

Habilitation à diriger des recherches

Variations intraspécifiques des traits floraux Mécanismes de maintien et conséquences

Eric Imbert
Enseignant-Chercheur
Université Montpellier II
Institut des Sciences de l'Évolution

Soutenue le 10 février 2014

Membres du jury

Christophe Andalo
Nathalie Machon
Doyle McKey
Frédéric Médail
Agnès Mignot

Maitre de conférences
Professeure
Professeur
Professeur
Professeure

Université Paul Sabatier, Toulouse
Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris
Université Montpellier II
Université Aix-Marseille
Université Montpellier II

Activités de recherches

Le texte qui suit doit beaucoup à Hui Wang et Michel Thomann, puisque les travaux présentés sont en grande partie leurs travaux de thèse.

Lors des dernières assises de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, la question de la suppression de l'HDR a été évoquée... Malheureusement, comme assez souvent pour ce genre de consultation, ces assises ont été bâclées, et ce sujet est rapidement passé à la trappe. Je suis donc contraint de rédiger ce document. Après quelques années d'opposition -assez facile dois-je l'avouer puisque je n'étais pas en position de me présenter pour obtenir ce titre, un argument définitif s'est imposé à moi : si je désire encadrer des étudiants, pourquoi devrais-je systématiquement compter sur le bon vouloir des collègues habilitées¹ ? C'est un peu comme le boulet qui n'a pas son permis de conduire et qui n'a jamais le dilemme du choix entre *boire ou conduire*, mais qui profite du co-voiturage... Donc voilà, je propose cette HDR pour prétendre encadrer officiellement des étudiants en thèse.

J'ai longtemps cru que le profil de poste sur lequel j'avais été recruté était « Interactions plantes-insectes ». Il y a quelques mois, en faisant quelque rangement, j'ai retrouvé la fameuse fiche de poste : *Poste 0429 Adaptation phénotypique et phylogénie des plantes*. J'ai effectivement essayé de travailler sur la phylogénie et l'évolution de l'hétéromorphisme des akènes chez *Crepis sancta* (voir Article 15²), thématique rapidement abandonnée puisqu'une équipe de Berlin était beaucoup plus avancée sur la phylogénie des crépis.

Recruté en 2001 après 4 années de précarité et d'errance post-doctorale, j'ai commencé mes fonctions d'enseignant-chercheur en étant très pris par l'enseignement et les activités associées (notamment l'organisation d'un module de première année), j'ai donc continué à travailler sur des thèmes en lien avec mes travaux de thèse et de post-doctorats, en l'occurrence la dispersion des diaspores chez les espèces végétales (Articles 22 & 24). J'ai aussi repris le flambeau de la longue histoire de la centaurée de la Clape (Articles 19, 20, 21, 22, 23 & 26) -dont je ne parlerai pas dans ce document bien que cette activité me prenne une partie significative de mon temps de recherches. Ce travail en biologie de la conservation a aussi contribué à me donner un rôle d'expert dans des conseils scientifiques, dont le chronophage Conseil Scientifique Régional du Patrimoine Naturel.

Depuis ma thèse (soutenue en 1997), j'ai travaillé sur des questions de dispersion, d'invasion biologique, d'adaptation locale, de biologie de la reproduction, de biologie de la conservation... sur une vingtaine d'espèces différentes. La liste des publications présentées dans la première partie de ce document exclut les espèces pour lesquelles les travaux ont été abandonnés (*Arabidopsis thaliana*, *Arum italicum*, *Cardamine hirsuta*, *Gagea* sp.), les travaux en cours (*Narcissus triandus*, *Centaurea cyanus*, *Drosera cistiflora*, *Nerine humilis*...), et les travaux qui seront peut être publiés un jour (*Phalaris arundinacea*). L'équipe de recherches à laquelle

1 Sans faute d'orthographe...ma collaboration avec Pierre-Olivier Cheptou est un cas à part.

2 Les références bibliographiques notées *Article x* renvoient à la liste des articles dont je suis auteur ou co-auteur (voir liste des publications pages 5 & 6).

j'appartiens est souvent remarquée pour la diversité des modèles et des questions -ce qui ne facilite pas la rédaction des rapports d'activités, mais la question originelle de notre discipline n'est-elle pas celle de la Biodiversité ? Et selon l'adage olivieriste (ou olivieresque) : l'important, c'est la question... donc peu importe le modèle... J'assume donc pleinement cette prolifération de questions, de situations biologiques, mais aussi les essais-erreurs (des questions abordées, et vite abandonnées parfois par manque de temps), même si cela peut donner l'impression d'un papillonnage, et "*comme Alexandre, je souhaiterais qu'il y eût d'autres mondes, pour y pouvoir étendre [non pas] mes conquêtes amoureuses*", mais mes requêtes.

Pendant que je préparais ce document (préparation qui a rendu mon un été un peu difficile), il m'a été répété qu'une HDR consistait à mettre ensemble les travaux réalisés après la thèse, donc des travaux vieux de 10 ans. Cette apparente dispersion thématique ne rend pas facile la rédaction d'une synthèse. Bien sûr, l'ensemble de mes travaux porte sur la biologie des plantes et l'écologie évolutive, mais on ne fait pas une équipe de football avec 11 joueurs qui savent un peu près taper dans un ballon. Il faut avoir des joueurs compétents à chaque poste. On ne fait pas non plus un plat cuisiné en jetant des ingrédients dans la gamelle. Il faut choisir les ingrédients et les lier. De plus, ayant pris un peu de temps entre ma thèse et la préparation de cette HDR, j'aurais été contraint de lier des travaux conduits sur près de 20 ans.

Une HDR est avant tout une ouverture pour des travaux de futurs (mais éventuels) étudiants en thèse, donc une ouverture vers des propositions de recherches. Il me semblait donc plus pertinent de rédiger ce document sur la base des travaux les plus récents. C'est pourquoi, j'ai décidé de ne présenter qu'une partie de mon travail, en fait la plus récente. Celle que j'aimerais développer dans les années à venir. Bref, celle pour laquelle j'aimerais diriger des recherches...

Bon match, bon appétit, bonne lecture, c'est selon.

En raison des interactions fortes entre les insectes et les plantes à fleurs, en particulier lors de la pollinisation, le rôle des insectes dans la diversification des Angiospermes, notamment la diversité des morphologies florales, a été mis en avant dans plusieurs études (Eriksson & Bremer 1992, Dodd et al. 1999, Kay et al. 2006, van der Niet et al. 2012). Cette hypothèse repose sur de nombreuses observations de préférences innées des insectes pour certains traits floraux (couleur, forme, odeur) conduisant à des syndromes de pollinisation (*pollination syndrome*, Fenster et al. 2004). Les différenciations d'assemblages locaux dans les communautés de pollinisateurs conduiraient alors à une sélection divergente sur les traits floraux et produiraient de la spéciation allopatrique (Grant 1949). Ainsi, la diversification des ancolies en Amérique du Nord est à relier à la diversification des pollinisateurs (bourdons, oiseaux et papillons, Whittall & Hodges 2007), alors que pour les ancolies européennes, présentant moins de diversité dans la morphologie florale, l'isolement géographique et la différenciation d'habitat sont les principaux mécanismes de spéciation (Bastida et al. 2010). Le rôle des pollinisateurs dans la diversification du genre andin *Ipomoea* (Solanaceae) a été mis en évidence pour des traits associés à la production de nectar, mais pas pour les traits associés à l'affichage visuel (Smith et al. 2008). De même, une étude sur le genre *Mimulus* au Chili a conclu à l'absence du rôle des pollinisateurs sur la diversification (Cooley et al. 2008). Ce modèle d'isolement reproducteur par les pollinisateurs est aussi à considérer dans les processus de séparation de niche au sein des communautés (Pauw 2013).

Le succès reproducteur femelle des fleurs, production de graines, et le succès mâle, export du pollen, dépendant du nombre et de la qualité des visites, la valeur sélective des individus est liée à leur faculté à utiliser la ressource *pollinisateurs* en augmentant leur attractivité (Ashman et al. 2004, Fenster et al. 2004, Knight et al. 2005). En conséquence, une sélection contre les phénotypes en dehors de l'image de recherche des pollinisateurs opère dans les populations naturelles (Nilsson 1988, Campbell et al. 1996, Meléndez-Ackerman et al. 1997, Harder & Johnson 2009). Diverses expériences en conditions contrôlées tendent ainsi à montrer que les pollinisateurs généralistes comme les bourdons ont un comportement qui favorise les phénotypes les plus communs (Smithson and Macnair 1996, 1997a, 1997b), résultat de l'apprentissage. D'autres études sur le comportement de l'abeille domestique ont aussi montré que les abeilles visitent des fleurs de phénotype connu, éventuellement sans récompense, plutôt que des fleurs de phénotype nouveau (Dyer & Murphy 2009). En conséquence, les interactions plantes-insectes, notamment les phases de reconnaissance et d'apprentissage par l'insecte de l'association signaux visuels/olfactifs et ressources, imposeraient des contraintes sur la morphologie florale, et conduiraient à une homogénéisation des fleurs et à des variations

intraspécifiques peu importantes (Salzmann & Schiestl 2007, Dormont et al. 2010). Les exemples de polymorphisme intraspécifique pour les caractères floraux, comme la couleur, sont effectivement limités. La première partie de ce document fait le bilan des travaux sur le maintien du polymorphisme de couleur de fleurs chez *Iris lutescens*, et correspond au travail de thèse de Hui Wang.

Concernant les variations des traits quantitatifs (taille des organes, volume de nectar...), dans une revue combinant 604 estimations de l'héritabilité dans 41 espèces, Ashman & Majetic (2006) ont reporté l'existence d'une variance génétique -parfois importante, $h^2 > 0,5$ - combinée à une sélection directionnelle pour de nombreux traits. La présence d'une variance génétique pour des traits soumis à une forte sélection est le sujet de nombreux travaux, mais un point essentiel reste que dans les populations naturelles, les effets des caractéristiques individuelles de la fleur sont atténués par des processus écologiques qui opèrent à l'échelle de l'agrégat de plantes en fleur ou de la population. L'un des mécanismes les plus étudiés est la relation entre densité locale et efficacité de la pollinisation, conduisant à un effet Allee (Article 20). Des effets de facilitation interspécifiques sont aussi possibles. Par exemple, une diversité florale de forme, de couleur ou d'odeur conduit à une attractivité d'une plus grande diversité d'insectes, et à une meilleure pollinisation (Ghazoul 2006). La seconde partie de ce document s'articule autour de la thèse de Michel Thomann sur l'effet du déclin des pollinisateurs sur l'évolution des systèmes de reproduction, et concerne les conséquences évolutives des variations quantitatives observées dans les traits floraux.

Maintien du polymorphisme de couleur de fleurs : le mystère d'*Iris lutescens*

Iris lutescens Lam. est une espèce commune de la région méditerranéenne. L'espèce se trouve dans des milieux calcaires à végétation ouverte (pelouse à brachypode). C'est une espèce allogame autoincompatible avec une reproduction végétative par rhizome. Cette reproduction clonale produit une distribution agrégée dans les populations naturelles. L'espèce fleurit précocement au printemps (mars-avril, début mai pour les populations des Causses). Chaque ramet produit une tige unique portant une seule fleur (Figure 1). La fleur est formée de trois unités qui contiennent chacune un sépale tombant portant des longs poils, un pétale dressé et un style pétaloïde recouvrant l'étamine, rendant le pollen et le stigmate difficilement accessibles. Les poils présents sur les sépales ont été utilisés pour définir le groupe des iris barbus (Wilson 2006), et peuvent être interprétés comme des guides à nectaire ou comme des mimes d'étamines (Lunau & Maier 1995). Malgré la présence d'un tissu richement vascularisée à la base du périanthe qui peut être interprété comme des nectaires, il n'y a pas de production de nectar, caractère partagé avec la plupart des espèces méditerranéennes du genre (Sapir et al. 2002, Rudall et al. 2003).



Figure 1 : morphe violet et morphe jaune, phénotypes les plus fréquents chez *Iris lutescens*. Photo prise dans une population naturelle du Languedoc Roussillon (B. Anderson). La fleur d'iris est composée de 3 parties chacune contenant un sépale tombant, un pétale dressé, une étamine recouvert par le style pétaloïde.

L'espèce présente un polymorphisme de couleur de fleurs très marqué avec deux morphes principaux (violet et jaune, Figure 1). D'autres phénotypes sont présents dans les populations naturelles, notamment des fleurs blanches, mais sont rares. La plupart des populations du sud de la France sont polymorphes, à l'exception de deux populations monomorphes jaunes (Figure 2). Les populations espagnoles sont monomorphes violettes ou jaunes (Figure 2).

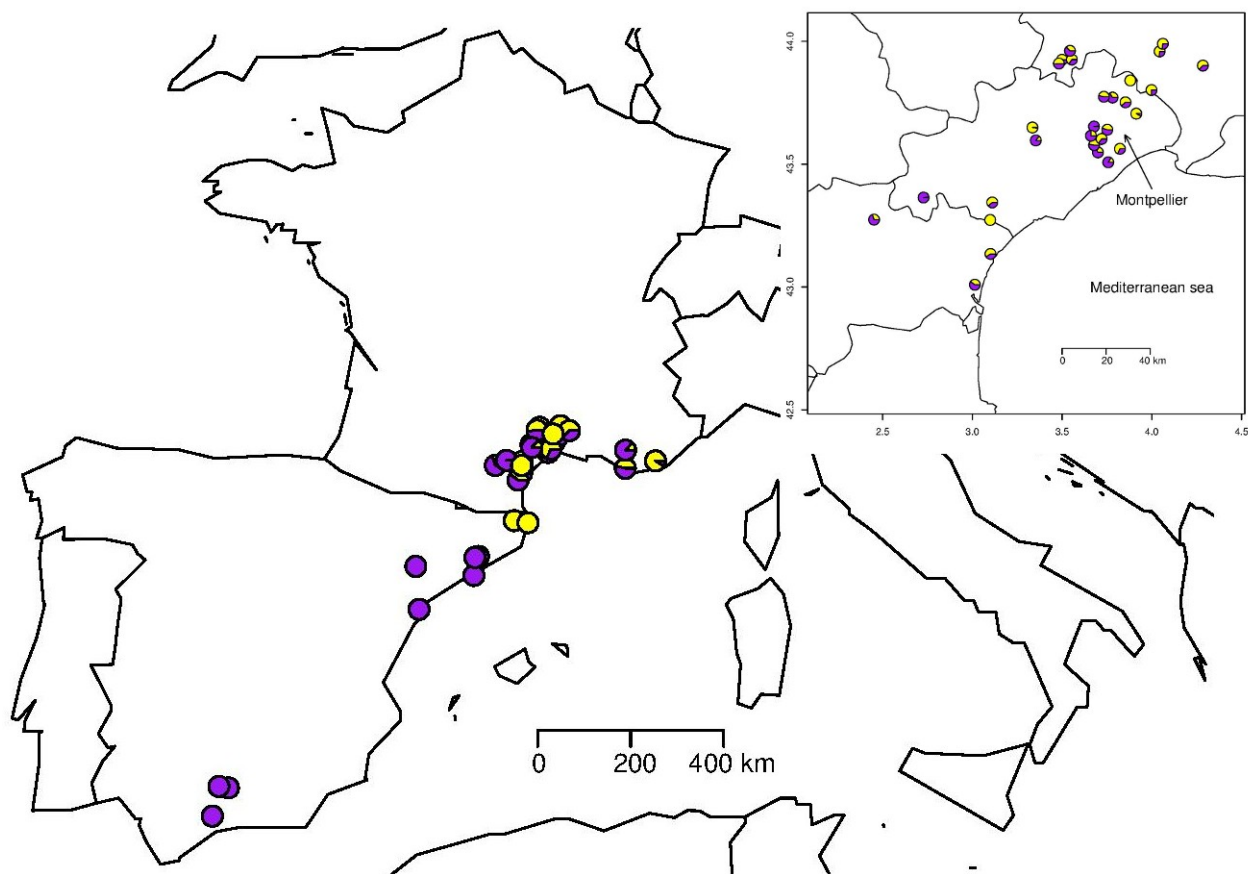


Figure 2 : carte de répartition de *Iris lutescens*. Les cercles correspondent aux populations échantillonnées. Les populations espagnoles sont monomorphes violettes (à l'exception de celle situées au nord de la Catalogne, monomorphes jaune). Aucune population italienne n'a été échantillonnée. L'encart en haut à droite présente le détail des populations autour de Montpellier. Voir aussi articles 29 et 30.

Le maintien du polymorphisme : le rôle des pollinisateurs

Le syndrome de pollinisation s'apparente à une préférence innée d'un pollinisateur pour un ensemble de traits, et génère des relations positives entre la fréquence d'un phénotype et le succès reproducteur de la population. Par exemple, chez *Phlox pilosa*, le morphe rose correspond à une image optimale pour les pollinisateurs, ce qui conduit à une relation négative entre la fréquence du morphe blanc et l'efficacité des pollinisateurs (Levin & Kerster 1970). Ce mécanisme produit de l'homogamie (*assortative mating*) et contribue au maintien du polymorphisme interpopulation chez *Phlox drummondii* (Watkins & Levin 1990, Hopkins and Rausher 2012), ou au maintien d'une zone hybride entre sous-espèces de muflier (Tastard et al. 2012). Le modèle du syndrome de pollinisation permet la variation entre populations ou la variation entre espèces proches si des variations spatiales de faune pollinisatrice existent (Proctor et al. 1996, Harder & Johnson 2009). Chez *Mimulus aurantiacus*, espèce nord-

américaine, les populations proches de la côte ont des fleurs de couleur rouge visitées exclusivement par des oiseaux-mouches, alors que les fleurs des populations éloignées de la côte sont jaunes et visitées préférentiellement par des papillons sphingidés (*hawkmoths*). Ces différences de cortèges de pollinisateurs sont associées à des différences de morphologie florale et de quantité de nectar produite par chaque morphe (Streisfeld & Kohn 2007). Une comparaison F_{st} / Q_{st} a montré que cette différence de visite entraîne une sélection très forte sur la couleur, conduisant à une différenciation phénotypique malgré un flux de gènes important (Streisfeld & Kohn 2005). Chez *Ipomoea purpurea*, le morphe blanc est évité par les bourdons au détriment du morphe violet (Epperson & Clegg 1987). Le morphe blanc se maintient à la fois par autofécondation et par un biais de transmission de l'allèle *white* chez les hétérozygotes (Fry & Rausher 1997, Subramanian & Rausher 2000).

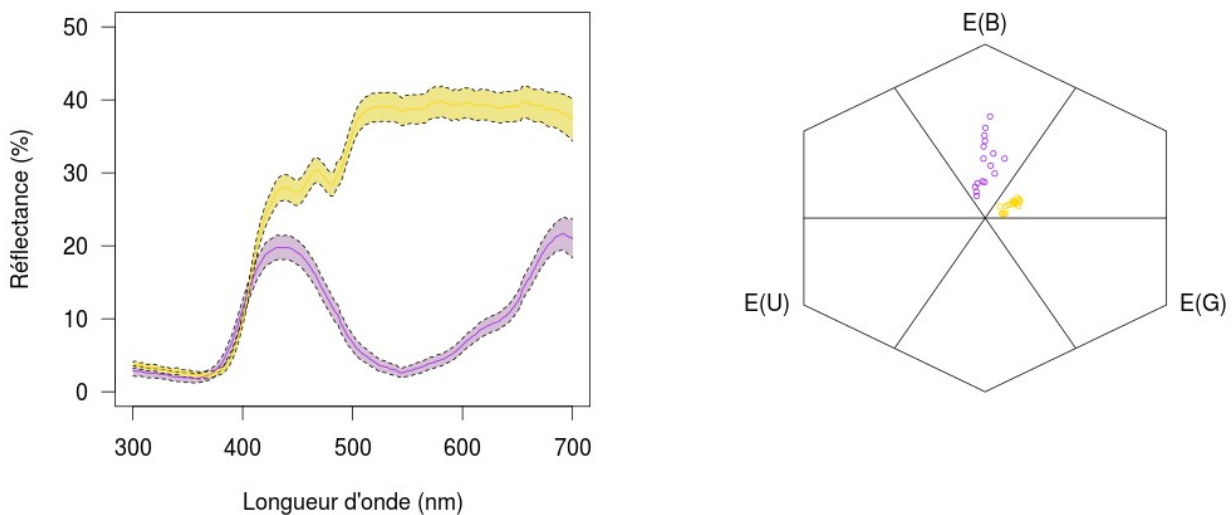


Figure 3 : A- à gauche, réflectance moyenne (trait plein) et erreur-standard (lignes en pointillés) pour les fleurs jaunes et les fleurs violettes en fonction de la longueur d'onde. Les fleurs jaunes ont une réflectance plus importante dans les longueurs supérieures à 450 nm (vert-jaune-rouge). B- à droite, représentation des morphes dans l'espace hexagonal représentant la vision des bourdons selon le modèle de Chittka. Les axes E(U), E(B) et E(G) représentent les valeurs relatives d'excitation des photorécepteurs respectivement de l'UV, du bleu et du vert des bourdons. Les deux morphes sont nettement distingués par la vision trichromatique des insectes (nuages de point non chevauchants), et l'excitation moyenne dans le bleu est plus forte (E(B)) pour le morphe violet (les points s'écartent du centre de la figure). Pour des détails, voir article 28.

Dans le cas d'*Iris lutescens*, les spectres de réflectance de chaque morphe entraînent une différence de perception, notamment pour les bourdons (Figure 3, Article 28). Ces différences se traduisent par une préférence des papillons pour le morphe violet (Figure 4a, Article 29), comme attendu selon le modèle de syndrome de pollinisation. Cependant, en raison de la morphologie des fleurs d'iris, les papillons ne transportent pas de pollen d'iris (Article 29). Pour les hyménoptères de petite taille (abeilles domestiques et autres abeilles solitaires), aucune

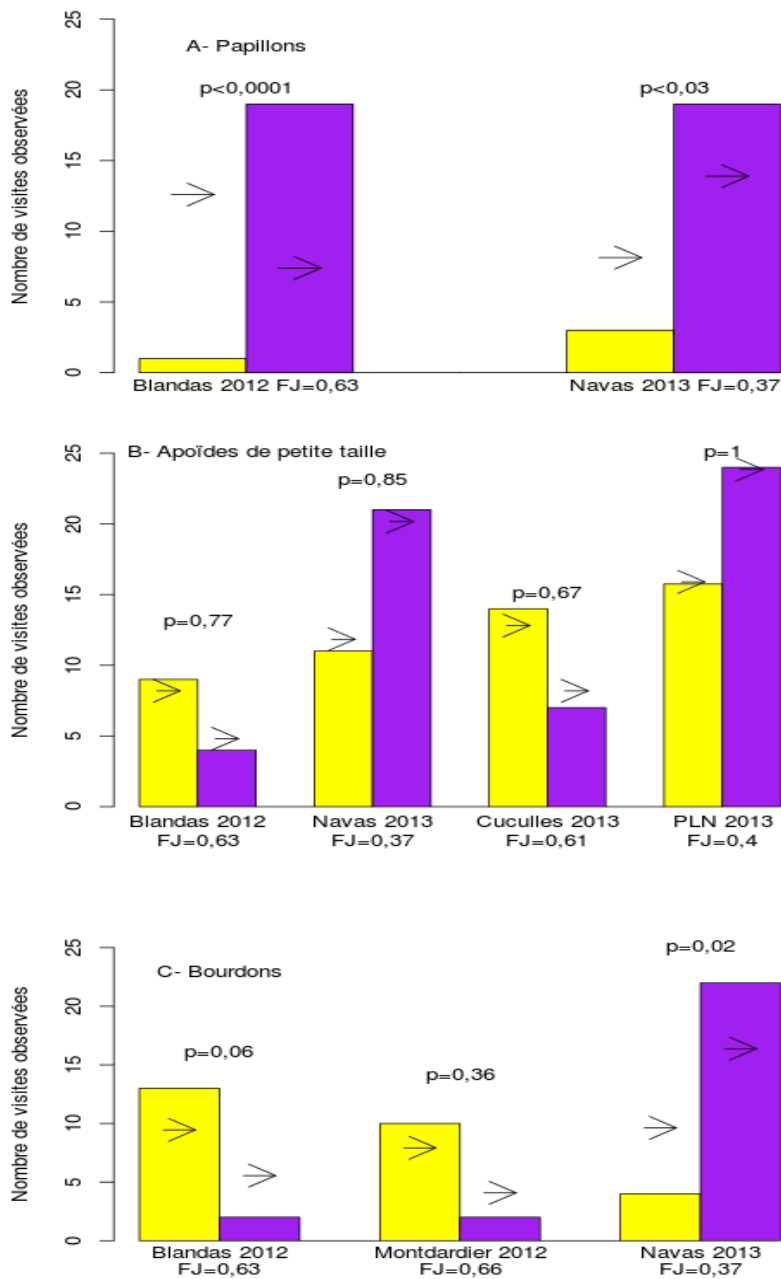


Figure 4 : Nombre de visites observées en populations naturelles pour le morphe jaune et le morphe violet. Les données ont été séparées en groupe fonctionnel : papillons, apoïdes de petite taille (abeille, *Andrena* sp., mégachiles...), et apoïdes de grande taille (*Bombus* sp.). Pour chaque population est donnée la fréquence du morphe jaune (FJ). Les flèches indiquent le nombre attendu d'observations sous l'hypothèse d'un choix aléatoire des insectes (en fonction de FJ). Les valeurs de p indiquent le risque d'erreur si on rejette l'hypothèse d'un choix aléatoire (test exact de Fisher).

Pour les papillons, il y a une préférence pour le morphe violet dans la population dominée par le jaune morphe (Blandas 2012) et la population dominée par le violet (Navas 2013).

Pour les petits apoïdes (essentiellement des abeilles domestiques), aucune préférence n'a été observée. Pour les données de PLN 2013, le nombre de visites est représenté sur l'axe de droite. Pour les bourdons, une tendance à une préférence pour le morphe dominant dans la population est observée. Pour détails, voir article 29.

préférence n'a pu être mise en évidence (Figure 4b). Enfin, pour les bourdons, les données sont partielles mais suggèrent une préférence pour le morphe le plus fréquent dans les populations, comportement déjà observé dans d'autres situations (Smithson & Macnair 1996). L'ensemble de ces données sur les pollinisateurs ne confirme pas l'existence d'une séparation de niches entre morphes, ce qui est cohérent avec la présence de populations naturelles polymorphes (Figure 2), puisque ce modèle de préférence ne permet pas de maintenir du polymorphisme intrapopulation, à moins d'un flux de gènes suffisamment important pour réduire les effets de la sélection locale.

L'idée qu'une différenciation dans les couleurs soit associée à une différence de

pollinisateurs selon le modèle du syndrome de pollinisation se retrouve dans les écrits de Darwin (voir Fenster et al. 2004), mais paradoxalement il y a peu de données qui corroborent ce modèle (Rauscher 2008). *Drosera cistiflora* est une espèce sud-africaine qui présente un polymorphisme interpopulation important avec des phénotypes blanc, rose, violet, rouge et jaune. Les populations sont essentiellement monomorphes, avec une domination du morphe rose. Les observations de terrain montrent une nette séparation de la communauté de pollinisateurs entre les morphes rouge et blanc (Anderson, non publié). Une étude génétique est en cours dans le cadre d'une collaboration avec Bruce Anderson (*Stellenbosch University, Afrique du Sud*) pour voir si cette séparation de niche a des conséquences sur les flux de gènes. Cette situation écologique représente donc une situation complémentaire à l'étude du polymorphisme intrapopulationnelle observé chez *I. lutescens*.

Déception pour la fréquence-dépendance...

La question du maintien du polymorphisme est une question récurrente de la biologie évolutive. Dans les années 40, T. Dobzhansky et son collègue botaniste Carl Epling publient une série d'articles sur le polymorphisme de couleur de fleurs chez *Linanthus parryae*, espèce éphémère du désert mojave. Leurs travaux sur près de 427 populations montrent que les populations monomorphes sont plus fréquemment blanches (29/427) que bleues (9/427). Ils concluent qu'une sélection directionnelle favorise le morphe blanc (Epling & Dobzhansky 1942). A l'inverse, Wright (1943), à partir d'une analyse spatiale de la distribution des fréquences de couleurs, propose que la sélection est mineure et illustre son modèle d'isolement par la distance dans lequel la dérive est le processus majeur de différenciation des populations. Dans cette situation, le polymorphisme, résultant d'un équilibre migration-dérive, est transitoire et son évolution dépend de la taille des populations. Epling et collaborateurs dans les années 60 montrent que les fréquences des morphes bleu et blanc ont peu changé en 20 générations, y compris dans les populations de petite taille. Il conclut donc que la dérive ne semble pas jouer un rôle important, mais que le polymorphisme est « *in the long run the product of selection operating at an intensity we have been unable to measure* » (Epling et al. 1960).

Le modèle de Levene (1953) est le premier à montrer le rôle de la sélection balancée dans le maintien du polymorphisme. Ce modèle concerne l'évolution de la spécialisation et le maintien de génotypes adaptés à des niches différentes, et représente, avec le modèle de Dempster (1955), le prototype des modèles de maintien du polymorphisme (voir Ravigné et al. 2002 pour les références). La fréquence-dépendance présente à l'échelle locale dans le modèle de Levene permet le maintien du polymorphisme, alors que le modèle de Dempster, qui exclut cette fréquence dépendance, entraîne la fixation du génotype dont la valeur sélective a la plus

forte moyenne géométrique. Pour comprendre le maintien du polymorphisme en populations naturelles, il est donc nécessaire de montrer que les morphes ont des valeurs sélectives différentes et que la sélection balancée opère (Mitchell-Olds et al. 2007).

Dans la mesure où *Iris lutescens* ne produit pas de nectar et que le pollen est difficilement accessible, cette espèce est associée au groupe des plantes à pollinisation par tromperie, ou espèce tricheuse, c'est-à-dire une espèce qui ne fournit aucune ressource (nectar, pollen ou autres) aux insectes visitant la fleur (Article 29). Cette stratégie de pollinisation, décrite dans plus de 32 familles d'Angiospermes (Renner 2006) mais étudiée essentiellement chez les Orchidées, représente une situation particulièrement favorable pour le maintien du polymorphisme de couleur, ou autres traits associés à l'attractivité des pollinisateurs. En effet, après avoir visité une fleur sans récompense, le pollinisateur va avoir tendance à éviter les fleurs du même phénotype, un comportement qui va générer une sélection fréquence-dépendante négative puisque le morphe le plus rare sera sur-visité par rapport à sa fréquence naturelle (Smithson & Macnair 1997b). En fait, cette sélection fréquence-dépendante n'a été montrée formellement qu'une seule fois, chez l'orchis sureau (*Dactylorhiza sambucina*, Gigord et al. 2001). Les autres auteurs qui ont travaillé sur cette espèce n'ont pas réussi à mettre en évidence le même phénomène (Pellegrino et al. 2005a et 2005b, Jersakova et al. 2006)³. Chez une espèce proche, *D. incarnata*, la fréquence-dépendance négative n'a pas pu être montrée non plus (Vallius et al. 2008). Enfin, chez une orchidée tropicale, *Psychilis monensis*, la fréquence-dépendance négative est trop partielle pour jouer un rôle (Aragon & Ackerman 2004).

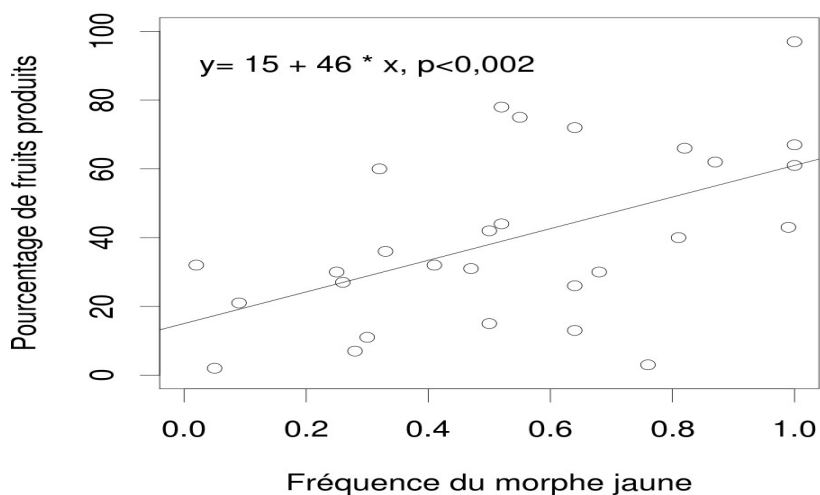


Figure 5: Pourcentage de fleurs ayant produit un fruit en populations naturelles lors d'un échantillonnage réalisé en 2011 en fonction de la fréquence du morphe jaune dans la population. La relation linéaire ($y=15+46*x$) est significativement positive ($p<0,002$). Une relation identique a été observée à l'échelle locale (2 mètres autour de la plante-focale) dans les populations naturelles (voir article 29).

Chez *Iris lutescens*, nous avons aussi montré l'absence de sélection fréquence-dépendance négative (Article 30). Au contraire, nous avons mis en évidence une relation positive entre la

³ A noter que l'article de Gigord et al. présentant un résultat « positif » est sorti dans PNAS (IF > 9) alors que les autres articles présentant des résultats « négatifs » ont été publiés dans des revues avec des IF < 2,1. L'article de Gigord a été cité 121 fois (*web of science* octobre 2013) alors que les autres ne dépassent pas les 25 citations. L'idée que la fréquence-dépendance négative marche se répand...

fréquence des fleurs jaunes et le succès reproducteur femelle des plantes, quelque soit leur phénotype (Figure 5). Cette relation a été mise en évidence à la fois à l'échelle locale (Article 30) et au niveau de la population (Figure 5). Des résultats identiques ont été obtenus chez des espèces trompeuses (*D. sambucina*, Pellegrino et al. 2005a), et des espèces produisant du nectar (*Phlox pilosa*, Levin & Kerster 1970, *Antirrhinum majus* Tastard et al. 2012). Il est important de comprendre que cette relation positive observée chez *I. lutescens* ou d'autres espèces n'est pas une relation fréquence-dépendance positive, telle qu'attendue selon le modèle du syndrome de pollinisation. En effet, cette relation qui donne un avantage au morphe le plus fréquent (effet des préférences innées des pollinisateurs ou effet de l'apprentissage) conduirait à une courbe en U entre le pourcentage de fruits produits et la fréquence du morphe jaune puisqu'à faible fréquence de jaunes, donc forte fréquence de violet, il y aurait aussi une forte production de fruits.

La fréquence-dépendance négative suppose que la déception du pollinisateur l'amène à changer de morphes plus souvent qu'attendu aléatoirement. Les observations réalisées en populations naturelles d'iris n'ont pas montré ce type de comportement (Article 29). Au contraire, les pollinisateurs, notamment les hyménoptères, montrent une fidélité à une couleur (voir aussi Dyer & Murphy 2009). Par ailleurs, l'apprentissage de la déception peut être suffisamment rapide, limitant le nombre de visites successives des fleurs d'iris. La reconnaissance des fleurs se fait aussi par d'autres traits que la couleur, notamment l'odeur, trait pour lequel nous n'avons pas détecté de différences entre morphes jaune et violet (Article 28). Dans cette situation, les morphes sont équivalents. La question revient donc à déterminer l'importance de la couleur relativement à d'autres traits floraux comme les odeurs ou la forme dans le choix des pollinisateurs.

L'ensemble de ces résultats combinés à ceux obtenus chez d'autres espèces suggèrent que la fréquence-dépendance négative n'est pas un mécanisme majeur de maintien du polymorphisme de couleur de fleurs chez les espèces trompeuses. D'autres mécanismes sont donc à privilégier.

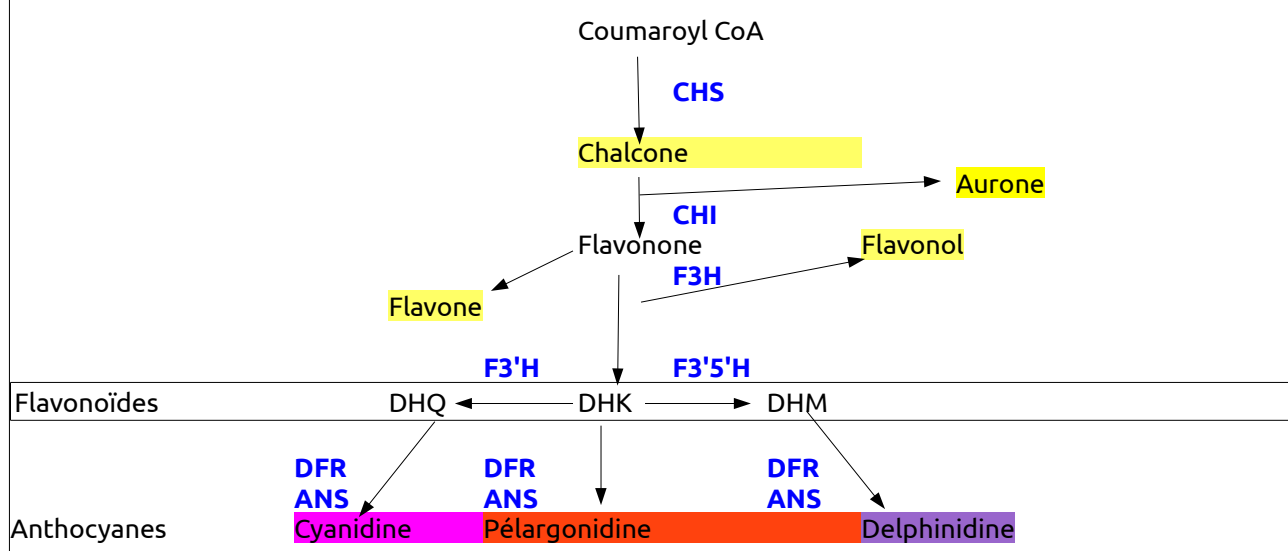
Y'a pas que le sexe dans la vie... mais ça compte...

Les couleurs des fleurs sont dues à la présence/absence de pigments (Encadré I). Ces pigments, notamment les flavonoïdes et les anthocyanes, et des molécules produites par la même chaîne de biosynthèse, ont aussi des rôles dans la protection aux UV ou la fertilité mâle, et contribuent aux réponses physiologiques à des stress environnementaux (e.g. herbivorie, pathogènes, stress hydrique, Koes et al. 1994, Falcone Ferreyra et al. 2012). Chez *Iris pumila*,

Encadré I les pigments floraux

Type	Bétaglaïnes	Caroténoïdes	Flavonoïdes/Anthocyanines
Distribution	Caryophyllales, sauf les Caryophyllacées	toutes les plantes	toutes les plantes, sauf celles ayant des bétaglaïnes
Couleur	jaune-rouge	jaune-orange	Jaune-Rouge-Bleu-Violet
Autres rôles majeurs	Aucun	Fonction dans la photosynthèse Photoprotection Synthèse hormones de croissance	Qualité du pollen Résistance stress hydrique Résistance herbivores
Exemple	<i>Mirabilis jalapa</i>	<i>Mimulus sp.</i>	<i>Iris lutescens</i>

Schéma simplifié de la biosynthèse des flavonoïdes/anthocyanes (d'après Tanaka et al. 2008). En bleu, sont donnés les noms des enzymes intervenant dans la chaîne. Les encadrés de couleur indiquent la couleur donnée par les pigments.



l'exposition prolongée à la lumière du soleil induit une augmentation de la concentration d'anthocyanes dans les feuilles (Tucić et al. 2009, Vuleta et al. 2010). En conséquence, le maintien du polymorphisme peut aussi être dû à des agents de sélection sans lien avec la pollinisation en raison d'effets pléiotropes des pigments (Strauss & Whittall 2006, Rausher 2008). Par exemple, chez *Linanthus parryae*, le polymorphisme est maintenu en raison de la meilleure performance des fleurs bleues en année sèche (Schemske & Bierzychudek, 2001, 2007), ce qui représente un argument en faveur de Epling et Dobzhansky. A partir de ces données, Turelli et al. (2001) ont développé un modèle *ad hoc* montrant que l'existence d'une banque de graines persistante chez cette espèce, trait d'histoire de vie courant chez les espèces désertiques, contribue à la faible variation de fréquence des morphes entre années. Dans d'autres situations, comme chez *Raphanus sativus* (Irwin et al. 2003, Strauss et al. 2004), des

sélections antagonistes sur les traits floraux par les pollinisateurs et sur la concentration en pigments dans les tissus végétatifs par les herbivores permettent le polymorphisme. Chez *Claytonia virginica* (Frey 2004), les pollinisateurs ont une préférence pour les fleurs rouges, mais la présence de pigments rouges est positivement corrélée avec la pression d'herbivorie. Enfin, chez *Protea aurea*, buisson d'Afrique du Sud, la couleur des fleurs n'est pas soumise directement à sélection mais corrélée à des traits sous sélection, puisque les individus de morphé blanc ont des inflorescences de plus grande taille, produisent plus de nectar et attirent plus de pollinisateurs, mais aussi de granivores (Carlson & Holsinger 2013).

Iris lutescens est une fleur qui subit une prédation importante par les cétoines et notamment par la cétoine hirsute, coléoptère florivore qui détruit quasiment systématiquement complètement la fleur visitée. Les observations de choix en populations naturelles n'ont pas montré de préférence pour l'un des deux morphes (Article 29). Cependant, un autre effet pléiotrope a pu être observé lors de divers protocoles indépendants de croisements contrôlés : les fleurs, quel que soit leur phénotype, recevant du pollen issu de fleurs jaunes produisent plus de graines (Figure 6, Articles 29 & 30).

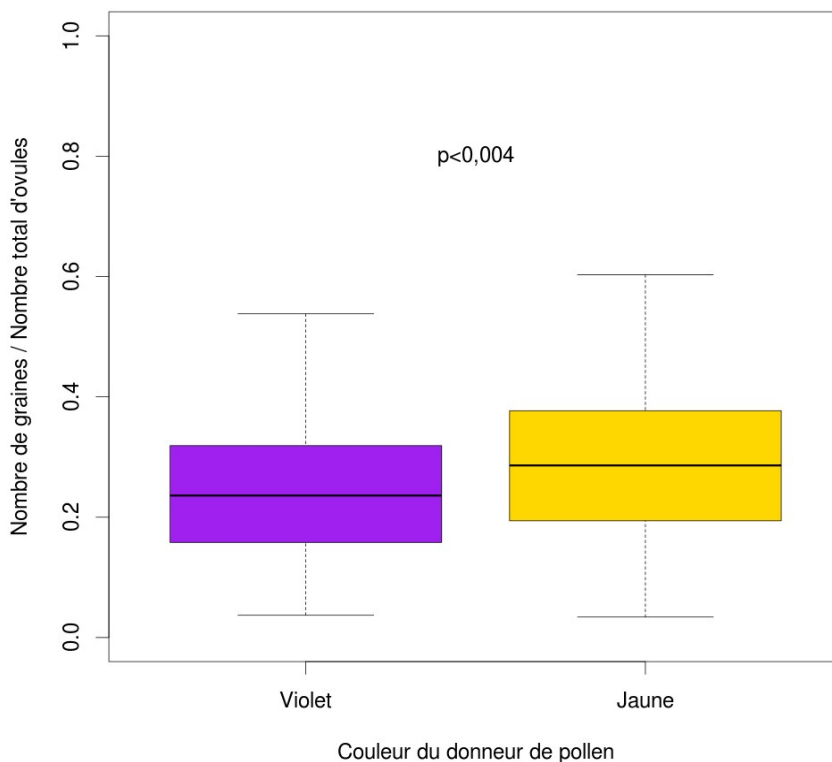


Figure 6 : ratio nombre de graines / nombre total d'ovules (*seedset*) produits par des fleurs pollinisées par du pollen d'une fleur violette ou jaune. Les pollinisations ont été réalisées en conditions contrôlées. Une fleur pollinisée par du pollen venant d'une fleur jaune produit significativement plus de graines qu'une fleur pollinisée par du pollen venant d'une fleur violette, indépendamment de la couleur de la fleur recevant le pollen. La différence entre les deux morphes a été testée avec un modèle linéaire prenant en compte la couleur du donneur, la couleur du receveur et l'interaction. Pour détails voir article 30. Des résultats identiques ont été obtenus en populations naturelles (voir article 29).

Cette observation est cohérente avec la relation succès reproducteur femelle / fréquence des

jaunes observés en populations naturelles (voir plus haut), notamment avec l'absence de différences entre fleurs violettes et fleurs jaunes pour le succès reproducteur femelle. La plus forte concentration de flavonoïdes dans les fleurs jaunes (Figure 7, Article 28) pourrait être la raison d'un pollen de meilleure qualité (Fry & Rausher 1997, Taylor & Grotewold 2006, Frey 2007, voir aussi Yang et al. 2013). Des expériences de comparaison de la croissance des tubes polliniques sont nécessaires pour étudier cette piste.

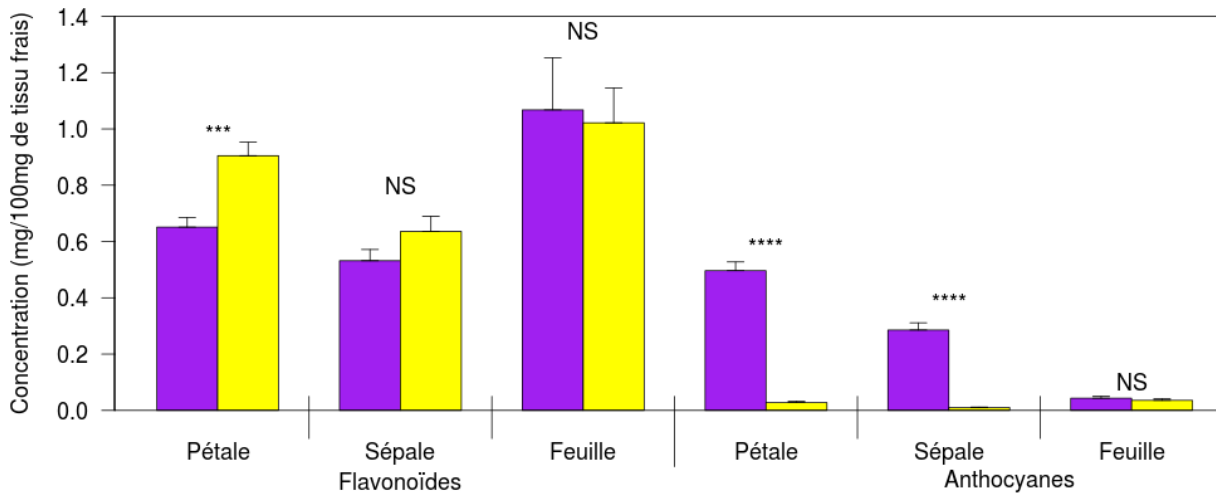


Figure 7 : Concentration (valeur moyenne et erreurs standards) en pigments Flavonoïdes et Anthocyanes de différents tissus (pétale, sépale et feuille) de fleurs jaunes et violettes. Les anthocyanes sont plus concentrés dans les fleurs violettes, mais il n'y a pas de différence pour les feuilles. Pour les flavonoïdes, seuls les pétales montrent une différence entre morphes. Les symboles au dessus des barres (NS = non significatif, $p > 0,05$, *** $p < 0,001$ et **** $p < 0,0001$) sont le résultat des test de Welch pour la comparaison de deux échantillons. Pour détails, voir article 28.

Ces observations conduisent à la conclusion d'une meilleure performance du morphe jaune, et pose donc la question du maintien du morphe violet. D'autres effets pléiotropes sont possibles, et pourraient expliquer la présence de populations uniquement violettes en Espagne (Figure 2). Cependant, un effet de dérive -effet de bord- peut aussi être responsable de populations monomorphes. Chez le mouron des champs, *Lysimachia arvensis* (anciennement *Anagallis arvensis*), des facteurs environnementaux agissant à une échelle large sont responsables de patrons de distribution spatiale des deux morphes, le morphe bleu ayant une meilleure résistance à la sécheresse que le morphe orange (Arista et al. 2013), résultat cohérent avec ceux obtenus chez *Linanthus parryae* (Schemske & Bierzychudek 2001, 2007). Le mouron étant une espèce annuelle à cycle court, les travaux expérimentaux sont plus facilement réalisables que chez *I. Lutescens*. Dans le cadre d'une collaboration avec Montserrat Arista (*Universidad de Sevilla, Espagne*), nous envisageons de réaliser une expérience pour tester

l'apparition d'un isolement reproducteur entre les deux morphes, notamment en comparant les populations monomorphes (isolement limité) et les populations polymorphes (isolement plus important). Concernant *I. lutescens*, une étude par approche corrélative est en cours pour comparer la distribution spatiale de la fréquence du morphe jaune avec des variables bioclimatiques (précipitation, température moyenne...).

Génétique du trait

Les nombreux croisements conduits chez les iris pour produire des variétés ornementales ont permis de mettre en évidence le déterminisme génétique de la plupart des caractères floraux (couleur, présence de barbes, strie..., voir aussi les travaux conduits par M. Arnold sur l'hybridation des iris de Louisiane). Un protocole de croisements a été mis au point pour *Iris lutescens* à partir d'individus en collection, et sera suivi dans les années à venir. En raison du faible taux de germination (moins de 10%) et de l'âge à la floraison (3 ans), cette approche risque d'être un peu longue à porter ses fruits.

Trois groupes de pigments sont responsables de la coloration des plantes (Encadré I). Les pigments du groupe flavonoïdes/anthocyanes sont les plus fréquents. Chez *Iris lutescens*, la delphinidine, pigment de la famille des anthocyanes, est responsable de la coloration des fleurs violettes (Article 28). Cependant, à l'opposé d'autres espèces où la différence de coloration est due à la présence/absence de pigments, la delphinidine est aussi présente, en plus faible concentration, dans les fleurs de phénotype jaune (Figure 7, Article 28).

A partir des travaux conduits dans différentes espèces horticoles, il a été possible de reconstruire la chaîne de biosynthèse des anthocyanines (CBA, voir encadré I). Les anthocyanines sont produits en aval de la chaîne de synthèse des flavonoïdes, et au moins six enzymes différentes interviennent (Koes *et al.* 2005, Tanaka *et al.* 2008). La base génétique de la différence de couleur a été étudiée dans plusieurs espèces polymorphes et des différences d'expression de gènes de la CBA ont été mises en évidence (e.g. Quattrocchio *et al.* 1999, Streisfeld & Rausher 2009, Hopkins & Rausher 2011). Par exemple, une insertion d'un élément transposable dans le gène F3'H bloque la production de l'enzyme associée conduisant à des fleurs blanches chez *Ipomoea purpurea* (Zufall & Rausher 2003).

Dans le cas de l'iris, nous avons testé la présence d'ARN issus de l'expression de plusieurs gènes à partir des séquences publiées dans *GenBank* (CHS, F3H, F3'5'H, DFR et ANS, voir encadré I). En cohérence avec la mise en évidence de pigments identiques dans les deux morphes (Figure 7), nous avons obtenu des amplifications pour l'ensemble des gènes de la voie de biosynthèse, avec une différence de quantité décelée par qPCR. L'expression des gènes de la CBA peut aussi

être régulée au niveau de leur transcription par des gènes en *cis*. Cette régulation implique trois classes de facteurs de transcription contenant des domaines R2R3-Myb, bHLH ou WD40 (Petroni & Tonelli, 2011). Ainsi, chez *Phlox drummondii*, une mutation dans le gène régulateur R2R3-Myb est associée à une transition de l'intensité de la couleur (Hopkins & Rausher, 2011). Des modifications de gènes Mybs ont aussi été montrées comme associées à la perte des anthocyanes chez les ancolies (Whittall *et al.*, 2006). Les premiers résultats obtenus chez *Iris lutescens* montrent une différence d'expression d'un gène Myb (Myb5).

Bon alors, on fait quoi avec tout ça ?

L'absence de différence dans la communauté de pollinisateurs est cohérent avec la présence de populations polymorphes. L'idée qu'une sélection à fréquence-dépendance négative puisse maintenir du polymorphisme apparaît comme une hypothèse trop simpliste pour une espèce longévive. Le maintien du polymorphisme de couleur de fleurs, et donc de la production de pigments, est plus probablement sous l'effet de pressions de sélection divergente et multiples exercées à la fois par des agents biotiques et des facteurs abiotiques. Les travaux réalisés sur *Iris lutescens* combinent diverses approches avec des pistes à creuser sur le comportement des pollinisateurs (importance de la couleur *versus* autres traits), sur les effets pléiotropes des pigments (survie, qualité du pollen...) et sur le déterminisme génétique de la couleur. L'ensemble des données présentées suggère que le polymorphisme ne devrait pas se maintenir et que le morphe jaune devrait envahir les populations. Une question annexe concerne l'évolution de la couleur des fleurs au sein du genre *Iris*, et plus particulièrement dans le groupe des iris méditerranéens comprenant *Iris lutescens*. En effet, les données disponibles suggèrent que l'état ancestral est une fleur de couleur violette, l'apparition du jaune serait récent. Le polymorphisme représenterait alors une situation transitoire issue d'une inertie évolutive.

Une autre thématique à développer concerne le maintien d'une espèce tricheuse. En effet, *Iris lutescens* représente une espèce intéressante pour étudier la stratégie de pollinisation par tromperie, stratégie essentiellement étudiée chez les Orchidées. De nombreux exemples de pollinisation par tromperie suggèrent que ce mode de pollinisation se maintient selon un modèle de mimétisme : l'espèce tricheuse mime une espèce fournissant une récompense (nectar, voir par exemple Newman *et al.* 2012), l'espèce tricheuse devenant une espèce parasite de la relation mutualiste plante-insecte. Dans les exemples de pollinisation par tromperie chez les Orchidées européennes ou dans le cas des Iris, ce modèle d'évolution est peu probable. Notamment, aucune fleur des communautés actuelles ne ressemble à celles des iris. L'ensemble des données suggère donc que les iris, tout comme les ophrys, utilisent des biais de perception

sensorielle des insectes, c'est-à-dire des préférences innées pour certaines couleurs ou morphologies (Schaefer & Ruxton 2009). Ces espèces sont donc fortement dépendantes de la communauté de pollinisateurs, et notamment de l'existence d'individus naïfs -donc des insectes émergents (Article 29). Ceci suggère une sélection très forte sur la taille des fleurs (Article 30), et expliquerait la taille importante du périanthe des iris (Sapir et al. 2002), et une sélection pour une floraison précoce afin de bénéficier des individus naïfs.

La littérature scientifique récente sur les changements globaux donne une part importante au seul réchauffement climatique. Ce biais, associé à une demande sociale très forte et par des appels d'offre ciblés (ou fortement biaisés), entraîne un délaissement progressif des études des effets des autres changements globaux, qui ont pourtant alimenté la communauté pendant les deux décennies précédentes : la biologie des invasions et la fragmentation des habitats. Un des paradoxes que nous avons à gérer en région méditerranéenne est que la modification d'usage des terres conduit à la disparition des milieux ouverts et à l'isolement des taches d'habitats favorables pour les espèces inféodées à ces milieux. Autrement dit, la réduction des pressions anthropiques sur les écosystèmes du sud de la France conduit à la fragmentation des habitats ouverts. Cet enjeu majeur dans les politiques de conservation s'illustre par exemple avec la perte des pelouses à brachypode, habitat d'intérêt communautaire présentant une importante richesse (Lepart et al. 2007).

Dans le Nord de l'Europe et en Amérique du Nord, les pressions anthropiques croissantes amènent à une disparition des habitats naturels. Une des conséquences de l'artificialisation croissante des écosystème est un déclin global des populations de pollinisateurs, déclin observé et documenté depuis quelques décennies dans les zones les plus anthropisées d'Europe et Amérique du Nord (Potts et al. 2010). Sur ce sujet, beaucoup de propos alarmistes sont entendus, notamment ceux qui se réfèrent à la vision apocalyptique soi-disant annoncée par des propos d'Albert Einstein : « *Si l'abeille disparaissait de la surface du globe, l'homme n'aurait plus que quatre années à vivre* ». Il semblerait bien que le célèbre physicien n'ait jamais prononcé de tel propos. Il s'agirait d'une citation apocryphe⁴ issue d'un groupe de pression d'apiculteurs français. Et quand bien même Einstein aurait énoncé quelques propos sur les abeilles et la pollinisation, des compétences en physique, aussi brillantes soient elle, ne sont pas suffisantes pour comprendre le monde biologique⁵. En fait, notre alimentation dépendant essentiellement de graminées, donc d'espèces à pollinisation anémophile, l'Humanité saura se passer sans problème des abeilles. Pour les cultures qui dépendent des pollinisateurs -les fruitiers au sens large- la pollinisation est déjà assurée en grande partie par l'utilisation d'abeilles domestiques ou de bourdons commerciaux.

Les conséquences attendus de ce déclin des pollinisateurs sur les agrosystèmes, en partie reponsables de ce déclin (Potts et al. 2010), sont donc potentiellement faibles. A l'inverse, les conséquences sur les écosystèmes naturels devraient être plus importants. Par exemple, Biesmeijer et al. (2006) ont montré un déclin parallèle des insectes pollinisateurs et des plantes

4 Pour des références complètes sur cette rumeur : <http://www.snopes.com/quotes/einstein/bees.asp>

5 Un spécialiste de la géochimie du globe a voulu nous faire croire qu'il avait des compétences en climatologie et pour occuper un poste de Ministre.

entomogames. Des observations identiques ont été faites dans des communautés d'adventices en Bourgogne (Fried 2007). La raréfaction des espèces entomogames est un effet immédiat de la sélection des espèces sur des traits fonctionnels (*sorting species*). En effet, l'absence de pollinisation entraîne une diminution importante de la production de descendants, le taux de croissance de la population pouvant devenir inférieur à 1. Ce processus a été bien documenté chez une espèce ornithogame endémique de Nouvelle-Zélande, *Rhabdothamnus solandri*, suite à la réduction des effectifs de ses principaux pollinisateurs (Anderson et al. 2011).

Historiquement, en biologie de la conservation, les espèces ont été vues comme des entités qui ne pouvaient pas répondre aux changements environnementaux, notamment parce que les espèces rares ou endémiques ont souvent des effectifs réduits, ce qui les met dans une situation où la dérive réduit l'efficacité de la sélection (Skelly et al. 2007). Par ailleurs, l'intégration des potentialités évolutives et adaptatives des espèces en biologie de la conservation reste peu faite (Laikre et al. 2010), parce que les processus évolutifs sont perçus comme agissant à des échelles temporelles non compatibles avec les modifications environnementales d'origine anthropique, bien que les exemples d'adaptation rapide par évolution ne manquent pas (sélection des résistances, effet de la fragmentation des habitats, sols pollués...). Puisque les caractères floraux associés à la reproduction présentent du polymorphisme et de la variation génétique continue, la sélection peut opérer et une réponse évolutive et adaptative peut se produire en réponse au déclin des pollinisateurs.

Les scénarios possibles

Selon le principe de Bateman (1948), les gamètes mâles étant en nombre bien supérieur aux gamètes femelles, le taux de croissance des populations est limité par le succès reproducteur femelle, donc la production de graines chez les plantes elle-même fortement contrainte par la disponibilité des ressources. En conséquence, la limitation pollinique provoquée par le déclin des pollinisateurs ne jouerait aucun rôle (de Jong 2012). Une des critiques majeures au transfert de ce principe depuis les travaux de Bateman sur les drosophiles vers les plantes à fleurs est que chez les plantes entomogames, le succès reproducteur dépend aussi de l'efficacité de la pollinisation, c'est-à-dire du transfert du pollen depuis les organes mâles vers les organes femelles. De nombreuses études ont montré que la pollinisation est effectivement limitée par la disponibilité des pollinisateurs dans les populations naturelles (Burd 1994, Knight et al. 2005, mais voir Aizen & Harder 2007 pour une critique des protocoles utilisés). Les études sur l'effet des modifications anthropiques des paysages, comme la fragmentation des habitats naturels, sur la fréquence des pollinisateurs ou le succès reproducteur femelle ont apporté des preuves indirectes que le déclin des pollinisateurs peut exacerber la limitation pollinique pour les espèces entomogames (voir références dans Article 27).

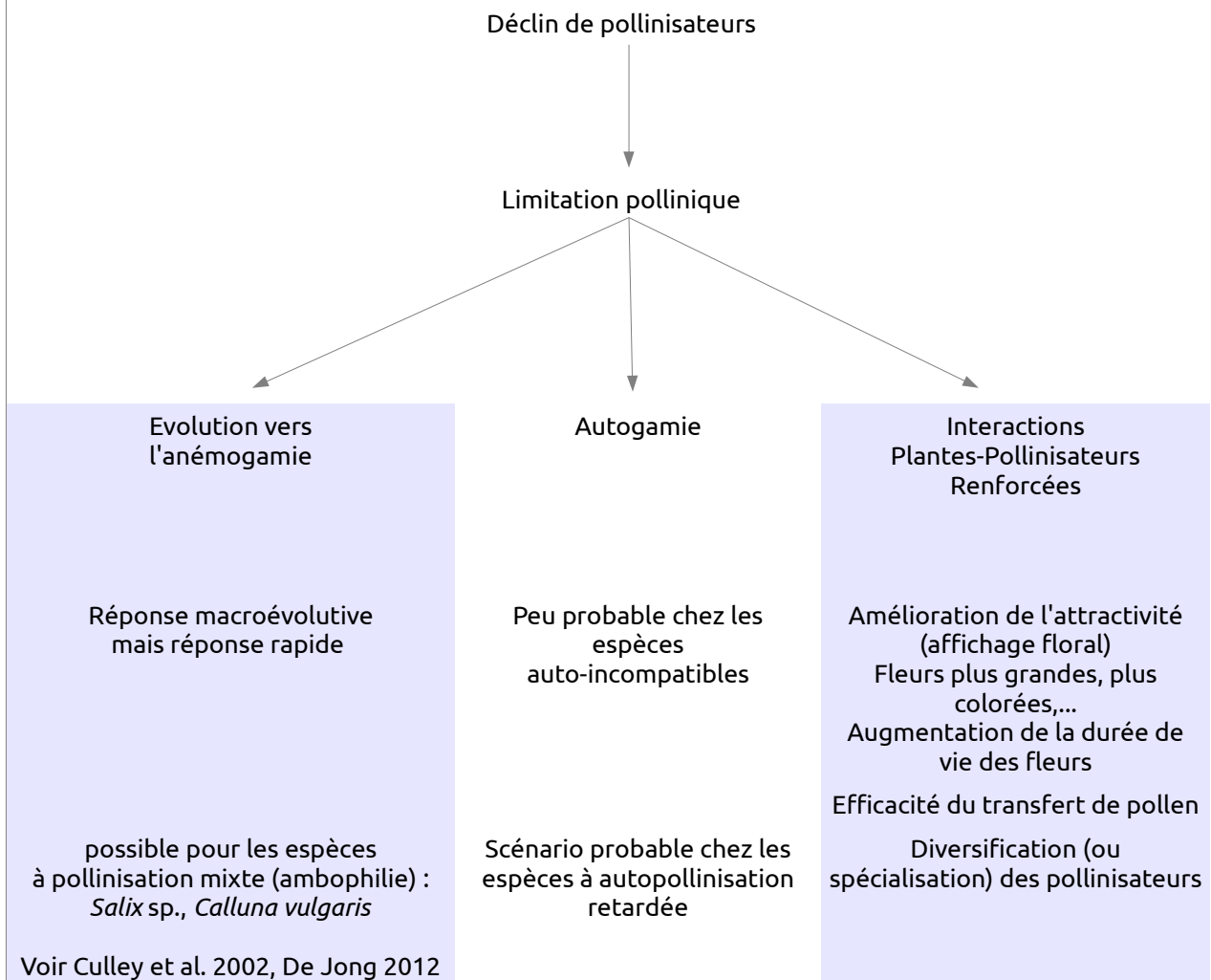
Un autre argument à discuter avant d'envisager les scénarios possibles concerne l'idée proposée par Bell en 1985 : pour les espèces hermaphrodites, la valeur sélective des individus est avant tout limitée par la quantité de pollen exporté. En effet, le nombre d'ovules étant réduit comparé aux grains de pollen, la fonction femelle est rapidement saturée avec un faible nombre de visites alors que le nombre de grains de pollen exporté continue d'augmenter linéairement avec le nombre de visites. En ce sens, les pièces florales assurant l'attractivité sont avant tout des structures mâles plutôt que femelles. Il est donc possible d'appliquer des modèles d'allocation des ressources où la probabilité d'export de pollen dépend de l'allocation aux structures florales (attractivité). Un résultat non intuitif, mais mathématiquement simple, montre que le nombre de visites n'affecte pas la stratégie évolutivement stable d'allocation à l'attractivité. Autrement dit, lorsque le nombre de visites diminue, puisque ce nombre diminue pour tous, rien ne doit bouger (De Jong 2012). Ce résultat repose sur une formulation assez simple de la probabilité d'export du pollen (et sur l'absence de limitation pollinique pour la fonction femelle). Cependant, l'export du pollen dépend aussi de la quantité de pollen présent dans les anthères. Lors des premières visites de la fleur, les anthères sont pleines de pollen, les visites sont alors efficaces. A l'inverse, les réserves de pollen finissent par s'épuiser et les dernières visites ne sont pas efficaces pour l'export de pollen. La prise en compte de l'export de pollen met en évidence que les visites ne sont pas toutes équivalentes. Dans cette situation, l'investissement dans l'attractivité est un avantage, et cet avantage est d'autant plus important que le nombre de visites diminue (De Jong 2012).

Que ce soit par sélection sur la fonction mâle ou la fonction femelle, la réduction de la fréquence des pollinisateurs, mais aussi de leur diversité, représente une situation accentuant la limitation pollinique. Dans le cadre de la théorie des systèmes de reproduction, la limitation pollinique constitue une force évolutive des régimes de reproduction (Lloyd 1979 ; Kalisz et al 2004). Ainsi, le déclin des pollinisateurs constitue une expérience d'évolution des systèmes de reproduction (voir Encadré II, Article 27).

Comment documenter une réponse adaptative ?

Documenter des réponses évolutives dans les populations naturelles est un des défis majeurs de la biologie évolutive (Hansen et al. 2012). Alors que nous avons à disposition pléthores de modèles et prédictions, le nombre d'études les testant est relativement limité. La thématique de l'évolution de la dispersion est un bon exemple du décalage entre prédictions théoriques et expérimentations de ces prédictions (Articles 11 & 13). Les variations phénotypiques mesurables en populations naturelles sont le résultat à la fois d'un déterminisme environnemental et de processus évolutifs intégrant des processus neutres. La contribution de

Encadré II : scénario envisageable d'évolution des systèmes de reproduction suite au déclin des pollinisateurs



la composante environnementale dans les valeurs de trait mesurées est un premier facteur limitant les expérimentations en populations naturelles, notamment pour les végétaux où les effets maternels peuvent être forts (Articles 4 & 15). De plus, estimer la part des processus neutres et celles de la sélection reste une discussion majeure en génétique des populations (voir Articles 21 & 24). La relation F_{st}/Q_{st} apporte des réponses, mais pose des problèmes méthodologiques (voir Article 12). Enfin, bien que l'on puisse prédire l'intensité des changements phénotypiques attendus à condition de connaître l'héritabilité des traits et l'intensité de la sélection, l'extrapolation de ses prédictions en environnement changeant est complexe, notamment parce l'héritabilité dépend de l'environnement dans laquelle elle a été estimée. L'ensemble de ces problèmes méthodologiques fait que les études conduites en populations naturelles sur des réponses adaptives (plastiques ou génétiques) sont limitées et

portent essentiellement sur des modèles animaux (Reale et al. 2003, Charmantier et al. 2008, Gienapp et al. 2008). Pour les plantes, les exemples d'adaptation aux sols pollués ou la littérature sur la biologie des invasions apportent des éléments sur des réponses adaptatives rapides (Shaw & Etterson 2012).

Une méthode possible consiste à comparer les traits sous sélection dans des populations contemporaines présentes dans des environnements contrastées (Shaw & Etterson 2012), éventuellement en passant par un protocole de cultures en conditions contrôlées pour limiter les effets environnementaux (voir Articles 3, 20, 21 & 24). Les prédictions sont alors limitées par l'extrapolation de l'approche synchronique. Cette méthode a été largement utilisée dans l'étude des successions primaires (Articles 7, 9 & 10) et secondaires (Article 4). Une autre méthode possible permettant d'estimer les changements phénotypiques *in natura* est la comparaison de données anciennes et récentes. Dans le cadre des tests de prédiction concernant le réchauffement climatique, cette méthode est largement utilisée mais pose le problème des effets confondants entre évolution génétique et plasticité (mais voir l'exemple publié récemment sur les chémotypes de thym, Thompson et al. 2013) . Enfin, une autre méthode possible mais rarement utilisée concerne l'utilisation de structures dormantes comme le sont les graines des plantes.

La biologie de la conservation est souvent proposée comme le champ d'application de la biologie des populations et de la biologie évolutive. Les acteurs de la conservation sont effectivement très en demande vis-à-vis de la communauté scientifique pour leur fournir des guides de bonnes pratiques. A l'inverse, les acteurs de la conservation sont aussi une source de connaissances et de données utilisables dans le champ de la biologie évolutive. Les travaux sur l'évolution des communautés d'oiseaux réalisés à partir des données de baguage ou du programme STOC sont de bons exemples.

Les jardins botaniques possèdent depuis longtemps des collections de graines (*Index Seminum*), utilisées dans des programmes d'échanges entre jardins. Dès leur création, les Conservatoires Botaniques ont eux utilisé la collection de semences comme mesure conservatoire d'espèces d'intérêt sur leur territoire d'agrément. Pour le travail présenté ici, nous nous sommes appuyés sur la collection du Conservatoire de Bailleul dans le Nord de la France, région où le déclin des pollinisateurs est bien documenté (Rasmont et al. 2005).

Une histoire de centaurée, sans la Clape

A partir des lots de graines disponibles dans la collection du Conservatoire de Bailleul, le bleuet, *Centaurea cyanus*, a représenté un modèle de choix (espèce annuelle, culture maîtrisée), d'autant que des marqueurs microsatellites étaient disponibles pour cette espèce. L'étude a

donc été conduite sur une population localisée à Breilly (région d'Amiens) échantillonnée en 1992 puis 2010. Pour simplifier, l'échantillonnage de 1992 sera nommé BREIL1992 et celui de 2010 BREIL2010. Etant donné la morphologie florale et le système d'auto-incompatibilité, le scénario d'évolution du maintien de l'allopécondation par renforcement des interactions avec les pollinisateurs apparaît comme le plus vraisemblable (Encadré II, Tableau 1 & Article 27).

La première partie du travail a consisté à confirmer que BREIL1992 et BREIL2010 représente bien une seule et même population. Les données de présence/absence du Conservatoire apportent des éléments forts pour cette hypothèse, notamment la localisation de l'espèce dans la même station. A partir de marqueurs microsatellites, la différenciation génétique neutre (F_{st}) entre BREIL1992 et BREIL2010 est plutôt faible ($F_{st} = 0,021$ [0,008; 0,035] 95%CI) et les richesses alléliques moyennes ($7,1 \pm 1,1$ en 1992 et $7,4 \pm 1,4$ en 2010) ne sont pas différentes. L'ensemble de ces données suggère un faible effet de la dérive.

Dans un second temps, nous avons vérifié que la population contemporaine observée sur la station de Breilly n'était pas issue d'un événement de recolonisation à partir de populations proches suite à un événement d'extinction. Pour vérifier ce point, une comparaison de la différenciation génétique entre populations contemporaines a aussi été réalisée en 2012 en échantillonnant les 4 autres populations disponibles dans un rayon de 50 km. Globalement, la moyenne des F_{st} entre les générations de 1992, 2010 et 2012 au sein de la population de Breilly ($F_{st} = 0,023$ [0,014; 0,031] 95%CI) est plus faible que la moyenne des F_{st} spatiaux (i.e. entre les populations échantillonnées en 2012 ; $F_{st} = 0,087$ [0,056; 0,118] 95%CI). La différenciation entre BREIL2010 et les autres populations varie d'une valeur assez forte (0,12 pour une population située à 19 km) à des valeurs aussi faibles que le F_{st} temporel (0,02 pour une population située à 23 km de la station de Breilly).

L'ensemble de ces résultats suggère que les deux échantillons BREIL1992 et BREIL2010 représentent une seule et même population avec un faible effet de la dérive entre les deux dates. Des flux de gènes ont lieu entre populations contemporaines, sans toutefois éliminer toute structuration. Par ailleurs, les populations échantillonnées en 2012 sont représentatives des mêmes processus écologiques, notamment en terme d'évolution des communautés de pollinisateurs.

Afin de limiter les effets éventuels du stockage et plus généralement les effets maternels, les graines collectées en populations naturelles (F0) ont été cultivées en conditions contrôlées (Figure 8). Les individus de la F1 qui seront utilisés par la suite ont été produits par croisement aléatoire au sein de la F0 (en utilisant des bourdons) et en séparant BREIL1992 et BREIL2010. Ainsi, ce protocole permet de conserver une éventuelle différenciation génétique entre BREIL1992 et BREIL2010, tout en réduisant les effets maternels et ceux du stockage.

Tableau 1: Différenciation phénotypique attendue selon les effets du réchauffement climatique et du déclin des pollinisateurs et différences observées en conditions contrôlées pour les individus issus de la génération 1992 (BREIL 1992) et les individus de la génération 2010 (BREIL 2010). Les données phénotypiques mesurées ont été analysées par des modèles linéaires généralisés incluant la masse de la graine, la date d'émergence (ces deux facteurs sont toujours non significatifs), l'environnement (serre ou extérieur, facteur toujours significatif), la population (BREIL1992 et BREIL2010) et un effet famille aléatoire hiérarchisé dans les populations. Les valeurs de tests reportées concernent la comparaison entre BREIL1992 et BREIL2010. NS = non significatif, $p > 0,05$, *** $p < 0,001$ et **** $p < 0,0001$.

	Phénologie				Affichage floral			Allocation reproduction
	Début de floraison	Durée moyenne de floraison	Durée moyenne d'un capitule	Durée de floraison	Taille moyenne du capitule	Nombre moyen de fleurs stériles	Affichage floral moyen	Nombre total de capitules
Différence attendue entre 1992 et 2010 selon les effets du changement climatique et du déclin des pollinisateurs	Précocité valeur négative	Précocité valeur négative	Plus longue valeur positive	Plus longue valeur positive	Plus grande valeur positive	Plus grand valeur positive	Plus grand valeur positive	Diminution Valeur négative
Différence observée entre 1992 et 2010	- 2.95 ± 0.78 jours ***	- 2.40 ± 0.70 jours **	+ 0.06 ± 0.01 jour ***	- NS	+ 1.18 ± 0.31 mm ***	+ 0.40 ± 0.13 ***	+ 0.08 ± 0.03 *	- NS

Le réchauffement climatique est passé par là...

Bien que la question du décalage phénologique associée au réchauffement climatique ne soit pas l'objectif premier de ce travail, le premier résultat obtenu concernant le décalage phénologique entre BREIL1992 et BREIL2010 est une confirmation de la pertinence du protocole. Les plantes de 2010 fleurissent en moyenne 3 jours plus tôt que celle de 1992, sans qu'il y ait allongement de la durée globale de floraison (Tableau 1). Ce décalage est cohérent avec d'autres résultats sur les effets du réchauffement sur la phénologie de plusieurs groupes d'organismes vivants (Root et al. 2003).

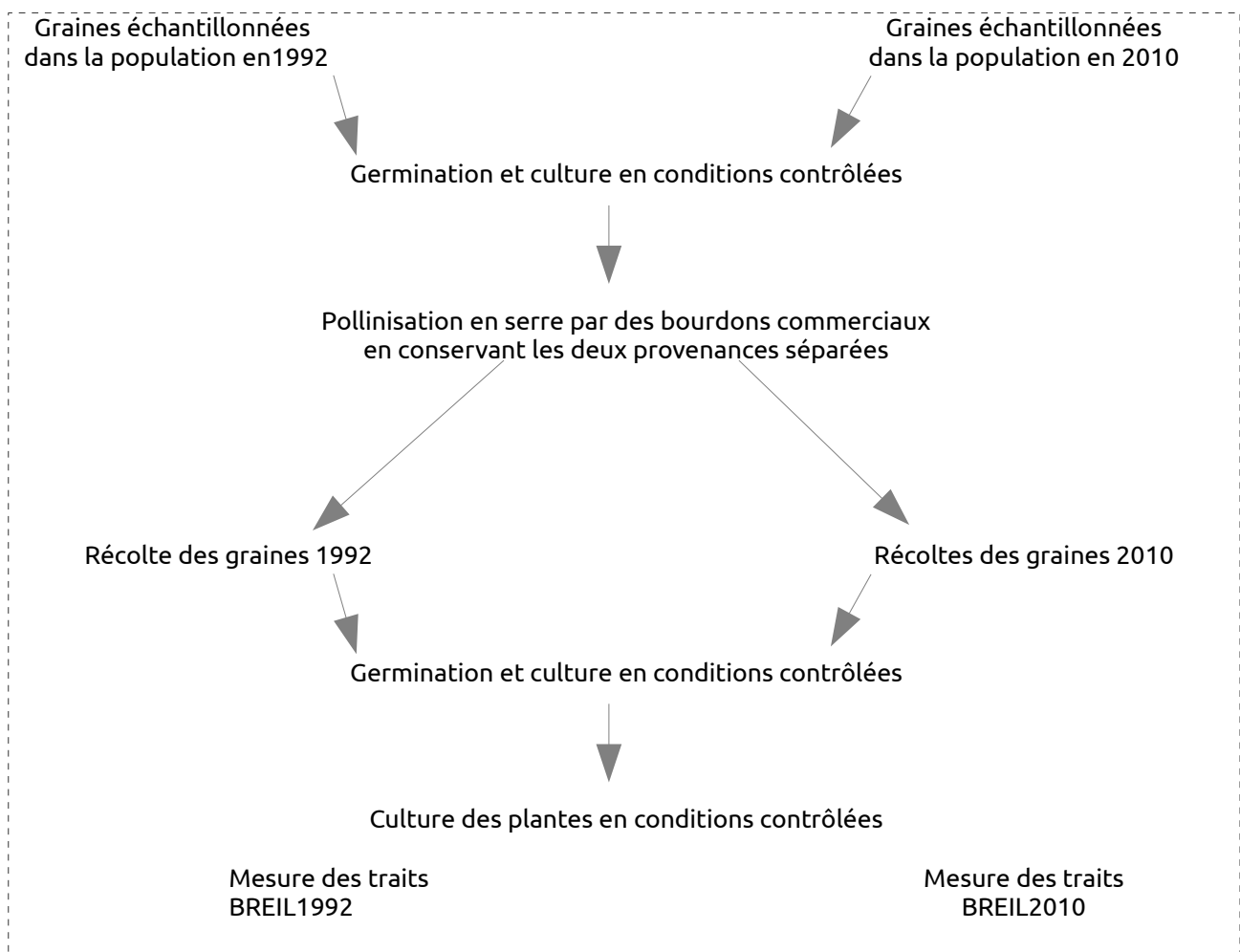


Figure 8 : Protocole expérimental utiliser pour tester la différenciation phénotypique entre les individus échantillonnés en 1992 et ceux échantillonnés en 2010 dans la localité de Breilly (WGS84).

Concernant l'affichage floral et l'attractivité, les individus de BREIL2010 produisent des capitules plus grands, qui durent plus longtemps, et exposent plus de capitules simultanément (*i.e. affichage floral moyen*, Tableau 1). De telles différenciations peuvent s'interpréter comme

une augmentation de l'attractivité des plantes vis-à-vis de leurs pollinisateurs, et confirment les attendus.

Et maintenant, on fait quoi ?

La biologie de la conservation est intrinsèquement construite comme une science de la prédiction, comme l'illustrent les travaux sur les probabilités d'extinction des populations et plus globalement les analyses de viabilité. Historiquement, la théorie des successions primaires et secondaires, qui représente un des socles de l'écologie, représente aussi un modèle de prédictions de l'évolution des communautés végétales et animales, y compris pour les caractéristiques biologiques des espèces en fonction du stade de succession. La génétique des populations permet aussi de faire des prédictions testables (perte de diversité par réduction de l'effectif efficace par exemple), mais les prédictions sur l'évolution des phénotypes sont plus difficiles notamment en raison de l'importance de la stochasticité (Lenormand et al. 2009). Le protocole et le travail associé présentés ici contribuent à la fois à proposer des prédictions mais aussi une méthode pour les tester, à l'interface entre la biologie de la conservation et la biologie évolutive. La méthode n'est pas exempte d'imperfections (qualité de l'échantillonnage des graines, représentativité des populations, répétabilité...). Un protocole identique avec des résultats préliminaires conformes aux attendus a été réalisé chez *Adonis annua* et *Viola cf arvensis*.

Des travaux théoriques récents montrent qu'une baisse de pollinisation hétérogène dans l'espace et le temps pourraient affecter plusieurs traits (e.g dispersion et système de reproduction). Ainsi, la raréfaction des pollinisateurs pourrait affecter non seulement les traits associés à la pollinisation et la reproduction, mais aussi un ensemble de caractère et entraîner l'évolution de syndrome de traits (Cheptou et Massol 2009). L'étude de l'évolution conjointe de traits représente une extension possible de ce premier travail.

Les premières observations de terrain sur les iris ont été réalisées en 2005 avec deux étudiants de maîtrise (Grégory Granzo et Amandine Rivarel). Lors d'un Congé pour Recherches et Conversion Thématique, suivi par une délégation CNRS, j'ai pu me plonger dans les nombreux travaux publiés sur les syndromes de pollinisation, et avoir du temps pour des discussions avec de nombreux collègues (2008 premier échange sur le déclin des pollinisateurs avec PO Cheptou). J'ai aussi réalisé des prospections plus importantes pour trouver des populations naturelles d'*Iris lutescens*. Ces projets sont maintenant plus concrets avec l'encadrement d'étudiants en thèse et des publications. Il est important de rappeler que ces activités sont conduites simultanément à d'autres activités de recherches, notamment le suivi démographique des populations de Centaurée de la Clape (avec la collaboration importante de David Carbonell).

Il est souvent répété que l'un des handicaps de l'enseignant-chercheur est sa "charge" d'enseignement. Après plus de 10 années d'exercice de l'activité d'enseignant-chercheur permanent, je pense que la contrainte majeure n'est pas tant les 192 heures ETD, mais plutôt la fragmentation du temps de travail. Nous ne disposons en effet que de courtes plages de travail non contraint, c'est-à-dire du temps sans enseignement ou sans tâche d'organisation de l'enseignement. A titre d'exemple, depuis le 1er septembre 2013, j'ai bénéficié de 14 jours ouvrés (bilan au 15 novembre 2013, soit pour 49 jours ouvrés) sans temps contraint par l'enseignement. Pendant cette période de temps non contraint, j'ai quand même eu à traiter, grâce aux vertus du courrier électronique, des points d'organisation de l'enseignement, voire même préparer mes cours... Plus que les fameuses 192 heures ETD, c'est surtout ce découpage qui pèse dans l'activité de recherches. C'est une des raisons qui m'ont contraint notamment à abandonner le travail de biologie moléculaire, abandon facilité par la présence dans l'équipe de *super-techniciennes* (Fabienne Justy d'abord, et maintenant Elodie Flaven).

Ce manque de temps libre rend encore plus difficile la réalisation d'expérimentations et la récolte de données naturalistes, qui sont pourtant à la base de la biologie évolutive. De façon générale, notre discipline, qui est une science de l'observation, manque de travaux expérimentaux, et en conséquence, souffre d'une asymétrie entre les prédictions théoriques issues d'un ensemble très fécond de travaux de modélisation et les données expérimentales (y compris les données récoltées *in natura* sans manipulation). Sans prétendre conclure ce document par une analyse sociologique de la communauté scientifique, quelques données partielles illustrent cette asymétrie. En 2013, 116 étudiants sont inscrits dans la section EERGP de l'Ecole Doctorale SIBAGHE (section de la biologie évolutive au sens large de l'Université de Montpellier) à Montpellier. Parmi les 116 sujets, 88 sont des sujets "plutôt" d'expérimentation, et 28 des sujets de modélisation (y compris des analyses de grands jeux de

données, par exemple données de séquençage). Le décalage entre les deux types de méthodes est notamment dû à la difficulté des "modélisateurs" à trouver des candidats intéressés.

Si l'on compare maintenant avec la composition de la communauté des chercheurs permanents, les deux unités principales -par leur masse- que sont l'ISEM et le CEFE ont recruté respectivement 35 et 45 chercheurs entre 2000 et 2013. Malgré les différences de communauté (écologie fonctionnelle, paléontologie, par exemple), les résultats sont assez homogènes entre les deux unités (Tableau 2). Tout d'abord, on observe un équilibre de recrutement au CNRS pour les méthodes de travail (dans les deux unités, pas d'écart à un tirage binomial avec $p=0,5$). En revanche, si on considère les données des sujets de thèse comme représentatives des personnes potentiellement recrutables, alors on observe un biais en faveur des modélisateurs ($p=28/116=0,24$, écart significatif dans les deux unités).

Tableau 2 : Recrutements réalisés au CEFE et à l'ISEM entre 2000 et 2013 en fonction des organismes (CNRS *versus* Université) et des méthodes de travail. Parmi les organismes de recherche, seul le CNRS a été considéré, en excluant l'IRD, l'EPHE, le CIRAD et l'INRA afin d'avoir des effectifs suffisamment importants. Les chercheurs associés aux sciences humaines ont aussi été retirés. Concernant les méthodes de travail, elles ont été inférées à partir des 5 dernières publications référencées dans ISI Web of Science pour chaque personne (consultation novembre 2013), quelque soit la contribution de l'auteur. Les chercheurs réalisant des analyses de grands jeux de données (séquençage, distribution d'espèces...) sans contribuer à leur acquisition ont été associées à des modélisateurs.

Méthodes	ISEM		CEFE	
	CNRS	Université	CNRS	Université
Expérimentateurs	11	11	16	15
Modélisation	12	1	13	1

Le point le plus remarquable de ces données est la forte hétérogénéité dans les méthodes de travail entre les chercheurs et les enseignants-chercheurs, puisque l'université ne recrute que très peu de modélisateurs. Je ne discuterai pas des causes de cette hétérogénéité, causes nombreuses et multiples. L'élément essentiel de réflexion est que, non seulement les enseignants-chercheurs disposent d'un temps de travail de recherches réduit (en théorie de moitié) par rapport aux chercheurs, mais les méthodes de travail qu'ils utilisent (l'expérimentation et la récolte de données *in natura*) nécessitent des plages de disponibilité qu'ils n'ont pas, ou alors au détriment d'un temps de travail qui dépassent largement les 1607 heures annuelles. Une autre façon de lire le tableau est de prendre en compte que les expériences reposent pour moitié sur les enseignants-chercheurs (puisqu'il représente la moitié

des forces de travail dans les deux unités). En tenant compte de leur temps de travail de recherche réduit, et de leur indisponibilité récurrente, cette hétérogénéité alimente l'asymétrie entre résultats théoriques et résultats expérimentaux.

A l'inverse de certains documents HDR que j'ai pu lire, je n'ai pas repris une longue synthèse de l'ensemble des questions que j'ai traitées et travaux que j'ai conduits. J'ai préféré présenter des travaux en cours qui j'espère vont donner naissance à de nouvelles études. Pour de nombreux viticulteurs, le vin se fait dans la vigne. Je les rejoins, et je compte diriger des recherches dans ce contexte : c'est sur le terrain que la science doit se faire...

Références

- Ackerman et al. 1997. Variation in pollinator abundance and selection on fragrance phenotypes in an epiphytic orchid. *American Journal of Botany* 84: 1383–1390.
- Aizen & Harder 2007. Expanding the limits of the pollen-limitation occupancy concept : effects of pollen quantity and quality. *Ecology* 88 : 271-281.
- Anderson et al. 2011. Cascading effects of bird functional extinction reduce pollination and plant density. *Science* 331:1068-1071.
- Anderson & Johnson 2009. Geographical covariation and local convergence of flower depth in a guild of fly-pollinated plants. *The New Phytologist* 182: 533–540.
- Aragon & Ackerman 2004. Does flower color variation matter in deception pollinated *Psychilis monensis* (Orchidaceae)? *Oecologia* 138: 405–413.
- Arista et al. 2013. Abiotic factors may explain the geographical distribution of flower colour morphs and the maintenance of colour polymorphism in the scarlet pimpernel *Journal of Ecology*, sous presse.
- Ashman et al. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85: 2408–2421.
- Ashman & Majetic 2006. Genetic constraints on floral evolution: a review and evaluation of patterns. *Heredity* 96: 343–352.
- Bateman 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity* 2 : 349-368.
- Bastida et al. 2009. Extended phylogeny of *Aquilegia*: the biogeographical and ecological patterns of two simultaneous but contrasting radiations. *Plant Systematics and Evolution* 284: 171–185.
- Bell 1985. On the function of flowers. *Proceedings of the Royal Society London B* 244 : 223-265.
- Biesmeijer et al. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313:351-354.
- Burd 1994. Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review* 60 : 83-139.
- Campbell et al. 1996. Mechanisms of hummingbird-mediated selection for flower width in *Ipomopsis aggregata*. *Ecology* 77: 1463.
- Carlson & Holsinger 2012. Direct and indirect selection on floral pigmentation by pollinators and seed predators in a color polymorphic South African shrub. *Oecologia* 171: 905–919.
- Charmantier et al. 2008. Adaptive phenotypic plasticity in response to climate change in a wild bird population. *Science* 320 : 800-803.
- Cheptou & Massol 2009. Pollination fluctuations drives evolutionary syndrome linking dispersal and mating system. *American Naturalist* 174 : 46-55.
- Culley et al. 2002. The evolution of wind pollination in Angiosperms. *Trends in Ecology and Evolution* 17 : 361–369.
- De Jong 2012. Pollination crisis, plant sex systems, and predicting evolutionary trends in attractiveness. Dans *Evolution of plant-pollinator relationships*. Edité par S. Patiny, Cambridge University Press. Pages 28-43.
- Dodd et al. 1999. Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among Angiosperm families. *Evolution* 53: 732.
- Dormont et al. 2010. Rare white-flowered morphs increase the reproductive success of common purple morphs in a food-deceptive orchid. *The New Phytologist* 185: 300–310.
- Dyer & Murphy 2009. Honeybees choose "incorrect" colors that are similar to target flowers in preference to novel colors. *Israel Journal of Plant Sciences* 57: 203–210.
- Epling & Dobzhansky 1942. Genetics of natural populations. VI. Microgeographic races of *Linanthus parryae*. *Genetics* 27: 317–332.
- Epling et al. 1960. The breeding group and seed storage. *Evolution* 14: 238–255.
- Epperson & Clegg 1987. Frequency-dependent variation for outcrossing rate among flower-color morphs of *Ipomoea purpurea*. *Evolution* 41: 1302-1311.
- Eriksson & Bremer 1992. Pollination systems, dispersal modes, life forms, and diversification rates in Angiosperm families. *Evolution* 46: 258-266.
- Falcone Ferreyra et al. 2012. Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science* 3.
- Fenster et al. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 35: 375–403.
- Frey 2004. Opposing natural selection from herbivores and pathogens may maintain floral-color variation in *Claytonia virginica* (Portulacaceae). *Evolution* 58: 2426–2437.
- Fried 2007. Variations spatiales et temporelles des communautés adventives des cultures annuelles en France. Thèse de doctorat, Université de Bourgogne.

- Fry & Rausher 1997. Selection on a floral color polymorphism in the tall morning glory (*Ipomoea purpurea*): transmission success of the alleles through pollen. *Evolution* 51: 66-78.
- Ghazoul 2006. Floral diversity and the facilitation of pollination. *Journal of Ecology* 94: 295-304.
- Gienapp et al. 2008. Climate change and evolution : disentangling environmental and genetic responses. *Molecular Ecology* 17 : 167-178.
- Gigord et al. 2001. Negative frequency-dependent selection maintains a dramatic flower color polymorphism in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98: 6253-6255.
- Grant 1949. Pollination systems as isolating mechanisms in Angiosperms. *Evolution* 3: 82.
- Hansen et al. 2012. Monitoring adaptive genetic responses to environmental change. *Mol. Ecol.* 21 : 1311 – 1329.
- Harder & Johnson 2009. Darwin's beautiful contrivances: evolutionary and functional evidence for floral adaptation. *The New Phytologist* 183: 530-545.
- Hopkins & Rausher 2011. Identification of two genes causing reinforcement in the Texas wildflower *Phlox drummondii*. *Nature* 469: 411-414.
- Hopkins & Rausher 2012. Pollinator-mediated selection on flower color allele drives reinforcement. *Science* 335: 1090-1092.
- Irwin et al. 2003. The role of herbivores in the maintenance of a flower color polymorphism in wild radish. *Ecology* 84: 1733-1743.
- Jersáková et al. 2006. Is the colour dimorphism in *Dactylorhiza sambucina* maintained by differential seed viability instead of frequency-dependent selection? *Folia Geobotanica* 41: 61-76.
- Jersáková et al. 2012. The evolution of floral mimicry: identifying traits that visually attract pollinators. *Functional Ecology* 26: 1381-1389.
- Kalisz et al. Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. *Nature* 430 : 884-887.
- Knight et al. 2005. Pollen limitation of plant reproduction : pattern and process. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36: 467-497.
- Koes et al. 1994. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays* 16: 123-132.
- Koes et al. 2005. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in Plant Science* 10: 236-242.
- Laike et al. 2010. Neglect of genetic diversity in implementation of the convention on biological diversity. *Conservation Biology* 24 : 86-88.
- Lenormand et al. 2009. Stochasticity in evolution. *Trends in Ecology and Evolution* 24 : 157-165.
- Lepart et al. 2007. Faut-il prendre au sérieux les effets des changements du paysage sur la biodiversité ? Dans : *Paysages : de la connaissance à l'action*. Edité par Berlan-Piqué et al. édition Quæ. Pages 29-40.
- Levin & Kerster 1970. Phenotypic dimorphism and populational fitness in *Phlox*. *Evolution* 24: 128-134.
- Lloyd 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. *American Naturalist* 113 : 67-79.
- Lunau & Maier 1995. Innate colour preferences of flower visitors. *Journal of Comparative Physiology A* 177: 1-19.
- Mitchell-Olds et al. 2007. Which evolutionary processes influence natural genetic variation for phenotypic traits? *Nature Reviews Genetics* 8: 845-856.
- Newman et al. 2012. Flower colour adaptation in a mimetic orchid. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279: 2309-2313.
- Nilsson & Rabakonandrianina 1988. Hawk-moth scale analysis and pollination specialization in the epilithic Malagasy endemic *Aerangis ellisii* (Reichenb. fil.) Schltr. (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 97: 49-61.
- Pauw 2013. Can pollination niches facilitate plant coexistence? *Trends in Ecology & Evolution* 28: 30-37.
- Pellegrino et al 2005a. Evidence of post-pollination barriers among three colour morphs of the deceptive orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soó. *Sexual Plant Reproduction* 18: 179-185.
- Pellegrino et al. 2005b. Effects of local density and flower colour polymorphism on pollination and reproduction in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.) So. *Plant Systematics and Evolution* 251: 119-129.
- Petroni & Tonelli 2011. Recent advances on the regulation of anthocyanin synthesis in reproductive organs. *Plant Science* 181: 219-229.
- Potts et al. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution* 25:345-353.
- Quattrocchio 1999. Molecular analysis of the anthocyanin2 gene of *Petunia* and its role in the evolution of flower color. *The Plant Cell* 11: 1433-1444.
- Rasmont et al. 2005. The survey of wild bees (Hymenoptera, Apoidea) in Belgium and France. FAO, Rome.
- Rausher 2008. Evolutionary transitions in floral color. *International Journal of Plant Sciences* 169: 7-21.
- Ravigné et al. 2004. Implications of habitat choice for protected polymorphisms. *Evolutionary Ecology*

Research 5: 1–20.

- Reale et al. 2003. Lifetime selection on heritable life-history traits in a natural population of red squirrels. *Evolution* 57 : 2416–2423.
- Renner 2006. Rewardless flowers in the Angiosperms and the role of insect cognition in their evolution. In: *Specialization and generalization in pollination systems*, pp. 123–144. Waser N. and Ollerton J.
- Root et al. 2003. Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature* 421 : 57–60.
- Rudall et al. 2003. Evolution of floral nectaries in Iridaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 90: 613.
- Salzmann & Schiestl 2007. Odour and colour polymorphism in the food-deceptive orchid *Dactylorhiza romana*. *Plant Systematics and Evolution* 267: 37–45.
- Sapir et al. 2002. Morphological variation of the *Oncocyclus* irises (Iris: Iridaceae) in the southern Levant. *Botanical Journal of the Linnean Society* 139: 369–382.
- Schaefer & Ruxton 2009. Deception in plants: mimicry or perceptual exploitation? *Trends in Ecology & Evolution* 24: 676–685.
- Schemske & Bierzychudek 2001. Evolution of flower color in the desert annual *Linanthus parryae*: Wright revisited. *Evolution* 55: 1269–1282.
- Schemske & Bierzychudek 2007. Spatial differentiation for flower color in the desert annual *Linanthus parryae*: was Wright right? *Evolution* 61: 2528–2543.
- Shaw & Etterson 2012. Rapid climate change and the rate of adaptation: insight from experimental quantitative genetics. *New Phytologist* 195 : 752–765.
- Skelly et al. 2007. Evolutionary responses to climate change. *Conservation Biology* 21 : 1353 – 1355.
- Smithson & Macnair 1996. Frequency-dependent selection by pollinators: mechanisms and consequences with regard to behaviour of bumblebees *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Evolutionary Biology* 9: 571–588.
- Smithson & Macnair 1997a. Density-dependent and frequency-dependent selection by bumblebees *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 60: 401–417.
- Smithson & MacNair 1997b. Negative frequency-dependent selection by pollinators on artificial flowers without rewards. *Evolution* 51: 715.
- Strauss et al. 2004. Optimal defence theory and flower petal colour predict variation in the secondary chemistry of wild radish. *Journal of Ecology* 92: 132–141.
- Strauss & Whittall 2006. Non-pollinator agents of selection on floral traits. In: *Ecology and evolution of flowers*, pp. 120–138. Harder L Barrett S.
- Streisfeld & Kohn 2005. Contrasting patterns of floral and molecular variation across a cline in *Mimulus aurantiacus*. *Evolution* 59: 2548–2559.
- Streisfeld & Kohn 2007. Environment and pollinator-mediated selection on parapatric floral races of *Mimulus aurantiacus*. *Journal of Evolutionary Biology* 20: 122–132.
- Streisfeld & Rausher 2008. Altered trans-Regulatory Control of Gene Expression in Multiple Anthocyanin Genes Contributes to Adaptive Flower Color Evolution in *Mimulus aurantiacus*. *Molecular Biology and Evolution* 26: 433–444.
- Subramaniam & Rausher 2000. Balancing selection on floral polymorphism. *Evolution* 54: 691–695.
- Tanaka et al. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* 54: 733–749.
- Tastard et al. 2012. Patterns of floral colour neighbourhood and their effects on female reproductive success in an *Antirrhinum* hybrid zone: Flower colour and selection in a hybrid zone. *Journal of Evolutionary Biology* 25: 388–399.
- Taylor & Grotewold 2005. Flavonoids as developmental regulators. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 317–323.
- Thompson et al. 2013. Evolution of a genetic polymorphism with climate change in a Mediterranean landscape. *PNAS* 110 : 2893–2897.
- Tucic et al. 2009. Protective function of foliar anthocyanins: in situ experiments on a sun-exposed population of *Iris pumila* L. (Iridaceae). *Polish Journal of Ecology* 57: 767–770.
- Vallius et al. 2008. Pollen flow and post-pollination barriers in two varieties of *Dactylorhiza incarnata* s.l. (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* 274: 171–178.
- Van der Niet & Johnson 2012. Phylogenetic evidence for pollinator-driven diversification of Angiosperms. *Trends in Ecology & Evolution* 27: 353–361.
- Vereecken et al. 2012. Pre-adaptations and the evolution of pollination by sexual deception: Cope's rule of specialization revisited. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279: 4786–4794.
- Vuleta et al. 2010. Seasonal dynamics of foliar antioxidative enzymes and total anthocyanins in natural populations of *Iris pumila* L. *Journal of Plant Ecology* 3: 59–69.
- Watkins & Levin 1990. Outcrossing rates as related to plant density in *Phlox drummondii*. *Heredity* 65: 81–89.
- Whittall & Hodges 2007. Pollinator shifts drive increasingly long nectar spurs in columbine flowers. *Nature* 447: 706–709.
- Whittall et al. 2006. Convergence, constraint and the role of gene expression during adaptive radiation:

- Floral anthocyanins in *Aquilegia*. *Molecular Ecology* 15: 4645–4657.
- Wilson 2006. Patterns of evolution in characters that define *Iris* subgenera and sections. *Aliso* 22: 425–433.
- Wilson 2004. Phylogeny of *Iris* based on chloroplast matK gene and trnK intron sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 402–412.
- Wright 1943. An analysis of local variability of flower color in *Linanthus parryae*. *Genetics* 28: 139–156.
- Yang et al. 2013. Asymmetric pollen–pistil interactions contribute to maintaining floral colour polymorphism in a clonal aquatic plant (*Butomus umbellatus* L.). *Aquatic Botany* 106: 29–34.
- Zufall 2003. The genetic basis of a flower color polymorphism in the common morning glory (*Ipomoea purpurea*). *Journal of Heredity* 94: 442–448.