

UNIVERSITÉ PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE : *SCIENCES DU VÉGÉTALE*
Laboratoire de Génétique Végétale – Le Moulon

DISCIPLINE de BIOLOGIE

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue le 12/12/2013

par

Beatriz GONÇALVES

A floral dimorphism in *Nigella damascena* L.:
genetic and molecular control,
and adaptive significance

Directeur de thèse :
Co-directeur de thèse :

Catherine DAMERVAL
Domenica MANICACCI

Directeur de Recherches (CNRS)
Maître de Conférences (Université Paris-Sud)

Composition du jury :

Directeur de thèse :
Rapporteurs :

Catherine DAMERVAL
Laurence DESPRÉS
James TREGGAR
Sophie NADOT
Michiel VANDENBUSSCHE

Directeur de Recherches (CNRS)
Professeur (Université J. Fourier)
Directeur de Recherches (IRD)
Professeur (Université Paris-Sud)
Chargé de recherche (CNRS)

Version abrégée de l'introduction

Le défi fondamental des théories évolutionnistes pour expliquer l'origine de la biodiversité peut être attribué à une incomplétude de la compréhension des modes et mécanismes de macroévolution, soit les processus évolutifs au niveau et au-dessus de l'espèce qui accompagnent l'origine des principales caractéristiques morphologiques qui caractérisent les niveaux taxonomiques supérieures (Gould, 1977; Gilbert *et al.*, 1996; Theißen, 2009).

Bien que ne traitant pas directement d'histoires évolutives, cette thèse s'insère dans un contexte évolutif large concernant les mécanismes potentiels de diversification de l'architecture fleur. Plus particulièrement l'origine et l'évolution de pétales et d'un périanthe bipartite, tous deux des innovations majeures de la structure de la fleur. Par conséquent, l'introduction de ce travail débute par une perspective historique des aspects des théories évolutionnistes qui sont les plus pertinentes à la compréhension des changements macroévolutifs. Cette perspective est suivie d'une introduction du sujet – la fleur. Des aspects morphologiques et moléculaires de la définition fleur sont suivis d'une perspective évolutionniste sur l'architecture florale, avec un accent particulier sur les théories sur l'origine de la diversité du périanthe. Enfin, les aspects fonctionnels des structures des fleurs et du périanthe seront également discutés à la lumière des théories de l'écologie et de la biologie de la pollinisation, avant l'introduction du modèle de recherche, la *Nigella damascena*, et des principaux axes de recherche explorés au cours de cette thèse.

Le contexte évolutif

Darwin a proposé que l'évolution est un processus en deux étapes, où la variation héritable aléatoire fournit la matière sur laquelle agit la sélection naturelle, menant les organismes dans de nouveaux niveaux d'adaptation à l'environnement (Darwin, 1859). Plus tard, la théorie synthétique de l'évolution a pourvu un cadre mathématique et génétique pour la description des processus à l'origine de la biodiversité via des changements dans la fréquence des allèles, forcés par la sélection

naturelle, qui produisent des modifications subtiles du phénotype (revue dans Smocovitis, 1992, Kutschera et Niklas, 2004). Cette théorie a réitéré de l'idée de Darwin que les changements évolutifs se produisent lentement par des étapes infinitésimales, dans un processus appelé gradualisme. Toutefois, cette explication de macroévolution – les processus qui mènent à la diversification des espèces et à l'origine des traits clés qui définissent les groupes taxonomiques supérieurs – comme une extension au cours du temps des processus graduels de la microévolution n'as pas été consensuel, surtout à la lumière de nombreuses observations de discontinuités et transitions abruptes entre groupes (Erwin, 2000). En vue de cette lacune, des théories alternatives au gradualisme ont été formulés. L'une des plus importantes de ces théories est le saltationnisme qui rejette l'idée que les forces de sélection naturelle agissant sur la variation au niveau des populations, et conduisant à un certain degré de différenciation entre les populations d'une espèce, puissent conduire ces mêmes populations plus loin vers la spéciation (Goldschmidt, 1933). En acceptant le développement comme le processus qui mène à la formation du corps et son plan d'organisation, Goldschmidt, ainsi que d'autres promoteurs des idées saltationistes, ont reconnu le rôle des changements développementaux dans la génération de fortes variations phénotypiques dans la forme adulte. La forte intégration des processus du développement et ses conséquentes contraintes évolutives ont cependant conduit à la prise de conscience que la majorité des mutations développementales sont très susceptibles d'être létales, perturbant pas seulement une étape dans le développement mais l'ensemble du processus. Pourtant, Goldschmidt a nourri l'hypothèse que, de temps en temps, une mutation dans un processus indépendant du développement puisse entraîner un changement significatif sans son interruption totale, produisant ce qu'il a appelé un « monstre prometteur » (Goldschmidt, 1933). La conciliation des théories d'évolution avec la biologie du développement à donné origine à la biologie évolutive du développement (evo-devo), qui cherche à comprendre comment les processus par lesquels le développement traduit le génotype en phénotype affectent les potentiels et les trajectoires évolutives (Gilbert *et al.*, 1996; Carroll, 2008). La prise de conscience que des changements drastiques dans les plans et les structures corporelles pourraient

être obtenus par mutation d'un seul gène, et que cela se produit beaucoup plus souvent qu'on ne le pensait précédemment, a prêté un grand soutien à l'idée saltationiste que l'évolution peut procéder rapidement et en peu d'étapes, et à la notion de Goldschmidt que tous les changements importants dans l'histoire évolutive doivent avoir une base développementale (Gould, 1977; Gilbert *et al.*, 1996; Theißen, 2009).

Cependant, les faibles probabilités d'une mutation créer une nouveauté sans perturber complètement le développement et que cette nouvelle forme ait une valeur adaptative ou même neutre entraînant sa survie, posent toujours un problème pour les théories saltationistes qui n'ont pas encore atteint l'acceptation générale (Theißen, 2006). Ce la résulte surtout du faible nombre d'études sur le potentiel évolutif réel des formes naturelles discontinues et l'absence de preuves que ces formes pourraient s'établir dans la nature donnant origine à de nouvelles lignées évolutives (Theißen, 2006). La consolidation du saltationnisme comme théorie macroévolutive dépend d'une compréhension du vrai potentiel évolutif de ces formes, qui requiert l'étude approfondie des aspects écologiques et les mécanismes de la dynamique des populations de leur performance dans des conditions naturelles (Hintz *et al.*, 2006).

La fleur – contexte morphologique, moléculaire et développementale

Les angiospermes, avec leur histoire de diversification rapide, ont constitué pendant des années le défi le plus frappant à l'hypothèse gradualiste de Darwin que le changement et l'innovation macroévolutive procède par des petits changements continus (Friedman, 2009). En effet, de tous les organismes vivants, les plantes à fleurs composent le groupe qui a probablement suscité le plus de controverse sur son histoire évolutive et de diversification, notamment en vue de la radiation évolutive apparemment abrupte des angiospermes, manifeste dans le grand nombre d'espèces de dicotylédones qui semble sans précédent dans le registre fossile. La fleur est une innovation majeur des angiospermes et probablement celle qui a le plus contribué à la réussite de l'évolution de ce

groupe. Dans sa forme la plus récurrente, la fleur est défini comme étant l'unité de reproduction de la plante, regroupant les organes reproducteurs féminin et masculin, respectivement les carpelles et les étamines, entouré par une série d'organes stériles appelé le périanthe (Bateman *et al.*, 2006, Glover, 2007). Cette dernière présente une grande variété de formes et compositions conduisant à une remarquable diversité globale des architectures florales. Dans le canon de l'architecture florale basé sur les eudicotylédones, il y a un périanthe bipartie avec un verticille externe composé d'organes de protection et souvent photosynthétiques (les sépales) et un verticille interne avec des organes remarquables et souvent colorées, responsables pour l'attraction des pollinisateurs (les pétales). Cependant le périanthe peut être composé d'un seul type d'organe indifférencié appelé génériquement de tépale, ou de plusieurs types d'organes différenciés mais tous à apparence sépaloïde ou pétaloïde. La remarquable diversité d'architectures du périanthe au sein des angiospermes suggère une histoire évolutive complexe de perte et de gain d'organes, suscitant plusieurs transitions entre les états indifférenciés et différenciés. En plus de la diversité de composition du périanthe, les pétales affichent également une remarquable diversité de formes, couleurs et taille, à travers des angiospermes, qui a conduit à une croyance de longue date que ces structures ont évolué plusieurs fois dans les lignées des angiospermes. Des analyses phylogénétiques et morphologiques semblent soutenir des origines indépendantes pour un périanthe différencié chez les monocotylédones, les Renonculacées et les eudicotylédones supérieures (Endress et Doyle, 2009; Ronse De Craene et Brockington, 2013). Basé sur un certain nombre de caractéristiques morphologiques, les pétales sont soupçonnés d'être formés à partir d'étamines ou de bractées en fonction de la lignée des angiospermes (Kosuge, 1994; Ronse De Craene, 2007; Ronse De Craene et Brockington, 2013).

La conservation d'un plan architectural floral de base chez les eudicotylédones dérivés est au centre de la formulation du modèle ABC, un modèle de développement floral dans lequel l'action combinatoire des trois catégories fonctionnelles explique la spécification des quatre organes floraux

différents : la classe A responsable pour l'identité des sépales et les pétales, la classe B impliqué dans l'identité des pétales et les étamines, et la classe C avec fonction dans la spécification des étamines et du carpelle. Il s'ensuit que, pour produire sépales la fonction A seul suffit, alors que pour produire des pétales de l'action concertée de A et B est nécessaire. De même, pour préciser l'identité étamine les deux fonctions B et C sont nécessaires, et pour produire des carpelles seule la fonction C est nécessaire (Coen et Meyerowitz, 1991). Des études d'analyse moléculaire ont révélé la base génétique de ces classes fonctionnelles chez *Arabidopsis thaliana*. Dans cette espèce modèle, deux gènes de la fonction A ont été identifiés: *APETALA2* (*AP2*) (Kunst *et al.*, 1989; Jofuku *et al.*, 1994; Chen, 2004) et *APETALA1* (*AP1*) (Mandel *et al.*, 1992; Gustafson-Brown *et al.*, 1994). La fonction B a également été démontré être exécuté par deux gènes chez *A. thaliana*, *APETALA3* (*AP3*) et *PISTILLATA* (*PI*), deux gènes liés produits par un ancien événement de duplication génique antérieure à la lignée des angiospermes (Krizek et Meyerowitz, 1996; Kramer *et al.*, 1998). Enfin, un seul gène de la fonction C est connu chez *Arabidopsis*, l'*AGAMOUS* (*AG*) (Yanofsky *et al.*, 1990, Bowman *et al.*, 1989). Le clonage des gènes de fonction ABC a révélé que tous codent pour des facteurs de transcription putatifs et, sauf pour *AP2*, appartiennent tous à la famille de gènes MADS-box, membres de la classe de facteurs de transcription MIKC qui partagent une séquence d'ADN hautement conservé, appelé la boîte de MADS, codant un motif liaison à l'ADN (Ma et DePamphilis, 2000). Des études parallèles chez *Antirrhinum majus* ont aussi révélé l'identité des gènes de fonction B et C. A savoir, *DEFICIENS* (*DEF*) et *GLOBOSA* (*GLO*), homologues d'*AP3* et *PI*, et *PLENA* (*PLE*) homologue d'*AG* (revue dans Theißen *et al.*, 2000). Le fait que la spécification de l'identité d'organes soit réalisée par des gènes homologues de façon similaire entre les deux espèces a conduit à une hypothèse de conservation du programme ABC du développement floral au sein des angiospermes (Coen et Joel Meyerowitz, 1991). Cependant, parce que ces deux espèces représentent un groupe hautement dérivé, il faut être prudent lorsqu'on fait des inférences dans les groupes plus basales d'angiospermes. En effet, ce qui avait initialement été considérée comme un degré considérable de conservation, a été par la suite contestée dans des

études récurrentes qui ont testé l'applicabilité du modèle ABC à des groupes en dehors des eudicotylédones supérieures. Parmi les classes de gènes du modèle ABC les classes B et C semblent être les plus conservées, avec des homologues de ces gènes étant isolées parmi plusieurs espèces (Kramer et Hall, 2005; Soltis *et al.*, 2006; Litt et Kramer, 2010). Cependant des observations contraires ponctuent le paradigme de la fonction B dans le développement du pétale à travers les angiospermes. D'une part, malgré la potentielle homoplasie des pétales dans les eudicotylédones supérieures et d'autres groupes d'angiospermes, des homologues des gènes B, *PI* et *AP3*, ont été montré de forme récurrente pour être exprimés en association avec des périanthes à pétales, soutenant une conservation de la fonction B à travers des angiospermes (Rasmussen *et al.*, 2009; Litt et Kramer, 2010). D'autre part, des études d'expression des gènes B chez des angiospermes plus basales ont révélé des nouveaux patrons d'expression plus larges au sein des méristèmes floraux (Soltis *et al.*, 2006), ainsi qu'une absence de corrélation entre l'expression des gènes B et des organes pétaloïdes (Jaramillo et Kramer, 2004; Geuten *et al.*, 2006; Landis *et al.*, 2012). Plusieurs modèles ont été formulés afin d'expliquer ces idiosyncrasies ainsi que l'évolution du programme développementale du périanthe au sein des angiospermes (détaillées dans la version anglaise). Malgré l'importance que des changements dans gènes clés du développement, entraînant des transitions de nature homéotique, ont dans un grand nombre des modèles de diversification de l'architecture florale, les mécanismes génétiques et écologiques qui permettent la mise en place de ces organismes, ainsi que leur contribution à la formation de nouvelles lignées évolutives, n'ont pas été complètement déchiffrés et constitue une étape importante dans la validation ces théories (Theißen, 2010).

Mécanismes d'évolution et diversification des traits floraux

Afin de comprendre l'évolution de la diversité florale il est indispensable de prendre en considération les aspects fonctionnels de la fleur et le rôle des ces différents traits. En effet, la fleur étant l'unité de reproduction des angiospermes, les théories actuelles semble indiquer que la

diversité florale est le résultat d'un processus d'adaptation des traits floraux à différents modes de reproduction des plantes (Fenster *et al.*, 2004; Kay et Sargent, 2009). En raison de leur immobilité, les plantes dépendent souvent de facteurs environnementaux biotiques et abiotiques pour se reproduire en transférant du pollen d'une plante à l'autre dans un processus appelé pollinisation croisée. Parmi les plantes à fleurs, les animaux sont les vecteurs de pollen les plus utilisés, avec lesquels elles peuvent établir des fortes relations d'interdépendance (Mitchell *et al.*, 2009b). La spécialisation de ces relations entre plantes et pollinisateurs est à la base de l'hypothèse la plus acceptée pour la diversification des angiospermes (Barrett, 2010; Schiestl et Johnson, 2013). Par la promotion du transfert de pollen intra-spécifique et l'isolement reproductif (ou, au-dessous du niveau de l'espèce, l'homogamie entre formes), la spécialisation est intimement liée au rôle que les interactions plantes-pollinisateurs jouent dans la spéciation des plantes, donc dans la diversification des plantes à fleurs (Kay et Sargent, 2009). Cependant, l'idée de spécialisation des systèmes de pollinisation est en contradiction avec des observations récurrentes d'espèces visitées par un assemblage de pollinisateurs nombreux et très varié, remettant en cause le rôle des interactions plantes-pollinisateurs dans la production des conditions d'isolement reproductif nécessaires à la spéciation et conséquente diversification des espèces (Waser, 1996; Ollerton, 1996; Johnson et Steiner, 2000; Fenster *et al.*, 2004). Bien que la pression sélective pour produire des organes plus attractifs ou ayant des morphologies qui favorisent une meilleure utilisation des pollinisateurs puisse conduire l'évolution quantitative des traits floraux tels que la taille, la forme ou le nombre (Mitchell *et al.*, 2009b), les mécanismes qui conduisent à l'évolution divergente des traits floraux au sein d'une espèce peuvent être beaucoup plus complexes (Harder et Johnson, 2009; Sapir et Armbruster, 2010). Notamment, l'importance relative des interactions plantes-pollinisateurs et la répartition géographique dans l'établissement de l'isolement reproductif et l'évolution divergente est toujours en débat (Kay et Sargent, 2009). Ainsi, et peut-être en raison de la faible fréquence relative des cas connus de transition abrupte entre les formes florales distinctes au sein d'une espèce à l'état sauvage, la relation entre la biologie de la pollinisation et la maintenance des mutants présentant des

nouveautés morphologiques qualitatifs au niveau fleur est restée, pour la plus grande partie, inexploré (Harder et Johnson, 2009).

Le dimorphisme florale chez la *Nigella damascena*

Cette thèse porte sur le polymorphisme de composition du périanthe observé chez l'espèce de Renonculacée *Nigella damascena* L. (nigelle de damas). Les plantes de *N. damascena* partagent une série de caractéristiques avec les autres membres de son genre, à savoir des feuilles très disséqués, des fleurs hermaphrodites présentant une insertion en spirale d'un grand nombre d'organes, plusieurs plans de symétrie (actinomorphe) (Endress, 1999), l'involucration des bourgeons floraux par des bractées, la présence de sépales colorés et de pétales de taille réduite portant du nectar, et la production d'un fruit capsulaire (Zohary, 1983). La particularité de *N. damascena* se trouve dans la coexistence de deux variantes naturelles, composant un dimorphisme floral de composition du périanthe. Les fleurs du type sauvage, tel que décrit dans la définition de l'espèce, ont un périanthe différencié avec cinq sépales bleuâtres pétaloïdes et huit pétales de taille réduite et couleur foncée portant du nectar, suivie par plusieurs séries d'étamines et cinq à six carpelles. Cette forme, classiquement appelé la forme « single » sera ci-après dénommé le morphe [P] pour sa possession des pétales (Raman et Greyson, 1977; Zohary, 1983). La forme variante classiquement nommé «double» et appelé ici morphe [T], d'après Toxopéus (1927), produit des fleurs sans pétales mais avec un grand nombre d'organes pétaloïdes sépaliformes qui siègent entre les sépales pétaloïdes à l'extérieur et les étamines à l'intérieur. En plus de l'absence de pétales et son remplacement par des organes sépaliformes, ceux ci montrent un gradient continu de formes, de sépales à sépaliformes et de sépaliformes à étamines, qui se traduit par un périanthe indifférencié et résulte dans la production de formes chimériques intermédiaires lors de la transition entre le périanthe et les étamines. Ces organes intermédiaires peuvent prendre une forme d'organes sépaliformes bifides ou d'étamines membraneuses. Dans sa monographie sur la *Nigella damascena* et ses variantes, Toxopéus (1927) a montré que ce dimorphisme floral est contrôlé par un seule locus, la forme [P] étant dominante et la

forme [T] étant récessif. En conséquence, l'hétérozygote produit le phénotype du morphe [P] (Raman et Greyson, 1977). L'existence de ce dimorphisme floral dans les populations naturelles a été signalée depuis les premières publications concernant la *Nigella damascena* avec un certain nombre d'accessions géographiques des populations mixtes étant connues à travers la région méditerranéenne. Cependant, la prévalence de la forme [P] et ses traits floraux partagés avec le reste des membres de son genre suggère fortement qu'il s'agit de la forme ancestrale.

Comme mentionné ci-dessus, la nigelle appartient à la famille des Renonculacées, membre de l'ordre des Ranunculales qui est le clade plus basal des eudicotylédones et sœur de toutes les autres eudicotylédones existants (APG III, 2009). La famille des renonculacées présente une remarquable diversité de morphologie florale comprenant une variation du nombre de pièces florales (mérisme), de l'insertion des organes (phyllostaxie) qui peut être en spirale, verticillées ou un mélange des deux, et de la forme et composition du périanthe. Le positionnement de cette famille comme un clade frère des eudicotylédones restants constitue un modèle de travail privilégié pour l'étude de l'homologie des structures et des processus développementaux à l'origine de pétales et diversification du périanthe. En combinant une transition entre périanthe bipartite et unipartite avec une perte apparente des limites entre organes et d'une différenciation claire entre ceux, le polymorphisme de périanthe de la nigelle offre une occasion unique pour déchiffrer les bases génétiques de la composition du périanthe et formation du pétale, ainsi que pour comprendre l'importance écologique des variations de la forme du périanthe. Cette thèse constitue un effort concerté dans les deux questions. Ainsi, le premier objectif de ce projet de thèse était d'identifier l'origine moléculaire du dimorphisme floral en utilisant une approche de gène candidat qui a inclut une étude approfondie comparé des profils d'expression génique entre les deux formes et une validation fonctionnelle des gènes exprimés de manière différentielle. La compréhension des mécanismes moléculaires des changements de différenciation périanthe est un processus clé dans la compréhension des bases du développement et de la diversité génétique et l'évolution de la forme

du périanthe. Identifier les gènes clés responsables de la présence / absence de pétales représente aussi une étape importante dans le décryptage du réseau génétique contrôlant la formation pétale chez les eudicotylédones basales. Le deuxième volet de cette thèse concerne la signification évolutive du dimorphisme. Notamment, étant donné que les différences morphologiques observées entre les deux formes affectent des traits potentiellement impliqués dans l'attraction des pollinisateurs, comme la présence de pétales nectarifères et le nombre d'organes potentiellement attractifs, ce polymorphisme est susceptible de affecter le comportement des pollinisateurs et la capacité de reproduction de la plante. En conséquence, dans la deuxième partie de ce projet, l'impact du dimorphisme les interactions plantes-pollinisateurs et ses conséquences ultérieures sur le succès de reproduction ont été étudiés.

Résumé du premier chapitre

Origine moléculaire et développementale du dimorphisme florale chez *Nigella damascena*

La première partie de ce projet de thèse a vise à déchiffrer les origines génétiques et développementales du dimorphisme florale trouvé chez *Nigella damascena*. Avant le début de cette thèse, Odrade Nougué (étudiante en M1) avait menée une étude pour isoler et caractériser au niveau moléculaire un ensemble de gènes candidats inspirés par le modèle ABC du développement florale. En conséquence, au début de la présente étude, des séquences d'ADNc partielles de quatre gènes homologues aux gènes de classe B d'*Arabidopsis* étaient connues. Ce projet a donc été divisé en trois parties. La première a porté sur l'étude comparée de l'expression des gènes candidats chez les deux formes au cours du développement floral, dont un de ces gènes (*NdAP3-3*) s'est distingué par un profil d'expression spécifique au morphe [P], et plus particulièrement une expression spécifique du pétale. La deuxième partie a été consacrée à une analyse génomique et une étude de ségrégation de polymorphismes de séquence par rapport au morphe. Nous avons trouvé une insertion d'élément transposable au sein d'un intron du gène candidat *NdAP3-3* qui a été montré être en co-ségrégation complète avec le locus responsable par le dimorphisme. Enfin, une étude

fonctionnelle impliquant le *silencing* transitoire du gène candidat *NdAP3-3*, réalisée en collaboration avec le laboratoire de Patrick Laufs (Institut Jean-Pierre Bourgin, Versailles), a conduit à sa validation en tant que locus responsable par le dimorphisme floral. Ces résultats, ainsi qu'une étude plus fine de l'expression des gènes candidats au cours du développement floral (également réalisé en collaboration avec le laboratoire de Patrick Laufs), une étude parallèle du développement floral précoce du morphe mutant réalisé en collaboration avec Florian Jabbour (Muséum Nationale d'Histoire Naturelle, Paris), et une étude préliminaire sur les effets de l'insertion de l'élément transposable sur l'expression des gènes, ont fait l'objet d'un article publié dans The Plant Journal présenté ici intégralement. Lors de la préparation de cet article une étude parallèle sur l'origine évolutive de fleurs apétales au sein des Renonculacées a été publiée, englobant une description de la forme mutante et des patterns d'expression du gène *NdAP3-3* ainsi que une étude de ségrégation, y compris une description de un allèle mutant contenant la même insertion d'élément transposable tel que décrit dans notre travail (Zhang *et al.*, 2013). Malgré le partage des résultats, les deux œuvres divergent de manière significative dans l'interprétation de deux aspects de ces résultats. Le premier étant sur la relation de l'insertion de l'élément transposable avec le phénotype mutant, et le seconde relative à l'étendue du rôle d'*AP3-3* dans le développement florale chez la *Nigella damascena* et de ses implications. Ces points de divergence sont discutés dans une dernière section.

Résumé du deuxième chapitre

Signification écologique et évolutive du dimorphisme florale chez *Nigella damascena*

Le deuxième aspect de cette thèse concerne l'étude de la signification évolutive du polymorphisme floral observé chez *Nigella damascena*, dans le but de déchiffrer le potentiel évolutif des deux morphes floraux dans des conditions naturelles. Une enquête précédente sur des occurrences naturelles de *Nigella damascena* dans des territoires français a révélé une prédominance des populations monomorphes composées exclusivement de type sauvage [P], avec

pétales. Les rares cas de populations polymorphes sont souvent associées à des territoires urbains où le morphe [T] est plus fréquente, cultivé à la fois dans des jardins, prairies fleuries et des champs laissés en jachère. Le manque de populations polymorphes naturelles facilement accessibles a conduit à la création d'une population expérimentale semi-naturelle sur laquelle effectuer les observations. Des observations *in situ* ont été réalisées au cours des saisons de floraison des deux premières générations. Des données de production de semences ont été recueillies sur un échantillon de fruits de la première génération. Un échantillon de descendants de la première génération a été observé en serres par Mathilde Latron (étudiante en M2). La somme de ces observations a été utilisée pour comprendre le potentiel évolutif des populations naturelles dans situations polymorphes. Tout d'abord nous avons cherché à élucider les modes possibles de reproduction de chaque morphe via caractérisation *in situ* des pollinisateurs de *Nigella damascena* et leur comportement en relation avec les deux formes. En parallèle nous avons effectué une description comparative des aspects végétatifs et reproductifs des deux morphes dans des conditions naturelles qui a été utilisée pour calculer des mesures de vigueur, morphologie florale et succès de reproduction. Des traits associés au succès reproducteur ont été utilisés pour estimer un ensemble de composants de valeur sélective qui ont été utilisés pour détecter des gradients de sélection sur des traits floraux. Enfin, l'intégration de ces études avec des observations sur l'évolution du morpho-ratio entre les deux générations a permis de formuler des hypothèses sur l'évolution du polymorphisme dans les populations naturelles et de comprendre les conséquences de l'hybridation récurrente entre les populations naturelles composées exclusivement du morphe [P] et des plantes de morphe [T] provenant de populations artificielles. Nous avons observé un effet qualitatif du morphe floral sur le comportement des pollinisateurs qui a un impact potentiel sur le mode de reproduction. Notamment la forme [T] est peu visitée par des pollinisateurs et semble se reproduire majoritairement par autofécondation, tandis que la forme [P] avec pétales est plus fréquemment visité et potentiellement allogame. Nous avons trouvé des évidences surprenantes d'un avantage de la forme sans pétales [T] dans des conditions naturelles par rapport au type sauvage [P]. L'origine de cet avantage pourrait résider dans la structure génétique étroite de notre matériel végétal dont les

limites sont discutées. Nous avons trouvé aussi une dépression de consanguinité dans la descendance de plantes [T] en raison de leur mode de reproduction par autofécondation. Ainsi, la compréhension de l'évolution de ces populations polymorphes nécessite une appréciation de l'équilibre entre ces deux facteurs. Nos observations suggèrent que la dépression de consanguinité associée au mode reproduction du morphe [T] peut compenser dans une certaine mesure l'avantage lié à sa génétique et mener le morphe-ratio vers un scénario plus équilibré. Cependant, au cours de cette étude seulement deux générations ont été observés ce qui est limitant pour nos hypothèses sur le résultat d'une situation polymorphe. En conséquence, l'étude continue de l'évolution du morphe-ratio sur plusieurs générations ainsi que des modes de reproduction et de la valeur sélective des deux morphes est nécessaire pour discerner des tendances évolutives plus solides des populations naturelles de *Nigella damascena* dans un état polymorphe.

Résumé de la conclusion

Bien que ne montrant pas le classique scénario de transformation homéotique, ou peut-être en vertu de celui-ci, le dimorphisme floral *Nigella damascena* constitue un cas remarquable d'origine d'une nouveauté évolutive. Notre étude de ses aspects écologiques dans des conditions naturelles nous a fourni quelques idées des limitations qui accompagnent ces transformations morphologiques spectaculaires, notamment un changement potentiel de mode de reproduction entre pollinisation croisé et autofécondation. Toutefois, les singularités de ce polymorphisme, à savoir la reproduction artificielle continue de la forme mutante par l'homme et de son potentiel de reproduction par autofécondation, sont clés pour la compréhension de son potentiel évolutif. Les principaux résultats de ce domaine de la thèse sont discutés ainsi que de nouvelles perspectives pour la recherche de ce modèle.