). Dans les deux parcelles de ZHI, la biomasse n'avait pas complètement disparue, mais seuls de petits axes émergeant des disques étaient observables. La Figure 3.10 illustre le dépeuplement de la ZHI de Santo Domingo. L'identification de *M. laminarioides* restait très difficile du fait de sa similitude morphologique avec l'algue rouge *Notogenia fastigiata* présente dans les quadrats. De plus, la position des disques étaient difficilement estimable du fait de la présence de cette autre espèce, ainsi que de la présence de sédiments et de sable (voir Figure 3.11). Les disques visibles à Santo Domingo semblaient néanmoins très fragmentés et fortement dégradés. Dans la parcelle STDO1, seuls des disques étaient observables, ce qui rendait l'identification de *M. laminarioides* est très incertaine. Les données de cartographie obtenues dans cette parcelle ne sont donc pas prises en compte pour les analyses. Néanmoins, la mortalité y fut apparemment très importante car le nombre de disques observés lors de la seconde cartographie était très faible (Tableau 3.10).

A Santo Domingo, seul le parcelle STDO2 a put être cartographié la seconde année. La densité d'individus est en moyenne de 95 individus/m², et le pourcentage d'individus haploïdes est resté inchangé (plus de 90 %, voir Tableau 3.10). Dans les deux parcelles cartographiées en 2001 à Matanzas, la densité moyenne d'individus est environ de 550-560

individus/m². Le pourcentage d'individus haploïdes a légèrement augmenté et se situe autour de 68 %. Les infections par *Pleurocapsa* sp. restent rares dans deux parcelles, mais dépassent 30 % à STDO2. Les infections par *E. ramosum* sont plus rares qu'en 2000, et touchent moins de 20 % des individus.

3.3.2.1 Distribution des endophytes et structure spatiale des populations d'hôtes

Variation spatiale des infections

La distribution des infections par *Pleurocapsa* sp. montre pour la première année (2000) que les individus de ZBI sont 5 fois moins infectés que ceux de ZHI à STDO ($F_{2,7} = 5.54$; $p = 0.036$), et près de 50 fois moins à Matanzas ($F_{2,7} = 115.40$; $p < 10^{-3}$, voir Tableau 3.9). Les tests de comparaison de moyennes de Dunnett montrent que, dans chaque localité, la fréquence des infections est toujours inférieure dans les ZBI par rapport aux ZHI. La distribution des infections par *E. ramosum* est homogène sur l'ensemble des parcelles étudiés, et entre les deux localités (Tableau 3.12). Le test de Dunnett indique qu'il n'y a généralement pas de différence dans les fréquences d'infections entre ZHI et ZBI (sauf à Santo Domingo où STDO1 (ZBI) < STDO3 (ZHI) : $F_{2,7} = 3.58$; $p = 0.085$).

Pour *Pleurocapsa* sp., on observe une corrélation positive entre la fréquence des infections et leur sévérité ($r = 0.626$, $p = 0.029$). Notons que la distribution des infections par *Pleurocapsa* sp. est stable dans le temps puisqu'on observe une forte corrélation pour la fréquence des infections entre les deux années ($r = 0.728$, $p = 0.007$). Néanmoins, seules les données de parcelles situés dans des ZBI sont considérées dans ces derniers résultats. Par contre, la corrélation entre fréquence et sévérité des infections n'est pas significative pour *E. ramosum*. Et la fréquence des infections varie d'une année à l'autre puisqu'on n'observe pas de corrélation entre les deux années de suivi démographique ($r = -0.315$, $p = 0.319$).

Les distributions des deux endophytes ne sont pas corrélées, que ce soit pour la fréquence ($r = 0.236$, $p = 0.330$) ou pour la sévérité des infections ($r = 0.260$, $p = 0.499$).

Effets de la densité d'individus hôtes sur l'incidence de Pleurocapsa sp.

La corrélation de la fréquence des infections avec la densité d'individus n'est pas significative ($r = 0.405$, $p = 0.086$), ainsi que pour la sévérité ($r = 0.155$, $p = 0.630$). La biomasse moyenne des individus n'est pas non plus corrélée significativement à la fréquence ($r = -0.075$, $p = 0.759$) ni à la sévérité des infections ($r = -0.266$, $p = 0.403$). La densité d'individus n'est pas différente entre parcelles à Santo Domingo ($F_{2,7} = 0.91$; $p = 0.445$),

alors qu'elle l'est à Matanzas ($F_{2,6} = 13.14$; $p = 0.006$). Le test de Dunnett indique que dans ce dernier cas, la densité est plus forte dans la ZHI que dans les ZBI.

3.3.2.2 Susceptibilité différentielle des haploïdes et des diploïdes aux endophytes

Résultats sur les données de démographie de M. laminarioides

La comparaison des fréquences d'infections par *Pleurocapsa* sp. entre individus haploïdes et diploïdes dans les quadrats cartographiés (tous les quadrats des deux localités) montre une tendance à une plus fréquente infections parmi les haploïdes (23 % d'haploïdes infectés contre 16.5 % de diploïdes, $\chi^2 = 3.692$, $p = 0.055$). Cette tendance n'est pas retrouvée lorsqu'on reproduit l'analyse dans chaque localité ($\chi^2 = 1.96$, $p = 0.161$ à Santo Domingo, et $\chi^2 = 1.688$, $p = 0.194$ à Matanzas).

La comparaison des fréquences d'infections par *E. ramosum* entre individus haploïdes (14.3 % sont infectés) et diploïdes (22.9 % d'infectés) dans les quadrats cartographiés (tous les quadrats des deux localités) montre une différence très significative ($\chi^2 = 7.705$, $p = 0.006$ pour l'ensemble des individus). La même tendance est retrouvée à Matanzas ($\chi^2 = 7.031$, $p = 0.008$), mais n'est plus significative à Santo Domingo ($\chi^2 = 0.222$, $p = 0.637$).

Résultats sur les données de l'expérience sur la fertilité de M. laminarioides

L'analyse de variance sur la densité de galles des frondes les plus matures des ZHI et des ZBI montre que le facteur Ploïdie n'a pas d'effet significatif, tout comme l'interaction de celui-ci avec les autres facteurs du modèle (Tableau 3.2A).

L'analyse de variance sur les fréquences des infections par *E. ramosum* parmi les frondes les plus matures des ZBI et ZHI indique qu'il n'y pas de différences, en moyenne, entre haploïdes et diploïdes (Tableau 3.12). En revanche, lorsqu'on compare ces fréquences dans chaque

Tableau 3.12 : Analyses de la variation spatiale de la fréquence et de la sévérité des infections par *E. ramosum* estimées lors de la première cartographie de chaque parcelle (Haute et Basse Infection).

	d.d.l.	Carrés Moyens	F	P
Fréquence				
Localité	1	0.0138	0.35	0.583
Parcelle(Localité)	4	0.0396	1.16	0.373
Erreur	13	0.0341		
Sévérité				
Localité	1	0.2563	0.43	0.546
Parcelle(Localité)	2	0.6512	2.68	0.120
Erreur	6	0.2426		

Tableau 3.13 : Taux de mortalité et de recrutement des haploïdes, des diploïdes et du total des individus pour chaque quadrat. Pour les parcelles, les valeurs ont été calculées en regroupant les individus des différents quadrats en un seul groupe. * Seuls des disques étaient observables en 2001.

Quadrats	N 2000			Taux de Mortalité			N 2001			Taux de Recrutement		
	Haploïdes	Diploïdes	Total	Haploïdes	Diploïdes	Total	Haploïdes	Diploïdes	Total	Haploïdes	Diploïdes	Total
STDO1a	32	12	44	0.875*	0.833*	0.886*			28*			
STDO1b	36	15	51	1.0*	1.0*	1.0*			1*			
STDO1c	6	11	17	1.0*	0.909*	0.941*			5*			
Total	74	38	112						34*			
STDO1												
STDO2a	33	5	38	0.545	0.600	0.553	18	2	20	0.167	0.000	0.150
STDO2b	16	0	16	0.750		0.750	7	0	7	0.429		0.429
STDO2c	10	2	12	0.300	0.500	0.333	7	2	9	0.000	0.500	0.111
STDO2d	39	6	45	0.615	1.000	0.667	38	2	40	0.605	1.000	0.625
STDO2e	9	1	10	0.667	1.000	0.700	12	1	13	0.750	1.000	0.769
Total	107	14	121	0.589	0.786	0.612	82	7	89	0.463	0.571	0.472
STDO2												
MAT1a	20	19	39	0.800	0.947	0.872	18	4	22	0.778	0.750	0.773
MAT1b	19	12	31	0.789	0.833	0.807	17	4	21	0.765	0.500	0.714
MAT1c	15	9	24	0.600	0.778	0.667	26	34	60	0.769	0.941	0.867
Total MAT1	54	16	94	0.741	0.875	0.798	61	42	103	0.770	0.881	0.816
MAT2a	21	16	37	0.762	0.938	0.838	34	12	46	0.853	0.917	0.870
MAT2b	12	14	26	0.500	0.929	0.731	23	6	29	0.739	0.833	0.759
MAT2c	16	4	20	0.688	0.750	0.700	15	9	24	0.667	0.889	0.750
MAT2d	18	11	29	0.778	0.636	0.724	23	17	50	0.826	0.765	0.800
Total MAT2	67	45	112	0.701	0.844	0.759	95	44	139	0.789	0.841	0.806

localité, on observe que les haploïdes sont plus fréquemment infectés que les diploïdes à Santo Domingo (19.0 % des haploïdes et 11.3 % des diploïdes), alors que c'est le contraire à Pucatrihue (15.0 % pour les haploïdes et 20.1 % pour les diploïdes). Ce résultat explique la forte interaction Localité*Ploïdie (Tableau 3.12).

3.3.2.3 Dynamique des populations d'hôtes

Le taux de mortalité dans les trois parcelles pour lesquelles le suivi a pu être réalisé les deux années varie de 61 % à 80 % (Tableau 3.13). Ces différences entre parcelles sont significatives ($F_{1,10} = 5.26$, $p = 0.045$) et sont essentiellement le fait d'un plus faible taux de mortalité à STDO2 que dans les deux parcelles de Matanzas. On remarque que le taux moyen de mortalité est plus faible ($T_{19ddl} = -2138$, $p = 0.014$) chez les haploïdes (0.650 ± 0.043) que chez les diploïdes (0.810 ± 0.052).

Le taux de recrutement est encore plus variable ($F_{1,10} = 11.52$, $p = 0.007$) : il est deux fois plus faible à Santo Domingo qu'à Matanzas (Tableau 3.13). En revanche, le taux moyen de recrutement est sensiblement identique chez les diploïdes (0.736 ± 0.091) et les haploïdes (0.612 ± 0.079 , $T_{20ddl} = -1.03$, $p = 0.32$).

On constate, comme attendu que la biomasse moyenne des recrues ($17.08 \text{ cm}^3 \pm 4.97$) est inférieure à celle des survivants ($67.20 \text{ cm}^3 \pm 13.72$, $F_{1,332} = 51.81$, $p < 10^{-3}$).

Les fréquences observées d'haploïdes sont très proches de celles estimées d'après les taux vitaux (Tableau 3.14). On observe d'ailleurs une corrélation positive entre le pourcentage d'haploïdes la première année et celui de la seconde année ($r = 0.545$, $p = 0.067$).

Tableau 3.14 : Comparaison des fréquences d'haploïdes observées et attendues à l'équilibre démographique, d'après les taux de survie et de recrutement, dans chaque parcelle.

Plot	Fréquence observée	Fréquence attendue
STDO2	0.921	0.921
MAT1	0.592	0.622
MAT2	0.683	0.696

3.3.2.4 Influence des endophytes sur la survie des hôtes

Pour l'ensemble des individus, le niveau d'infection par *Pleurocapsa* sp. est sensiblement différent entre ceux qui ont survécu et ceux qui sont morts ($F_{1,331} = 3.46$, $p = 0.064$) : 0.033 ± 0.014 pour ceux qui sont morts, et 0.088 ± 0.285 pour ceux qui ont

survécut. Le test exact de Fisher sur les fréquences des survivants et des morts parmi les infectés et les non-infectés montrent que la survie des infectés (57.1 %) est significativement plus forte ($p = 0.026$) que celle des non-infectés (26.0 %). On remarque que si ces différences sont significatives, elles sont basées seulement sur 14 individus infectés contre 319 non-infectés (et cette tendance n'est pas retrouvée lorsqu'on réalise ce même test séparément dans les localités).

Le niveau d'infection par *E. ramosum* n'est pas significativement différent entre les individus qui sont morts et ceux qui ont survécu ($F_{1,331} = 0.71$, $p = 0.399$) : 0.417 ± 0.063 pour ceux qui sont morts, et 0.319 ± 0.092 pour ceux qui ont survécu. Le test exact sur les fréquences des survivants et des morts parmi les infectés et les non-infectés ne montrent pas de différences significatives ($p = 0.277$).

3.3.3 Discussion

3.3.3.1 Distribution des endophytes

En général, la densité de la population d'hôtes est positivement corrélée avec le niveau d'infection, que l'agent infectieux soit transmis directement ou par l'intermédiaire d'un vecteur (Burdon *et al.*, 1989; Thrall & Jarosz, 1994; Thrall *et al.*, 1995; Bucheli & Shykoff, 1999). Dans le cas présent, on n'observe pas cette corrélation. L'hypothèse selon laquelle la transmission de *Pleurocapsa* sp. se faisait de proche en proche, ou par contact, n'est donc pas vérifié par les observations de terrain.

En ce qui concerne la susceptibilité différentielle des haploïdes et des diploïdes, on constate que *Pleurocapsa* sp. infecte indifféremment les individus des deux phases. Pour *E. ramosum*, on n'observe pas de tendance claire, et il semble que la susceptibilité d'une phase ou l'autre dépende de la localité dans laquelle sont réalisées les observations. Ces résultats concordent avec les tests de spécificité d'hôte déjà publiés (Sanchez *et al.*, 1996) qui montraient que certaines souches d'*E. ramosum* étaient capables d'infecter les haploïdes seulement alors que d'autres n'infectaient que les diploïdes ou les deux phases indifféremment. Cette situation est différente de l'interaction entre *Chondrus crispus* et *Acrochaete operculata*, lequel infecte préférentiellement les diploïdes et ne parvient pas à se développer dans les hôtes haploïdes (Correa & MacLachlan, 1991). En revanche, on retrouve la même tendance pour *A. heteroclada* qui infecte indifféremment les deux phases de *C. crispus* (Correa & MacLachlan, 1991). Néanmoins, le fait que les endophytes infectent indifféremment les individus des deux phases ne signifie pas que les effets des infections

seront les mêmes. L'influence des infections sur la valeur sélective relative des haploïdes et des diploïdes sera évoquée dans la troisième partie de ce chapitre.

3.3.3.2 Dynamique des populations

Stochasticité démographique pour certaines populations...

L'observation majeur au cours de cette étude démographique aura donc été la perte massive de biomasse dans 3 des 6 parcelles analysés. Il est difficile de dire à quel point cela s'est accompagnée d'une mortalité importante. En effet, il était impossible d'identifier avec certitude les individus de *M. laminarioides* puisque seules des disques étaient observables à STDO1 et que, au contraire, les disques étaient difficilement discernables dans les ZHI. Néanmoins, lorsque ceux-ci étaient observables, ils montraient des signes évident d'une dégradation importante, laissant supposer que la régénération d'un individu était peu probable pour une grande majorité d'entre eux. Il a été suggéré que même des fragments microscopiques de disques partiellement dégradés (et pouvant former une banque de formes microscopiques couvrant le substrat) pouvaient régénérer des individus macroscopiques (Hoffmann & Santelices, 1991; Santelices *et al.*, 1995). Néanmoins, des observations personnelles effectuées à Santo Domingo durant les 5 mois qui ont suivi la seconde cartographie n'ont pas révélé de production de nouveaux individus. Il semble donc qu'une mortalité massive ait effectivement affecté ces parcelles.

Il est remarquable que les deux ZHI cartographiées aient atteint le même niveau de dégradation. Sans pouvoir dire si ce type d'événement est récurrent, mes observations personnelles m'ont permis de constater une mortalité totale dans une autre ZHI de la localité de Matanzas. Cette population avait été repérée lors des prospections effectuées au début de mes travaux de thèse, et avait totalement disparue dès la première année, suite à un ensablement qui avait duré plusieurs mois. Des observations similaires ont été effectuées dans une des ZHI de Topocalma-Milieu, mais avec une réapparition rapide de biomasse. De telles dévastations affectent-elles les ZBI ? Les résultats des observations dans la parcelle STDO1 indique que c'est effectivement possible. On peut dès lors se demander si les infections ont eut un effet quelconque sur ce dépeuplement, ou, au contraire, si la distribution des infections n'est pas liée justement à l'instabilité de ces populations. Pour répondre à cette question, il est important de poursuivre le suivi démographique de ces zones afin de connaître les capacités de recolonisation d'une part, et d'estimer la dynamique démographique sans ces événements catastrophiques.

Les études ayant traité de l'influence de la stochasticité environnementale sur la démographie de populations d'algues ont montré que celles-ci pouvaient retrouver très rapidement leur effectif initial après une perturbation (Aberg, 1992b; Trowbridge, 1996). Ainsi, l'algue verte *Codium stchellii*, qui peut subir une mortalité importante due à l'abrasion par le sable, est capable de reconstituer rapidement une population grâce au recrutement massif à partir des fragments de thalles survivants (Trowbridge, 1996). L'algue brune *Ascophyllum nodosum*, une espèce pérenne à longue durée de vie, et pour laquelle un taux de renouvellement des populations est relativement rapide (Aberg, 1992b), peut subir localement une forte mortalité liée à l'apparition de glace en hiver (Aberg, 1992a). Chez cette espèce, il semble que le recrutement soit dépendant de la disponibilité du substrat, et il est plus grand dans les populations perturbées que dans les populations stables (Aberg & Pavia, 1997). Chez *M. laminarioides*, le taux de recrutement semble très élevé dans les quadrats non-perturbés, et on peut se demander s'il sera différent dans les zones perturbées où le substrat semble disponible pour la recolonisation. La poursuite des suivis démographiques permettra de comparer la dynamique démographique dans les deux types de sites (perturbés et stables).

Stabilité démographique pour d'autres

L'analyse des taux de mortalité et de recrutement estimés dans les parcelles qui n'ont pas été affectés par la dévastation indique un taux de renouvellement relativement rapide, avec 60 à 80 % des individus qui ont été remplacés d'une année à l'autre. Si *M. laminarioides* est fonctionnellement une espèce pérenne par son disque de fixation, qui possède une durée de vie potentiellement illimitée, ces résultats suggèrent néanmoins une durée de vie courte. Le recrutement est donc efficace et fréquent puisqu'il permet de maintenir, voir d'augmenter (à Matanzas) la densité d'individus.

Par ailleurs, dans ces parcelles, le ploïdie-ratio semble stable puisqu'il que la fréquence d'individus haploïdes varie peu entre les deux suivis et qu'elle est très proche de celle attendue à l'équilibre d'après les taux de mortalité et de recrutement. Ce résultat suggère une structure démographique relativement stable, avec un ploïdie-ratio en faveur de la phase haploïde. Chez les Gigartinales, il est fréquent d'observer un déséquilibre de phase, avec un rapport haploïdes/diploïdes généralement proche de 3/1 (Craigie & Pringle, 1978; Bhattacharya, 1985; Dyck *et al.*, 1985; Hannach & Santelices, 1985; Hannach & Waaland, 1986; May, 1986; Luxoro & Santelices, 1989; Scrosati *et al.*, 1994). Néanmoins, ces proportions peuvent être très variables dans l'espace et dans le temps (Lazo *et al.*, 1989; Luxoro & Santelices, 1989; Ang *et al.*, 1990). Bien que la plupart des études ayant décrit ce ploïdie-ratio étaient

basées sur un échantillonnage aléatoire de frondes et non sur un échantillonnage exhaustif des individus, la dominance de la phase haploïde est généralement admise. Dans la présente étude, le ploïdie-ratio a été calculé à partir du comptage exhaustif des individus et confirme la tendance générale à une dominance de la phase haploïde.

Différents paramètres démographiques, selon l'espèce, permettent d'expliquer la dominance de la phase haploïde. Par exemple, chez *Iridaea cordata*, il semble que des différences de survie des spores et des juvéniles (c'est-à-dire, le taux de recrutement) soient la principale cause de la dominance de la phase haploïde (May, 1986). Chez une espèce voisine, *Mazzaella splendens* (en tant que *Iridaea splendens*, (Ang *et al.*, 1990), l'alternance des phases au cours de l'année - avec une dominance des haploïdes en été et une dominance des diploïdes en hiver - est plutôt expliquée par les différences dans le taux de survie. Chez *Gelidium sesquipedale*, bien que les fréquences relatives de chaque phase ne soient pas précisément connues (il n'existe pas de méthode pour différencier les haploïdes des diploïdes parmi les individus immatures), la dominance des frondes femelles fécondées est attribuée à une fertilité plus grande des sporophytes (en particulier la capacité de recrutement des tétraspores, Santos & Duarte, 1996; Santos & Nyman, 1998). Dans le cas de *Gracilaria gracilis*, les observations ont montré que les fréquences des haploïdes et des diploïdes étaient généralement équilibrées, et que les taux de mortalité et de recrutement étaient similaires pour les deux phases (Destombe *et al.*, 1989; Engel-Palmiter, 2000; Engel *et al.*, 2001).

Chez *M. laminarioides*, les observations de terrain ont montré que le taux de mortalité est plus grand parmi les diploïdes, alors que le recrutement est similaire pour les deux phases. Ce résultat concorde avec l'estimation de la fertilité effectuée dans la première partie de ce chapitre (Tableau 3.8) qui ne montre pas de différences entre haploïdes et diploïdes. Il semble donc que, pour une espèce à fort taux de renouvellement démographique (comme pour *M. splendens*, Ang *et al.*, 1990), le paramètre important dans la structure démographique soit la survie adulte, alors que pour les espèces à dynamique démographique plus lente comme *I. cordata* (May, 1986) ou *G. sesquipedale* (Santos & Duarte, 1996; Santos & Nyman, 1998), ce soit plutôt la fertilité qui varie entre niveau de ploïdie et explique la dominance de la phase haploïde.

3.3.3.3 Effets des infections sur la survie des individus de *M. laminarioides*

L'impossibilité de réaliser un second suivi démographique dans les ZHI rend difficile une estimation des effets des infections par *Pleurocapsa* sp. sur survie des individus de *M. laminarioides*. En se basant sur les quelques individus infectés en 2000 dans les 3 ZBI qui ont

été suivies les deux années, on constate que les individus infectés ont un taux de survie plus grand que les individus sains. Mais ces observations sont basées sur un effectif très faible d'individus infectés, ce qui impose de considérer ce résultat avec précaution. Par ailleurs, le suivi des populations naturelles pose certaines complications, comme le fait que d'autres espèces d'endophytes peuvent être présentes simultanément chez un même hôte. Néanmoins, un effet positif de *Pleurocapsa* sp. sur la survie de son hôte théoriquement possible. En effet, la grande majorité des cyanobactéries symbiotiques fixent l'azote atmosphérique (Rai, 1990; Bergman *et al.*, 1992). La capacité de fixation de l'azote est connue chez les cyanobactéries du genre *Pleurocapsa*. Certaines souches de *Pleurocapsa* sp. de la collection de l'institut Pasteur (Pasteur Culture Collection, <http://www.pasteur.fr/recherche/banques/PCC>) possèdent cette capacité (PCC 7314 et PCC 7516) alors que d'autres (PCC 7319 par exemple) ne la possèdent pas. La capacité à fixer de l'azote chez les souches de isolées à partir de *M. laminarioides* n'a jamais été évaluée. Si *Pleurocapsa* sp. fixe de l'azote atmosphérique dans les frondes, celui-ci pourrait être transporté jusqu'au disque par translocation¹⁶ (Lobban & Harrison, 1994), et donc favoriser la survie de l'individu.

En ce qui concerne *E. ramosum*, il est apparaît que les infections n'ont aucun effet sur la survie des individus hôtes adultes. La fréquence d'arrachage, si elle peut être augmentée suite aux infections (Buschmann *et al.*, 1997), n'est pas suffisante pour affecter la physiologie du disque.

3.3.4 Conclusions de la deuxième partie

L'étude présentée ci-dessus apporte deux informations essentielles. La première est que la dynamique des populations de *M. laminarioides* semble relativement rapide, avec un renouvellement annuel de plus des deux tiers des individus. La mortalité affecte d'avantage les diploïdes, alors que le recrutement est similaire pour les deux phases. Cette différence semble être à l'origine du déséquilibre des phases en faveur des haploïdes. La seconde information importante est que les populations, et en particulier celles situées dans des Zones de Haute Infection, sont susceptibles de subir des goulots d'étranglement démographiques. Ces événements pourraient expliquer (en partie au moins) les effets de fondation détectés dans le chapitre 2. La perte quasi totale de biomasse dans les Zones de Haute Infection aura eut également comme conséquence l'extinction quasi-totale de la population d'endophytes. On

¹⁶ La translocation de carbone ou d'autres nutriments et minéraux a été démontrée chez diverses espèces d'algues brunes (voir Lobban & Harrison, 1994), et est théoriquement possible chez les algues rouges par l'intermédiaires de pores spéciaux, les « pit plugs » (Pueschel, 1989).

peut donc s'attendre à ce que la dérive génétique ait un fort effet sur la composition génétique des populations d'endophytes. La conséquence éventuelle de ces événements catastrophiques sur le processus de coévolution devrait tendre à réduire les possibilités d'adaptation locale entre endophytes et hôtes. Cette perspective sera développée d'avantage dans la discussion générale de ce chapitre.

D'autre part, il apparaît que les infections affectent peu ou prou la survie de *M. laminarioides*. Néanmoins, cette réponse reste partielle puisque l'effet des infections par *Pleurocapsa* sp. n'a pu être testé correctement du fait de la dévastation des deux Zones de Haute Infections cartographiées.

3.4 Effets des infections sur la valeur sélective de *M. laminarioides* et conséquences démographiques

3.4.1 Estimation de la valeur sélective

En utilisant une définition classique de la valeur sélective, le produit de la fécondité par la survie, il est possible d'obtenir une estimation moyenne pour chaque catégorie d'individus (provenant d'une ZBI, d'une ZHI ou bien ZHI-IS). La fécondité (F) est tirée des données obtenues dans l'expérience sur la fertilité de *M. laminarioides*. Pour la survie (S), cela est plus compliqué car les individus n'ont pas été suivis depuis la libération des spores jusqu'à la maturité. Nous disposons néanmoins de deux estimations complémentaires de la survie des individus. La première a été obtenue dans l'expérience sur la fertilité et concerne la proportion de spores libérées ayant atteint le stade juvénile à 3 semaines de vie. La seconde correspond simplement au taux moyen de survie dans les parcelles, estimé par le suivi démographique. Je présenterai une première estimation de la valeur sélective w en ne prenant en compte que les valeurs de survie juvénile car elle permettra de comparer entre ZBI, ZHI et ZHI-IS. Par la suite, je compléterai cette estimation par la survie adulte estimée dans les quadrats de démographie à Santo Domingo. Néanmoins, du fait de la mortalité ayant affecté la ZHI, ces valeurs de survie ne sont disponibles que pour la ZBI (correspondant à la parcelle STDO2 en démographie).

Les valeurs sélectives obtenues d'après la fécondité et la survie des juvéniles sont environ 1.5 à 2 fois plus fortes dans les ZBI que dans les ZHI (Tableau 3.15). Elles sont 10 à 50 fois

Tableau 3.15 : Comparaison des différents paramètres de la fertilité des haploïdes et des diploïdes. F_H et F_D : fécondité (nombre de spores libérées en moyenne par une fronde haploïde et diploïde respectivement). S_H et S_D : taux de survie des juvéniles haploïdes et diploïdes respectivement. w : valeur sélective.

	Santo Domingo			Pucatrihue		
	ZBI	ZHI	ZHI-IS	ZBI	ZHI	ZHI-IS
F_H	14221	7700	767	9640	5232	2676
S_H	0.0897	0.1074	0.1057	0.6147	0.5287	0.1100
F_D	8911	8126	2510	13100	6639	5108
S_D	0.1660	0.1444	0.0211	0.5759	0.6837	0.0329
$w_H = F_H \cdot S_H$	1276	827	81	5926	2766	294
$w_D = F_D \cdot S_D$	1479	1173	53	7544	4539	168

plus grandes que celles estimées pour les plus sévèrement infectés (ZHI-IS). Ces résultats soulignent l'importance l'effet négatif des infections par *Pleurocapsa* sp. sur la valeur sélective des individus hôtes.

On remarque également que les valeurs sélectives sont plus grandes pour les individus diploïdes que pour les individus haploïdes (Tableau 3.15). Cependant, ce rapport s'inverse parmi les individus les plus sévèrement infectés, et ce sont alors les haploïdes qui ont la meilleur valeur sélective. Ces différences de sensibilité aux infections de *Pleurocapsa* sp. peuvent paraître surprenantes puisque nous avons vu que les deux phases sont également susceptibles d'être infectées. On savait déjà qu'il existe des différences structurales entre les deux phase concernant la composition en polysaccharides des paroi cellulaires (Waaland, 1975), à l'origine d'une différence de susceptibilité des deux phase de *C. crispus* à l'endophyte *A. operculata* (Bouarab *et al.*, 1999). Ce résultat suggère que des différences physiologiques existent entre les deux phases de *M. laminarioides*, et supporte donc l'hypothèse selon laquelle les effets pathogènes de *Pleurocapsa* sp. sont plutôt d'ordre physiologique (voir Figure 3.1).

Lorsqu'on estime la survie globale (S') en multipliant la survie juvénile par la survie adulte, on obtient les valeurs suivantes : $S'_H = 3.69 \cdot 10^{-2}$ et $S'_D = 3.55 \cdot 10^{-2}$. Alors que la survie juvénile diploïde est le double de la survie juvénile haploïde, les valeurs corrigées par la survie adulte sont très similaires. Le rapport des valeurs sélectives ainsi obtenues (w') s'inverse et devient plus grande pour les haploïdes ($w'_H = 525$) que pour les diploïdes ($w'_D = 316$). Ces différences de valeur sélective entre haploïdes et diploïdes ne sont basées que sur une seule observation (effectuée dans STDO1). Là encore, d'autres suivis

Tableau 3.16 : Fécondité et survie juvénile relatives, et pourcentage d'individus haploïdes attendus à l'équilibre démographique, d'après le modèle de Richerd *et al.* (1993).

	Santo Domingo			Pucatrihue		
	ZBI	ZHI	ZHI-IS	ZBI	ZHI	ZHI-IS
$F = F_H / F_D$	1.596	0.948	0.306	0.736	0.788	0.523
$S = S_H / S_D$	0.540	0.744	5.010	1.067	0.773	3.346
F.S	0.862	0.705	1.531	0.786	0.609	1.750
% haploïdes attendu	45 %	55 %	85 %	65 %	55 %	75 %

démographiques seront nécessaires pour compléter notre appréciation de la sensibilité différentielle des haploïdes et des diploïdes aux infections.

3.4.2 Relations entre valeur sélective et fréquences d'haploïdes et de diploïdes

Dans le cadre de l'étude de l'évolution des cycles de vie, des modèles génétiques et écologiques ont été développés pour comprendre l'avantage et le maintien du cycle haploïde-diploïde par rapport à un cycle haploïde ou diploïde (Valero *et al.*, 1992; Mable & Otto, 1998). Parmi ceux-ci, le modèle de Richerd *et al.* (1993) prédit les conditions de maintien des différents types de cycle en fonction du sexe-ratio et du rapport de valeur sélective entre haploïdes et diploïdes. Le principe est le suivant : à durée de vie égale, les individus d'un cycle haploïde-diploïde font deux fois moins de méioses et de fécondations (une toutes les deux générations) que les individus d'un cycle haploïde ou diploïde (une par génération). Le cycle haploïde-diploïde présente alors un avantage lié au coût de la reproduction sexuée (celui de produire des mâles, Maynard-Smith, 1978). Le modèle prédit le maintien du cycle haploïde-diploïde lorsque le rapport des valeurs sélectives haploïde/diploïde se trouve dans l'intervalle défini par la fréquence des femelles dans la population et son inverse (pour un sexe-ratio équilibré, les valeurs limites sont 0.5 et 2). Ce modèle permet également d'estimer les fréquences attendues à l'équilibre démographique des haploïdes et des diploïdes, d'après les valeurs de fécondité relative ($F = F_H/F_D$) et de survie relative ($S = S_H/S_D$, voir Figure 3.11, d'après Richerd *et al.*, 1993).

En ne considérant tout d'abord que la survie juvénile, on constate que le produit F.S varie peu et se situe dans les limites expliquant le maintien du cycle haploïde-diploïde (en supposant un sexe-ratio de 0.5) : de 0.61 à 0.86 pour les individus les plus matures, entre 1.53 et 1.75 pour les plus sévèrement infectés (Tableau 3.16).

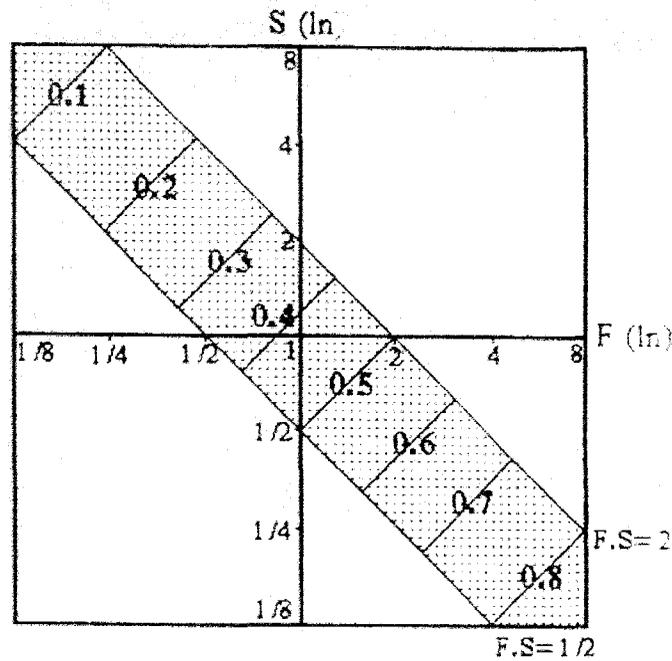


Figure 3.11 : Relations entre le ploïdie-ratio, la fertilité et la survie dans un cycle haploïde-diploïde. L'aire en grisé indique les conditions de maintien du cycle haploïde-diploïde, entre les lignes $F.S = 1/2$ et $F.S = 2$. Les différentes valeurs indiquées dans la zone grisée correspondent au ploïdie-ratio attendu ($D/(H+D)$). D'après Richerd et al., 1993.

Tableau 3.16 : Fécondité et survie juvénile relatives, et pourcentage d'individus haploïdes attendus à l'équilibre démographique, d'après le modèle de Richerd *et al.* (1993).

	Santo Domingo			Pucatrihue		
	ZBI	ZHI	ZHI-IS	ZBI	ZHI	ZHI-IS
$F = F_H / F_D$	1.596	0.948	0.306	0.736	0.788	0.523
$S = S_H / S_D$	0.540	0.744	5.010	1.067	0.773	3.346
F.S	0.862	0.705	1.531	0.786	0.609	1.750
% haploïdes attendu	45 %	55 %	85 %	65 %	55 %	75 %

En utilisant les valeurs décrites dans la section précédente pour STDO2, $S = S'_H/S'_D = 1.039$ et $F = 1.596$, le modèle prédit une fréquence d'haploïde d'environ 0.55. Ce résultat est assez éloigné de la valeur observée qui est de 93 %. Lorsqu'on utilise la même approche à partir de valeurs de survie juvénile, la valeur estimée dans la ZHI de Santo Domingo est assez proche de la valeur observée, mais les différences sont encore plus grandes pour la ZBI (Tableau 3.16).

Plusieurs éléments permettent d'expliquer cette différence. Tout d'abord, la survie était ici estimée de manière incomplète par rapport aux conditions du modèle de Richerd *et al.* (1993). De plus, la survie juvénile a été estimée au laboratoire, et ne représente pas exactement ce qui se passe sur le terrain. Par ailleurs, il s'agit d'un modèle théorique fonctionnant dans des conditions particulières, telles que l'équilibre démographique, et dépendant du sexe-ratio (Richerd *et al.*, 1993). Si le sexe-ratio n'est pas équilibré dans les populations de *M. laminarioides*, les limites de validité du rapport de valeurs sélectives pour le maintien du cycle haploïde-diploïde seront décalées, mais les valeurs attendues de fréquence d'haploïdes ne devrait pas changer. Les différences entre valeurs attendues et observées pourraient être dues plutôt au fait que certaines populations ne sont pas à l'équilibre démographique. Par exemple, la forte fréquence des haploïdes à STDO2 pourrait être expliquée par la sélection du gradient intertidal. En effet, il semblerait que le haut de l'estran soit colonisé principalement par des individus haploïdes, alors que le ploïdie-ratio serait plus équilibré au bas de l'estran (Luxoro & Santelices, 1989). Nous avons vu que la fréquence d'haploïdes est stable sur les deux années de suivi démographique, alors que près de 60 % des individus ont été renouvelés. Dans ces conditions, l'équilibre démographique atteint dans la parcelle STDO2 serait influencé par le gradient intertidal, une condition qui pourrait altérer les prédictions du modèle de Richerd *et al.* (1993).

3.5 Discussion

3.5.1 Les endophytes sont-ils des pathogènes ?

Les résultats présentés ci-dessus indiquent clairement que les infections par la cyanobactérie *Pleurocapsa* sp. provoquent une réduction de la fertilité de individus, mais aussi de leur valeur sélective. Les individus les plus infectés ont la plus faible probabilité de laisser des descendants. Il semblerait alors que *Pleurocapsa* sp. soit la première espèce pathogène rencontrée parmi les cyanobactéries symbiotiques (B. Bergman, B. Osborne et A.

Ray, communication personnelle). Sa présence affecte principalement la fécondité de son hôte. Néanmoins, nous avons vu qu'une particularité des effets pathogènes exercés par *Pleurocapsa* sp. est d'affecter différemment les haploïdes et les diploïde, ce qui à pour conséquence d'inverser le rapport des valeurs sélectives. On s'attend donc à ce que le comportement démographique des zones de haute infection soit différent des zone de basse infection. *Pleurocapsa* sp. constituerait alors un pathogène au sens écologique du terme (Anderson & May, 1978). La poursuite des suivis démographiques, en incluant éventuellement d'autres zones de haute infection permettra sans doute de tester plus efficacement l'effet des infections à l'échelle des populations.

Pour *E. ramosum*, l'effet pathogène, s'il existe, semble en revanche mineur. Tout d'abord, nous avons vu que cet endophyte n'affecte que la longévité des frondes sans altérer leur maturation ni la survie des individus. Bien que l'examen des effets des infections sur la fertilité n'ait pas été autant approfondi que pour *Pleurocapsa* sp., deux éléments viennent appuyer l'hypothèse que les frondes pourront atteindre leur maturité complète malgré les infections. Tout d'abord, *E. ramosum* n'interagit pas directement avec les structures reproductives, ce qui laisse supposer que les mécanismes physiologiques de pathogénicité décrits en introduction de ce chapitre ne concernent probablement pas cet endophyte. D'autre part, *E. ramosum* n'interagit pas avec la zone méristématique des frondes qui se trouve en bordure supérieur du thalle, ce qui suggère que l'endophyte n'altérera pas la croissance des frondes, et donc potentiellement leur maturité.

3.5.2 Quelles sont les capacités de réponse évolutive de *M. laminarioides* aux pressions de sélection exercées par les endophytes ?

Les effets négatifs précédemment décrits indiquent donc que la valeur sélective de *M. laminarioides* peut être sensiblement réduite par les infections, et que *Pleurocapsa* sp. est effectivement un pathogène. La réduction de la fertilité suggère que les infections, en exerçant une pression de sélection sur les populations d'hôtes, seraient à même d'influencer la composition génétique des populations. En effet, les individus les plus infectés sont ceux qui ont la plus faible probabilité de laisser des descendants à la génération suivante. Celle-ci devrait donc être composée d'une plus faible proportion de génotypes sensibles aux infections. Le champ est ainsi ouvert à la sélection fréquence-dépendante qui, étant donné la faiblesse des flux géniques décrits dans le Chapitre 2, devrait permettre la différenciation des populations pour les caractères sélectionnés et donc l'adaptation locale.

D'autre part, le taux de renouvellement rapide des populations de *M. laminarioides*, combiné à la reproduction sexuée, suggère une capacité de changement évolutif rapide : les génotypes sont rapidement remplacés dans la populations par les nouvelles combinaisons d'allèles produites par la recombinaison. Bien sûr, cette dynamique évolutive n'est probablement pas aussi rapide que chez *Pleurocapsa* sp. qui est capable d'infecter de très nombreuses fois une même fronde, et donc de faire fluctuer très rapidement la fréquence des gènes en fonction de la composition génétique de la population d'hôtes. On considère en effet que les parasites ont un avantage évolutif sur leur hôte du fait d'un temps de génération très court. Néanmoins, parce que les populations de *M. laminarioides* sont rapidement renouvelées et que la recombinaison produit de nouvelles combinaisons d'allèles à chaque génération, l'avantage évolutif de *Pleurocapsa* sp. pourrait être relativement limité. Enfin, puisque les flux de gènes chez *M. laminarioides* sont faibles, on s'attend à ce que l'évolution des fréquences des gènes soit différente dans chaque population, permettant au processus d'adaptation locale de différencier à son tour les populations d'endophytes (à condition que les flux géniques ne soient pas trop forts chez le pathogène).

Enfin, on peut se demander quels sont les effets des goulots d'étranglement démographique observés sur le processus d'adaptation locale. Les effets de la dérive génétique sur les populations de *Pleurocapsa* sp. sont probablement très forts dans les zones affectées, à condition que la migration ne soit pas trop importante. Dans ces conditions, la composition génétique de la population de *Pleurocapsa* sp. n'est plus adaptée à celle de son hôte puisque les fréquences auraient évolué au hasard. Il a été montré en effet que les extinctions locales n'affectant que le parasite suffisent à empêcher le processus d'adaptation locale (Thrall & Burdon, 1997). D'autre part, si le goulot d'étranglement affecte également la population d'hôtes, le double effet de la dérive (chez l'hôte et chez l'endophyte), même si elle est très localisée géographiquement, pourra être déterminante dans le processus d'adaptation locale. On devrait s'attendre alors à ce qu'il n'y ait pas d'adaptation locale, mais plutôt une adaptation "régionale" (à quelques dizaines de kilomètres) qui ne serait détectable qu'à des distance supérieurs à celles auxquelles la différenciation génétique est observée.

3.5.3 Fonctionnement des (méta) populations de *M. laminarioides*

Nous avons vu que les populations sont différenciées à très petite échelle spatiale (25 m). A cette échelle spatiale, les populations peuvent subir des événements catastrophiques aboutissant à l'extinction. Les effets de fondations qui suivent la recolonisation à partir de populations avoisinantes, et dont les effets sur la diversité génétique ont été détectés, peuvent expliquer en partie la différenciation à cette échelle spatiale (Wade & McCauley, 1988; McCauley *et al.*, 1995). Etant donné les capacités de recrutement de *M. laminarioides*, on s'attend à ce que la recolonisation des sites libérés par une extinction soit rapide. Par ailleurs, le fort taux de renouvellement des populations (60 à 80 %) suggère que les populations peuvent rapidement retrouver un équilibre démographique. Il semble en effet que les trois populations qui ont pu être suivies les deux années soient proches de cet équilibre, avec un ploidie-ratio stable d'une année à l'autre. Les populations de *M. laminarioides* seraient donc animées d'une dynamique d'extinction/recolonisation rapide et très localisées.

On peut se demander si ce mode de fonctionnement des populations de *M. laminarioides* s'apparente au modèle des métapopulations. Ce modèle explique le maintien d'un ensemble de populations, malgré l'occurrence d'extinctions locales, par la migration entre populations qui permet la recolonisation d'habitats laissés libres par l'extinction précédente (Hanski, 1997). Une telle dynamique pourrait expliquer le maintien des populations de *M. laminarioides* dans un habitat sujet à des événements catastrophiques apparemment relativement fréquents. Une restriction importante à l'application du concept de métapopulation est que les populations locales doivent être des unités discrètes (Hanski, 1997). Or, l'échelle spatiale à partir de laquelle la différenciation génétique et la stochasticité démographique sont observées se situe à l'intérieur d'une distribution continue de *M. laminarioides*. Cela signifie que le modèle de métapopulation ne s'applique sans doute pas au fonctionnement démographique de *M. laminarioides*.

En revanche, la perte de biomasse de frondes pourrait s'accompagner d'une extinction de la population de *Pleurocapsa* sp. Or, de par la nature agrégée de la distribution des infections, les populations de *Pleurocapsa* sp. semblent confinées essentiellement aux zones de haute infection. Le modèle de métapopulation pourrait alors s'appliquer à la dynamique des infections par *Pleurocapsa* sp. Ce modèle est de plus en plus utilisé dans les études épidémiologiques car il offre l'opportunité de mieux comprendre et même prédire la persistance des pathogènes dans les populations d'hôtes (Grenfell & Harwood, 1997). Il a

permet également de développer des modèles prédisant les conditions dans lesquelles l'adaptation locale des parasites à leurs hôtes est attendue (Gandon *et al.*, 1996; Franck, 1997), ce qui sera rediscuté dans le chapitre suivant.

3.6 Conclusions du Chapitre 3

Au cours de ce chapitre, j'ai présenté les résultats concernant deux approches complémentaires de l'étude des effets des infections sur la valeur sélective de *M. laminarioides*. La première a concerné les effets des endophytes sur le potentiel reproductif de leur hôte. Il apparaît que la cyanobactérie réduit fortement la fertilité de son hôte, alors que l'algue verte ne semble avoir aucun effet. La seconde approche, démographique, était destinée à déterminer les effets des infections sur la survie de *M. laminarioides*. Il apparaît que *E. ramosum* n'a apparemment pas d'effet sur la survie des individus hôtes. En revanche, il n'a pas été possible de déterminer clairement l'effet des infections par *Pleurocapsa* sp. en raison d'une dévastation des zones infectées étudiées. Néanmoins, dans l'état actuel des connaissances, la conclusion générale est que *Pleurocapsa* sp. affecte négativement la valeur sélective de son hôte, alors que *E. ramosum* ne semble pas avoir d'effet.

L'approche démographique a en outre permis d'évaluer le taux de renouvellement des populations de *M. laminarioides*. Il apparaît que jusqu'à 80 % des individus peuvent être remplacés dans une population au cours d'une année. Le fort taux de renouvellement semble indiquer une capacité de réponse évolutive efficace face aux pressions de sélection exercées par les endophytes. La stochasticité démographique observée au cours de ces deux années de suivi démographique suggèrent que les populations sont sujettes à une dynamique d'extinction-recolonisation typique du fonctionnement des métapopulations. Un tel fonctionnement peut avoir des conséquences directes sur les possibilités d'adaptation locale : l'action de la dérive peut limiter le processus d'adaptation locale ou, au contraire, la dynamique de métapopulation peut favoriser l'adaptation locale à des échelles spatiales fines malgré des flux de gènes importants. Le chapitre suivant teste les possibilités d'adaptation locale.

CHAPITRE IV :
Adaptation locale chez
Pleurocapsa sp.

4. ADAPTATION LOCALE CHEZ *PLEUROCAPSA* SP.

4.1 Introduction

Nous avons vu au cours des chapitres précédents que les populations de *M. laminarioides* sont génétiquement différenciées, même à de petites échelles spatiales. *M. laminarioides* représente donc potentiellement un environnement spatialement hétérogène pour les endophytes. Nous avons vu également que les populations de *M. laminarioides* possèdent un taux de renouvellement élevé, ce qui suggère une capacité d'évoluer relativement rapidement. Cette capacité est probablement accentuée par la reproduction sexuée qui permet la recombinaison entre les gènes. Mais nous avons vu également que les populations de *M. laminarioides* peuvent subir des (quasi-) extinctions très localisées, dont les effets sont détectables sur la diversité génétique. Enfin, nous avons vu que *Pleurocapsa* sp. exerce une pression de sélection négative sur son hôte en réduisant (au moins) sa fertilité. Les conditions sont donc réunies pour que l'interaction entre *M. laminarioides* et ses endophytes (au moins *Pleurocapsa* sp.) se traduise par des changements adaptatifs.

Après avoir rappelé brièvement les conditions conduisant à l'adaptation locale des parasites à leurs hôtes et comment les transplantations réciproques peuvent démontrer l'existence d'un tel processus évolutif. Le présent chapitre a pour but de discuter du patron d'adaptation de *Pleurocapsa* sp. aux populations locales de *M. laminarioides*.

4.1.1 Quelles sont les conditions favorisant l'adaptation locale ?

Un préalable nécessaire à l'adaptation locale est l'hétérogénéité spatiale. Pour que la sélection naturelle puisse différencier les populations occupant différents habitats, il faut qu'elle puisse contrebalancer l'effet homogénéisant des flux géniques. Cependant, dans le cadre d'une interaction hôte-parasite, l'environnement peut être hétérogène non seulement spatialement, mais aussi temporellement. Du fait de la dynamique coévolutive entre hôtes et parasites, un génotype sélectionné dans une population donnée à un temps donné pourra être plus tard contre-sélectionné dans cette même population. Par conséquent, la fréquence de ce

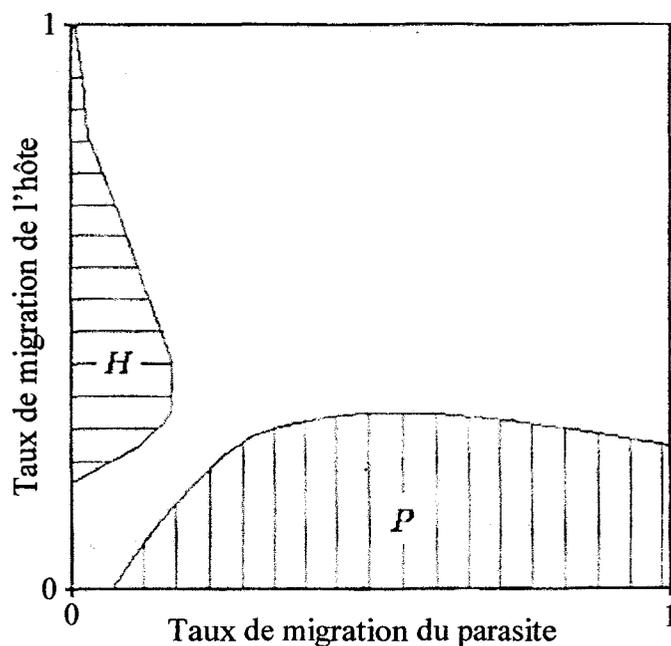


Figure 4.1 : Représentation schématique des effets des taux de migration des hôtes (*migH*) et des parasites (*migP*) sur la différence entre résistance à un parasite local ou allopatrique. Les hachures verticales indiquent que les parasites sont adaptés à leur population locale d'hôtes. Les hachures horizontales indiquent que les hôtes sont adaptés à leur population locale de parasites. La zone non-hachurée indique qu'il y a peu de différences de résistance entre parasites locaux et allopatriques. D'après Gandon *et al.* (1998).

génotype évoluera au cours du temps. Les variations temporelles des fréquences des gènes impliqués s'accompagnent d'oscillations cycliques d'une part, de la proportion d'hôtes infectés, et d'autre part, de la proportion de parasites ayant réussi à coloniser un hôte (Nee, 1989; Hamilton *et al.*, 1990; pour revue, voir Kaltz & Shykoff, 1998). Le rôle de la migration entre populations dans l'adaptation locale est donc complexe (Gandon & vanZandt, 1998). Les développements théoriques de (Gandon *et al.*, 1996) ont concerné les effets des taux de migration de l'hôte et du parasite en utilisant les probabilités de résistance et de susceptibilité des hôtes à une population donnée de parasites (en considérant qu'un génotype hôte n'est résistant qu'à un seul génotype parasite et sensible à tous les autres, d'après Franck [1993 #267]). Leurs résultats ont montré que l'adaptation locale au sein d'une métapopulation est avant tout dépendante du taux de migration relatif des hôtes et des parasites (Figure 4.1) : les parasites sont localement adaptés s'ils migrent plus que leurs hôtes, dès lors que ces derniers migrent peu ; inversement, les hôtes sont adaptés à leur population locale de parasites s'ils migrent plus que ces derniers. Ce modèle n'est pas en contradiction avec ce qui a été écrit plus haut car lorsque les flux de gènes deviennent trop importants, l'adaptation locale n'est plus possible (Gandon *et al.*, 1998). La nouveauté de ce modèle est de prédire la possibilité d'adaptation locale même lorsque le parasite migre beaucoup. Ce modèle fut validé dans au moins deux cas : chez le gastéropode *Potamopyrgus antipodarum*, c'est son parasite (un trématode) qui migre le plus (Dybdahl & Lively, 1996) et qui est adapté aux populations locales d'hôtes (Lively, 1989) ; au contraire, la Caryophyllacée *Silene latifolia*, migrant plus que son parasite, le champignon *Microbotrium violaceum* (Delmotte *et al.*, 1999), est adaptée aux populations locales de celui-ci (Kaltz *et al.*, 1999).

D'autre part, du fait de la hiérarchisation spatiale de la diversité génétique, en particulier dans le contexte d'un isolement par la distance, on s'attend implicitement à observer une performance moyenne des parasites et de plus en plus faible à mesure qu'on les confronte à des hôtes provenant de populations de plus en plus éloignées (Ebert, 1994; Lively & Jokela, 1996).

Les différents éléments décrits précédemment posent à l'observateur le problème de se trouver au bon endroit et au bon moment afin de détecter l'adaptation locale. En effet, près de la moitié des études d'adaptation locale n'ont pas conclu à une meilleure performance des parasites sur les hôtes locaux que sur les hôtes allopatriques (Kaltz & Shykoff, 1998). Tout d'abord, la difficulté est de réaliser les observations à l'échelle spatiale adéquate. De plus, l'équilibre entre sélection, migration et dérive peut ne pas produire les conditions nécessaires

au processus d'adaptation locale (Mutikainen *et al.*, 2000). Plus particulièrement, les fluctuations stochastiques liées aux extinctions/recolonisations dans une métapopulation, en interagissant avec la migration et la sélection, même si elles ne touchent que le parasite (Thrall & Burdon, 1997), limitent les possibilités de coévolution entre hôte et parasites (Franck, 1997). Cette dynamique métapopulationnelle peut perturber le processus d'adaptation locale en le décalant vers des échelles spatiales supérieures (Kaltz & Shykoff, 1998). Enfin, la sélection fréquence dépendante peut amener la population d'hôtes à être temporairement mieux adaptée à la population locale de parasite, lors d'une invasion rapide de génotypes résistants qui étaient initialement avantageés par leur rareté. Par conséquent, différentes populations peuvent être à différentes étapes de l'adaptation locale (Kaltz & Shykoff, 1998), ce que Thompson a appelé la " mosaïque géographique " de la coévolution (Thompson, 1994; Thompson, 1997).

4.1.2 Comment tester l'adaptation locale ?

Il existe deux moyens de tester l'adaptation locale : soit en analysant le processus au court du temps, en comparant la valeur adaptative moyenne d'une population de pathogènes avant et après une réponse évolutive à une pression de sélection, soit en décrivant le patron d'adaptation locale à un temps déterminé, en comparant les performances du pathogène dans son environnement d'origine et dans des environnements exotiques. Bien qu'on comprenne aisément que les parasites, en ayant un potentiel évolutif plus grand, s'adaptent à leur hôte plus vite que celui-ci n'ait le temps de répondre, il n'est pas évident que ce phénomène se traduise par des différences géographiques, c'est-à-dire une valeur adaptative en moyenne plus grande, sur les hôtes locaux que sur les hôtes allopatriques (Kaltz & Shykoff, 1998). Il existe deux possibilités permettant de tester la différenciation spatiale des caractères génétiques adaptatifs (Gandon & vanZandt, 1998), toutes deux impliquant de confronter différentes populations d'hôtes et de parasites. La première consiste à comparer les performances d'une population de parasites dans différents environnements (hôtes ou populations d'hôtes). On considère qu'il y a adaptation locale lorsque les performances de la population de parasites sont plus grandes, en moyenne, dans leur environnement natal que dans tout environnement étranger. La seconde compare les performances d'une population de parasites dans son environnement natal avec les performances d'autres populations de parasites dans ce même environnement. L'adaptation locale a lieu lorsque les performances de la population native de parasites sont plus grandes que les autres.

Les transplantations réciproques sont le moyen le plus couramment employé pour tester l'adaptation locale (Gandon & vanZandt, 1998). L'expérience consiste généralement à transplanter des individus hôtes dans différentes populations pour lesquelles on cherche à tester la différenciation pour les marqueurs sélectionnés par l'interaction hôte-parasite. On peut également effectuer des inoculations de différentes souches de pathogènes sur différents hôtes en conditions contrôlées de laboratoire.

4.1.3 Hypothèses et objectifs

Les transplantations entre régions d'individus de *M. laminarioides* effectuées par Buschmann *et al.* (1997) ont montré l'évidence d'une adaptation locale de *Pleurocapsa* sp. entre régions : les individus transplantés entre les localités de Pucatrihue et Matanzas, séparées par environ 850 km, étaient moins infectés que les transplants locaux (voir Chapitre 1). La question est donc de savoir à partir de quelle échelle spatiale peut-on détecter ce processus.

La forte différenciation génétique chez *M. laminarioides* a suggéré que les flux géniques sont réduits, même entre populations voisines (Chapitre 2). Plus particulièrement, nous avons vu que, si les régions sont très fortement différenciées, on observe également une très forte structure à l'intérieur de la région centrale. Les distances de 45 à 60 km suffisent à créer une différenciation considérable. D'autre part, bien que le mode de dispersion de *Pleurocapsa* sp. soit encore inconnu, on peut supposer que la propagation se réduit et se fait essentiellement par contact entre frondes (voir Chapitre 1). L'adaptation locale est alors attendue à des échelles spatiales beaucoup plus fines que dans l'expérience de (Buschmann *et al.*, 1997). Cependant, étant donné que les taux de migration relatifs de *Pleurocapsa* sp. et de *M. laminarioides* ne sont pas connus, on ne peut prédire exactement à quelle échelle spatiale l'adaptation locale sera observée, ni si c'est l'endophyte ou l'hôte qui sera le mieux adapté localement.

L'objectif de ce travail était de confronter les populations de parasites de différentes localités de la région centrale à des hôtes provenant de différentes populations dont nous savons qu'elles sont génétiquement différenciées pour la variabilité neutre.

4.2 Protocole expérimental

Afin de définir à partir de quelle échelle spatiale on observe de l'adaptation, un dispositif expérimental hiérarchisé a été mis en place, incluant des distances de 20-100 m à 900 km (Tableau 4.1). Les localités de Santo Domingo, Matanzas et Topocalma-Milieu ont été retenues pour les transplantations réciproques (ce sont les trois localités de la région centrale possédant au moins une Zone de Haute Infection (ZHI) dans lesquelles les transplants ont été installés). Le témoin de chaque localité a consisté à transplanter des individus des ZHI dans leur propre site. Des individus de Pucatrihue ont été transplantés dans ces trois localités afin de vérifier les observations de (Buschmann *et al.*, 1997). D'autre part, des individus ont été transplantés des ZHI vers les Zones de Basse infection (ZBI) de leur localité respective, afin de vérifier que le traitement infligé aux individus transplantés n'induisait pas d'apparition des galles.

Tableau 4.1 : Distances entre les sites d'origine et de destination des transplants. ZBI : Zone de Basse Infection ; ZHI : Zone de Haute Infection par *Pleurocapsa* sp.

Destination Origine	Santo Domingo ZBI	Santo Domingo ZHI	Matanzas ZHI	Topocalma-M ZHI	Topocalma-M ZBI
Topocalma-M ZHI				0m (témoins)	20-100m
Topocalma-M ZBI		60km	15km	20-100m	
Topocalma-N ZBI				5km	
Matanzas ZHI			0m (témoins)		
Mantanzas ZBI		45km	20-100m	15km	
Santo Domingo ZHI	20-100m	0m (témoins)			
Santo Domingo ZBI		20-100m	45km	60km	
Pucatrihue ZBI		9000km	855km	840km	

Chaque série de transplantations (18 au total, voir Tableau 4.1) est constituée de 15 transplants (sauf pour les témoins de Matanzas - 14 transplants - soit un total de 269 transplants). Ces unités sont constituées chacune d'un fragment de roche de 2 à 3 cm de diamètre portant un individu de *M. laminarioides*. Afin de minimiser la probabilité de transplanter un individu infecté, les frondes de taille supérieure à 1 cm ont été complètement enlevées du disque en les découpant soigneusement à l'aide de ciseaux fins pour ne pas

endommager les autres frondes et le disque (dans lequel on n'observe jamais *Pleurocapsa* sp., (Correa *et al.*, 1993)). Les transplants consistaient donc au début de l'expérience en un disque surmonté d'un nombre variable de petits axes inférieurs à 1 cm de long (Figure 4.2). Chacun fut indépendamment fixé à la roche à l'aide de résine époxy marine, en prenant soin de le positionner le plus près possible de plusieurs autres individus locaux. Les transplantations ont été effectuées en Juillet 1999 (en hiver, avant la période de forte croissance du printemps et de l'été). Chaque transplant a par la suite été suivi tous les 3 mois.

Le suivi de ces transplants a d'abord consisté à évaluer la repousse des frondes. Le nombre de frondes de longueur supérieure à 3 cm (celles susceptibles de produire des galles visibles à l'œil nu) a été compté à chaque relevé. Ce comptage permettait en outre d'estimer la fréquence des individus n'ayant pas réussi à produire de nouvelles frondes suite à la transplantation (soit parce qu'ils étaient morts, soit parce qu'ils étaient restés dans l'état qui a suivi la transplantation tout au long de l'expérience). Ces derniers individus correspondent à la perte due à l'expérimentation. D'autre part, cette évaluation permet de comparer la fréquence des individus qui, ayant produit de nouvelles frondes, se sont atrophiés¹⁷, soit suite aux infections, soit pour une raison inconnue indépendante de la présence des endophytes.

Le suivi a également consisté à attribuer un indice de sévérité d'infection (de 0, sain, à 3, sévèrement infecté, d'après (Correa & Sanchez, 1996) en examinant la fronde la plus infectée pour chaque transplant. L'adaptation locale a été estimée en comparant le niveau moyen d'infection des transplants de différentes origines avec le témoin local, à l'aide de tests de Dunnett de comparaisons multiples de moyennes (Dagnelie, 1975). L'effet global de la distance de transplantation sur le niveau d'infection a été analysé à l'aide d'une analyse de variance à un facteur (la distance étant considérée comme un facteur fixe). Afin de tester si l'infection diminuait en fonction de la distance d'origine, la régression entre le niveau moyen d'infection et la distance qui sépare le site d'origine du site de transplantation a été calculée.

¹⁷ Les transplants atrophiés sont ceux qui ne produisent plus de frondes.



Figure 4.2 : Exemple de transplant en début d'expérimentation, installé en ZHI (on peut voir des frondes sévèrement infectées dans le bas de la photographie).

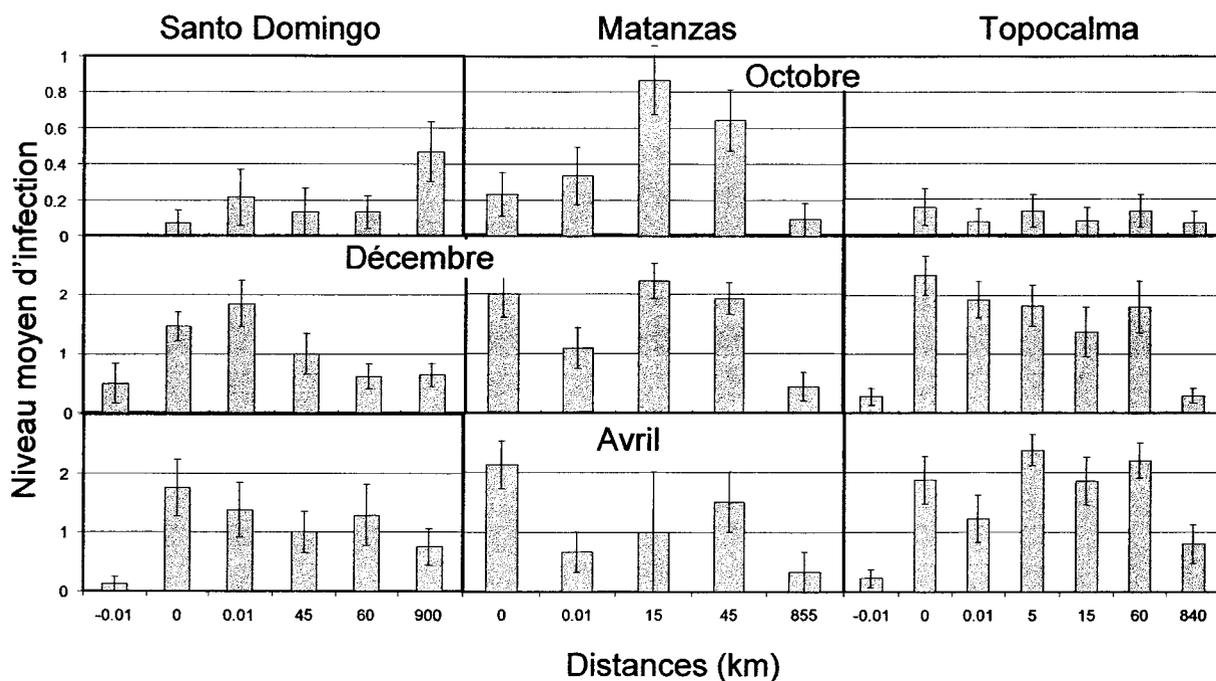


Figure 4.3 : Niveaux moyens d'infection des transplants selon la distance entre le d'origine et le site de destination, pour les localités de Santo Domingo, Matanzas et Topocalma, lors des 3 premières évaluations.

4.3 Résultats

Durant les trois premières évaluations (octobre 1999, décembre 1999 et avril 2000), 27 transplants ont disparu. Parmi les 242 transplants restant, 61 n'ont jamais produit de frondes de taille supérieure à 3 cm (taille à partir de laquelle les frondes sont susceptibles de produire des galles). La fréquence de ces transplants (de 0.217 à 0.263, voir Tableau 2) pourrait correspondre à un biais expérimental (dû aux traitements infligés aux individus lors de la transplantation). Ces transplants n'ont donc pas été considérés par la suite dans les analyses. Les évaluations suivantes ont révélé une forte mortalité de transplants (en juillet 2001, 32 transplants avaient disparu, 132 étaient morts, et par conséquent seulement 105 ont été évalués pour les infections) et ne sont donc pas retenues pour l'analyse.

Parmi ceux qui ont produit de nouvelles frondes (de taille > 3 cm), 59 à 100 % des individus transplantés dans une Zone de Haute Infection ont été infectés (Tableau 4.2). L'analyse des transplantations des ZHI vers les ZBI montre que les transplants ne sont pas systématiquement sains (Tableau 4.2), mais que leur niveau d'infection est toujours très faible (Figure 4.3). Parmi les transplants infectés, on observe que moins de la moitié se sont atrophiés au cours de l'expérience, alors que plus de 2 transplants sur 3 qui n'ont pas été infectés au cours de l'expérience sont atrophiés (Tableau 4.2).

Afin d'établir si l'adaptation locale est un phénomène général, indépendamment des populations analysées, les transplants ont été regroupés selon les distances entre les sites d'origine et de transplantation. Les résultats des niveaux moyens d'infection sont présentés pour chaque distance (les résultats pour chaque série de transplants sont présentés en Figure 4.3). Le premier suivi (octobre 1999) a révélé que seulement 83 transplants présentaient des frondes de taille supérieure à 3 cm. Parmi ceux-ci, 47 étaient infectés. L'analyse des niveaux moyens d'infection montre, en cette étape initiale de croissance et de ré-infection, que des transplants de toutes origines sont infectés indépendamment de la distance qui sépare le site d'origine du site de transplantation (Tableau 4.3A-B).

Lors du second suivi (décembre 1999), 206 transplants ont pu être évalués pour le niveau d'infection (les frondes étaient suffisamment grandes pour montrer des galles). La comparaison des niveaux d'infection des transplants allopatriques avec les témoins montre que la distance a un effet significatif sur le niveau moyen d'infection (Tableau 4.3A) : les transplants de Pucatrihue ainsi que ceux échangés entre Santo Domingo et Topocalma ou

Tableau 5.2 : Fréquences des transplants ayant développé une biomasse apparente (frondes > 3 cm, susceptibles d'être infectées), puis/ou étant atrophié (résultats sur l'ensemble de la durée de l'expérience). *« Atrophie » concerne ici les individus qui, après avoir produit des frondes, n'ont plus de biomasse apparente et ceux qui sont morts. N_T : nombre total de transplants ; N_F : nombre de transplants ayant produit des frondes > 3 cm ; N_I : nombre de transplants infectés ; N_{NI} : nombre de transplants non-infectés. Témoins - : transplants de ZHI vers ZBI ; Témoins + : Transplants de ZHI dans ZHI.

	Total Transplants développés de frondes > 3cm			Transplants n'ayant pas développé de frondes > 3cm			Transplants ayant développé des frondes >3cm					
	N_T	Fréquence moyenne	Ecart-type	N_F	Infectés		Atrophie* parmi les infectés			Atrophie* parmi les non-infectés		
					Fréquence moyenne	Ecart- type	N_I	Fréquence moyenne	Ecart- type	N_{NI}	Moyenne des fréquences	Ecart-type
Témoin -	20	0.258	0.039	15	0.350	0.071	5	0.167	0.236	10	0.310	0.034
Témoin +	39	0.256	0.160	29	0.935	0.058	27	0.254	0.337	2	1.000	0.000
0.01	41	0.217	0.061	32	0.767	0.252	24	0.369	0.034	8	0.917	0.118
5-15	41	0.252	0.173	31	1.000	0.000	31	0.446	0.418	0		
45-60	59	0.259	0.137	44	0.790	0.079	34	0.339	0.328	10	0.750	0.500
900	42	0.263	0.168	31	0.590	0.155	19	0.417	0.382	12	0.689	0.301

Tableau 4.3 : Analyse de l'effet de la distance entre le site d'origine et celui de transplantation sur les niveaux moyens d'infection des transplants.

A. Résultats des analyses de variance à un facteur pour chaque relevé.

B. Valeur des niveaux moyens d'infections (* indique que le niveau moyen est significativement différent du témoin, ~ indique que la différence pour le niveau moyen d'infection entre le traitement et le témoin est marginalement significative, d'après le test de Dunnett).

A.	d.d.l.	Carrés Moyens	F	p
Octobre 1999				
Distance	4	0.340	1.35	0.252
Erreur	222	0.251		
Décembre 1999				
Distance	4	12.95	10.77	< 10 ⁻³
Erreur	184	1.20		
Avril 2000				
Distance	4	5.80	4.84	0.001
Erreur	109	1.20		

B.	Octobre 1999		Décembre 1999		Avril 2000	
Distance (km)	Infection Moyenne	Erreur Standard	Infection Moyenne	Erreur Standard	Infection Moyenne	Erreur Standard
0 (Témoins)	0.125	±0.053	1.875	±0.189	1.950	±0.235
0.020 - 0.100	0.209	±0.078	1.639	±0.208	1.130	±0.238
5-15	0.372	±0.094	1.879	±0.203	1.944	±0.262
45-60	0.254	±0.067	1.300 ~	±0.172	1.484	±0.217
845 - 900	0.214	±0.073	0.447 *	±0.105	0.727 *	±0.188

Matanzas (distances de 45 à 60 km) sont en moyenne significativement moins sévèrement infectés que les témoins (Tableau 4.3B).

De nombreux transplants (100 sur les 269 installés au départ) sont morts ou ne produisent plus de frondes lors du troisième suivi (avril 2000), et seulement 131 ont pu être évalués. Malgré le faible nombre de transplants, on retrouve la même tendance que lors de l'évaluation précédente (Tableau 4.3A), mais cette fois, seuls les transplants provenant de Pucatrihue sont significativement moins infectés (Tableau 4.3B). En ce qui concerne les transplantations entre populations séparées par 45-60 km, bien que le niveau moyen d'infection soit plus faible que celui du témoin, les différences ne sont pas significatives.

Le calcul de la régression entre le niveau moyen d'infection et la distance montre une pente négative (-381.38) significative lorsque toutes les distances sont prises en compte (de 0 à 900 km : $p = 0.001$, $R^2 = 0.512$). Lorsque seules les transplantations au sein de la région

centrale sont incluses (de 0 à 60 km), la régression, bien que présentant la même tendance (pente = -20.86), n'est plus significative ($p = 0.140$, $R^2 = 0.187$).

4.4 Discussion et conclusions

Cette expérience de transplantation montre que les régions séparées par plus de 800 km sont différenciées pour les traits sélectionnés par l'interaction entre *M. laminarioides* et *Pleurocapsa* sp. En effet, les pathogènes infectent systématiquement moins les hôtes provenant de Pucatrihue située à 845-900 km plus au sud. Ce résultat confirme donc la première expérience effectuée entre les localités de Matanzas et Pucatrihue (Buschmann *et al.*, 1997). On observe également que la fréquence et le niveau moyen d'infection sont plus faibles pour les transplants échangés entre Santo Domingo et Topocalma ou Matanzas, indiquant que les populations locales de *Pleurocapsa* sp. ne parviennent pas à coloniser aussi bien les hôtes provenant de populations éloignées de 45 à 60 km que les hôtes locaux. Ces résultats suggèrent que l'adaptation locale existe à partir de distances pour lesquelles les populations d'hôtes sont très fortement différenciées génétiquement. Cependant, on n'observe plus de différences significatives à cette échelle spatiale pour le troisième relevé, soit 9 mois après la transplantation. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que la proportion de génotypes de *Pleurocapsa* sp. capables d'infecter les hôtes provenant de 60 km, a augmenté au cours de l'expérience au point de les réinfecter aussi fréquemment que le sont les hôtes locaux.

D'autre part, on observe bien une diminution des performances de *Pleurocapsa* sp. lorsqu'augmente la distance entre la population locale et le site d'origine du transplant. Bien que la gamme de distances testées pour le niveau moyen d'infection des transplants manque de représentation à des échelles spatiales intermédiaires situées entre 60 et 900 km, ce résultat suggère qu'il existe un isolement par la distance pour les caractères sélectionnés par l'interaction hôte-endophyte. Cela conforte donc l'hypothèse selon laquelle les flux de gènes seraient réduits chez *Pleurocapsa* sp.. Lorsque plusieurs échelles spatiales sont incluses dans une étude de l'adaptation locale, on retrouve généralement une tendance similaire (Ebert, 1994; Lively & Jokela, 1996; mais voir Poore & Steinberg, 2001). Même dans le cas de *Silene latifolia*, où les parasites (*Microbotryum violaceum*) sont moins performants sur les hôtes locaux que sur les hôtes allopatriques, on observe une diminution des fréquences des infections lorsque la distance devient grande (Kaltz *et al.*, 1999). Ces résultats confirment

qu'il est important de s'intéresser à différentes échelles spatiales afin de pouvoir conclure à une situation d'adaptation locale.

A de petites distances (15 km et moins), les niveaux moyens d'infections sont égaux entre eux et ne diffèrent pas des témoins. Ces résultats semblent en accord avec les données de structure génétique des populations d'hôtes qui ont montré que Matanzas était relativement peu différenciée de Topocalma-Milieu. D'autre part, même s'ils sont probablement plus rares que la transmission par contact entre frondes, les événements de dispersion à plus grande distance ne sont, sans doute, pas à négliger. Ils pourraient notamment avoir maintenu des génotypes de *Pleurocapsa* sp. des populations voisines en des fréquences suffisamment fortes pour que l'introduction d'un hôte sensible s'accompagne d'une prolifération rapide, et donc d'une réinfection massive de ces hôtes. Enfin, une dernière possibilité invoque les effets de la dérive génétique qui agit localement (suite aux effets de fondation détectés dans le Chapitre 2, et résultant probablement de goulets d'étranglement démographiques, comme nous l'avons vu dans le Chapitre 3). En effet, les dynamiques locales peuvent fortement interférer avec les processus de sélection et empêcher la coévolution et, par là, l'adaptation locale entre individus de localités géographiquement proches mais génétiquement différenciées (Franck, 1997; Kaltz & Shykoff, 1998).

Un tiers des individus transplantés des Zones de Haute Infection vers les Zones de Basse Infection ont été infectés. Même si les niveaux moyens d'infection étaient très faibles, ce résultat surprenant suggère trois hypothèses. La première suppose que le protocole de transplantation n'a pas permis d'éliminer toutes les infections, et que les frondes, même très petites, peuvent être infectées sans développer de symptôme visible. Cela pourrait avoir créé un biais dans le niveau d'infection observé des témoins. Néanmoins, ce biais (s'il existe) n'est pas suffisant pour que des différences soient détectables entre témoins et transplants (depuis les ZBI locales). On peut donc supposer que cela n'affecte pas les résultats des comparaisons entre les témoins et les transplants allopatriques. La seconde hypothèse postule que ces individus hôtes infectés étaient des génotypes particulièrement sensibles aux infections. Dans ce cas, cela suggérerait que la distribution des infections serait le résultat d'une forte différenciation génétique entre ZHI et ZBI pour les traits sélectionnés par l'interaction avec *Pleurocapsa* sp. Cette hypothèse est très peu probable puisque la situation contraire n'est pas observée : les individus transplantés de ZBI vers les ZHI sont majoritairement infectés, et ne correspondent donc pas à des génotypes résistants.

Enfin, l'analyse des fréquences moyennes d'individus atrophiés après avoir développé de nouvelles frondes apporte une information intéressante quoique surprenante : les infections sont associées à une atrophie moins fréquente. En effet, on constate que la fréquence moyenne des transplants atrophiés est plus forte chez ceux qui sont restés sains tout au long de l'expérience (voir Tableau 4.2). Ces résultats très surprenants rappellent ceux concernant la mortalité des individus (présentés dans le chapitre précédent) qui est plus forte parmi les individus sains que parmi les individus infectés. Il semblerait donc que les infections par *Pleurocapsa* sp. favorisent la survie de leur hôte. Il ne s'agit là que d'une tendance qui nécessiterait une étude plus approfondie, en particulier en suivant le taux de mortalité d'un plus grand nombre d'individus infectés.

L'adaptation locale de *Pleurocapsa* sp. dans les populations de *M. laminarioides* semble donc se produire à une échelle spatiale réduite (une cinquantaine de kilomètres). A cette échelle spatiale, la différenciation génétique des populations d'hôtes est très forte pour les marqueurs neutres, suggérant que les flux de gènes sont réduits. On peut s'attendre à ce que l'endophyte ait un taux de migration légèrement supérieur, ce qui lui permet de reconnaître et d'infecter des hôtes de différentes populations. Cependant, il semble, d'après les résultats présentés dans ce chapitre, que les flux de gènes aient lieu principalement entre populations voisines, et que quelques dizaines de kilomètres suffisent pour permettre la différenciation génétique des populations de *Pleurocapsa* sp. Une étude de la différenciation génétique des populations et du taux de migration chez cette espèce devrait permettre de compléter notre compréhension des mécanismes de coévolution entre la cyanobactérie et son hôte. Dans cette perspective, j'ai entrepris, lors de ma thèse, la mise au point d'un marqueur polymorphe chez *Pleurocapsa* sp. (l'intron du gène de l'ARNt de la Leucine, (Paulsrud & Lindblad, 1998)). Les essais sont actuellement poursuivis par l'équipe de J. Correa.

Conclusion Générale

CONCLUSION GENERALE

Au cours de cette thèse, différentes approches portant sur des aspects de d'épidémiologie, de génétique et de biologie des populations de l'algue rouge *Mazzaella laminarioides* ont permis de dépeindre une image de l'interaction entre l'algue et ses deux principaux endophyte, la cyanobactérie *Pleurocapsa* sp. et l'algue verte *E. ramosum*. Cette démarche constitue une première dans l'étude de l'impact des endophytes sur les populations naturelles d'algues. L'objectif principal était d'estimer les paramètres pouvant conduire à l'adaptation locale entre l'hôte et les endophytes.

Un préalable à l'adaptation locale étant la différenciation génétique des populations, il était important d'estimer l'équilibre entre l'effet homogénéisant de la migration et les processus stochastiques de dérive génétique, afin de comprendre à partir de quelle échelle spatiale la différenciation peut être observée. Les résultats de l'approche de génétique des populations ont révélé une forte différenciation des populations à partir de distances géographiques très petites (25 m). Les flux de gènes sont donc apparemment réduits. Mais les populations ne semblent pas être à l'équilibre migration/dérive puisque des effets de fondation ont été détectés et que la différenciation génétique à très petite échelle spatiale, bien que significative, n'est pas liée aux distances géographiques. L'approche démographique a confirmé que les populations de *M. laminarioides* sont sujettes à des processus stochastiques pouvant conduire à l'extinction locale. Néanmoins, cette espèce possède une grande capacité de recrutement, et on s'attend à ce que la recolonisation soit rapide et que la population, grâce à un taux de renouvellement important, atteigne rapidement l'équilibre démographique.

Un second préalable à l'adaptation locale est la co-évolution dans les populations d'hôtes et d'endophytes des fréquences des gènes responsables de l'interaction entre hôtes et endophytes. Ces changements sont possibles si l'interaction entre l'hôte et l'endophyte s'accompagne de pressions de sélection de l'un sur l'autre. Il était donc nécessaire d'estimer quels pouvaient être les pressions de sélection qu'exercent les endophytes sur leur hôte. L'approche expérimentale de laboratoire a montré que les infections par *Pleurocapsa* sp. réduisent fortement la fertilité de *M. laminarioides*. L'approche démographique n'a en

revanche pas pu révéler d'effet significatif sur la survie des individus. Une estimation de la valeur sélective a néanmoins été possible (en ne considérant que la survie juvénile) et montre un effet négatif très fort des infections par *Pleurocapsa* sp. Nous avons vu également que cet effet est différent sur les individus haploïdes et diploïdes. L'estimation de la valeur sélective telle qu'elle a été donnée (le produit de la fécondité par la survie juvénile) montre en effet que les diploïdes sains ont en moyenne une meilleure valeur sélective que les diploïdes, alors que c'est le contraire pour les individus très infectés (qui composent la majorité des zones de forte prévalence des infections). Les conséquences démographiques de cette différence de sensibilité aux infections selon le niveau de ploïdie n'ont pas pu être testées au cours de ma thèse, et constituent donc une perspective intéressante pour la poursuite de l'étude de cette interaction ainsi que dans le cadre de la théorie de l'évolution des cycles de reproduction.

Par ailleurs, l'approche démographique a montré que le taux de renouvellement des populations est très important puisque 60 à 80 % des individus ont été remplacés entre les deux suivis. Cette dynamique populationnelle suggère que les fréquences des génotypes peuvent changer rapidement, en particulier grâce à la recombinaison des allèles aux différents locus, mais aussi parce que les flux de gènes entre populations semble très réduits. Cependant, deux forces peuvent alors faire changer les fréquences génotypiques : d'une part la sélection fréquence dépendante exercée par les pathogènes, d'autre part la dérive génétique. De l'équilibre entre ces deux forces dépendent les possibilités d'adaptation locale.

Le patron d'adaptation locale a été examiné par une approche expérimentale de transplantations d'individus hôtes. Il est apparu que *Pleurocapsa* sp. est adaptée à un ensemble de populations d'hôtes séparées par quelques kilomètres à quelques dizaines de kilomètres au plus. Deux hypothèses non exclusives ont été avancées pour expliquer ce résultat : la première suppose que la stochasticité locale freine le processus d'adaptation locale en faisant fluctuer aléatoirement les fréquences des génotypes, la seconde considère que *Pleurocapsa* sp. possède une capacité de migration à distance suffisamment grande pour être régulièrement confrontée à différentes populations de *M. laminarioides*. L'analyse de la structure génétique des populations de *Pleurocapsa* sp. permettra sans doute de compléter cette image de l'interaction entre la cyanobactérie et son hôte.

Les études combinant des approches de démographie et de génétique de populations sont de plus en plus répandues (voir Engel-Palmiter, 2000; Garnier, 2000; Auge *et al.*, 2001; Fréville, 2001). En intégrant des aspects épidémiologiques, nous avons vu qu'il est alors

possible de mieux comprendre les potentialités coévolutives entre hôtes et pathogènes (voir également Ebert & Mangin, 1997).

Une nouvelle approche dans l'étude des interactions hôte-pathogène consiste à intégrer les connaissances de plus en plus précises et détaillées des mécanismes biochimiques de reconnaissance et de virulence (Dangl & Jones, 2001) aux aspects d'épidémiologie, d'écologie et de biologie des populations (Baldwin *et al.*, 2001). En particulier, l'étude de la spécificité biochimique des attaques et des défenses ouvre l'étude de la diversité des gènes de résistance et de virulence (Franck, 2000). Il est maintenant clair que dans la plupart des interactions plante hôte-parasite, la résistance aux pathogènes est le résultat de l'expression de plusieurs gènes, souvent en interaction (Kover & Caicedo, 2001). La confrontation, dans les populations naturelles, de la distribution spatio-temporelle de ces gènes et de la variabilité des réactions de défense et d'attaque offre l'intérêt d'une approche intégrée des mécanismes de coévolution entre les hôtes et leurs pathogènes. Ces perspectives sont tout à fait d'actualité dans le domaine de la phytopathologie (Bouarab *et al.*, 2001a).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aberg P. (1990) Measuring size and choosing category size for a transition matrix study of the seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* **63**, 281-287.
- Aberg P. (1992a) A demographic study of two populations of the seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Ecology* **73**, 1473-1487.
- Aberg P. (1992b) Size based demography of the seaweed *Ascophyllum nodosum* in stochastic environments. *Ecology* **73**, 1488-1501.
- Aberg P., Pavia H. (1997) Temporal and multiple scale spatial variation in juvenil and adult abundance of the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* **158**, 111-119.
- Agrios G. N. (1988) *Plant pathology*, 3rd Edition edn. Academic Press, San Diego, USA.
- Alberto F., Santos R., Leitão J. M. (1999) Assessing patterns of geographic dispersal of *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta) through RAPD differentiation of populations. *Marine Ecology Progress Series* **191**, 101-108.
- Alberto P., Santos R., Leitão J. M. (1997) DNA extraction and RAPD markers to assess the genetic similarity among *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta) populations. *J. Phycol.* **33**, 706-710.
- Alexander H. M., Antonovics J. (1988) Disease spread and population dynamics of anther-smut infection of *Silene alba* caused by the fungus *Ustilago violacea*. *Journal of Ecology* **76**, 91-104.
- Alexander H. M. (1990) Dynamics of plant-pathogen interactions in natural plant communities. In: *Pests, Pathogens and Plant Communities* (eds. Burdon JJ, Leather SR), pp. 31-45. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Anderson R. M., May R. M. (1978) Regulation and stability of host-parasite population interactions. I. Regulatory process. *Journal of Animal Ecology* **47**, 219-247.
- Anderson R. M., May R. M. (1979) Population biology of infectious diseases. I. *Nature* **280**, 361-367.
- Anderson R. M., May R. M. (1980) Infectious diseases and population cycles of forest insects. *Science* **210**, 658-661.
- Andrews J. H. (1976) The pathology of marine algae. *Biological Reviews* **51**, 211-253.
- Andrews J. H. (1977) Observations on the pathology of seaweeds in the Pacific Nosthwest. *Canadian Journal of Botany* **55**, 1019-1027.
- Andrews J. H., Goff L. J. (1984) Pathology. In: *Handbook of phycological methods. Ecological field methods : Macroalgae* (eds. Littler M, Littler D), pp. 573-591. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ang P., DeWreede R. E., Shaughnessy F., Dyck L. (1990) A simulation model for an *Iridaea splendens* (Gigartinales, Rhodophyta) population in Vancouver, Canada. *Hydrobiologia* **204/205**, 191-196.
- Apt K. E. (1984) Effects of the symbiotic red alga *Hypneocolax stellaris* on its host *Hypnea musciformis* (Hypneaceae, Gigartinales). *Journal of Phycology* **20**, 148-150.
- Apt K. E. (1988a) Galls and tumor-like growths on marine macroalgae. *Diseases of Aquatic Organisms* **4**, 211-217.

- Apt K. E. (1988b) Morphology and development of hyperplasia on *Cystoseira osmundacea* (Phaeophyta) associated with *Haloguignardia irritans* (Ascomycotina). *Am. J. Bot.* **75**, 979-984.
- Apt K. E., Gibor A. (1989) Development and introduction of bacteria-associated galls on *Prionitis lanceolata* (Rhodophyta). *Diseases of Aquatic Organisms* **6**, 151-156.
- Ashen J. B., Goff L. J. (1996) Molecular identification of a bacterium associated with gall formation in the marine red alga *Prionitis lanceolata*. *Journal of Phycology* **32**, 286-297.
- Ashen J. B., Goff L. J. (1998) Galls on the marine alga *Prionitis lanceolata* (Halymeniaceae): specific induction and subsequent development of an algal-bacterial symbiosis. *American Journal of Botany* **85**, 1710-1721.
- Auge H., Neuffer B., Erlinghagen F., Grupe R., Brandl R. (2001) Demographic and random amplified polymorphic DNA analyses reveal high levels of genetic diversity in a clonal violet. *Molecular Ecology* **10**, 1811-1819.
- Baldwin I. T., Halitschke R., Kessler A., Schittko U. (2001) Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology* **4**, 351-358.
- Bandeira S. O., Nilsson P. G. (2001) Genetic population structure of the seagrass *Thalassodendron ciliatum* in sandy and rocky habitats in southern Mozambique. *Marine Biology* **139**, 1007-1012.
- Beaumont M. A., Nichols R. A. (1996) Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proceeding of the Royal Society London. serie B* **263**, 1619-1626.
- Behrens-Yamada S. (1989) Are direct developers more locally adapted than planktonic developers? *Marine Biology* **103**, 403-411.
- Bell G. (1982) *The Masterpiece of Nature* Croom Helm, Londres.
- Benzie J. A. H., Williams S. T. (1995) Gene flow among giant clam (*Tridacna gigas*) populations in Pacific does not parallel ocean circulation. *Marine Biology* **123**, 781-787.
- Bergman B., Rai A. N., Johansson C., Söderbäck E. (1992) Cyanobacterial-plant symbioses. *Symbiosis* **14**, 61-81.
- Bernardi G. (2000) Barriers to gene flow in *Embiotica jacksoni*, a marine fish lacking pelagic larval stage. *Evolution* **54**, 226-237.
- Bhattacharya D. (1985) The demography of fronds of *Chondrus crispus* Stackhouse. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **91**, 217-231.
- Billot C., Roussoval S., Estoup A., et al. (1998) Isolation and characterisation of microsatellite markers in the nuclear genome of the brown alga *Laminaria digitata* (Phaeophyceae). *Molecular Ecology* **7**, 1778-1780.
- Billot C. (1999) *Structuration génétique des populations de Laminaria digitata (Phaeophyceae) en Manche: utilisation de marqueurs hypervariables* 3e cycle, Institut National Agronomique Paris-Grignon.
- Boney A. D. (1975) Mucilage sheaths of spores of red algae. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* **55**, 511-518.
- Bouarab K., Potin P., Correa J. A., Kloareg B. (1999) Sulfated oligosaccharides mediate the interaction between a marine red alga and its green algal pathogenic endophyte. *Plant Cell* **11**, 1635-1650.
- Bouarab K., Kloareg B., Potin P., Correa J. A. (2001a) Ecological and biochemical aspects in algal infectious diseases. *Cahiers de Biologie Marine* **42**, 91-100.

- Bouarab K., Potin P., Weinberger F., Correa J. A., Kloareg B. (2001b) The *Chondrus crispus*-*Acrochaete operculata* host-pathogen association, a novel model in glycobiology and applied phycopathology. *Journal of Applied Phycology*.
- Bucheli E., Shykoff J. A. (1999) The influence of plant spacing on density-dependent versus frequency-dependent spore transmission of the anther smut *Microbotryum violaceum*. *Oecologia* **119**, 55-62.
- Burdon J. (1993) The structure of pathogen populations in natural plant communities. *Annual Review of Phytopathology* **31**, 305-323.
- Burdon J. J., Jarosz A. M., Kirby G. C. (1989) Pattern and patchiness in plant-pathogen interaction: causes and consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* **20**, 119-136.
- Burdon J. J., Leather S. R. (1990) *Pests, Pathogens and Plant Communities*, p. 333. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Buschmann A., Santelices B. (1987) Micrograzers and spore release in *Iridaea laminarioides* Bory (Rhodophyta: Gigartinales). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **108**, 171-179.
- Buschmann A., Correa J., Beltran J., Retamales C. (1997) Determinants of disease expression and survival of infected individual fronds in wild populations of *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta) in central and southern Chile. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **154**, 269-280.
- Buschmann A. H., Vergara P. A. (1993) Effect of rocky intertidal amphipods on algal recruitment: a field study. *J. Phycol.* **29**, 154-159.
- Carton Y. (1988) La coévolution. *La Recherche* **202**, 1022-1031.
- Castilla J. C. (1988) Earthquake-caused coastal uplift and its effects on rocky intertidal kelp communities. *Science* **242**, 440-443.
- Castilla J. C. (2000) Roles of experimental marine ecology in coastal management and conservation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **250**, 3-21.
- Castilla J.-C. (1999) Coastal marine communities: trends and perspectives from human-exclusion experiments. *Trends in Ecology and Evolution* **14**, 280-283.
- Charlesworth B., Morgan M. T., Charlesworth D. (1993) The effect of deleterious mutations on neutral molecular variation. *Genetics* **134**, 1289-1303.
- Clay K. (1990) Comparative demography of three graminoids infected by systemic, clavicipitaceous fungi. *Ecology* **71**, 558-570.
- Combes C. (1995) *Interactions durables. Ecologie et évolution du parasitisme* Masson, Paris.
- Cornuet J. M., Luikart G. (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottleneck from allele frequency data. *Genetics* **144**, 2001-2014.
- Cornuet J.-M., Piry S., Luikart G., Estoup A., Solignac M. (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* **153**, 1989-2000.
- Correa J., MacLachlan J. (1991) Endophytic algae of *Chondrus crispus* (Rhodophyta). III. Host-specificity. *J. Phycol.* **27**, 448-459.
- Correa J., Flores V., Sanchez P. (1993) Deformative disease in *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta) : gall development associated with an endophytic cyanobacterium. *Journal of Phycology* **29**, 853-860.
- Correa J., Flores V., Garrido J. (1994) Green patch disease in *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta) caused by *Endophyton* sp. (Chlorophyta). *Diseases of Aquatic Organisms* **19**, 203-213.
- Correa J., MacLachlan J. (1994a) Endophytic algae of *Chondrus crispus* (Rhodophyta). V. Fine structure of the infection by *Acrochaete operculata* (Chlorophyta). *Eur. J. Phycol.* **29**, 33-47.

- Correa J., Sanchez P. (1996) Ecological aspects of algal infectious diseases. *Hydrobiologia* **326/327**, 89-95.
- Correa J., Buschmann A., Retamales C., Beltran J. (1997) Infectious diseases of *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta) : changes in infection prevalence and disease expression associated with season, locality, and within-site location. *Journal of Phycology* **33**, 344-352.
- Correa J. A., McLachlan J. (1992) Endophytic algae of *Chondrus crispus* (Rhodophyta). IV. Detrimental effects on the host following infections by *Acrochaete operculata* and *A. heteroclada* (Chlorophyta). *Marine Ecology Progress Series* **81**, 73-87.
- Correa J. A. (1994) Infections by pigmented algal endophytes : misuse of concepts and terminology. *Revista Chilena de Historia Natural* **67**, 4-8.
- Correa J. A., MacLachlan J. L. (1994b) Endophytic algae of *Chondrus crispus* Stackh. (Rhodophyta). IV. Detrimental effects on the host following infection by *Acrochaete operculata* and *A. heteroclada* (Chlorophyta). *Marine Ecology Progress Series* **81**, 73-87.
- Correa J. A. (1995) Aislamiento y cultivo de algas endofíticas que infectan macroalgas marinas. In: *Manual de Métodos Ficológicos* (eds. Alveal K, Ferrario ME, Oliveira EC, Sar E). Universidad de Concepción, Concepción.
- Correa J. A. (1997) Infectious diseases of marine algae: current knowledge and approaches. In: *Progress in Phycological Research* (eds. Round FE, Chapman DJ), pp. 149-180. Biopress Ltd., Bristol.
- Correa J. A., Castilla J.-C., Ramirez M., et al. (1999) Copper mine tailings and their effects on marine algae in northern Chile. *Journal of Applied Phycology* **11**, 57-67.
- Coyer J. A., Olsen J. L., Stam W. T. (1997) Genetic variability and spatial separation in the sea palm kelp *Postelsia palmaeformis* (Phaeophyceae) as assessed with M13 fingerprints and RAPDs. *Journal of Phycology* **33**, 561-568.
- Craigie J., Leigh C. (1978) Carrageenans and agars. In: *Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods* (eds. Hellbust JA, Craigie JS), pp. 109-131. Cambridge University Press, London.
- Craigie J. S., Pringle J. D. (1978) Spatial distribution of tetrasporophytes and gametophytes in four maritime populations of *Chondrus crispus*. *Canadian Journal of Botany* **56**, 2910-2914.
- Craigie J. S. (1990) Irish moss cultivation: some reflections. In: *Economically important marine plants of the Atlantic. Their biology and cultivation* (eds. Yarish C, Penniman CA, vanPatten P), pp. 37-52. University of Connecticut, Groton, Connecticut.
- Craigie J. S., Correa J. A. (1996) Etiology of infectious diseases in cultivated *Chondrus crispus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* **326/327**, 97-104.
- Crawford T. J. (1984) The estimation of neighbourhood parameters for plant populations. *Heredity* **52**, 273-283.
- Crow J. F., Kimura M. (1965) Evolution in sexual and asexual populations. *American Naturalist* **99**, 439-450.
- Crow J. F., Kimura M. (1970) *An introduction to population genetics theory* Harper & Row, New York.
- Dagnelie P. (1975) *Théories et méthodes statistiques. Applications agronomiques* Les Presses Agronomiques de Gembloux, A.S.B.L., Gembloux (Belgique).
- Dangl J. L., Jones J. D. G. (2001) Plant pathogens and integrated defense responses to infection. *Nature* **411**, 826-833.
- Davies N., Villablanca F. X., Roderick G. K. (1999) Determining the source of individuals: multilocus genotyping in nonequilibrium population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* **14**, 17-21.

- Delmotte F., Bucheli E., Shykoff J. A. (1999) Host and parasite population structure in a natural plant-pathogen system. *Heredity* **82**, 300-308.
- Destombe C., Valero M., Vernet P., Couvet D. (1989) What controls haploid-diploid ratio in the red alga, *Gracilaria verrucosa*? *J. Evol. Biol.* **2**, 317-338.
- Destombe C., Godin J., Remy J.-M. (1990) Viability and dissemination of spermatia of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* **204/205**, 219-223.
- Dinoor A., Eshed N. (1984) The role and importance of pathogens in natural plant communities. *Ann. Rev. Phytopathol.* **22**, 443-466.
- Dobson A., Crawley M. (1994) Pathogens and the structure of plant communities. *TREE* **9**, 393-398.
- Dybdahl M., Lively C. (1996) The geography of coevolution : comparative population structures for a snail and its trematode parasite. *Evolution* **50**, 2264-2275.
- Dyck L., DeWreede R. E., Garbary D. (1985) Life history phases in *Iridaea cordata* (Gigartinales): relative abundance and distribution from British Columbia to California. *Jap. J. Phycol.* **33**, 225-232.
- Ebert D. (1994) Virulence and local adaptation of a horizontally transmitted parasite. *Science* **265**, 1084-1086.
- Ebert D., Mangin K. L. (1997) The influence of host demography on the evolution of virulence of a microsporidian gut parasite. *Evolution* **51**, 1828-1837.
- Edmands S., Potts D. C. (1997) Population genetic structure in brooding sea anemones (*Epiactis* spp.) with contrasting reproductive modes. *Marine Biology* **127**, 485-498.
- Eldridge M. D. B., Kinnear J. E., Onus M. L. (2001) Source population of dispersing rock-wallabies (*Pterogale lateralis*) identified by assignment tests on multilocus genotypic data. *Molecular Ecology* **10**, 2867-2876.
- Ellertsdóttir E., Peters A. F. (1997) High prevalence of infection by endophytic brown algae in populations of *Laminaria* spp. (Phaeophyceae). *Marine Ecology Progress Series* **146**, 135-143.
- Engel C., Wattier R., Destombe C., Valero M. (1997) Dispersal in a haplo-diploid red algal species: genetic structure and gene flow in *Gracilaria gracilis*. *Vie & Milieu* **47**, 333-337.
- Engel C., Wattier R., Destombe C., Valero M. (1999) Performance of non-motile male gametes in the sea: analysis of paternity and fertilization success in a natural population of a red seaweed, *Gracilaria gracilis*. *Proceeding of the Royal Society London. serie B* **166**, 1879-1886.
- Engel C., Destombe C., Valero M. (In prep.) Consequence of haploid-diploid life history and intertidal rock pool landscape on microgeographic genetic structure in the red seaweed *Gracilaria gracilis*.
- Engel C. R., Aberg P., Gaggiotti O., Destombe C., Valero M. (2001) Population dynamics and stage structure in a haploid-diploid red alga, *Gracilaria gracilis*. *Journal of Ecology* **89**, 436-450.
- Engelen A. H., Olsen J. L., Breeman A. M., Stam W. T. (2001) Genetic differentiation in *Sargassum polyceratum* (Fucales: Phaeophyceae) around the island of Curaçao (Netherlands Antilles). *Marine Biology* **139**, 267-277.
- Engel-Palmiter C. (2000) *Fonctionnement des populations d'une espèce d'algue rouge marine haplo-diploïde : structures et dynamiques démographiques et génétiques chez Gracilaria gracilis* 3e cycle, Université Lille I.
- Evans L. V., Trewhavas A. J. (1991) Is algal development controlled by plant growth substances? *Journal of Phycology* **27**, 322-326.

- Excoffier L., Smouse P. E., Quattro J. M. (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**, 479-491.
- Fahima T., Sun G. L., Beharav A., *et al.* (1999) RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theoretical and Applied Genetics* **98**, 434-447.
- Fowler N. L., Clay K. (1995) Environmental heterogeneity, fungal parasitism and the demography of the grass *Stipa leucotricha*. *Oecologia* **103**, 55-62.
- Franck S. (1991) Ecological and genetic models of host-pathogen coevolution. *Heredity* **67**, 73-83.
- Franck S. A. (1993a) Coevolutionary genetics of plants and pathogens. *Evolutionary Ecology* **7**, 45-75.
- Franck S. A. (1993b) Specificity versus detectable polymorphism in host-parasite genetics. *Proceeding of the Royal Society London. serie B* **254**, 191-197.
- Franck S. A. (1997) Spatial processes in host-parasite genetics. In: *Metapopulation biology: ecology, genetics, and evolution* (eds. Hanski I, Gilpin ME), pp. 325-352. Academic Press, Inc., San Diego, USA.
- Franck S. A. (2000) Polymorphism of attack and defense. *Trends in Ecology and Evolution* **15**, 167-171.
- Freshwater D. W., Fredericq S., Butler B. S., Hommersand M. H., Chase M. W. (1994) A gene phylogeny of the red algae (Rhodophyta) based on plastid *rbcL*. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **91**, 7281-7285.
- Fréville H. (2001) *La Centaurée de la Clape : Biologie d'une espèce rare et réflexions méthodologiques*, Université Montpellier II.
- Friedlander M., Gunkel W. (1992) Factors leading to thallus disintegration and the control of these factors in *Gracilaria* sp., 221-243.
- Fujita Y. (1990) Disease of cultivated *Porphyra* in Japan. In: *Introduction to applied phycology* (ed. Akatsuka I), pp. 117-190. SPB Academic Publishing, Amsterdam, Hollande.
- Futuyama D. J., Slatkin M. (1983) *Coevolution* Sinauer, Sunderland.
- Gaines S., Roughgarden J. (1985) Larval settlement rate: A leading determinant of structure in an ecological community of the marine intertidal zone. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **82**, 3707-3711.
- Gandon S., Capowiez Y., Dubois Y., Michalakis Y., Olivieri I. (1996) Local adaptation and gene-for-gene coevolution in a metapopulation model. *Proceeding of the Royal Society London. serie B* **263**, 1003-1009.
- Gandon S., Ebert D., Olivieri I., Michalakis Y. (1998) Differential adaptation in spatially heterogeneous environments and host-parasite coevolution. In: *Genetic structure and local adaptation in natural insect populations* (eds. Mopper S, Strauss SY), pp. 325-342. Chapman & Hall, New York.
- Gandon S., vanZandt P. A. (1998) Local adaptation and host-parasite interactions. *TREE* **13**, 214-216.
- Gardner N. L. (1909) New Chlorophyceae from California. *Univ. Calif. Publs. Bot.* **3**, 371-375.
- Gardner N. L. (1918) New Pacific Coast marine algae II-III. *Univ. Calif. Publ. Bot.* **6**, 429-486.
- Garnier L. (2000) *Stratégies démographiques et structuration génétique chez une espèce apomictique tropicale, Hyparrhenia diplandra*, Université Paris VI.
- Gerwick W. H., Lang N. J. (1977) Structural, chemical and ecological studies on iridescence in *Iridaea* (Rhodophyta). *Journal of Phycology* **13**, 121-127.



- Giles B. E., Goudet J. (1997) Genetic differentiation in *Silene dioica* metapopulations : estimation of spatiotemporal effects in a successional plant species. *Am. Nat.* **149**, 507-526.
- Godelle B., Austerlitz F., Branchet S., *et al.* (1998) Système génétique, polymorphisme neutre et sélectionné : implications en biologie de la conservation. *Genet. Sel. Evol.* **30**, S15-S28.
- Goff L., Ashen J., Moon D. (1997) The evolution of parasites from their hosts : a case study in the parasitic red algae. *Evolution* **51**, 1068-1078.
- Goff L. J., Glasgow J. C. (1980) Pathogens of marine algae, p. 236. Sea Grant College Program, La Jolla, USA.
- Goff L. J. (1983) Marine algal associations: epibiosis, endobiosis, parasitism and disease., 221-274.
- Goff L. J., Coleman A. W. (1984) Transfer of nuclei from a parasite to its host. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **81**, 5420-5424.
- Goff L. J., Zuccarello G. (1994) The evolution of parasitism in red algae: cellular interactions of adelphoparasites and their hosts. *Journal of Phycology* **30**, 695-720.
- Goff L. J., Moon D. A., Nyvall P., *et al.* (1996) The evolution of parasitism in the red algae : molecular comparisons of adelphoparasites and their hosts. *Journal of Phycology* **32**, 297-312.
- Goldson A. J., Hughes R. N., Gliddon C. J. (2001) Population genetic consequences of larval dispersal mode and hydrogeography: a case study with the bryozoans. *Marine Biology* **138**, 1037-1042.
- Gómez I. M., Westermeier R. C. (1991) Frond regrowth from basal disc in *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta, Gigartinales) at Mehuín, Southern Chile. *Marine Ecology Progress Series* **73**, 83-91.
- Grenfell B., Harwood J. (1997) (Meta)population dynamics of infectious diseases. *Trends in Ecology and Evolution* **12**, 395-399.
- Hamilton W. D. (1980) Sex versus non-sex versus parasite. *Oikos* **35**, 282-290.
- Hamilton W. D., Axelrod R., Tanese R. (1990) Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites (a review). *Proceedings of the National Academy of Science USA* **87**, 3566-3573.
- Hannach G., Santelices B. (1985) Ecological differences between the isomorphic reproductive phases of two species of *Iridaea* (Rhodophyta : Gigartinales). *Marine Ecology Progress Series* **22**, 291-303.
- Hannach G., Waaland J. R. (1986) Environment, distribution and production of *Iridaea*. *Aquatic Botany* **26**, 51-78.
- Hanski I. (1997) Metapopulation dynamics. From concepts and observations to predictive models. In: *Metapopulation Biology: Ecology, Genetics, and Evolution* (eds. Hanski I, Gilpin ME). Academic Press, San Diego. CA.
- Hanski I., Simberloff D. (1997) The metapopulation approach, its history, conceptual domain, and application to conservation. In: *Metapopulation Biology: Ecology, Genetics, and Evolution* (eds. Hanski I, Gilpin ME), pp. 5-26. Academic Press, San Diego. CA.
- Hardy O. J., Vekemans X. (1999) Isolation by distance in a continuous population: reconciliation between spatial autocorrelation analysis and population genetic models. *Heredity* **83**, 145-154.
- Harris S. A. (1999) RAPDs in systematics - a usefull methodology? In: *Molecular systematics and plant evolution* (eds. Hollingsworth PM, Bateman RM, Gornall RJ), pp. 211-228. Taylor & Francis, London.
- Hedgecock D. (1986) Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? *Bulletin of Marine Science* **39**, 550-564.

- Hoffmann A., Santelices B. (1997) *Flora marina de Chile central* Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.
- Hoffmann A. J. (1987) The arrival of seaweed propagules at the shore : a review. *Botanica Marina* **30**, 151-165.
- Hoffmann A. J., Camus P. (1989) Sinking rates and viability of spores from benthic algae in central Chile. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **126**, 281-291.
- Hoffmann A. J., Santelices B. (1991) Banks of algal microscopic forms : hypotheses on their functioning and comparisons with seed bank. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **79**, 185-194.
- Hommersand M. H., Guiry M. D., Fredericq S., Leister G. L. (1993) New perspectives in the taxonomy of the Gigartinales (Gigartinales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* **260/261**, 105-120.
- Hommersand M. H., Fredericq S., Freshwater D. W. (1994) Phylogenetic systematics and biogeography of the Gigartinales (Gigartinales, Rhodophyta) based on sequence analysis of *rbcL*. *Botanica Marina* **37**, 193-203.
- Huang H., Layne D. R., Kubisiak T. L. (2000) RAPD inheritance and diversity in Pawpaw (*Asimina triloba*). *Journal of the American Society for Horticultural Science* **125**, 454-459.
- Ingvarsson P. K., Lundberg S. (1993) The effect of a vector-borne disease on the dynamics of natural plant populations: a model for *Ustilago violacea* infection of *Lychnis viscaria*. *Journal of Ecology* **81**, 263-270.
- Ishakawa Y., Saga N. (1989) The diseases of economically valuable seaweeds and pathology in Japan. In: *Current topics in Marine Biotechnology* (eds. Miyachi S, Karube I, Ishida Y), pp. 215-218. Fuji Technology Press, Tokyo, Japan.
- Jarosz A. M., Burdon J. J. (1992) Host-pathogen interactions in natural populations of *Linum marginale* and *Melampsora lini*. III. Influence of pathogen epidemics on host survivorship and flower production. *Oecologia* **89**, 53-61.
- Johanesson K., Tatarenkov A. (1997) Allozyme variation in a snail (*Littorina saxatilis*): deconfounding the effects of microhabitat and gene flow. *Evolution* **51**, 402-409.
- Johnson M. S., Black R. (1995) Neighbourhood size and the importance of barriers to gene flow in an intertidal snail. *Heredity* **75**, 142-154.
- Johnson M. S., Black R. (1998) Increased genetic divergence and reduced genetic variation in populations of the snail *Bembicium vittatum* in isolated tidal ponds. *Heredity* **80**, 163-172.
- Kaltz O., Shykoff J. A. (1998) Local adaptation in host-parasite systems. *Heredity* **81**, 361-370.
- Kaltz O., Gandon S., Michalakis Y., Shykoff J. A. (1999) Local maladaptation in the anther-smut fungus *Microbotryum violaceum* to its host plant *Silene latifolia*: evidence from a cross-inoculation experiment. *Evolution* **53**, 395-407.
- Kasama F. Y., Fuller M. S. (1970) Ultrastructure of *Porphyra perforata* infected with *Phytium marinum*, a marine fungus. *Canadian Journal of Botany* **48**, 2103-2107.
- Kazama F. Y. (1979) *Phytium* "red root disease" of *Porphyra*. *Experientia* **35**, 443-444.
- Kimura M., Weis G. H. (1964) The stepping-stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics* **49**, 561-576.
- Kover P. X., Caicedo A. L. (2001) The genetic architecture of disease resistance in plants and the maintenance of recombination by parasites. *Molecular Ecology* **10**, 1-16.
- Kremer B. P. (1983) Carbon economy and nutrition of the alloparasitic red alga *Harveyella mirabilis*. *Marine Biology*, 231-239.
- Küpper F. C., Kloareg B., Guern J., Potin P. (2001) Oligoguluronates elicit an oxidative burst in the brown algal kelp *Laminaria digitata*. *Plant Physiology* **125**, 278-291.

- Kusumo H. T., Druehl L. D. (2000) Variability over space and time in the genetic structure of the winged kelp *Alaria marginata*. *Marine Biology* **136**, 397-409.
- Kyle C. J., Boulding E. G. (2000) Comparative genetic structure of marine gasteropods (*Littorina* spp.) with and without pelagic larval dispersal. *Marine Biology* **137**, 835-845.
- Lazo M. L., Greenwell M., McLachlan J. (1989) Population structure of *Chondrus crispus* Stackhouse (Gigartinales, Rhodophyta) along the coast of Prince Edward Island, Canada : distribution of gametophytic and sporophytic fronds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **126**, 45-58.
- Leonardi P. I., Correa J., Cáceres E. J. (1997) Ultrastructure and taxonomy of the genus *Endophyton* (Ulvales, Ulvophyceae). *European Journal of Phycology* **32**, 175-183.
- Lewontin R. G., Kojima K. (1960) The evolutionary dynamics of complex polymorphisms. *Evolution* **14**, 450-472.
- Lindgren A., Bouza N., Aberg P., Sosa P. A. (1998) Spatial and temporal variation in distribution of *Gelidium canariensis* (Rhodophyta) from natural populations of the Canary islands. *J. Appl. Phycology* **10**, 273-278.
- Littler M. M., Littler D. S. (1994) A pathogen of reef-building coralline algae discovered in the South Pacific. *Coral Reefs* **13**, 202.
- Littler M. M., Littler D. S. (1995) Impact of CLOD pathogen on Pacific coral reefs. *Science* **267**, 1356-1360.
- Lively C. M. (1989) Adaptation by a parasitic trematode to local populations of its snail host. *Evolution* **43**, 1663-1671.
- Lively C. M., Apanius V. (1995) Genetic diversity in host-parasite interactions. In: *Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations* (eds. Grenfell BT, Dobson AP), p. 521. Cambridge University Press.
- Lively C. M., Jokela J. (1996) Clinal variation for local adaptation in a host-parasite interaction. *Proceeding of the Royal Society London. serie B* **263**, 891-897.
- Lobban C. S., Harrison P. J. (1994) *Seaweed ecology and physiology* Cambridge University Press, Cambridge.
- Lu T. T., Williams S. L. (1994) Genetic diversity and genetic structure in the brown alga *Halidrys dioica* (Fucales: Cystoseiraceae) in Southern California. *Marine Biology* **121**, 363-371.
- Luikart G., Cornuet J.-M. (1998) Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Cons. Biol.* **12**, 228-237.
- Luo H., Mörchen M., Engel C., et al. (1999) Characterisation of microsatellite markers in the red alga *Gracilaria gracilis*. *Molecular Ecology* **8**, 700-702.
- Luxoro C., Santelices B. (1989) Additional evidence for ecological differences among isomorphic reproductive phases of *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta, Gigartinales). *Journal of Phycology* **25**, 206-212.
- Lynch M., Milligan B. G. (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* **3**, 91-99.
- Mable B. K., Otto S. P. (1998) The evolution of life cycles with haploid and diploid phases. *BioEssays* **20**, 453-462.
- Mantel N. (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* **27**, 209-220.
- Marr D. L. (1997) Impact of a pollinator-transmitted disease on reproduction in healthy *Silene acaulis*. *Ecology* **78**, 1471-1480.
- Marsalek B., Zahradnickova H., Hronkova M. (1992) Extra-cellular abscisic acid produced by cyanobacteria under salt stress. *Journal of Plant Physiology* **139**, 506-508.

- Martínez E., Correa J. A. (1993) Sorus-specific epiphytism affecting the kelps *Lessonia nigrescens* and *L. trabeculata* (Phaeophyta). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **96**, 83-92.
- May G. (1986) Life history variations in a predominantly gametophytic population of *Iridaea cordata* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Journal of Phycology* **22**, 448-455.
- May R. (1991) The dynamics and genetics of host-parasite associations. In: *Parasite-host associations. Coexistence or conflict ?* (eds. Toft C, Aeschlimann A, Bolis L), pp. 102-128. Oxford Science Publications.
- May R. M., Anderson R. M. (1979) Population biology of infectious diseases. II. *Nature* **280**, 455-461.
- May R. M., Anderson R. M. (1983) Epidemiology and genetics in the coevolution of parasites and hosts. *Proceeding of the Royal Society London. serie B* **219**, 281-313.
- Maynard-Smith J. (1978) *The evolution of sex* Cambridge University Press, Cambridge.
- McCandless E. L., West J. A., Guiry M. D. (1983) Carrageenan patterns in the Gigartinaceae. *Biochemical Systematics and Ecology* **11**, 175-182.
- McCauley D. E., Raveill J., Antonivics J. (1995) Local founding events as determinants of genetic structure in plant metapopulation. *Heredity* **75**, 630-636.
- Meneses I. (1996) Assessment of populations of *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta) utilizing RAPDs. *Journal of Applied Phycology* **8**, 185-192.
- Meneses I. (2001) Insights on the biology of *Gracilaria chilensis* using molecular technics. *Cahiers de Biologie Marine* **42**, 215-224.
- Michalakis I. (1992) *Evolution des systèmes plantes hôtes-insectes parasites: approche théorique et expérimentale*, Université Montpellier II.
- Michalakis Y., Olivieri I., Renaud F., Raymond M. (1992) Pleiotropic action of parasites: how to be nice with the host. *Trends in Ecology and Evolution* **7**.
- Miller K. A., Olsen J. L., Stam W. T. (2000) Genetic divergence correlates with morphological and ecological subdivision in the deep-water elk Kelp, *Pelagophycus porra* (Phaeophyceae). *Journal of Phycology* **36**, 862-870.
- Molina F. I., Hughes G. C., Craigie J. S. (1988) Temperature-influenced infection rates in the *Chondrus crispus*-*Petersenia pollagaster* pathosystem: a regression analysis. *Marine Biology* **97**, 431-433.
- Moreno C. A., Jaramillo E. (1983) The role of grazers in the zonation of intertidal macroalgae of the Chilean coast. *Oikos* **42**, 73-76.
- Müller D. G., Stache B., Lanka S. (1990) A virus infection in the marine brown algae *Ectocarpus siliculosus* (Phaeophyta). *Botanica Acta* **103**, 72-82.
- Müller D. G., Frenzer K. (1993) Virus infections in three marine brown algae: *Feldmania irregularis*, *F. simplex* and *Ectocarpus siliculosus*. *Hydrobiologia* **260/261**, 37-44.
- Müller D. G., Parodi E. (1993) Transfer of a marine DNA virus from *Ectocarpus* to *Feldmania* (Ectocarpales, Phaeophyceae): aberrant symptoms and restitution of the host. *Protoplasma* **175**, 121-125.
- Mutikainen P., Salonen V., Puustinen S., Kosela T. (2000) Local adaptation, resistance, and virulence in a hemiparasitic plant-host plant interaction. *Evolution* **54**, 433-440.
- Nee S. (1989) Antagonistic coevolution and the evolution of genotypic randomisation. *Journal of Theoretical Biology* **140**, 499-518.
- Nei M., Maruyama T., Chakraborty R. (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* **29**, 1-10.
- Nei M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**, 583-590.
- Nester E. W., Kosuge T. (1981) Plasmids specifying plant hyperplasias. *Annual Review of Microbiology* **35**, 531-565.
- Norton T. A. (1992) Dispersal by macroalgae. *Br. Phycol. J.* **27**, 293-301.

- Ohta T. (1982a) Linkage disequilibrium due to random genetic drift in finite subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **79**, 1940-1944.
- Ohta T. (1982b) Linkage disequilibrium with the island model. *Genetics* **101**, 139-155.
- O'Kelly C. (1982) Observations on marine Chaetophoraceae (Chlorophyta). III. The structure, reproduction and life history of *Endophyton ramosum*. *Phycologia* **21**, 247-257.
- O'Kelly C. J., Floyd G. L. (1984) Correlations among patterns of sporangial structure and development, life histories, and ultrastructural features in the Ulvophyceae. In: *Systematics of the green algae* (eds. Irvine DEG, John DM), pp. 121-156. Academic Press, Londres.
- Otto S., Marks J. C. (1996) Mating systems and the evolutionary transition between haploidy and diploidy. *Biological Journal of the Linnean Society* **57**, 197-218.
- Otto S. P., Michalakis Y. (1998) The evolution of recombination in changing environments. *Trends in Ecology and Evolution* **13**, 145-151.
- Owuor E. D., Fahima T., Beiles A., Korol A. (1997) Population genetic response to microsite ecological stress in wild barley, *Hordeum spontaneum*. *Molecular Ecology* **6**, 1177-1187.
- Palumbi S. (1992) Marine speciation on a small planet. *TREE* **7**, 114-118.
- Palumbi S. (1994) Genetic divergence, reproductive isolation and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **25**, 547-572.
- Parodi E. R., Müller D. G. (1994) Field and culture studies on virus infections in *Hincksia hincksiae* and *Ectocarpus fasciculatus* (Ectocarpales, Phaeophyceae). *European Journal of Phycology* **29**, 113-117.
- Paulsrud P., Lindblad P. (1998) Sequence variation of the tRNA^{Leu} intron as a marker for genetic diversity and specificity of symbiotic cyanobacteria in some lichens. *Appl. Env. Microbio.* **64**, 310-315.
- Pechenik J. A. (1999) On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Marine Ecology Progress Series* **177**, 169-197.
- Pérez T., Albornoz J., Domínguez A. (1998) An evaluation of RAPD fragment reproductibility and nature. *Molecular Ecology* **7**, 1347-1357.
- Perrot V., Richerd S., Valero M. (1991) Transition from haploidy to diploidy. *Nature* **351**, 315-317.
- Poore A. G. B., Steinberg P. D. (2001) Host-plant adaptation in an herbivorous marine amphipod: genetic potential not realized in field populations. *Evolution* **55**, 68-80.
- Poulin E., Féral J.-F. (1996) Why are there so many species of brooding antarctic echinoids? *Evolution* **50**, 820-830.
- Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
- Pueschel C. M. (1989) Survey of the ultrastructure of red algal pit plugs. *Journal of Phycology* **25**, 625-636.
- Rabouam C., Comes A. M., Bretagnolle V., *et al.* (1999) Features of DNA fragments obtained by random amplified polymorphic DNA (RAPD) assays. *Molecular Ecology* **8**, 493-503.
- Rai A. N. (1990) *Handbook of symbiotic cyanobacteria* CRC, Boca Raton.
- Rannala B., Mountain J. L. (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **94**, 9197-9201.
- Raymond M., Rousset F. (1995) An exact test for population differentiation. *Evolution* **49**, 1280-1283.
- Reineke A., Karlovsky P., Zebitz C. P. W. (1999) Suppression of randomly primed polymerase chain reaction products (randomly amplified polymorphic DNA) in heterozygous diploids. *Molecular Evolution* **8**, 1449-1455.

- Reynolds J., Weir B. S., Cockerham C. C. (1983) Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* **105**, 767-779.
- Rice W. R. (1990) A consensus combined *P*-value test and the family-wide significance of component tests. *Biometrics* **46**, 303-308.
- Richerd S., Couvet D., Valero M. (1993) Evolution of the alternation of haploid and diploid phases in life cycles. II. Maintenance of the haplo-diplontic cycle. *Journal of Evolutionary Biology* **6**, 263-280.
- Rieseberg L. H. (1996) Homology among RAPD fragments in interspecific comparisons. *Molecular Ecology* **5**, 99-105.
- Riginos C., Nachman M. W. (2001) Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Molecular Ecology* **10**, 1439-1453.
- Robledo D. R., Sosa P. A., Garcia-Reina G., Muller D. G. (1994) Photosynthetic performance of healthy and virus-infected *Feldmania irregularis* and *F. simplex* (Phaeophyceae). *Eur. J. Phycol.* **29**.
- Rocha-Olivares A., Vetter R. D. (1999) Effects of oceanographic circulation on the gene flow, genetic structure, and phylogeography of the rosenhorn rockfish (*Sebastes helvomaculatus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **56**, 803-813.
- Rossetto M., Slade R. W., Baverstock P. R., Henry R. J., Lee L. S. (1999) Microsatellite variation and assessment of genetic structure in tea tree (*Melaleuca alternifolia*-Myrtaceae). *Molecular Ecology* **8**, 633-643.
- Roughgarden J., Gaines S., Possingham H. (1998) Recruitment dynamics in complex life cycles. *Science* **241**, 1460-1466.
- Rousset F. (1997) Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-statistics under isolation by distance. *Genetics* **145**, 1219-1228.
- Rousset F. (2000) Inferences from spatial population genetics. In: *Handbook of statistical genetics* (eds. Balding D, Bishop M, Cannings C). J. Wiley & Sons, Ltd., New York.
- Ruckelshaus M. H. (1998) Spatial scale of genetic structure and an indirect estimate of gene flow in eelgrass *Zostera marina*. *Evolution* **52**, 330-343.
- Sanchez P., Correa J., Garcia-Reina G. (1996) Host-specificity of *Endophyton ramosum* (Chlorophyta), the causative agent of green patch disease in *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta). *European Journal of Phycology* **31**, 173-179.
- Sanchez P. A., Aedo D., Correa J. A., Müller D. (1997) The effect of viral infections on the reproductive potential of *Ectocarpus silicosus* (Phaeophyceae). *Phycologia* **36**, 97.
- Santelices B., Correa J. A., Avila M. (1983) Benthic algal spores surviving digestion by sea urchins. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **70**, 263-269.
- Santelices B., Norambuena R. (1987) A harvesting strategy for *Iridaea laminarioides* in central Chile. *Hydrobiologia* **151/152**, 329-333.
- Santelices B., Ugarte R. (1987) Algal life-history strategies and resistance to digestion. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **35**, 267-275.
- Santelices B. (1990) Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* **28**, 177-276.
- Santelices B. (1991) Littoral and sublittoral communities of continental Chile. In: *Ecosystems of the world. (24) Intertidal and littoral ecosystems* (eds. Mathieson AC, Nienhuis PH), pp. 347-369. Elsevier Science, N.Y.
- Santelices B., Hoffmann A. J., Aedo D., Bodbadilla M., Otaíza R. (1995) A bank of microscopic forms on disturbed boulders and stones in the tide pools. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **129**, 215-228.

- Santelices B., Correa J., Meneses I., Aedo D., Varela D. (1996) Sporeling coalescence and intraclonal variation in *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* **32**, 313-322.
- Santelices B., Martínez E. (1997) Hierarchical analysis of reproductive potential in *Mazzaella laminarioides* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Phycologia* **36**, 195-207.
- Santelices B., Correa J. A., Aedo D., *et al.* (1999) Convergent biological processes in coalescing Rhodophyta. *J. Phycol.* **35**, 1127-1149.
- Santos R., Duarte P. (1996) Fecundity, spore recruitment and size in *Gelidium sesquipedale* (Gelidiales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* **326-327**, 223-228.
- Santos R., Nyman M. (1998) Population modelling of *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta, Gelidiales). *J. Appl. Phycol.* **10**, 261-272.
- Schneider S., Roseli D., Excoffier L. (2000) Arlequin ver. 2.000: A software for population genetics data analysis. Laboratoire Génétique et Biométrie. Université de Genève., Genève.
- Scrosati R., Garbary D. J., MacLachlan J. (1994) Reproductive ecology of *Chondrus crispus* (Rhodophyta, Gigartinales) from Nova Scotia, Canada. *Botanica Marina* **37**, 293-300.
- Semagn K., Bjornstad A., Stedje B., Bekele E. (2000) Comparison of multivariate methods for the analysis of genetic resources and adaptation in *Phytolacca dodecandra* using RAPD. *Theoretical and Applied Genetics* **101**, 1145-1154.
- SERNAPESCA (2000) Anuario estadístico de pesca. Servicio Nacional de Pesca, Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucción, Valparaíso, Chile.
- Shaffer G., Homarzal S., Pizarro O., Salinas S. (1999) Seasonal and interannual variability of currents and temperature off central Chile. *Journal of Geophysical Research* **104**, 29951-29961.
- Shulman M. J., Bermingham E. (1995) Early life histories, ocean currents, and the population genetics of caribbean reef fishes. *Evolution* **49**, 897-910.
- Slatkin M. (1985) Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**, 393-430.
- Slatkin M. (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* **236**, 787-792.
- Slatkin M. (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* **47**, 263-279.
- Slatkin M. (1994) Linkage disequilibrium in growing and stable populations. *Genetics* **137**, 331-336.
- Sosa P. A., Lindstrom S. C. (1999) Isozymes in macroalgae (seaweeds): genetic differentiation, genetic variability and applications in systematics. *European Journal of Phycology* **34**, 427-442.
- StatSoft I. (1995) STATISTICA for Windows. v 5.0. StatSoft, Inc., Tulsa, OK.
- Stearns S. C. (1992) *The evolution of life histories* Oxford University Press, Oxford.
- Strub P. T., Mesias J. M., Montecino-Banderet V., Ruttlant-Costa J., Salinas-Marchant S. (1998) Coastal ocean circulation off western South America. In: *The Sea* (eds. Robinson AR, Brinks KH). J. Wiley & Sons, New York, NJ.
- Sunnucks P. (2000) Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution* **15**, 199-203.
- Taylor E. B., Beacham T. D., Kaeriyama M. (1994) Population structure and identification of north pacific ocean Chum salmon (*Oncorhynchus keta*) revealed by an analysis of minisatellite DNA variation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **51**, 1430-1442.
- Thomas B. R., Macdonald S. E., Hicks M., Adams D. L., Hodgetts R. B. (1999) Effects of reforestation methods on genetic diversity of lodgepole pine: an assessment using

- microsatellite and randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics* **98**, 793-801.
- Thompson J. (1997) Estimating the dynamics of coevolution among geographically-structured populations. *Ecology*.
- Thompson J. N. (1994) *The coevolutionary process* University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Thrall P. H., Jarosz A. M. (1994) Host-pathogen dynamics in experimental populations of *Silene alba* and *Ustilago violacea*. I. Ecological and genetic determinants of disease spread. *Journal of Ecology* **82**, 549-559.
- Thrall P. H., Biere A., Uyenoyama M. K. (1995) Frequency-dependent disease transmission and the dynamics of the *Silene-Ustilago* host-pathogen system. *American Naturalist* **145**, 43-62.
- Thrall P. H., Burdon J. J. (1997) Host-pathogen dynamics in a metapopulation context: the ecological and evolutionary consequences of being spatial. *Journal of Ecology* **85**, 743-753.
- Toft C. (1991) An ecological perspective : the population and community consequences of parasitism. In: *Parasite-host associations. Coexistence or conflict ?* (eds. Toft C, Aeschlimann A, Bolis L), pp. 319-343. Oxford Science Publications.
- Trowbridge C. D. (1996) Demography and phenology of the intertidal green alga *Codium setchellii*: the enigma of local scarcity and sand-influenced rocky shores. *Marine Biology* **127**, 341-351.
- Valero M., Richerd S., Perrot V., Destombe C. (1992) Evolution of alternation of haploid and diploid phases in life cycles. *Trends in Ecology and Evolution* **7**, 25-29.
- Valero M., Engel C., Billot C., Kloareg B., Destombe C. (2001) Concepts and issues of population genetics in seaweeds. *Cahiers de Biologie Marine* **42**, 53-62.
- VanDenHoek C., Mann D. G., Jahns H. M. (1995) *Algae. An introduction to phycology* Cambridge University Press, Cambridge, R. U.
- VanDerStrate H. J., Olsen J. L., VanDeZande L., Edwards K. J., Stam W. T. (2000) Isolation and characterization of microsatellite loci in the benthic seaweed, *Cladophoropsis membranacea* (Cladophorales, Chlorophyta). *Molecular Ecology* **9**, 1442-1443.
- VanDerStrate H. J., VanDeZande L., Stam W. T., Olsen J. L. (2002) The contribution of haploids, diploids and clones to fine-scale population structure in the seaweed *Cladophoropsis membranacea* (Chlorophyta). *Molecular Ecology* **Sous presse**.
- vanOppen M., Olsen J., Stam W. (1995) Genetic variation within and among North Atlantic and Baltic populations of the benthic alga *Phycodrys rubens* (Rhodophyta). *Eur. J. Phycol.* **30**, 251-260.
- vanOppen M. J., Klerk H., deGraaf M., Stam W. T., Olsen J. (1996) Assessing the limits of Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) in seaweed biogeography. *Journal of Phycology* **32**, 433-444.
- VanValen L. (1973) A new evolutionary law. *Evol. Theory* **1**, 1-30.
- Vergara P. A., Buschmann A. H., Kuschel F. A. (1990) Abundancia de amphipodos en el intermareal expuesto de Pucatrihue, Chile. *Revista de Biología Marina* **25**, 93-107.
- Waaland J. R. (1975) Differences in carrageenan in gametophytes and sporophytes of red algae. *Phytochemistry* **14**, 1359-1362.
- Wade M. J., McCauley D. E. (1988) Extinction and recolonization: their effects on the genetic differentiation of local populations. *Evolution* **42**, 995-1005.
- Waples R. S. (1987) A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. *Evolution* **41**, 385-400.
- Wares J. P., Gaines S. D., Cunningham C. W. (2001) A comparative study of asymmetric migration events across a marine biogeographic boundary. *Evolution* **55**, 295-306.

- Waser P. M., Strobeck C. (1998) Genetic signatures of interpopulation dispersal. *Trends in Ecology and Evolution* **13**, 43-44.
- Wattier R. (1998).
- Weinberger F., Friedlander M., Gunkel W. (1994) A bacterial facultative parasite of *Gracilaria conferta*. *Dis. Aquat. Org.* **18**, 135-141.
- Weinberger F., Friedlander M., Hoppe H.-G. (1999) Oligoagars elicit a physiological response in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta). *Journal of Phycology* **35**, 747-755.
- Weinberger F., Friedlander M. (2000) Response of *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) to oligoagars results in defense against agar-degrading epiphytes. *Journal of Phycology* **36**, 1079-1086.
- Weir B. S., Cockerham C. (1984) Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358-1370.
- Welsh J., McClelland M. (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* **18**, 7213-7218.
- Whitlock M. C., MacCauley D. E. (1999) Indirect measures of gene flow and migration: F_{ST} Diff. $1/(4Nm+1)$. *Heredity* **82**, 117-125.
- Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* **18**, 6531-6535.
- Williams S. L., DiFiori R. E. (1996) Genetic diversity and structure in *Pelvetia fastigiata* (Phaeophyta, Fucales): Does a small effective neighborhood size explain fine-scale genetic structure. *Marine Biology* **126**, 371-382.
- Wong K. C., Sun M. (1999) Reproductive biology and conservation genetics of *Goodyera procera* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **86**, 1406-1413.
- Wright J. T., Zuccarello G. C., Steinberg P. D. (2000) Genetic structure of the subtidal red alga *Delisea pulcra*. *Marine Biology* **136**, 439-448.
- Wright S. (1931) Evolution in mendelian populations. *Genetics* **16**, 97-169.
- Wright S. (1943) Isolation by distance. *Genetics* **28**, 114-138.
- Wright S. (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* **15**, 323-354.
- Wu C. Y., Dou C., Jiajun L. (1983) On the diseases of cultivated *Laminaria japonica*, 221-274.
- Zuccarello G. C., Yates P. H., Wright J. T., Barlet J. (2001) Population structure and physiological differentiation of haplotypes of *Caloglossa leprieurii* (Rhodophyta) in a mangrove intertidal zone. *Journal of Phycology* **37**, 235-244.
- Zuccarello G. C., Bartlett J., Yates P. H. (2000) Differentiation of *Caloglossa leprieurii* (Rhodophyta) populations in northern and eastern Australia using plastid haplotypes. *European Journal of Phycology* **35**, 357-363.

ANNEXES

ANNEXE 1

Fréquences alléliques et indice de diversité H pour chaque locus RAPD dans tous les quadrats échantillonnés, et moyennes de H sur les locus.

Nombre de locus : 39

Freq. = Fréquence de l'allèle présent

H exp. = H calculé avec biais

H n.b. = H calculé sans biais (Nci 1978)

Quadrat	STDO	MAT	MAT	MAT	MAT	TOPO															
(N)	1A	1B	1C	1D	2A	2B	2C	2D	1A	1B	1C	1D	M1A	M1B	M1C	M1D	M2A	M2B	M2C	M2D	
X7-1375																					
Freq.	0	0	0.05	0	0.05	0	0	0.05	0	0	0.05	0.0526	0.4118	0.2105	0.2222	0.1579	0.1765	0.2105	0.1111	0.1538	
H exp.	0	0	0.095	0	0.095	0	0	0.095	0	0	0.095	0.0997	0.4844	0.3324	0.3457	0.2659	0.2907	0.3324	0.1975	0.2604	
H n.b.	0	0	0.0974	0	0.0974	0	0	0.0974	0	0	0.0974	0.1024	0.4991	0.3414	0.3556	0.2731	0.2995	0.3414	0.2032	0.2708	
X7-1310																					
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.8947	1	1	1	1	1	1	
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1884	0	0	0	0	0	0	
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1935	0	0	0	0	0	0	
X7-1110																					
Freq.	1	1	1	1	0.95	1	1	0.95	1	1	1	1	0.8235	0.8947	0.8889	0.7368	0.9412	0.9474	1	1	
H exp.	0	0	0	0	0.095	0	0	0.095	0	0	0	0	0.2907	0.1884	0.1975	0.3878	0.1107	0.0997	0	0	
H n.b.	0	0	0	0	0.0974	0	0	0.0974	0	0	0	0	0.2995	0.1935	0.2032	0.3983	0.1141	0.1024	0	0	
X7-570																					
Freq.	0.4211	0.4667	0.6	0.6316	0.05	0.75	0.5882	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0556	0.3077	
H exp.	0.4875	0.4978	0.48	0.4654	0.095	0.375	0.4844	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1049	0.426	
H n.b.	0.5007	0.5149	0.4923	0.478	0.0974	0.3871	0.4991	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1079	0.4431	
X12-1700																					
Freq.	0.9474	0.9333	1	1	1	0.9375	1	0.95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.8889	1	
H exp.	0.0997	0.1244	0	0	0	0.1172	0	0.095	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1975	0	
H n.b.	0.1024	0.1287	0	0	0	0.121	0	0.0974	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2032	0	
X12-1250																					
Freq.	0.9474	1	1	0.9474	1	0.9375	1	1	1	1	1	1	1	0.9474	0.8889	1	1	1	0.9722	1	
H exp.	0.0997	0	0	0.0997	0	0.1172	0	0	0	0	0	0	0	0.0997	0.1975	0	0	0	0.054	0	
H n.b.	0.1024	0	0	0.1024	0	0.121	0	0	0	0	0	0	0	0.1024	0.2032	0	0	0	0.0556	0	
X12-1100																					
Freq.	1	1	1	0.9474	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
H exp.	0	0	0	0.0997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
H n.b.	0	0	0	0.1024	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Quadrat	STDO 1A	STDO 1B	STDO 1C	STDO 1D	STDO 2A	STDO 2B	STDO 2C	STDO 2D	MAT 1A	MAT 1B	MAT 1C	MAT 1D	TOPO M1A	TOPO M1B	TOPO M1C	TOPO M1D	TOPO M2A	TOPO M2B	TOPO M2C	TOPO M2D
X12-1100																				
Freq.	1	1	1	0.9474	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0	0	0.0997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0	0.1024	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X12-960																				
Freq.	0	0	0	0	0.05	0.0625	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H exp.	0	0	0	0	0.095	0.1172	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0	0	0.0974	0.121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X12-820																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9412	0.9474	1	1
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1107	0.0997	0	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1141	0.1024	0	0
X12-700																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9474	1	1	1	1	1	1	0.9444	1
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0997	0	0	0	0	0	0	0.1049	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1024	0	0	0	0	0	0	0.1079	0
X12-500																				
Freq.	0	0	0	0.0526	0.25	0.125	0	0.25	-----	0.0556	0.15	0.1053	0.4118	0.3158	0.0556	0.0526	0	0	0	0
H exp.	0	0	0	0.0997	0.375	0.2188	0	0.375	-----	0.1049	0.255	0.1884	0.4844	0.4321	0.1049	0.0997	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0	0.1024	0.3846	0.2258	0	0.3846	-----	0.1079	0.2615	0.1935	0.4991	0.4438	0.1079	0.1024	0	0	0	0
X12-290																				
Freq.	0.3158	0.2667	0.25	0.3158	0.05	0	0	0	0	0.0556	0.1	0.1579	0.6471	0.5263	0.3889	0.5789	0.0588	0.1579	0.1111	0.3846
H exp.	0.4321	0.3911	0.375	0.4321	0.095	0	0	0	0	0.1049	0.18	0.2659	0.4567	0.4986	0.4753	0.4875	0.1107	0.2659	0.1975	0.4734
H n.b.	0.4438	0.4046	0.3846	0.4438	0.0974	0	0	0	0	0.1079	0.1846	0.2731	0.4706	0.5121	0.4889	0.5007	0.1141	0.2731	0.2032	0.4923
X17-2100																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	0.7143	0.9444	1	0.8889	1	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4082	0.1049	0	0.1975	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4233	0.1079	0	0.2032	0	0	0	0	0	0	0	0
X17-2025																				
Freq.	0.8947	0.6667	0.65	0.8421	0.3	0.3125	0	0.2	0	0	0.1	0.0526	0.4706	0.2632	0.3889	0.4211	0.0588	0.2632	0.1111	0.0769
H exp.	0.1884	0.4444	0.455	0.2659	0.42	0.4297	0	0.32	0	0	0.18	0.0997	0.4983	0.3878	0.4753	0.4875	0.1107	0.3878	0.1975	0.142
H n.b.	0.1935	0.4598	0.4667	0.2731	0.4308	0.4435	0	0.3282	0	0	0.1846	0.1024	0.5134	0.3983	0.4889	0.5007	0.1141	0.3983	0.2032	0.1477

Quadrat	STDO 1A	STDO 1B	STDO 1C	STDO 1D	STDO 2A	STDO 2B	STDO 2C	STDO 2D	MAT 1A	MAT 1B	MAT 1C	MAT 1D	TOPO M1A	TOPO M1B	TOPO M1C	TOPO M1D	TOPO M2A	TOPO M2B	TOPO M2C	TOPO M2D
X17-1750																				
Freq.	0.3684	0.5333	0.75	0.6842	0.95	1	0.9412	0.95	0.7143	0.8333	0.85	0.7368	0.4706	0.6842	0.7778	0.6316	0.7647	0.6842	0.5625	0.6154
H exp.	0.4654	0.4978	0.375	0.4321	0.095	0	0.1107	0.095	0.4082	0.2778	0.255	0.3878	0.4983	0.4321	0.3457	0.4654	0.3599	0.4321	0.4922	0.4734
H n.b.	0.478	0.5149	0.3846	0.4438	0.0974	0	0.1141	0.0974	0.4233	0.2857	0.2615	0.3983	0.5134	0.4438	0.3556	0.478	0.3708	0.4438	0.5081	0.4923
X17-1380																				
Freq.	0.6842	0.6	0.6	0.4737	1	1	0.7059	1	0.9286	0.3333	0.25	0.5263	0.8824	0.9474	1	0.8947	0.7647	0.2105	0.1667	0.3846
H exp.	0.4321	0.48	0.48	0.4986	0	0	0.4152	0	0.1327	0.4444	0.375	0.4986	0.2076	0.0997	0	0.1884	0.3599	0.3324	0.2778	0.4734
H n.b.	0.4438	0.4966	0.4923	0.5121	0	0	0.4278	0	0.1376	0.4571	0.3846	0.5121	0.2139	0.1024	0	0.1935	0.3708	0.3414	0.2857	0.4923
X17-1155																				
Freq.	0.7368	0.6667	0.75	0.7895	1	1	1	0.95	1	1	1	1	0.4706	0.4211	0.2778	0.7368	1	1	1	0.9231
H exp.	0.3878	0.4444	0.375	0.3324	0	0	0	0.095	0	0	0	0	0.4983	0.4875	0.4012	0.3878	0	0	0	0.142
H n.b.	0.3983	0.4598	0.3846	0.3414	0	0	0	0.0974	0	0	0	0	0.5134	0.5007	0.4127	0.3983	0	0	0	0.1477
X17-1025																				
Freq.	0.8421	0.7333	0.95	0.8947	0.6	0.6875	0.3529	0.6	0.9286	0.7778	0.55	0.6842	0.8824	0.7895	0.6667	0.8947	1	0.6842	0.6875	0.6154
H exp.	0.2659	0.3911	0.095	0.1884	0.48	0.4297	0.4567	0.48	0.1327	0.3457	0.495	0.4321	0.2076	0.3324	0.4444	0.1884	0	0.4321	0.4297	0.4734
H n.b.	0.2731	0.4046	0.0974	0.1935	0.4923	0.4435	0.4706	0.4923	0.1376	0.3556	0.5077	0.4438	0.2139	0.3414	0.4571	0.1935	0	0.4438	0.4435	0.4923
X17-840																				
Freq.	0.6842	0.7333	0.25	0.3158	0.55	0.5	0.5882	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1176	0	0	0
H exp.	0.4321	0.3911	0.375	0.4321	0.495	0.5	0.4844	0.32	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2076	0	0	0
H n.b.	0.4438	0.4046	0.3846	0.4438	0.5077	0.5161	0.4991	0.3282	0	0	0	0	0	0	0	0	0.2139	0	0	0
X17-790																				
Freq.	0.1579	0.0667	0.4	0.3684	0.15	0.1875	0.1176	0.4	1	1	0.95	1	1	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0.2659	0.1244	0.48	0.4654	0.255	0.3047	0.2076	0.48	0	0	0.095	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0.2731	0.1287	0.4923	0.478	0.2615	0.3145	0.2139	0.4923	0	0	0.0974	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X17-700																				
Freq.	0.1579	0.0667	0.05	0.1579	0.25	0.25	0.2353	0.15	0.2857	0.6111	0.1	0.2632	0.1765	0	0	0.1053	0.5882	0.4737	0.1111	0.3077
H exp.	0.2659	0.1244	0.095	0.2659	0.375	0.375	0.3599	0.255	0.4082	0.4753	0.18	0.3878	0.2907	0	0	0.1884	0.4844	0.4986	0.1975	0.426
H n.b.	0.2731	0.1287	0.0974	0.2731	0.3846	0.3871	0.3708	0.2615	0.4233	0.4889	0.1846	0.3983	0.2995	0	0	0.1935	0.4991	0.5121	0.2032	0.4431
A2-1025																				
Freq.	0.1053	0.0667	0.45	0.7368	0.15	0.125	0.0588	0.15	0.0714	0.1111	0.15	0.3158	0.1765	0	0	0.1053	0	0	0	0.0769
H exp.	0.1884	0.1244	0.495	0.3878	0.255	0.2188	0.1107	0.255	0.1327	0.1975	0.255	0.4321	0.2907	0	0	0.1884	0	0	0	0.142
H n.b.	0.1935	0.1287	0.5077	0.3983	0.2615	0.2258	0.1141	0.2615	0.1376	0.2032	0.2615	0.4438	0.2995	0	0	0.1935	0	0	0	0.1477

Quadrat	STDO 1A	STDO 1B	STDO 1C	STDO 1D	STDO 2A	STDO 2B	STDO 2C	STDO 2D	MAT 1A	MAT 1B	MAT 1C	MAT 1D	TOPO M1A	TOPO M1B	TOPO M1C	TOPO M1D	TOPO M2A	TOPO M2B	TOPO M2C	TOPO M2D
A2-900																				
Freq.	0.8947	1	0.65	0.7368	0.95	0.875	1	0.9	0.3571	0.6667	0.55	0.3684	0.3529	0.3158	0.4444	0.5263	0.2941	0.3158	0.1111	0
H exp.	0.1884	0	0.455	0.3878	0.095	0.2188	0	0.18	0.4592	0.4444	0.495	0.4654	0.4567	0.4321	0.4938	0.4986	0.4152	0.4321	0.1975	0
H n.b.	0.1935	0	0.4667	0.3983	0.0974	0.2258	0	0.1846	0.4762	0.4571	0.5077	0.478	0.4706	0.4438	0.5079	0.5121	0.4278	0.4438	0.2032	0
A2-800																				
Freq.	0.7895	0.7333	0.65	1	0.75	0.9375	0.7059	0.75	-----	-----	-----	-----	0.8824	0.9474	0.9444	0.9474	0.8824	0.8421	0.9444	0.6923
H exp.	0.3324	0.3911	0.455	0	0.375	0.1172	0.4152	0.375	-----	-----	-----	-----	0.2076	0.0997	0.1049	0.0997	0.2076	0.2659	0.1049	0.426
H n.b.	0.3414	0.4046	0.4667	0	0.3846	0.121	0.4278	0.3846	-----	-----	-----	-----	0.2139	0.1024	0.1079	0.1024	0.2139	0.2731	0.1079	0.4431
A2-740																				
Freq.	1	0.9333	1	0.9474	1	0.9375	0.9412	1	1	1	0.9	0.9474	0.8824	0.9474	0.9444	0.9474	0.8824	1	0.8889	1
H exp.	0	0.1244	0	0.0997	0	0.1172	0.1107	0	0	0	0.18	0.0997	0.2076	0.0997	0.1049	0.0997	0.2076	0	0.1975	0
H n.b.	0	0.1287	0	0.1024	0	0.121	0.1141	0	0	0	0.1846	0.1024	0.2139	0.1024	0.1079	0.1024	0.2139	0	0.2032	0
X1-1450																				
Freq.	1	0.9333	0.95	0.9474	0.9	1	0.9412	1	0.8462	1	1	0.8947	0.8824	0.7895	0.8889	0.8421	0.8824	1	0.8889	0.9231
H exp.	0	0.1244	0.095	0.0997	0.18	0	0.1107	0	0.2604	0	0	0.1884	0.2076	0.3324	0.1975	0.2659	0.2076	0	0.1975	0.142
H n.b.	0	0.1287	0.0974	0.1024	0.1846	0	0.1141	0	0.2708	0	0	0.1935	0.2139	0.3414	0.2032	0.2731	0.2139	0	0.2032	0.1477
X1-1300																				
Freq.	0.4737	0.6	0.3	0.2632	0.25	0.3125	0.1765	0.25	0.6154	0.5556	0.75	0.7368	0.2353	0.3158	0.4444	0.6842	0.7647	0.6842	0.3889	0.6154
H exp.	0.4986	0.48	0.42	0.3878	0.375	0.4297	0.2907	0.375	0.4734	0.4938	0.375	0.3878	0.3599	0.4321	0.4938	0.4321	0.3599	0.4321	0.4753	0.4734
H n.b.	0.5121	0.4966	0.4308	0.3983	0.3846	0.4435	0.2995	0.3846	0.4923	0.5079	0.3846	0.3983	0.3708	0.4438	0.5079	0.4438	0.3708	0.4438	0.4889	0.4923
X1-980																				
Freq.	0.2632	0.3333	0.4	0.4211	0.6	0.3125	0.2353	0.5	0.5	0.2778	0.3	0.1053	0.1765	0.1579	0.1667	0.5789	0.5882	0.3158	0.6111	0.0769
H exp.	0.3878	0.4444	0.48	0.4875	0.48	0.4297	0.3599	0.5	0.5	0.4012	0.42	0.1884	0.2907	0.2659	0.2778	0.4875	0.4844	0.4321	0.4753	0.142
H n.b.	0.3983	0.4598	0.4923	0.5007	0.4923	0.4435	0.3708	0.5128	0.5185	0.4127	0.4308	0.1935	0.2995	0.2731	0.2857	0.5007	0.4991	0.4438	0.4889	0.1477
X1-880																				
Freq.	0.7895	0.8	0.75	0.6842	0.95	0.4375	0.7059	0.85	0.7143	0.6667	0.85	0.8947	0.8235	0.8421	0.7778	0.8421	0.9412	0.9474	0.7222	0.9231
H exp.	0.3324	0.32	0.375	0.4321	0.095	0.4922	0.4152	0.255	0.4082	0.4444	0.255	0.1884	0.2907	0.2659	0.3457	0.2659	0.1107	0.0997	0.4012	0.142
H n.b.	0.3414	0.331	0.3846	0.4438	0.0974	0.5081	0.4278	0.2615	0.4233	0.4571	0.2615	0.1935	0.2995	0.2731	0.3556	0.2731	0.1141	0.1024	0.4127	0.1477
X1-790																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Quadrat	STDO 1A	STDO 1B	STDO 1C	STDO 1D	STDO 2A	STDO 2B	STDO 2C	STDO 2D	MAT 1A	MAT 1B	MAT 1C	MAT 1D	TOPO M1A	TOPO M1B	TOPO M1C	TOPO M1D	TOPO M2A	TOPO M2B	TOPO M2C	TOPO M2D
X1-750																				
Freq.	0.1053	0.0667	0.25	0.1053	0.15	0	0	0.05	0.1429	0	0	0	0	0	0.0556	0.1579	0.1176	0.1053	0.0556	0.0769
H exp.	0.1884	0.1244	0.375	0.1884	0.255	0	0	0.095	0.2449	0	0	0	0	0	0.1049	0.2659	0.2076	0.1884	0.1049	0.142
H n.b.	0.1935	0.1287	0.3846	0.1935	0.2615	0	0	0.0974	0.254	0	0	0	0	0	0.1079	0.2731	0.2139	0.1935	0.1079	0.1477
X1-530																				
Freq.	1	1	0.85	1	0.95	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0	0.255	0	0.095	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0.2615	0	0.0974	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X11-1940																				
Freq.	0.7368	0.6667	0.8	0.7895	0.85	0.4375	0.7059	0.7895	0.2857	0.4444	0.5	0.4211	0	0.2105	0.0556	0.0526	0.1176	0.2632	0.1111	0.0769
H exp.	0.3878	0.4444	0.32	0.3324	0.255	0.4922	0.4152	0.3324	0.4082	0.4938	0.5	0.4875	0	0.3324	0.1049	0.0997	0.2076	0.3878	0.1975	0.142
H n.b.	0.3983	0.4598	0.3282	0.3414	0.2615	0.5081	0.4278	0.3414	0.4233	0.5079	0.5128	0.5007	0	0.3414	0.1079	0.1024	0.2139	0.3983	0.2032	0.1477
X11-1600																				
Freq.	0.2105	0.4	0.15	0.2105	0.3	0.375	0.1765	0.2105	0.7143	0.5556	0.6	0.6842	0.5294	0.4737	0.5	0.3684	0.4118	0.4737	0.6667	0.4615
H exp.	0.3324	0.48	0.255	0.3324	0.42	0.4688	0.2907	0.3324	0.4082	0.4938	0.48	0.4321	0.4983	0.4986	0.5	0.4654	0.4844	0.4986	0.4444	0.497
H n.b.	0.3414	0.4966	0.2615	0.3414	0.4308	0.4839	0.2995	0.3414	0.4233	0.5079	0.4923	0.4438	0.5134	0.5121	0.5143	0.478	0.4991	0.5121	0.4571	0.5169
X11-1250																				
Freq.	0.1579	0.2	0.5	0.5789	0.4	1	1	0.5263	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9231
H exp.	0.2659	0.32	0.5	0.4875	0.48	0	0	0.4986	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.142
H n.b.	0.2731	0.331	0.5128	0.5007	0.4923	0	0	0.5121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1477
X11-1080																				
Freq.	0.7895	0.3333	0.8	0.6316	0.7	0.5	0.8824	0.5789	0.3571	0.7222	0.8	0.5789	0.9412	0.8421	0.7778	0.9474	0.8235	0.6842	0.8889	0.9231
H exp.	0.3324	0.4444	0.32	0.4654	0.42	0.5	0.2076	0.4875	0.4592	0.4012	0.32	0.4875	0.1107	0.2659	0.3457	0.0997	0.2907	0.4321	0.1975	0.142
H n.b.	0.3414	0.4598	0.3282	0.478	0.4308	0.5161	0.2139	0.5007	0.4762	0.4127	0.3282	0.5007	0.1141	0.2731	0.3556	0.1024	0.2995	0.4438	0.2032	0.1477
X11-940																				
Freq.	0.0526	0.0909	0.15	0.2105	0	0.0625	0	0	0	0	0.05	0.2632	0.1765	0.1053	0.0556	0.1579	0.0588	0.4211	0.0556	0.0769
H exp.	0.0997	0.1653	0.255	0.3324	0	0.1172	0	0	0	0	0.095	0.3878	0.2907	0.1884	0.1049	0.2659	0.1107	0.4875	0.1049	0.142
H n.b.	0.1024	0.1732	0.2615	0.3414	0	0.121	0	0	0	0	0.0974	0.3983	0.2995	0.1935	0.1079	0.2731	0.1141	0.5007	0.1079	0.1477
X11-860																				
Freq.	0.2632	0.2	0.4	0.5263	0	0.6875	0.8235	0.1579	0.4167	0.4444	0.6	0.5789	0.8235	0.8947	0.7857	0.4737	0.4706	0.2632	0.3889	0
H exp.	0.3878	0.32	0.48	0.4986	0	0.4297	0.2907	0.2659	0.4861	0.4938	0.48	0.4875	0.2907	0.1884	0.3367	0.4986	0.4983	0.3878	0.4753	0
H n.b.	0.3983	0.331	0.4923	0.5121	0	0.4435	0.2995	0.2731	0.5072	0.5079	0.4923	0.5007	0.2995	0.1935	0.3492	0.5121	0.5134	0.3983	0.4889	0
X11-780																				
Freq.	0.7368	0.4	0.4	0.4737	0.55	0.375	0.4118	0.4211	0.2857	0.1111	0.25	0.1053	0.5294	0.4737	0.5	0.5263	0.4706	0.5789	0.2222	0.7692
H exp.	0.3878	0.48	0.48	0.4986	0.495	0.4688	0.4844	0.4875	0.4082	0.1975	0.375	0.1884	0.4983	0.4986	0.5	0.4986	0.4983	0.4875	0.3457	0.355
H n.b.	0.3983	0.4966	0.4923	0.5121	0.5077	0.4839	0.4991	0.5007	0.4233	0.2032	0.3846	0.1935	0.5134	0.5121	0.5143	0.5121	0.5134	0.5007	0.3556	0.3692

Quadrat	TOPO	CONS	CONS	CONS	CONS	PUC														
(N)	S1A	S1B	S1C	S1D	N1A	N1B	N1C	N1D	1A	1B	1C	1D	1A	1B	1C	1D	2A	2B	2C	2D
	20	19	19	20	17	15	15	19	19	20	20	18	10	14	11	17	18	16	16	15
X7-1375																				
Freq.	0.15	0.1579	0.0526	0.3	0.2941	0.1333	0.2667	0.1579	0	0	0	0	0.1	0.1429	0	0	0	0	0.25	0.2667
H exp.	0.255	0.2659	0.0997	0.42	0.4152	0.2311	0.3911	0.2659	0	0	0	0	0.18	0.2449	0	0	0	0	0.375	0.3911
H n.b.	0.2615	0.2731	0.1024	0.4308	0.4278	0.2391	0.4046	0.2731	0	0	0	0	0.1895	0.254	0	0	0	0	0.3871	0.4046
X7-1310																				
Freq.	1	0.9474	1	1	0.8824	1	1	0.8421	1	1	1	1	1	1	0.9091	1	0.9444	0.9375	1	1
H exp.	0	0.0997	0	0	0.2076	0	0	0.2659	0	0	0	0	0	0	0.1653	0	0.1049	0.1172	0	0
H n.b.	0	0.1024	0	0	0.2139	0	0	0.2731	0	0	0	0	0	0	0.1732	0	0.1079	0.121	0	0
X7-1110																				
Freq.	0.95	0.7895	0.8947	1	0.8235	0.9333	0.9333	0.8947	0.6316	0.75	0.9	0.7222	0.3	0.3571	0.1818	0.1176	0.2222	0.125	0.25	0.4
H exp.	0.095	0.3324	0.1884	0	0.2907	0.1244	0.1244	0.1884	0.4654	0.375	0.18	0.4012	0.42	0.4592	0.2975	0.2076	0.3457	0.2188	0.375	0.48
H n.b.	0.0974	0.3414	0.1935	0	0.2995	0.1287	0.1287	0.1935	0.478	0.3846	0.1846	0.4127	0.4421	0.4762	0.3117	0.2139	0.3556	0.2258	0.3871	0.4966
X7-570																				
Freq.	0.05	0	0	0.1	0.0588	0	0	0.0526	0	0	0	0	0.3	0.7143	0.6364	0.5625	0.6667	0.375	0.3125	0.5333
H exp.	0.095	0	0	0.18	0.1107	0	0	0.0997	0	0	0	0	0.42	0.4082	0.4628	0.4922	0.4444	0.4688	0.4297	0.4978
H n.b.	0.0974	0	0	0.1846	0.1141	0	0	0.1024	0	0	0	0	0.4421	0.4233	0.4848	0.5081	0.4571	0.4839	0.4435	0.5149
X12-1700																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.18	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1895	0	0	0	0	0	0	0
X12-1250																				
Freq.	0.95	1	0.9474	0.9	1	1	1	0.9474	0.0526	0	0.05	0.0556	1	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0.095	0	0.0997	0.18	0	0	0	0.0997	0.0997	0	0.095	0.1049	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0.0974	0	0.1024	0.1846	0	0	0	0.1024	0.1024	0	0.0974	0.1079	0	0	0	0	0	0	0	0
X12-1100																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.2	0.9286	1	1	0.9444	1	1	0.9333
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.32	0.1327	0	0	0.1049	0	0	0.1244
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3368	0.1376	0	0	0.1079	0	0	0.1287

Quadrat	TOPO S1A	TOPO S1B	TOPO S1C	TOPO S1D	TOPO N1A	TOPO N1B	TOPO N1C	TOPO N1D	CONS 1A	CONS 1B	CONS 1C	CONS 1D	PUC 1A	PUC 1B	PUC 1C	PUC 1D	PUC 2A	PUC 2B	PUC 2C	PUC 2D
X12-1100																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.2	0.9286	1	1	0.9444	1	1	0.9333
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.32	0.1327	0	0	0.1049	0	0	0.1244
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3368	0.1376	0	0	0.1079	0	0	0.1287
X12-960																				
Freq.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.3571	0.1818	0.1765	0.2222	0.4375	0.25	0.3333
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.4592	0.2975	0.2907	0.3457	0.4922	0.375	0.4444
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5263	0.4762	0.3117	0.2995	0.3556	0.5081	0.3871	0.4598
X12-820																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.95	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.095	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0974	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X12-700																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	0.9333	1	1	1	1	0.9444	1	1	1	1	1	0.9375	1	1
H exp.	0	0	0	0	0	0	0.1244	0	0	0	0	0.1049	0	0	0	0	0	0.1172	0	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0.1287	0	0	0	0	0.1079	0	0	0	0	0	0.121	0	0
X12-500																				
Freq.	0.35	0.5789	0.4737	0.4	0.1765	0.3333	0.2	0.1579	0.2632	0.15	0.25	0.2778	0.8	0.9286	0.8182	0.9412	0.7778	0.9375	0.9375	0.7333
H exp.	0.455	0.4875	0.4986	0.48	0.2907	0.4444	0.32	0.2659	0.3878	0.255	0.375	0.4012	0.32	0.1327	0.2975	0.1107	0.3457	0.1172	0.1172	0.3911
H n.b.	0.4667	0.5007	0.5121	0.4923	0.2995	0.4598	0.331	0.2731	0.3983	0.2615	0.3846	0.4127	0.3368	0.1376	0.3117	0.1141	0.3556	0.121	0.121	0.4046
X12-290																				
Freq.	0.25	0.2105	0.3684	0.1	0	0	0.2	0.2632	1	0.8	0.9	0.9444	0.3	0.2857	0	0.0588	0.0556	0	0.0625	0.0667
H exp.	0.375	0.3324	0.4654	0.18	0	0	0.32	0.3878	0	0.32	0.18	0.1049	0.42	0.4082	0	0.1107	0.1049	0	0.1172	0.1244
H n.b.	0.3846	0.3414	0.478	0.1846	0	0	0.331	0.3983	0	0.3282	0.1846	0.1079	0.4421	0.4233	0	0.1141	0.1079	0	0.121	0.1287
X17-2100																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	-----	-----	-----	-----	0.4	0	0	0	0	0	0.1875	0
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.48	0	0	0	0	0	0.3047	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.5053	0	0	0	0	0	0.3145	0
X17-2025																				
Freq.	0.7	0.5789	0.2105	0.65	0.4706	0.8667	0.6667	0.7368	-----	-----	-----	-----	0.1	0.0714	0	0	0	0	0.125	0
H exp.	0.42	0.4875	0.3324	0.455	0.4983	0.2311	0.4444	0.3878	-----	-----	-----	-----	0.18	0.1327	0	0	0	0	0.2188	0
H n.b.	0.4308	0.5007	0.3414	0.4667	0.5134	0.2391	0.4598	0.3983	-----	-----	-----	-----	0.1895	0.1376	0	0	0	0	0.2258	0

Quadrat	TOPO S1A	TOPO S1B	TOPO S1C	TOPO S1D	TOPO N1A	TOPO N1B	TOPO N1C	TOPO N1D	CONS 1A	CONS 1B	CONS 1C	CONS 1D	PUC 1A	PUC 1B	PUC 1C	PUC 1D	PUC 2A	PUC 2B	PUC 2C	PUC 2D
X17-1750																				
Freq.	0.5	0.1579	0.3158	0.2	0.2353	0.3333	0.4	0.4211	-----	-----	-----	-----	0.2	0.0714	0	0	0	0	0.0625	0.1333
H exp.	0.5	0.2659	0.4321	0.32	0.3599	0.4444	0.48	0.4875	-----	-----	-----	-----	0.32	0.1327	0	0	0	0	0.1172	0.2311
H n.b.	0.5128	0.2731	0.4438	0.3282	0.3708	0.4598	0.4966	0.5007	-----	-----	-----	-----	0.3368	0.1376	0	0	0	0	0.121	0.2391
X17-1380																				
Freq.	1	1	0.9474	0.95	1	1	1	1	-----	-----	-----	-----	0.4	0.8571	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0	0.0997	0.095	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.48	0.2449	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0.1024	0.0974	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.5053	0.254	0	0	0	0	0	0
X17-1155																				
Freq.	0.65	0.5789	0.5789	0.45	0.7059	0.6667	0.8	0.7895	-----	-----	-----	-----	0.3	0.1429	0.1818	0.0588	0.2778	0.0625	0.375	0.5333
H exp.	0.455	0.4875	0.4875	0.495	0.4152	0.4444	0.32	0.3324	-----	-----	-----	-----	0.42	0.2449	0.2975	0.1107	0.4012	0.1172	0.4688	0.4978
H n.b.	0.4667	0.5007	0.5007	0.5077	0.4278	0.4598	0.331	0.3414	-----	-----	-----	-----	0.4421	0.254	0.3117	0.1141	0.4127	0.121	0.4839	0.5149
X17-1025																				
Freq.	0.85	0.6316	0.4211	0.3	0.4706	0.6	0.6	0.6842	-----	-----	-----	-----	1	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0.255	0.4654	0.4875	0.42	0.4983	0.48	0.48	0.4321	-----	-----	-----	-----	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0.2615	0.478	0.5007	0.4308	0.5134	0.4966	0.4966	0.4438	-----	-----	-----	-----	0	0	0	0	0	0	0	0
X17-840																				
Freq.	0	0	0	0	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.7	0.9286	1	0.9412	0.8333	1	0.875	0.8667
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.42	0.1327	0	0.1107	0.2778	0	0.2188	0.2311
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.4421	0.1376	0	0.1141	0.2857	0	0.2258	0.2391
X17-790																				
Freq.	1	1	0.9474	1	1	1	1	1	-----	-----	-----	-----	0.1	0	0	0	0	0	0.0625	0.0667
H exp.	0	0	0.0997	0	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.18	0	0	0	0	0	0.1172	0.1244
H n.b.	0	0	0.1024	0	0	0	0	0	-----	-----	-----	-----	0.1895	0	0	0	0	0	0.121	0.1287
X17-700																				
Freq.	0.05	0	0	0.05	0	0.1333	0.2	0	-----	-----	-----	-----	0.2	0.3571	0.3636	0.7059	0.5556	0.75	0.5625	0.6
H exp.	0.095	0	0	0.095	0	0.2311	0.32	0	-----	-----	-----	-----	0.32	0.4592	0.4628	0.4152	0.4938	0.375	0.4922	0.48
H n.b.	0.0974	0	0	0.0974	0	0.2391	0.331	0	-----	-----	-----	-----	0.3368	0.4762	0.4848	0.4278	0.5079	0.3871	0.5081	0.4966
A2-1025																				
Freq.	0.05	0	0	0.05	0	0.1333	0.2	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0.2
H exp.	0.095	0	0	0.095	0	0.2311	0.32	0	0	0	0	0	0.18	0	0	0	0	0	0	0.32
H n.b.	0.0974	0	0	0.0974	0	0.2391	0.331	0	0	0	0	0	0.1895	0	0	0	0	0	0	0.331

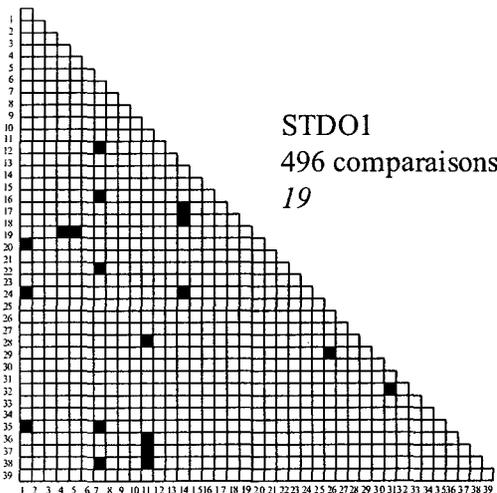
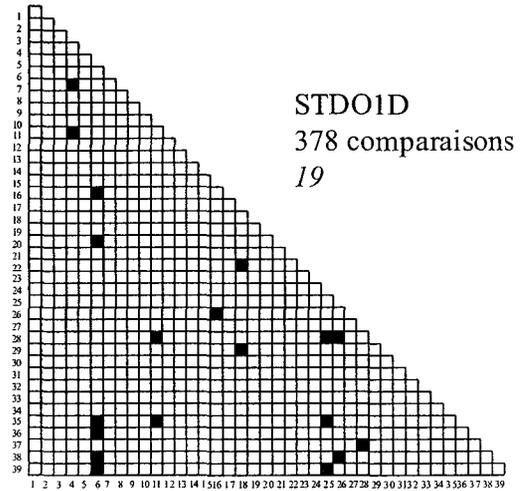
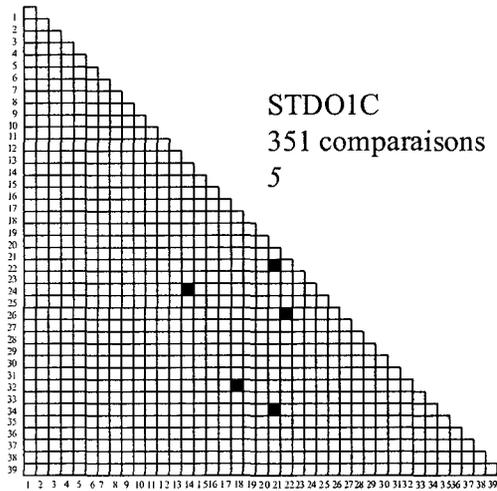
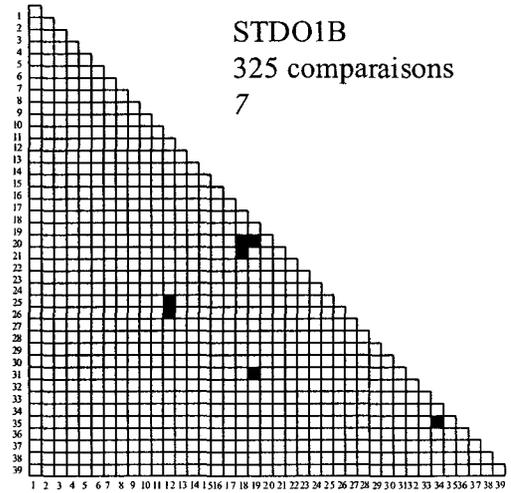
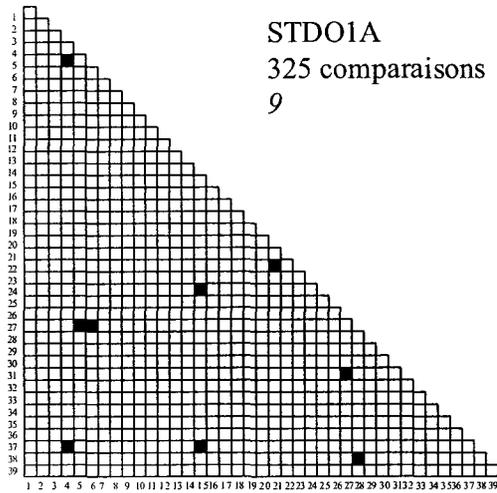
Quadrat	TOPO S1A	TOPO S1B	TOPO S1C	TOPO S1D	TOPO N1A	TOPO N1B	TOPO N1C	TOPO N1D	CONS 1A	CONS 1B	CONS 1C	CONS 1D	PUC 1A	PUC 1B	PUC 1C	PUC 1D	PUC 2A	PUC 2B	PUC 2C	PUC 2D
A2-900																				
Freq.	0.35	0.3158	0.5263	0.4	0.2353	0.2667	0.2	0.2105	0.9474	0.75	0.8	0.6667	0.8	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0.455	0.4321	0.4986	0.48	0.3599	0.3911	0.32	0.3324	0.0997	0.375	0.32	0.4444	0.32	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0.4667	0.4438	0.5121	0.4923	0.3708	0.4046	0.331	0.3414	0.1024	0.3846	0.3282	0.4571	0.3368	0	0	0	0	0	0	0
A2-800																				
Freq.	0.95	0.8421	0.8421	0.95	0.9412	1	1	0.9474	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H exp.	0.095	0.2659	0.2659	0.095	0.1107	0	0	0.0997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0.0974	0.2731	0.2731	0.0974	0.1141	0	0	0.1024	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A2-740																				
Freq.	0.95	0.8421	0.8421	0.95	0.9412	0.9333	0.9333	0.9474	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9444	1	1	1
H exp.	0.095	0.2659	0.2659	0.095	0.1107	0.1244	0.1244	0.0997	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1049	0	0	0
H n.b.	0.0974	0.2731	0.2731	0.0974	0.1141	0.1287	0.1287	0.1024	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1079	0	0	0
X1-1450																				
Freq.	1	1	1	0.9	0.9412	0.9333	0.9333	0.8947	0.8947	0.8	0.9	0.9444	1	0.7778	0.5455	0.9412	0.7692	0.6667	0.9375	1
H exp.	0	0	0	0.18	0.1107	0.1244	0.1244	0.1884	0.1884	0.32	0.18	0.1049	0	0.3457	0.4959	0.1107	0.355	0.4444	0.1172	0
H n.b.	0	0	0	0.1846	0.1141	0.1287	0.1287	0.1935	0.1935	0.3282	0.1846	0.1079	0	0.366	0.5195	0.1141	0.3692	0.4598	0.121	0
X1-1300																				
Freq.	0.85	0.6471	0.8947	0.65	0.4706	0.6667	0.6667	0.7895	0.3158	0.4	0.25	0.2778	0.2	0.4444	0.1818	0.2353	0.6	0.3333	0.5625	0.8
H exp.	0.255	0.4567	0.1884	0.455	0.4983	0.4444	0.4444	0.3324	0.4321	0.48	0.375	0.4012	0.32	0.4938	0.2975	0.3599	0.48	0.4444	0.4922	0.32
H n.b.	0.2615	0.4706	0.1935	0.4667	0.5134	0.4598	0.4598	0.3414	0.4438	0.4923	0.3846	0.4127	0.3368	0.5229	0.3117	0.3708	0.4966	0.4598	0.5081	0.331
X1-980																				
Freq.	0.45	0.1579	0.2105	0.45	0.1176	0.3333	0.2	0.2105	0.3158	0.25	0.35	0.3889	0.8	0.5714	0.6364	0.4118	0.5	0.625	0.5625	0.4
H exp.	0.495	0.2659	0.3324	0.495	0.2076	0.4444	0.32	0.3324	0.4321	0.375	0.455	0.4753	0.32	0.4898	0.4628	0.4844	0.5	0.4688	0.4922	0.48
H n.b.	0.5077	0.2731	0.3414	0.5077	0.2139	0.4598	0.331	0.3414	0.4438	0.3846	0.4667	0.4889	0.3368	0.5079	0.4848	0.4991	0.5143	0.4839	0.5081	0.4966
X1-880																				
Freq.	1	0.8947	1	0.95	1	1	0.9333	0.9474	0.9474	0.95	1	0.9444	0.7	0.5714	0.6364	0.4118	0.3889	0.5625	0.25	0.3333
H exp.	0	0.1884	0	0.095	0	0	0.1244	0.0997	0.0997	0.095	0	0.1049	0.42	0.4898	0.4628	0.4844	0.4753	0.4922	0.375	0.4444
H n.b.	0	0.1935	0	0.0974	0	0	0.1287	0.1024	0.1024	0.0974	0	0.1079	0.4421	0.5079	0.4848	0.4991	0.4889	0.5081	0.3871	0.4598
X1-790																				
Freq.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.9286	0.7273	0.9412	0.8889	1	0.9375	1
H exp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1327	0.3967	0.1107	0.1975	0	0.1172	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.1376	0.4156	0.1141	0.2032	0	0.121	0

Quadrat	TOPO SIA	TOPO SIB	TOPO SIC	TOPO SID	TOPO NIA	TOPO NIB	TOPO NIC	TOPO NID	CONS 1A	CONS 1B	CONS 1C	CONS 1D	PUC 1A	PUC 1B	PUC 1C	PUC 1D	PUC 2A	PUC 2B	PUC 2C	PUC 2D
X1-750																				
Freq.	0.25	0	0	0.25	0	0	0	0	0.3684	0.3	0.25	0.2222	0.9	0.6429	0.8182	0.2941	0.5	0.25	0.3125	0.6
H exp.	0.375	0	0	0.375	0	0	0	0	0.4654	0.42	0.375	0.3457	0.18	0.4592	0.2975	0.4152	0.5	0.375	0.4297	0.48
H n.b.	0.3846	0	0	0.3846	0	0	0	0	0.478	0.4308	0.3846	0.3556	0.1895	0.4762	0.3117	0.4278	0.5143	0.3871	0.4435	0.4966
X1-530																				
Freq.	1	1	1	1	1	0.9333	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0	0	0	0	0.1244	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0	0	0	0	0.1287	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
X11-1940																				
Freq.	0.2	0.4737	0.1053	0.25	0.1765	0.3333	0.5333	0.2632	0.1579	0	0.1	0.1667	0.8	1	1	1	1	1	0.875	0.7333
H exp.	0.32	0.4986	0.1884	0.375	0.2907	0.4444	0.4978	0.3878	0.2659	0	0.18	0.2778	0.32	0	0	0	0	0	0.2188	0.3911
H n.b.	0.3282	0.5121	0.1935	0.3846	0.2995	0.4598	0.5149	0.3983	0.2731	0	0.1846	0.2857	0.3368	0	0	0	0	0	0.2258	0.4046
X11-1600																				
Freq.	0.6	0.5263	0.7368	0.65	0.5294	0.6	0.7333	0.3158	0	0.05	0	0	0	0.0714	0	0.0588	0	0	0	0
H exp.	0.48	0.4986	0.3878	0.455	0.4983	0.48	0.3911	0.4321	0	0.095	0	0	0	0.1327	0	0.1107	0	0	0	0
H n.b.	0.4923	0.5121	0.3983	0.4667	0.5134	0.4966	0.4046	0.4438	0	0.0974	0	0	0	0.1376	0	0.1141	0	0	0	0
X11-1250																				
Freq.	1	0.8947	0.9474	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.4	1	1	1	1	1	1	1
H exp.	0	0.1884	0.0997	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.48	0	0	0	0	0	0	0
H n.b.	0	0.1935	0.1024	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5053	0	0	0	0	0	0	0
X11-1080																				
Freq.	0.7	0.7368	0.6842	0.8	0.7059	0.8	0.8667	0.8421	0.4737	0.5	0.15	0.2778	0.3	0.3571	0.3636	0.8235	0.6111	0.625	0	0
H exp.	0.42	0.3878	0.4321	0.32	0.4152	0.32	0.2311	0.2659	0.4986	0.5	0.255	0.4012	0.42	0.4592	0.4628	0.2907	0.4753	0.4688	0	0
H n.b.	0.4308	0.3983	0.4438	0.3282	0.4278	0.331	0.2391	0.2731	0.5121	0.5128	0.2615	0.4127	0.4421	0.4762	0.4848	0.2995	0.4889	0.4839	0	0
X11-940																				
Freq.	0.15	0.2632	0.1053	0.2	0.1176	0	0.0667	0.1053	0.0526	0.05	0.2	0	0	0.1429	0.4545	0.4118	0.1667	0.5	0	0
H exp.	0.255	0.3878	0.1884	0.32	0.2076	0	0.1244	0.1884	0.0997	0.095	0.32	0	0	0.2449	0.4959	0.4844	0.2778	0.5	0	0
H n.b.	0.2615	0.3983	0.1935	0.3282	0.2139	0	0.1287	0.1935	0.1024	0.0974	0.3282	0	0	0.254	0.5195	0.4991	0.2857	0.5161	0	0
X11-860																				
Freq.	0.15	0.0526	0.1579	0.1	0.5294	0	0.1333	0	1	1	0.95	0.9444	1	1	1	1	1	1	0.875	0.4667
H exp.	0.255	0.0997	0.2659	0.18	0.4983	0	0.2311	0	0	0	0.095	0.1049	0	0	0	0	0	0	0.2188	0.4978
H n.b.	0.2615	0.1024	0.2731	0.1846	0.5134	0	0.2391	0	0	0	0.0974	0.1079	0	0	0	0	0	0	0.2258	0.5149
X11-780																				
Freq.	0.4	0.5263	0.6316	0.35	0.1176	0.2667	0.4667	0.3158	0.1053	0.35	0.05	0.0556	0.2	0	0.1818	0.1765	0.1111	0.25	0.25	0.1333
H exp.	0.48	0.4986	0.4654	0.455	0.2076	0.3911	0.4978	0.4321	0.1884	0.455	0.095	0.1049	0.32	0	0.2975	0.2907	0.1975	0.375	0.375	0.2311
H n.b.	0.4923	0.5121	0.478	0.4667	0.2139	0.4046	0.5149	0.4438	0.1935	0.4667	0.0974	0.1079	0.3368	0	0.3117	0.2995	0.2032	0.3871	0.3871	0.2391

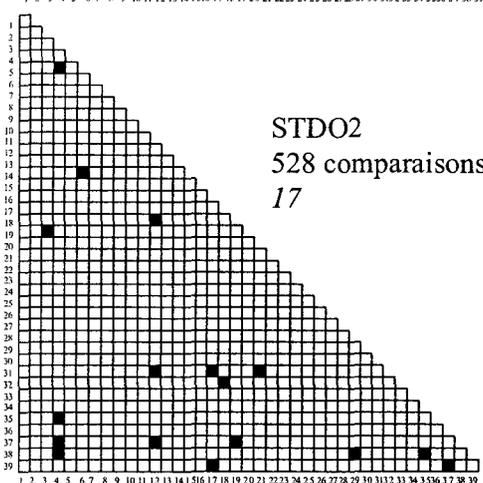
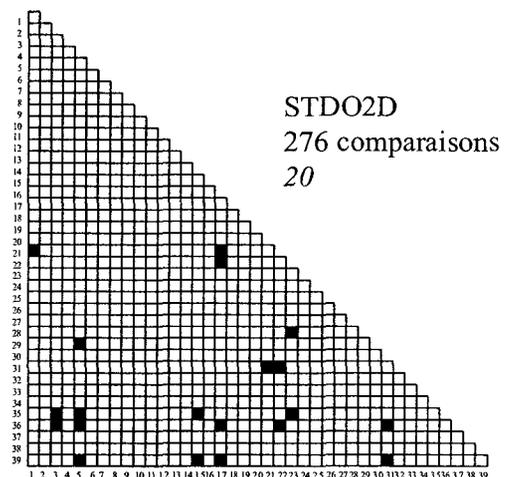
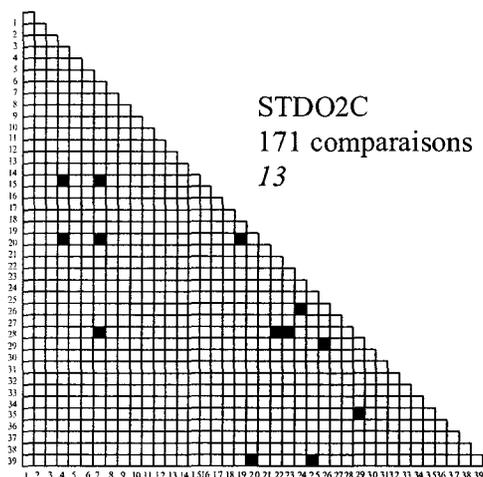
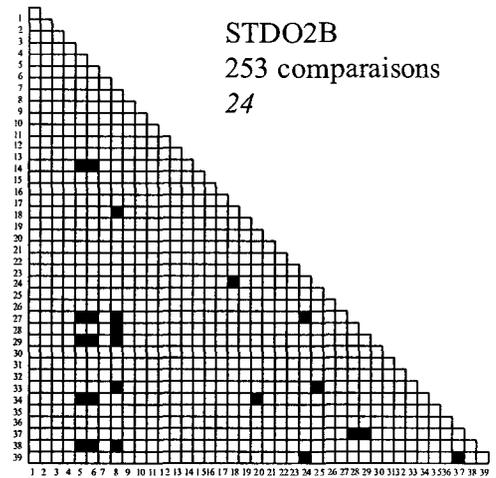
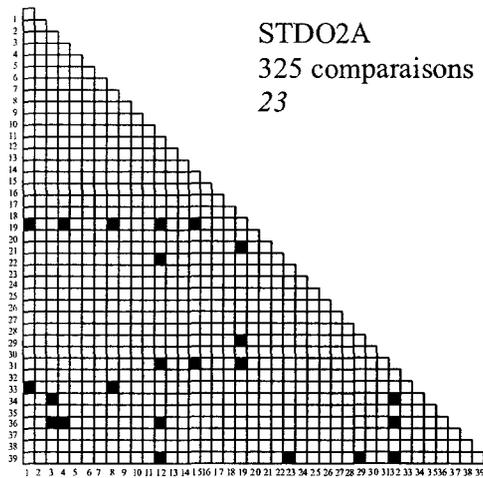
ANNEXE 2

Déséquilibre de liaison : présentation des paires de locus en déséquilibre de liaison (après correction de Bonferoni)

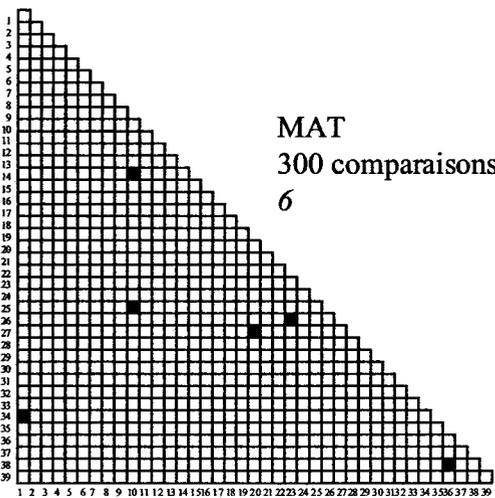
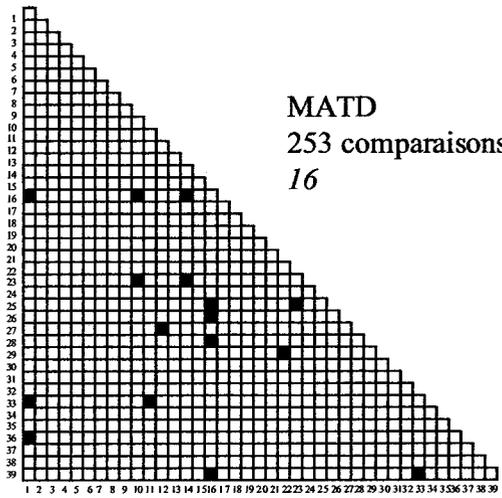
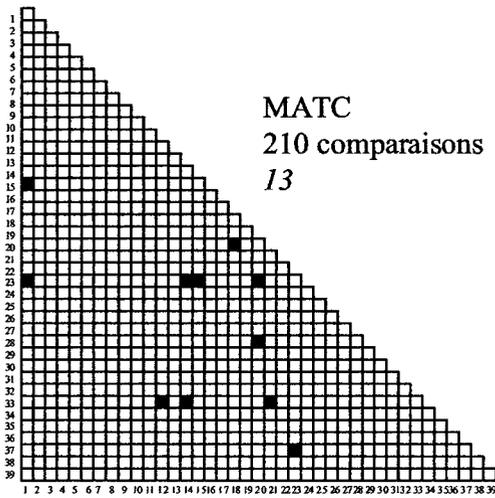
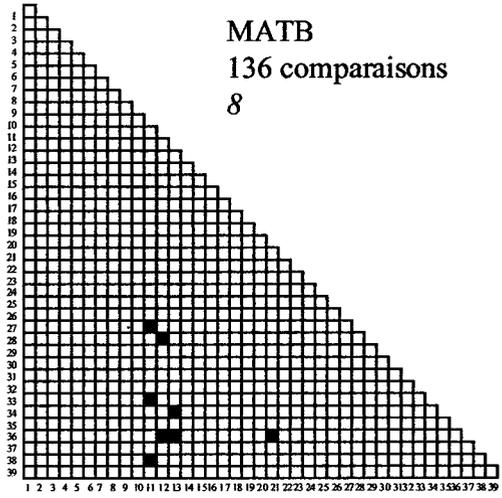
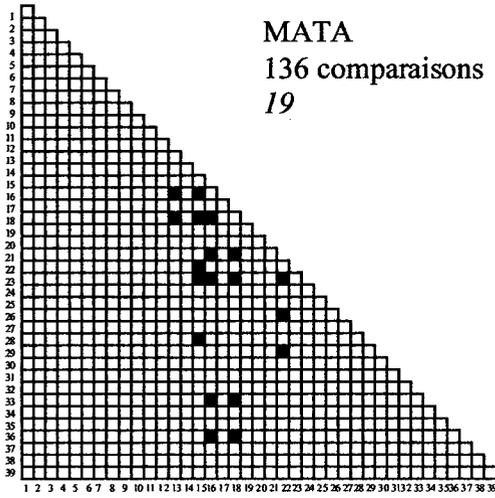
Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.



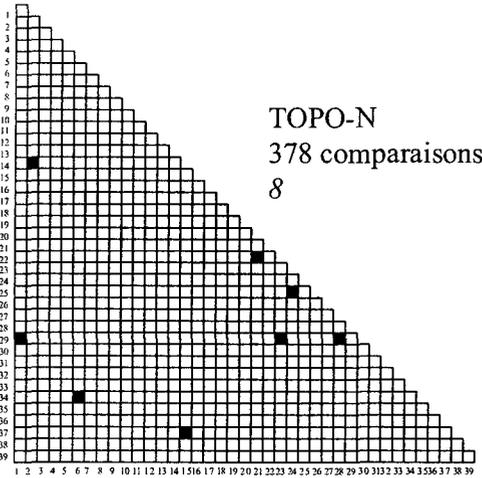
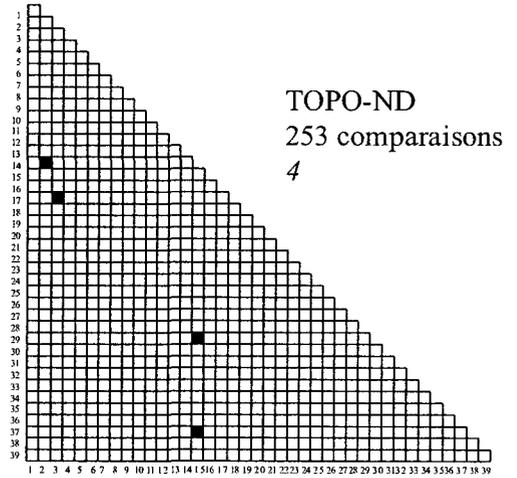
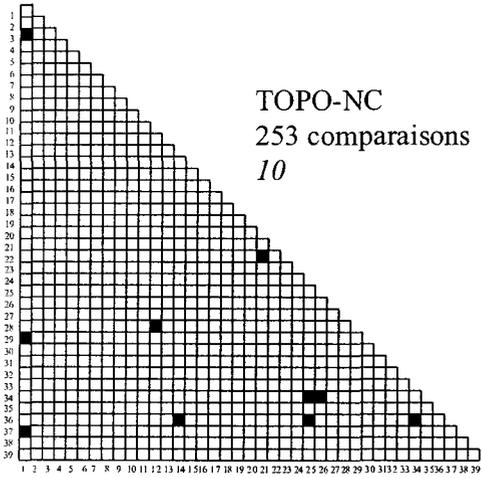
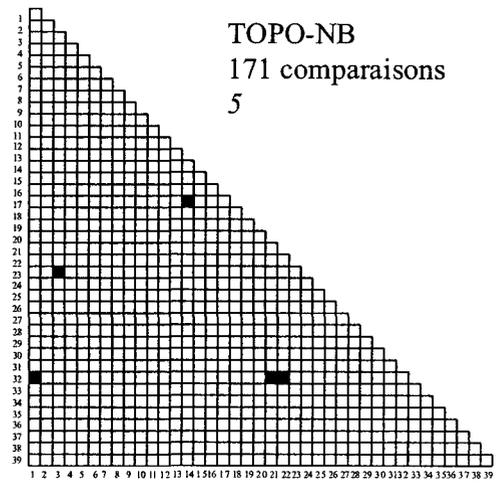
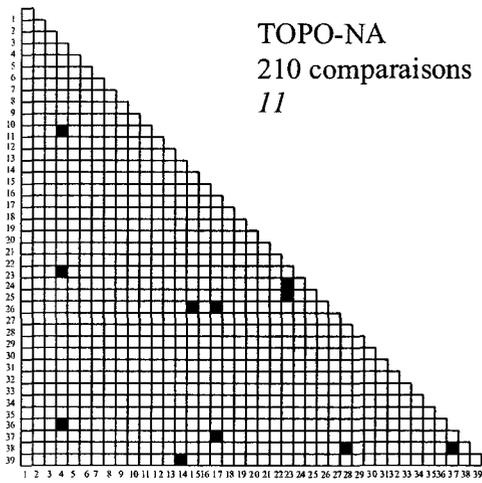
Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.



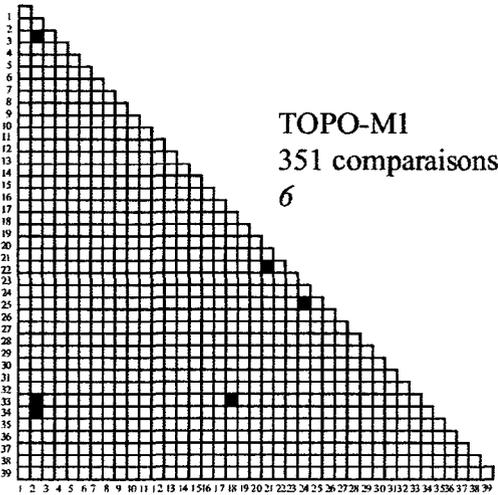
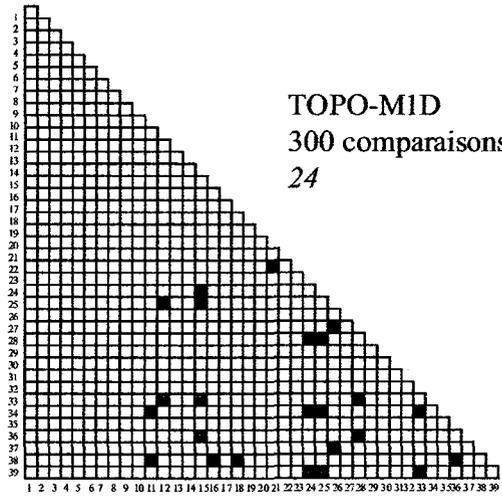
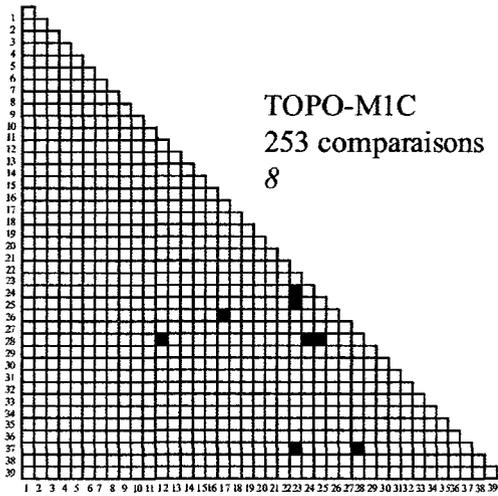
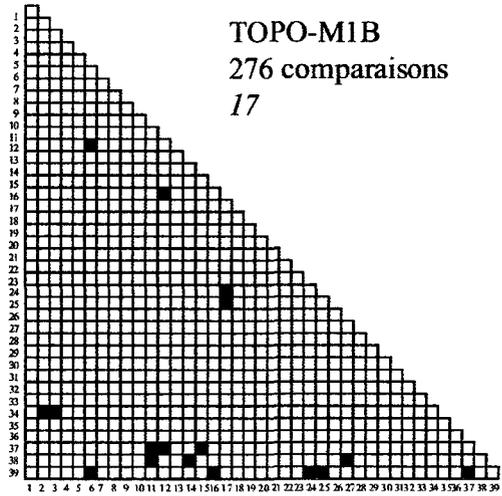
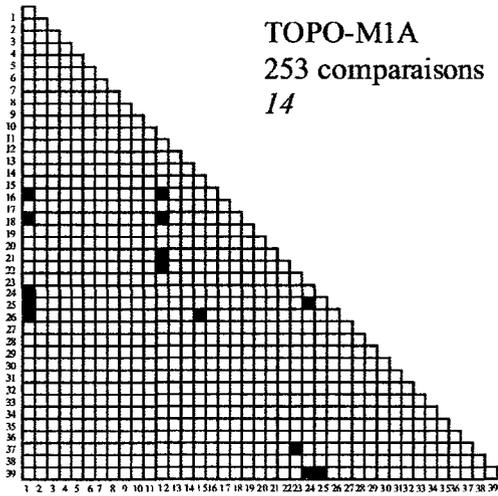
Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.



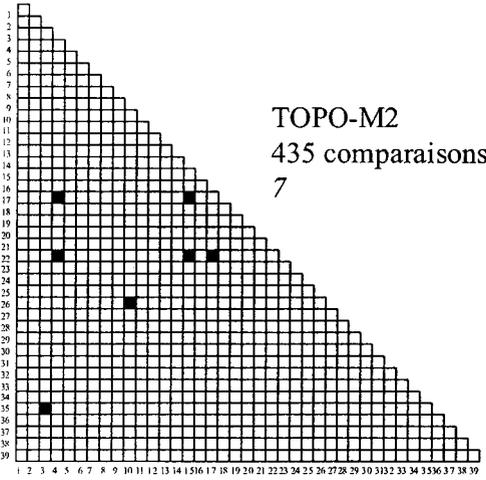
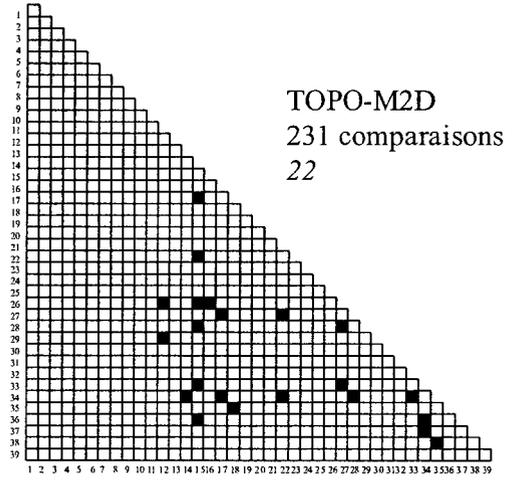
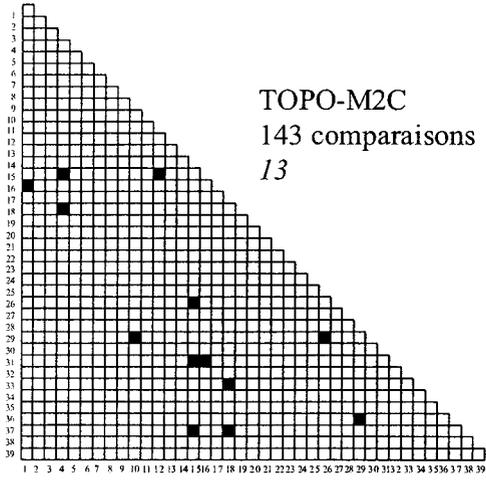
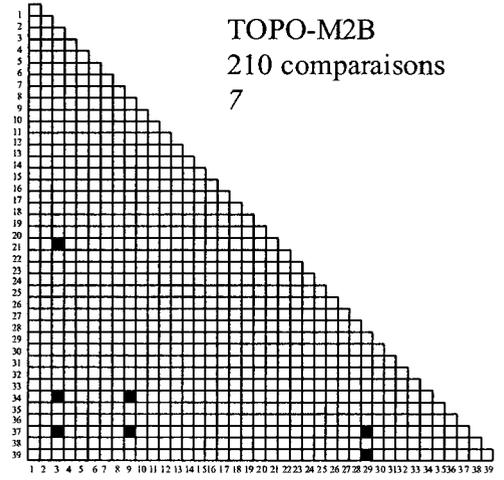
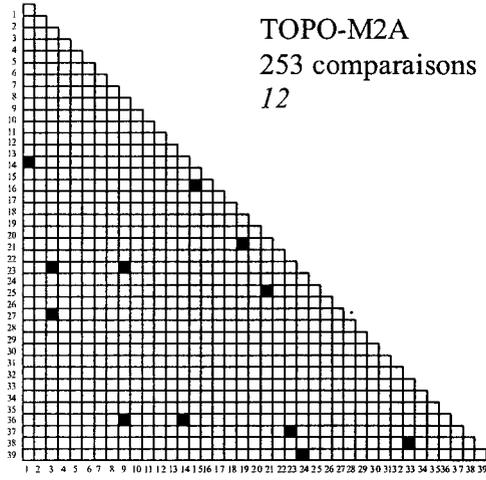
Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.



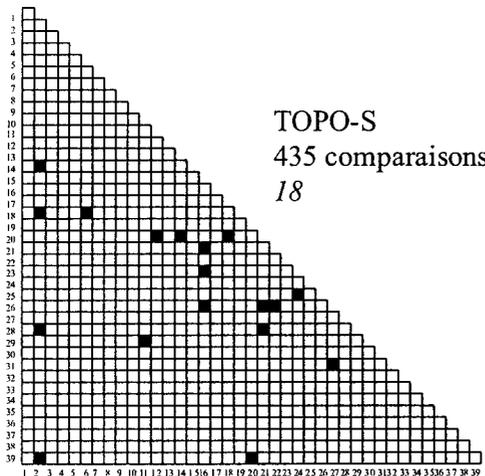
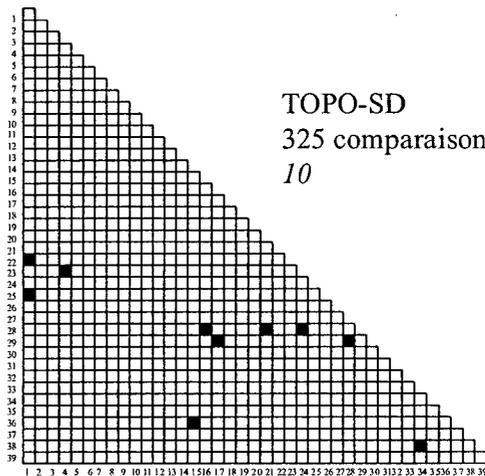
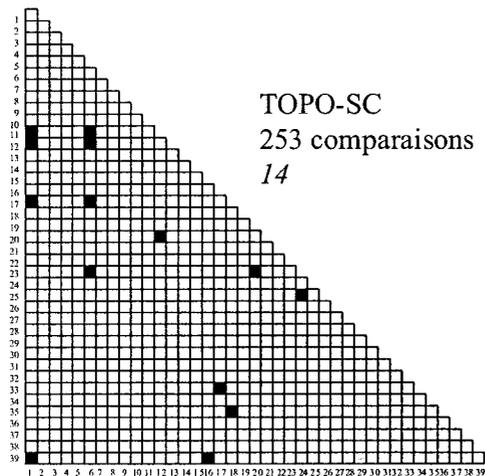
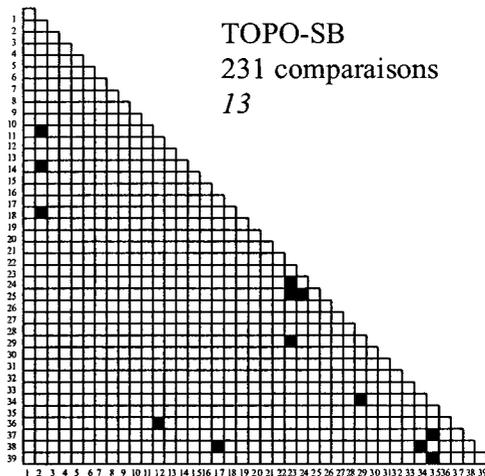
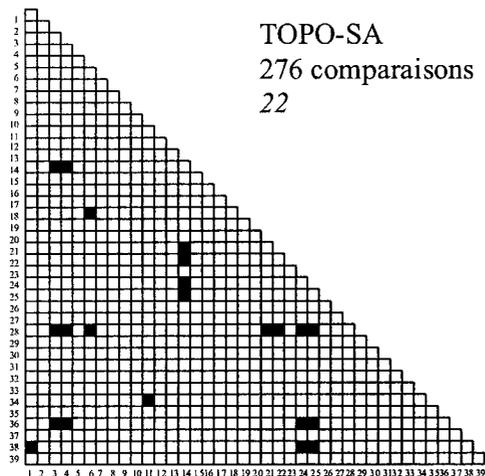
Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.



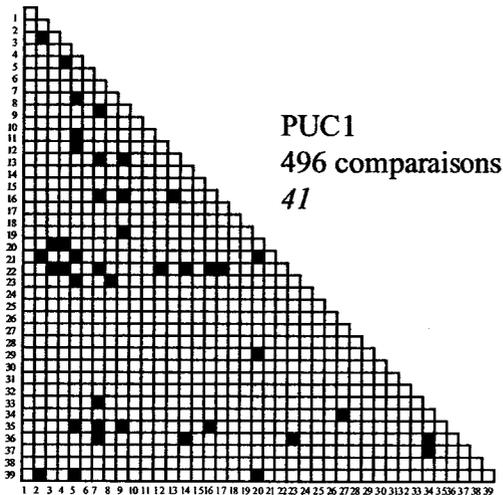
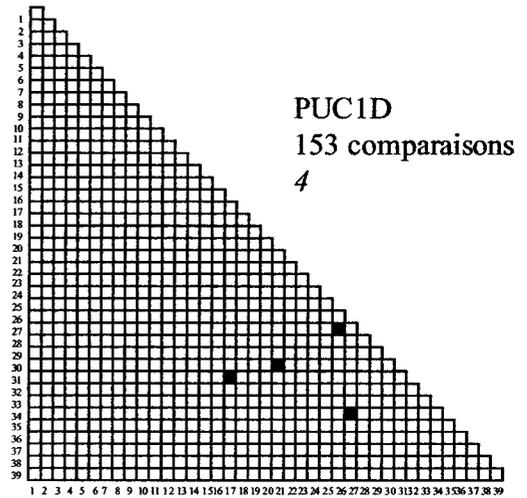
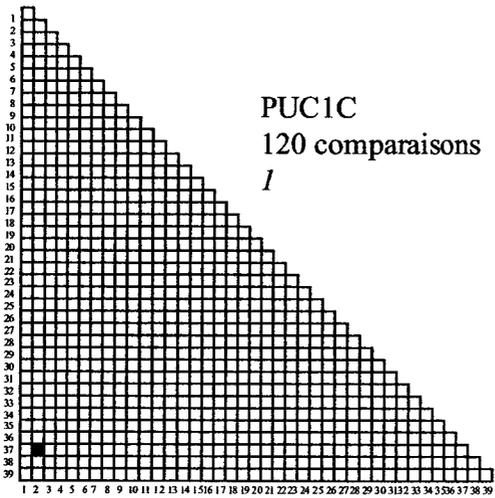
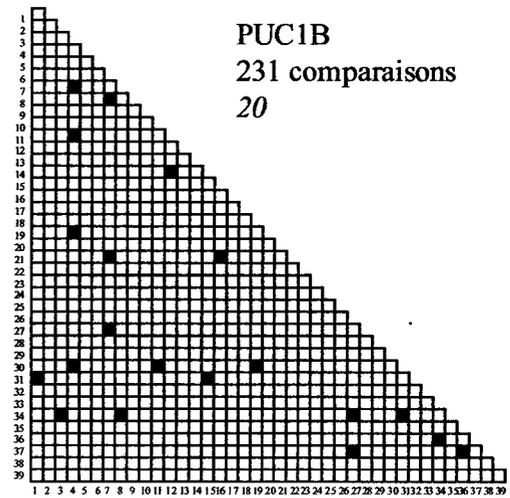
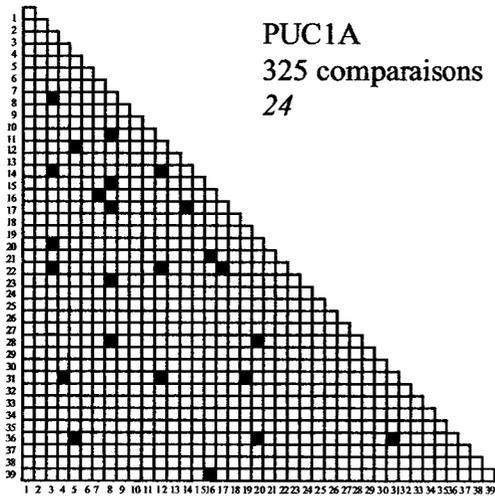
Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.



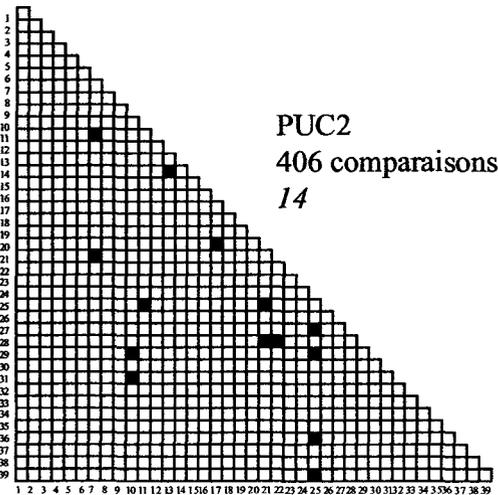
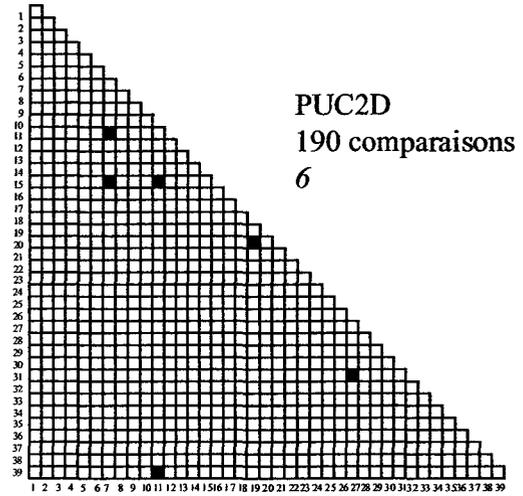
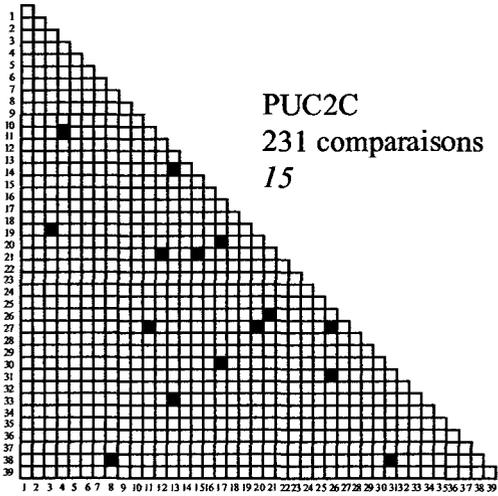
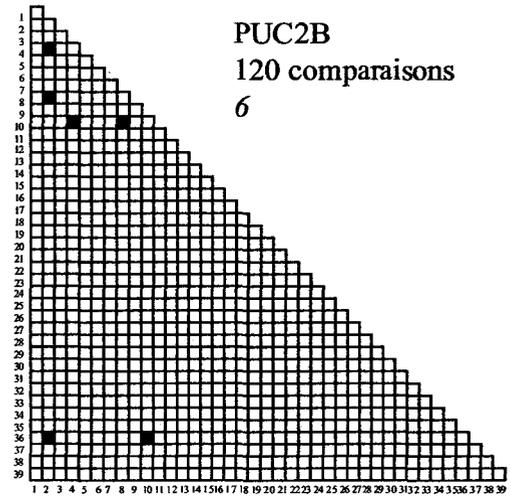
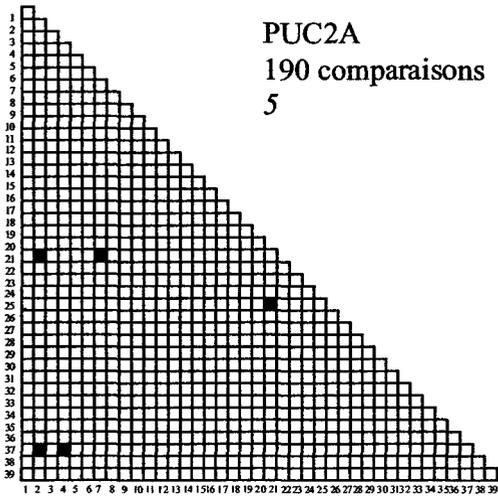
Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.

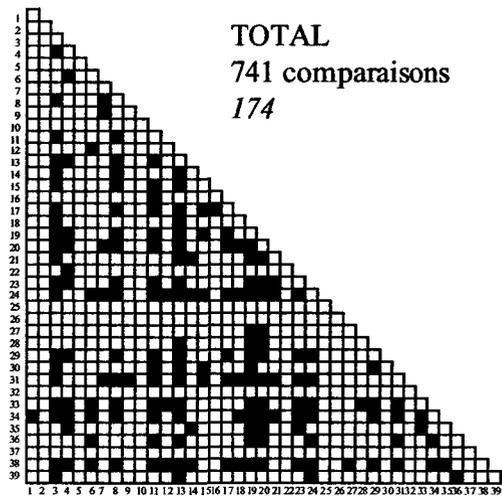
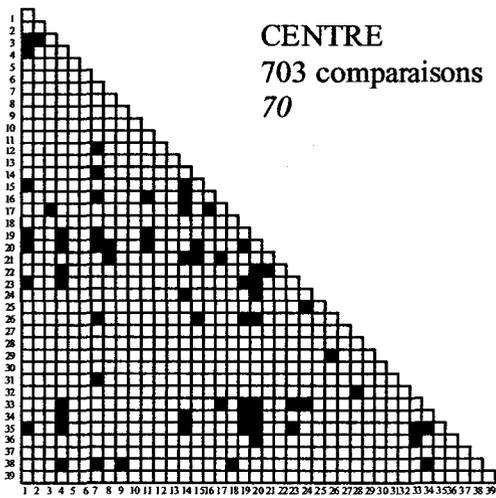


Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.



Les valeurs en *italique* correspondent aux nombre de comparaisons significatives après correction de Bonferoni.





ANNEXE 3

Déséquilibre de liaison :

présentation de la décomposition de la variance de D selon Ohta

COMPOSANTES DE LA VARIANCE DU DESEQUILIBRE DE LIAISON SELON OHTA (1982)

Nombre de populations (Sites) : 10

Nombre de locus : 39

Locus comparés	Composantes Intra-Sites		Composantes Inter-Sites		Totalité des Sites		D(ST)/D(IS)
	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)	D"(IS)/D"(ST)	
X7-13 - X7-13	0.00114	1.54075	0.37567	0.00002	1.54078	77037.500	329.535
X7-13 - X7-11	0.00384	1.31306	0.33669	0.00045	1.31352	2917.911	87.734
X7-13 - X7-57	0.00343	1.03104	0.2527	0.0038	1.03484	271.326	73.673
X7-13 - X12-1	0.00016	1.57752	0.38862	0	1.57752	-	2428.875
X7-13 - X12-1	0.00022	1.62729	0.41905	0.00205	1.62933	793.800	1904.773
X7-13 - X12-1	0.00012	1.97075	0.4811	0	1.97075	-	4009.167
X7-13 - X12-9	0.00036	2.05631	0.50216	0	2.05631	-	1394.889
X7-13 - X12-8	0.00012	2.39977	0.58533	0	2.39977	-	4877.750
X7-13 - X12-7	0.00003	1.72198	0.43066	0.00001	1.72199	172198.000	14355.333
X7-13 - X12-5	0.00517	0.87933	0.23643	0.00006	0.8794	14655.500	45.731
X7-13 - X12-2	0.00353	0.55074	0.13036	0.00005	0.55079	11014.800	36.929
X7-13 - X17-2	0.0001	3.06138	0.77151	0.0003	3.06169	10204.600	7715.100
X7-13 - X17-2	0.00078	0.5445	0.13567	0.00025	0.54475	2178.000	173.936
X7-13 - X17-1	0.005	0.62498	0.16244	0.00369	0.62867	169.371	32.488
X7-13 - X17-1	0.00308	0.97966	0.24898	0.00068	0.98034	1440.676	80.838
X7-13 - X17-1	0.0012	1.00295	0.26005	0.00142	1.00437	706.303	216.708
X7-13 - X17-1	0.00451	0.8318	0.24063	0.00152	0.83332	547.237	53.355
X7-13 - X17-8	0.00048	2.17254	0.54738	0.00369	2.17624	588.764	1140.375
X7-13 - X17-7	0.00054	2.08943	0.53452	0.01	2.09942	208.943	989.852
X7-13 - X17-7	0.00731	0.2584	0.06232	0	0.2584	-	8.525
X7-13 - A2-10	0.00171	0.11169	0.02704	0.00001	0.1117	11169.000	15.813
X7-13 - A2-90	0.0069	0.84401	0.22956	0.01102	0.85503	76.589	33.270
X7-13 - A2-80	0.00226	1.765	0.47625	0.00282	1.76781	625.887	210.730
X7-13 - A2-74	0.00152	0.33592	0.10668	0.00013	0.33605	2584.000	70.184
X7-13 - X1-14	0.00095	0.0738	0.01717	0.00005	0.07385	1476.000	18.074
X7-13 - X1-13	0.00603	0.26405	0.06101	0.00028	0.26433	943.036	10.118
X7-13 - X1-98	0.00206	0.09346	0.02608	0.00005	0.09351	1869.200	12.660
X7-13 - X1-88	0.0018	0.23082	0.05963	0.00026	0.23108	887.769	33.128
X7-13 - X1-79	0.00009	2.37774	0.57622	0.00002	2.37776	118887.000	6402.444
X7-13 - X1-75	0.00339	0.49455	0.13396	0.00004	0.49459	12363.750	39.516
X7-13 - X1-53	0.00022	1.87053	0.4838	0.00001	1.87054	187053.000	2199.091
X7-13 - X11-1	0.00392	0.69582	0.17813	0.00033	0.69616	2108.545	45.441
X7-13 - X11-1	0.00733	0.71451	0.18948	0.00607	0.72058	117.712	25.850
X7-13 - X11-1	0.00046	1.50264	0.3749	0.0012	1.50384	1252.200	815.000
X7-13 - X11-1	0.00385	0.22039	0.05681	0.00012	0.22051	1836.583	14.756
X7-13 - X11-9	0.00395	0.09028	0.02106	0.00004	0.09031	2257.000	5.332
X7-13 - X11-8	0.00177	0.94432	0.25723	0.00054	0.94486	1748.741	145.328
X7-13 - X11-7	0.00517	0.20532	0.05149	0.00002	0.20533	10266.000	9.959
X7-13 - X7-11	0.00223	0.56788	0.15507	0.00048	0.56836	1183.083	69.538
X7-13 - X7-57	0.00009	0.78408	0.19758	0	0.78408	-	2195.333
X7-13 - X12-1	0	1.51813	0.37328	0	1.51813	-	-
X7-13 - X12-1	0	1.333	0.3493	0.00006	1.33306	22216.667	-
X7-13 - X12-1	0.00001	1.18466	0.28442	0	1.18466	-	28442.000
X7-13 - X12-9	0.00009	1.26242	0.30677	0.00001	1.26242	126242.000	3408.556
X7-13 - X12-8	0.00002	1.53784	0.37948	0	1.53784	-	18974.000
X7-13 - X12-7	0.00034	1.12789	0.28957	0.00003	1.12792	37596.333	851.676
X7-13 - X12-5	0.00056	0.63643	0.17803	0	0.63643	-	317.911
X7-13 - X12-2	0.00036	0.56207	0.13291	0	0.56207	-	369.194
X7-13 - X17-2	0.00001	2.32467	0.59654	0.00004	2.32471	58116.750	59654.000
X7-13 - X17-2	0.00239	0.59758	0.14495	0.00011	0.59769	5432.545	60.649
X7-13 - X17-1	0.00082	0.68367	0.17638	0.00001	0.68368	68367.000	215.098
X7-13 - X17-1	0.00002	1.16855	0.30072	0.00022	1.16877	5311.591	15036.000
X7-13 - X17-1	0.00058	0.60615	0.16757	0.00025	0.60641	2424.600	288.914
X7-13 - X17-1	0.00059	0.91684	0.26367	0.00021	0.91706	4365.905	446.898
X7-13 - X17-8	0.00002	2.2484	0.56583	0	2.2484	-	28291.500
X7-13 - X17-7	0	2.21073	0.56471	0.00005	2.21078	44214.600	-
X7-13 - X17-7	0.00024	0.26411	0.06875	0.00002	0.26412	13205.500	286.458
X7-13 - A2-10	0.00006	0.08567	0.0207	0.00003	0.08571	2855.667	345.000

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATIONS		
	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)	D"(IS)/D"(ST)	D(ST)/D(IS)
X7-13 - A2-90	0.00032	1.00131	0.26155	0.00002	1.00133	50065.500	817.344
X7-13 - A2-80	0.00002	1.98765	0.54049	0.00009	1.98773	22085.000	27024.500
X7-13 - A2-74	0.00004	0.30127	0.09932	0.00001	0.30127	30127.000	2483.000
X7-13 - X1-14	0.00009	0.02429	0.01072	0.00002	0.02431	1214.500	119.111
X7-13 - X1-13	0.00008	0.24528	0.06491	0.00001	0.24529	24528.000	811.375
X7-13 - X1-98	0.00035	0.08503	0.02261	0	0.08503	-	64.600
X7-13 - X1-88	0.00015	0.23553	0.0617	0.00005	0.23559	4710.600	411.333
X7-13 - X1-79	0.00001	1.17282	0.28116	0	1.17282	-	28116.000
X7-13 - X1-75	0.00008	0.55687	0.15491	0	0.55687	-	1936.375
X7-13 - X1-53	0	1.48045	0.38374	0	1.48045	-	-
X7-13 - X11-1	0.00122	0.77301	0.20038	0.00004	0.77305	19325.250	164.246
X7-13 - X11-1	0.00055	0.79827	0.20732	0.00005	0.79833	15965.400	376.945
X7-13 - X11-1	0.00001	1.3871	0.34833	0.00005	1.38715	27742.000	34833.000
X7-13 - X11-1	0.00046	0.25	0.06313	0.00004	0.25003	6250.000	137.239
X7-13 - X11-9	0.00047	0.03383	0.00987	0.00001	0.03384	3383.000	21.000
X7-13 - X11-8	0.00014	1.02148	0.28296	0	1.02148	-	2021.143
X7-13 - X11-7	0.00057	0.18938	0.04732	0.00005	0.18943	3787.600	83.018
X7-11 - X7-57	0.00098	1.19819	0.30293	0.01192	1.21011	100.519	309.112
X7-11 - X12-1	0.00002	2.04213	0.51785	0.00001	2.04214	204213.000	25892.500
X7-11 - X12-1	0.00014	1.43352	0.38588	0.00003	1.43356	47784.000	2756.286
X7-11 - X12-1	0.00081	2.57184	0.63837	0.00071	2.57255	3622.310	788.111
X7-11 - X12-9	0.00013	2.13574	0.53775	0.01152	2.14726	185.394	4136.538
X7-11 - X12-8	0.00023	2.16153	0.54524	0.00065	2.16217	3325.431	2370.609
X7-11 - X12-7	0.00022	1.83088	0.47213	0.00003	1.83091	61029.333	2146.045
X7-11 - X12-5	0.00467	1.06198	0.3047	0.07321	1.13519	14.506	65.246
X7-11 - X12-2	0.00145	0.82227	0.21076	0.0001	0.82237	8222.700	145.352
X7-11 - X17-2	0.00064	2.84054	0.75805	0.16417	3.00471	17.302	1184.453
X7-11 - X17-2	0.00166	0.88765	0.23739	0.02809	0.91575	31.600	143.006
X7-11 - X17-1	0.00164	0.77985	0.22953	0.07825	0.8581	9.966	139.957
X7-11 - X17-1	0.00006	1.38403	0.36851	0.01188	1.39591	116.501	6141.833
X7-11 - X17-1	0.00383	0.73611	0.22289	0.08742	0.82353	8.420	58.196
X7-11 - X17-1	0.00142	1.06261	0.30396	0.01482	1.07744	71.701	214.056
X7-11 - X17-8	0.0025	2.01943	0.53634	0.106	2.12543	19.051	214.536
X7-11 - X17-7	0.00047	2.43786	0.64835	0.08977	2.52763	27.157	1379.468
X7-11 - X17-7	0.00136	0.5107	0.14795	0.0239	0.5346	21.368	108.787
X7-11 - A2-10	0.00042	0.81064	0.21125	0.00312	0.81376	259.821	502.976
X7-11 - A2-90	0.00229	1.08895	0.2929	0.03438	1.12332	31.674	127.904
X7-11 - A2-80	0.00039	1.88124	0.5299	0.11849	1.99973	15.877	1358.718
X7-11 - A2-74	0.00077	1.00916	0.27754	0.00047	1.00963	2147.149	360.442
X7-11 - X1-14	0.00111	0.46023	0.13515	0.00259	0.46282	177.695	121.757
X7-11 - X1-13	0.00514	0.47918	0.13103	0.0008	0.47998	598.975	25.492
X7-11 - X1-98	0.00263	0.34096	0.09725	0.00931	0.35027	36.623	36.977
X7-11 - X1-88	0.0013	0.44677	0.13109	0.01846	0.46523	24.202	100.838
X7-11 - X1-79	0.00061	2.55166	0.64046	0.00097	2.55263	2630.577	1049.934
X7-11 - X1-75	0.00116	0.82005	0.22908	0.02199	0.84205	37.292	197.483
X7-11 - X1-53	0	2.29946	0.59736	0.00003	2.29949	76648.667	-
X7-11 - X11-1	0.00325	0.82197	0.22594	0.04391	0.86589	18.719	69.520
X7-11 - X11-1	0.00235	0.88973	0.24373	0.03178	0.9215	27.997	103.715
X7-11 - X11-1	0.00093	1.82532	0.47098	0.00231	1.82764	790.182	506.430
X7-11 - X11-1	0.00283	0.46329	0.12794	0.01367	0.47696	33.891	45.208
X7-11 - X11-9	0.00282	0.43877	0.12513	0.00323	0.442	135.842	44.372
X7-11 - X11-8	0.00188	0.98646	0.28703	0.0546	1.04105	18.067	152.676
X7-11 - X11-7	0.0032	0.46556	0.12822	0.01656	0.48212	28.114	40.069
X7-57 - X12-1	0.00055	1.36157	0.34222	0.00001	1.36158	136157.000	622.218
X7-57 - X12-1	0.00004	1.26737	0.32757	0.00774	1.27511	163.743	8189.250
X7-57 - X12-1	0.00251	1.76642	0.43653	0.00025	1.76667	7065.680	173.916
X7-57 - X12-9	0.00339	1.79664	0.44173	0.00211	1.79874	851.488	130.304
X7-57 - X12-8	0.00327	1.83847	0.45002	0.00001	1.83848	183847.000	137.621
X7-57 - X12-7	0.0001	1.40741	0.35483	0	1.40741	-	3548.300
X7-57 - X12-5	0.00867	0.9977	0.2592	0.00677	1.00446	147.371	29.896
X7-57 - X12-2	0.00257	0.73152	0.17722	0.00981	0.74133	74.569	68.957
X7-57 - X17-2	0.0009	2.65825	0.67732	0.04635	2.70461	57.352	752.578
X7-57 - X17-2	0.00209	0.6319	0.16352	0.00043	0.63233	1469.535	78.239
X7-57 - X17-1	0.00434	0.62986	0.16886	0.01333	0.64319	47.251	38.908
X7-57 - X17-1	0.00295	1.21263	0.31789	0.00008	1.21271	15157.875	107.759
X7-57 - X17-1	0.00345	0.66612	0.17498	0.00901	0.67513	73.931	50.719
X7-57 - X17-1	0.00225	0.75792	0.21238	0.0109	0.76882	69.534	94.391

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATIONS		
	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D'(ST)	D(IT)	D"(IS)/D'(ST)	D(ST)/D(IS)
X7-57 - X17-8	0.01572	1.80162	0.46535	0.08426	1.88588	21.382	29.602
X7-57 - X17-7	0.00392	1.90749	0.53231	0.15974	2.06723	11.941	135.793
X7-57 - X17-7	0.00215	0.48393	0.12471	0.00507	0.489	95.450	58.005
X7-57 - A2-10	0.00903	0.38369	0.1051	0.00465	0.38834	82.514	11.639
X7-57 - A2-90	0.00082	0.82478	0.2261	0.03834	0.86312	21.512	275.732
X7-57 - A2-80	0.00743	1.61063	0.42336	0.00978	1.62041	164.686	56.980
X7-57 - A2-74	0.00029	0.51559	0.1484	0.00041	0.516	1257.537	511.724
X7-57 - X1-14	0.00151	0.31807	0.09181	0.00006	0.31812	5301.167	60.801
X7-57 - X1-13	0.00532	0.38358	0.10156	0.00622	0.3898	61.669	19.090
X7-57 - X1-98	0.00814	0.28559	0.07611	0.00838	0.29396	34.080	9.350
X7-57 - X1-88	0.00564	0.46656	0.12259	0.01464	0.4812	31.869	21.736
X7-57 - X1-79	0.00012	1.95445	0.48592	0.0004	1.95485	4886.125	4049.333
X7-57 - X1-75	0.00315	0.84974	0.21975	0.00384	0.85357	221.286	69.762
X7-57 - X1-53	0.00008	1.48429	0.38536	0.00004	1.48433	37107.250	4817.000
X7-57 - X11-1	0.00265	0.71452	0.19861	0.06201	0.77653	11.523	74.947
X7-57 - X11-1	0.00071	0.73622	0.19408	0.01606	0.75227	45.842	273.352
X7-57 - X11-1	0.01231	1.1481	0.28823	0.00783	1.15594	146.628	23.414
X7-57 - X11-1	0.0007	0.43304	0.11168	0.00614	0.43917	70.528	159.543
X7-57 - X11-9	0.00519	0.33142	0.08867	0.00112	0.33254	295.911	17.085
X7-57 - X11-8	0.02766	0.9814	0.25613	0.01863	1.00003	52.678	9.260
X7-57 - X11-7	0.00156	0.38524	0.09652	0.00088	0.38612	437.773	61.872
X12-1 - X12-1	0.0003	0.98528	0.25563	0	0.98528	-	852.100
X12-1 - X12-1	0.00001	0.78607	0.1946	0	0.78607	-	19460.000
X12-1 - X12-9	0.00023	0.85543	0.21679	0.00001	0.85545	85543.000	942.565
X12-1 - X12-8	0.00029	0.81463	0.19639	0.00002	0.81466	40731.500	677.207
X12-1 - X12-7	0	1.08504	0.28595	0	1.08504	-	-
X12-1 - X12-5	0.00039	1.01893	0.27141	0.00015	1.01908	6792.867	695.923
X12-1 - X12-2	0.00046	0.57174	0.13359	0.00002	0.57176	28587.000	290.413
X12-1 - X17-2	0	2.34869	0.6079	0	2.34869	-	-
X12-1 - X17-2	0.00025	0.58174	0.14566	0	0.58175	-	582.640
X12-1 - X17-1	0.00054	0.67992	0.1771	0.00001	0.67993	67992.000	327.963
X12-1 - X17-1	0.00054	0.41886	0.10473	0.0001	0.41896	4188.600	193.944
X12-1 - X17-1	0.00011	0.60207	0.16476	0.00007	0.60213	8601.000	1497.818
X12-1 - X17-1	0.00014	0.52641	0.15972	0	0.52641	-	1140.857
X12-1 - X17-8	0.00039	0.97138	0.26502	0.00017	0.97155	5714.000	679.538
X12-1 - X17-7	0.00021	1.83517	0.47604	0.00009	1.83526	20390.778	2266.857
X12-1 - X17-7	0.00026	0.27464	0.07198	0.00001	0.27465	27464.000	276.846
X12-1 - A2-10	0.00018	0.09129	0.02089	0.00001	0.09131	9129.000	116.056
X12-1 - A2-90	0.00051	0.65101	0.16916	0	0.65101	-	331.686
X12-1 - A2-80	0.00017	1.6256	0.44501	0.00014	1.62574	11611.429	2617.706
X12-1 - A2-74	0.00001	0.29652	0.09829	0	0.29652	-	9829.000
X12-1 - X1-14	0.00003	0.01902	0.005	0.00001	0.01903	1902.000	166.667
X12-1 - X1-13	0.00149	0.26289	0.06173	0.00022	0.26312	1194.955	41.430
X12-1 - X1-98	0.00012	0.08273	0.02384	0.00007	0.0828	1181.857	198.667
X12-1 - X1-88	0.00044	0.24612	0.06443	0.00001	0.24613	24612.000	146.432
X12-1 - X1-79	0	1.16639	0.28578	0	1.16639	-	-
X12-1 - X1-75	0.0001	0.23507	0.0701	0	0.23507	-	701.000
X12-1 - X1-53	0	0.65465	0.19123	0	0.65465	-	-
X12-1 - X11-1	0.0003	0.77217	0.20217	0.00012	0.77229	6434.750	673.900
X12-1 - X11-1	0.00048	0.44999	0.11472	0.00001	0.45001	44999.000	239.000
X12-1 - X11-1	0.00058	0.30325	0.07509	0.00035	0.3036	866.429	129.466
X12-1 - X11-1	0.00083	0.26538	0.06509	0.00007	0.26545	3791.143	78.422
X12-1 - X11-9	0.00009	0.03498	0.00925	0.00003	0.035	1166.000	102.778
X12-1 - X11-8	0.00048	1.0365	0.28767	0.00025	1.03674	4146.000	599.313
X12-1 - X11-7	0.00067	0.19711	0.04786	0.00001	0.19712	19711.000	71.433
X12-1 - X12-1	0	2.65921	0.63466	0.00007	2.65928	37988.714	-
X12-1 - X12-9	0	3.09726	0.74042	0.00069	3.09795	4488.783	-
X12-1 - X12-8	0	2.66376	0.63208	0.00001	2.66377	266376.000	-
X12-1 - X12-7	0	2.28664	0.53235	0.00001	2.28664	228664.000	-
X12-1 - X12-5	0.00054	1.46296	0.37393	0.00066	1.46362	2216.606	692.463
X12-1 - X12-2	0.0002	0.72585	0.18816	0.07392	0.79977	9.819	940.800
X12-1 - X17-2	0	3.68	0.93638	0.0002	3.6802	18400.000	-
X12-1 - X17-2	0.00105	0.57333	0.16132	0.00044	0.57377	1303.023	153.638
X12-1 - X17-1	0.00084	0.67846	0.19005	0.00022	0.67869	3083.909	226.250
X12-1 - X17-1	0.00027	0.82727	0.22483	0.00015	0.82742	5515.133	832.704
X12-1 - X17-1	0.00086	0.6125	0.18007	0.00022	0.61273	2784.091	209.384
X12-1 - X17-1	0.00206	0.20293	0.06936	0.00055	0.20349	368.964	33.670

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATION		
	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)	D"(IS)/D"(ST)	D(ST)/D(IS)
X12-1 - X17-8	0.00011	2.26481	0.58286	0.00007	2.26488	32354.429	5298.727
X12-1 - X17-7	0.00099	2.70694	0.69825	0.00075	2.70768	3609.253	705.303
X12-1 - X17-7	0.00007	0.26009	0.08028	0.00031	0.26039	839.000	1146.857
X12-1 - A2-10	0.00028	1.12133	0.25716	0.00114	1.12247	983.623	918.429
X12-1 - A2-90	0.00087	1.03337	0.26081	0.00363	1.037	284.675	299.782
X12-1 - A2-80	0.00016	1.97885	0.50543	0.06502	2.04387	30.434	3158.938
X12-1 - A2-74	0.00012	1.08872	0.2487	0.00022	1.08894	4948.727	2072.500
X12-1 - X1-14	0.00035	0.59762	0.13595	0.00023	0.59785	2598.348	388.429
X12-1 - X1-13	0.00159	0.60401	0.14117	0.00703	0.61103	85.919	88.786
X12-1 - X1-98	0.00042	0.46461	0.11035	0.00043	0.46504	1080.488	262.738
X12-1 - X1-88	0.00104	0.75664	0.18126	0.00445	0.76109	170.031	174.288
X12-1 - X1-79	0	3.45427	0.82213	0.00003	3.4543	115142.333	-
X12-1 - X1-75	0.00012	1.0598	0.26967	0.00145	1.06124	730.897	2247.250
X12-1 - X1-53	0	2.28001	0.53362	0.00001	2.28002	228001.000	-
X12-1 - X11-1	0.00064	1.10103	0.28546	0.02831	1.12934	38.892	446.031
X12-1 - X11-1	0.00049	0.88277	0.21669	0.01925	0.90203	45.858	442.224
X12-1 - X11-1	0.00021	2.08066	0.49575	0.00187	2.08253	1112.652	2360.714
X12-1 - X11-1	0.00153	0.56632	0.13798	0.01225	0.57857	46.230	90.183
X12-1 - X11-9	0.00048	0.61785	0.13891	0.00073	0.61858	846.370	289.396
X12-1 - X11-8	0.00038	1.05657	0.27018	0.02925	1.08582	36.122	711.000
X12-1 - X11-7	0.00055	0.59759	0.14504	0.00464	0.60223	128.791	263.709
X12-1 - X12-9	0.0027	0.51936	0.13219	0.00063	0.52	824.381	48.959
X12-1 - X12-8	0.01743	0.78117	0.20493	0.00201	0.78317	388.642	11.757
X12-1 - X12-7	0	0.63951	0.17387	0	0.63951	-	-
X12-1 - X12-5	0.00104	0.63229	0.16826	0.00068	0.63297	929.838	161.788
X12-1 - X12-2	0.00033	0.57587	0.1355	0	0.57587	-	410.606
X12-1 - X17-2	0.00548	1.50497	0.38322	0.00094	1.50591	1601.032	69.931
X12-1 - X17-2	0.00023	0.56825	0.14216	0.00015	0.56841	3788.333	618.087
X12-1 - X17-1	0.00051	0.66493	0.16897	0.00039	0.66532	1704.949	331.314
X12-1 - X17-1	0.01075	0.8281	0.21194	0.00085	0.82895	974.235	19.715
X12-1 - X17-1	0.00138	0.61345	0.15958	0.00041	0.61386	1496.220	115.638
X12-1 - X17-1	0.00001	0.82845	0.23231	0.00038	0.82884	2180.132	23231.000
X12-1 - X17-8	0.00239	0.9561	0.25111	0.00133	0.95742	718.872	105.067
X12-1 - X17-7	0.00004	1.38699	0.35759	0.00242	1.38941	573.136	8939.750
X12-1 - X17-7	0.00504	0.32141	0.07501	0.00014	0.32155	2295.786	14.883
X12-1 - A2-10	0.00044	0.08951	0.02348	0.00003	0.08954	2983.667	53.364
X12-1 - A2-90	0.0002	0.99234	0.25921	0.00044	0.99278	2255.318	1296.050
X12-1 - A2-80	0.00002	1.89176	0.50569	0.00158	1.89335	1197.316	25284.500
X12-1 - A2-74	0.00033	0.23376	0.07704	0.00001	0.23377	23376.000	233.455
X12-1 - X1-14	0.00121	0.04755	0.01084	0.00004	0.04759	1188.750	8.959
X12-1 - X1-13	0.0006	0.25395	0.06212	0.00053	0.25448	479.151	103.533
X12-1 - X1-98	0.00149	0.08369	0.02525	0.00044	0.08413	190.205	16.946
X12-1 - X1-88	0.00046	0.2598	0.06735	0.00008	0.25988	3247.500	146.413
X12-1 - X1-79	0.00033	0.44133	0.106	0	0.44133	-	321.212
X12-1 - X1-75	0.00317	0.22765	0.0708	0.00162	0.22927	140.525	22.334
X12-1 - X1-53	0	0.58346	0.17085	0	0.58346	-	-
X12-1 - X11-1	0.00125	0.7559	0.19254	0.00071	0.75662	1064.648	154.032
X12-1 - X11-1	0.00007	0.78929	0.2034	0.00055	0.78984	1435.073	2905.714
X12-1 - X11-1	0.0071	0.68281	0.17308	0.00045	0.68325	1517.356	24.377
X12-1 - X11-1	0.00552	0.26441	0.06764	0.00073	0.26514	362.205	12.254
X12-1 - X11-9	0.00267	0.06601	0.01481	0.00008	0.06608	825.125	5.547
X12-1 - X11-8	0.0003	0.94695	0.25322	0.00074	0.94769	1279.662	844.067
X12-1 - X11-7	0.00087	0.18801	0.0465	0.00032	0.18833	587.531	53.448
X12-9 - X12-8	0.00198	0.71967	0.18716	0.00061	0.72028	1179.787	94.525
X12-9 - X12-7	0.00017	0.66795	0.18141	0.00002	0.66797	33397.500	1067.118
X12-9 - X12-5	0.0036	0.54314	0.15767	0.01829	0.56143	29.696	43.797
X12-9 - X12-2	0.00157	0.59452	0.1417	0.00113	0.59566	526.124	90.255
X12-9 - X17-2	0.0007	1.30516	0.34932	0.02844	1.33361	45.892	499.029
X12-9 - X17-2	0.00038	0.56124	0.14368	0.00613	0.56737	91.556	378.105
X12-9 - X17-1	0.00072	0.58665	0.15642	0.01173	0.59838	50.013	217.250
X12-9 - X17-1	0.00025	0.69837	0.17982	0.00093	0.6993	750.935	719.280
X12-9 - X17-1	0.00401	0.55823	0.15758	0.0137	0.57194	40.747	39.297
X12-9 - X17-1	0.00001	0.64336	0.18298	0.00287	0.64623	224.167	18298.000
X12-9 - X17-8	0.0004	0.85635	0.23348	0.01941	0.87575	44.119	583.700
X12-9 - X17-7	0.00026	1.27421	0.33528	0.02296	1.29717	55.497	1289.538
X12-9 - X17-7	0.00319	0.34335	0.08393	0.00359	0.34694	95.641	26.310
X12-9 - A2-10	0.00006	0.15744	0.04092	0.00019	0.15763	828.632	682.000

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATIONS		
	D(IS)	D*(IS)	D(ST)	D*(ST)	D(IT)	D*(IS)/D*(ST)	D(ST)/D(IS)
X12-9 - A2-90	0.0009	0.83079	0.21696	0.00499	0.83578	166.491	241.067
X12-9 - A2-80	0.00011	1.60242	0.42861	0.0185	1.62091	86.617	3896.455
X12-9 - A2-74	0.00003	0.26932	0.08471	0.00008	0.2694	3366.500	2823.667
X12-9 - X1-14	0.00003	0.10644	0.03097	0.00015	0.10659	709.600	1032.333
X12-9 - X1-13	0.00078	0.28373	0.07103	0	0.28373	-	91.064
X12-9 - X1-98	0.00485	0.14437	0.03588	0.00041	0.14479	352.122	7.398
X12-9 - X1-88	0.00029	0.2837	0.07539	0.00357	0.28727	79.468	259.966
X12-9 - X1-79	0.00122	0.52475	0.12654	0.00001	0.52475	52475.000	103.721
X12-9 - X1-75	0.00283	0.26231	0.08264	0.00723	0.26954	36.281	29.201
X12-9 - X1-53	0	0.48833	0.144	0	0.48834	-	-
X12-9 - X11-1	0.00014	0.70577	0.18317	0.00901	0.71478	78.332	1308.357
X12-9 - X11-1	0.00017	0.64174	0.16547	0.00446	0.6462	143.888	973.353
X12-9 - X11-1	0.00234	0.59039	0.15268	0.00003	0.59042	19679.667	65.248
X12-9 - X11-1	0.00109	0.29984	0.0744	0.00107	0.30091	280.224	68.257
X12-9 - X11-9	0.00254	0.13671	0.03267	0.00001	0.13672	13671.000	12.862
X12-9 - X11-8	0.0002	0.88932	0.23868	0.00526	0.89458	169.072	1193.400
X12-9 - X11-7	0.00004	0.21296	0.05471	0.00107	0.21403	199.028	1367.750
X12-8 - X12-7	0	0.22632	0.07537	0	0.22632	-	-
X12-8 - X12-5	0.00034	0.99291	0.26299	0.00059	0.9935	1682.898	773.500
X12-8 - X12-2	0.00099	0.5737	0.13559	0.00001	0.57371	57370.000	136.960
X12-8 - X17-2	0.00522	1.46208	0.38239	0.00058	1.46266	2520.828	73.255
X12-8 - X17-2	0.00022	0.57312	0.14402	0.00036	0.57347	1592.000	654.636
X12-8 - X17-1	0.00119	0.67097	0.17109	0.00018	0.67115	3727.611	143.773
X12-8 - X17-1	0.00994	0.44011	0.10896	0.00085	0.44096	517.776	10.962
X12-8 - X17-1	0.00106	0.60329	0.15825	0.00041	0.6037	1471.439	149.292
X12-8 - X17-1	0.0001	0.4295	0.1274	0.00038	0.42988	1130.263	1274.000
X12-8 - X17-8	0.00207	0.96445	0.25182	0.00054	0.965	1786.019	121.652
X12-8 - X17-7	0.00032	1.80696	0.46311	0.00088	1.80785	2053.364	1447.219
X12-8 - X17-7	0.00314	0.31466	0.07694	0.00003	0.31469	10488.667	24.503
X12-8 - A2-10	0.00029	0.5246	0.1212	0	0.5246	-	417.931
X12-8 - A2-90	0.0013	0.65442	0.16602	0.00013	0.65455	5034.000	127.708
X12-8 - A2-80	0.00003	1.97207	0.50711	0.00138	1.97345	1429.036	16903.667
X12-8 - A2-74	0	0.66131	0.17329	0.00001	0.66132	66131.000	-
X12-8 - X1-14	0.00146	0.05182	0.01177	0.00004	0.05186	1295.500	8.062
X12-8 - X1-13	0.00039	0.24515	0.06225	0.0002	0.24535	1225.750	159.615
X12-8 - X1-98	0.00224	0.08318	0.02583	0.0006	0.08378	138.633	11.531
X12-8 - X1-88	0.00092	0.26029	0.06779	0	0.26029	-	73.685
X12-8 - X1-79	0.00041	0.83067	0.20136	0	0.83067	-	491.122
X12-8 - X1-75	0.00362	0.21956	0.07063	0.00154	0.2211	142.571	19.511
X12-8 - X1-53	0	1.02182	0.26712	0	1.02182	-	-
X12-8 - X11-1	0.00133	0.75854	0.19269	0.00034	0.75888	2231.000	144.880
X12-8 - X11-1	0.00007	0.44007	0.11084	0.00039	0.44046	1128.385	1583.429
X12-8 - X11-1	0.01043	0.75647	0.17765	0.00069	0.75716	1096.333	17.033
X12-8 - X11-1	0.00195	0.26422	0.06805	0.00062	0.26484	426.161	34.897
X12-8 - X11-9	0.00339	0.06999	0.01567	0.00001	0.07	6999.000	4.622
X12-8 - X11-8	0.00068	0.936	0.25011	0.00127	0.93728	737.008	367.809
X12-8 - X11-7	0.00055	0.18427	0.04714	0.00001	0.18427	18427.000	85.709
X12-7 - X12-5	0.00005	1.02528	0.27684	0.00001	1.02529	102528.000	5536.800
X12-7 - X12-2	0.00025	0.56465	0.13247	0.00002	0.56467	28232.500	529.880
X12-7 - X17-2	0	1.88654	0.51066	0	1.88654	-	-
X12-7 - X17-2	0.00038	0.5827	0.14671	0.00002	0.58272	29135.000	386.079
X12-7 - X17-1	0.00018	0.68665	0.1811	0.00001	0.68666	68665.000	1006.111
X12-7 - X17-1	0.00014	1.23505	0.31969	0.00006	1.23511	20584.167	2283.500
X12-7 - X17-1	0.00006	1.05829	0.27551	0	1.05829	-	4591.833
X12-7 - X17-1	0.00012	0.61547	0.16106	0.00004	0.61551	15386.750	1342.167
X12-7 - X17-8	0	1.83277	0.48004	0	1.83277	-	-
X12-7 - X17-7	0	2.26619	0.58879	0.00001	2.2662	226619.000	-
X12-7 - X17-7	0.00015	0.27589	0.07164	0	0.27588	-	477.600
X12-7 - A2-10	0.00001	0.5162	0.11781	0.00001	0.5162	51620.000	11781.000
X12-7 - A2-90	0.00013	1.0157	0.26797	0	1.0157	-	2061.308
X12-7 - A2-80	0.00001	2.19266	0.55342	0.00001	2.19266	219266.000	55342.000
X12-7 - A2-74	0.0003	0.43989	0.0994	0.00002	0.43991	21994.500	331.333
X12-7 - X1-14	0.00031	0.01957	0.00743	0.00002	0.01959	978.500	23.968
X12-7 - X1-13	0.00024	0.24659	0.06394	0	0.24659	-	266.417
X12-7 - X1-98	0.00027	0.07941	0.02337	0	0.07942	-	86.556
X12-7 - X1-88	0.00042	0.24382	0.06301	0	0.24382	-	150.024
X12-7 - X1-79	0	1.57824	0.39065	0	1.57824	-	-

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATIONS		
	D(IS)	D*(IS)	D(ST)	D*(ST)	D(IT)	D*(IS)/D*(ST)	D(ST)/D(IS)
X12-7 - X1-75	0.00015	0.60693	0.16761	0	0.60693	-	1117.400
X12-7 - X1-53	0	1.56765	0.38906	0	1.56765	-	-
X12-7 - X11-1	0.00011	0.77024	0.20388	0.00005	0.77029	15404.800	1853.455
X12-7 - X11-1	0.0002	0.80707	0.211	0.00006	0.80712	13451.167	1055.000
X12-7 - X11-1	0	1.86935	0.46287	0.00001	1.86936	186935.000	-
X12-7 - X11-1	0.00014	0.25199	0.06453	0	0.25199	-	460.929
X12-7 - X11-9	0.00003	0.03323	0.00908	0.00001	0.03324	3323.000	302.667
X12-7 - X11-8	0.00013	0.74698	0.19132	0	0.74698	-	1471.692
X12-7 - X11-7	0.0005	0.19175	0.04723	0	0.19175	-	94.460
X12-5 - X12-2	0.00138	0.83471	0.21956	0.00336	0.83808	248.426	159.101
X12-5 - X17-2	0.00024	2.68949	0.69793	0.15709	2.84657	17.121	2908.042
X12-5 - X17-2	0.00219	0.91434	0.25005	0.01349	0.92782	67.779	114.178
X12-5 - X17-1	0.00225	0.79513	0.23663	0.10172	0.89685	7.817	105.169
X12-5 - X17-1	0.00068	1.41384	0.36831	0.0274	1.44123	51.600	541.632
X12-5 - X17-1	0.00543	1.08652	0.32302	0.09031	1.17683	12.031	59.488
X12-5 - X17-1	0.00042	1.2778	0.35962	0.01241	1.29021	102.965	856.238
X12-5 - X17-8	0.00492	2.1681	0.57638	0.06908	2.23718	31.385	117.150
X12-5 - X17-7	0.00083	1.97548	0.52064	0.06282	2.0383	31.447	627.277
X12-5 - X17-7	0.00202	0.56427	0.15377	0.01381	0.57807	40.860	76.124
X12-5 - A2-10	0.00282	0.90016	0.23323	0.0026	0.90276	346.215	82.706
X12-5 - A2-90	0.00416	1.16832	0.31528	0.02671	1.19503	43.741	75.788
X12-5 - A2-80	0.00247	2.05537	0.57718	0.10561	2.16098	19.462	233.676
X12-5 - A2-74	0.00174	1.16456	0.31816	0.00009	1.16465	12939.556	182.851
X12-5 - X1-14	0.00182	0.50305	0.15015	0.00262	0.50568	192.004	82.500
X12-5 - X1-13	0.00236	0.48983	0.13556	0.00001	0.48984	48983.000	57.441
X12-5 - X1-98	0.00363	0.39359	0.10753	0.00499	0.39858	78.876	29.623
X12-5 - X1-88	0.0041	0.50158	0.14099	0.01635	0.51793	30.678	34.388
X12-5 - X1-79	0.00016	2.68967	0.67146	0.00074	2.6904	3634.689	4196.625
X12-5 - X1-75	0.0094	1.09311	0.30873	0.02494	1.11805	43.830	32.844
X12-5 - X1-53	0.00003	2.25319	0.59682	0.00008	2.25327	28164.875	19894.000
X12-5 - X11-1	0.00312	0.89079	0.24246	0.0413	0.93209	21.569	77.712
X12-5 - X11-1	0.014	1.00168	0.27115	0.03073	1.03241	32.596	19.368
X12-5 - X11-1	0.00087	2.17171	0.5587	0.00655	2.17826	331.559	642.184
X12-5 - X11-1	0.00477	0.50571	0.13935	0.02297	0.52868	22.016	29.214
X12-5 - X11-9	0.00335	0.50642	0.13829	0.00381	0.51023	132.919	41.281
X12-5 - X11-8	0.00522	1.09973	0.30922	0.02961	1.12935	37.140	59.238
X12-5 - X11-7	0.00682	0.52259	0.14231	0.01407	0.53666	37.142	20.867
X12-2 - X17-2	0.00021	2.91367	0.73645	0.00591	2.91959	493.007	3506.905
X12-2 - X17-2	0.00649	0.59324	0.15256	0.00172	0.59497	344.907	23.507
X12-2 - X17-1	0.00712	0.68162	0.1821	0.00234	0.68395	291.291	25.576
X12-2 - X17-1	0.00148	1.19494	0.31254	0.00038	1.19532	3144.579	211.176
X12-2 - X17-1	0.00449	1.0263	0.26496	0.00016	1.02647	6414.375	59.011
X12-2 - X17-1	0.00247	0.91276	0.26266	0.00095	0.91372	960.800	106.340
X12-2 - X17-8	0.00237	2.15487	0.54275	0.00661	2.16149	326.002	229.008
X12-2 - X17-7	0.00251	2.08681	0.53954	0.01105	2.09786	188.852	214.956
X12-2 - X17-7	0.00081	0.31083	0.08374	0.00433	0.31516	71.785	103.383
X12-2 - A2-10	0.00102	0.95019	0.21863	0.00031	0.9505	3065.129	214.343
X12-2 - A2-90	0.00242	1.19987	0.30658	0.00072	1.20059	1666.486	126.686
X12-2 - A2-80	0.00266	2.32502	0.60347	0.02168	2.3467	107.243	226.868
X12-2 - A2-74	0.00036	1.14666	0.28852	0.00002	1.14668	57333.000	801.444
X12-2 - X1-14	0.00212	0.49536	0.11449	0.00005	0.4954	9907.200	54.005
X12-2 - X1-13	0.00514	0.48599	0.11708	0.00314	0.48912	154.774	22.778
X12-2 - X1-98	0.01061	0.37729	0.09037	0.00063	0.37792	598.873	8.517
X12-2 - X1-88	0.00283	0.606	0.14539	0.00565	0.61165	107.257	51.375
X12-2 - X1-79	0.00027	3.01993	0.72378	0.00015	3.02008	20132.867	2680.667
X12-2 - X1-75	0.0011	0.87345	0.22253	0.00027	0.87372	3235.000	202.300
X12-2 - X1-53	0.00024	2.63228	0.65502	0.00006	2.63234	43871.333	2729.250
X12-2 - X11-1	0.00492	0.86044	0.2247	0.02537	0.88582	33.916	45.671
X12-2 - X11-1	0.00224	1.06755	0.26984	0.00643	1.07398	166.026	120.464
X12-2 - X11-1	0.00117	2.29367	0.55878	0.00143	2.29511	1603.965	477.590
X12-2 - X11-1	0.00255	0.46102	0.11358	0.00291	0.46393	158.426	44.541
X12-2 - X11-9	0.00307	0.51294	0.1191	0.00055	0.5135	932.618	38.795
X12-2 - X11-8	0.00553	1.07868	0.291	0.02271	1.10139	47.498	52.622
X12-2 - X11-7	0.00248	0.49099	0.11915	0.00001	0.491	49099.000	48.044
X17-2 - X17-2	0.00185	1.19768	0.32926	0.05888	1.25656	20.341	177.978
X17-2 - X17-1	0.00126	1.09069	0.31629	0.10641	1.1971	10.250	251.024
X17-2 - X17-1	0.00297	1.6065	0.42409	0.01122	1.61772	143.182	142.791

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE		COMPOSANTE		TOTALITE DES		
	INTRA-POPULATION		INTER-POPULATION		POPULATIONS		
	D(IS)	D*(IS)	D(ST)	D*(ST)	D(IT)	D*(IS)/D*(ST)	D(ST)/D(IS)
X17-2 - X17-1	0.00008	1.32966	0.37637	0.09075	1.42041	14.652	4704.625
X17-2 - X17-1	0	1.59945	0.4626	0.0313	1.63074	51.101	-
X17-2 - X17-8	0.00037	1.53406	0.45227	0.18794	1.722	8.162	1222.351
X17-2 - X17-7	0.00001	1.64053	0.47659	0.17209	1.81262	9.533	47659.000
X17-2 - X17-7	0.00263	0.78066	0.22468	0.04667	0.82733	16.727	85.430
X17-2 - A2-10	0.00067	1.00835	0.27886	0.00216	1.01051	466.829	416.209
X17-2 - A2-90	0.00007	1.60173	0.45456	0.07323	1.67496	21.873	6493.714
X17-2 - A2-80	0	1.91066	0.64795	0.30546	2.21613	6.255	-
X17-2 - A2-74	0.00003	1.28672	0.37742	0.00086	1.28758	1496.186	12580.667
X17-2 - X1-14	0.00054	0.79409	0.24313	0.00402	0.79811	197.535	450.241
X17-2 - X1-13	0.00062	0.73238	0.20895	0.00156	0.73394	469.474	337.016
X17-2 - X1-98	0.00037	0.60465	0.17216	0.01504	0.61969	40.203	465.297
X17-2 - X1-88	0.00236	0.74242	0.21453	0.0559	0.79832	13.281	90.903
X17-2 - X1-79	0.00037	1.38533	0.37155	0.00127	1.3866	1090.811	1004.189
X17-2 - X1-75	0.00204	0.77849	0.23397	0.06075	0.83924	12.815	114.691
X17-2 - X1-53	0	2.10041	0.58393	0.00004	2.10045	52510.250	-
X17-2 - X11-1	0.0012	1.15304	0.3287	0.10385	1.25689	11.103	273.917
X17-2 - X11-1	0.0001	1.32129	0.38333	0.06276	1.38405	21.053	3833.300
X17-2 - X11-1	0.00119	1.97572	0.51709	0.00483	1.98056	409.052	434.529
X17-2 - X11-1	0.00247	0.68999	0.20242	0.0335	0.72349	20.597	81.951
X17-2 - X11-9	0.00082	0.79036	0.22502	0.00402	0.79437	196.607	274.415
X17-2 - X11-8	0.00035	1.29932	0.41128	0.10499	1.40431	12.376	1175.086
X17-2 - X11-7	0.00026	0.73173	0.21479	0.02474	0.75647	29.577	826.115
X17-2 - X17-1	0.0141	0.84876	0.22224	0.00269	0.85145	315.524	15.762
X17-2 - X17-1	0.00345	1.30112	0.33711	0.00279	1.30392	466.351	97.713
X17-2 - X17-1	0.01304	1.2699	0.32448	0.00039	1.27029	3256.154	24.883
X17-2 - X17-1	0.00873	1.31474	0.35488	0.00009	1.31484	14608.222	40.651
X17-2 - X17-8	0.00444	2.23729	0.56676	0.011	2.24828	203.390	127.649
X17-2 - X17-7	0.00019	2.17922	0.56539	0.01239	2.19161	175.885	2975.737
X17-2 - X17-7	0.00159	0.50503	0.13519	0.03219	0.53722	15.689	85.025
X17-2 - A2-10	0.00104	0.51461	0.13174	0.00345	0.51806	149.162	126.673
X17-2 - A2-90	0.00472	1.24387	0.32781	0.00897	1.25283	138.670	69.451
X17-2 - A2-80	0.02326	1.86341	0.53661	0.11365	1.97706	16.396	23.070
X17-2 - A2-74	0.00199	0.8704	0.24481	0.00027	0.87067	3223.704	123.020
X17-2 - X1-14	0.00115	0.48713	0.1271	0.00031	0.48744	1571.387	110.522
X17-2 - X1-13	0.00637	0.46782	0.11871	0.00177	0.46959	264.305	18.636
X17-2 - X1-98	0.0069	0.37297	0.09699	0.00128	0.37425	291.383	14.057
X17-2 - X1-88	0.00405	0.49387	0.13579	0.00913	0.503	54.093	33.528
X17-2 - X1-79	0.00002	2.68771	0.65378	0.00029	2.68799	9267.966	32689.000
X17-2 - X1-75	0.00299	0.84763	0.22133	0.00608	0.85372	139.413	74.023
X17-2 - X1-53	0.00009	2.54389	0.65595	0.00008	2.54396	31798.625	7288.333
X17-2 - X11-1	0.00278	0.8441	0.22805	0.01497	0.85907	56.386	82.032
X17-2 - X11-1	0.01458	1.08874	0.27573	0.00004	1.08878	27218.500	18.912
X17-2 - X11-1	0.00134	1.95187	0.49302	0.01328	1.96516	146.978	367.925
X17-2 - X11-1	0.00571	0.44203	0.11732	0.00378	0.44581	116.939	20.546
X17-2 - X11-9	0.00169	0.48181	0.11877	0.00067	0.48248	719.119	70.278
X17-2 - X11-8	0.00539	1.02905	0.30242	0.04744	1.0765	21.692	56.108
X17-2 - X11-7	0.00566	0.46036	0.12169	0.0117	0.47206	39.347	21.500
X17-1 - X17-1	0.00458	1.40686	0.36548	0.01202	1.41887	117.043	79.799
X17-1 - X17-1	0.01143	1.09234	0.29816	0.07967	1.17201	13.711	26.086
X17-1 - X17-1	0.00696	1.32997	0.36729	0.00352	1.33349	377.832	52.772
X17-1 - X17-8	0.00192	2.08758	0.53416	0.03885	2.12643	53.734	278.208
X17-1 - X17-7	0.00164	2.05582	0.53073	0.01621	2.07203	126.824	323.616
X17-1 - X17-7	0.00228	0.5655	0.14537	0.00251	0.56801	225.299	63.759
X17-1 - A2-10	0.00324	0.63412	0.16847	0.00396	0.63808	160.131	51.997
X17-1 - A2-90	0.00356	1.29646	0.34646	0.00689	1.30335	188.165	97.320
X17-1 - A2-80	0.01013	1.86455	0.53369	0.06166	1.9262	30.239	52.684
X17-1 - A2-74	0.00128	0.96196	0.27237	0.00001	0.96197	96196.000	212.789
X17-1 - X1-14	0.00422	0.57238	0.1509	0.00224	0.57462	255.527	35.758
X17-1 - X1-13	0.00507	0.51324	0.13654	0.00543	0.51867	94.519	26.931
X17-1 - X1-98	0.01396	0.41966	0.10861	0.0011	0.42076	381.509	7.780
X17-1 - X1-88	0.00605	0.56873	0.14288	0.00677	0.5755	84.007	23.617
X17-1 - X1-79	0.00005	2.66168	0.6516	0.00069	2.66237	3857.507	13032.000
X17-1 - X1-75	0.00341	0.86042	0.22703	0.02421	0.88464	35.540	66.578
X17-1 - X1-53	0.00026	2.46676	0.64095	0.00001	2.46677	246676.000	2465.192
X17-1 - X11-1	0.00203	0.84972	0.23503	0.01564	0.86536	54.330	115.778
X17-1 - X11-1	0.00321	1.09195	0.29272	0.0072	1.09915	151.660	91.190

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATIONS		
	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)		
						D"(IS)/D"(ST)	D(ST)/D(IS)
X17-1 - X11-1	0.00053	1.93939	0.48864	0.00435	1.94374	445.837	921.962
X17-1 - X11-1	0.01372	0.4893	0.12845	0.01058	0.49988	46.248	9.362
X17-1 - X11-9	0.00708	0.56691	0.14546	0.00085	0.56776	666.953	20.545
X17-1 - X11-8	0.00963	1.09719	0.31429	0.01676	1.11395	65.465	32.637
X17-1 - X11-7	0.0068	0.51208	0.13839	0.01307	0.52515	39.180	20.351
X17-1 - X17-1	0.00042	0.90858	0.23937	0.02128	0.92986	42.696	569.929
X17-1 - X17-1	0.00983	0.66887	0.1927	0.00222	0.67109	301.293	19.603
X17-1 - X17-8	0.00282	2.2257	0.54443	0.0101	2.23581	220.366	193.060
X17-1 - X17-7	0.0018	2.0488	0.51905	0.00867	2.05747	236.309	288.361
X17-1 - X17-7	0.0071	0.56071	0.13013	0.0001	0.56081	5607.100	18.328
X17-1 - A2-10	0.0028	0.41829	0.10795	0.00389	0.42219	107.530	38.554
X17-1 - A2-90	0.00419	0.80125	0.20289	0.00544	0.8067	147.289	48.422
X17-1 - A2-80	0.00725	1.46317	0.40075	0.00347	1.46663	421.663	55.276
X17-1 - A2-74	0.00129	0.62615	0.1788	0.00036	0.62652	1739.306	138.605
X17-1 - X1-14	0.0021	0.39785	0.09242	0.00055	0.3984	723.364	44.010
X17-1 - X1-13	0.00573	0.40621	0.10333	0.00048	0.40669	846.271	18.033
X17-1 - X1-98	0.00388	0.30122	0.07862	0.00049	0.30171	614.735	20.263
X17-1 - X1-88	0.00273	0.49185	0.12944	0.00006	0.49191	8197.500	47.414
X17-1 - X1-79	0.00029	2.43066	0.57607	0.00012	2.43078	20255.500	1986.448
X17-1 - X1-75	0.00096	0.51239	0.13878	0.00061	0.51370	839.984	144.563
X17-1 - X1-53	0.00021	2.0225	0.50478	0.00004	2.02254	50562.500	2403.714
X17-1 - X11-1	0.00312	0.83101	0.21597	0.00111	0.83212	748.658	69.221
X17-1 - X11-1	0.00039	0.54807	0.14023	0.00198	0.55006	276.803	359.564
X17-1 - X11-1	0.00942	1.26414	0.30016	0.00261	1.26675	484.345	31.864
X17-1 - X11-1	0.01313	0.42185	0.10697	0.00033	0.42218	1278.333	8.147
X17-1 - X11-9	0.0063	0.361	0.08987	0.00009	0.36108	4011.111	14.265
X17-1 - X11-8	0.00196	1.01237	0.28043	0	1.01238	-	143.077
X17-1 - X11-7	0.00416	0.35831	0.09022	0.00025	0.35856	1433.240	21.688
X17-1 - X11-7	0.00302	1.01864	0.29539	0.00917	1.02781	111.084	97.811
X17-1 - X17-8	0.00039	1.69585	0.4457	0.04743	1.74328	35.755	1142.821
X17-1 - X17-7	0.00117	2.20461	0.57923	0.04001	2.24462	55.101	495.068
X17-1 - X17-7	0.00442	0.5096	0.13195	0.00104	0.51064	490.000	29.853
X17-1 - A2-10	0.0026	0.62095	0.15819	0.00183	0.62278	339.317	60.842
X17-1 - A2-90	0.00353	1.10071	0.29621	0.00961	1.11032	114.538	83.912
X17-1 - A2-80	0.00107	1.44049	0.43563	0.06877	1.50926	20.946	407.131
X17-1 - A2-74	0.00137	0.83848	0.2434	0	0.83848	-	177.664
X17-1 - X1-14	0.00272	0.48398	0.14436	0.00472	0.4887	102.538	53.074
X17-1 - X1-13	0.00793	0.46896	0.13196	0.00389	0.47285	120.555	16.641
X17-1 - X1-98	0.00453	0.3848	0.10301	0.00088	0.38568	437.273	22.740
X17-1 - X1-88	0.00587	0.49346	0.13769	0.01499	0.50846	32.919	23.457
X17-1 - X1-79	0.00076	2.53017	0.62738	0.00049	2.53066	5163.612	825.500
X17-1 - X1-75	0.00553	0.88005	0.23282	0.01578	0.89584	55.770	42.101
X17-1 - X1-53	0.00055	2.02622	0.53483	0.00001	2.02623	202622.000	972.418
X17-1 - X11-1	0.006	0.82462	0.21901	0.01301	0.83763	63.384	36.502
X17-1 - X11-1	0.00686	0.83501	0.23395	0.01485	0.84985	56.230	34.103
X17-1 - X11-1	0.00153	1.46685	0.38051	0.001	1.46785	1466.850	248.699
X17-1 - X11-1	0.00607	0.4645	0.12397	0.00656	0.47106	70.808	20.423
X17-1 - X11-9	0.00493	0.48319	0.13694	0.00854	0.49173	56.580	27.777
X17-1 - X11-8	0.00579	0.91444	0.27983	0.04559	0.96003	20.058	48.330
X17-1 - X11-7	0.00561	0.47383	0.13054	0.00357	0.4774	132.725	23.269
X17-1 - X17-8	0.00069	1.88764	0.48475	0.02378	1.91142	79.379	702.536
X17-1 - X17-7	0.00071	1.93371	0.5057	0.01995	1.95366	96.928	712.254
X17-1 - X17-7	0.0049	0.31047	0.07793	0.00659	0.31706	47.112	15.904
X17-1 - A2-10	0.00619	0.24369	0.06232	0.00017	0.24386	1433.471	10.068
X17-1 - A2-90	0.00338	0.65604	0.17158	0.00237	0.65841	276.810	50.763
X17-1 - A2-80	0.00489	0.96038	0.265	0.03027	0.99065	31.727	54.192
X17-1 - A2-74	0.00021	0.20788	0.05458	0.00013	0.20801	1599.077	259.905
X17-1 - X1-14	0.00172	0.15483	0.0425	0.00089	0.15572	173.966	24.709
X17-1 - X1-13	0.0115	0.27629	0.06747	0.00333	0.27962	82.970	5.867
X17-1 - X1-98	0.00527	0.16517	0.04476	0.00381	0.16898	43.352	8.493
X17-1 - X1-88	0.00646	0.26809	0.07191	0.01013	0.27822	26.465	11.132
X17-1 - X1-79	0	2.1341	0.51571	0.00017	2.13427	12553.529	-
X17-1 - X1-75	0.00216	0.50023	0.13857	0.00917	0.5094	54.551	64.153
X17-1 - X1-53	0.0003	1.32859	0.32246	0.00002	1.32861	66429.500	1074.867
X17-1 - X11-1	0.01018	0.69451	0.18974	0.00623	0.70074	111.478	18.639
X17-1 - X11-1	0.01138	0.43437	0.1221	0.02196	0.45633	19.780	10.729
X17-1 - X11-1	0.00521	1.23096	0.30003	0.00074	1.2317	1663.459	57.587

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATIONS		
	D(IS)	D*(IS)	D(ST)	D*(ST)	D(IT)	D*(IS)/D*(ST)	D(ST)/D(IS)
X17-1 - X11-1	0.01119	0.27236	0.06611	0.00306	0.27542	89.007	5.908
X17-1 - X11-9	0.00138	0.1613	0.0411	0.00098	0.16228	164.592	29.783
X17-1 - X11-8	0.01336	0.53881	0.15717	0.03866	0.57747	13.937	11.764
X17-1 - X11-7	0.00184	0.25308	0.06856	0.0006	0.25368	421.800	37.261
X17-8 - X17-7	0.00545	1.75656	0.5557	0.38384	2.1404	4.576	101.963
X17-8 - X17-7	0.00604	0.80195	0.2121	0.01965	0.8216	40.812	35.116
X17-8 - A2-10	0.00726	0.96867	0.25248	0.00041	0.96908	2362.610	34.777
X17-8 - A2-90	0.00145	1.28584	0.38795	0.15773	1.44357	8.152	267.552
X17-8 - A2-80	0.00348	1.86901	0.59344	0.22145	2.09046	8.440	170.529
X17-8 - A2-74	0.00059	1.19285	0.34015	0.00114	1.19399	1046.360	576.525
X17-8 - X1-14	0.00077	0.77801	0.2193	0.00178	0.77979	437.084	284.805
X17-8 - X1-13	0.00897	0.65829	0.186	0.02212	0.68041	29.760	20.736
X17-8 - X1-98	0.00205	0.57709	0.16146	0.02301	0.6001	25.080	78.761
X17-8 - X1-88	0.0055	0.77849	0.21153	0.0361	0.81459	21.565	38.460
X17-8 - X1-79	0.00017	1.83031	0.47104	0.00094	1.83125	1947.138	2770.824
X17-8 - X1-75	0.0014	0.81948	0.22902	0.03795	0.85743	21.594	163.586
X17-8 - X1-53	0.00084	2.01934	0.55395	0.00001	2.01934	201934.000	659.464
X17-8 - X11-1	0.00063	0.97362	0.29588	0.15816	1.13178	6.156	469.651
X17-8 - X11-1	0.00046	1.12269	0.3334	0.09148	1.21416	12.273	724.826
X17-8 - X11-1	0.00505	1.48072	0.38628	0.00965	1.49037	153.442	76.491
X17-8 - X11-1	0.00123	0.67362	0.19099	0.03852	0.71214	17.488	155.276
X17-8 - X11-9	0.00087	0.75041	0.20154	0.00083	0.75124	904.108	231.655
X17-8 - X11-8	0.00849	1.27408	0.3809	0.06357	1.33765	20.042	44.865
X17-8 - X11-7	0.00583	0.70656	0.19366	0.01128	0.71784	62.638	33.218
X17-7 - X17-7	0.00321	1.07594	0.28779	0.03614	1.11208	29.771	89.654
X17-7 - A2-10	0.00056	1.28396	0.34005	0.00302	1.28698	425.152	607.232
X17-7 - A2-90	0.00019	1.56836	0.47767	0.23291	1.80128	6.734	2514.053
X17-7 - A2-80	0.00031	2.36206	0.71622	0.24094	2.603	9.804	2310.387
X17-7 - A2-74	0.00021	1.65712	0.45706	0.00185	1.65897	895.741	2176.476
X17-7 - X1-14	0.00032	1.18179	0.31409	0.00076	1.18255	1554.987	981.531
X17-7 - X1-13	0.00031	0.88492	0.24497	0.04175	0.92667	21.196	790.226
X17-7 - X1-98	0.0014	0.83599	0.22126	0.01892	0.85491	44.186	158.043
X17-7 - X1-88	0.00081	1.07675	0.28758	0.05302	1.12977	20.308	355.037
X17-7 - X1-79	0.00001	2.93594	0.72005	0.00107	2.93701	2743.869	72005.000
X17-7 - X1-75	0.00106	1.18853	0.31914	0.04318	1.23171	27.525	301.075
X17-7 - X1-53	0.00003	3.09657	0.80289	0.00006	3.09663	51609.500	26763.000
X17-7 - X11-1	0.00033	1.16859	0.36874	0.25499	1.42358	4.583	1117.394
X17-7 - X11-1	0.00355	1.43035	0.41563	0.14363	1.57398	9.959	117.079
X17-7 - X11-1	0.00411	2.28643	0.5901	0.03701	2.32343	61.779	143.577
X17-7 - X11-1	0.00385	0.92149	0.25629	0.05574	0.97723	16.532	66.569
X17-7 - X11-9	0.00037	1.12372	0.29	0.00097	1.12468	1158.474	783.784
X17-7 - X11-8	0.00309	1.58217	0.46128	0.07205	1.65422	21.959	149.282
X17-7 - X11-7	0.00269	0.96267	0.2537	0.00768	0.97035	125.348	94.312
X17-7 - A2-10	0.01942	0.35545	0.0751	0.00409	0.35954	86.907	3.867
X17-7 - A2-90	0.00841	0.82727	0.21523	0.01766	0.84494	46.844	25.592
X17-7 - A2-80	0.00328	1.22275	0.36592	0.0696	1.29234	17.568	111.561
X17-7 - A2-74	0.00162	0.43129	0.12103	0.00143	0.43272	301.601	74.710
X17-7 - X1-14	0.0021	0.2726	0.06528	0.00012	0.27272	2271.667	31.086
X17-7 - X1-13	0.008	0.34344	0.08031	0.00037	0.34381	928.216	10.039
X17-7 - X1-98	0.01954	0.21879	0.05699	0.0096	0.22839	22.791	2.917
X17-7 - X1-88	0.00828	0.3609	0.09103	0.00933	0.37023	38.682	10.994
X17-7 - X1-79	0.00126	2.72225	0.65604	0.00019	2.72243	14327.632	520.667
X17-7 - X1-75	0.00738	0.7434	0.19574	0.01148	0.75489	64.756	26.523
X17-7 - X1-53	0.00039	2.05584	0.51103	0	2.05584	-	1310.333
X17-7 - X11-1	0.00194	0.62958	0.16602	0.01604	0.64562	39.251	85.577
X17-7 - X11-1	0.00437	0.59821	0.16297	0.01616	0.61437	37.018	37.293
X17-7 - X11-1	0.00409	1.76009	0.43478	0.00361	1.7637	487.560	106.303
X17-7 - X11-1	0.00631	0.295	0.07751	0.00248	0.29747	118.952	12.284
X17-7 - X11-9	0.00062	0.2307	0.06168	0.00018	0.23088	1281.667	99.484
X17-7 - X11-8	0.00292	0.7318	0.21208	0.01746	0.74925	41.913	72.630
X17-7 - X11-7	0.00682	0.24239	0.06564	0.0025	0.24489	96.956	9.625
A2-10 - A2-90	0.00747	0.97748	0.25631	0.00002	0.97749	48874.000	34.312
A2-10 - A2-80	0.00282	1.97341	0.53447	0.00501	1.97842	393.894	189.528
A2-10 - A2-74	0.00048	0.37203	0.11722	0.00006	0.37208	6200.500	244.208
A2-10 - X1-14	0.0015	0.08047	0.01964	0.00001	0.08048	8047.000	13.093
A2-10 - X1-13	0.00542	0.26511	0.06586	0.00153	0.26663	173.275	12.151
A2-10 - X1-98	0.00267	0.12116	0.03164	0.0001	0.12125	1211.600	11.850

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATIONS			
	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)		D"(IS)/D"(ST)	
							D(ST)/D(IS)	
A2-10 - X1-88	0.00169	0.28281	0.07425	0.00002	0.28283		14140.500	43.935
A2-10 - X1-79	0.00001	2.43062	0.59059	0.00002	2.43064		121531.000	59059.000
A2-10 - X1-75	0.00198	0.59227	0.16003	0.00026	0.59253		2277.962	80.823
A2-10 - X1-53	0.0003	2.18054	0.56025	0.00008	2.18062		27256.750	1867.500
A2-10 - X11-1	0.00195	0.74061	0.19587	0.00205	0.74266		361.273	100.446
A2-10 - X11-1	0.00166	0.79088	0.20959	0.00103	0.79191		767.845	126.259
A2-10 - X11-1	0.0042	1.67322	0.41145	0.00163	1.67486		1026.515	97.964
A2-10 - X11-1	0.00323	0.28495	0.07103	0.00024	0.2852		1187.292	21.991
A2-10 - X11-9	0.00392	0.0822	0.02184	0.00004	0.08224		2055.000	5.571
A2-10 - X11-8	0.0056	1.04905	0.2875	0.00093	1.04997		1128.011	51.339
A2-10 - X11-7	0.00298	0.21423	0.05488	0.00006	0.2143		3570.500	18.416
A2-90 - A2-80	0.00386	1.88825	0.53608	0.1331	2.02135		14.187	138.881
A2-90 - X1-88	0.00622	0.59794	0.15376	0.01931	0.61725		30.965	24.720
A2-90 - X1-79	0.00002	2.7596	0.67655	0.00032	2.75992		8623.750	33827.500
A2-90 - X1-75	0.00094	0.86443	0.23099	0.0177	0.88213		48.838	245.734
A2-90 - X1-53	0.00008	2.15167	0.55374	0	2.15167		-	6921.750
A2-90 - X11-1	0.00545	0.85353	0.24581	0.06942	0.92295		12.295	45.103
A2-90 - X11-1	0.00437	0.6812	0.19258	0.05279	0.73399		12.904	44.069
A2-90 - X11-1	0.00323	1.72997	0.42547	0.00728	1.73724		237.633	131.724
A2-90 - X11-1	0.00549	0.51877	0.1381	0.02001	0.53878		25.926	25.155
A2-90 - X11-9	0.00907	0.56698	0.13885	0.00065	0.56763		872.277	15.309
A2-90 - X11-8	0.00486	1.12879	0.32324	0.04582	1.17461		24.635	66.510
A2-90 - X11-7	0.00469	0.51332	0.13392	0.00409	0.51741		125.506	28.554
A2-80 - A2-74	0.022	1.35536	0.32478	0.00127	1.35663		1067.213	14.763
A2-80 - X1-14	0.00067	1.04969	0.27585	0.00237	1.05206		442.907	411.716
A2-80 - X1-13	0.0029	0.84551	0.22513	0.01368	0.85919		61.806	77.631
A2-80 - X1-98	0.0133	0.77342	0.20043	0.00124	0.77466		623.726	15.070
A2-80 - X1-88	0.00127	1.0821	0.27788	0.0345	1.1166		31.365	218.803
A2-80 - X1-79	0	3.4181	0.84772	0.00095	3.41905		3598.000	-
A2-80 - X1-75	0.00135	1.372	0.37209	0.07708	1.44908		17.800	275.622
A2-80 - X1-53	0.0007	2.46506	0.61109	0	2.46506		-	872.986
A2-80 - X11-1	0.0045	1.39234	0.3754	0.05586	1.44819		24.926	83.422
A2-80 - X11-1	0.00187	1.12976	0.31964	0.11921	1.24897		9.477	170.930
A2-80 - X11-1	0.0002	2.23169	0.56193	0.00383	2.23552		582.687	2809.650
A2-80 - X11-1	0.00194	0.84545	0.23739	0.08343	0.92887		10.134	122.366
A2-80 - X11-9	0.00118	1.02575	0.2639	0.00017	1.02593		6033.824	223.644
A2-80 - X11-8	0.00216	1.28755	0.37709	0.18659	1.47414		6.900	174.579
A2-80 - X11-7	0.00238	0.90636	0.24624	0.04466	0.95102		20.295	103.462
A2-74 - X1-14	0.00071	0.02144	0.0052	0.00008	0.02152		268.000	7.324
A2-74 - X1-13	0.00179	0.23034	0.05903	0.00001	0.23035		23034.000	32.978
A2-74 - X1-98	0.00205	0.08925	0.02263	0.00008	0.08933		1115.625	11.039
A2-74 - X1-88	0.00095	0.22951	0.05948	0	0.22951		-	62.611
A2-74 - X1-79	0	2.59345	0.63027	0	2.59345		-	-
A2-74 - X1-75	0.00016	0.56115	0.15459	0.0005	0.56165		1122.300	966.188
A2-74 - X1-53	0	1.82224	0.44864	0	1.82225		-	-
A2-74 - X11-1	0.00255	0.76185	0.19623	0.00004	0.76189		19046.250	76.953
A2-74 - X11-1	0.00301	0.81244	0.21073	0.00125	0.81369		649.952	70.010
A2-74 - X11-1	0.00016	1.74079	0.43563	0.00016	1.74096		10879.938	2722.688
A2-74 - X11-1	0.00194	0.24694	0.06074	0.00039	0.24733		633.179	31.309
A2-74 - X11-9	0.00102	0.04196	0.01013	0.00009	0.04204		466.222	9.931
A2-74 - X11-8	0.00054	0.72593	0.18304	0.00037	0.72629		1961.973	338.963
A2-74 - X11-7	0.00125	0.19549	0.04818	0.00004	0.19553		4887.250	38.544
X1-14 - X1-13	0.00334	0.24422	0.05664	0.00033	0.24456		740.061	16.958
X1-14 - X1-98	0.00592	0.09938	0.02211	0.00042	0.0998		236.619	3.735
X1-14 - X1-88	0.0047	0.22536	0.05753	0.00283	0.22819		79.633	12.240
X1-14 - X1-79	0.00095	2.95862	0.70225	0.00007	2.95869		42266.000	739.211
X1-14 - X1-75	0.00272	0.50605	0.15016	0.00114	0.50719		443.904	55.206
X1-14 - X1-53	0.00001	2.28576	0.57491	0.00001	2.28576		228576.000	57491.000
X1-14 - X11-1	0.00301	0.60093	0.16593	0.00002	0.60095		30046.500	55.126
X1-14 - X11-1	0.00164	0.63003	0.16841	0.00006	0.63009		10500.500	102.689
X1-14 - X11-1	0.00079	1.93582	0.47033	0.00072	1.93654		2688.639	595.354
X1-14 - X11-1	0.00212	0.21569	0.05564	0	0.2157		-	26.245
X1-14 - X11-9	0.00296	0.04298	0.01309	0.00024	0.04322		179.083	4.422
X1-14 - X11-8	0.00212	0.7993	0.23123	0.00138	0.80068		579.203	109.071
X1-14 - X11-7	0.00496	0.16254	0.04017	0.00107	0.16361		151.907	8.099
X1-13 - X1-98	0.00705	0.1966	0.04655	0.00324	0.19984		60.679	6.603
X1-13 - X1-88	0.00196	0.30347	0.07865	0.00115	0.30462		263.887	40.128

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE INTRA-POPULATION		COMPOSANTE INTER-POPULATION		TOTALITE DES POPULATIONS		
	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)	D"(IS)/D"(ST)	D(ST)/D(IS)
X1-13 - X1-79	0.00072	2.1426	0.51175	0.00021	2.14281	10202.857	710.764
X1-13 - X1-75	0.01612	0.5489	0.13861	0.0003	0.5492	1829.667	8.599
X1-13 - X1-53	0.00018	1.79784	0.45598	0.00007	1.79791	25683.429	2533.222
X1-13 - X11-1	0.00493	0.55194	0.14684	0.00554	0.55748	99.628	29.785
X1-13 - X11-1	0.01132	0.58265	0.15179	0.00998	0.59263	58.382	13.409
X1-13 - X11-1	0.00133	1.47061	0.36097	0.00174	1.47235	845.178	271.406
X1-13 - X11-1	0.02365	0.30712	0.06893	0.00068	0.3078	451.647	2.915
X1-13 - X11-9	0.00961	0.22518	0.05411	0.00005	0.22524	4503.600	5.631
X1-13 - X11-8	0.01304	0.72462	0.2057	0.02009	0.74471	36.069	15.775
X1-13 - X11-7	0.01012	0.25117	0.06243	0.00056	0.25173	448.518	6.169
X1-98 - X1-88	0.01662	0.21369	0.05129	0.00209	0.21578	102.244	3.086
X1-98 - X1-79	0.00073	1.97193	0.47951	0.00032	1.97225	6162.281	656.863
X1-98 - X1-75	0.01322	0.46842	0.12239	0.00182	0.47024	257.374	9.258
X1-98 - X1-53	0.0006	1.62349	0.4086	0.00016	1.62365	10146.813	681.000
X1-98 - X11-1	0.00556	0.45581	0.12255	0.01912	0.47493	23.839	22.041
X1-98 - X11-1	0.00408	0.48578	0.12597	0.00121	0.48698	401.471	30.875
X1-98 - X11-1	0.01248	1.42288	0.3562	0.00326	1.42614	436.466	28.542
X1-98 - X11-1	0.00536	0.19469	0.04965	0.00261	0.1973	74.594	9.263
X1-98 - X11-9	0.00354	0.09197	0.02338	0.0001	0.09207	919.700	6.605
X1-98 - X11-8	0.02108	0.63921	0.17091	0.00014	0.63935	4565.786	8.108
X1-98 - X11-7	0.01258	0.16869	0.04029	0.00075	0.16944	224.920	3.203
X1-88 - X1-79	0.00075	2.8138	0.6862	0.00063	2.81443	4466.349	914.933
X1-88 - X1-75	0.00157	0.67804	0.18364	0.00208	0.68012	325.981	116.968
X1-88 - X1-53	0.00004	2.28965	0.56905	0	2.28965	-	14226.250
X1-88 - X11-1	0.00888	0.636	0.16901	0.02628	0.66228	24.201	19.033
X1-88 - X11-1	0.00234	0.66309	0.17074	0.0128	0.67588	51.804	72.966
X1-88 - X11-1	0.00269	1.99346	0.49046	0.00016	1.99362	12459.125	182.327
X1-88 - X11-1	0.00437	0.30837	0.08172	0.00697	0.31534	44.242	18.700
X1-88 - X11-9	0.00515	0.23232	0.05633	0.00002	0.23234	11616.000	10.938
X1-88 - X11-8	0.01478	0.86997	0.2294	0.01363	0.8836	63.828	15.521
X1-88 - X11-7	0.00883	0.29742	0.07032	0.00751	0.30494	39.603	7.964
X1-79 - X1-75	0.00093	0.24173	0.07073	0.00023	0.24196	1051.000	76.054
X1-79 - X1-53	0	0.59517	0.17582	0	0.59517	-	-
X1-79 - X11-1	0.0002	0.75475	0.1957	0.00039	0.75514	1935.256	978.500
X1-79 - X11-1	0.00002	0.77694	0.20066	0.00025	0.77719	3107.760	10033.000
X1-79 - X11-1	0.00015	0.66068	0.16749	0.00003	0.66071	22022.667	1116.600
X1-79 - X11-1	0.00011	0.2602	0.06561	0.00015	0.26035	1734.667	596.455
X1-79 - X11-9	0.00015	0.04454	0.01185	0	0.04454	-	79.000
X1-79 - X11-8	0.00008	0.97936	0.26747	0.00048	0.97984	2040.333	3343.375
X1-79 - X11-7	0.00016	0.18198	0.04582	0.0001	0.18208	1819.800	286.375
X1-75 - X1-53	0.00212	2.28967	0.57939	0.00015	2.28982	15264.467	273.297
X1-75 - X11-1	0.00233	0.63194	0.17417	0.02033	0.65227	31.084	74.751
X1-75 - X11-1	0.00256	0.61019	0.1658	0.01301	0.62319	46.902	64.766
X1-75 - X11-1	0.00127	1.65844	0.41313	0.00013	1.65857	12757.231	325.299
X1-75 - X11-1	0.01166	0.31873	0.0877	0.0189	0.33763	16.864	7.521
X1-75 - X11-9	0.00563	0.24902	0.06301	0.0002	0.24922	1245.100	11.192
X1-75 - X11-8	0.00568	0.81688	0.22242	0.01194	0.82883	68.415	39.158
X1-75 - X11-7	0.00118	0.2631	0.0732	0.0034	0.2665	77.382	62.034
X1-53 - X11-1	0.00024	0.77051	0.20492	0.0001	0.77062	7705.100	853.833
X1-53 - X11-1	0.00041	0.45487	0.11568	0	0.45488	-	282.146
X1-53 - X11-1	0.00042	0.67001	0.17167	0.0002	0.67021	3350.050	408.738
X1-53 - X11-1	0.00016	0.26139	0.06547	0	0.26139	-	409.188
X1-53 - X11-9	0.00005	0.03319	0.00902	0.00001	0.0332	3319.000	180.400
X1-53 - X11-8	0.00006	0.75508	0.19298	0.00009	0.75517	8389.778	3216.333
X1-53 - X11-7	0.00016	0.18968	0.04829	0	0.18969	-	301.813
X11-1 - X11-1	0.00244	1.11896	0.30034	0.02497	1.14393	44.812	123.090
X11-1 - X11-1	0.00196	2.30778	0.57713	0.01408	2.32186	163.905	294.454
X11-1 - X11-1	0.00762	0.5963	0.15642	0.01241	0.60871	48.050	20.528
X11-1 - X11-9	0.00379	0.61043	0.15762	0.00111	0.61153	549.937	41.588
X11-1 - X11-8	0.01106	1.27986	0.34822	0.00705	1.28691	181.540	31.485
X11-1 - X11-7	0.01043	0.58516	0.15514	0.0068	0.59196	86.053	14.874
X11-1 - X11-1	0.00057	1.65831	0.40118	0.00277	1.66107	598.668	703.825
X11-1 - X11-1	0.00333	0.39166	0.10226	0.0161	0.40776	24.327	30.709
X11-1 - X11-9	0.00341	0.38224	0.0922	0.00036	0.38261	1061.778	27.038
X11-1 - X11-8	0.01811	1.02358	0.30197	0.09681	1.12039	10.573	16.674
X11-1 - X11-7	0.01395	0.45763	0.10963	0.00166	0.45928	275.681	7.859
X11-1 - X11-1	0.00242	0.42363	0.10527	0.00009	0.42372	4707.000	43.500

LOCUS COMPARES	COMPOSANTE		COMPOSANTE		TOTALITE DES POPULATIONS		
	INTRA-POPULATION		INTER-POPULATION				
	D(IS)	D"(IS)	D(ST)	D"(ST)	D(IT)	D"(IS)/D"(ST)	D(ST)/D(IS)
X11-1 - X11-9	0.00249	0.25193	0.06555	0	0.25193	-	26.325
X11-1 - X11-8	0.01682	1.10556	0.29532	0.00944	1.115	117.114	17.558
X11-1 - X11-7	0.00333	0.33392	0.08467	0.00525	0.33918	63.604	25.426
X11-1 - X11-9	0.01753	0.26527	0.05607	0.00487	0.27014	54.470	3.199
X11-1 - X11-8	0.01581	0.72194	0.19693	0.0112	0.73314	64.459	12.456
X11-1 - X11-7	0.00918	0.25353	0.06345	0.022	0.27553	11.524	6.912
X11-9 - X11-8	0.00399	0.7588	0.21	0.00144	0.76024	526.944	52.632
X11-9 - X11-7	0.00418	0.17229	0.04136	0.00043	0.17272	400.674	9.895
X11-8 - X11-7	0.01442	0.58923	0.1515	0.0082	0.59743	71.857	10.506

ANNEXE 4

Coordonnées spatiales et caractéristiques biologiques et épidémiologiques des individus cartographiés

STDO1 Q1

Situation en 2000

Situation en 2001

N	sex	phase	long (cm)	dia frond (cm)	Vol. Cylindre (cm ³)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
1	i	G	11.5	0.7	4.425729	0.6	0.282744	0	0	M						1.1	0.950334		
2	i	T	6	0.5	1.1781	0.6	0.282744	0	0	M									
3	i	G	3	0.1	0.023562	0.6	0.282744	0	0	M									
4	i	T	4	0.1	0.031416	0.3	0.070686	0	0	M									
5	c	G	2.7	0.5	0.530145	2,5 / 1,5	3.75	0	0	S (F)						0.6	0.282744		
6	c	G	11.5	1.5	20.322225	1.9	2.835294	0	0	S (F)						0.3	0.070686		
7	??	G	10.3	1.3	13.671458	2	3.1416	0	0	M									
8	i	G	12.6	0.3	0.8906436	0.7	0.384846	0	0	M									
9	i	G	8.6	0.7	3.3096756	1.1	0.950334	0	1	M									
10	i	G	18	0.6	5.089392	0.6	0.282744	0	0	M									
11	i	G	13.8	1.3	18.317099	1	0.7854	1	0	M									
12	i	G	4.4	0.1	0.0345576	0,8 / 0,15	0.12	0	0	M									
13	t	T	9.2	1	7.22568	2,1 / 0,5	1.05	0	0	S (F)						0.3	0.070686		
14	c	G	12	0.5	2.3562	0.6	0.282744	0	0	S (F)						0.4	0.125664		
15	i	G	10.6	0.6	2.9970864	0.9	0.636174	0	0	M									
16a	t+c	G	13	1.7	29.507478	2.2	3.801336	0	0	M									
16b	t+c	T	13	1.7	29.507478	2.2	3.801336	0	0	M									
17	i	G	4.3	0.2	0.1350888	0.7	0.384846	0	0	M									
18	i	G	4.8	0.1	0.0376992	1,8 / 0,5	0.9	0	1	M									
19	i	T	6.2	0.3	0.4382532	0.8	0.502656	0	0	M									
20	c	G	11	1.5	19.43865	1.8	2.544696	0	0	M									
21	c	G	12.5	0.3	0.883575	0.7	0.384846	0	0	M									
22	i	G	5.4	0.1	0.0424116	0.6	0.282744	0	0	M									
23	i	G	4.5	0.3	0.318087	0.8	0.502656	0	0	M									
24	i	G	8	0.3	0.565488	0.8	0.502656	0	0	S						1.2X0.4	0.48		
25	i	G	4.5	0.1	0.035343	0.6	0.282744	0	0	M									
26	i	G	0.5	0.05	0.0009818	0.1	0.007854	0	0	M									
27	c	G	8.5	0.6	2.403324	2 / 0,9	1.8	0	0	M									
28	i	G	7	0.1	0.054978	0.5	0.19635	0	0	M									
29	c	G	7	0.6	1.979208	1.7	2.269806	0	0	M									
30		T			0	0.2	0.031416	0	0	M									
31		T	1.7	< 0,1	0	0.3	0.070686	0	1	S						0.5	0.19635		
32	c	T	16.4	1.1	15.585478	1.5	1.76715	0	0	M									
33					0	2	3.1416			M									
34		T	0.9		0	0.4	0.125664	0	0	M									
35	i	T	2.5	0.1	0.019635	0.4	0.125664	0	0	M									
36	i	G	1.3	1	1.02102	1.7	2.269806	0	0	M									
37	c	G	8.8	0.7	3.3866448	2.1	3.463614	0	0	M									
38	i	T	2.9	0.1	0.0227766	0.3	0.070686	0	0	M									
39	i	T	5.3	0.3	0.3746358	1,7 / 0,8	1.36	0	0	M									

STDO1 Q1

Situation en 2000											Situation en 2001								
N	sex	phase	long (cm)	dia frond (cm)	Vol. Cylindre (cm ³)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
40	??	G	19.2	1	15.07968	1,9 / 2,5	4.75	0	0	S (F)						1.4X0.5	0.7		
										S (F)						0.4	0.125664		
										S (F)						0.5	0.19635		
41	i	G	2.1	0.1	0.0164934	0.2	0.031416	0	0	S						0.4	0.125664		
42	c	G	19.5	1.3	25.882857	0.8	0.502656	0	0	M									
43	i	G	9.1	0.5	1.786785	0.6	0.282744	0	0	M									
44	l	G	11.5	1	9.0321	1.3	1.327326	0	0	M									
45										R						0.9	0.636174		
46										R						2.4X1.0	2.4		
47										R						0.9	0.636174		
48										R						0.7	0.384846		
49										R						0.8	0.502656		
50										R						0.3	0.070686		
51										R						0.4	0.125664		
52										R						0.6	0.282744		
53										R						0.4	0.125664		
54										R						0.4	0.125664		
55										R						0.2	0.031416		
56										R						0.2	0.031416		
57										R						0.5	0.19635		
58										R						0.6	0.282744		
59										R						1	0.7854		
60										R						0.5	0.19635		
61										R						0.5	0.19635		

STDO1 Q2

Situation en 2000

Situation en 2001

N	sex	phase	long (cm)	dia fronde (cm)	Vol. Cylindre (cm3)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	phase	long	dia fronde	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	
1	i	G	18	1	14.1372	2.1	3.463614	0	0	M										
2	c	G	13.3	1.1	12.6394422	3,5 / 1,7	5.95	0	0	M										
3	i	G	2.7	0.1	0.0212058	1,8 / 0,3	0.54	0	0	M										
4	i	G	2.5	0.1	0.019635	1,6 / 0,8	1.28	0	0	M										
5	i	T	5	0.1	0.03927	1.5	1.76715	0	0	M										
6	i	T	6.5	0.2	0.204204	1,7 / 0,5	0.85	0	0	M										
7	c	G	10	0.6	2.82744	0.7	0.384846	0	0	M										
8	c	G	9.6	1.4	14.7780864	3.4	9.079224	0	0	M										
9		T	pas de fronde		0	6.9	37.392894	0	0	M										
10	i	G	3	0.3	0.212058	0.2	0.031416	0	0	M										
11		T	pas de fronde		0	1.8	2.544696	0	0	M										
12	?	G	1.5	1.2	1.696464	3,2 / 1,7	5.44	0	0	M										
13	?	G	11.7	0.7	4.5026982	2.1	3.463614	0	0	M										
14	?	G	0.8	0.1	0.0062832	0.1	0.007854	0	0	M										
15	c	G	15.7	1.8	39.9517272	2.9	6.605214	0	0	M										
16	t	T	18	0.7	6.927228	1.2	1.130976	0	0	M										
17	i	T	5	0.2	0.15708	0.8	0.502656	0	0	M										
18		T	pas de fronde		0	4.9	18.857454	0	0	M										
19	?	T	12.5	0.2	0.3927	0.7	0.384846	0	0	M										
20	i	G	2.6	0.1	0.0204204	1	0.7854	0	0	M										
21	?	G	15	1.4	23.09076	1.8	2.544696	0	0	M										
22	?	G	12	0.9	7.634088	2.5	4.90875	0	0	M										
23	?	G	19.9	1.5	35.166285	3 / 1,8	5.4	0	0	M										
24	i	G	4.2	0.1	0.0329868	1 / 2,2	2.2	0	0	M										
25	c	G	16	1.1	15.205344	1.6	2.010624	0	0	M										
26	c	G	10.9	0.9	6.9342966	1.9	2.835294	0	0	M										
27		T	pas de fronde		0	0.2	0.031416	0	0	M										
28		T	pas de fronde		0	0.1	0.007854	0	0	M										
29	J	G	pas de fronde		0	0.3	0.070686	0	0	M										
30	c	G	14.7	1.4	22.6289448	1.4	1.539384	0	0	M										
31	i	G	6.8	0.5	1.33518	2.1	3.463614	0	0	M										
32	?	G	17	0.5	3.33795	0.8	0.502656	0	0	M										
33	i	G	11.2	0.6	3.1667328	3	7.0686	0	0	M										
34		T	pas de fronde		0	6.5	33.18315	0	0	M										
35		G	régénération de frondes		0	0.1	0.007854	0	0	M										
36	i	G	1.6	0.1	0.0125664	0.2	0.031416	0	0	M										
37	c	G	10.2	0.3	0.7209972	0.7	0.384846	0	0	M										
38	?	G	12.5	0.8	6.2832	1.8	2.544696	0	0	M										
39	i	G	14	1.2	15.833664	2.3	4.154766	0	0	M										
40	J	G	0.9	?	0	0.8	0.502656	0	0	M										
41	J	G	trop petit		0	0.15	0.0176715	0	0	M										
42	J	G	trop petit		0	0.1	0.007854	0	0	M										
43	J	G	1.3	trop petit	0	0.4	0.125664	0	0	M										
44	J	G	trop petit	trop petit	0	0.1	0.007854	0	0	M										
45	J	T	2	trop petit	0	0.4	0.125664	0	0	M										
46	J	T	1.9	trop petit	0	0.3	0.070686	0	0	M										
47	J	G	1.1		0	0.1	0.007854	0	0	M										
48	J	T	0.7		0	0.1	0.007854	0	0	M										
49	J	T	trop petit	trop petit	0	0.1	0.007854	0	0	M										
50	i	G	2.2	0.1	0.0172788	0.3	0.070686	0	0	M										
51	i	G	10	0.6	2.82744	1.5	1.76715	0	0	M										
52										R										

STDO2 Q1

Situation en 2000

N	sex	phase	long (cm)	dia frond (cm)	Vol. Cylindre (cm ³)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
1	i	G	12.5	1.2	14.1372	2	3.1416	0	2
2	i	G	3.1	0.3	0.219127	0.7	1.09956	0	0
3	i	G	17.5	0.6	4.94802	1.5	2.3562	0	0
4	i	G	16	1.7	36.3169	2.7	4.24116	0	2
5	c	G	13.3	0.4	1.671331	2.3	3.61284	0	0
6	i	G	13.5	1	10.6029	3.2	5.02656	1	0
7	i	G	5.3	0.2	0.166505	5.6	8.79648	0	0
8	i	G	8.6	0.2	0.270178	0.7	1.09956	0	0
9	i	G	9.6	0.2	0.301594	2,4 x 0,6	1.44	0	0
10	i	G	13.5	1	10.6029	2.1	3.29868	0	0
11	i	G	15.2	0.9	9.669845	2	3.1416	1	0
12	i	G	7.2	0.2	0.226195	1.1	1.72788	0	0
13	i	G	2.5	0.2	0.07854	1.8	2.82744	0	0
14	i	G	17	2.2	64.62271	1.9	2.98452	1	2
15	i	G	17.8	1.5	31.45527	2.3	3.61284	0	0
16	i	G	2.8	0.4	0.351859	1	1.5708	0	0
17		G	0	0	0	5.8	9.11064	0	0
18	c	G	17.5	1.2	19.79208	2.8	4.39824	1	0
19	i	G	4.6	0.8	2.312218	2,1 x 1,8	3.78	0	0
20	i	G	11.2	1	8.79648	1.5	2.3562	0	0
21	i	G	4.5	0.1	0.035343	1	1.5708	0	0
22	j	G	0.3	0.1	0.002356	0.1	0.15708	0	0
23	j	G	0.8	0.1	0.006283	0.1	0.15708	0	0
24	j	I	0.2	0.1	0.001571	0.1	0.15708	0	0
25	i	T	2.8	0.1	0.02042	0.6	0.94248	0	0
26	i	T	2.8	0.1	0.021991	0.8	1.25664	0	0
27	i	T	3.9	0.1	0.030631	1.3	2.04204	0	0
28	i	G	9	0.5	1.76715	0.9	1.41372	0	0
29	c	G	20.5	2.5	100.6294	3.8	5.96904	1	0
30	i	G	2.5	0.1	0.019635	0.6	0.94248	0	0
31	i	G	1.1	0.1	0.008639	0.3	0.47124	0	0
32	i	G	5.4	0.1	0.042412	0.6	0.94248	0	0
33	i	G	14.3	1.8	36.38915	2,5 + 1,6	4	0	0
34	c	T	12.8	0.5	2.51328	1.7	2.67036	0	0
35	i	T	10.8	0.4	1.357171	1.5	2.3562	0	0
36	i	G	6	0.2	0.188496	1.5	2.3562	0	0
37	i	G	11.4	0.8	5.730278	2.2	3.45576	0	0
38	c	G	18.8	0.9	11.96007	2,8 x 2,0	5.6	0	0
39	c	G	19.9	0.7	7.658435	1.9	2.98452	2	1
40									
41									
42									
43									
44									
45									

Situation en 2001

Etat	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
S	T.C	G	29	2.6	153.94	5.7x3.8	19	0	3
S	C	G	14	0.9	8.9047	1.9	2.8353	0	0
M									
M									
S	I	G	13	2	40.833	2.1	3.4636	2	2
M									
M									
S	I	G	17	2.3	70.618	2.8	6.1575	1	0
S	C	G	15	1.8	38.163	3.1x1.8	5.27	0	0
S	C	G	14	1.3	18.579	1.8	2.5447	3	0
M									
M									
S (F)	C	G	15	4	188.46	5.7x3.8	21.66	1	3
S (F)	C	G	15	4	188.46	5.7x3.9	21.66	1	3
M									
S	C	G	13	1.8	33.075	1.5	3.75	0	3
M									
M									
M									
S	I	G	9	0.8	4.523	1.9x0.7	1.33	0	0
S	C	G	23.5	5.3	518.36	3.5	9.6212	0	3
S	J	G	0.3	0	0	0.1	0.0079	0	0
S	J	G	0.8	0	0	0.1	0.0079	0	0
M									
M									
M									
S	T/C	G	24	2.5	117.79	2.4	3.5	1	0
S	I	G	9	0.7	3.463	1.8	2.5447	0	0
M									
R	T.C	T	29	2.6	153.94	5.7x3.8	21.66	0	3
R	I	G	12	1.2	13.569	3.1x1.7	5.27	0	0
R	I	G	1	0.1	0.008	0.4	0.1257	0	0
R	T/C	T	24	2.5	117.79	2.4	4.5239	1	0
R	C	G	20	0.5	3.9263	0.6	0.2827	0	0
R	I	G	12	0.2	0.3769	1.1	0.9503	0	0

STDO2 Q2

Situation en 2000

Situation en 2001

N	sex	phase	long (cm)	dia frond (cm)	Vol. Cylindre (cm ³)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	
1	c	G	19	1.5	33.57585	3,2 / 5,6	17.92	0	0	S	C	G	20	3.2	160.8192	3.4	11.2	1	0	
2	i s	G	23.5	1.9	66.629409	2.9	4.55532	0	0	M										
3	i	G	22	0.7	8.466612	2.8	4.39824	0	0	S	I	G	20	6.5	663.53625	4.2x3.1	13.02	1	0	
4	s	G	30	1.4	46.18152	9,7 / 3,9	37.83	1	0	S	I	G	16	1.5	28.269	2.2	3.801336	0	0	
5	i	G	2	0.1	0.015708	1.9	2.98452	0	0	S	C	G	15.5	4	194.742	3.4	15.68	0	0	
6	i	G	3.9	0.3	0.2756754	2.2	3.45576	0	0	M										
7	i	G	0		0		0.05	0	0	M										
8	i	G	3.1	0.2	0.0973896	1.9	2.98452	0	0	M										
9	i	G	8.5	0.5	1.668975	1.6	2.51328	0	0	M										
10	s	G	19	3.8	215.48234	10,8 / 3,8	0.05	0	0	M										
11	i	G	3	0.7	1.154538	2.3	3.61284	0	0	M										
12	i	G	14.5	1	11.3883	2.9	4.55532	0	0	M										
13	i	G	9	1	7.0686	3.4	5.34072	0	0	M										
14	i	G	2	0.1	0.015708	1 / 0,6	0.6	0	0	M										
15	i	G	9	0.2	0.282744	2.4	3.76992	0	0	M										
16	i	G	6.2	0.9	3.9442788	3 / 1,6	4.8	0	0	M										
17										R	C	G	30	5.5	712.61438		0.01	0	0	
18										R	I	G	6	0.4	0.75384	0.9	0.636174	0	0	
19										R	C	G	19.5	2.8	120.04902	4.9x1.6	7.84	0	2	

STDO2 Q3

Situation en 2000

N	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk 2000	Pleuro 2000	Endo 2000
1a	tc	T	34.5	3.4	313.233228	2.8/3.4	9.52	0	0
1b	tc	G	34.5	3.4	313.233228	2.8/3.4	8	0	0
2	j	G	1.8	0.2	0.0565488	0.5	0.7854	0	0
3	e	G	21.5	3.8	243.835284	6.3/3.9	24.57	0	0
4	t	T	25	2.6	132.7326	4.1/2.3	9.43	0	0
5	j		0.4		0	0.1	0.15708	0	0
6	i	G	1.5		0	1.8/1.3	2.34	0	0
7	i	G	11	0.5	2.15985	2	3.1416	0	0
8	e	G	26	3.4	236.059824	2.7	4.24116	0	0
9	e	G	19.5	1.8	49.621572	3.1	4.86948	0	3
10	c	G	11	0.8	5.529216	2.5	3.927	0	0
11	e	G	19	1.8	48.349224	2.9	4.55532	0	0
12	c	G	44	3.4	399.485856	3.5	5.4978	0	0

Situation en 2001

Etat	sex	Phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
S	T	T	37	3	261.48825	4.0x2.8	11.2	2	0
S	T	G	37	3	261.48825	4.0x2.8	10	2	0
S	C	G	23	3.8	260.79723	2.9	6.605214	0	0
S	I	G	13	5	255.20625	4.9x3.2	15.68	0	2
M									
M									
M									
S	I	G	30.5	4.5	484.990031	3.4	9.079224	1	2
S	I	G	27	1.5	47.7039375	3.5	9.62115	0	0
S	C	G	20	0.8	10.0512	2.7	5.725566	0	0
M									
S	C	G	25.5	3.5	245.292469	4.3	14.522046	0	0
R	T	T	27	6	763.263		0.01	0	0

STDO2 Q4

Situation en 2000											Situation en 2001								
N	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	Phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
1	i	G	5.6	0.3	0.395766	1	1.5708	0	0	M									
2	s	G	18	0.9	11.448945	3,7/1,6	5.92	1	0	S (F)	I	G	8.5	0.8	4.27176	1.4	1.53938	2	0
3	i	G	14.5	1	11.386125	2,8/1,3	3.64	0	0	S (F)	I	G	11	0.9	6.99658	1.6	2.01062	0	0
4	i	G	21	1.4	32.32089	2,9	4.55532	0	0	S (F16)	I	G	13.5	1.3	17.9155	4,1x0,9	3.69	2	0
5	i	G	5.3	0.4	0.665892	1,1	1.72788	0	0	M			21.5	1.4	33.0904	1.9	2.83529	2	0
6	i	T	5.7	0.3	0.4028333	0,8	1.25664	0	0	M									
7	i	G	11.5	0.7	4.4248838	1,3	2.04204	0	0	M									
8	i	G	9	0.4	1.13076	0,7	1.09956	0	0	S	I	G	4.5	0.1	0.03534	0.4	0.12566	0	0
9	j	G	2.3	0.2	0.072243	0,5	0.7854	0	0	M									
10	c	G	17	0.5	3.3373125	0,8	1.25664	0	0	M									
11	t	T	31	1.2	35.05356	2,7/1,9	5.13	0	0	M									
12	i	G	1.8	0.2	0.056538	0,9	1.41372	0	0	M									
13	i	G	5.5	0.3	0.3886988	0,6	0.94248	0	0	M									
14	c	G	36	3	254.421	5,4/2,9	15.66	0	0	S	C	G	3.7	4.9	69.7593	6,0x4,6	27.6	2	0
15	j	G	2.1	0.1	0.0164903	0,3	0.47124	0	0	M									
16	i	G	12	0.9	7.63263	1,7	2.67036	0	0	S (F4)	I	G	21.5	1.4	33.0904	1.9	2.83529	2	0
17	i	T	9.5	0.2	0.298395	0,6	0.94248	0	0	M									
18	i	G	1.8	0.2	0.056538	0,5	0.7854	0	0	M									
19	s	G	23.5	0.7	9.0421538	1,3	2.04204	0	0	S	I	G	19	2.5	93.2484	1.8	2.5447	1	0
20	j	G	0.6	0.1	0.0047115	0,2	0.31416	0	0	M									
21	c	G	18.5	0.4	2.32434	2,3/1,8	1.84	0	0	M									
22	c	G	13.5	0.5	2.6502188	1,9	2.98452	0	0	M									
23	t	T	29.5	0.8	14.82552	0,8	1.25664	0	0	M									
24	i	G	13	0.2	0.40833	1,1	1.72788	0	0	M									
25	s	G	29.5	1.2	33.35742	1,8	2.82744	0	0	S	I	G	4	0.5	0.78525	1.9	2.83529	0	0
26	c	G	16.3	0.4	2.047932	1,4/1,7	0.98	0	0	M									
27	c	G	30.5	0.5	5.9875313	1,7	2.67036	0	0	S	disco	G		0	0	2.1	3.46361	0	0
28	i	T	8.8	0.2	0.276408	0,6	0.94248	0	0	M									
29	i	G	2.1	0.2	0.065961	0,5	0.7854	0	0	M									
30	j	G	5.5	0.1	0.0431888	0,2	0.31416	0	0	M									
31	i	T	4	0.2	0.12564	0,7	1.09956	0	0	M									
32	j	G	3.6	0.2	0.113076	0,3	0.47124	0	0	M									
33	j	G	3.6	0.1	0.028269	0,2	0.31416	0	0	S	I	G	1.2	0.1	0.00942	0.5	0.19635	0	0
34	i	G	7.5	0.3	0.5300438	0,7	1.09956	1	0	M									
35	i	G	10	0.2	0.3141	0,8	1.25664	0	0	S	I	G	1.7	0.1	0.01335	0.7	0.38485	0	0
36	c	G	25	0.6	7.06725	0,9	1.41372	0	0	S	I	G	0.5	0.1	0.00393	0,7x0,2	0.14	0	0
37	i	G	12.5	0.7	4.8096563	1,6	2.51328	0	0	S	I	G	16.5	1	12.9566	1.3	1.32733	0	0
38	i	G	2.3	0.2	0.072243	0,4	0.62832	0	0	M									
39	c	G	13	0.5	2.5520625	1,2	1.88496	0	0	M									
40	c	G	20	0.7	7.69545	2,2/1,5	3.3	1	0	S	C	G	29	0.1	0.22772	2,4x0,6	1.44	0	0
41	c	G	21	0.4	2.63844	1,9/1,1	2.09	0	0	M									
42	i	G	10.3	0.6	2.911707	1,2	1.88496	0	0	M									
43	i	G	4	0.4	0.50256	0,6	0.94248	0	0	M									
44	i	G	4.9	0.4	0.615636	0,7	1.09956	0	0	M									
45	i	G	4.7	0.4	0.590508	0,8	1.25664	0	0	M									
46										R	I	G	19.5	1.3	25.8779	1.5	1.76715	1	0
47										R	I	G	10.5	0.4	1.31922	0.5	0.19635	0	0
48										R	I	G	2.6	0.4	0.32666	0.7	0.38485	0	0
49										R	I	G	6	0.6	1.69614	1.3	1.32733	3	0
50										R	J	T	4	0.1	0.03141	0.2	0.03142	0	0
51										R	C	G	16	0.9	10.1768	1.1	0.95033	2	0
52										R	T	T	47	2.7	269.05	3,6x1,4	5.04	1	0
53										R	I	G	1.9	0.3	0.13428	0.5	0.19635	0	0
54										R	I	G	4	0.1	0.03141	0.5	0.19635	0	0

STDO2 Q4

N	sex	Situation en 2000							Situation en 2001										
		phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	Phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
55										R	J	G	1.6	0.1	0.01256	0.3	0.07069	0	0
56										R	I	G	2.5	0.4	0.3141	0.8	0.50266	0	0
57										R	I	G	8.8	0.6	2.48767	1.4	1.53938	0	0
58										R	C	G	16	0.6	4.52304	3.1x2.4	7.44	0	0
59										R	I	G	12.5	0.4	1.5705	0.9	0.63617	0	0
60										R	J	G	5	0.1	0.03926	0.2	0.03142	1	0
61										R	J	G	2.7	0.1	0.0212	0.3	0.07069	0	0
62										R	I	G	7	0.3	0.49471	0.5	0.19635	0	0
63										R	I	G	25	0.9	15.9013	1.9	2.83529	0	0
64										R	I	G	13	0.6	3.67497	3.4	9.07922	0	0
65										R	J	G	0.9	0.1	0.00707	0.2	0.03142	0	0
66										R	C	G	26	0.9	16.5374	1.9	2.83529	0	0
67										R	C	G	18	0.3	1.27211	0.6	0.28274	0	0
68										R	I	G	6	0.5	1.17788	1	0.7854	0	0
69										R	I	G	1.1	0.1	0.00864	0.5	0.19635	0	0
70										R	J	G	1.1	0.1	0.00864	0.2	0.03142	1	0
71										R	I	G	0.5	0.1	0.00393	0.2	0.03142	0	0

STDO2 Q5

Situation en 2000

N	sex	phase	long (cm)	dia frond (cm)	Vol. Cylindre (cm ³)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
1	c	G	39	2.6	207.06286	3.3	5.18364	1	0
2	c	G	27	1.2	30.536352	2.3	3.61284	0	0
3	i	G	8.5	0.7	3.271191	1.9	2.98452	0	0
4	s	G	29.5	1.3	39.156117	2.7	4.24116	0	0
5	s	G	34	2.7	194.66924	2.9	4.55532	1	0
6	c	G	30	1.5	53.0145	2.5	3.927	0	0
7	s	G	26	1.8	66.162096	2.2	3.45576	0	0
8	c	G	16	0.8	8.042496	1.5	2.3562	0	0
9	i	T	3.5	0.3	0.247401	3.6 / 1.8	6.48	0	0
10	i	G	1.4	0.1	0.0109956	2	3.1416	0	0
11									
12									
13									
14									
15a									
15b									
16									
17									
18									
19									
20									
21									

Situation en 2001

Etat	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
M									
S	C	G	19.5	5	382.8094	7.1x2.5	17.75	1	0
S	C	G	19.5	5	382.8094	7.1x2.5	17.75	1	0
M									
M									
S	C	G	9	3	63.60525	2.5	4.90875	0	0
M									
M									
M									
M									
R	C	G	23.5	4.8	425.1658	7.8x3.6	28.08	1	0
R	I	G	7	1	5.49675	2.2	3.801336	0	0
R	I	G	2		0	1.7	2.269806	0	0
R	I	G	0.9		0	0.6	0.282744	0	0
R	C	T	18	3.5	173.1476	6.5x4.4	28.6	0	0
R	C	G	18	3.5	173.1476	6.5x4.4	26	0	0
R	I	I	5	0.6	1.41345	1.9	2.835294	0	0
R	I	G	14.5	0.8	7.28712	1.4	1.539384	1	0
R	I	G	21	2	65.961	2.8	6.157536	0	0
R	I	G	9	1.2	10.17684	3.0x1.6	4.8	0	0
R	I	G	18	2.5	88.34063	3.3	8.553006	0	0
R	C	G	20.5	3	144.8786	2.9	6.605214	0	0

STDO3 Q1

Situation en 2000

	left	right	sex	phase	long	dia frond	Vol	dia disk	Pleuro	Endo
1	4.8	21	i	G	24.5	2.6	130.06	4.4	3	0
2	6.5	24.5	i	G	13	0.6	3.67516	1 / 2,6	3	0
3	8	23	i	G	2.3	0.1	0.01806	1	0	0
4	11.5	22	c	G	21.5	3.3	183.864	4.5	3	0
5	15.3	23.8	i	G	5	0.5	0.98161	1,7 / 0,9	1	0
6	16.5	19	i	G	8	0.6	2.26164	2,4 / 2	0	2
7	15	21	J	G	1	0.1	0.00785		0	0
8	16	22	J	G	0.7	0.1	0.0055		0	0
9	17	8.8	i	G	8.5	1.4	13.0829	1.9	3	3
10	27	10.5	i	G	12	3.5	115.438	5,1 / 4,1	3	3
11	23.5	13.5	i	G	17.5	1.7	39.716	4,1 / 2,1	3	0
12	28.5	14.5	i	G	11.5	1.1	10.9273	3 / 1,2	3	3
13	19	29	J	T	0.2	0.1	0.00157	0.1	0	0
14	21	28.5	o	I	0	0	0	2.6	0	0
15	21	28	J	T	1.1	0.1	0.00864	0.2	0	0
16	21.8	28	J	G	0.4	0.1	0.00314		0	0
17	21.8	26.8	i	G	6.5	0.7	2.50115	1.3	0	0
18	24.2	28	i	G	5.3	0.4	0.66593	1,9 / 0,9	0	0
19	24	30	i	G	14	1.3	18.58	1.9	2	0
20	27.5	29	i	G	6	0.3	0.42406	1.4	1	0
21	22	23	i	G	4	0.2	0.12565	1,7 / 0,8	0	2
22	22.5	20.5	i	G	4.3	0.2	0.13507	2.6	0	2
23	21	19.6	i	G	1.6	0.1	0.01256	1.1	0	0
24	25	19.5	i	G	9.5	0.8	4.77456	2.2	3	3
25	26	18.8	i	G	6	0.2	0.18847	0,9 / 0,3	1	2
26	27	18.3	i	G	3.5	0.1	0.02749	0.5	0	2
27	27.6	19	i	G	1.8	0.1	0.01414	0.4	1	1
28	26	23	i	G	0.5	0.1	0.00393	0.9	0	0
29	35.5	25	i	G	12.5	2.3	51.9273	3	3	0

STDO3 Q2

Situation 2000

	left	right	sex	phase	Nphase	long	dia frond	Vol	dia disk	Pleuro	Endo
1	2.5	26	i	G	1	6.3	2.7	36.066	2.9	3	3
2	9	17	i	T	2	17	1.2	19.2239	2.5	3	0
3	12	13.5	i	G	1	15.5	1.4	23.8571	3.3	3	0
4	10.5	18.5	t	T	2	13	1.9	36.8537	2.5/3.3	3	3
5	6.5	23	j	T	2	0.8		0	0.2	0	0
6	14.3	15.2	i	T	2	12.5	0.3	0.88345	0.7	0	3
7	15	11.8	j	G	1	1.4		0	0.15	0	0
8	16	10.8	i	G	1	1.5	0.2	0.04712	0.9	2	0
9	17	8.9	j			0.6		0	0.15	0	0
10	19.8	6.5	i	G	1	1.1		0	1.1	2	0
11	19.5	6.5	i	G	1	2	0.1	0.01571	2.2	3	0
12	23	3	i			1.2		0	3.6	2	0
13	24.9	1.3	j			0.4	0.1	0.00314	0.1	0	0
14	17.5	15	j			0.2		0	0.6	0	0
15	18.8	14.9	j	G	1	0.4		0	0.1	0	0
16	19.2	14	i	G	1	0.7	0.2	0.02199	0.4	2	0
17	19.5	13.2	i	G	1	0.6		0	1.7	0	0
18	20.5	9.5	i	G	1	1.2		0	3.5	2	0
19	23	8	i	G	1	0.3		0	1.3	0	0
20	26.5	5.5	i	T	2			0	3.2/2	0	0
21	28.5	9	i	G	1			0	2.1	0	0
22	30	12.3	i	T	2			0	1.7	2	0
23	30	14.2	i	G	1			0	1.1	1	0
24	26.5	10.5	i	G	1			0	3	2	0
25	28	12.7	i	G	1			0	1.9	3	0
26	26.5	13.5	i	G	1			0	2.2/1.4	3	0
27	29.3	16.7	i	G	1			0	1.7	2	0
28	28.5	12.7	i	G	1			0	1.4	1	0
29	26	8.2	j		2	0.4		0	0.2	0	0
30	26	17	i	G	1	2.9		0	4.8	2	3
31	15.5	18.3	i	G	1	9.8	0.4	1.23133	1.5	3	0
32	15.5	20.3	i	G	1	11	1.4	16.9309	2.5	3	3
33	17.5	21.5	c	G	1	8.7	0.3	0.61488	1.1	3	3
34	17	22.3	i	G	1	5.3	0.3	0.37458	1.1	1	3
35	19.5	14.2	i	G	1	0.6		0	0.6	0	0
36	20	18	i	G	1	3.2		0	7/3.6	0	0
37	25.3	20	j	T	2	0.9		0	0.3	1	2
38	25.5	21.2	i	T	2	2	0.2	0.06282	0.8	0	3
39	25.5	23.7	i	T	2	16	1.4	24.6267	3/1.7	3	0
40	21.8	23	i	G	1	10	0.8	5.02586	1.5	3	3
41	20.2	24.5	i	G	1	13	1.7	29.5033	1.9	3	0
42	21	27	i	G	1	3.2	0.3	0.22616	0.8	0	2
43	17.8	25.5	i	G	1	6.5	0.5	1.2761	1.3	3	1
44	14.5	25.5	i	T	2	11.5	0.9	7.31498	3/1.2	3	3
45	16.5	28.5	i	T	2	15.5	0.6	4.38192	1.2	3	3
46	20	34	i	G	1	21	3.3	179.588	6.8/3.6	3	3
47	22	32	i	G	1	7.5	0.4	0.94235	0.8	2	3
48	21	30.5	i	G	1	5.8	0.3	0.40992	1.1	1	3
49	24	31.5	i	G	1	11.5	0.6	3.2511	1.8	2	1
50	27	31.5	i	T	2	5.5	0.5	1.07977	2.1/3.5	1	0

MAT1 Q3

Situation en 2000

N	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat
1		G	2.3	0.2	0.0722568	0.5	0.19635	0	0	M
2		G	0.6	0.1	0.0047124	0.5	0.19635	0	0	M
3		T	1.8	0.1	0.0141372	0.4	0.125664	0	0	S
4		G	7.5	0.6	2.12058	1.1	0.950334	0	0	S (F)
5		G	2	0.2	0.062832	0.2	0.031416	0	0	S (F)
6		G	15.5	0.7	5.965113	2.6	5.309304	0	0	S
7		T	2.4	0.7	0.9236304	0.2	0.031416	0	0	M
8		I	0.8	0.1	0.0062832	0.4	0.125664	0	0	M
9		T	16.3	1.1	15.490444	3.9/2.1	8.19	0	0	M
10		T	7.3	0.4	0.9173472	1	0.7854	0	0	M
11		T	7.5	0.4	0.94248	1.1	0.950334	0	0	M
12		G	12	0.4	1.507968	0.8	0.502656	0	0	M
13		G	14	1.2	15.833664	5.4/2.8	15.12	0	2	M
14		T	18	0.7	6.927228	1.7/1.7	1.19	0	0	M
15		T	14.5	0.7	5.580267	3.3/1.4	4.62	0	0	M
16		G	13	1	10.2102	6.1/3.6	21.96	0	0	M
17		G	4	0.3	0.282744	0.8	0.502656	0	0	S
18		G	22.5	0.4	2.82744	1.7	2.269806	0	0	M
19		G	22	0.9	13.995828	2.5	4.90875	0	0	M
20		G	10.5	0.8	5.277888	2.1	3.463614	0	0	M
21		G	19	1.1	18.056346	1.8	2.544696	0	0	S
22		T	18	0.8	9.047808	1.2	1.130976	0	0	M
23		T	15	0.6	4.24116	1.6	2.010624	0	0	S
24		G	14	1.3	18.582564	5.2/2.9	15.08	0	0	M
25		G	10	0.3	0.70686	1.2	1.130976	0	0	S
26										R
27										R
28										R
29										R
30										R
31										R
32										R
33										R
34										R
35										R
36										R
37										R
38										R
39										R
40										R
41										R
42										R
43										R
44										R
45										R
46										R
47										R
48										R
49										R
51										R
52										R
53										R
54										R
55										R

Situation en 2001

sex	Phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
T	T	10	2.4	45.238896	2.8	6.157536	0	2
I	G	9	0.8	4.5238896	1.8	2.544696	0	0
I	G	9	0.8	4.5238896	1.8	2.544696	0	0
I	G	5	0.8	2.513272	3.8 / 1.9	7.22	0	0
				0				
				0				
				0				
				0				
				0				
				0				
				0				
T	G	13	0.6	3.6756603	2.5 / 1.9	4.2	0	0
				0				
I	G	3.5		0	0.3	0.070686	0	0
				0				
T	T	14	0.4	1.7592904	2.4 / 1.2	2	0	0
				0				
I	G	7.5	0.4	0.942477	2.9 / 1.2	3.48	0	0
I	T	2.5	0.8	1.256636	2.6 / 1.5	3.9	0	0
I	T	8	0.1	0.0628318	5.2 / 2.6	13.52	0	0
T	G	10	2.4	45.238896	2.8	5.5	0	2
I	G	2	0.8	1.0053088	1.6	2.010624	0	2
I	G	2	0.1	0.015708	2.3	4.154766	0	0
I	G	4.5	0.3	0.318086	0.5	0.19635	0	2
I	G	2.5	0.1	0.0196349	0.3	0.070686	0	0
I	G	6	0.1	0.0471239	5.2	21.23722	0	0
I	G	8	0.3	0.5654862	0.7	0.384846	0	2
I	T	1.5	0.1	0.011781	0.4	0.125664	0	0
I	T	2.5	0.1	0.0196349	0.3	0.070686	0	0
I	T	7	0.3	0.4948004	1	0.7854	0	3
T	T	9	0.7	3.463603	1.2	1.130976	0	0
T	T	13	0.6	3.6756603	2.5 / 1.9	4.75	0	0
I	G	12	0.4	1.5079632	1.1	0.950334	0	0
I	T	10	0.3	0.7068578	1.7	2.269806	0	2
I	G	6	0.6	1.6964586	1.1	0.950334	0	0
T	T	22	0.5	4.3196863	1.3	1.327326	0	3
I	T	12	0.8	6.0318528	1.7	2.269806	0	0
I	G	1	0.1	0.007854	0.4	0.125664	0	0
I	T	1.5	0.1	0.011781	0.1	0.007854	0	0
I	G	4	0.4	0.5026544	0.6	0.282744	0	1
I	G	14	0.7	5.3878269	2.8	6.157536	0	0
T	T	18	0.4	2.2619448	2.4 / 0.9	2.16	0	0
I	T	1.5	0.1	0.011781	0.6	0.282744	0	0
I	T	9	0.5	1.7671444	0.6	0.282744	0	0
I	T	6.5	0.4	0.8168134	0.5	0.19635	0	0
I	T	6	0.3	0.4241147	0.3	0.070686	0	0
I	T	2	0.1	0.015708	0.6	0.282744	0	0

MAT1 Q3

N	Situation en 2000					Etat	Situation en 2001										
	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre		dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	sex	Phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk
56						R	I	T	6	0.8	3.0159264	2.7 / 1.4		3.78		0	0
57						R	I	T	8	0.5	1.570795	1.9		2.835294		0	0
58						R	I	T	8.5	0.4	1.0681406	0.7		0.384846		0	3
59a						R	C	T	15	0.9	9.5425796	2.5 / 1.4		3.5		0	2
59b						R	C	G	15	0.9	9.5425796	2.5 / 1.4		2.8		0	2
61						R	I	T	6	0.5	1.1780963	2		3.1416		0	2
62						R	I	T	4	0.1	0.0314159	2.2		3.801336		0	0
63						R	I	T	10	0.3	0.7068578	0.9		0.636174		0	0
64						R	I	T	4.5	0.3	0.318086	0.9		0.636174		0	0
65						R	I	G	5.5	0.4	0.6911498	0.6		0.282744		0	0
66						R	C	G	14.5	0.7	5.5802492	1.5		1.76715		0	0
67						R	I	G	8	0.3	0.5654862	0.9		0.636174		0	0
68						R	I	G	3.8	0.1	0.0298451	1.1		0.950334		0	2
69						R	I	G	4.5	0.1	0.0353429	0.2		0.031416		0	0
70						R	I	T	4.5	0.3	0.318086	0.7		0.384846		0	3
71						R	I	T	3	0.2	0.0942477	0.9		0.636174		0	2
72						R	I	G	6	0.4	0.7539816	1.3		1.327326		0	0
73						R	T	G	14	0.4	1.7592904	2.4 / 1.2		2.88		0	0
74						R	I	G	9	1.1	8.5529788	3.2		8.042496		0	0
75						R	I	T	1.5	0.1	0.011781	0.7		0.384846		0	0
76						R	I	T	1	0.1	0.007854	0.5		0.19635		0	0
77						R	I	T	9	1.1	8.5529788	4 / 2.6		10.4		0	0
78						R	I	T	5	0.5	0.9817469	1.8		2.544696		0	0
79						R	I	T	7	0.4	0.8796452	1.7		2.269806		0	0

MAT2 Q1

Situation en 2000

N	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat
1	i	G	7.5	0.6	2.12058	0.9	0.636174	0	0	M
2	s	G	16	0.4	2.010624	0.9	0.636174	0	0	M
3	i	G	13.5	0.3	0.954261	1.2	1.130976	0	3	M
4	j	G	2.2	0.1	0.0172788	0.2	0.031416	0	0	M
5	t	T	14.5	0.4	1.822128	0.8	0.502656	0	3	M
6	i	T	12.5	0.2	0.3927	0.7	0.384846	0	0	M
7	i	T	5.5	0.2	0.172788	0.5	0.19635	0	0	M
8	i	T	1.8	0.1	0.0141372	0.9	0.636174	0	0	M
9	i	T	7.5	0.4	0.94248	1.7 / 0.9	1.53	0	3	M
10	i	T	7	0.5	1.37445	2.5 / 1.4	3.5	0	0	M
11	i	G	8.5	0.1	0.066759	1.2	1.130976	0	3	M
12	i	G	11	0.4	1.382304	1.1	0.950334	0	0	M
13	i	G	8	0.5	1.5708	1.3 / 2.1	2.73	0	2	M
14	i	T	5.5	0.2	0.172788	0.4	0.125664	0	2	M
15	j	T	0.3	0.1	0.0023562	0.2	0.031416	0	0	M
16	j	T	1.2	0.1	0.0094248	0.3	0.070686	0	0	M
17	i	G	10	1	7.854	2.4	4.523904	0	0	M
18	i	G	7.5	0.1	0.058905	0.8	0.502656	0	0	M
19	t	T	9	0.7	3.463614	2.3	4.154766	0	3	M
20	i	G	10	0.5	1.9635	2.8	6.157536	0	0	S
21	j	T	1.3	0.1	0.0102102	0.4	0.125664	0	0	M
22	i	T	4	0.3	0.282744	1.1	0.950334	0	3	M
23	j	T	1.5	0.1	0.011781	0.3	0.070686	0	0	M
24	i	T	2	0.1	0.015708	1.2	1.130976	0	3	M
25	i	G	8	0.4	1.005312	2.4 / 1.6	3.84	0	3	S
26	i	T	5	0.7	1.92423	1.8	2.544696	0	3	S
27	i	G	3	0.1	0.023562	1	0.7854	0	0	S
28	i	G	4.5	0.3	0.318087	1.2	1.130976	0	0	M
29	i	G	9.5	0.2	0.298452	0.8	0.502656	0	0	M
30	j	G	0.7	0.1	0.0054978	0.2	0.031416	0	2	M
31	i	G	1.2	0.1	0.0094248	0.6	0.282744	0	3	M
32	i	G	2	0.1	0.015708	0.5	0.19635	0	0	M
33	i	T	5.5	0.2	0.172788	1.3	1.327326	0	0	M
34	i	G	6.5	0.6	1.837836	2.8	6.157536	0	0	S
35	i	G	8	0.2	0.251328	1.8	2.544696	0	3	S(F?)
35										S(F?)
36	i	G	4	0.3	0.282744	3.2 / 1.8	5.76	0	0	M
37	i	G	5	0.2	0.15708	1.5 / 1.0	1.5	0	0	M
38a										R
38b										R
40										R
41										R
42										R
43										R
44										R
45										R
46										R
47										R
48										R
49										R
50										R
51										R
52										R
53										R
54										R
55										R
56										R
57										R

Situation en 2001

sex	Phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
I	G	10	1.3	13.273218	3.2	8.042496	0	0
C	G	11	1.8	27.991567	5.2/2.1	12.48	0	0
I	T	7	0.7	2.6939134	2.7	5.725566	0	0
I	G	11	0.5	2.1598431	0.9	0.636174	0	0
I	G	16	0.8	8.0424704	1.6	2.010624	0	0
I	G	7	0.7	2.6939134	3.1	7.547694	0	0
I	G	2.5			0.8	0.502656	0	0
T	T	5	0.5	0.9817469	1.4/0.6	0.84	0	0
T	C	5	0.5	0.9817469	1.4/0.6	0.6	0	0
I	G	10.5	0.6	2.9688026	1.5	1.76715	0	0
I	G	7	0.5	1.3744456	2.2	3.801336	0	0
I	G	3.5	0.3	0.2474002	1	0.7854	0	0
I	T	6	0.4	0.7539816	1.3	1.327326	0	0
I	G	7	0.2	0.2199113	0.9	0.636174	0	0
T	T	11	0.4	1.3822996	3.4/2.6/0.7	#VALEUR!	0	0
T	T	11	0.3	0.7775435	3.7/1.5	5.55	0	0
I	G	3	0.3	0.2120573	0.4	0.125664	0	0
I	G	3.5	0.2	0.1099557	1.4	1.539384	0	0
I	G	9	0.7	3.463603	1.3	2.835294	0	0
I	T	3	0.2	0.0942477	0.8	0.502656	0	2
I	G	5.5	0.7	2.1166463	1.7	2.269806	0	0
I	G	9.5	0.4	1.1938042	1.2	1.130976	0	0
I	G	7.5	0.4	0.942477	1.5	1.76715	0	0
I	G	3	0.1	0.0235619	0.5	0.19635	0	0
I	G	6	0.3	0.4241147	1	0.7854	0	0
I	G	4	0.3	0.2827431	0.8	0.502656	0	0
J	G	3	0.1	0.0235619	0.2	0.031416	0	0

MAT2 Q1

Situation en 2000										Situation en 2001									
N	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	Phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
58										R	I	G	10	1.2	11.309724	6.5/2.4	15.6	0	0
59										R	J	G	1.5	0.1	0.011781	0.1	0.007854	0	0
60										R	I	G	7.5	0.6	2.1205733	1.7	2.269806	0	0
61										R	I	G	6	0.4	0.7539816	1	0.7854	0	0
62										R	I	G	8	0.6	2.2619448	2.2	3.801336	0	0
63										R	I	T	10	1.3	13.273218	3.2	8.042496	0	0
64										R	I	T	1.7	0.1	0.0133518	0.7	0.384846	0	0
65										R	I	G	0.5	0.1	0.003927	0.7	0.384846	0	0
66a										R	I	T	8	0.6	2.2619448	2.4/1.1	2.64	0	0
66b										R	I	G	8	0.6	2.2619448	2.4/1.1	2.3	0	0
68										R	I	G	2.5	0.1	0.0196349	0.8	0.502656	0	0
69										R	I	G	21	0.7	8.0817403	0.7	0.384846	0	0
70										R	I	G	7.5	0.1	0.0589048	0.8	0.502656	0	0
71										R	I	G	2	0.1	0.015708	0.5	0.19635	0	0
72										R	I(J)	T	6	0.3	0.4241147	0.2	0.031416	0	0
73										R	I	G	6	0.9	3.8170319	2	3.1416	0	0
74										R	I	T	7	0.6	1.9792017	2.2	3.801336	0	0
75a										R	I	T	8	0.7	3.0787582	2.3	4.154766	0	0
75b										R	I	G	8	0.7	3.0787582	2.3	3.8	0	0

MAT2 Q2

Situation en 2000

Situation en 2001

N	sex	phase	long (cm)	dia frond (cm)	Vol. Cylindre (cm3)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
1	i	G	4.5	0.4	0.565488	0.9	0.636174	0	0	M									
2	i	G	10.5	1	8.2467	1.5	1.76715	0	2	S	I/J	G	6		0	0.3	0.070686	0	0
3	i	G	8.5	0.2	0.267036	1,6 / 0,5	0.8	0	0	S (F)	I	G	11	1.1	10.453641	2.4	4.523904	0	0
4	i	T	9	0.9	5.725566	2.1	3.463614	0	3	M									
5	i	G	1	0.1	0.007854	0.7	0.384846	0	0	S (F)	I	G	11	1.1	10.453641	2.4	4.523904	0	0
6	i	T	4	0.7	1.539384	2,2 / 0,9	1.98	0	3	M									
7	i	T	3.5	0.4	0.439824	0.8	0.502656	0	0	M									
8	i	T	1	0.1	0.007854	0.5	0.19635	0	0	M									
9	i	T	4.3	0.4	0.5403552	1,5 / 0,6	0.9	0	2	M									
10	i	G	8	0.5	1.5708	2,9 / 0,9	2.61	0	3	M									
11	i	T	6.5	0.5	1.276275	1.1	0.950334	0	0	M									
12	i	T	8.5	0.3	0.600831	1.5	1.76715	0	2	M									
13	s	G	10	1.1	9.50334	3.3	8.553006	0	3	S	C	G	19	2.5	93.265953	2.8	6.157536	0	0
14	i	T	6	0.4	0.753984	3	7.0686	0	3	M									
15	i	T	9.5	0.9	6.043653	2.8	6.157536	0	3	M									
16	i	T	14	0.4	1.759296	1.6	2.010624	0	3	M									
17	i	G	9.5	1	7.4613	5,6 / 1	5.6	0	3	S	C	G	13	1.5	22.972877	3.1/2/2	6.5	1	0
18	c	G	11	0.5	2.15985	5,2 / 1,9	9.88	0	0	M									
19a	t	G	13	0.2	0.408408	1.2	1.130976	0	3	M									
19b	t	T	13	0.2	0.408408	1.2	1.130976	0	3	M									
20	i	T	7	0.5	1.37445	1.2	1.130976	0	2	S	T	T	16			1.5/0.8	1.2	0	0
21	i	G	7.5	0.3	0.530145	2,3 / 0,9	2.07	0	0	S (F)	I	G	17	1.9	48.199845	2,7/1.4	3.78	0	0
22	c	G	15	1	11.781	1.3	1.327326	1	0	S (F)	I	G	17	1.9	48.199845	2,7/1.4	3.78	0	0
23	s	G	14.5	0.4	1.822128	0.9	0.636174	0	0	M									
24	i	T	7	0.2	0.219912	1.1	0.950334	0	3	M									
25	i	T	5	0.1	0.03927	1.1	0.950334	0	0	M									
26										R	I(J)	T	1.2	0.1	0.0094248	0.4	0.125664	0	0
27										R	I(J)	T	0.9	0.1	0.0070686	0.4	0.125664	0	0
28										R	I	G	6	0.1	0.0471239		0	0	0
29										R	I/J	G	1.5	0.1	0.011781	0.2	0.031416	0	0
30										R	I	G	4.5	0.4	0.5654862	0.3	0.070686	0	0
31										R	I	G	4.5	0.4	0.5654862	0.4	0.125664	0	0
32										R	C	G	14	1.4	21.551307	3.9	11.945934	0	0
33										R	I	G	1.2	0.5	0.2356193	1.4	1.539384	0	0
34										R	I	G	1	0.1	0.007854	0.5	0.19635	0	0
35										R	I	G	7	0.1	0.0549778	5,8/2.1	12.18	0	0
36										R	I	G	0.7	0.1	0.0054978	0.8	0.502656	0	0
37										R	I	T	2.5	0.1	0.0196349	0.6	0.282744	0	0
38										R	I	G	4	0.1	0.0314159	1,9/1.1	4.94	0	0
39										R	I/J	G	1.5	0.1	0.011781	0.2	0.031416	0	0
40										R	I/J	G	0.7	0.1	0.0054978	0.2	0.031416	0	0
41										R	I	G	12	2	37.69908	3,9/2.6	10.14	0	0
42										R	T	T	14	1.3	18.582505	0.9	0.636174	0	0
43										R	J	G	3	0.1	0.0235619	0.9	0.636174	0	0
44										R	C	T	13	1.5	22.972877	3.1/2/2	6.82	1	0
45										R	I	G	35	0.1	0.2748891	0.5	0.19635	0	0
46										R	C	G	21	2.5	103.08342	4.6	16.619064	0	2
47										R	C	G	16	1.8	40.715006	1.8	2.544696	0	0
48										R	C	G	18	1	14.137155	2.7	5.725566	0	0

MAT2 Q3

Situation en 2000

Situation en 2001

N	sex	phase	long (cm)	dia frond (cm)	Vol. Cylindre (cm3)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
1	i	G	10.5	0.7	4.040883	4.5 / 1.9	8.55	0	0	M									
2	i	G	0.7	0.1	0.005498	0.3	0.070686	0	0	S	I	G	10	1.2	11.30972	2.3	4.154766	0	0
3	i	G	6.3	1	4.94802	4,3 / 1,9	8.17	0	0	M									
4	i	G	13.6	0.7	5.233906	4,3 / 2,4	10.32	0	0	M									
5	i	G	8	0.7	3.078768	3,2 / 2,1	6.72	0	0	M									
6	i	T	8.3	0.7	3.194222	1.7	2.269806	0	0	M									
7	i	T	8.2	0.6	2.318501	1.4	1.539384	0	0	M									
8	i	G	12.5	0.5	2.454375	1.5	1.76715	0	0	M									
9	i	G	13.3	0.6	3.760495	1.1	0.950334	0	0	M									
10	i	G	7.1	0.7	2.732407	2	3.1416	0	0	S	I	G	7	0.6	1.979202	3.1/1.3	4.03	0	0
11	i	T	3	0.2	0.094248	2	3.1416	0	0	M									
12	i	G	3.7	0.2	0.116239	0.7	0.384846	0	0	S (F)	T	T	15 (T)	1.4/1.8	#VALEURI	18/9.5	17.1	0	0
13	i	T	6.7	0.1	0.052622	0.5	0.19635	0	0	S (F)	T	G				18/9.5	16.1	0	0
14	i	G	7.2	0.1	0.056549	0.4	0.125664	0	0	S (F)	T	T	15 (T)	1.4/1.8	#VALEURI	18/9.5	17.1	0	0
15	i	G	11.4	0.5	2.23839	1.2	1.130976	0	0	M									
16	i	G	18.5	0.5	3.632475	2	3.1416	0	0	S (F)	T	T	15 (T)	1.4/1.8	#VALEURI	18/9.5	17.1	0	0
17	i	G	8.8	0.5	1.72788	1.8	2.544696	0	0	S (F)	T	G				18/9.5	16.1	0	0
18	i	G	12.2	0.5	2.39547	1.5	1.76715	0	0	M									
19	i	G	9.2	0.5	1.80642	1	0.7854	0	0	M									
20	i	G	5	0.6	1.41372	1.3	1.327326	0	0	M									
21										R	I	G	9.5	1	7.461276	1.8	2.544696	0	0
22										R	I	G	12	0.1	0.094248	0.7	0.384846	0	0
23a										R	I	T	7	0.1	0.054978	1.6	2.010624	0	0
23b										R	I	G	7	0.1	0.054978	1.6	1.5	0	0
24										R	I	T	2	0.1	0.015708	0.5	0.19635	0	0
25										R	T	G	15.5	0.7	5.965094	2.3	4.154766	0	0
26										R	T	T	10.5	0.5	2.061668	2.2	3.801336	0	2
27										R	T	T	10	1.1	9.50331	0.9	0.636174	0	0
28										R	C	G	15	0.1	0.11781	4.8/3.6	17.28	0	0
29										R	I	T	4	0.1	0.031416		0	0	0
30										R	T	T	16	0.9	10.17875	2.3/0.8	1.84	0	0
31										R	I	T	11	0.1	0.086394	3.1/1.3	4.03	0	0
32										R	I	G	9	1.7	20.42819	3.3	8.553006	0	0
33										R	I	G	4	0.1	0.031416	1.3	1.327326	0	0
34										R	I	T	2.5	0.1	0.019635	0.7	0.384846	0	0
35										R	J	G	0.7	0.1	0.005498	0.1	0.007854	0	0
36										R	I	G	6	0.1	0.047124	0.4	0.125664	0	0
37										R	J	G	2.5	0.1	0.019635	0.2	0.031416	0	0
38										R	I	G	15	0.1	0.11781	0.7	0.384846	0	0
39										R	I	G	2	0.1	0.015708	0.7	0.384846	0	0

MAT2 Q4

Situation en 2000

Situation en 2001

N	sex	phase	long (cm)	dia (cm)	frond	Vol. Cylindre (cm3)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	Etat	sex	phase	long	dia frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo	
1	i	T	11.2	0.4		1.4074368	2.6	5.309304	0	0	M										
2	i	G	9.5	0.5		1.865325	1.4	1.539384	0	0	M										
3	i	T	1	0.1		0.007854	0.3	0.070686	0	0	M										
5	i	T	4.7	0.2		0.1476552	0.4	0.125664	0	0	M										
6	i	G	8	0.2		0.251328	1.1	0.950334	0	0	M										
7	i	G	6.6	0.3		0.4665276	0.9	0.636174	0	0	M										
8	i	G	1	0.1		0.007854	0.5	0.19635	0	0	M										
9	i	G	2.7	0.1		0.0212058	0.4	0.125664	0	0	S	C/T	G	17	2.3	70.6307972	2.8	5	0	0	
10	i	G	5	0.3		0.35343	0.5	0.19635	0	0	M										
11	i	T	6.5	0.2		0.204204	0.9	0.636174	0	0	M										
12	i	G	9.5	0.4		1.193808	1.2	1.130976	0	0	M										
13	i	G	5.1	0.5		1.001385	1.4	1.539384	0	0	M										
14	i	G	1.5	0.1		0.011781	0.3	0.070686	0	0	M										
15	i	T	8.3	0.4		1.0430112	0.9	0.636174	0	0	S	T	T	13.5	0.8	6.7858344	1.3	1.327326	0	0	
16	i	G	10.5	1.2		11.875248	1.8	2.544696	0	0	M										
17	i	T	5	0.5		0.98175	1.6	2.010624	0	0	S	T	T	16	1.8	40.7150064	2.2/1.1	2.42	0	0	
18	i	T	11.5	0.5		2.258025	1.7	2.269806	0	0	S	T	T	18.5			2.8	6.157536	0	0	
19	i	T	13.4	0.3		0.9471924	1.1	0.950334	0	0	S	T	T	19	1.3	25.2191137	1.8	2.544696	0	0	
20	i	G	11.2	0.5		2.19912	1.2	1.130976	0	0	M										
21	i	I	6.3	0.5		1.237005	1.8	2.544696	0	0	M										
22	i	T	3.3	0.2		0.1036728	0.5	0.19635	0	0	M										
23	i	T	8	0.2		0.251328	0.8	0.502656	0	0	M										
24	i	G	3.5	0.1		0.027489	0.9	0.636174	0	0	M										
25	i	G	2.4	0.1		0.0188496	0.4	0.125664	0	0	M										
26	i	T	12.5	0.4		1.5708	1.3	1.327326	0	0	M										
27	i	G	12.5	0.8		6.2832	1,1 / 3,1	3.41	0	0	M										
28	i	G	7.3	0.9		4.6440702	3	7.0686	0	0	S	C	G	16	1.4	24.6300656	0.9/2	1.8	0	0	
29	i	G	8.3	0.5		1.629705	1.4	1.539384	0	0	M										
30	i	G	16.2	0.6		4.5804528	5.3	22.061886	0	0	S (F)	I	G	20	1.7	45.3959755	2.8/1.4	3.92	0	0	
31	i	G	7.2	0.6		2.0357568	1.9	2.835294	0	0	S (F)	I	G	17	1.8	43.2596943	2.8	6.157536	0	0	
32											S	C	G	13	1.6	26.1380288	4/2.7	10.8	0	0	
33											R	I		5	0.4	0.628318	1	0.7854	0	0	
34											R	J	T	2	0.1	0.01570795	0.3	0.070686	0	0	
35											R	I	G	1.5	0.1	0.01178096	0.6	0.282744	0	0	
36											R	C	G	16	0.9	10.1787516	0.9	0.636174	0	0	
37											R	T	T	6	0.4	0.7539816	0.9	0.636174	0	2	
38											R	T	T	16	0.6	4.5238896	1.9/1.1	2.09	0	0	
39											R	J	G	1.5	0.1	0.01178096	0.2	0.031416	0	0	
40											R	C	G	12	1.3	15.9278613	1.7	2.269806	0	0	
41											R	T	G	8.5	0.6	2.40331635	1.3	1.327326	0	0	
42											R	C	G	20	0.9	12.7234395	1.9	2.835294	0	0	
43											R	T	T	13	0.1	0.10210168	3/1.2	3.6	0	0	
44											R	I	G	2	0.1	0.01570795	0.5	0.19635	0	0	
45a											R	T	T	13	0.8	6.5345072	2.5/1.3	3.25	0	0	
45b											R	C/T	T	14	1.3	18.5825049	5.8/1.6	9.28	0	0	
46											R	C/T	G	17	0.6	4.8066327	5.8/1.6	8	0	0	
47											R	I	G	7.5	0.1	0	0.9	0.636174	0	0	
48											R	I	T	1	0.1	0.00785398	0.9	0.636174	0	0	
49											R	C/T	T	13	2.3	54.0117861	2.8	6.157536	0	0	
50											R	I	T	3	0.1	0.02356193	0.8	0.502656	0	0	
51											R	T	T	11	0.6	3.1101741	0.9	0.636174	0	0	
52											R	I	G	8	0.1	0.0628318	1.2	1.130976	0	0	
53											R	I	G	1.5	0.1	0.01178096	0.3	0.070686	0	0	
54											R	I	G	2.5	0.1	0.01963494	0.6	0.282744	0	0	
55											R	I	T	4	0.1	0.0314159	0.4	0.125664	0	0	
56											R	J	G	3.5	0.1	0.02748891	0.2	0.031416	0	0	
											R	I	G	11	0.8	5.5291984	1.9	2.835294	0	0	

57

MAT2 Q4**Situation en 2000**

N	sex	phase	long (cm)	dia (cm)	frond	Vol. Cylindre (cm3)	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
58										
59										
60										
61										
62										

R	C	G	15	0.8	7.539816	1.6	2.010624	0	0

Situation en 2001

N	sex	phase	long	dia	frond	Vol. Cylindre	dia disk	Superf Disk	Pleuro	Endo
58	R	I	G	1	0.1	0.00785398	0.9	0.636174	0	0
59	R	I	T	4	0.1	0.0314159	0.7	0.384846	0	0
60	R	T	T	18	2.5	88.3572188	2.3	4.154766	0	0
61	R	J	G	1	0.1	0.00785398	0.3	0.070686	0	0
62	R	I	G	11	0.7	4.23329253	1.5	1.76715	0	0

MAT3 Q1

Situation en 2000

N	left	right	sex	phase	long	Vol. Cylindre	dia disk	Pleuro	Endo
1	6	17.2	i	G	6.5	1.276275	1.7	2	0
2	8.5	15.3	i	T	11.9	13.4586144	1.8	1	0
3	14.2	9.8	i	G	6.1	1.7247384	1.3	2	0
4	10	13.5	i	G	6	3.015936	1.5	1	0
5	11.5	12	i	G	5	0.62832	1.2	2	0
6	17.5	6.2	i	G	5.3	0.1665048	0.9	2	0
7	20.5	3	i	G	5	0.15708	0.4	0	0
8	23	3.3	i	G	14	5.387844	4,5 / 2,2	3	0
9	3	21.3	i	T	6.3	2.4245298	1.9	0	0
10	4.5	23.5	i	T	1.5	0.047124	0.3	0	0
11	6.6	25	i	T	4	0.282744	0.7	0	0
12	7	23	i	T	9.5	1.193808	1.1	2	0
13	18.5	7.5	i	T	4.2	1.1875248	2.2	0	0
14	10.5	26	i	T	6.5	0.459459	1	0	0
15	10.5	22	i	T	6	1.1781	0.8	1	0
16	11.3	16.7	i	T	5.8	1.13883	0.9	0	0
17	16.5	12.3	i	T	7.3	3.6693888	1.2	1	0
18	19.5	10.5	i	G	8.7	2.4598728	1.5	1	0
19	22.8	10.5	i	G	8	0.062832	0.6	2	0
20	13	17	i	G	5.5	0.043197	0.3	2	0
21	15.5	22.2	i	T	7.5	2.886345	2	3	0
22	18.5	18.5	i	G	12.2	9.58188	1.7	3	0
23	18	16.2	c	T	8.2	1.61007	0.7	3	0
24	22.5	13.5	i	T	1.5	0.011781	0.4	0	0
25	24.5	14	i	G	6	1.696464	2.1	2	0
26	16.5	27.4	i	G	1.2	0.0094248	0.2	0	0
27	14.5	25.2	i	G	3.6	0.0282744	0.2	3	0
28	18	27.5	i	G	3	0.023562	0.4	2	0
29	20.5	33	i	G	2.7	0.1908522	0.7	0	0
30	19.5	31	i	T	5.6	0.3958416	1.1	1	0
31	18	28	i	G	3.2	0.0251328	0.2	2	0
32	18.7	26.5	i	T	3.6	0.2544696	0.6	1	0
33	19.8	25.7	i	T	4.5	0.141372	0.6	0	0
34	21	31.7	i	G	13	0.918918	1.2	3	0
35	23	31.7	i	G	2	0.062832	0.6	0	0
36	22.5	30	i	G	6.7	0.4735962	1.2	1	0
37	22.3	27.7	i	G	4	0.125664	0.8	0	0
38	24	27.3	i	T	16.5	0.518364	0.7	2	0
39	22.5	24.5	i	T	4.6	0.0361284	1 / 0,3	0	0
40	23.8	25	i	T	4	0.031416	0.7	1	0
41	23.3	22	i	T	3.5	0.109956	0.3	1	0
42	28	24	i	G	11.5	0.812889	3,3 / 1,6	3	0
43	26.5	22.5	i	G	4.6	0.1445136	0.8	0	0
44	25.2	21	i	T	6.8	0.4806648	0.8	1	0
45	21.5	17.5	i	T	1.2	0.0094248	0.1	0	0
46	23.6	17.4	i	T	1.2	0.0094248	0.2	0	0
47	25	16.5	i	G	0.3	0.0023562	0.1	0	0
48	26	17	i	G	2.7	0.0212058	0.3	0	0
49	32	24	i	G	7.3	0.5160078	1.9	2	0
50	34	23.5	i	T	6.5	0.459459	1.1	0	0
51	30	18.5	i	G	11.5	3.251556	1.7	3	0
52	31.5	17.2	i	G	9.5	0.298452	1.7	2	0
53	33.5	18.2	i	G	7	0.219912	1.5	2	0
54	30.5	14.4	i	G	5.5	0.691152	1.7	2	0
23b	18	16.2	c	G	8.2	1.61007	0.7	3	0

MAT3 Q2

Situation en 2000

N	left	right	sex	phase	long	dia frond	dia disk	Pleuro	Endo
1		3.5	28 i	T		11.5	1 2,9/1,4		1 0
2		6	27 i	T		8.5	0.4 0.8		0 0
3		6	26 i	T		9	0.6 0.9		1 0
4		5	21 i	T		4	0.3 0.9		0 0
5		5.6	20 i	T		3.5	0.2 0.4		0 0
6		6	22 i	T		8.2	0.9 3,1/1,2		0 1
7		7.7	19 i	T		10	0.6 1.4		0 1
8		10.5	16 i	G		10	1.3 5/1,7		2 0
9		15.5	13.5 i	G		10.5	0.9 2.2		2 0
10		19.5	12 i	G		7	0.5 1.2		1 1
11		19.4	11.8 i	G		2	0.1 0.3		1 0
12		21.5	14.5 i	G		8	0.9 1.5		2 2
13		23.5	12.5 i	G		1.6	0.1 0.4		0 2
14		24.5	12 i	G		4	0.1 0.4		1 0
15		24.8	12.7 J	G		0.5	0.1 0.4		0 0
16		24	13.7 i	T		14	0.4 0.5		0 0
18		24	16.5 t	T		22	0.6 1.2		1 2
19		26	17.8 J	T		1.4	0.1 0.3		0 0
21		28.4	15.5 i	T		11	0.6 0.7		0 3
22		28	18 i	T		8	0.2 0.6		0 0
23		26.5	17 J	T		0.5	0.1 0.1		0 0
25		29.2	21 i	T		16	0.4 1.3		1 0
26		29	21 i	T		6	0.2 0.9		0 0
27		29.5	20.5 i	T		2	0.1 0.5		0 0
29		33	25.5 J	G		2.4	0.1 0.3		1 0
30		33.5	24.2 i	G		6.7	0.3 0.6		1 1
31		35.3	24.3 i	T		7.7	0.3 0.5		0 0
33		34.2	22 i	T		11.5	0.6 1.1		2 0
34		32	17.2 i	T		2.5	0.2 0.6		0 2
35		33.2	18.3 J	T		1.6	0.1 0.3		0 0
36		31.5	16 i	T		8.5	0.3 1.3		0 0
38		23	9 i	G		9	0.9 3		0 3
39		23.5	2.5 i	G		9	0.7 4,5/2,6		1 0
41		27.5	8.4 i	T		3.7	0.3 0.9		0 0
42		10.2	21.3 J	T		0.5	0.1 0.1		0 0
44		14	22.3 i	G		4.5	0.3 0.4		0 0
45		16	21.5 i	G		16.5	1.1 3/1,9		1 2
46		18	17 i	G		13	1.3 5,9/3,3		1 2
47		20	21 i	G		8.5	0.7 1.2		1 0
49		22.1	23.1 J	T		0.5	0.1 0.2		0 0
50		21.5	25.5 i	T		9	0.6 0.9		0 0
51		21.3	26.5 i	T		3.5	0.2 0.5		0 1
52		21.5	28.4 i	T		9.5	0.5 0.7		1 0
53		20.2	27.4 i	G		1	0.2 0.3		0 0
54		17.5	3.7 i	G		8.2	0.4 1.1		0 0
55		17.5	26 i	G		12	1 2.1		1 0
56		14.3	26.5 i	G		7.5	0.3 0.4		1 2
57		13.7	27 i	G		5.5	0.2 0.8		0 0
58		9.5	28.5 i	G		7	0.9 3,4/1,7		2 0
59		13	29 J	G		3.5	0.1 0.3		1 0
60		13.2	29.5 i	G		3	0.2 0.8		1 0
61		16.7	13.2 i	G		6.5	0.2 0.8		1 0
63		21	32.5 i	T		2.5	0.3 0.7		0 0
64		22	32.5 i	T		9	0.9 2		1 2
66		24.5	26.4 J	T		2.2	0.7 0.2		0 0
67		21.5	28.5 i	T		9	0.5 0.7		1 0

ANNEXE 5

Taux de survie et d'infection des transplants

Taux de survie et d'infection des transplants

A = Mort ou atrophié sans avoir développé de frondes

B = Mort ou atrophié après croissance, sans jamais être infecté

C = Mort ou atrophié après infection

D = Transplants produisant des frondes >3cm, sans jamais être infectés

E = Transplants produisant des frondes >3cm et ayant été infectés

Distances (km)	Nombres					Total	Fréquences				
	A	B	C	D	E		A	B	C	D	E
-0.01	3	2	1	5	2						
-0.01	2	1	0	2	2						
TOTAL	5	3	1	7	4	20	0.250	0.150	0.050	0.350	0.200
0 (contrôles)	5	0	0	0	8						
0 (contrôles)	1	1	7	0	4						
0 (contrôles)	4	1	1	0	7						
TOTAL	10	2	8	0	19	39	0.256	0.051	0.205	0.000	0.487
0.01	4	0	4	0	6						
0.01	2	2	3	0	5						
0.01	3	5	2	1	4						
TOTAL	9	7	9	1	15	41	0.220	0.171	0.220	0.024	0.366
5-15	1	0	12	0	1						
5-16	5	0	1	0	6						
5-17	4	0	3	0	8						
TOTAL	10	0	16	0	15	41	0.244	0.000	0.390	0.000	0.366
45-60	3	2	1	0	8						
45-61	3	0	2	1	5						
45-62	7	2	1	0	6						
45-63	2	5	9	0	2						
TOTAL	15	9	13	1	21	59	0.254	0.153	0.220	0.017	0.356
900	5	2	0	3	5						
900	5	4	3	0	1						
900	1	2	5	1	5						
TOTAL	11	8	8	4	11	42	0.262	0.190	0.190	0.095	0.262

ARTICLE 1

S. Faugeron, M. Valero, C. Destombe, E. A. Martínez et J. A. Correa (2001)
Hierarchical spatial structure and discriminant analysis of genetic diversity in
the red alga *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta)
Journal of Phycology 37: 705-716

HIERARCHICAL SPATIAL STRUCTURE AND DISCRIMINANT ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY IN THE RED ALGA *MAZZAELLA LAMINARIOIDES* (GIGARTINALES, RHODOPHYTA)¹

Sylvain Faugeron

Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile and Laboratoire de Génétique et Evolution des Populations Végétales, UPRESA CNRS 8016, GDR 1002, Université de Lille I, Bât. SN2. F-59655 Villeneuve d'Ascq cedex, France

Myriam Valero,² Christophe Destombe

Laboratoire de Génétique et Evolution des Populations Végétales, UPRESA CNRS 8016, GDR 1002, Université de Lille I, Bât. SN2. F-59655 Villeneuve d'Ascq cedex, France

Enrique A. Martínez and Juan A. Correa

Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile

Our study of the genetic structure of *Mazzaella laminarioides* (Bory) Fredericq (Gigartinales) in the central Chilean region documented a high level of genetic diversity based on random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and indicated the occurrence of significant genetic structure at different spatial scales. A total of 288 haploid gametophytes was analyzed with 17 polymorphic RAPD bands, which produced 202 distinct multilocus genotypes. Within stands, mean gene diversity ranged from 0.210 to 0.249 and no significant linkage disequilibrium could be detected among pairs of alleles, revealing that recombination (sexual reproduction) regularly shuffles the genes at that scale. Analysis of molecular variance within stands (less than 30 m) showed that the structure was very low, only marginally significant, and did not increase with increasing hierarchical levels at this lowest spatial scale. In contrast, at a larger spatial scale (among stands, from 5 to 60 km), increasing geographical distance seemed to account for increasing isolation between populations even if natural barriers, such as sandy beaches or river estuaries, may play a role in such isolation. Moreover, the strong genetic differentiation occurring between locations separated by 60 km allowed the assignment of individuals to their original population through a canonical discriminant analysis. This approach further allowed the identification of potential recent migrants from one population to the other. Thus, in species like *M. laminarioides* for which the dominance of RAPD markers can be avoided by selecting haploid individuals, RAPD analysis appeared to be specially appropriate for the study of genetic differentiation.

Key index words: assignment test; seaweed dispersal; gene flow; *Mazzaella laminarioides*; population genetic structure; RAPD

Abbreviations: RAPD, random amplified polymorphic DNA; AMOVA, analysis of molecular variance

Population genetic structure is a critical feature of a species because of its potential effect on rates of evolutionary change. Population genetic theory predicts that even quite low rates of migration are “evolutionarily significant” in that they can (depending on the balance between selection and migration) prevent adaptation to local conditions and, ultimately, speciation (for review see Slatkin 1987). The habitat of most species of plants and animals is discontinuous, resulting in an aggregated distribution of individuals into local populations. If these local populations are sufficiently small and isolated, the effect of genetic drift may become the primary evolutionary force that will favor their genetic divergence.

Neutral molecular markers are very powerful in exploring the existence of genetic differentiation (Sunucks 2000). In marine organisms characterized by limited dispersal capabilities such as sessile invertebrates (Knowlton and Jackson 1993), reef fishes (Shulman 1998, Riginos and Nachman 2001), sea grasses (Procaccini and Mazzella 1998, Ruckelshaus 1998), and seaweeds (for review see Sosa and Lindstrom 1999), significant genetic differentiation at various spatial scales has been reported. Bohonak (1999) pointed out that in marine species, the apparent continuity of dispersal (through a pelagic phase) can be limited by physical, chemical, and biological barriers, thus limiting gene flow among populations. For example, Riginos and Nachman (2001) showed that sandy beaches or open water masses could interrupt the gene flow usually occurring over a continuous suitable habitat (the rocky shore). Furthermore, recent studies on the pattern of genetic substructure occurring over very small scales (<10 m) in several marine coastal organisms, including invertebrates (Yund and O’Neil 2000), sea grasses (Ruckelshaus 1998), and seaweeds (Williams and DiFiori 1996, Wright et al.

¹Received 16 April 2001. Accepted 3 July 2001.

²Author for correspondence: e-mail myriam.valero@univ-lille1.fr.

2000, Zuccarello et al. 2001), revealed that populations are often subdivided into different breeding units (but see McFadden and Aydin 1996). The spatial scales over which a population differs genetically are readily accessible using a hierarchical sampling design. On a local scale, the life span of spores and gametes after being released determines the dispersal range (movement of genes within populations) of benthic seaweeds. At the scale of a few meters, significant clusters of related genotypes occurred within distances of 2–3 m in the hermaphroditic fuclean *Silvetia compressa* (as *Pelvetia fastigiata*, Williams and DiFiori 1996) for which limited dispersal of zygotes was suggested by Johnson and Brawley (1998). On the other hand, spatial autocorrelation analyses did not reveal any significant structure in the fuclean *Halidrys dioica*, a species characterized by floating (detached) reproductive fronds (Lu and Williams 1994). For many Rhodophyta, dispersal of spores and spermatia is likely to be limited due to their short life span, absence of flagella, and high sinking rates (Santelices 1990). Recently, movement of male gametes was traced within a natural population of *Gracilaria gracilis* using microsatellite loci, revealing a large excess of matings at short distances (less than 1 m from the paternal thallus, Engel et al. 1999). On a larger scale, mechanisms for long distance dispersal, such as floating fronds or thallus fragmentation, in addition to spore and gamete dispersal can occasionally reinforce gene flow between populations (Lu and Williams 1994).

Mazzaella laminarioides (Bory) Fredericq (Gigartinales) is an ecologically and economically important species in central and southern Chile. Restricted to rocky beaches, it forms extended stands in the mid and low intertidal zones (Santelices 1991). Despite its importance, there is no information on the dynamics of *M. laminarioides* populations or on how much they are interconnected through gene flow. Some biological characteristics may suggest that dispersal ability in *M. laminarioides* is limited. First, Hoffmann and Camus (1989) demonstrated that spores generally settle rapidly after release. Second, dispersal by thallus fragments has never been reported in this species. Due to the lack of floating structures, broken thalli sink and decompose rapidly and are thus unlikely to disperse over long distances. These elements raise the question of the potential effect of limited spore dispersal on the genetic diversity of wild stands of this species. Stands of *M. laminarioides* form long stretches of up to several kilometers that are spatially separated by long sandy beaches and estuaries along the Chilean coast. Within stands, distribution of *M. laminarioides* individuals is continuous, except for small and irregular interruptions due to the topography of the substratum, inherent to rocky intertidal shores. Taking into account that there is no precise estimate of the effective dispersal distances of male gametes and spores, it is difficult to make any prediction on the pattern of distribution of the genetic diversity within a stand. However, several field studies revealed a patchy occurrence of

individuals infected by the cyanobacterium *Pleurocapsa* sp. This pathogen causes the development of tumors and severe frond deformation (Correa et al. 1993) and decreases the reproductive potential of the host (Faugeron et al. 2000). The full expression of the disease occurs in discrete areas, sharply delimited from the remaining healthy stand, where most of the host individuals are severely diseased (Correa and Sánchez 1996, Correa et al. 1997). This aggregated distribution of infected individuals either indicates that the abiotic environment is sufficiently heterogeneous at small spatial scales to permit a patchy pattern of disease expression or that the biotic environment of *Pleurocapsa* sp. (i.e. the host population) is heterogeneous at scales of a few meters. In this latter context, significant spatial substructuring within stands of the *M. laminarioides* would be expected.

Although allozymes have been successfully used to examine genetic structure for many organisms, they are generally not ideal tools in seaweeds because of the low number of loci available and their low level of polymorphism (Sosa and Lindstrom 1999, Valero et al. 2001). In this context, a diverse array of molecular tools has been developed in several algal species for high-resolution population-level genetic studies, including microsatellites in the red seaweed *Gracilaria gracilis* (Luo et al. 1999) and in the kelp *Laminaria digitata* (Billot et al. 1998), amplified fragment length polymorphisms in the kelp *Alaria marginata* (Kusumo and Druel 2000), and random amplified polymorphic DNA (RAPD) in several red algal species (Wright et al. 2000, Meneses 2001) and several kelp species (Coyer et al. 1997, Miller et al. 2000). RAPDs (Welsh and McClelland 1990, Williams et al. 1990) are widely used in determination of population genetic structure because they are not technically demanding. This method simultaneously amplifies many regions of genomic DNA and therefore provides virtually unlimited number of loci. Furthermore, this attribute avoids the potential problem of sampling loci that, having a common evolutionary history, could produce different polymorphism patterns (Sunnucks 2000).

In the present study, we examine the patterns of genetic structure in the red alga *M. laminarioides* at five spatial scales (from less than 5 m to 60 km). We used 17 RAPD loci, detected by four random primers, to analyze the pattern of genetic structure among and within four natural stands of *M. laminarioides*.

MATERIALS AND METHODS

Study species. Individuals of *M. laminarioides* produce deciduous laminar fronds from a perennial holdfast attached to the substratum. This species is characterized by a typical *Polysiphonia*-type life cycle, with coexisting and isomorphic tetrasporophytes (diploid) and gametophytes (haploid).

Sampling design. To assess the pattern of genetic structure occurring within and among natural beds of *M. laminarioides*, a hierarchical sampling design was implemented. Five spatial levels were considered: 1) locations separated by 60 km, 2) stands separated by 5 km, 3) plots separated by 25 to 30 m, 4) quadrats sampled 5 m apart, and 5) individuals within 1-m² quadrats (Fig. 1). Two locations were included in the study: Santo Do-

mingo (STDO; 33°37'S, 71°40'W) and Topocalma (TOPO; 34°05'S, 71°58'W), both located in central Chile (Fig. 1). Within Topocalma, three stands separated by sandy beaches of about 5 km were studied (TOPO South, TOPO Middle, and TOPO North, Fig. 1). Within each stand, four quadrats (A, B, C, D) grouped into two plots (A, B vs. C, D) were sampled. Thus, 12 quadrats in all were defined within the Topocalma location. The same design, with only one stand, was repeated within Santo Domingo (Fig. 1). Within each location, one of the sampled quadrats (i.e. TOPO Middle-A and STDO-A) was located in a patch of plants severely infected by *Pleurocapsa* sp. Approximately 40 juvenile and healthy fronds of *M. laminarioides* were collected in each of the 16 quadrats. Only one frond, and thus only one single genotype, was collected from each individual holdfast. To avoid sampling fronds of the same holdfast, fronds were collected at least 10 cm apart from each other. All collected fronds were stored in plastic bags, kept refrigerated (4–8°C), and taken to the laboratory where haploid gametophytes were sorted using the resorcinol test (Craigie and Leigh 1978). Only gametophytic individuals were genotyped (see below), and consequently the resulting sample size was between 15 and 22 individuals per quadrats. The selected haploid fronds were carefully washed in fresh water, sonicated, brushed, and rinsed in distilled water. Areas of the fronds with signs of infection, necrosis, abnormal pigmentation, or presenting any evidence of potential contamination by other organisms (checked under stereoscopic microscope when necessary) were removed, and the resulting clean fragments were air dried overnight at 40°C and kept frozen at –20°C until DNA extraction.

DNA extraction. DNA was extracted from tissue finely ground in liquid nitrogen, following a protocol slightly modified from that described by Saunders (1993). Approximately 10–20 mg of dry tissue was incubated at room temperature for 1 h in 800 µL of lysis buffer (0.1 M Tris base, pH 8.0, 0.05 M EDTA, 0.2 M NaCl, 2.5 M KAc) plus 100 µL of Tween 20 (10%) and 8 µL of proteinase K (20 mg·mL⁻¹). Purification of the DNA solution consisted of adding 700 µL of phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1) directly to the lysis buffer and homogenizing by inversion during at least 3 min before centrifugation for 20 min at 22,000g and –5°C. The aqueous phase was extracted a second time by one volume chloroform:isoamyl alcohol (24:1) and centrifuged for 3 min. DNA was precipitated by 0.6 volume of iso-propanol and pelleted by 15 min centrifugation at –5°C and 15,000g. The pellet was washed with 70% ethanol, vacuum dried, and resuspended in 200 µL of TE buffer (Tris HCl 10 mM, EDTA 2 mM, pH 8.0). DNA quality and quantity were estimated by electrophoresis in agar gel and UV absorption, respec-

tively, using a SmartSpec spectrophotometer (Bio-Rad, Hercules, CA) at 260 and 280 nm.

PCR amplification. PCRs were performed in a Perkin Elmer GenAmp 9700 Thermocycler, using 2–3 ng of template DNA, in a 25 µL mix containing 1 unit of GIBCO Brl Taq polymerase, 2 µL of 10 Buffer, 2.2 µL MgCl₂ (50 mM), 30 pmol of primer (Genset Oligos, San Diego, CA), and 1.6 µL dNTP mix (Gibco BRL, Rockville, MD) (at 2.5 mM each). Primers were selected from a set of 44 primers according to their polymorphism and reproducible banding patterns tested on subsamples of a few individuals coming from two localities separated by 1000 km. Four primers were retained for the present study: A2 (5'-TGC CGAGCTG-3'), X7 (5'-GAGCGAGGCT-3'), X12 (5'-TCGCCAG CCA-3'), and X17 (5'-GACACGGAAC-3'). Amplified DNA fragments were separated by electrophoresis on a 1.5% TAE agarose gel stained with EtBr. Reproducibility was maximized by strictly following the recommendations summarized by Harris (1999). To ensure homology in band size among samples from distinct locations, PCR and electrophoresis gel were always run with a mixture of samples from various geographical origins. Bands were scored manually from printed pictures. Only products of a limited size range (300–2500 base pairs and including monomorphic bands) were scored so that the quality of RAPD amplification could be ascertained. Only bands of high intensity characterized by a clear-cut pattern of presence/absence were retained for the analysis, and samples that did not present reproducible banding patterns were systematically discarded from the analysis. Each PCR included a negative control made of the same sterile deionized water used to dilute DNA samples. To ensure that the detected genetic variability was entirely attributable to differences between *M. laminarioides* individuals and not to the endophyte *Pleurocapsa*, individuals collected in infected and noninfected quadrats were compared.

Only haploid individuals were used to facilitate analysis: each polymorphic band was considered as a locus with two alleles ("present" and "absent"), and the allelic frequencies could be directly determined without any correction for dominance. Because *M. laminarioides* is a coalescing species (Santelices et al. 1999), the possibility exists that chimeric fronds might develop, as described for *Gracilaria chilensis* (Santelices et al. 1996). Such organisms would carry two or more different genotypes (Santelices et al. 1999), unlikely detectable by a dominant marker such as RAPD. In *M. laminarioides*, however, all the experimental evidence accumulated so far indicates that each original cellular lineage in coalescing individuals retain, at least for the first emerging axes, the ability to generate its own meristem. Therefore, in our study, each sampled frond was considered to

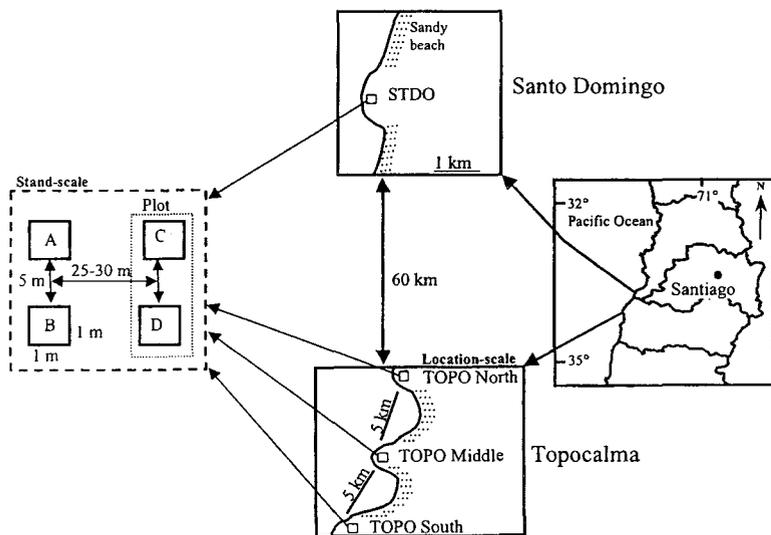


FIG. 1. Hierarchical sampling design used for collecting *Mazzaella laminarioides* individuals on the coast of central Chile.

be the expression of a single haploid genotype. Three types of data analyses were performed. The first considered each locus separately and used classical gene frequencies (monolocus data analysis). The second analysis treated the individual banding profile as a multilocus genotype and used genotype frequencies (multilocus data analysis). Finally, the data were also analyzed using a multivariate approach (linear discriminant analysis).

Monolocus data analysis. For each quadrat and stand, allele frequency and gene diversity (measured as the expected heterozygosity H averaged over loci [Nei 1978]) were calculated using the GENETIX package version 4.0 (Belkir et al. 1996). For each RAPD band, the gene diversity averaged over the four stands was estimated using the FSTAT version 2.9 program (Goudet 1999).

To test whether the different bands were randomly associated or linked within banding profiles, gametic linkage disequilibria (Lewontin and Kojima 1960) between RAPD loci were estimated using the software ARLEQUIN (Schneider et al. 2000). These disequilibria may be due to physical linkage on a chromosome, to a lack of recombination caused by clonal propagation (selfing), or to differences in allele frequency among populations (spatial genetic structure). Physical linkage implies that the same allele pairs will be systematically observed over all spatial scales, whereas in the two other cases, linkage disequilibria do not generally imply the same allele pairs. Finally, if due to spatial structure, linkage disequilibria should vary with the spatial scales. For each pair of loci and each of the four *M. laminarioides* stands and in the overall sample, linkage disequilibria were tested by Fisher exact tests. Because multiple tests were conducted, a Bonferroni sequential procedure was used to correct significance levels (Rice 1989).

Because the sampling was hierarchical, gene frequencies were analyzed using a nested analysis of variance (AMOVA, analysis of molecular variance, Excoffier et al. 1992). AMOVA estimates the components of variance of allele frequencies and Φ -statistics analogues of F statistics (see Excoffier et al. 1992). Considering a group consisting of several units subdivided into different subunits, the principle of AMOVA is to partition the total genetic variation observed among subunits into an among-units component and an among-subunits-within-units component. The classical measure of genetic differentiation among all subunits F_{ST} (or its analogue Φ_{ST}) is partitioned into Φ_{CT} (a measure of genetic differentiation among units) and Φ_{SC} (among subunits within units). Five separate analyses were conducted. First, variation at the scale of stand (hereafter stand-scale analysis) was examined by determining the variance component attributable to among-plots and to among-quadrats within plots. This analysis was performed separately within each of the four stands containing two plots and four quadrats. Second, variation at the scale of location (hereafter location-scale analysis) was examined by determining the variance component attributable to between-stands and to between-quadrats within stands. The location-scale analysis was only conducted within the Topocalma location, which included three different stands. The significance of the Φ statistics was tested using 100,000 permutations (permuting individuals among subunits among units for Φ_{ST} , permuting individuals among subunits within units for Φ_{SC} , and permuting subunits among units for Φ_{CT}). Finally, the differentiation between the two study locations was assessed by averaging the three F_{ST} values calculated between Santo Domingo and each of the three stands of Topocalma (multilocus F_{ST} estimated with FSTAT).

Multilocus data analysis. Examining multilocus genotype diversity can assess the importance of recombination. In a species reproducing exclusively asexually, genotype diversity is the result of the combined effects of mutation and migration, whereas in an outcrossing species recombination is the principal source of diversity. The number and frequency of shared versus different multilocus genotypes were then estimated at each spatial scale using ARLEQUIN (Schneider et al. 2000).

Discriminant analysis. To test the power of the RAPD loci to discriminate among stands or locations, a linear discriminant analysis was performed with the software STATISTICA (Stat-

Soft, 1995) using each locus as a predictor variable (with two states: presence or absence of the fragment) and stands as the group classification variable. The group of origin (i.e. stands) can be predicted for each individual by a set of discriminating functions (the maximum number of discriminating functions corresponding to $n - 1$ groups). In the case of high discrimination (i.e. high genetic differentiation among stands), this method allows identification of putative migration events (i.e. misclassified individuals). This analysis tests the genetic differences among groups and the contribution of each locus to these differences. The contribution of each locus is evaluated by the absolute magnitude of standardized discriminant coefficients.

RESULTS

Interpretation of the banding patterns and pairwise linkage disequilibrium. Using four primers, 21 perfectly reproducible bands were scored, of which 17 were polymorphic over the 288 *M. laminarioides* individuals retained for analysis. Loci were identified by indicating first the name of the primer and then the size of the RAPD fragment (in base pairs). The number of individuals analyzed per quadrat ranged from 15 to 22.

Within stands, none of the pairwise tests of linkage disequilibria were significant after Bonferroni's correction for multiple comparisons (Table 1), suggesting that recombination regularly shuffles the alleles at different loci at this scale. This result indicates no physical linkage between any pair of loci and that each band can thus be considered as an independent locus. On the other hand, linkage disequilibria varied with the spatial scale. When tests were performed on the complete data set regrouping the two localities, ca. 20% of pairwise comparisons showed nonrandom association of alleles (Table 1). After Bonferroni's correction, five pairs of loci (i.e. 4%) still showed highly significant linkage disequilibria (Table 1), suggesting that genetic variability was structured between locations.

Genetic diversity. The comparison of allele frequencies between infected and noninfected quadrats (STDO-A vs. STDO-NI and TOPO Middle vs. TOPO Middle-NI, Table 2) showed that none of the scored bands were correlated to the occurrence of the cyanobacterium. Thus, the RAPD banding patterns were entirely attributable to the *M. laminarioides* genome, and all the analyzed loci could be considered as neutral. The level of polymorphism was highly variable among loci (Table 2). The mean gene diversity (H averaged over stands, Table 2) ranged from 0.03 for locus X12-1100 (the same allele was nearly fixed in all the study sites) to

TABLE 1. Percentage of pairwise comparisons showing significant linkage disequilibrium (Fisher exact test) within each stand of *Mazzaella laminarioides* and within the overall sample.

Sites	Number of comparisons	% significant ($P < 0.05$)	% significant after Bonferroni correction
Santo Domingo	78	12.8	0
Topocalma-North	105	0	0
Topocalma-Midle	105	3.8	0
Topocalma-South	105	0.9	0
Overall sample	120	19.2	4.2

TABLE 2. Gene frequency and gene diversity (H , unbiased genetic diversity, Nei 1978) for each of the 17 RAPD loci.

Loci	Infected vs. noninfected				Stands				H averaged over stands
	Santo Domingo		Topocalma Middle		STDO	TOPO-North	TOPO-Middle	TOPO-South	
	Infected ($n = 16$)	Noninfected ^a ($n = 16^b$)	Infected ($n = 17$)	Noninfected ^a ($n = 19^b$)					
X7-1360	0.000	0.000	0.412	0.204	0.000	0.209	0.250	0.161	0.247
X7-1310	1.000	1.000	1.000	0.965	1.000	0.910	0.974	0.988	0.061
X7-1110	1.000	1.000	0.824	0.832	1.000	0.896	0.829	0.914	0.159
X7-570	0.563	0.667	0.000	0.000	0.641	0.015	0.000	0.037	0.142
X12-1250	0.938	0.917	1.000	0.949	0.922	0.985	0.961	0.951	0.087
X12-1100	1.000	0.917	1.000	1.000	0.938	1.000	1.000	1.000	0.030
X12-820	1.000	0.896	1.000	0.983	0.922	0.985	0.987	1.000	0.051
X12-290	0.000	0.000	0.412	0.139	0.000	0.209	0.197	0.469	0.290
X17-2025	0.438	0.229	0.647	0.509	0.281	0.119	0.595	0.247	0.376
X17-1750	1.000	0.792	0.471	0.338	0.844	0.687	0.368	0.531	0.420
X17-1400	0.188	0.583	0.471	0.678	0.484	0.358	0.632	0.284	0.464
X17-1155	0.625	0.438	0.882	0.949	0.484	1.000	0.934	0.975	0.170
X17-1125	0.625	0.646	0.471	0.457	0.641	0.746	0.461	0.556	0.464
X17-700	0.938	0.917	0.882	0.797	0.922	0.582	0.816	0.543	0.362
A2-1025	0.125	0.083	0.176	0.033	0.094	0.075	0.066	0.037	0.127
A2-900	0.938	0.917	0.353	0.422	0.922	0.224	0.408	0.407	0.370
A2-740	1.000	0.938	0.882	0.949	0.953	0.970	0.934	0.901	0.114
H averaged over loci	0.170	0.210	0.278	0.229	0.210	0.214	0.249	0.246	

The frequency of "present" allele is given. Observed gene frequencies within the quadrats localized in the infected and adjacent noninfected zones, and within each stand are shown.

^a Gene frequency averaged over the three noninfected quadrats adjacent to the infected one in each stand.

^b Mean number of individuals over the three noninfected quadrats.

0.464 for X17-1400 and X17-1125 (i.e. almost the maximum value, $H = 0.5$, for a locus with two alleles). On the contrary, H was very similar from one stand to the other ranging from 0.210 to 0.249 (Table 2). Whatever the stand, 4 of the 17 loci (X7-1310, X12-1250, X12-1100, and X12-820) consistently showed a very low level of polymorphism ($H < 0.1$, Table 2).

Marked differences in allele frequencies were observed between the two locations separated by 60 km (locus X7-1360, X7-1110, X12-290, X17-1155, and A2-900, Table 2) and even among stands within location (among the three Topocalma stands, see loci X17-2025, X17-1750, X17-1400, X17-1125, and X17-700, Table 2).

Hierarchical spatial structure. The stand-scale AMOVAs revealed that more than 95% of the genetic variance was found within quadrats (Table 3A). The two spatial units (quadrats and plots) accounted for very little (less than 5%) of the total genetic variance observed within each of the four stands of *M. laminarioides* (Table 3A). At this scale, the two variance components, among-plots and among-quadrats within plots, and their associated fixation indices (Φ_{CT} and Φ_{SC} respectively, Table 3B) were not significant except for Φ_{SC} within Topocalma South (Table 3B). Nevertheless, within three of the four stands, genetic differentiation among quadrats ranged from significant ($\Phi_{ST} = 0.05$, $P < 0.01$, in Topocalma South, Table 3B) to only marginally significant (Φ_{ST} varied from 0.02 to 0.04, $P \approx 0.05$ in Santo Domingo and Topocalma Middle, Table 3B). At this scale, differentiation did not increase with increasing spatial unit.

At the location scale, the hierarchical units (stands, quadrats) explained a significant proportion of the to-

tal genetic variance and accounted for twice the variation (9%) of the stand-scale analysis (Table 3A). Global genetic differentiation among quadrats was highly significant ($\Phi_{ST} = 0.09$, $P < 10^{-5}$, Table 3B). In addition, the two variance components, among-quadrats within stands and among stands, and their related fixation indices ($\Phi_{SC} = 0.025$ and $\Phi_{CT} = 0.07$, respectively, Table 3B) were significant. Consequently, the magnitude of the genetic differentiation measured among stands separated by 5 to 10 km is at least 2.5 times higher than that among quadrats separated by 30 m or less.

Finally, the highest F_{ST} values were observed at the largest spatial scale. The three F_{ST} calculated between Santo Domingo and each of Topocalma stand varied between 0.250 and 0.279, indicating that genetic differentiation between the two locations was 10 times higher than among quadrats within stands and highly significant ($P < 0.0001$ after 15,000 randomizations of genotypes among samples).

Multilocus genotype diversity. A total of 202 different genotypes was obtained from the 288 analyzed individuals. The distribution of the number of individuals per genotype showed that 153 individuals had a unique multilocus genotype, whereas up to 7 individuals shared a same genotype (Fig. 2). The detailed analysis (Table 4) showed that genotype diversity reached its maximum value within quadrats; thus, at the lowest hierarchical level, the number of multilocus genotypes is often very close to the number of individuals analyzed. Out of the 64–81 individuals per stand, 42–67 multilocus genotypes were recorded, indicating that only 8–11 (5%–11%) genotypes were shared

TABLE 3. Hierarchical analysis of variance of allele frequencies (AMOVA) in *Mazzaella laminarioides* at different spatial scales. (A) Variance components and percentage of variation (df, degrees of freedom; SS, sum of squares).

Source of variation	df	SS	Variance components	% total variation
Stand-scale analysis				
Santo Domingo				
Among plots within stand	1	4.02	0.065	4
Among quadrats within plots	2	3.84	0.010	0
Within quadrats	60	105.44	1.757	96
Topocalma North				
Among plots within stand	1	1.94	0.008	0
Among quadrats within plots	2	3.32	0	0
Within quadrats	63	115.64	1.835	100
Topocalma Middle				
Among plots within stand	1	2.97	0	0
Among quadrats within plots	2	6.13	0.513	2
Within quadrats	72	150.70	2.093	98
Topocalma South				
Among plots within stand	1	4.28	0.010	1
Among quadrats within plots	2	7.76	0.091	4
Within quadrats	77	156.54	2.033	95
Location scale analysis				
Topocalma				
Among stands	2	28.5	0.152	7
Among quadrats within stands	9	26.4	0.050	2
Within quadrats	212	422.9	1.995	91

(B) Fixation indices.

	Fixation indices	P value
Stand-scale analysis		
Santo Domingo		
Among quadrats within stand (Φ_{ST})	0.041	0.055
Among quadrats within plots (Φ_{SC})	0.006	0.362
Among plots within stand (Φ_{CT})	0.036	0.332
Topocalma North		
Among quadrats within stand (Φ_{ST})	-0.001	0.534
Among quadrats within plots (Φ_{SC})	-0.006	0.584
Among plots within stand (Φ_{CT})	0.005	0.333
Topocalma Middle		
Among quadrats within stand (Φ_{ST})	0.023	0.054
Among quadrats within plots (Φ_{SC})	0.024	0.090
Among plots within stand (Φ_{CT})	-0.001	0.666
Topocalma South		
Among quadrats within stand (Φ_{ST})	0.047	<0.01
Among quadrats within plots (Φ_{SC})	0.043	<0.01
Among plots within stand (Φ_{CT})	0.005	0.334
Location-scale analysis		
Topocalma		
Among quadrats within location (Φ_{ST})	0.092	<10 ⁻⁵
Among quadrats within stands (Φ_{SC})	0.025	<0.01
Among stands within location (Φ_{CT})	0.069	<0.001

among quadrats (Table 4A), whereas 15% of the genotypes were shared among stands in Topocalma. Only two multilocus genotypes were shared between the two locations, Santo Domingo and Topocalma (Table 4B).

Discriminant analysis. All three discriminant functions were highly significant (Table 5A). The first function explained 85% of the variability (Table 5A) and clearly discriminated between Santo Domingo and Topocalma locations (Fig. 3). From the relative magnitude of the discriminant function coefficients, we can determine how the independent variables (loci) were used to discriminate among the groups (Table 5A). The three loci, X7-1360, X7-570, and X17-1155, showed the highest coefficients of the first discriminant function, indicating that they were the most efficient loci for differentiating the two locations. The second function explained

ca. 10% of the variance, where loci X17-2025 and X17-1750 were the most discriminating variables. Finally, the third function explained less than 5% of the variance, and loci X12-290 and X17-1125 were found to be the most discriminating variables. The predictions of the model were robust when comparing locations separated by 60 km, as only nine individuals from Santo Domingo were displayed in the Topocalma group and only one individual from Topocalma was misclassified in the Santo Domingo group (Table 5B). In total, 69% of the individuals were correctly classified in their original stand (Table 5B).

DISCUSSION

This study documents the level and distribution of RAPD loci variability within and among natural stands of the red alga *M. laminarioides*. Our results revealed

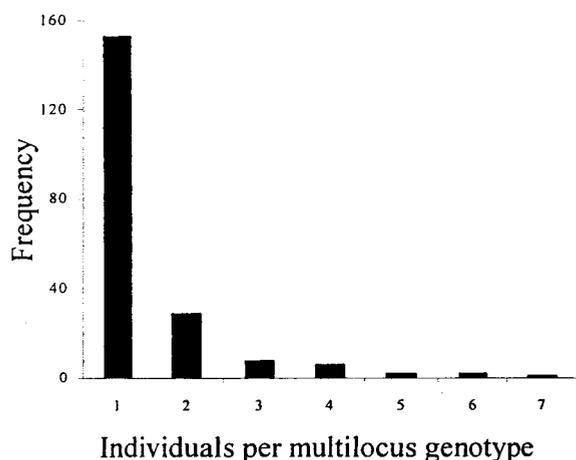


FIG. 2. Frequency distribution of unique (one individual) and shared (two to seven individuals) RAPD-multilocus genotypes within the whole set of analyzed *Mazzaella laminarioides* individuals ($n = 288$).

1) a high level of multilocus genotype, 2) a pattern of genetic structure that varied with the spatial scales, and 3) a strong genetic differentiation between locations that allowed the assignment of individuals to

their original location through a canonical discriminant analysis.

Genetic diversity. In the present study, a high level of gene diversity was detected, as our results fit with the top range of H values reported for sexually reproducing red seaweed species (Pearson and Murray 1997, Sosa and Lindstrom 1999). However, direct comparison with available information on genetic diversity must be cautious, because most of the previously published data comes mainly from allozymes, which are generally less polymorphic than RAPD markers. Compared with land plants, the values of H observed within stands of marine algae in this study (from 0.21 to 0.25) are comparable or lower than those estimated with RAPD markers in obligate outcrossing species (H ranged from 0.22 to 0.29 for *Asimina triloba* [Huang et al. 2000] and from 0.34 to 0.48 for *Pinus cotorta* [Thomas et al. 1999]) but always higher than the values estimated in selfing or highly inbred land plant species (H ranged from 0.16 to 0.19 in the highly selfing *Hordeum spontaneum* [Owuor et al. 1997] and from 0.11 to 0.25 for inbred populations of the orchid *Goodyera procera* [Wong and Sun 1999]). Our results are thus consistent with the biological characteristics of the study species. Indeed, *M. laminarioides* is a dioecious, and thus obligatory outcross-

TABLE 4. Multilocus genotype diversity analysis.

(A) Number of distinct RAPD multilocus genotypes at each spatial scale.

	Sample size	Number of different RAPD genotypes (%)
Santo Domingo		
Quadrat A	16	13 (81.3%)
Quadrat B	16	16 (100%)
Quadrat C	16	12 (75.0%)
Quadrat D	16	15 (93.8%)
Total Santo Domingo	64	42 (65.6%)
Topocalma North		
Quadrat A	17	16 (94.1%)
Quadrat B	15	14 (93.3%)
Quadrat C	15	14 (93.3%)
Quadrat D	20	18 (90.0%)
Total Topocalma North	67	54 (80.6%)
Topocalma Middle		
Quadrat A	17	16 (94.1%)
Quadrat B	19	19 (100%)
Quadrat C	20	20 (100%)
Quadrat D	20	19 (95.0%)
Total Topocalma Middle	76	65 (85.5%)
Topocalma South		
Quadrat A	20	18 (90.0%)
Quadrat B	22	20 (90.9%)
Quadrat C	19	19 (100%)
Quadrat D	20	19 (95.0%)
Total Topocalma South	81	67 (82.7%)
Total Topocalma	224	162 (72.3%)
Overall samples	288	202 (70.1%)

(B) Number (and percentage) of shared multilocus genotypes among quadrats within each stand and between pairs of stands.

Stands	Santo Domingo	Topocalma North	Topocalma Middle	Topocalma South
Santo Domingo	11 (26.2%)			
Topocalma North	1 (1.1%) ^a	8 (14.8%)		
Topocalma Middle	2 (1.9%) ^a	5 (5.0%)	10 (15.4%)	
Topocalma South	1 (0.9%) ^a	12 (11.4%)	8 (6.5%)	10 (14.5%)

^a Only two distinct multilocus genotypes were shared between Santo Domingo and Topocalma.

TABLE 5. Linear discriminant analysis within stands of *Mazzaella laminarioides* using the 17 RAPD locus as predictor variables and stands as the group classification variable.

(A) Percentage of variation explained by the three discriminant functions and the relative contribution of each variable (locus).

Variables	Correlation with the discriminant functions (standardized coefficients)			P level (over the three functions)
	First function	Second function	Third function	
X7-1360	0.817	-0.189	0.142	0.209
X7-1310	0.022	-0.253	-0.308	0.056
X7-1110	-0.118	0.209	-0.097	0.126
X7-570	-0.774	0.155	-0.144	<10 ⁻⁶
X12-1250	0.171	0.201	0.059	0.067
X12-1100	0.203	-0.145	0.046	0.100
X12-820	0.074	-0.081	-0.181	0.589
X12-290	0.230	0.100	-0.596	<10 ⁻⁴
X17-2025	-0.145	-0.552	-0.116	<10 ⁻⁴
X17-1750	-0.370	0.378	0.197	<10 ⁻⁶
X17-1400	-0.091	-0.403	0.236	0.002
X17-1155	0.584	0.106	-0.031	<10 ⁻⁶
X17-1125	0.143	0.295	0.286	0.004
X17-700	-0.267	-0.401	0.256	<10 ⁻⁵
A2-1025	-0.102	0.051	0.133	0.408
A2-900	-0.384	-0.179	-0.330	<10 ⁻⁶
A2-740	-0.085	-0.022	0.212	0.388
Eigenvalues	3.217	0.400	0.163	
Relative percentage	85.12	10.58	4.30	
R Canonical correlation	0.873	0.534	0.374	
Wilk's lambda	0.146	0.615	0.860	
P level	<10 ⁻⁶	<10 ⁻⁶	<10 ⁻³	

(B) Percentage of correctly classified individuals for each stand.

Predicted group	STDO	TOPO-North	TOPO-Middle	TOPO-South	Total observed	% Correctly classified
Observed group						
STDO	55	6	1	2	64	85, 94
TOPO-North	0	55	14	7	67	72, 37
TOPO-Middle	1	15	49	16	76	60, 49
TOPO-South	0	8	18	41	81	61, 19
Total predicted	56	84	82	66	288	69, 44

ing species in which apomixis has never been reported. Furthermore, fragments of *M. laminarioides* fronds tend to rapidly sink and decay, precluding the possibility of regeneration and reattachment to the substratum as has been observed for other red algae, like *Gelidium sesquipedale* (Juanes and Puente 1993) or *Lithotrix aspergillum* (Tyrell and Johansen 1995).

The number of different RAPD genotypes (202 for the 288 individuals, corresponding to 70% of distinct genotypes) observed within the overall samples is very high in comparison with other studies using multilocus DNA markers for detecting genotypic variation in clonal (or highly selfing) species. For example, only 81 RAPD phenotypes among 149 sampled individuals (54%) were reported in the red apomictic seaweed *Delisea pulchra*, in which up to 36 individuals shared the same multilocus genotype (Wright et al. 2000). In the clonal gorgonian coral *Plexaura kuna*, the percentage of distinct M13 DNA fingerprints averaged 50% over the different study reefs (Coffroth and Lasker 1998), whereas in the selfing plant species *Medicago trunculata*, only 62 distinct RAPD genotypes were observed over the 187 plants studied (33%, Bonnin et al. 1996). Furthermore, the percentage of distinct genotypes was quite similar from one stand to another in the cur-

rent study (66% to 86%, Table 4), whereas in clonal and highly selfing species, this percentage is generally very variable from one population to another, ranging from 40% to 75% in *D. pulchra* (Wright et al. 2000), from 3% to 100% in *P. kuna* (Coffroth and Lasker 1998), or from 15% to 52% in *M. trunculata* (Bonnin et al. 1996). The genetic composition in clonal and highly selfing species is mainly determined by the number of migrants, whereas in an outcrossing species, in addition to the stochastic migration events, distinct genotypes are regularly produced by recombination.

Finally, additional support for repeated occurrence of recombination within *M. laminarioides* stands resides in the absence of significant linkage disequilibrium among RAPD loci. In a clonal or a highly selfing species, the lack of meiotic recombination among loci generates linkage disequilibria by fixing associations of alleles at different loci. In *M. trunculata*, the presence of significant linkage disequilibrium among RAPD loci was strongly associated to high levels of selfing (Bonnin et al. 1996). In conclusion, the pattern of genetic diversity shows clearly that *M. laminarioides* is essentially a sexually reproducing species.

Within-stand genetic structure (less than 30 m). In the present study, the AMOVA among quadrats (separated

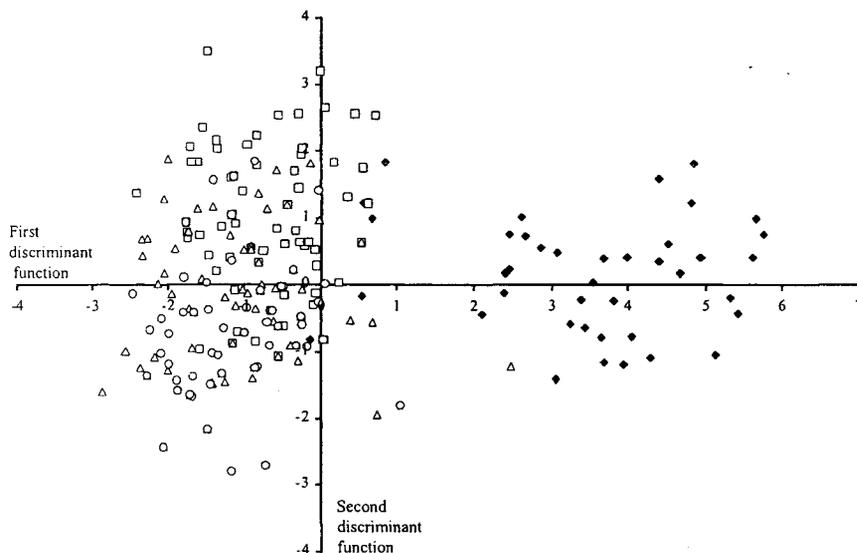


FIG. 3. Location of individuals on the two first discriminant functions ($n = 288$). Solid symbols refer to the Santo Domingo location and open symbols to the Topocalma location; within Topocalma, circles refer to Topocalma-North stand, squares to Topocalma-Middle stand, and triangles to Topocalma-South stand.

by 5 to 30 m within stands) revealed a weak and only marginally significant genetic structure. Such substructure was neither attributable to differentiation between quadrats within plots nor between plots within stands, indicating that genetic distances among individuals were not related to geographical distances at this spatial scale. In this context, it might be possible that our within-stand sampling did not include the pertinent geographical distances. For example, if dispersal is higher than 30 m, the covered area was too small to detect any kind of isolation by distance. This can be easily corrected by adding intermediate spatial scales ranging from 30 m to 5 km in the sampling design. Alternatively, factors other than strict geographical distances influence the genetic structure at the smallest scales. Even if dispersal abilities of spores and gametes actually reach at least 30 m, gamete encounters or spore settlement could be affected by a complex combination of local processes such as tidal water currents or heterogeneous habitat availability. It is in fact very difficult to get a good estimate of actual dispersal distances. For example, Ruckelshaus (1998) suggested that tidal currents could account for most of the discrepancies between genetic and geographical distances reported in many sessile marine organisms. In higher plants, the movements of pollinators or seed dispersing agents, rather than direct estimates of geographical distances, was shown to modulate the genetic structure of populations (Loveless and Hamrick 1984, Linhart and Grant 1996). Similarly, in *M. laminarioides*, some herbivores (i.e. amphipods) were reported to behave as seed dispersing agents in that they could transport spores in their digestive tract and facilitate their recruitment by providing a protected and nutrient-rich habitat (Buschmann and Vergara 1993). Consequently, the genetic structure of *M. laminarioides* stands is probably highly complicated by a combination of these different factors at the smallest spatial scales (few tens of meters).

An important issue regarding the observed pattern of within-stand genetic structure concerns the aggregated distribution of the pathogen *Pleurocapsa* sp. Our results indicate no relation between the presence of the pathogen and the distribution of genetic diversity. The lack of any clear pattern of differentiation among squares suggests that fertilization and recruitment do occur at distances of at least 30 m from the parental plants. Thus, the aggregated distribution of the pathogen does not appear to be explained by genetic substructuring among the host population.

Differentiation among stands (5 to 60 km). In this study, a significant genetic structure was systematically observed beyond the stand level (i.e. stands separated by at least 5 km). The clear trend of increasing genetic differentiation with increasing geographical distance indicates that genetic exchanges take place primarily between adjacent populations and not at random. Genetic differentiation among populations separated by 60 km was highly significant ($F_{ST} > 0.250$) and more than three times higher than that of stands separated by 5 km within the Topocalma location ($F_{ST} = 0.070$), whereas at lower scales (i.e. among quadrats within stands) only weak differentiation was observed ($F_{ST} = 0.025$). These results closely resemble those obtained with allozymes in different seaweed species characterized by limited dispersal, such as the red alga *Lithothrix aspergillum* (Pearson and Murray 1997) and the brown seaweed *Silvetia compressa* (as *Pelvetia fastigata*, Williams and DiFiori 1996). Even in the furoid alga *Halidrys dioica*, characterized by drifting reproductive fragments responsible for the lack of small-scale genetic structure, a very strong differentiation occurred over distances of more than 70 km (Lu and Williams 1994). Studies based on molecular markers showed the same trend in the red algae *Gracilaria gracilis* (Engel et al. 1997) and in the kelp *Alaria marginata* (Kusumo and Druel 2000). Within the Topocalma location, the

strong genetic structure was mostly due to among-stands differentiation. Sandy beaches as short as 5 km are thus sufficient to generate substructuring, indicating that they constitute a barrier to gene flow. Restricted gene flow probably results from the limited long distance dispersal of spores, gametes, or drifting reproductive fragments. Even smaller gaps in the distribution of a species have been reported to behave as barriers to gene flow in other species such as land plants (Giles et al. 1998), marine gastropods (Johnson and Black 1998), and reef fishes (Riginos and Nachman 2001). These results suggest that gene flow occurs primarily among close or adjacent populations as described by the stepping stone model (Wright 1943): when stands are isolated by more than a few kilometers, gene flow is reduced and insufficient to counter-balance genetic drift.

Discriminant analysis. Population genetics studies estimate parameters derived from theoretical models. These models are based on evolutionary scenarios and ideal infinitely large populations. In this study, we have shown that these classical population genetic approaches provide valuable insights into our understanding of mating system and the effects of gene flow in *M. laminarioides*. In particular, indirect estimates of the magnitude of gene flow within and between populations have been interpreted in the context of spatial distribution of *M. laminarioides* stands. To complete this approach, the direction of gene flow can be detected by methods of assignment tests. More generally, Waser and Strobeck (1998) recently underlined the wide range of applications that the methods of assignment tests or related statistics might have in population biology (i.e. identifying individual dispersers, estimating rates of dispersal between populations, and locating the source habitat that sustains migratory individuals living in habitat sinks) and in several other fields such as forensics, conservation genetics, and stock management. This type of analysis explores the contribution of each variable (here, locus) to population structure, the number of which determines the statistical power. In this context, RAPD markers are particularly appropriate because they can produce a high number of non-linked loci.

In the present study, the discriminant analysis strongly differentiated populations of *M. laminarioides* separated by 60 km. The individuals could be assigned with high confidence to their original location by the first discriminant function. Only 10 of the 288 sampled individuals (3.5%) were not classified in their original location (Table 5B, Fig. 3). Of these misclassified individuals, only one was sampled in Topocalma and assigned to the Santo Domingo location (1/224, 0.5%), whereas the other nine were sampled in Santo Domingo but assigned to the Topocalma group (9/64, 14%). Moreover, the second discriminating function showed that within the Topocalma location, genetic differentiation among stands was significant. The method, however, was not efficient enough to discriminate among stands separated by 5 km, but

we can expect that the assignment test could be improved by increasing the number of RAPD loci.

Although these results should be interpreted with caution because of the difference in sample sizes between the two locations, it is possible to consider the misclassified individuals as potential immigrants. In this context, the results suggest that the pattern of migration was not balanced between the two locations. Proportionally, more Santo Domingo individuals were misclassified than Topocalma individuals, indicating that Topocalma produced more migrants than Santo Domingo (because Topocalma genotypes were more frequently observed for individuals sampled within the Santo Domingo location than the reverse). This is in complete accordance with the descriptions of the movements of water masses, in particular the Humbolt Current, but also the principal coastal currents that are strictly south to north in central Chile (Hill et al. 1998). Thus, a spore or a gamete is more likely to disperse south to north, following the global movement of the water masses, that is from Topocalma to Santo Domingo.

In conclusion, here we illustrated by a variety of approaches how to take advantage of the enormous amount of information available in individual RAPD genotypes to detect gene movements among populations. Using the patterns of variation gleaned from only 17 RAPD loci, we have shown that *M. laminarioides* is a sexually reproducing species characterized by limited dispersal. Due to the discontinuous distribution of *M. laminarioides* stands along the Chilean coast, natural barriers (such as sandy beaches) may play a major role by increasing isolation among populations.

This study was supported by FONDECYT grant no. 1990145 to J.A.C and FONDECYT grant no. 1990235 to E.A.M, and Italian Ministry of Foreign Affairs, D.G.C.S., Italian-Chilean inter-university cooperation program; by the CNRS "Programme National Dynamique de la Biodiversité et Environnement" and "PICS: Programme Intégré de Coopération Scientifique"; and by ECOS-CONICYT cooperation program and the French embassy in Santiago (Chile) with a Lavoisier grant to S.F. We thank Carolyn Engel, two anonymous reviewers, and Susan Brawley for their useful comments on the manuscript.

- Belkir, K., Borsa, P., Goudet, J., Chiki, L. & Bonhomme, F. 1996. *Genetix*, logiciel sous Windows™ pour la génétique des populations. Laboratoire Génome et Populations, CNRS UPR 9060, Université Montpellier II, Montpellier, France.
- Billot, C., Rousvoal, S., Estoup, A., Epplen, J. T., Saumitou-Laprade, P., Valero, M. & Kloareg, B. 1998. Isolation and characterisation of microsatellite markers in the nuclear genome of the brown alga *Laminaria digitata* (Phaeophyceae). *Mol. Ecol.* 7:1778–80.
- Bohonak, J. A. 1999. Dispersal, gene flow, and population structure. *Q. Rev. Biol.* 74:21–45.
- Bonnin, I., Huguet, T., Gherardi, M., Prosperi, J.-M. & Olivieri, I. 1996. High level of polymorphism and spatial structure in a selfing plant species, *Medicago truncatula* (Leguminosae), shown with RAPD markers. *Am. J. Bot.* 83:843–55.
- Buschmann, A. H. & Vergara, P. A. 1993. Effect of rocky intertidal amphipods on algal recruitment: a field study. *J. Phycol.* 29:154–9.
- Coffroth, M. A. & Lasker, H. R. 1998. Population structure of clonal gorgonian coral: the interplay between clonal reproduction and disturbance. *Evolution* 52:379–93.

- Correa, J. A., Flores, V. & Sánchez, P. 1993. Deformative disease in *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta): gall development associated with an endophytic cyanobacterium. *J. Phycol.* 29:853–60.
- Correa, J. A. & Sánchez, P. 1996. Ecological aspects of algal infectious diseases. *Hydrobiologia* 326/327:89–95.
- Correa, J. A., Buschmann, A., Retamales, C. & Beltrán, J. 1997. Infectious diseases of *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta): changes in infection prevalence and disease expression associated with season, locality, and within-site location. *J. Phycol.* 33:344–52.
- Coyer, J. A., Olsen, J. L. & Stam, W. T. 1997. Genetic variability and spatial separation in the sea palm kelp *Postelia palmaeformis* (Phaeophyceae) as assessed with M13 fingerprints and RAPDs. *J. Phycol.* 33:561–8.
- Craigie, J. S. & Leigh, C. 1978. Carrageenans and agars. In Hellebust, J. A. & Craigie, J. S. [Eds.] *Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods*. Cambridge University Press, London, UK, pp. 109–31.
- Engel, C. R., Wattier, R., Destombe, C. & Valero, M. 1997. Dispersal in a haplo-diploid red alga species: genetic structure and gene flow in *Gracilaria gracilis*. *Vie Milieu* 47:333–7.
- Engel, C. R., Wattier, R., Destombe, C. & Valero, M. 1999. Performance of non-motile male gametes in the sea: analysis of paternity and fertilization success in a natural population of a red seaweed, *Gracilaria gracilis*. *Proc. R. Soc. Lond. B* 166:1879–86.
- Excoffier, L., Smouse, P. E. & Quattro, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among restriction data. *Genetics* 131:479–91.
- Faugeron, S., Martínez, E. A., Sánchez, P. A. & Correa, J. A. 2000. Infectious diseases in *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta): estimating the effect of infections on host reproductive potential. *Dis. Aquat. Org.* 42:143–8.
- Giles, B. E., Lundqvist, E. & Goudet, J. 1998. Restricted gene flow and subpopulation differentiation in *Silene dioica*. *Heredity* 80:715–23.
- Goudet, J. 1999. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9) Available at <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>
- Harris, S. A. 1999. RAPDs in systematics—a useful methodology? In Hollingsworth, P. M., Bateman, R. M. & Gornall, R. J. [Eds.] *Molecular Systematics and Plant Evolution*. Taylor & Francis, London, UK, pp. 211–28.
- Hill, A. E., Hickey, B. M., Shillington, F. A., Strub, P. T., Brink, K. H., Barton, E. D. & Thomas, A. C. 1998. Eastern ocean boundaries: coastal segment. In Robinson, A. R. & Brink, K. H. [Eds.] *The Sea, Volume 11. The Global Coastal Ocean: Regional Studies and Synthesis*. J. Wiley & Sons, New York, NY, pp. 29–67.
- Hoffmann, J. A. & Camus, P. 1989. Sinking rates and viability of spores from benthic algae in central Chile. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 126:281–91.
- Huang, H., Layne, D. R. & Kubisiak, T. L. 2000. RAPD inheritance and diversity in Pawpaw (*Asimina triloba*). *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 125:454–9.
- Johnson, L. E. & Brawley, S. H. 1998. Dispersal and recruitment of a canopy-forming intertidal alga, *Pelvetia compressa* (Phaeophyceae). *Oecologia* 117:517–26.
- Johnson, M. S. & Black, R. 1998. Increased genetic divergence and reduced genetic variation in populations of the snail *Bembicium vittatum* in isolated tidal ponds. *Heredity* 80:163–72.
- Juanes, J. A. & Puente, A. 1993. Differential reattachment capacity of isomorphic life history phases of *Gelidium sesquipedale*. *Hydrobiologia* 260/261:139–44.
- Knowlton, N. & Jackson, J. B. C. 1993. Inbreeding and outbreeding in marine invertebrates. In Thornhill, N. W. [Ed.] *The Natural History of Inbreeding and Outbreeding: Theoretical and Empirical Perspectives*. University of Chicago, Chicago, pp. 200–49.
- Kusumo, H. T. & Druel, L. D. 2000. Variability over space and time in the genetic structure of the winged kelp *Alaria marginata*. *Mar. Biol.* 136:397–409.
- Lewontin, R. C. & Kojima, K. 1960. The evolutionary dynamics of complex polymorphisms. *Evolution* 14:450–72.
- Linhart, Y. B. & Grant, M. C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27:237–77.
- Loveless, M. D. & Hamrick, J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 15:65–95.
- Lu, T. T. & Williams, S. L. 1994. Genetic diversity and genetic structure in the brown alga *Halidrys dioica* (Fucales: Cystoseiraceae) in Southern California. *Mar. Biol.* 121:363–71.
- Luo, H., Mörchen, M., Engel, C., Destombe, C., Eppelen, J. T., Eppelen, C., Saumitou-Laprade, P. & Valero, M. 1999. Characterisation of microsatellite markers in the red alga *Gracilaria gracilis*. *Mol. Ecol.* 8:700–2.
- McFadden, C. S. & Aydin, K. Y. 1996. Spatial autocorrelation analysis of small-scale genetic structure in a clonal soft coral with limited larval dispersal. *Mar. Biol.* 126:215–24.
- Meneses, I. 2001. Insights on the biology of *Gracilaria chilensis* using molecular techniques. *Cah. Biol. Mar.* 42:45–51.
- Miller, K. A., Olsen, J. L. & Stam, W. T. 2000. Genetic divergence correlates with morphological and ecological subdivision in the deep-water elk kelp, *Pelagophycus porra* (Phaeophyceae). *J. Phycol.* 36:862–70.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583–90.
- Owuor, E. D., Fahima, T., Beiles, A., Korol, A. & Nevo, E. 1997. Population genetic response to microsite ecological stress in wild barley, *Hordeum spontaneum*. *Mol. Ecol.* 6:1177–87.
- Pearson, E. A. & Murray, S. N. 1997. Patterns of reproduction, genetic diversity, and genetic differentiation in California populations of the geniculate coralline alga *Lithothrix aspergillum* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 33:753–63.
- Procaccini, G. & Mazzella, L. 1998. Population genetic structure and gene flow in the seagrass *Posidonia oceanica* assessed using microsatellite analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 169:133–41.
- Rice, W. R. 1989. Analysing tables of statistical tests. *Evolution* 43:223–5.
- Riginos, C. & Nachman, M. W. 2001. Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Mol. Ecol.* 10:1439–53.
- Ruckelshaus, M. H. 1998. Spatial scale of genetic structure and an indirect estimate of gene flow in eelgrass, *Zostera marina*. *Evolution* 52:330–43.
- Santelices, B. 1990. Patterns of reproduction, dispersal and recruitment in seaweeds. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 28:177–276.
- Santelices, B. 1991. Littoral and sublittoral communities of continental Chile. In Mathieson, A. C. & Nienhuis, P. H. [Eds.] *Ecosystems of the World*. Elsevier Science, New York, pp. 347–69.
- Santelices, B., Correa, J. A., Meneses, I., Aedo, D. & Varela, D. 1996. Sporeling coalescence and intracolonial variation in *Gracilaria chilensis* (Gracilariales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 32:313–22.
- Santelices, B., Correa, J. A., Aedo, D., Flores, V., Homarzábal, M. & Sánchez, P. 1999. Convergent biological processes in coalescing Rhodophyta. *J. Phycol.* 35:1127–49.
- Saunders, G. W. 1993. Gel purification of red algal genomic DNA: an inexpensive and rapid method for the isolation of polymerase chain reaction-friendly DNA. *J. Phycol.* 29:251–4.
- Schneider, S., Roessli, S. & Excoffier, L. 2000. *ARLEQUIN. A Software for Population Genetics Data Analysis*. Version 2.000. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- Shulman, M. J. 1998. What can population genetics tell us about dispersal and biogeographic history of coral-reef fishes? *Aust. J. Ecol.* 23:216–25.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236:787–92.
- Sosa, P. A. & Lindstrom, S. C. 1999. Isozymes in macroalgae (seaweeds): genetic differentiation, genetic variability and systematic applications. *Eur. J. Phycol.* 34:427–42.
- StatSoft, Inc. 1995. *STATISTICA for Windows*. Version 5.0. StatSoft Inc, Tulsa, OK.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends Ecol. Evol.* 15:199–203.
- Thomas, B. R., Macdonald, S. E., Hicks, M., Adams, D. L. & Hodgetts, R. B. 1999. Effects of reforestation methods on genetic diversity of lodgepole pine: an assessment using microsat-

- elite and randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theor. Appl. Genet.* 98:793–801.
- Tyrell, B. & Johansen, H. W. 1995. Reproductive and regeneration strategies of *Lithothrix aspergillum* (Corallinales, Rhodophyta) in Southern California. *Phycologia* 34:39–44.
- Valero, M., Engel, C., Billot, C., Kloareg, B. & Destombe, C. 2001. Concepts and issues of population genetics in seaweeds. *Cah. Biol. Mar.* 42:53–62.
- Waser, P. & Strobeck, C. 1998. Genetic signatures of interpopulation dispersal. *Trends Ecol. Evol.* 13:43–4.
- Welsh, J. & McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18:7213–8.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. & Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531–5.
- Williams, S. L. & DiFiori, R. E. 1996. Genetic diversity and structure in *Pelvetia fastigiata* (Phaeophyta, Fucales): does a small effective neighborhood size explain fine-scale genetic structure? *Mar. Biol.* 126:371–82.
- Wong, K. C. & Sun, M. 1999. Reproductive biology and conservation genetics of *Goodyera procera* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 86:1406–13.
- Wright, J. T., Zuccarello, G. C. & Steinberg, P. D. 2000. Genetic structure of the subtidal red alga *Delisea pulchra*. *Mar. Biol.* 136:439–48.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28:114–38.
- Yund, P. O. & O'Neil, P. G. 2000. Microgeographic genetic differentiation in a colonial ascidian (*Botryllus schlosseri*) population. *Mar. Biol.* 137:583–8.
- Zuccarello, G. C., Yeats, P. H. & Wright, J. T. 2001. Population structure and physiological differentiation of haplotypes of *Caloglossa leprieurii* (Rhodophyta) in a mangrove intertidal zone. *J. Phycol.* 37:235–44.

ARTICLE 2

S. Faugeron, E. A. Martínez, P. A. Sánchez et J. A. Correa (2001)

Infectious diseases in *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta): estimating the effect of infections on host reproductive potential

Diseases of Aquatic Organisms 42: 143-148

Infectious diseases in *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta): estimating the effect of infections on host reproductive potential

Sylvain Faugeron^{1,2}, Enrique A. Martínez¹, Pablo A. Sánchez¹, Juan A. Correa^{1,*}

¹Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile

²Laboratoire de Génétique et Evolution des Populations Végétales, UPRESA CNRS 8016, Université de Lille I, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France

ABSTRACT: Very little is known about the potential effects of endophytic infections on the host in algae, especially in terms of fitness. In this study, we report a first attempt at quantifying the effects of the endophytes *Endophyton ramosum* (Chlorophyta) and *Pleurocapsa* sp. (Cyanophyta) on the reproductive potential of their host *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta). Density of reproductive structures and spore germination rates was compared between infected and non-infected fronds. It was found that differences in density of reproductive structures between infected and non-infected fronds were not significant, which suggests that the level of maturity of the host is unaltered by the endophytes. On the other hand, carpospore germination rates significantly decreased when produced by fronds infected by the cyanobacterium *Pleurocapsa* sp. Thus, in the general context of host fitness, we discuss the fact that only some of the components of the reproductive output of *M. laminarioides* are negatively affected by the endophytes.

KEY WORDS: Cyanobacteria · *Endophyton ramosum* · Endophyte infections · Fitness · *Mazzaella laminarioides* · *Pleurocapsa*

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

INTRODUCTION

Most of the research on infectious diseases in algae has focused on characterizing the parasites and describing morphological aspects of host-parasite interactions at the cellular and tissue level (reviewed by Andrews 1976, Andrews & Goff 1984, Correa 1997). Studies going beyond the description stage, particularly into the effect of infections on the host fitness components (i.e. reproduction and survival), are scarce. In red algae, for example, infections have been investigated in terms of the effect of the parasites on carbon fixation and growth rate in their host. Kremer (1983) showed that although there was carbon transfer from the host *Rhodomela confervoides* to its parasite *Harveyella mirabilis*, carbon fixed by the host was enough

to cover the needs of both the parasite and the host. Apt (1984) showed that infections by the red alga *Hypneocolax stellaris* reduced the growth rate of its host *Hypnea musciformis* by 40% in the field, and up to 70% in laboratory trials. Buschmann et al. (1997) showed that infected fronds of *Mazzaella laminarioides* were removed significantly faster by wave impact than were non-infected thalli. Other descriptive studies have reported a virus infecting specifically the reproductive structures in species of *Ectocarpus* (Müller et al. 1990, Müller & Frenzer 1993, Parodi & Müller 1994), and therefore capable of acting as a castrator. These observations and experiments suggest that parasites or pathogens could affect host survival or its reproductive potential—2 important parameters in the context of fitness.

In this study, we estimated the effect of 2 pathogenic infections on the reproduction of the host *Mazzaella*

*Corresponding author. E-mail: jcorrea@genes.bio.puc.cl

laminarioides (Bory) Fredericq (Gigartinales, Rhodophyta). This host is an ecologically and economically important species, abundant on the rocky intertidal zone along the coast of central and southern Chile. It is characterized by an alternation of isomorphic generations of lanceolate fronds issued from a perennial holdfast (Fig. 1a). The 2 infecting organisms are the cyanobacterium *Pleurocapsa* sp. and the filamentous green alga *Endophyton ramosum* Gardner (Fig. 1b,c). *E. ramosum* infects mainly the base of the fronds, where it causes tissue degradation and facilitates frond fracture (Fig. 1b,c; Correa et al. 1994), whereas *Pleurocapsa* sp. infects the entire frond, producing small but often numerous galls (Fig. 1d,e; Correa et al. 1993). Buschmann et al. (1997) suggested that tissue weakening by *E. ramosum* was the cause of a reduction in frond survival. In central Chile, 45 to 55% of the fronds have been recorded as infected by *E. ramosum*, compared to only 5 to 10% by *Pleurocapsa* sp. (Correa et al. 1997). It must be considered, however, that the latter pathogen displays a highly aggregated spatial distribution, with small areas of the beach having nearly all fronds heavily infected whereas the rest of the population remains uninfected (Correa & Sánchez 1996). Furthermore, Correa & Sánchez (1996) also suggested a potentially negative effect of the infections on host reproduction based on the observation that, in natural populations of *M. laminarioides*, full size and heavily diseased fronds were rarely mature.

Based on the above, the objective of this study was to determine the extent to which endophytic infections affect the reproductive potential of *Mazzaella laminarioides* by comparing the differences in density of reproductive structures and spore germination rate between infected and non-infected plants. In this context, we tested the hypothesis that a negative effect of the infections should result in a negative relationship between infection level (sensu Correa & Sánchez 1996) and host maturity. The rationale was that: (1) *Pleurocapsa*-induced galls could divert nutrients away from the reproductive effort of its host; and (2) if frond survival was reduced, infected fronds should rarely be found fully mature, as they were likely to have been eliminated by wave action.



Fig. 1. *Mazzaella laminarioides*. (a) Healthy tetrasporic plant with a central mature frond surrounded by smaller immature fronds. Scale bar = 2 cm. (b) Cystocarpic frond infected by *Endophyton ramosum* (arrowheads indicate dark endophyte patches). Scale bar = 2 cm. (c) Details of endophyte filaments growing in medullar host tissue (arrows). Scale bar = 30 μ m. (d) Immature frond infected by *Pleurocapsa* sp. (arrowheads indicate tumors). Scale bar = 1 cm. (e) Cross section of a tumor (arrow indicates cyanophyte cells). Scale bar = 300 μ m

MATERIAL AND METHODS

Mature fronds ($n = 512$) of *Mazzaella laminarioides* were collected in Matanzas ($33^{\circ} 56' S$, $71^{\circ} 53' W$), central Chile, during autumn and winter, the main reproductive period (Santelices & Martínez 1997). Fronds were collected from 9 different plots of 100 cm^2 each, along a 1 km long rocky beach. Samples included infected and non-infected fronds from cystocarpic and tetrasporic individuals. Infected fronds were sorted according to the presence of infections by *Endophyton ramosum*, *Pleurocapsa* sp. or both.

The density of reproductive structures was estimated by counting all the cystocarps or tetrasporangia present in five 1 cm^2 quadrats, distributed along a longitudinal transect within each frond (see Santelices & Martínez 1997). An intra-frond variance in density of reproductive structures was estimated through the coefficient of variation (CV). Simultaneously and in the same fronds, an infection level from 0 (no infection) to 3 (maximum infection severity), as described by Correa & Sánchez (1996), was determined for each frond-pathogen pair. Infection severity was estimated at the base, lamina and apical region of each frond. Thus, for each pathogen, the maximum infection level per frond was 9, and the maximal infection level (summing both pathogens) was 18. Reproductive potential and infection levels were compared using Student's *t*-test, and data were log-transformed when distributions were not normal or when there was a lack of homoscedasticity. Non-parametric tests were used where data could not be normalized.

For statistical purposes, data from autumn and winter were analyzed separately because the overall infection level and the density of reproductive structures were significantly lower in winter (Tables 1 & 2 respectively). Furthermore, fronds were grouped, regardless their reproductive phase, into infected and non-infected categories, because infection level and density of reproductive structures were not significantly different between cystocarpic and tetrasporic fronds (Tables 1 & 2).

Germination trials were done using carpospores and tetraspores from fronds infected by one or both pathogens ($n = 44$), as well as from non-infected fronds ($n = 21$), all collected from the same site. The protocol for sporulation followed, with minor modifications, that of Santelices & Martínez (1997). Spores were obtained from 5 circular fragments, 1 cm in diameter, excised from each frond and incubated in 30 ml filtered seawater for 1 h in an orbital shaker at 100 rpm. Spore suspensions were then distributed into 2 ml wells (2 replicates per each suspension). Germinated and non-germinated spores were counted after a 72 h incubation period.

Table 1. *Mazzaella laminarioides*. Comparison of mean (\bar{x}) infection levels between autumn and winter for the pool of cystocarpic and tetrasporic fronds

Source		Autumn	Winter	<i>t</i>	<i>p</i>
Cystocarpic and tetrasporic (pooled)	N	376	139	3.88	1×10^{-4}
	\bar{x}	2.72	1.80		
	σ	0.118	0.109		
Season		Cystocarpic	Tetrasporic	<i>z</i> ^a	<i>p</i>
Autumn	N	195	181	0.179	0.858
	\bar{x} ^a	2.71	2.73		
	σ	2.28	2.29		
Winter	N	58	80	1.256	0.209
	\bar{x} ^b	1.66	1.92		
	σ	1.28	1.28		

^aNormal approximation for Mann-Whitney *U*-test
^bLog values; original data were not normally distributed

RESULTS

Lengths of infected and non-infected fronds were similar, both in autumn and winter (Table 3), indicating that comparisons were done among fronds of similar developmental stage. No significant differences in the density of reproductive structures were found between non-infected and infected fronds, whether they were infected only by *Pleurocapsa* sp., only by *Endophyton ramosum*, or by both pathogens simultaneously (Fig. 2). The exception was in fronds infected only by *Pleuro-*

Table 2. *Mazzaella laminarioides*. Comparisons of mean densities of reproductive structures (\bar{x})

Season		Cystocarpic	Tetrasporic	<i>t</i>	<i>p</i>
Autumn	N	195	181	0.728	0.467
	\bar{x}	21.7	20.8		
	σ	13.8	10.2		
Winter	N	58	80	1.713	0.089
	\bar{x} ^a	12.2	16.2		
	σ	10.1	15.7		
Reproductive structures		Autumn	Winter	<i>t</i>	<i>p</i>
Cystocarpic	N	195	58	4.881	2×10^{-6}
	\bar{x}	21.7	12.2		
	σ	13.8	10.1		
Tetrasporic	N	181	80	5.259	3×10^{-7}
	\bar{x} ^a	20.8	16.2		
	σ	10.2	15.7		
Cystocarpic and tetrasporic (pooled)	N	376	139	7.195	2×10^{-9}
	\bar{x} ^a	21.3	14.4		
	σ	12.2	13.7		

^aLog values; original data were not normally distributed

Table 3. *Mazzaella laminarioides*. Mean size (\bar{x}) comparisons (length in mm) between non-infected and infected fronds and between seasons (autumn and winter)

Season		Non-infected	Infected	t	p
Autumn	N	43	333	0.90	0.368
	\bar{x}	129.2	122.4		
	σ	51.4	45.7		
Winter	N	15	124	1.58	0.117
	\bar{x}	107.9	127.9		
	σ	36.9	47.2		
Condition		Autumn	Winter	t	p
Non-infected	N	43	15	1.47	0.147
	\bar{x}	129.2	107.9		
	σ	51.4	36.9		
Infected	N	333	124	1.04	0.299
	\bar{x}	122.4	127.9		
	σ	45.7	47.2		

capsa sp. in autumn, where infected thalli had an even higher density of reproductive structures than their non-infected counterparts. Finally, the CV calculated for the density of reproductive structures was significantly different between infected and non-infected fronds only in autumn, where a significantly lower CV was observed in infected fronds (Table 4).

Since these results were obtained by including all infected fronds, regardless of the level of infection, a new set of comparisons was done by eliminating from the calculations those fronds with low levels of infection, those which may be considered non-infected from a structural and physiological perspective. However, even though only heavily infected fronds (i.e. infection level ≥ 2) were considered, no significant difference in the densities of their reproductive structures was found when compared to non-infected thalli (results not shown).

The effect of the infections on carpospore germination was statistically significant (Kruskal-Wallis

Table 4. *Mazzaella laminarioides*. Comparisons of mean variability (CV, coefficient of variation) in the density of reproductive structures between non-infected and infected fronds

Season		Non-infected	Infected (single or combined)	t	p
Autumn	N	43	333	9.763	1.4×10^{-14}
	CV	177.6	75.3		
	σ	134.3	49.3		
Winter	N	15	124	0.806	0.421
	CV	123.3	109.4		
	σ	78.1	61.4		

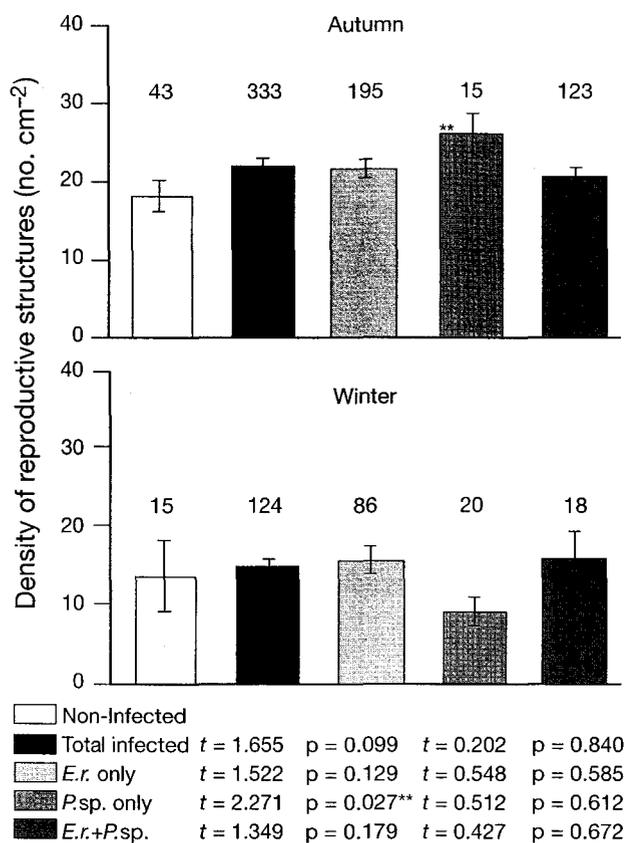


Fig. 2. *Mazzaella laminarioides*. Comparisons of mean densities of reproductive structures between non-infected and infected fronds. *t*-values and *p*-values correspond respectively to *t*-tests between non-infected fronds and total of infected, infected only by *Endophyton ramosum* (*E.r.* only), only by *Pleurocapsa* sp. (*P.sp.* only), or by both pathogens simultaneously (*E.r.* + *P.sp.*). Values above each bar correspond to the number of analysed fronds in each category. Vertical bars are standard deviation

ANOVA [KW] = 15.9, *p* = 0.002). Carpospores released from fronds infected only by *Pleurocapsa* sp. or by both *Pleurocapsa* sp. and *Endophyton ramosum* had germination rates of 6% or lower (Table 5). Conversely, carpospores released from non-infected fronds or infected only by *E. ramosum* had germination rates of 17% or higher (Table 5). Tetraspores, on the other hand, showed no significant differences in germination rates (KW = 2.8, *p* = 0.420) whether they came from infected or non-infected fronds (Table 5).

DISCUSSION

The objective of this study was to estimate the effect of endophytic infections on the reproductive potential of *Mazzaella laminarioides*. The results on frond maturity suggest that infections by *Pleurocapsa* sp. and

Table 5. *Mazzaella laminarioides*. Germination rates (%) in spores derived from non-infected and infected fronds

Treatment	Cystocarpic fronds			Tetrasporic fronds		
	\bar{x}	SE	N	\bar{x}	SE	N
<i>Endophyton ramosum</i>	27.2	8.8	10	11.5	6.7	7
<i>Pleurocapsa</i> sp.	0.0	0.0	10	5.6	4.8	8
<i>Endophyton ramosum</i> + <i>Pleurocapsa</i> sp.	5.5	5.5	6	8.5	5.6	3
Non-infected plants	17.6	7.5	10	14.3	5.8	11

Endophyton ramosum have no negative effect on the production of reproductive structures in the host. In fact, the only case of significant differences between infected (by *Pleurocapsa* sp.) and non-infected fronds revealed that infected thalli had higher density of reproductive structures. Furthermore, in terms of variability of the distribution of reproductive structures within the fronds, the results showed no differences between infected and non-infected thalli in winter, whereas a significantly lower variability in infected fronds was found in autumn. However, these differences should be treated with caution as the sample sizes were quite different (see Table 4). In addition, infected fronds were statistically similar in size to non-infected thalli, which indicates that they are not eliminated before reaching full size and maturity, as suggested by previous work (Buschmann et al. 1997). Thus, and contrary to our hypothesis, it seems that infected fronds of *M. laminarioides* grow and mature at least as well as their non-infected counterparts.

From a physiological point of view, this lack of negative effect of the endophytes is consistent with previous observations indicating that red algal hosts were able to fix enough carbon to meet their own metabolic requirements as well as those of their parasites (Kremer 1983). In our study, it has to be considered that both pathogens infecting *Mazzaella laminarioides* are pigmented and therefore independent of the carbohydrates from the host. In fact, they are able to grow separately from their host (Correa et al. 1993, 1994) and, so far, no ultrastructural evidence has been found to support or suggest carbon transfer between the pathogens and their host (Correa et al. 1993, 1994); this is why they have been described as endophytes and not parasites (see Correa 1994). The apparent physiological (i.e. nutritional) independence of the 2 pathogens could lead to a relationship of no metabolic cost to the host, and therefore, these pathogenes represent no detriment to the reproductive process in *M. laminarioides*.

However, the present work suggests that although the number of reproductive structures may not be reduced by the infections, these may have a negative impact on spore quality. This effect was clear and sig-

nificant in cystocarpic fronds attacked by the cyanobacterium, where spores displayed a lower level of germination than spores from non-infected thalli. These results suggest that there may be some developmental processes within the carpospores that appear to be affected in such a way that the effect is expressed during the key step of germination. Although at present no evidence has been found to explain

why carpospores, and not tetraspores, are negatively affected by *Pleurocapsa* infections, we suggest that the intimate cellular events taking place during carpospore formation may be involved. Indeed, whereas a tetraspore is the result of a single meiotic event, carpospores result after many successive mitoses of a single carpogonial cell (Bold & Wynne 1985). This repetitive process may lead to some kind of 'metabolic exhaust' of carpogonial cells developing in the cortical tissue, which is simultaneously involved in high-energy expenditure due to the hyperplasia and hypertrophy affecting the vegetative cells (Correa et al. 1993). Thus, although the formation of carpospores may not be fully interrupted, energy deviation into the formation of tumors may indirectly result in lower quality carpospores.

The differential responses, in terms of spore quality, determined by the 2 pathogens seem to be the result of quite different patterns of infection within the fronds. *Pleurocapsa*-induced galls usually affect the whole lamina (Correa et al. 1993), whereas the chlorophycean *Endophyton ramosum* concentrates mostly in the basal portions of the fronds (Correa et al. 1994) where reproductive structures do not normally develop (Fig. 1). Therefore, if there is a negative effect on 1 or more processes during spore maturation, while they are still in the parental frond, it seems likely that *Pleurocapsa* sp., and not *E. ramosum*, would be responsible. In addition, this negative effect could be linked to the density of reproductive structures that was found to be significantly higher in fronds infected by *Pleurocapsa* sp.: with a higher density of reproductive structures, a lower quality of spores was produced.

In terrestrial plant-pathogen systems empirical data indicate that host fitness can be affected by either debilitating the host or reducing seed quality and quantity. The intensity of this effect ranges from no reduction in host fitness to castrating or killing the host before reproduction (for review, see Clay & Kover 1996). The interaction between *Mazzaella laminarioides* and its endophytes seems to fit better within the old belief that long-term co-evolution would tend to reduce the virulence of the parasites, thus resulting in mild negative effects on the hosts (Toft & Karter 1990).



However, some caution is advised until additional experimental evidence is made available, as spore quality of *M. laminarioides* was affected by the infections. This could lead to lower recruitment coming from infected plants as compared to that from non-infected fronds, a phenomenon which is by definition a reduction in host fitness.

A differential and negative effect of a pathogen on one of the life history stages of its host may have profound effects at the population level. In the case of *Mazzaella laminarioides*, as the gametophytic phase seems to be the only one affected by the infections, a population of this host could display, at least locally, some kind of disequilibrium in the haplo/diploid ratio. It has already been suggested that such an effect, at the population level, can explain the gametophytic dominance in natural populations of the red alga *Chondrus crispus* (McLachlan 1991). Indeed, in this host species, the filamentous green alga *Acrochaete operculata*, which produces a disease similar to that caused by *Endophyton ramosum* in *M. laminarioides*, infects only the sporophytic blades (Correa & McLachlan 1991). In *M. laminarioides*, both reproductive phases are infected (Correa et al. 1993, Sánchez et al. 1996) but, as in *C. crispus*, the gametophytes are generally more abundant on the rocky shores (Luxoro & Santelices 1989). Thus, comparative assessment of the abundance of both reproductive phases in highly infected and not infected zones, currently underway, should shed some additional light on the still poorly understood interactions between *M. laminarioides* and its algal endophytes.

Acknowledgements. S.F. was partially supported by a French Lavoisier fellowship. The investigation was funded by the research grant FONDECYT #1990145 to J.A.C., FONDECYT #1990235 to E.A.M., the Italian-Chilean cooperation program CICS-EULA-Genova-PUCCh, and the ECOS-CONICYT cooperation program with France. We thank V. Flores for her help with photography.

LITERATURE CITED

- Andrews JH (1976) The pathology of marine algae. *Biol Rev* 51:211–253
- Andrews JH, Goff LJ (1984) Pathology. In: Littler MM, Littler DS (eds) Handbook of phycological methods. Ecological field methods: Macroalgae. Cambridge University Press, Cambridge, p 573–591
- Apt KE (1984) Effects of the symbiotic red alga *Hypneocolax stellaris* on its host *Hypnea musciformis* (Hypneaceae, Gigartinales). *J Phycol* 20:148–150
- Bold HC, Wynne MJ (1985) Introduction to the algae, 2nd edn. Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs, NJ
- Buschmann A, Correa JA, Beltran J, Retamales C (1997) Determinants of disease expression and survival of infected individual fronds in wild populations of *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta) in central and southern Chile. *Mar Ecol Prog Ser* 154:269–280
- Clay K, Kover PX (1996) The Red Queen Hypothesis and plant/pathogen interactions. *Annu Rev Phytopathol* 34:29–50
- Correa JA (1994) Infections by pigmented algal endophytes: misuse of concepts and terminology. *Rev Chil Hist Nat* 67:4–8
- Correa JA (1997) Infectious diseases of marine algae: current knowledge and approaches. In: Round FE, Chapman DJ (eds) Progress in phycological research, Vol 12. Biopress Ltd, Bristol, p 149–180
- Correa JA, McLachlan JL (1991) Endophytic algae of *Chondrus crispus* (Rhodophyta). III. Host specificity. *J Phycol* 27:448–459
- Correa JA, Sánchez P (1996) Ecological aspects of algal infectious diseases. *Hydrobiologia* 326/327:89–95
- Correa JA, Flores V, Sánchez P (1993) Deformative disease in *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta): gall development associated with an endophytic cyanobacterium. *J Phycol* 29:853–860
- Correa JA, Flores V, Garrido J (1994) Green patch disease in *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta) caused by *Endophyton* sp. (Chlorophyta). *Dis Aquat Org* 19:203–213
- Correa JA, Buschmann A, Retamales C, Beltrán J (1997) Infectious diseases of *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta): changes in infection prevalence and disease expression associated with season, locality, and within-site location. *J Phycol* 33:344–352
- Kremer BP (1983) Carbon economy and nutrition of the alloparasitic red alga *Harveyella mirabilis*. *Mar Biol* 76:231–239
- Luxoro C, Santelices B (1989) Additional evidence for ecological differences among isomorphic reproductive phases of *Iridaea laminarioides* (Rhodophyta: Gigartinales). *J Phycol* 25:206–212
- McLachlan JL (1991) *Chondrus crispus* (Irish moss), an ecologically important and commercially valuable species of red seaweed of the North Atlantic Ocean. In: Mauchline J, Nemoto T (eds) Marine biology. Its accomplishments and future prospects. Hokusen-sha Publ. Co., Tokyo, p 221–237
- Müller DG, Frenzer K (1993) Virus infections in three marine brown algae: *Feldmania irregularis*, *F. simplex* and *Ectocarpus siliculosus*. *Hydrobiologia* 260/261:37–44
- Müller DG, Stache B, Lanka S (1990) A virus infection in the marine brown alga *Ectocarpus siliculosus* (Phaeophyta). *Bot Acta* 103:72–82
- Parodi ER, Müller DG (1994) Field and culture studies on virus infections in *Hinckesia hinckesia* and *Ectocarpus fasciculatus* (Ectocarpales, Phaeophyceae). *Eur J Phycol* 29:113–117
- Sánchez PA, Correa JA, García-Reina G (1996) Host-specificity of *Endophyton ramosum* (Chlorophyta), the causative agent of the green patch disease in *Mazzaella laminarioides* (Rhodophyta). *Eur J Phycol* 31:173–179
- Santelices B, Martínez E (1997) Hierarchical analysis of reproductive potential in *Mazzaella laminarioides* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia* 36:195–207
- Toft CA, Karter AJ (1990) Parasite-host coevolution. *TREE* 5:326–329

Editorial responsibility: Silvano Bonotto, Torino, Italy

*Submitted: March 2, 2000; Accepted: May 5, 2000
Proofs received from author(s): August 9, 2000*