

Évolution du sexe et de l'incompatibilité chez les Oléacées : le cas de Fraxinus excelsior

Sylvain Bertrand

▶ **To cite this version:**

Sylvain Bertrand. Évolution du sexe et de l'incompatibilité chez les Oléacées : le cas de Fraxinus excelsior. [Stage] France. Université Paris Saclay (COMUE), FRA. 2016, 33 p. hal-02795389

HAL Id: hal-02795389
https://hal.inrae.fr/hal-02795389

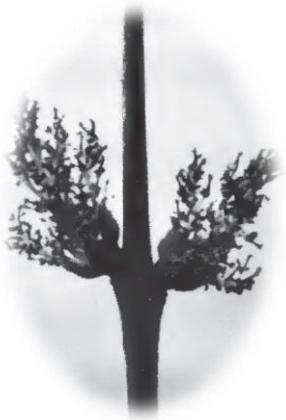
Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Évolution du sexe et de l'incompatibilité chez les Oléacées : le cas de *Fraxinus excelsior*

15 juin 2016


Responsable de stage : Arnaud Dowkiw[1]

Encadrants : Pierre Saumitou-Laprade[2]
Mathilde Dufaÿ[2]
Philippe Vernet[2]

[1]UR 0588 Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, INRA Val de Loire

[2]UMR 8198, Laboratoire Éco-Évo-Paléo Université de Lille 1 / CNRS

Sylvain BERTRAND

Master 2 Écologie, Biodiversité, Évolution
Parcours Écologie Évolutive
et
Cursus ingénieur AgroParisTech

Année universitaire 2015-2016

Remerciements

Un grand merci tout d'abord à mes encadrants pendant le stage : Pierre Saumitou-Laprade, Mathilde Dufaÿ et Philippe Vernet, qui m'ont permis de terminer mon cursus sur un stage passionnant et équilibré, dans une ambiance détendue et stimulante. J'ai beaucoup appris, sur les thématiques biologiques, mais aussi sur les coulisses de la recherche. Merci aussi à Xavier Vekemans et à l'ensemble du personnel du laboratoire EEP, pour leur accueil chaleureux et leur appui, et aux camarades de master pour la bonne ambiance de la salle 221.

Je voudrais aussi remercier Sandrine Maurice, Pierre-Henri Gouyon, Clotilde Lepers et Diala Abu Awad pour leur aide précieuse sur les aspects de modélisation.

Également merci à Fantin Carpentier qui nous a accompagnés sur le terrain pour nous épauler dans les intenses semaines de manipulations à Montpellier, et à Diala Abu Awad pour m'avoir hébergé pendant cette même période. Je garde un très bon souvenir de ce petit mois, et les petits plats que l'on a cuisinés y sont pour quelque chose !

Merci enfin à Arnaud Dowkiw et au Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (Convention MAAF – CRGF/INRA 2015 2016), sans qui ce stage n'aurait pas été possible.

« J'ai toujours soupçonné que si nos problèmes économiques et politiques se trouvent un jour résolus pour de bon, la vie sera alors devenue plus simple et non plus complexe. Et que le genre de plaisir que l'on prend à trouver la première primevère dépasserait de loin celui de manger une glace au son d'un juke-box. Je pense qu'en préservant son amour d'enfance pour des choses telles que les arbres, les poissons, les papillons et - pour revenir à mon premier exemple - les crapauds, un individu rend un peu plus probable un avenir pacifique et décent, et qu'en prêchant la doctrine suivant laquelle rien ne mérite d'être admiré sinon l'acier et le béton, il rend simplement un peu plus certain que les humains n'auront d'autre débouché à leur trop-plein d'énergie que dans la haine et le culte du chef.

[…] Les bombes atomiques s'amassent dans les usines, les policiers rôdent à travers les villes, les haut-parleurs déversent des flots de mensonges, mais la Terre tourne encore autour du Soleil. Et ni les dictateurs ni les bureaucrates, bien qu'ils désapprouvent profondément cela, n'ont aucun pouvoir d'y mettre un terme. »

Quelques réflexions sur le crapaud ordinaire
("Some thoughts on the common toad")

George Orwell, 1946

Il lui disait : « Vois-tu, si tous deux nous pouvions,
L'âme pleine de foi, le cœur plein de rayons,
Ivres de douce extase et de mélancolie,
Rompre les mille nœuds dont la ville nous lie ;
Si nous pouvions quitter ce Paris triste et fou,
Nous fuirions ; nous irions quelque part, n'importe où,
Chercher loin des vains bruits, loin des haines jalouses,
Un coin où nous aurions des arbres, des pelouses ;
Une maison petite avec des fleurs, un peu
De solitude, un peu de silence, un ciel bleu,
La chanson d'un oiseau qui sur le toit se pose,
De l'ombre ; — et quel besoin avons-nous d'autre chose ? »

Les Contemplations (I)

Victor Hugo, 1856

Sommaire

Préambule 4
Introduction 5
Partie I - Données empiriques 10
Matériel et méthodes 10
Résultats et discussion 15
Partie II - Modélisation 20
Méthodes 20
Résultats et discussion 23
Discussion générale et perspectives 28
Bibliographie 32
Annexes 34
***Résumé* / Abstract** 41

Préambule

Dans la mythologie nordique, le frêne *Yggdrasil* est *« le plus grand et le meilleur de tous les arbres ; ses branches s'étendent au-dessus du monde entier et dominent le ciel »* (Sturlasson et Dillmann 1991). Cette image traditionnelle a traversé les âges, et de nos jours le frêne est toujours un symbole de culture et d'esthétique dans les pays scandinaves, et notamment en Suède. Mais cette représentation majestueuse contraste avec la situation actuelle des frênes des forêts d'Europe. En Suède, un quart des arbres était reporté morts ou sévèrement malades en 2009, conduisant le pays à classer *Fraxinus excelsior* comme « vulnérable » sur sa Liste Rouge (Pautasso *et al.* 2013). L'agent causal de cette hécatombe est l'ascomycète *Hymenoscyphus fraxineus* – anciennement *H. pseudoalbidus* (anamorphe *Chalara fraxinea*), apparu en Pologne (mais originaire d'Asie) dans les années 1990. Les dernières revues issues de la littérature concernant la maladie (Pautasso *et al.* 2013, Gross *et al*. 2014) permettent de mettre en perspective le développement de l'épidémie et de comprendre ses enjeux futurs. Y sont mises en lumière la progression rapide du front de l'infection (75 kilomètres par an), la grande diversité génotypique du pathogène, sa dispersion par le vent ainsi que sa létalité apparemment inévitable ; autant de facteurs qui font de la chalarose une maladie aux

conséquences écologiques, économiques et culturelles potentiellement majeures. Les recommandations de gestions forestières ne permettant en rien d'enrayer la dynamique de la maladie, les espoirs se sont tournés vers l'exploitation d'un potentiel génétique de résistance détecté chez certains arbres. Associée à cette perspective, une meilleure connaissance du système de reproduction de *F. excelsior* - en sus d'ouvrir des pistes fascinantes de recherche fondamentale - est souhaitable afin d'éclairer la création variétale et son outil principal qu'est l'hybridation. C'est l'objet du présent travail.

Introduction

La sexualité des plantes à fleurs, tant à travers l'extraordinaire variation observée chez ces organes, que par la fascination et l'émotion que les fleurs suscitent chez les hommes, a attisé l'intérêt des biologistes depuis bien longtemps. Linné utilisa les variations au sein de ces structures pour fonder sa classification, et Darwin consacra plusieurs ouvrages à la sexualité des angiospermes. Les plantes terrestres présentent en effet un attirail déroutant de systèmes de reproduction sexuée, classifiés en fonction du mode de pollinisation (anémophilie, entomophilie), des mécanismes d'évitement de l'autofécondation (**hétérostylie**, **énantiostylie**, **dichogamie, herkogamie**, autoincompatibilité homomorphe - les mots en gras sont définis dans le glossaire A1 en annexe) et du polymorphisme sexuel en présence (**hermaphrodisme**, **monoécie**, **diécie**, **androdiécie**, **gynodiécie**, **triécie, polygamie**). Un défi pour les biologistes de l'évolution est de comprendre comment s'articulent ces différents systèmes de reproduction au sein des lignées. Le passage de l'hermaphrodisme (qui concerne la grande majorité des espèces de plantes à fleurs - 90 % des genres, Dufaÿ *et al.* 2014) à la diécie (5-6 % des espèces, Renner et Ricklefs 1995, Renner 2014), fait partie des schémas les plus intrigants, et est considéré comme une des transitions évolutives majeures dans l'histoire reproductive des angiospermes (Barrett 2010). Bien que peu d'espèces d'angiospermes soient documentées comme dioïques, ce mode de reproduction se retrouve dans 38 % des familles (Renner et Ricklefs 1995), suggérant une évolution multiple, dans différentes lignées (Dufaÿ *et al.* 2014). Les modèles théoriques mettent en évidence trois facteurs clés jouant un rôle lors du passage de l'hermaphrodisme à la diécie (Charlesworth 1999) : les conséquences négatives de l'autofécondation (dépression de consanguinité), l'allocation optimale de ressources aux fonctions mâle et femelle, et le contrôle génétique de l'expression sexuelle (Renner 2016).

Dans la même veine, Wallander (2001) insiste sur le fait que chez les plantes anémophiles, les interférences spatiales entre les organes mâle et femelle aboutissent à des conflits dont une résolution peut être la spécialisation sexuelle.

Ainsi ont émergé différents scénarios (qui sont l'objet de controverses parmi les biologistes) de chemins évolutifs de l'hermaphrodisme à la diécie. Les espèces hétérostylées (présence de groupes hétéromorphes autoincompatibles) ou hétérodichogames (séparation temporelle de la fonctionnalité des organes sexuels) pourraient être prédisposées à cette évolution. Cependant, nous n'avons à ce jour pas de documentation sur le passage par l'hétérodichogamie, et peu d'exemples ont été détaillés au sujet de l'hétérostylie (Dufaÿ *et al*. 2014). Les données les plus convaincantes peuvent être organisées en deux groupes de scénarios. Un premier groupe implique le passage par un état avec des individus cosexuels (monoïques). L'évolution vers des sexes séparés peut survenir si les individus monoïques subissent une sélection divergente aboutissant à un changement de ratio des fleurs mâles et femelles. Le second groupe de scénarios requière le passage par un stade intermédiaire où se côtoient des hermaphrodites et des individus unisexués, les hermaphrodites pouvant alors dans un deuxième temps se spécialiser vers le morphe complémentaire. Dans ce cas, deux chemins sont alors envisageables : la gynodiécie et l'androdiécie. Ce type de scénario est couramment qualifié de modèle « à deux mutations liées sur un chromosome » (« *two mutations linked on one chromosome* », Renner 2016), développé par Charlesworth et Charlesworth (1978). Chaque scénario n'a pas reçu la même attention de la part des biologistes. Premièrement, car l'abondance au sein des phylogénies des différentes situations paraît très inégale, et deuxièmement car au sein de chaque groupe de scénarios, des démarches différentes ont dominé. Ainsi l'approche théorique de Charlesworth et Charlesworth (1978), a longtemps fait autorité dans le domaine, ses lacunes étant pointées du doigt aujourd'hui (Renner 2016). Des études récentes d'estimation des fréquences des différents systèmes de reproduction chez les angiospermes (Dufaÿ *et al.* 2014, Renner 2014) ont permis de confirmer la cooccurrence à l'échelle du genre chez les angiospermes de la gynodiécie et de la diécie, ainsi que celle de la monoécie et de la diécie, suggérant que ces chemins ont été empruntés dans différentes lignées. Le chemin évolutif entre l'hermaphrodisme et la diécie qui apparaît le mieux étudié est le passage par la gynodiécie (pour un inventaire bibliographique sur la gynodiécie à propos de la détermination sexuelle, les modèles de stabilité et les données en faveur de cette transition, voir Spigler et Ashman 2011 et Dufaÿ *et al.* 2014).

En revanche, les données concernant l'androdiécie sont beaucoup plus éparses. Jusqu'à récemment, aucune étude n'avait pu rendre compte d'un passage de l'hermaphrodisme à la diécie par l'androdiécie, jusqu'à ce que Gleiser et Verdú (2005), puis Wallander (2008, 2012) et Vernet *et al.* (2016) montrent - à partir de données phylogénétiques - que ce pourrait être le cas dans les genres *Acer* ainsi que *Fraxinus*. L'androdiécie est passée pendant longtemps pour un système de reproduction très difficile à maintenir (Charlesworth et Charlesworth 1978, Lloyd 1975) - la diminution de moitié de la valeur sélective liée à la perte de la fonction femelle chez les hermaphrodites étant considérée comme difficile à compenser par un succès reproducteur doublé par la fonction mâle (Charlesworth 1984). Ce succès reproducteur doublé est représenté dans les modèles par un « avantage mâle » chez les individus unisexués, (par exemple une production de pollen deux fois plus abondante que celle des hermaphrodites) et constitue une condition nécessaire au maintien des mâles. Ainsi l'apparente rareté de l'androdiécie dans la nature semblait trouver une explication confortable. Cependant, chez *Phillyrea angustifolia* (Oléacées), un arbuste méditerranéen, on observe des populations androdioïques avec des fréquences de mâles très élevées, parfois supérieures à 50 % (Vassiliadis *et al*. 2002), qui ne peuvent être expliquées par les modèles précédemment cités. La découverte d'une auto-incompatibilité diallélique (AID) à deux groupes, séparant les hermaphrodites en deux groupes compatibles entre eux mais auto-incompatibles (Saumitou-Laprade *et al.* 2010), a permis de faire un grand pas en avant dans la connaissance du système de reproduction de *P. angustifolia*. En effet, dans ce rare système, les mâles peuvent se croiser avec les deux groupes d'hermaphrodites, tandis qu'un individu d'un groupe d'hermaphrodites ne peut se croiser qu'avec un membre de l'autre groupe. Ce système confère donc aux mâles des opportunités de reproduction doublées par rapport aux hermaphrodites. À la suite de cette découverte, des travaux théoriques ont montré que dans ce cadre, l'androdiécie était un équilibre stable et qu'un avantage mâle seulement supérieur à un autorisait les mâles à se maintenir (Husse *et al*. 2013). De plus, des taux de mâles supérieurs à 50 % et une sélection des mâles pour des avantages inférieurs à un ont pu être expliqués grâce à la mise en évidence d'une distorsion de ségrégation vers les mâles dans les croisements entre mâles et hermaphrodites d'un des deux groupes (Billiard *et al*. 2015).

Ce système d'autoincompatibilité a par la suite été mis en évidence chez d'autres espèces proches parmi les Oléacées : chez *Fraxinus ornus* (le frêne à fleurs, Vernet *et al.* 2016) et chez l'olivier (P. Saumitou-Laprade et P. Vernet, communication personnelle), suggérant une distribution large au sein de la famille. L'AID pourrait ainsi expliquer, chez les Oléacées, les fréquences élevées de certains systèmes de reproduction considérés comme

rares, comme la polygamie ou l'androdiécie, (11 % d'espèces androdioïques chez les Oléacées - Wallander 2001). Il faut également noter que l'AID a été conservée 40 millions d'années durant, date estimée de la divergence des lignées ayant donné naissance à *F. ornus* et *P. angustifolia* (Vernet *et al.* 2016). La persistance de cette AID chez les Oléacées, mise en relation avec la forte épistasie observée chez *P. angustifolia* entre les gènes de l'AID et ceux du sexe (Billiard *et al.* 2015), confirme que dans cette famille, on ne peut probablement comprendre la stabilité et l'évolution des différents systèmes de reproduction qu'en prenant explicitement en compte l'AID.

Au sein du cadre théorique des transitions de systèmes de reproduction, *Fraxinus excelsior*, le frêne commun (ou frêne élevé, en anglais *« European ash »*) apparaît comme un sujet d'étude tout à fait pertinent. En effet, *F. excelsior* fait partie de la section *Fraxinus* du genre *Fraxinus* dans laquelle on observe une transition entre polygamie et diécie (Wallander 2008, 2012, voir phylogénie du genre *Fraxinus* en annexe A2). Le frêne commun se caractérise par un système de reproduction polygame tout à fait particulier. Albert *et al.* (2013), à la suite de Binggeli et Power (1999), ont documenté un véritable continuum dans les morphes sexuels : les arbres présentent une plus ou moins grande proportion de fleurs staminées, de fleurs avec stigmate et étamines vestigiales ou de fleurs parfaites, résultant en des morphes (définis arbitrairement) mâle, hermaphrodite et femelle. Les auteurs ont donc considéré *F. excelsior* comme trioïque fonctionnel. Mais l'étude d'Albert et collaborateurs s'attache également à évaluer, dans une population sauvage et un verger à graines, la stabilité temporelle des différents morphes sexuels. De façon intéressante, il s'avère que les mâles montrent dans leur grande majorité une certaine stabilité de phénotype sexuel (ils restent classés mâles d'une année sur l'autre) tandis que les femelles et les hermaphrodites font preuve de bien plus de labilité. En effet, le passage d'hermaphrodite à femelle et le chemin inverse ont été observés à des fréquences relativement élevées : dans la population sauvage, 98 % des mâles sont restés classés mâles d'une année sur l'autre, tandis que les hermaphrodites ont été phénotypés l'année suivante à 20 % mâles, 15 % femelles et 65 % hermaphrodites, et que les femelles (dans le même intervalle de temps) sont pour plus de la moitié passées hermaphrodites, 45 % sont restées femelles, et moins de 4 % ont été classées mâles. Dans le verger à graines, les auteurs ont observé des conditions similaires, avec toutefois moins de transitions entre hermaphrodites et mâles (moins de 1 %) que dans la population sauvage. Les catégories morphologiques de « mâle », « hermaphrodite » et « femelle », ne revêtent donc pas la même réalité fonctionnelle. Deux ensembles peuvent sembler se dégager : les « mâles » d'un côté, les « hermaphrodites » et les « femelles » de

l'autre (Tal 2006). Cet auteur, comme FRAXIGEN (2005) et Bochenek (2011) a ainsi documenté *F. excelsior* comme **subdioïque**. Des populations expérimentales issues de celles de l'étude d'Albert *et al*. (2013), ont également un autre résultat intéressant. Des expériences préalables (qui restent à confirmer en population naturelles) menées par P. Saumitou-Laprade et P. Vernet (communication personnelle) avec des équipes de l'INRA d'Orléans et de Paris-Sud ont suggéré que l'AID serait présente chez *F. excelsior,* et que contrairement à la situation observée chez *F. ornus* et *P. angustifolia*, les mâles (et les individus les plus andromonoïques, désignés plus bas comme « mâles-andromonoïques ») de cette population appartiennent à un groupe d'incompatibilité. Ainsi, ces mâles-andromonoïques seraient de fait seulement compatibles avec les individus de l'autre groupe, des « hermaphrodites-gynomonoïques-femelles » - abrégé dans la suite en « hermaphrodites-femelles » (voir figure A3 en annexe, et partie résultats). Ces données de groupage, associées à un phénotypage sexuel effectué sur plusieurs années (voir annexe A4), montrent de façon robuste qu'une structure d'association sexe-incompatibilité est présente dans cette population ; ainsi l'image d'un système de reproduction au polymorphisme continu et complexe laisse la place à une réalité plus palpable. De plus, une telle séparation des morphes sexuels en deux ensembles distincts laisse penser qu'une transition vers la diécie puisse être en cours.

Se posent ainsi les questions suivantes : retrouve-t-on la même liaison entre morphes sexuels et groupes d'incompatibilité dans des populations naturelles de *F. excelsior* ? Quelles sont les conditions de maintien des différents morphes ? La triécie observée constitue-t-elle une étape intermédiaire vers la diécie ou à un état d'équilibre stable ?

Pour répondre à ces interrogations, nous chercherons, à travers deux approches complémentaires (empirique et modélisation) à dégager les spécificités de l'AID dans le cas du frêne. Dans la démarche empirique, grâce à des tests stigmatiques (Saumitou-Laprade *et al.* 2010, Vernet *et al.* 2016, voir plus bas), nous tenterons d'éclaircir la liaison entre sexe et incompatibilité dans des populations naturelles ; nous discuterons également la mise en place d'expériences préliminaires de recherche des avantages mâle et femelle à l'aide de comparaison de germination de pollen et de viabilité d'embryon. Enfin, nous développons *in silico* un modèle de génétique des populations visant à simuler les fréquences des génotypes dans une population trioïque en présence de l'AID, afin de saisir les modalités théoriques des transitions potentielles entre systèmes de reproduction. Afin de faciliter la lecture, les résultats seront présentés comme suit : ceux de chaque approche seront discutés dans deux parties séparées, suivis par une discussion générale.

Partie I – Données empiriques

Matériel et méthodes

1. Matériel d'étude

Le frêne commun (*F. excelsior* L.) est un arbre à feuillage caduc des forêts d'Europe du nord et d'Asie mineure (FRAXIGEN 2005), pouvant atteindre de très grandes tailles (30-40 m), mais le plus souvent mesurant de 12 à 18 m (Wardle 1961). *F. excelsior* est anémophile et ses fruits (des samares) sont disséminés par le vent. En France, la floraison survient au début du printemps (mars-avril) avant l'émergence des feuilles (mai), et dure environ 3 à 4 semaines (Rameau *et al.* 1989). Les fleurs de frêne sont petites, distribuées en inflorescences de type panicule, et n'ont ni corolle ni calice (Binggeli et Power 1999). Il existe une gradation dans la morphologie des fleurs, que l'on peut classifier en fleurs mâles, hermaphrodites et femelles (figure 1). Celles-ci sont présentes sur un même individu ou sur des individus différents (Binggeli et Power 1999, Wallander 2001), résultant en des spécimens plus proches d'un sexe « pur » ou de l'autre, s'insérant dans un véritable continuum de morphes sexuels (Binggeli et Power 1999, Albert *et al.* 2013). Albert *et al.* (2013) ont tiré de cette apparente complexité dans la détermination du genre quelques traits importants : 1° le déterminisme du genre présente une forte composante génétique, car le phénotype sexuel varie modérément d'une année sur l'autre chez un même arbre et les clones ont des genres identiques ; 2° les mâles-andromonoïques semblent posséder un avantage mâle pré-zygotique sur les hermaphrodites-femelles (lié à la densité de fleurs, à la quantité de pollen produite et à la phénologie de la floraison) ; 3° l'avantage « femelle » sur les « hermaphrodites » est quant à lui incertain, bien que Wallander (2001) ait suggéré qu'il pût exister certaines années sur la production de fruits.

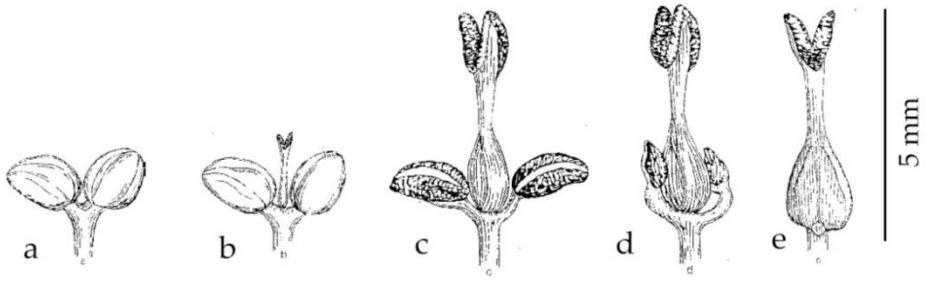


Figure 1. Les différents types de fleurs de *F. excelsior*, d'après Wallander (2001). a. mâle b. mâle avec un pistil rudimentaire c. hermaphrodite d. femelle avec des anthères rudimentaires e. femelle. Les fleurs avec gynécée vestigial (dessin b) et purement femelles (dessin e) n'ont pas été observées dans les populations étudiées. En revanche, des fleurs avec une étamine vestigiale et une « normale » ont été vues.

Dans la suite du travail, quand il s'agira d'individus (et non de fleurs), nous mettrons les termes « mâles », « hermaphrodites » et « femelles » entre guillemets car, étant donnée la grande continuité des morphes sexuels et l'absence de critères communs, la signification de ces termes varie en fonction des auteurs et des données disponibles. Nous nous dispenserons de l'usage des guillemets lorsque des précisions seront apportées sur l'usage des termes, ou lorsqu'ils désigneront des groupes fonctionnels comme mâles-andromonoïques.

Les deux populations sauvages étudiées se situent dans le parc national des Cévennes (France). Il s'agit de celle de Camprieu ($n = 88$, latitude 44° 06', longitude 3° 28', altitude 1105-1144 m, département du Gard) et de celle d'Aures sur le Causse Méjean ($n = 52$, latitude 44° 12', longitude 3° 28', altitude 1043 m, commune de Gatuzières, département de la Lozère). À ces deux populations vient s'ajouter la population expérimentale de l'INRA d'Orléans ($n = 32$, voir plus bas). Tous les nombres d'individus mentionnés sont ceux inclus dans l'étude.

2. Analyse des phénotypes sexuels

Nous avons utilisé deux approches pour déterminer les phénotypes sexuels : 1° à partir d'inflorescences de l'année 2016, et 2° grâce à la quantification des fruits produits en 2015.

1° Deux ou trois rameaux des 140 individus (issus des deux populations sauvages) ont été prélevés à l'échenilloir à une hauteur de 2 à 4 mètres sur différentes parties de l'arbre. Les parties de rameau portant les bourgeons les plus gros ont été mises en condition de serre à 20°C, dans des pots de culture hydroponique contenant de l'eau sous sachet plastique hermétique et transparent, afin qu'ils attinssent l'ouverture des bourgeons floraux. Le sexe de 80 individus a ainsi pu être déterminé à partir de l'observation de deux ou trois inflorescences issues des bourgeons. Nous avons utilisé un système de notation graduel pour le sexe des individus : de 1 (toutes les fleurs de toutes les inflorescences sont mâles) à 7 (toutes les fleurs de toutes les inflorescences sont femelles), analogue à celui établi par Albert *et al.* (2013), en comptant les fleurs des différents types (figure 1) sur les rameaux prélevés. Les 7 catégories correspondent à : 1, uniquement des fleurs mâles ; 2, individus **andromonoïques** avec quelques fleurs hermaphrodites (moins de 50%) dans des inflorescences mâles ; 3, andromonoïques, avec majoritairement des fleurs bisexuées et quelques fleurs mâles (moins de 50 %) ; 4, seulement des fleurs hermaphrodites ; 5, individus **gynomonoïques**, portant en majorité des fleurs hermaphrodites avec quelques fleurs femelles (moins de 50 %) ; 6, gynomonoïques avec quelques fleurs hermaphrodites (moins de 50 %) dans des inflorescences femelles ; 7, uniquement des fleurs femelles. Des notations intermédiaires ont été utilisées

quand des inflorescences contenaient des associations différentes. Par exemple 1,5 : une inflorescence était entièrement mâle et l'autre était andromonoïque (de note égale à 2) - à noter que, sur un même individu, des associations d'inflorescences de classes très différentes sont exceptionnelles mais possibles.

2° Les individus présentant des fruits ont été pris en photo à l'automne 2015 afin d'effectuer une estimation du succès reproducteur associé à la voie femelle. Les fruits portés par les arbres ont été produits lors de la saison 2015, bien que certains (très faibles quantités) pussent provenir de la saison 2014. En mars 2016, de nouvelles photos ont été prises. Nous n'avons pas pu réaliser une quantification précise, en raison de la densité parfois importante de feuilles sur les photos, du chevauchement des arbres sur un même cliché, de la netteté de la prise de vue ou de l'hétérogénéité du fond. En revanche, une classification en 6 classes a été construite, 0 : absence de fruit (ou non fleuri), 1 : quelques rares fruits ou rafles (restes de fruits), 2 : des fruits sur moins de 50 % de l'arbre, 3 : des fruits sur la moitié de l'arbre, 4 : des fruits sur plus de la moitié de l'arbre, et 5 : des fruits sur la totalité de l'arbre.

3. Tests stigmatiques interspécifiques

Afin de déterminer la liaison entre groupe d'incompatibilité et morphe sexuel, des tests stigmatiques ont été conduits à partir de stigmates et de pollens de frêne et de filaire. On peut définir un test stigmatique comme une mise en évidence de la compatibilité ou de l'incompatibilité de croisement d'un individu avec des groupes d'incompatibilité préétablis. Chez *P. angustifolia*, deux groupes d'hermaphrodites ont été identifiés (Saumitou-Laprade *et al.* 2010), correspondant sur la base de croisements (Billiard *et al.* 2015) à des individus homozygotes pour le locus d'incompatibilité (s_1 / s_1) ou hétérozygotes (s_1 / S_2), appelés respectivement groupe a et groupe b. On retrouve les mêmes groupes chez *F. ornus* (Vernet et al. 2016) et chez *F. excelsior* (voir résultats et figure 2) : c'est-à-dire que la réaction de germination de pollen sur les stigmates (croissance des tubes pollinique, voir figure 2) est conservée entre les espèces. Les fleurs utilisées proviennent des rameaux évoqués au paragraphe précédent. Dans le protocole, les sachets plastiques permettent : d'empêcher les contaminations de pollen, de créer une chambre humide qui limite la transpiration et de suivre la maturation des anthères. Pour chaque individu présentant des fleurs à maturité, les tests ont été réalisés avec du pollen (pour les individus morphologiquement plus « mâles »), des stigmates (pour ceux plus « femelles »), ou les deux si la présence des deux types de fleurs le permettait. Les gynécées ont été transférés en boîtes de Pétri sur un milieu contenant 0,8%

d'agar, et un milieu de Brewbaker et Kwack (Brewbaker 1957) où ils ont été pollinisés (à l'aide d'un cure-dent en bois) avec du pollen de *P. angustifolia* dont le groupe d'incompatibilité était connu. De même, des tests symétriques ont été effectués avec des stigmates de filaire des deux groupes, pollinisés par du pollen issu de *F. excelsior*, suivant le même protocole. Une fois pollinisés, les gynécées ont été laissés à 20°C pendant 12 heures (pour permettre la croissance des tubes polliniques) avant d'être fixés dans une solution FAA (formaldéhyde, acide acétique, éthanol, voir en annexe A5 la formule exacte) pendant au moins 24h. Puis après que trois lavages à l'eau osmosée eurent été effectués, ils ont été passés au bain marie une heure à 65 °C, dans du colorant Z (Jahier *et al.* 1992, voir annexe A5). Enfin, les stigmates et styles ont été séparés au scalpel du reste du gynécée puis placés et écrasés délicatement entre lame et lamelle dans une goutte de bleu d'aniline pour analyse au microscope à fluorescence (Martin 1959, Jahier *et al*. 1992). Nous considérions un croisement entre donneur de pollen et receveur comme compatible quand nous observions la germination conjointe de plusieurs tubes polliniques, convergeant vers le style dans une figure d'attrition progressive (figure 2b et c). L'absence de tubes polliniques, ou la présence de seulement quelques tubes n'allant pas plus loin que les premières couches de cellules du stigmate, nous servaient de critère pour l'incompatibilité (figure 2a et d). L'appartenance d'un individu à un groupe dépend ainsi de l'incompatibilité du croisement avec un groupe et de la compatibilité avec l'autre groupe. Si les deux croisements montrent une figure de compatibilité, l'existence d'un troisième groupe

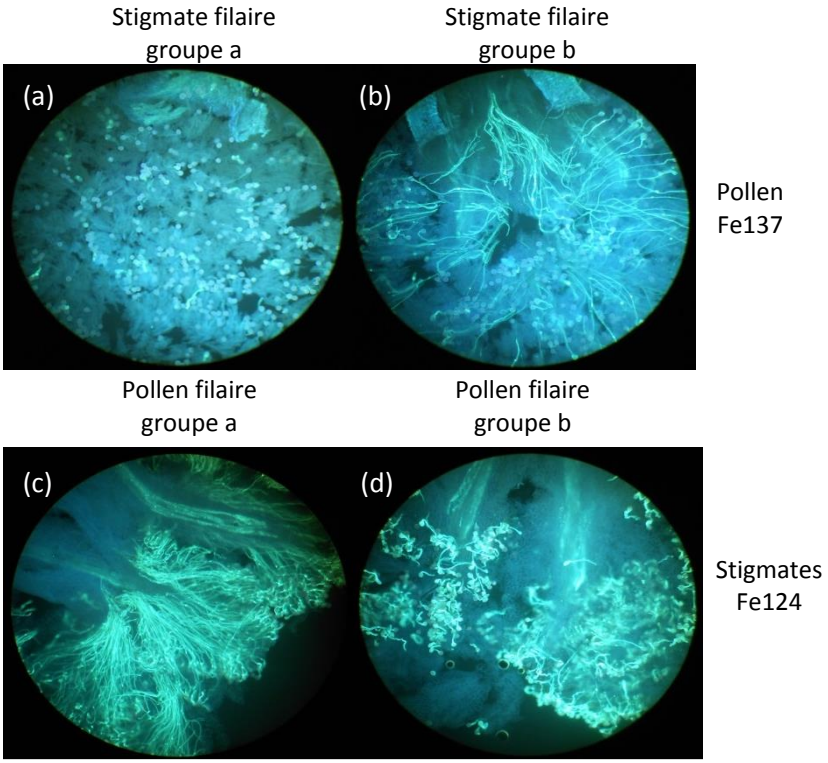


Figure 2. Exemples de tests stigmatiques sur les individus (*F. excelsior*) Fe137 et Fe124 ; prises de vue au microscope à fluorescence ($G \approx\times 60$). Le test de Fe137 est effectué à partir de son pollen, sur des stigmates de *P. angustifolia* des deux groupes. Pour Fe124, ce sont des stigmates qui ont été utilisés, avec du pollen de *P. angustifolia*. Les figures (a) et (d) sont des figures d'incompatibilité (quelques tubes polliniques peu développés ou absence de tubes ; (b) et (d) sont des figures de compatibilité (de nombreux tubes convergeant vers le style).

est mise en évidence. Les tests étaient répétés trois fois (quand la quantité de fleurs récupérée était suffisante). Nous avons suivi un protocole identique à celui utilisé dans des travaux précédents sur *P. angustifolia* (Vassiliadis *et al*. 2000, Saumitou-Laprade *et al.* 2010) et sur *F. ornus* (Vernet *et al.* 2016).

4. Etude de la viabilité des embryons

Des fruits de l'année 2015 issus de la collection de l'INRA d'Orléans ont été récupérés en fin d'année 2015. Les graines ont été extraites puis nous avons suivi le protocole de Raquin *et al.* (2002), qui permet d'éviter le traitement classique de 32 semaines. Nous avons donc trempé les graines dans une solution de soude à 0,3 M pendant 20 min, puis l'hydratation et un début de stérilisation ont été obtenus en plongeant les graines dans une solution d'hypochlorite de calcium ($Ca(ClO)_2$) à 0,2 % (concentration massique) pendant une nuit à 4°C. Enfin, la stérilisation a été terminée dans une solution d'hypochlorite de calcium à 2 % (concentration massique). Les graines endommagées, contaminées, ne contenant pas d'embryon ou avec un embryon nécrosé ont été écartées. Après stérilisation, nous avons retiré la pellicule de péricarpe et coupé les bords des graines avant de les déposer sur un milieu de culture H_0 (voir Raquin *et al.* 2002 pour la composition des milieux) et de transférer le tout dans une chambre de culture pour 24 h (ratio J:N 16:8) à 20°C. À la suite de ce traitement, les embryons se libèrent facilement de l'endosperme et sont transférés sur un milieu de culture H_{10}, en chambre de culture, jusqu'à ce qu'ils fussent suffisamment robustes pour être mis en terre (environ 10 jours plus tard). Pour évaluer la viabilité des embryons, nous avons comparé les pourcentages d'embryons absents dans les graines et d'embryons ne se développant pas sur gélose sur $n = 11$ descendances maternelles, avec une quantité initiale de fruits d'environ 40 graines par mère. Elles ont été répartis en groupes suivant leur note de phénotype sexuel : les mâles-andromonoïques (MA, note inférieure à 2,5 ; $n = 2$), « hermaphrodites » (H, note entre 3 et 4,5 ; $n = 5$) et gynomonoïques-femelles (GF, note supérieure à 5 ; $n = 4$).

5. Etude de la germinabilité du pollen *in vitro*

Du pollen (conservé à 4°C pendant 4 semaines puis à - 80°C) de différents individus issus des populations de Camprieu et de Aures (appartenant aux groupes a ou b) a été déposé sur boîte de Pétri (milieu de Brewbaker et Kwack supplémenté en sucrose à 11%, Brewbaker 1957), puis laissé 12h à température ambiante afin de permettre la germination des grains et la croissance des tubes polliniques. Les échantillons ont ensuite été observés au microscope optique pour évaluer la proportion de grains germés. Huit photos ont été prises pour chaque

échantillon, en tâchant de donner une vision représentative de l'ensemble de l'échantillon. Un grain d'aspect homogène, ne possédant aucune excroissance (ou une excroissance de faible taille : moins de deux fois le diamètre du grain), était compté comme non germé. Un grain dont partait un tube pollinique de taille supérieure à deux fois le diamètre du grain était compté comme germé. Nous avons éliminé du comptage tous les grains en bordure de cliché (qui peuvent avoir germé du côté non visible de la photo), les grains d'aspect trop inhomogène, ainsi que les zones trop denses.

6. Traitement statistique

Les tests statistiques ont été menés sous R 3.2.2 avec les fonctions *lm*, *glm* et *glht* du *« package » multcomp*.

Résultats et discussion

1. Analyse des phénotypes sexuels

Les deux méthodes de détermination des phénotypes sexuels montrent une bonne correspondance (figures 3 et 4). Les individus mâles-andromonoïques (note $\leq 2{,}5$), n'ont dans leur grande majorité produit aucun fruit ou une très faible quantité. Parmi les morphes de note supérieure ou égale à 3,5, la proportion d'arbres ayant produit une grande quantité de fruits est bien plus importante, avec toutefois quelques arbres sans beaucoup de fruits (production annuelle variable, voire pas de floraison certaines années). Chez les individus hermaphrodites-femelles, il ne semble pas exister de structure dans la répartition de la densité de fruits. Des individus de phénotype sexuel 1,5 et 2 (individus 63 et 31, figure 4) font figure d'exceptions dans cette distribution. Les clichés de ces arbres pris à l'automne 2015 montrent une forte densité de fruits, ce qui est contradictoire avec la note de phénotype sexuel. Ces exemples illustrent l'intérêt d'utiliser deux approches de phénotypage complémentaires : la notation à partir de fleurs sur quelques inflorescences, qui peut se révéler imprécise, est parfois démentie par une observation d'ensemble. La répétition des mesures sur plusieurs années permet d'accéder à un phénotype plus précis. L'équipe d'Orsay a effectué des mesures de phénotype sexuel sur une période de 9 ans, sur plusieurs clones, dans un verger à graines de Normandie contenant de nombreux clones (dont la population d'origine provient de quatre départements en Haute et Basse Normandie). La collection de l'INRA d'Orléans (voir figure A4 en annexe) est issue de ce verger. On observe une assez bonne stabilité au cours du temps

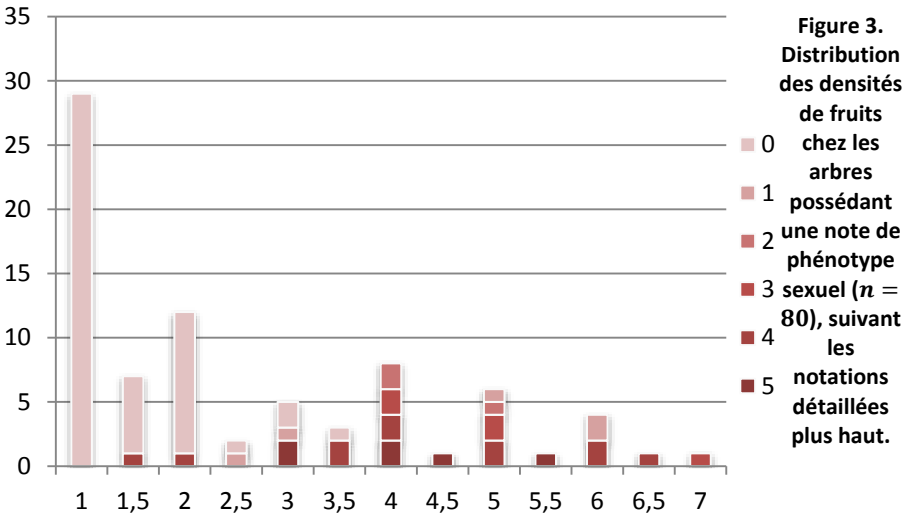


Figure 3. Distribution des densités de fruits chez les arbres possédant une note de phénotype sexuel ($n = 80$), suivant les notations détaillées plus haut.

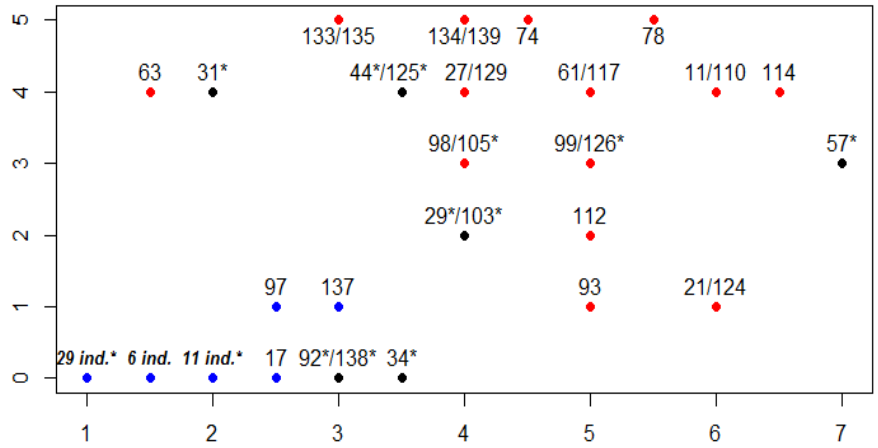


Figure 4. Nuage de points des densités de fruits, (produits à la saison 2015 et observés à partir des photos prises à l'automne 2015, populations des Cévennes) en fonction de la note de phénotype sexuel (établie sur des bourgeons de 2016), ($n = 80$). Les points en bleu sont ceux correspondant au groupe a, ceux en rouge au groupe b et ceux en noir aux individus non typés pour le groupe d'incompatibilité. Chaque point correspond à un, deux, ou plusieurs individus, référencés à côté de chaque point. Un astérisque signale que l'arbre en question n'a pas été typé pour le groupe d'incompatibilité ; s'il y a plusieurs individus, la couleur du point correspond à l'individu typé. Les trois points de coordonnées$(1 ; 0)$, $(1,5 ; 0)$, et $(2 ; 0)$ regroupent respectivement 29 (dont 5 non groupés), 6 (0 non groupé) et 11 individus (5 non groupés). Voir paragraphe suivant pour les groupes d'incompatibilité.

pour la plupart des génotypes. Les individus dont le phénotype sexuel variait le plus sont majoritairement des individus de note supérieure à 3, passant d' « hermaphrodite » à « femelle » ou à « gynomonoïque » ; mais des individus en moyenne « hermaphrodites » ont pu être notés 1 ou 2 certaines années, suggérant que l'investissement vers la voie femelle constitue un coût important, qui n'est pas renouvelé chaque année.

2. Tests stigmatiques interspécifiques

Les tests stigmatiques ont pu être menés sur les 80 individus des Cévennes ayant débourré et présenté au moins une inflorescence. Nous avons pu conclure quant au groupe d'incompatibilité chez 59 individus, 39 s'avérant du groupe a (soit 66 %) et 20 du groupe b (34 %). Nous retrouvons bien les deux groupes d'incompatibilité rencontrés dans le verger de Normandie (voie annexe A3), et aucun arbre n'appartient à un troisième groupe (pas de compatibilité avec les deux groupes).

La distribution des groupes d'incompatibilité au sein des morphes sexuels est présentée en figure 5. Nous observons dans les populations naturelles la même association qu'à Orléans (voir figure A3 en annexe), c'est-à-dire une ségrégation des morphes mâles-andromonoïques (note $\leq 2{,}5$) au sein du groupe a et des morphes hermaphrodites-femelles (note ≥ 4) au sein du groupe b. L'incohérence quant à l'individu 63 est expliquée dans la partie précédente.

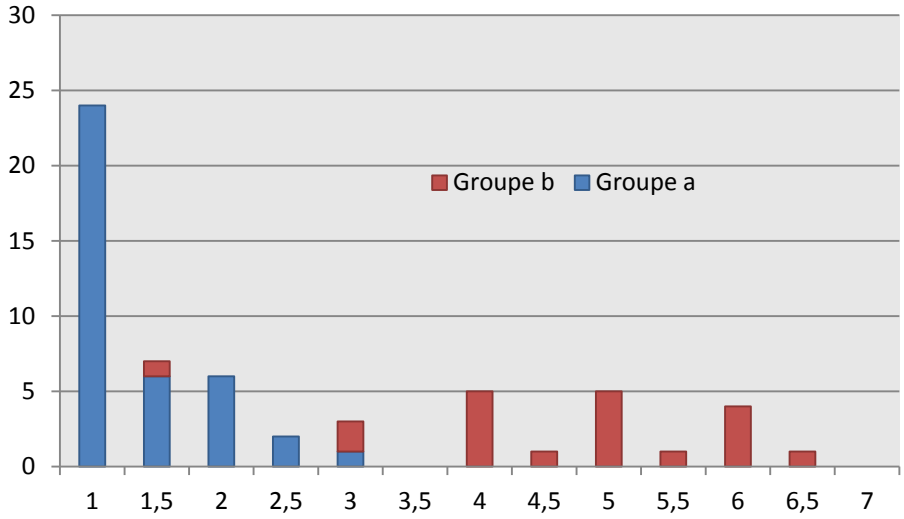


Figure 5. Distribution des groupes d'incompatibilité en fonction de la note de phénotype sexuel (de 1 à 7) attribuée à partir de l'observation de 3 inflorescences, populations des Cévennes. $n = 59$

3. Etude de la viabilité des embryons

Aucun effet significatif du groupe de morphes sexuels n'a été détecté sur les pourcentages d'embryons absents (Test du Khi-deux à 2 degrés de liberté, $P = 0{,}14$). En revanche, des différences significatives de pourcentage d'embryons qui ne se développent pas ont été mises en évidence : entre les MA (27,6 %) et les GF (0,8 %), mais également entre les H (27,4 %) et les GF (Tests multiples de Tukey, $P < 10^{-3}$ pour les deux tests). Il n'existe pas de différence significative entre les MA et les H ($P > 0{,}9$). Si on teste sur l'ensemble des facteurs de non viabilité (embryons absents et embryons qui ne se développent pas), alors on obtient les mêmes différences significatives que précédemment (Tests multiples de Tukey, MA / GF : $P < 10^{-3}$; H / GF : $P < 10^{-5}$, MA / H : $P = 0{,}99$). Les taux moyens d'embryons non viables sont alors de 28,5 % pour les MA, de 26,7 % pour les H et de 6,2 % pour les GF (voir tableau 1). Cependant, il faut noter qu'il existe de très forts écarts-types dans les distributions des pourcentages d'embryons non viables dans chacun des groupes, suggérant une très forte variabilité interindividuelle.

Individu	Groupe	Note sexe	Groupe sexe	Embryons absents	%	Embryons ne se dév. pas	%	Embryons non viables (%)	Moyenne et écart-type
Fe14 (2)	NA	1,33	MA	0	0	14	45,2	45,2	28,5 (23,6)
Fe42 (2)	G2	1,69	MA	1	2,9	3	10,0	11,8	
Fe5	NA	4,3	H	1	3,1	5	16,1	18,8	26,7 (22,7)
Fe6 (1)	G1	3,22	H	5	12,2	1	3,2	14,6	
Fe7 (2)	G1	3,87	H	0	0	1	3,2	3,2	
Fe32 (2)	G1	3,87	H	4	9,5	22	59,5	61,9	
Fe46 (2)	G1	3,85	H	4	9,3	11	55,0	34,9	
Fe11 (1)	G1	6,78	GF	0	0	0	0,0	0,0	6,2 (5,9)
Fe16 (2)	NA	5,45	GF	4	14,3	0	0,0	14,3	
Fe41 (2)	G1	5,71	GF	2	5,3	0	0,0	5,3	

Tableau 1. Résultats de l'expérience de viabilité des embryons issus de mère andromonoïque (MA), hermaphrodite (H) ou gynomonoïque-femelle (GF), comme définis plus haut. Les arbres sont issus de la collection d'Orléans. NA indique que l'individu n'a pas été assigné à un groupe d'incompatibilité. Les pourcentages d'embryons absents et non développés sont rapportés aux totaux d'individus présents dans la manipulation, moins les graines écartées car contaminées. Le numéro (1 ou 2) entre parenthèses désigne le clone si l'arbre en possède plusieurs.

4. Etude de la germinabilité du pollen *in vitro*

Les taux de germination des pollens du groupe b sont plus importants que ceux du groupe a (Test de Wald, $n = 12$; $z = -2{,}364$; $P < 0.05$). Ce résultat nous paraît contre-intuitif, car nous nous attendions à ce que les individus mâles-andromonoïques du groupe a eussent un pollen plus performant que celui des individus du groupe b. Toutefois, les faibles taux de germination moyens observés (gr. a : 5,8 % et gr. b : 8,6 %), comparés à ceux obtenus par l'INRA 1° sur des pollens de la même population (56,1 % et 65,8 %) et 2° sur des pollens de la collection d'Orléans (46,9 % et 53,4 %) laissent penser que nos résultats ne sont pas fiables. Nous ne parvenons pas à comprendre ce qui est à l'origine de telles différences.

5. Discussion des résultats empiriques

Nos résultats montrent que l'association mâles-andromonoïques / groupe a d'une part, hermaphrodites-femelles / groupe b d'autre part, est robuste ; nous la retrouvons dans deux populations sauvages des Cévennes et dans la population expérimentale d'Orléans. Il y aurait donc deux blocs d'individus, présentant une certaine unité génétique et phénotypique : les mâles-andromonoïques du groupe a et les hermaphrodites-femelles du groupe b. Les deux groupes d'incompatibilité, autoincompatibles mais compatibles entre eux, semblent ainsi tendre chacun vers un morphe sexuel, ce qui peut suggérer une transition en cours vers la diécie. Pour évaluer le degré de dimorphisme fonctionnel entre les groupes d'incompatibilité,

il faut estimer les performances de la voie femelle des membres du groupe a et de la voie mâle des membres du groupe b. Les densités de fruits produites soulignent cette tendance au dimorphisme, avec peu ou pas de fruits produits dans le groupe a. En revanche, les données obtenues sur les viabilités d'embryons et de germinations de pollens ne donnent pas exactement la même image. Les grains de pollens des individus des deux groupes ont germé *in vitro*. Les arbres du groupe a ayant peu ou pas de fonction femelle, nous supposions que leur maintien impliquait une fonction mâle plus performante que celle des hermaphrodites. Nous n'avons pas retrouvé cette tendance. D'autres expériences (Wallander 2001, Morand-Prieur *et al*. 2003) ont également permis d'évaluer les taux de germination *in vitro* de pollens frais de « mâles », d' « hermaphrodites » et de « femelles » (suivant leur classification). Les taux moyens étaient compris entre 2 % et 57 %, et s'avéraient identiques pour les « mâles » et les « hermaphrodites » (Morand-Prieur *et al*. 2003) ou au contraire différents, les « mâles » germant mieux que les « hermaphrodites », qui eux germent mieux que les « femelles » (plus exactement des gynomonoïques, Wallander 2001). Des données obtenues précédemment (stage de L3 de Thomas Lesaffre) suggèrent que les quantités de pollen produites diffèrent entre les deux groupes. Grâce à un comptage des grains de pollen (Casy Cell Counter, Schärfe System) de fleurs de *F. excelsior* de la collection d'Orléans, il a montré que les fleurs d'individus du groupe a produisaient en moyenne deux fois plus de pollen que celles du groupe b (Test bilatéral de Wilcoxon, $n = 18,\ W = 269,\ P < 10^{-9}$). Wallander (2001) et Albert *et al*. (2013) ont également rapporté que les anthères de « mâles » contenaient plus de pollen que celles des « hermaphrodites ». Mais il faut également noter que le pollen des « hermaphrodites » (donc de potentiels individus du groupe b) semble fonctionnel : des autofécondations auraient été reportées (Wallander 2001, Morand-Prieur *et al*. 2003, FRAXIGEN 2005), tout comme des allofécondations (FRAXIGEN 2005). L'expérience de viabilité d'embryons laisse penser que les mâles-andromonoïques et les « hermaphrodites » investiraient moins dans la production d'embryons viables que les gynomonoïques-femelles. Il est difficile de conclure quant à cette donnée étant donnée la labilité du phénotype sexuel d'une année sur l'autre entre « hermaphrodites » et « femelles » (Albert *et al*. 2013). De plus, il faut garder à l'esprit que le succès reproducteur des voies mâle et femelle intègre de nombreuses composantes : nombre de fleurs produites, quantité de pollens ou d'ovules, germinabilité des grains de pollen et des graines, viabilité des descendants, phénologie de floraison, etc. Ici, les « hermaphrodites » et les « femelles » ne se distinguent pas par la quantité de fruits produite (figure 3), comme dans les études d'Albert *et al*. (2013), de Wallander (2001) et FRAXIGEN (2005). Enfin, les auteurs ont montré que l'intensité de

floraison des « mâles » était plus forte que celle des autres groupes et que la phénologie de floraison différait - sauf chez Wallander (2001).

Il ressort de ces expériences qu'une divergence des investissements dans les voies mâle et femelle existe chez *F. excelsior*, et qu'elle n'est pas homogène sur les différentes composantes du succès reproducteur. Mais les expériences de comparaison de viabilité d'embryons et de germination de pollen ont été conduites sur du matériel qui n'a pas été récolté dans cette optique, d'où les échantillons de faibles tailles et les méthodes de conservation inadaptées. Aussi, il apparaît nécessaire de reprendre ces expériences en élargissant l'échantillonnage et en tenant compte d'un maximum des composantes du succès reproducteur mâle ou femelle.

Ayant apporté des précisions sur la biologie reproductive de l'espèce, il semble pertinent de comprendre les modalités théoriques de stabilité de ce régime de reproduction, ainsi que les conditions d'un passage à la diécie. Dans ce but, nous développons dans la suite un modèle de génétique des populations où se côtoient les différents morphes sexuels en présence de l'AID.

Partie II – Modélisation

Méthodes

Les modèles que nous développons dans cette étude sont des modèles génotypiques déterministes de génétique des populations, comprenant différents morphes sexuels et une AID, donc deux groupes auto-incompatibles et compatibles entre eux, analogue de la situation biologique. Nous nous plaçons en population infinie et non structurée d'individus diploïdes mâles, hermaphrodites ou femelles, avec l'AID monolocus à déterminisme sporophytique (individus homozygotes s_1 / s_1 définissant le groupe a ou s_1 / S_2, définissant le groupe b - en majuscule les allèles dominants, en minuscule les allèles récessifs). Les mâles produisent du pollen uniquement, les femelles des ovules uniquement et les hermaphrodites produisent les deux types de gamètes. Ici, il n'y a donc pas de continuum dans les morphes sexuels, mais trois groupes bien distincts. Dans une première étape, nous étudions les conditions de maintien d'un morphe unisexué (mutation de stérilité femelle ou de stérilité mâle), dans une population hermaphrodite. La mutation de stérilité femelle est dans tous les modèles liée à l'allèle s_1 (cette situation de dominance et de liaison correspond à l'AID observée chez *P.*

angustifolia). La stérilité mâle pourra être liée à s_1 ou à S_2, et être dominante ou récessive (à l'exception du cas où elle est récessive et liée à S_2, voir plus bas). Dans une seconde partie nous introduisons à l'équilibre des modèles précédents le morphe complémentaire par une mutation de stérilité mâle ou femelle, liée à s_1 ou à S_2. Le morphe mutant nouvellement formé a une fréquence d'un dixième du morphe duquel il est issu, ce dernier se retrouve dans l'étape suivante avec les neuf dixièmes restant. Nous appelons K l'avantage mâle relatif lié à la production de pollen (ratio de la quantité de pollen produite par les mâles sur celle produite par les hermaphrodites) – si les mâles produisent plus de pollen que les hermaphrodites, alors $K > 1$. De même, G désigne l'avantage femelle relatif lié à la production d'ovules, analogue de l'avantage K. Les locus gouvernant la stérilité femelle (f_s / F_n – femelle-stérile / femelle-normale - ou F_s / f_n), de la stérilité mâle (m_s / M_n ou M_s / m_n), et celui de l'incompatibilité sont liés et non recombinants. Dans l'ensemble, nous avons cinq classes phénotypiques potentielles : H_a (hermaphrodites s_1 / s_1), H_b (hermaphrodites s_1 / S_2), M_a (mâles s_1 / s_1), F_a (femelles s_1 / s_1), F_b (femelles s_1 / S_2). Comme dit précédemment, la liaison de l'allèle d'incompatibilité (s_1 ou S_2) avec la mutation de stérilité mâle est variable, et la plausibilité des différentes situations est discutée – voir les différents modèles possibles dans le tableau 2. Nous n'étudions pas les cas où la stérilité mâle est génétiquement liée à la stérilité femelle (quelles que soient les combinaisons de dominance et de récessivité des deux allèles), car il ne pourrait y avoir coexistence des trois morphes (la production d'individus stérile pour un sexe impliquerait la stérilité pour l'autre sexe), bien que la situation soit théoriquement possible. De plus, l'allèle de stérilité mâle (quand celle-ci est récessive) ne peut pas non plus être lié à l'allèle S_2, car il est alors impossible de produire des femelles S_2 / S_2 (fécondation entre deux individus S_2, incompatibles).

Quand nous mentionnerons plus bas des phénotypes sous les appellations H_a, H_b, M_a, F_a et F_b, il s'agira de l'ensemble des génotypes produisant ces phénotypes.

Nous ne prenons pas en compte la dérive, car nous voulons analyser en premier lieu l'effet de la sélection sur les transitions de systèmes de reproduction. Ajouter de la dérive en outre compliquerait et multiplierait les analyses en introduisant de la stochasticité. De plus nous choisissons de ne prendre en compte la sélection que sur la voie mâle (une sélection fréquence dépendante sur la quantité de pollen), et pas sur la voie femelle : nous nous plaçons dans le cadre du modèle de Wright, où le nombre d'ovules produits par les hermaphrodites est non limitant et où tous les ovules sont fécondés ; l'issue des croisements dépend des fréquences des génotypes au sein du nuage pollinique.

À chaque génération, les génotypes en très faibles fréquences ($< 10^{-5}$) sont éliminés en mettant leur fréquence à zéro, car le logiciel ne peut descendre en dessous de certaines valeurs, qui seraient autrement atteintes. L'équilibre non trivial est repéré en lançant la simulation avec de nombreux jeux de paramètres initiaux (pour la première étape). Sa stabilité est évaluée en relançant des simulations à partir des fréquences proches de celles à l'équilibre pour vérifier si le système retourne à cet équilibre. Toutes les simulations sont des simulations numériques, les approches analytiques étant difficiles dans ce type de modèles (S. Billiard, C. Lepers, communication personnelle). Le tableau de croisement de chaque modèle est donné en annexe A6, ainsi qu'un exemple d'équations.

	Modèle	Stérilité mâle	Stérilité femelle	Phénotypes potentiellement présents	
				Groupe a	Groupe b
Première étape	M1	NA	Récessive Liée à s_1	H_a, M_a	H_b
	F1	Récessive Liée à s_1	NA	H_a, F_a	H_b
	F2	Dominante Liée à s_1	NA	H_a, F_a	H_b, F_b
	F3	Dominante Liée à s_2	NA	H_a	H_b, F_b
Deuxième étape	M1.F1	Récessive Liée à s_1	Récessive Liée à s_1	H_a, M_a, F_a	H_b
	M1.F2	Dominante Liée à s_1		H_a, M_a, F_a	H_b, F_b
	M1.F3	Dominante Liée à s_2		H_a, M_a	H_b, F_b
	F1.M1	Récessive Liée à s_1		H_a, M_a, F_a	H_b
	F2.M1	Dominante Liée à s_1		H_a, M_a, F_a	H_b, F_b
	F3.M1	Dominante Liée à s_2		H_a, M_a	H_b, F_b

Tableau 2. Inventaire des différents modèles étudiés, en fonction des allèles de stérilité en présence, de leur dominance et de leur liaison au groupe d'incompatibilité, ainsi que des phénotypes en présence. L'acronyme NA signifie que la mutation n'a pas été introduite dans ce modèle. Pour chaque modèle, la lettre désigne le morphe unisexué introduit, les nombres 1, 2 ou 3 désignent respectivement les mutations de stérilité : récessive liée à s_1, dominante liée à s_1 ou dominante liée à S_2. Le modèle M1.F3 correspond donc à l'introduction d'une stérilité femelle récessive liée à s_1 suivie d'une stérilité mâle dominante liée à S_2.

Les simulations ont été conduites sous R 3.2.2, sur 1000 générations le plus souvent.

Résultats et discussion

1. Résultats

Dans une première étape, à partir d'un état initial hermaphrodite, nous introduisons une mutation de stérilité mâle ou femelle, accompagnée d'un avantage pour les unisexués nouvellement apparus. Sachant que nous avons considéré la mutation de stérilité femelle comme forcément récessive et liée à s_1, il n'y a qu'un seul état initial de coexistence potentielle hermaphrodites / mâles (modèle M1, voir tableau 2). En revanche, il y a trois états initiaux pour l'introduction de la mutation de stérilité mâle correspondant aux situations : récessive liée à s_1, dominante liée à s_1, dominante liée à S_2 (modèles F1, F2, F3). Les groupes a et b représentent chacun 50 % en fréquence dans tous les modèles, cela en raison d'une forte sélection fréquence-dépendante sur ces groupes (chaque individu nouvellement produit a nécessairement un père et une mère, qui appartiennent chacun à un groupe différent). Nous obtenons à l'équilibre des résultats similaires à ceux de Lewis (1941) et Lloyd (1975) c'est-à-dire que les unisexués n'apparaissent qu'à partir d'un avantage supérieur à deux et tendent, pour des avantages infinis, à atteindre 50 % en fréquence (figure 6a). La seule exception concerne l'introduction de la mutation de stérilité mâle dans le cas où celle-ci est dominante et liée à s_1 (modèle F2, figure 6b), car on produit deux types de femelles (F_a et F_b). Les résultats sont néanmoins analogues à ceux des autres modèles, car les unisexués ne se maintiennent qu'à partir d'un avantage égal à deux et envahissent avec une dynamique similaire à l'intérieur de leur groupe d'incompatibilité.

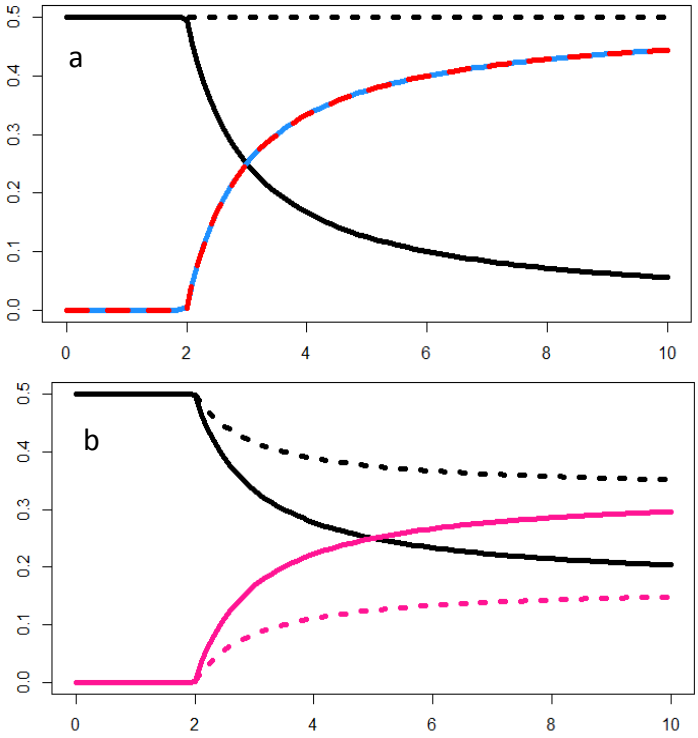
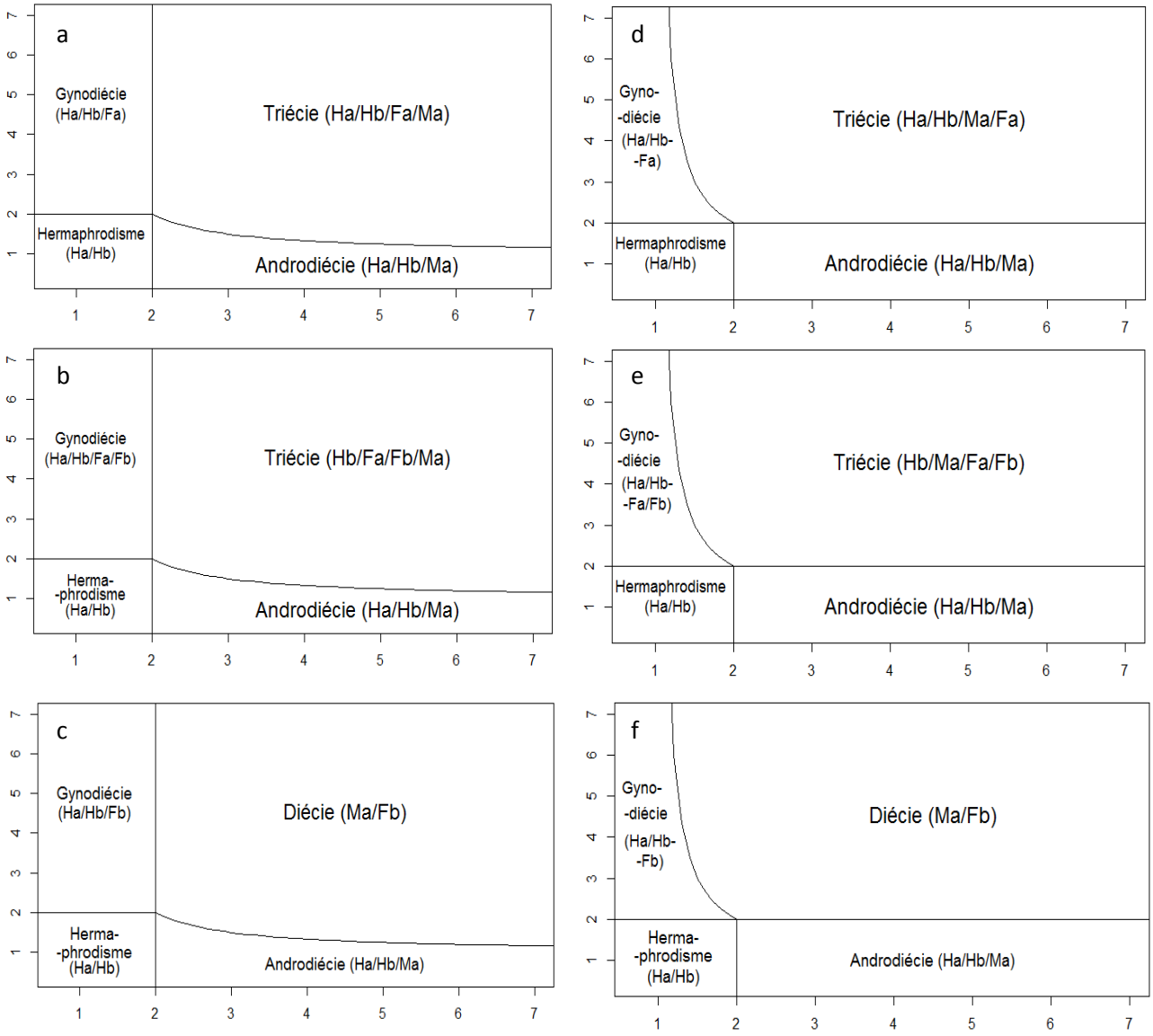


Figure 6 a et b. Fréquences des différents phénotypes à l'équilibre en fonction de l'avantage de l'unisexué introduit. Trait plein : groupe a, pointillés : groupe b. Noir : hermaphrodites, rose : femelles, bleu : mâles. Dans la figure 6a la courbe en tirets rouges, superposée à la courbe bleue, correspond aux résultats de Lewis (1941) et de Lloyd (1975). a. modèle M1, présence de mâles a et d'hermaphrodites a et b, stérilité femelle récessive liée à s_1 (en abscisse l'avantage mâle), b. modèle F2, présence de femelles et d'hermaphrodites a et b, stérilité mâle dominante liée à s_1, (en ordonnée l'avantage femelle)

Figure 7 a, b, c, d, e, f (colonne de gauche a, b, c, colonne de droite d, e, f). Systèmes de reproduction à l'équilibre en fonction des avantages, dans les cas d'introduction de mâles puis de femelles (a, b, c, modèles M1.F1, M1.F2, M1.F3) ou de femelles puis de mâles (d, e, f, modèles F1.M1, F2.M1, F3.M1). L'avantage mâle est en abscisse et l'avantage femelle en ordonnée.



Dans une seconde étape, à partir de l'équilibre obtenu pour une certaine valeur de K ou de G (en fonction de l'unisexué introduit), nous faisons apparaître une mutation de stérilité mâle ou femelle qui met alors en présence les trois morphes. Il y a trois possibilités (M1.F1, M1.F2, M1.F3) pour introduire la mutation de stérilité mâle (à partir du modèle M1), et une pour chaque modèle initial (F1, F2, F3) pour la stérilité femelle (aboutissant aux modèles F1.M1, F2.M1, F3.M1), ce qui fait en tout 6 modèles (tableau 2).

Nous nous sommes heurtés à des difficultés techniques lors de nos simulations. Nous avons choisi d'éliminer à chaque génération les morphes en faibles fréquences ($< 10^{-5}$). Cependant, des morphes en fréquences inférieures au seuil choisi pouvaient réapparaître à la génération suivante par croisement entre des catégories en fréquences légèrement supérieures

au seuil. Or définir le système de reproduction à l'équilibre implique de décider à partir de quelle fréquence un génotype est considéré comme présent (nous sommes en population infinie). Nous obtenions ainsi des résultats différents en fonction du seuil choisi. Cette situation survenait dans le cas d'introduction d'une mutation récessive en deuxième étape (M1.F1 / F1.M1, F2.M1), car ces mutations offrant moins de prise à la sélection (à l'état hétérozygote), elles sont éliminées plus lentement. Par exemple, dans le cas du modèle M1.F1, les femelles sont produites exclusivement par des croisements de génotypes en fréquences faibles (10^{-4} à 10^{-3}, voir tableau de croisement en annexe). Les résultats (figure 7 a, d, e) correspondant à ces modèles proviennent de simulations faites sur un nombre plus limité de générations (200 ou 500), sans élimination des morphes les moins fréquents pour éviter d'atteindre la limite de calcul du logiciel. Pour ces modèles, les frontières exactes entre les différentes zones n'ont pas toujours pu être définies précisément. Le seuil de présence d'un morphe a été fixé à 0,005.

Nous détaillons ici les résultats de chaque modèle :

- modèles M1.F3 / F3.M1 (mutation de stérilité mâle dominante, liée à S_2, figure 7c et f) : c'est le seul cas d'évolution possible vers la diécie. Cette évolution est rendue possible par le fait qu'ici, les morphes unisexués sont strictement cantonnés à des groupes d'incompatibilité différents, contrairement aux deux autres cas. On remarque également que la présence initiale d'un morphe unisexué facilite le maintien de l'autre morphe quand ce dernier apparaît, et ceci d'autant plus que l'avantage du premier morphe est élevé (aspect « échancré » de la courbe). Ainsi, on passe de l'androdiécie à la diécie quand les courbes d'équation $G = K/(K-1)$ ou $K = G/(G-1)$ sont franchies (ces deux conditions sont symétriques, et peuvent être résumées dans l'équation $[1] : 1/K + 1/G = 1$). Pour comprendre cette situation, nous l'illustrons avec l'exemple du modèle M1.F3. Quand l'avantage mâle est initialement fort, les mâles dominent en fréquence les hermaphrodites de leur groupe (première étape). Donc les hermaphrodites du groupe opposé (H_b) sont fonctionnellement plus femelles (ils ont moins de receveurs de pollen disponibles - H_a - dans l'autre groupe). Un unisexué femelle qui produirait autant d'ovules qu'un hermaphrodite ne voit donc pas sa valeur sélective réduite de deux par rapport à celui-ci, car l'hermaphrodite produit moins de la moitié de ses descendants par la voie mâle. L'avantage femelle nécessaire pour maintenir ces femelles est donc inférieur à deux. Un morphe qui domine les hermaphrodites sur la voie femelle peut donc facilement envahir le groupe b, et ce d'autant plus que l'avantage mâle initial est fort. Enfin, il faut noter

que la triécie n'est pas stable dans ce modèle. On observe qu'à mesure que les générations s'enchaînent, la zone de triécie s'estompe sur le diagramme des phases (figure 8). Il y a donc élimination progressive des hermaphrodites, à vitesse similaire dans les deux groupes (données non illustrées). La situation dans le modèle F3.M1 est symétrique.

- modèles M1.F2 / F2.M1 (mutation de stérilité mâle dominante, liée à s_1, figure 7b et e) : on retrouve l'aspect de « facilitation » du maintien du second morphe (mêmes équations de courbe). La situation pourrait potentiellement évoluer vers une diécie fonctionnelle (M_a / F_b). Mais dans ce cas, on retrouve également des F_a, car la mutation de stérilité mâle est liée à s_1 et dominante, on la retrouve donc nécessairement dans les deux groupes. On maintient également des hermaphrodites dans le groupe b, mais pas dans le groupe a, le croisement entre les M_a et les F_b les produisant à chaque génération, quelle que soit leur valeur sélective (voir tableau de croisement en annexe). Nous appelons la présence conjointe de mâles, d'hermaphrodites et de femelles une triécie (subfonctionnelle), même si tous les croisements ne sont pas possibles (par exemple M_a par F_a impossible).

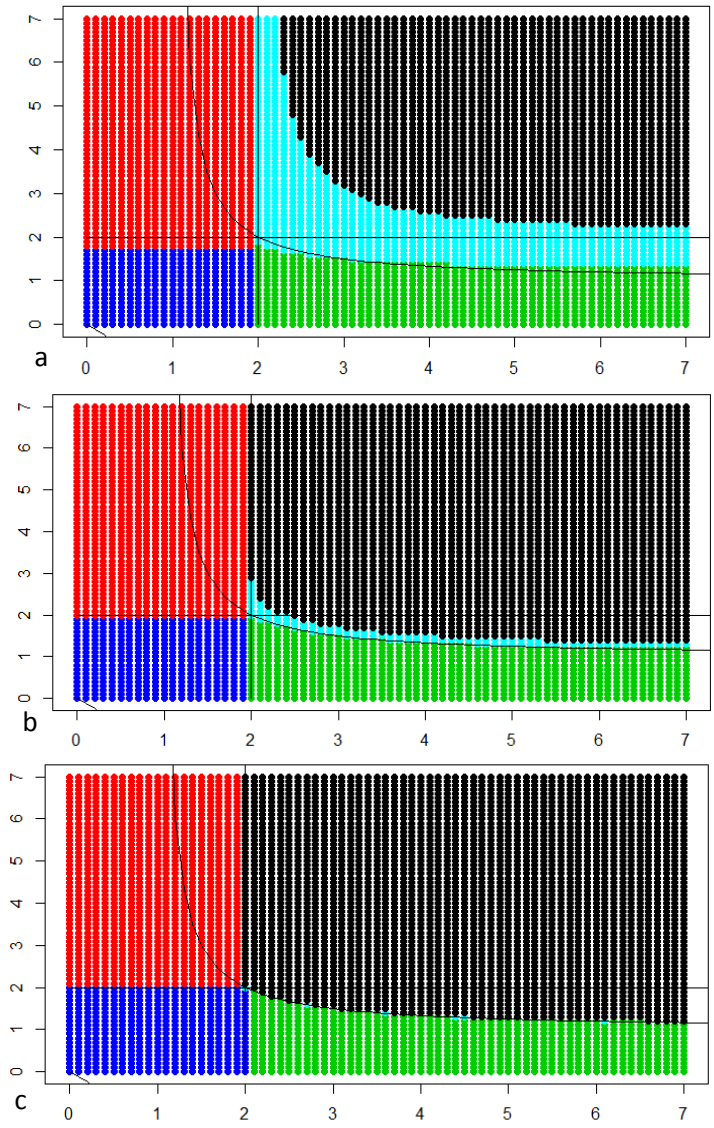


Figure 8 a b c. Résultats d'un jeu de 5041 simulations numériques dans un diagramme des phases (K, G) pour 20 (a), 100 (b) et 1000 (c) générations pour le modèle M1.F3. L'axe des abscisses représente l'avantage mâle K, l'axe des ordonnées l'avantage femelle G. Chaque point représente une simulation, dont la couleur donne le système de reproduction en présence, en fonction des phénotypes présents à plus de 0,005 en fréquence. Bleu : hermaphrodisme, vert : androdiécie, rouge : gynodiécie, noir : diécie, cyan : triécie. La courbe est d'équation $G = K/(K-1)$, comme mentionné ci-contre.

- modèles M1.F1 / F1.M1 (mutation de stérilité mâle récessive, liée à s_1, figure 8a et d) : on a une situation similaire au cas observé pour les modèles M1.F2 et F2.M1, à la différence près que le morphe H_a est ici présent tandis que le morphe F_b est absent. Les unisexués sont

cantonnés au groupe a, car les mutations de stérilité sont récessives et liées à s_1. Les H_b ne peuvent qu'être maintenus car ils constituent à eux seuls le groupe b. Les H_a apparaissent à chaque génération par de nombreux croisements, du fait de la récessivité des mutations. On retrouve aussi la « facilitation » observée, avec les mêmes équations que précédemment, et nous l'interprétons de la même manière.

2. Discussion de la modélisation

Charlesworth et Charlesworth (1978), à l'aide de modèles phénotypiques et génotypiques, ont étudié les conditions de transition de la gynodiécie à la diécie en fonction de la dominance des allèles de stérilité ainsi que de leur liaison. Dans une population gynodioïque à l'équilibre, ils introduisaient un mutant hermaphrodite ayant une production réduite d'ovules, compensée par un avantage sur la production de pollen. Ils ont alors montré que : 1° les hermaphrodites mutants ne pouvaient se maintenir que lorsque la production de pollen supplémentaire compensait la perte sur la voie femelle suivant l'équation [1] ; 2° la présence de femelles dans la population aide au maintien des mutants hermaphrodites (de même suivant l'équation [1]) ; 3° pour aboutir à la diécie, il est nécessaire qu'une mutation de stérilité soit récessive et l'autre dominante et la liaison entre ces deux mutations doit être forte (*i.e.* faible recombinaison). Nous obtenons des résultats similaires, à la fois sur l'aspect de « facilitation » observé, mais également sur les transitions possibles vers la diécie. L'AID ne semble ainsi pas changer radicalement les scénarios de transitions. Toutefois, nos modèles doivent être comparés avec prudence pour quatre raisons : 1° nous n'avons pas introduit de recombinaison, il est donc impossible de comparer les résultats sur une gamme de paramètres suffisante ; 2° bien qu'en principe symétrique, le scénario de transition par l'androdiécie n'a pas été étudié par les auteurs, or il représente la moitié de nos modèles ; 3° l'autofécondation est absente de nos modèles ; 4° une triécie fonctionnelle (tous les croisements sont possibles) chez les auteurs n'est pas nécessairement analogue à une triécie subfonctionnelle (certains croisements impossibles) ou morphologique dans notre cas.

Charnov *et al*. (1976), puis Maurice et Fleming (1995), ont montré – grâce à un modèle phénotypique - que les conditions de maintien de la triécie étaient restreintes (voire impossibles), et correspondent à notre équation [1], c'est-à-dire que la triécié n'est possible que pour des valeurs de K et de G correspondant à la courbe qui sépare l'androdiécie ou la gynodiécie de la triécie ou de la diécie dans la figure 7. Pour les premiers c'est un cas *« improbable et artificiel »*, pour les seconds la triécie n'est jamais stable en l'absence de

limitation de pollen, avec ou sans autofécondation. On retrouve chez Maurice et Fleming (1995) les mêmes conditions d'envahissement d'un morphe unisexué complémentaire dans une population androdioïque ou gynodioïque que celles mentionnées plus haut, avec la différence que nos modèles montrent que l'on peut maintenir une triécie stable pour certaines conditions de dominance et de récessivité des mutations ; et donc que la prise en compte du déterminisme génétique du sexe modifie le jeu des possibles.

De ces simulations, il ressort que de façon générale, la dominance des allèles de stérilité joue un rôle sur le système de reproduction à l'équilibre, tout comme leur liaison avec un groupe d'incompatibilité. De plus, nous déduisons de ces modèles que :

- la triécie stable (morphologique ou subfonctionnelle) est obtenue quand les mutations de stérilité sont liées à des groupes d'incompatibilité identiques
- la présence d'un morphe unisexué facilite le maintien du morphe complémentaire, même quand les deux appartiennent au même groupe d'incompatibilité
- la diécie n'est possible que quand les mutations de stérilité mâle et femelle ségrégent strictement dans des groupes d'incompatibilité différents

Discussion générale

1. Le système de reproduction de *F. excelsior* est une subdiécie fonctionnelle ayant évolué à partir de l'AID

Des travaux récents sur la reproduction du frêne élevé ont permis de décrire les phénotypes sexuels rencontrés avec une grande précision (Wallander 2001, Albert *et al*. 2013). La vision simplement fondée sur la présence de trois morphes - des mâles (produisant du pollen mais pas de graines), des femelles (produisant des graines, mais pas de pollen) et des hermaphrodites (produisant à la fois du pollen et des graines), - a laissé la place à une image de continuum morphologique, dont la classification en 7 classes phénotypiques reprise de Albert *et al*. (2013) et utilisée ici permet de rendre compte très facilement. Des données sur les fréquences des différents morphes ainsi que sur leur stabilité ont également été recueillies par Albert *et al*. (2013). La découverte de l'AID chez *F. excelsior*, rapportée dans ce travail, modifie en profondeur la compréhension du système de reproduction de l'espèce d'un point de vue fonctionnel. L'utilisation des tests stigmatiques a permis de mettre en évidence la présence de deux groupes fonctionnels, qui séparent les 7 classes morphologiques en deux groupes fonctionnels comme suit : 1° le groupe a contient les individus mâles-

andromonoïques de notes allant de 1 à 2, et certains de note égale à 3 ; et 2° le groupe b contenant les hermaphrodites-gynomonoïques-femelles de notes allant de 3 (pour partie) à 7. Les individus d'un groupe ne se reproduisent pas entre eux, mais avec ceux de l'autre groupe. Ici, les groupes a et b possèdent des caractéristiques différentes. Nous avons montré dans cette étude que les mâles-andromonoïques du groupe a produisaient massivement du pollen (plus que le groupe b), ainsi que quelques fruits et graines, qui fournissent un pourcentage non nul d'embryons viables. Les hermaphrodites-femelles du groupe b produisent massivement des fruits et graines ainsi que du pollen (pour les quelques andromonoïques, ainsi que les hermaphrodites et gynomonoïques) capable de germer, qui peut féconder les ovules des andromonoïques du groupe a. La majorité des croisements se faisant par le pollen du groupe a vers les ovules du groupe b, et très peu dans l'autre sens, nous concluons que *F. excelsior* est subdioïque fonctionnel. D'autres études (Tal 2006, Bochenek 2011) ont apporté une conclusion similaire, sans toutefois posséder la donnée de l'AID. Ainsi, nous apportons la preuve que les distinctions morphologiques et reproductrices observées entre les mâles-andromonoïques et les hermaphrodites-femelles par les auteurs ne sont pas fortuites, mais résultent de la présence de deux groupes fonctionnels distincts liés à l'AID.

À la suite de notre étude, des précisions pourront être apportées au sujet de la subdiécie fonctionnelle de *F. excelsior* : 1° en quantifiant l'intensité des flux polliniques entre les groupes dans les deux sens et en 2° quantifiant la part des graines produites par chacun des groupes ainsi que la participation à la génération suivante. 3° Les données disponibles ne permettent pas d'accéder aux ratios des groupes a et b dans les populations des Cévennes (seuls 59 individus ont été groupés). Les groupages manquants seront effectués dans le futur. 4° Après Morand-Prieur *et al*. (2003) et FRAXIGEN (2005), la recherche d'éventuelles possibilités d'autocompatibilité ou de croisement intra groupe d'incompatibilité doit être poursuivie, car elles pourraient être en lien avec le maintien d'une fonction femelle dans le groupe a et d'une fonction mâle dans le groupe b. Les morphes du groupe b possédant une fonction mâle produisent en effet des quantités non négligeables de pollen.

2. La subdiécie fonctionnelle observée : état d'équilibre stable ou étape de transition vers la diécie ?

Aucun modèle développé ici ne nous permet de rendre compte de manière satisfaisante des données empiriques. Les modèles M1.F1, F1.M1, M1.F2 et F2.M1 contiennent des femelles dans le groupe a en trop fortes fréquences (~30 %) pour qu'une comparaison soit

possible. En revanche, dans les modèles M1.F3 et F3.M1, nous n'observons que les phénotypes M_a, H_a, F_b et H_b, ce qui est proche de la réalité. Mais, dans ces modèles, la triécie n'est pas stable : dans sa zone de présence avant équilibre, les morphes hermaphrodites sont éliminés et nous aboutissons à la diécie M_a / F_b. Sachant que l'AID et la polygamie apparaissent ancestrales au genre *Fraxinus*, et que *F. mandshurica* dans la section *Fraxinus* est dioïque (Takahashi *et al*. 2001), pourquoi la transition vers la diécie ne s'est-elle pas produite chez *F. excelsior* ? Plusieurs explications peuvent être avancées : 1° la nature des mutations de stérilité rentre possiblement en jeu. Nous avons considéré des mutations de stérilité totale d'une voie de reproduction, mais celles-ci pourraient en réalité entraîner une stérilité partielle, avec réallocation des ressources d'une voie vers l'autre. Une transition vers la diécie pourrait dans ce cas prendre plus de temps. À la suite de cette étude, nous développerons un modèle prenant en compte la réallocation de ressources entre les fonctions mâle et femelle (sur le base de travaux effectués par Charlesworth et Charlesworth 1978) afin d'approfondir les conditions de maintien de la subdiécie observée. Les deux mutations de stérilité pourraient également avoir des effets d'ampleurs différentes : il semblerait que la différenciation du groupe a vers le morphe mâle soit plus avancée que celle du groupe b. 2° Les bases génétiques du déterminisme sexuel restent inconnues. Ainsi, des effets d'épistasie entre locus du sexe et d'incompatibilité ou la présence d'un déterminisme sexuel multi-locus pourraient exister, à la suite notamment de l'allopolyploïdisation qui a eu lieu dans la famille (P. Saumitou-Laprade et P. Vernet, communication personnelle). Ici, des croisements contrôlés avec groupage et sexage de la descendance chez *F. excelsior* pourraient permettre de mieux comprendre le déterminisme génétique du sexe et de l'incompatibilité. Pour mieux comprendre les modalités de transition entre polygamie et diécie, plusieurs pistes de recherche sont envisageables : 1° l'étude de l'AID chez *F. mandshurica*, donnerait la possibilité de vérifier si la transition vers des sexes séparés s'est déroulée avec la même liaison entre sexes et groupe d'incompatibilité, grâce au maintien interspécifique de l'AID ; 2° des travaux similaires pourraient être conduits sur les sections *Pauciflorae* et *Melioides*, entre lesquelles une transition vers la diécie a également eu lieu (Wallander 2012).

3. Un scénario possible de transition vers la diécie dans le genre *Fraxinus*

Quelles sont les pressions de sélection pouvant conduire à l'évolution de la diécie chez *F. excelsior* et plus généralement dans le genre *Fraxinus* ? Plusieurs pistes de corrélations phylogénétiques (Vamosi *et al*. 2003) entre diécie et différents caractères ont pu être mises en évidence, dont plusieurs (port ligneux, anémophilie, fleurs ou inflorescences peu attirantes),

sont présents chez certains frênes. Les dernières phylogénies du genre (Wallander 2012, Hinsinger *et al*. 2013) soutiennent les corrélations entre diécie et fleurs peu attirantes ainsi qu'avec l'anémophilie. Eva Wallander (2001), qui a remarqué que la diécie avait évolué trois fois à la suite de l'anémophilie (qui elle-même suivait l'**ambophilie**), a proposé un scénario d'évolution de la diécie dans le genre *Fraxinus*. L'évolution de petites fleurs sans calice ni corolle, et la transition de la récompense nectar à la récompense pollen pour les insectes, auraient aidé à sélectionner l'ambophilie. L'ambophilie apparaît comme une exaptation pour la sélection de l'anémophilie, tout comme la présence préliminaire éventuelle de morphes unisexués dans la population (androdiécie, polygamie). Puis, une fois l'anémophilie établie, des conflits pour la reproduction par les voies mâle et femelle émergent : l'interférence spatiale entre les organes sexuels d'une même fleur et l'allocation différentielle des ressources ; par exemple l'investissement massif en pollen pour la voie mâle, ou la production de fruits disséminés par le vent (*e.g.* les samares du frêne). La séparation des sexes peut permettre de résoudre le conflit. L'auteure note que la pression pour l'évitement de l'autofécondation, souvent invoquée pour la transition vers la diécie, ne rentrerait pas ici en jeu, car les cosexuels du genre *Fraxinus* antérieurs à la diécie sont protogynes, et ne subiraient donc pas cette pression.

Un tel scénario doit être repensé et réaménagé dans un contexte d'AID homomorphe, qui pourrait orienter les transitions en offrant à la sélection deux groupes intra-incompatibles et inter-compatibles. Pour cela, l'étude des espèces polygames les plus basales dans la phylogénie offrent des possibilités intéressantes. On a documenté l'AID dans différentes lignées d'Oléacées (Oleinae : *Phillyrea angustifolia* L., Saumitou-Laprade *et al*. 2010 et *Olea europaea* L., P. Saumitou-Laprade et P. Vernet, communication personnelle ; Fraxineae : *Fraxinus ornus* L., Vernet *et al*. 2016 ; Ligustrineae : *Ligustrum vulgare* L., P. Saumitou-Laprade et P. Vernet, communication personnelle). Cette donnée, associée à la grande diversité de systèmes de reproduction dans la famille (hermaphrodisme, polygamie, androdiécie, diécie), suggère que l'AID confère un très fort potentiel d'adaptation pour les systèmes de reproduction. Dans cette famille, le jeu des possibles est déterminé par des facteurs génétiques (AID), écologiques (ambophilie / anémophilie) et d'allocation de ressources. L'AID a aussi pu permettre plusieurs transitions de l'hermaphrodisme à la diécie (Vernet *et al*. 2016), mais le rôle des différents facteurs évoqués reste à pondérer.

Bibliographie

Albert, B., Morand-Prieur, M. É., Brachet, S., Gouyon, P. H., Frascaria-Lacoste, N., & Raquin, C. (2013). Sex expression and reproductive biology in a tree species, Fraxinus excelsior L. *Comptes rendus biologies*, *336*(10), 479-485.

Barrett, S. C. (2002). The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics*, *3*(4), 274-284.

Barrett, S. C. (2010). Darwin's legacy: the forms, function and sexual diversity of flowers. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *365*(1539), 351-368.

Billiard, S., Husse, L., Lepercq, P., Godé, C., Bourceaux, A., Lepart, J., Vernet, P., & Saumitou-Laprade, P. (2015). Selfish male-determining element favors the transition from hermaphroditism to androdioecy. *Evolution*, *69*(3), 683-693.

Binggeli, P., & Power, J. (1999). Gender variation in ash (Fraxinus excelsior L.).

Bochenek, G. (2011). Reproductive Biology and Population Genetics of Common Ash (Fraxinus excelsior L.).

Brewbaker, J. L. (1957). Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. *Journal of Heredity*, *48*(6), 271-277.

Charlesworth, B., & Charlesworth, D. (1978). A model for the evolution of dioecy and gynodioecy. *American naturalist*, 975-997.

Charlesworth, D. (1984). Androdioecy and the evolution of dioecy. *Biological Journal of the Linnean Society*, *22*(4), 333-348.

Charlesworth, D. (1999). Theories of the evolution of dioecy. In *Gender and sexual dimorphism in flowering plants* (pp. 33-60). Springer Berlin Heidelberg.

Charnov, E. L., Bull, J. J., & Smith, J. M. (1976). Why be an hermaphrodite?. *Nature*, *263*(5573), 125-126.

Dufaÿ, M., Champelovier, P., Käfer, J., Henry, J. P., Mousset, S., & Marais, G. A. B. (2014). An angiosperm-wide analysis of the gynodioecy–dioecy pathway. *Annals of botany*, *114*(3), 539-548.

FRAXIGEN (2005). Ash species in Europe: biological characteristics and practical guidelines for sustainable use. *Oxford Forestry Institute, University of Oxford, Oxford*, 128 pp.

Gleiser, G., & Verdú, M. (2005). Repeated evolution of dioecy from androdioecy in Acer. *New Phytologist*, *165*(2), 633-640.

Gross, A., Holdenrieder, O., Pautasso, M., Queloz, V., & Sieber, T. N. (2014). Hymenoscyphus pseudoalbidus, the causal agent of European ash dieback. *Molecular plant pathology*, *15*(1), 5-21.

Hinsinger, D. D., Basak, J., Gaudeul, M., Cruaud, C., Bertolino, P., Frascaria-Lacoste, N., & Bousquet, J. (2013). The phylogeny and biogeographic history of ashes (Fraxinus, Oleaceae) highlight the roles of migration and vicariance in the diversification of temperate trees. *PloS one*, *8*(11), e80431.

Husse, L., Billiard, S., Lepart, J., Vernet, P., & Saumitou-Laprade, P. (2013). A one-locus model of androdioecy with two homomorphic self-incompatibility groups: expected vs. observed male frequencies. *Journal of evolutionary biology*, *26*(6), 1269-1280.

Jahier, J., Chevre, A. M., Eber, F., Delourme, R., & Tanguy, A. M. (1992). Techniques de cytogénétique végétale, techniques et pratiques. Paris: INRA Editions.

Lewis, D. (1941). Male sterility in natural populations of hermaphrodite plants the equilibrium between females and hermaphrodites to be expected with different types of inheritance. *New phytologist*, *40*(1), 56-63.

Lloyd, D. G. (1975). The maintenance of gynodioecy and androdioecy in angiosperms. *Genetica*, *45*(3), 325-339.

Martin, F. W. (1959). Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain technology*, *34*(3), 125-128.

Maurice, S., & Fleming, T. H. (1995). The effect of pollen limitation on plant reproductive systems and the maintenance of sexual polymorphisms. *Oikos*, 55-60.

Morand-Prieur, M. E., Raquin, C., Shykoff, J. A., & Frascaria-Lacoste, N. (2003). Males outcompete hermaphrodites for seed siring success in controlled crosses in the polygamous Fraxinus excelsior

(Oleaceae). *American Journal of Botany*, *90*(6), 949-953.

Pautasso, M., Aas, G., Queloz, V., & Holdenrieder, O. (2013). European ash (Fraxinus excelsior) dieback–A conservation biology challenge. *Biological Conservation*, *158*, 37-49.

Rameau, J. C., Mansion, D., Dumé, G., Timbal, J., Lecointe, A., Dupont, P., & Keller, R. (1989). Flore forestière française. Guide écologique illustré. Tome 1: Plaines et collines. *Institut pour le développement forestier, Paris*.

Raquin, C., Jung-Muller, B., Dufour, J., & Frascaria-Lacoste, N. (2002). Rapid seedling obtaining from European ash species Fraxinus excelsior (L.) and Fraxinus angustifolia (Vahl.). *Annals of forest science*, *59*(2), 219-224.

Renner, S. S., & Ricklefs, R. E. (1995). Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany*, 596-606.

Renner, S. S. (2014). The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: Dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database. *American Journal of botany*, *101*(10), 1588-1596.

Renner, S. S. (2016). Pathways for making unisexual flowers and unisexual plants: Moving beyond the "two mutations linked on one chromosome" model. *American Journal of Botany*, *103*(4), 587-589.

Saumitou-Laprade, P., Vernet, P., Vassiliadis, C., Hoareau, Y., de Magny, G., Dommée, B., & Lepart, J. (2010). A self-incompatibility system explains high male frequencies in an androdioecious plant. *Science*, *327*(5973), 1648-1650.

Spigler, R. B., & Ashman, T. L. (2011). Gynodioecy to dioecy: are we there yet?. *Annals of Botany*, mcr170.

Sturlasson, S., & Dillmann, F. X. (1991). *L'Edda: récits de mythologie nordique*. Gallimard.

Takahashi, Y., Goto, S., Kasahara, H., Inukai, M., Takada, N., Iguchi, K., & Shibano, S. (2001). Sex expressions and size structures of a dioecious canopy tree species, Fraxinus mandshurica var. japonica. *Journal of the Japanese Forestry Society (Japan)*.

Tal, O. (2006). Comparative flowering ecology of Fraxinus excelsior, Acer platanoides, Acer pseudoplatanus and Tilia cordata in the canopy of Leipzig's floodplain forest. *PhD diss. Leipzig University*.

Vamosi, J. C., Otto, S. P., & Barrett, S. C. H. (2003). Phylogenetic analysis of the ecological correlates of dioecy in angiosperms. *Journal of evolutionary biology*, *16*(5), 1006-1018.

Vassiliadis, C., Lepart, J., Saumitou-Laprade, P., & Vernet, P. (2000). Self-incompatibility and male fertilization success in Phillyrea angustifolia (Oleaceae). *International journal of plant sciences*, *161*(3), 393-402.

Vassiliadis, C., Saumitou-Laprade, P., Lepart, J., & Viard, F. (2002). High male reproductive success of hermaphrodites in the androdioecious Phillyrea angustifolia. *Evolution*, *56*(7), 1362-1373.

Vernet, P., Lepercq, P., Billiard, S., Bourceaux, A., Lepart, J., Dommée, B., & Saumitou-Laprade, P. (2016). Evidence for the long-term maintenance of a rare self-incompatibility system in Oleaceae. *New Phytologist*.

Wallander, E. (2001). Evolution of wind-pollination in Fraxinus (Oleaceae). *PhD diss. Göteborg University*.
Wallander, E. (2008). Systematics of Fraxinus (Oleaceae) and evolution of dioecy. *Plant Systematics and Evolution*, *273*(1-2), 25-49.

Wallander, E. (2012). Systematics and floral evolution in Fraxinus (Oleaceae). *Belgische Dendrologie Belge*, *2012*, 39-58.

Wardle, P. (1961). Fraxinus Excelsior L. *Journal of Ecology*, *49*(3), 739-751.

Annexes

A1 : Glossaire

Ambophilie : combinaison d'anémophilie et d'entomophilie (Wallander 2001)

Androdiécie : système de reproduction avec coexistence d'individus mâles (femelle-stériles) et hermaphrodites. Les hermaphrodites sont les seuls à avoir une fonction femelle (Charlesworth et Charlesworth 1978)

Andromonoécie : situation où les individus portent simultanément des fleurs mâles et des fleurs hermaphrodites

Dichogamie : séparation temporelle de la maturité des organes sexuels mâles et femelles (Barrett 2002)

Diécie cryptique : présence de morphes cosexués et unisexués dans une population (**androdioïque** ou **gynodioïque**), dont les cosexués ne remplissent fonctionnellement que le rôle du sexe complémentaire des unisexués

Dioïque : espèce avec des fleurs mâles et femelles portées par des pieds séparés

Enantiostylie : présence de fleurs images chirales dans une population, avec le style penchant d'un côté ou de l'autre de l'axe floral (Barrett 2002)

Gynodiécie : système de reproduction avec coexistence d'individus femelles (mâle-stériles) et hermaphrodites

Gynomonoécie : situation où les individus portent simultanément des fleurs femelles et hermaphrodites

Herkogamie : polymorphisme sexuel dans lequel les morphes floraux diffèrent par la localisation des organes mâle et femelle dans les fleurs, comme l'**hétérostylie** ou l'**énantiostylie** (Barrett 2002)

Hermaphrodite : individu avec des fleurs comprenant à la fois des organes sexuels mâles et femelles (différent de **monoïque**)

Hétérostylie : système d'incompatibilité diallélique hétéromorphes, avec des individus présentant deux morphes différents (les individus avec un long style et des étamines courtes et leurs symétriques, avec un style court et de longues étamines)

Homostylie : système où les styles de tous les individus ont la même longueur

Monoïque : présence de fleurs mâles et de fleurs femelles sur un même individu

Polygamie : regroupe la **triécie** et la **subdiécie** (Morand-Prieur *et al*. 2003), c'est donc un système de reproduction avec cooccurrence de mâles, d'hermaphrodites et de femelles dans une population. Ce terme désigne aussi les individus portant à la fois des fleurs hermaphrodites, des fleurs mâles et des fleurs femelles : il est donc très imprécis quant à la répartition éventuelle de ces fleurs, à leur proportion et à leur localisation

Subdiécie : présence, dans une population composée majoritairement d'individus unisexués, de morphes imparfaitement différentiés - d'un sexe ou des deux (Tal 2006)

Triécie : système de reproduction où il y a coexistence d'individus strictement mâles, d'hermaphrodites, et d'individus strictement femelles (Albert *et al*. 2013)

A2 : Phylogénie du genre Fraxinus

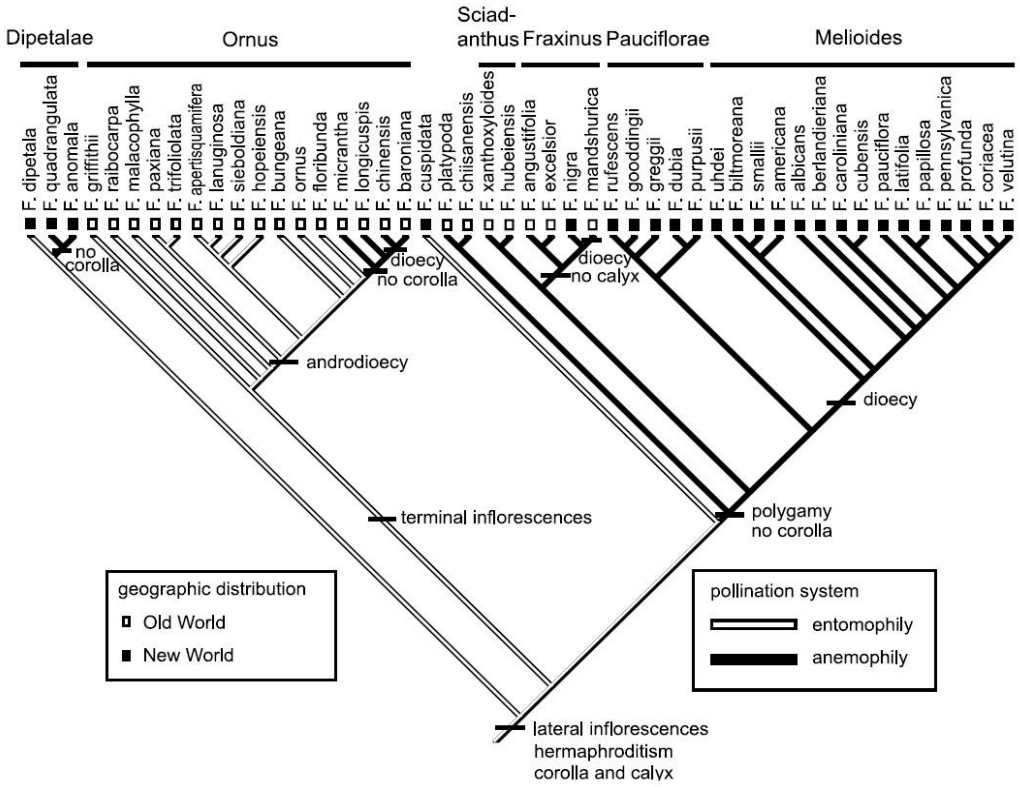


Figure A2 : Arbre phylogénétique du genre *Fraxinus*, annoté des transitions de systèmes de reproduction ainsi que des modes de pollinisation, des distributions géographiques et des caractéristiques des structures florales, d'après Wallander (2012)

A3 : Résultats de groupage sur les arbres de la collection de l'INRA d'Orléans

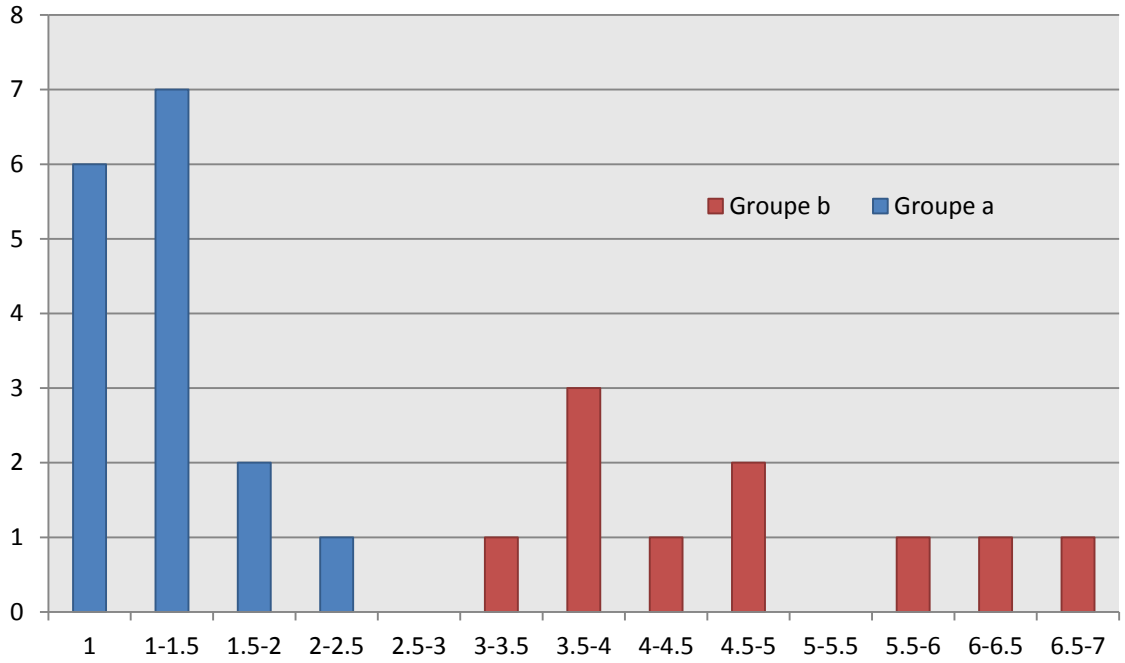


Figure A3. Distribution des groupes d'incompatibilité en fonction de la note de phénotype sexuel (de 1 à 7) attribuée à partir de l'observation de rameaux sur plusieurs années, population expérimentale de l'INRA d'Orléans. $n = 26$

A4 : Phénotypage du sexe sur la période 1999-2008 des arbres à l'origine de la collection de l'INRA d'Orléans

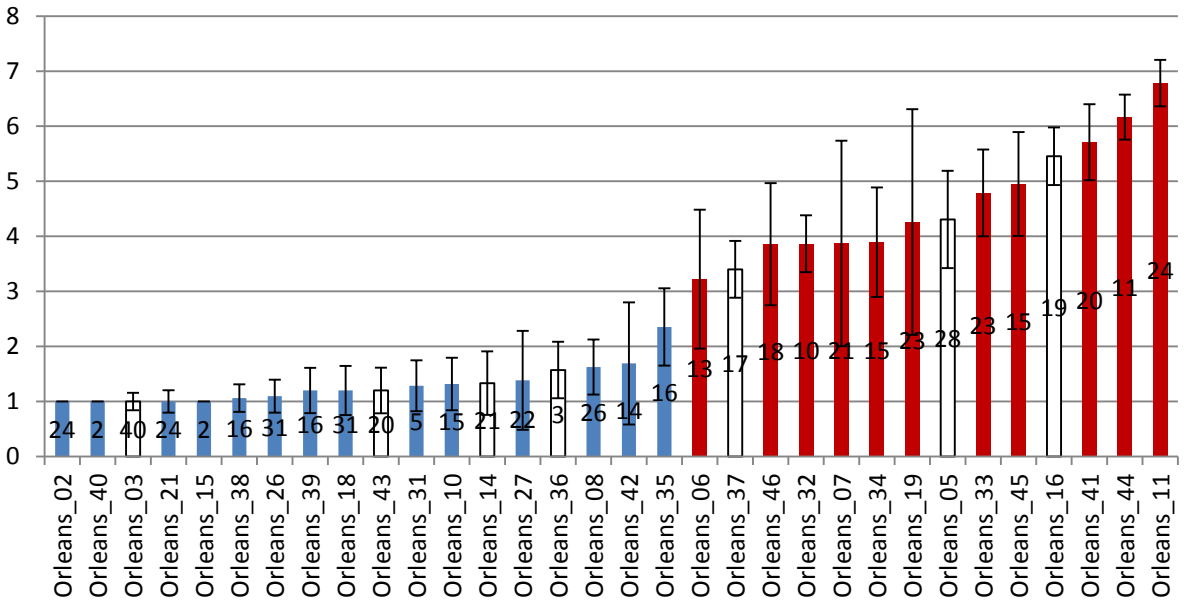


Figure A4. Notes moyennes du phénotype sexuel (± un écart-type) des arbres de la collection d'Orléans, obtenues sur le verger à graines d'origine. Les notes sont classées par ordre croissant. En bleu, les arbres du groupe a, en rouge les arbres du groupe b, en blanc les arbres de groupe inconnu

A5 : Composition des différentes solutions employées

Fixateur : FAA (pour 1 L)

Formol à 40% : 100 mL
Acide acétique glacial : 100 mL
Alcool absolu : 560 mL
H_2O : 240 mL

Colorant Z (pour 500 mL)

Bleu d'aniline à 1% dilué dans l'eau : 50 mL
Détergent : 50 mL
K_3PO_4 0,2M : 350 mL
NaOH 1M : 50 mL

Bleu d'aniline à 0,1% (250 mL)
Bleu d'aniline à 0,2% dans l'eau : 125mL
K_3PO_4 0,2M : 125 mL

A6 : Tableaux de croisements

Pour chaque phénotype, les génotypes possibles sont inventoriés, de même que pour chaque génotype les gamètes produits par méiose. Dans le cas où il y aurait plusieurs génotypes pour un même phénotype, le chiffre 1 ou 2 désigne l'homozygotie ou l'hétérozygotie au locus de la stérilité femelle. A chaque croisement (intersection d'une ligne et d'une colonne), le génotype produit est mentionné à la suite des allèles, et la proportion de ce croisement qui aboutit à ce génotype est mise entre parenthèses. Les croisements entre génotypes du même groupe sont notés « incompatible ». Pour les modèles F1, F2 et F3, les équations des modèles ont été obtenues simplement en utilisant ceux des modèles F1.M1, F2.M1 et F3.M1, en ne prenant en compte que les croisements entre génotypes présents. Un exemple des équations écrites à partir des tableaux de croisement est fourni, pour le modèle M1.

S2FnMs dom				Donneur de pollen ♂							
	Phénotypes			Herma. Ha			Herma. Hb				Mâles a
		Génotypes		s1 - Fn - mn/s1 - Fn - mn Ha1	s1 - Fn - mn/s1 - fs - mn Ha2		s1 - Fn - mn/S2 - Fn - mn Hb1		s1 - fs - mn/S2 - Fn - mn Hb2		s1 - fs - mn/s1 - fs - mn
			Allèles	s1 - Fn - mn	s1 - Fn - mn	s1 - fs - mn	s1 - Fn - mn	S2 - Fn - mn	s1 - fs - mn	S2 - Fn - mn	s1 - fs - mn
Donneur d'ovule ♀	Herma. Ha	s1 - Fn - mn/s1 - Fn - mn Ha1	s1 - Fn - mn	Incompatible			Ha1 (1/2)	Hb1 (1/2)	Ha2 (1/2)	Hb1 (1/2)	Incompatible
		s1 - Fn - mn/s1 - fs - mn Ha2	s1 - Fn - mn				Ha1 (1/4)	Hb1 (1/4)	Ha2 (1/4)	Hb1 (1/4)	
			s1 - fs - mn				Ha2 (1/4)	Hb2 (1/4)	Ma (1/4)	Hb2 (1/4)	
	Herma. Hb	s1 - Fn - mn/S2 - Fn - mn Hb1	s1 - Fn - mn	Ha1 (1/2)	Ha1 (1/4)	Ha2 (1/4)	Incompatible				Ha2 (1/2)
			S2 - Fn - mn	Hb1 (1/2)	Hb1 (1/4)	Hb2 (1/4)					Hb2 (1/2)
		s1 - fs - mn/S2 - Fn - mn Hb2	s1 - fs - mn	Ha2 (1/2)	Ha2 (1/4)	Ma (1/4)					Ma (1/2)
			S2 - Fn - mn	Hb1 (1/2)	Hb1 (1/4)	Hb2 (1/4)					Hb2 (1/2)
	Femelles Fb	s1 - Fn - mn/S2 - Fn - Ms Fb1	s1 - Fn - mn	Ha1 (1/2)	Ha1 (1/4)	Ha2 (1/4)					Ha2 (1/2)
			S2 - Fn - Ms	Fb1 (1/2)	Fb1 (1/4)	Fb2 (1/4)					Fb2 (1/2)
		s1 - fs - mn/S2 - Fn - Ms Fb2	s1 - fs - mn	Ha2 (1/2)	Ha2 (1/4)	Ma (1/4)					Ma (1/2)
			S2 - Fn - Ms	Fb1 (1/2)	Fb1 (1/4)	Fb2 (1/4)					Fb2 (1/2)

				Donneur de pollen ♂							
	Phénotypes			Herma. **Ha**			Herma. **Hb**				Mâles **Ma**
		Génotypes		s1 - Fn/s1 - Fn Ha1	s1 - Fn/s1 - fs Ha2		s1 - Fn/S2 - Fn Hb1		s1 - fs/S2 - Fn Hb2		s1 - fs/s1 - fs Ma
			Allèles	s1 - Fn	s1 - Fn	s1 - fs	s1 - Fn	S2 - Fn	s1 - fs	S2 - Fn	s1 - fs
Donneur d'ovule ♀	Herma. **Ha**	s1 - Fn/s1 - Fn Ha1	s1 - Fn	Incompatible			s1 - Fn/s1 - Fn Ha1 (1/2)	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1 (1/2)	s1 - Fn/s1 - fs Ha2 (1/2)	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1 (1/2)	Incompatible
		s1 - Fn/s1 - fs Ha2	s1 - Fn				s1 - Fn/s1 - Fn Ha1 (1/4)	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1 (1/4)	s1 - Fn/s1 - fs Ha2 (1/4)	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1 (1/4)	
			s1 - fs				s1 - Fn/s1 - fs Ha2 (1/4)	s1 - fs/S2 - Fn Hb2 (1/4)	s1 - fs/s1 - fs Ma (1/4)	s1 - fs/S2 - Fn Hb2 (1/4)	
	Herma. **Hb**	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1	s1 - Fn	s1 - Fn/s1 - Fn Ha1 (1/2)	s1 - Fn/s1 - Fn Ha1 (1/4)	s1 - Fn/s1 - fs Ha2 (1/4)	Incompatible				s1 - Fn/s1 - fs Ha2 (1/2)
			S2 - Fn	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1 (1/2)	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1 (1/4)	s1 - fs/S2 - Fn Hb2 (1/4)					s1 - fs/S2 - Fn Hb2 (1/2)
		s1 - fs/S2 - Fn Hb2	s1 - fs	s1 - Fn/s1 - fs Ha2 (1/2)	s1 - Fn/s1 - fs Ha2 (1/4)	s1 - fs/s1 - fs Ma (1/4)					s1 - fs/s1 - fs Ma (1/2)
			S2 - Fn	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1 (1/2)	s1 - Fn/S2 - Fn Hb1 (1/4)	s1 - fs/S2 - Fn Hb2 (1/4)					s1 - fs/S2 - Fn Hb2 (1/2)

Figure A6.1 : tableaux de croisement correspondant aux modèles M1.F3 / F3.M1 et M1

s1Fnms réc				Donneur de pollen ♂													
	Phénotypes			Herma. Ha							Herma. Hb						Mâles Ma
		Génotypes		s1 - Fn - Mn/s1 - Fn - Mn Ha11	s1 - Fn - Mn/s1 - Fn - ms Ha12		s1 - Fn - Mn/s1 - fs - Mn Ha21		s1 - Fn - ms/s1 - fs - Mn Ha22		s1 - Fn - Mn/S2 - Fn - Mn Hb11		s1 - Fn - ms/S2 - Fn - Mn Hb12		s1 - fs - Mn/S2 - Fn - Mn Hb2		s1 - fs - Mn / s1 - fs - Mn
			Allèles	s1 - Fn - Mn	s1 - Fn - Mn	s1 - Fn - ms	s1 - Fn - Mn	s1 - fs - Mn	s1 - Fn - ms	s1 - fs - Mn	s1 - Fn - Mn	S2 - Fn - Mn	s1 - Fn - ms	S2 - Fn - Mn	s1 - fs - Mn	S2 - Fn - Mn	s1 - fs - Mn
Donneur d'ovule ♀	Herma. Ha	s1 - Fn - Mn/s1 - Fn - Mn Ha11	s1 - Fn - Mn	Incompatible							Ha11 (1/2)	Hb11 (1/2)	Ha12 (1/2)	Hb11 (1/2)	Ha21 (1/2)	Hb11 (1/2)	Incompatible
		s1 - Fn - Mn/s1 - Fn - ms Ha12	s1 - Fn - Mn								Ha11 (1/4)	Hb11 (1/4)	Ha12 (1/4)	Hb11 (1/4)	Ha21 (1/4)	Hb11 (1/4)	
			s1 - Fn - ms								Ha12 (1/4)	Hb12 (1/4)	Fa (1/4)	Hb12 (1/4)	Ha22 (1/4)	Hb12 (1/4)	
		s1 - Fn - Mn/s1 - fs - Mn Ha21	s1 - Fn - Mn								Ha11 (1/4)	Hb11 (1/4)	Ha12 (1/4)	Hb11 (1/4)	Ha21 (1/4)	Hb11 (1/4)	
			s1 - fs - Mn								Ha21 (1/4)	Hb2 (1/4)	Ha22 (1/4)	Hb2 (1/4)	Ma (1/4)	Hb2 (1/4)	
		s1 - Fn - ms/s1 - fs - Mn Ha22	s1 - Fn - ms								Ha12 (1/4)	Hb12 (1/4)	Fa (1/4)	Hb12 (1/4)	Ha22 (1/4)	Hb12 (1/4)	
			s1 - fs - Mn								Ha21 (1/4)	Hb2 (1/4)	Ha22 (1/4)	Hb2 (1/4)	Ma (1/4)	Hb2 (1/4)	
	Herma. Hb	s1 - Fn - Mn/S2 - Fn - Mn Hb11	s1 - Fn - Mn	Ha11 (1/2)	Ha11 (1/4)	Ha12 (1/4)	Ha11 (1/4)	Ha21 (1/4)	Ha12 (1/4)	Ha21 (1/4)	Incompatible						Ha21 (1/2)
			S2 - Fn - Mn	Hb11 (1/2)	Hb11 (1/4)	Hb12 (1/4)	Hb11 (1/4)	Hb2 (1/4)	Hb12 (1/4)	Hb2 (1/4)							Hb2 (1/2)
		s1 - Fn - ms/S2 - Fn - Mn Hb12	s1 - Fn - ms	Ha12 (1/2)	Ha12 (1/4)	Fa (1/4)	Ha12 (1/4)	Ha22 (1/4)	Fa (1/4)	Ha22 (1/4)							Ha22 (1/2)
			S2 - Fn - Mn	Hb11 (1/2)	Hb11 (1/4)	Hb12 (1/4)	Hb11 (1/4)	Hb2 (1/4)	Hb12 (1/4)	Hb2 (1/4)							Hb2 (1/2)
		s1 - fs - Mn/S2 - Fn - Mn Hb2	s1 - fs - Mn	Ha21 (1/2)	Ha21 (1/4)	Ha22 (1/4)	Ha21 (1/4)	Ma (1/4)	Ha22 (1/4)	Ma (1/4)							Ma (1/2)
			S2 - Fn - Mn	Hb11 (1/2)	Hb11 (1/4)	Hb12 (1/4)	Hb11 (1/4)	Hb2 (1/4)	Hb12 (1/4)	Hb2 (1/4)							Hb2 (1/2)
	Femelles Fa	s1 - Fn - ms/s1 - Fn - ms	s1 - Fn - ms	Incompatible							Ha12 (1/2)	Hb12 (1/2)	Fa (1/2)	Hb12 (1/2)	Ha22 (1/2)	Hb12 (1/2)	Incompatible

s1FnMs dom				Donneur de pollen ♂						
	Phénotypes			Herma. Ha			Herma. Hb			Mâles
		Génotypes		s1 - Fn - mn/s1 - Fn - mn Ha1	s1 - Fn - mn/s1 - fs - mn Ha2		s1 - Fn - mn/S2 - Fn - mn Hb1		s1 - fs - mn/S2 - Fn - mn Hb2		s1 - fs - mn/s1 - fs - mn Ma
			Allèles	s1 - Fn - mn	s1 - Fn - mn	s1 - fs - mn	s1 - Fn - mn	S2 - Fn - mn	s1 - fs - mn	S2 - Fn - mn	s1 - fs - mn
Donneur d'ovule ♀	Herma. Ha	s1 - Fn - mn/s1 - Fn - mn Ha1	s1 - Fn - mn	Incompatible			Ha1 (1/2)	Hb1 (1/2)	Ha2 (1/2)	Hb1 (1/2)	Incompatible
		s1 - Fn - mn/s1 - fs - mn Ha2	s1 - Fn - mn				Ha1 (1/4)	Hb1 (1/4)	Ha2 (1/4)	Hb1 (1/4)	
			s1 - fs - mn				Ha2 (1/4)	Hb2 (1/4)	Ma (1/4)	Hb2 (1/4)	
	Herma. Hb	s1 - Fn - mn/S2 - Fn - mn Hb1	s1 - Fn - mn	Ha1 (1/2)	Ha1 (1/4)	Ha2 (1/4)	Incompatible				Ha2 (1/2)
			S2 - Fn - mn	Hb1 (1/2)	Hb1 (1/4)	Hb2 (1/4)					Hb2 (1/2)
		s1 - fs - mn/S2 - Fn - mn Hb2	s1 - fs - mn	Ha2 (1/2)	Ha2 (1/4)	Ma (1/4)					Ma (1/2)
			S2 - Fn - mn	Hb1 (1/2)	Hb1 (1/4)	Hb2 (1/4)					Hb2 (1/2)
	Femelles Fa	s1 - Fn - mn/s1 - Fn - Ms Fa1	s1 - Fn - mn	Incompatible			Ha1 (1/4)	Hb1 (1/4)	Ha2 (1/4)	Hb1 (1/4)	Incompatible
			s1 - Fn - Ms				Fa1 (1/4)	Fb (1/4)	Fa2 (1/4)	Fb (1/4)	
		s1 - fs - mn/s1 - Fn - Ms Fa2	s1 - fs - mn				Ha2 (1/4)	Hb2 (1/4)	Ma (1/4)	Hb2 (1/4)	
			s1 - Fn - Ms				Fa1 (1/4)	Fb (1/4)	Fa2 (1/4)	Fb (1/4)	
	Femelles Fb	s1 - Fn - Ms/S2 - Fn - mn	s1 - Fn - Ms	Fa1 (1/2)	Fa1 (1/4)	Fa2 (1/4)	Incompatible				Fa2 (1/2)
			S2 - Fn - mn	Hb1 (1/2)	Hb1 (1/4)	Hb2 (1/4)					Hb2 (1/2)

Figure A6.2 : tableaux de croisement correspondant aux modèles M1.F1 / F1.M1 et M1.F2 / F2.M1. Les croisements produisant des femelles (Fa) sont Ha12 x Hb12, Hb12 x Ha22, Fa x Hb12, les cases correspondant sont en jaune. Les fréquences de ces génotypes est de 10^{-4} à 10^{-3}.

Pour chaque modèle, les équations de croisement ont été écrites à partir du tableau de croisement, comme dans l'exemple suivant (modèle M1, tableau 1). Les équations de passage d'une génération à la suivante correspondant à ce modèle sont données ci-dessous :

$$\begin{cases} x'_{ha1} = \frac{1}{\sigma}\left(\frac{x_{hb1}\times(2x_{ha1}+x_{ha2})}{4}\left(\frac{1}{\theta_a}+\frac{1}{\theta_b}\right)\right) \\ x'_{ha2} = \frac{1}{\sigma}\left(\frac{x_{ha1}\times x_{hb2}}{2\theta_a}+\frac{x_{ha2}\times(x_{hb1}+x_{hb2})}{4\theta_a}+\frac{x_{hb1}\times(x_{ha2}+2Kx_{ma})}{4\theta_b}+\frac{x_{hb2}\times(2x_{ha1}+x_{ha2})}{4\theta_b}\right) \\ x'_{hb1} = \frac{1}{\sigma}\left(\frac{x_{ha1}\times(x_{hb1}+x_{hb2})}{2\theta_a}+\frac{x_{ha2}\times(x_{hb1}+x_{hb2})}{4\theta_a}+\frac{x_{hb1}\times(2x_{ha1}+x_{ha2})}{4\theta_b}+\frac{x_{hb2}\times(2x_{ha1}+x_{h}\right. \\ x'_{hb2} = \frac{1}{\sigma}\left(\frac{x_{ha2}\times(x_{hb1}+x_{hb2})}{4\theta_a}+\frac{x_{hb1}\times(x_{ha2}+2Kx_{ma})}{4\theta_b}+\frac{x_{hb2}\times(x_{ha2}+2Kx_{ma})}{4\theta_b}\right) \\ x'_{ma} = \frac{1}{\sigma}\left(\frac{x_{ha2}\times x_{hb2}}{4}\left(\frac{1}{\theta_a}+\frac{1}{\theta_b}\right)+\frac{x_{hb2}\times Kx_{ma}}{2\theta_b}\right) \end{cases}$$

$\theta_a = x_{hb1} + x_{hb2}$

$\theta_b = x_{ha1} + x_{ha2} + Kx_{hma}$

$\sigma = x_{ha1} + x_{ha2} + x_{hb1} + x_{hb2}$

$x_{ha1}, x_{ha2}, x_{hb1}, x_{hb2}, x_{ma}$ et $x'_{ha1}, x'_{ha2}, x'_{hb1}, x'_{hb2}, x'_{ma}$ sont les fréquences génotypiques à une génération concernée ou à la génération suivante des génotypes en présence.

θ_a (respectivement θ_b) est la quantité totale de pollen disponible compatible avec les individus du groupe a (respectivement b). σ est la quantité totale d'ovules fécondables. θ_a, θ_b et σ permettent respectivement de normaliser les productions de pollen des groupes a et b et la production d'ovule. Dans ce cas, aucune femelle n'est présente (absence de la mutation mâle-stérile), mais identiquement xfa et xfb désignent les fréquences des femelles a et des femelles b.

Résumé

Le frêne commun (*Fraxinus excelsior* L.) possède un système de reproduction peu banal où se côtoient des mâles, des hermaphrodites et des femelles (polygamie). La polygamie et d'autres rares régimes de reproduction (androdiécie, diécie) sont présents en fortes fréquences chez les Oléacées, famille à laquelle appartient *F. excelsior.* Cette situation exceptionnelle pourrait être en lien avec l'existence dans cette famille d'un système d'incompatibilité à deux groupes, documenté chez plusieurs espèces. Dans ce travail nous montrons que ce système existe chez *F. excelsior*, et nous discutons les implications possibles en termes de transition de régimes de reproduction. De plus, nous développons un modèle de génétique des populations afin d'étudier les conditions de maintien de la polygamie observée et les scénarios envisageables de transitions vers la diécie.

Abstract

The European ash (*Fraxinus excelsior* L.) displays an unusual breeding system with the presence within the same populations of males, females and hermaphrodites (polygamy). Inside the olive family (to which *F. excelsior* belongs), such rare breeding systems are fairly common. A recently documented diallelic incompatibility system among several species of the Oleaceae may be related to this situation. In the present work, we show that *F. excelsior* possesses the same incompatibility system and we discuss what such data could mean in terms of breeding system evolution. In addition, we develop a population genetics model to study the conditions allowing the maintenance of the observed polygamy and to investigate the possible scenarios leading to separate sexes in this species.