BIBLIOTHEQUE

T dV
CHA

ACADEMIE DE MONTPELLIER

UNIVERSITE MONTPELLIER II

--- SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC ---

THESE

présentée à l'Université de Montpellier II Sciences et Techniques du Languedoc
pour obtenir le diplôme de DOCTORAT

SPECIALITE: BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ECOLOGIE

Formation Doctorale: Biologie de l'Evolution et Ecologie

Ecole Doctorale: Biologie des Systèmes Intégrés, Agronomie, Environnement

Biologie des populations d'une espèce clonale: Architecture et fonctionnement clonal chez *Scirpus maritimus* dans les marais temporaires méditerranéens du sud de la France

par

Anne CHARPENTIER

Soutenue le 24 avril 1998 devant le jury composé de:

M. McKEY Doyle	Professeur, Université Montpellier II	Président
M. van GROENENDAEL Jan	Professeur, Université de Nijmegen	Rapporteur
M. MEERTS Pierre	Professeur, Université libre de Bruxelles	Rapporteur
M. BLONDEL Jacques	Directeur de Recherche, CNRS Montpellier	Examinateur
M. CLEMENT Bernard	Maître de Conférences, Université Rennes I	Examinateur
M. MESLEARD François	Chargé de Recherche, Tour du Valat	Examinateur
M. THOMPSON John	Chargé de Recherche, CNRS Montpellier	Directeur de Thèse

Remerciements

Je remercie MM. Thaller et Delay, qui m'ont accueilli à Montpellier au sein de l'Ecole et de la Formation Doctorale. Ma venue au DEA à Montpellier m'a permis de découvrir la Station Biologique de la Tour du Valat. Je voudrais remercier MM. Luc Hoffmann et Jean Paul Taris pour m'avoir accueilli en Camargue et donné la possibilité de réaliser cette thèse.

Beaucoup trop de mercis à John Thompson, aussi je résume: pour la qualité scientifique et humaine de son encadrement, pour sa disponibilité, ses visites à la Tour, son travail en 'fax tendus' qui a effacé les kilomètres. Comment fait-il pour corriger, structurer, améliorer un travail, sans dénaturer ni décourager, en donnant au contraire les moyens de mieux se l'approprier, l'envie de travailler plus, d'aller plus loin? J'ai eu de la chance.

Je remercie les membres du jury qui ont accepté de juger mon travail, Doyle McKey, Bernard Clément, Jacques Blondel, François Mesléard, ainsi que les rapporteurs Jan van Groenendael et Pierre Meerts. Je voudrais aussi remercier Jan van Groenendal pour être à l'origine du groupe de travail sur les plantes clonales grâce auquel j'ai pu rencontrer de nombreux spécialistes de la clonalité.

Un merci tout particulier à Jacques Blondel qui m'a fait découvrir mais surtout aimer la Biologie des Populations lors de ses cours de DEA et de mon passage à Pirio.

Merci aussi à José Escarré et Jacques Lepart qui ont contribué par leurs lectures et discussions à l'amélioration de ce travail.

Mes remerciements aux personnes de la Tour du Valat vont être longs, parce qu'il y a beaucoup de monde mais surtout beaucoup de personnes de qualité:

Merci à François Mesléard, responsable de mon travail à la Tour du Valat, qui m'a mis le pied à l'étrier lors de mon stage de DEA et m'a ensuite fait confiance pour la thèse. La liberté qu'il m'a laissée dans mes orientations et le choix de mes manips m'a permis de mieux comprendre où je voulais aller et de savoir ce que j'aimais. Merci à Patrick Grillas, 'chef de l'équipe bota': les discussions de fin de journée, échanges de biblio, 'débrouillages' des questions pratiques, visites sur le terrain, petits tours au labo pendant les longues heures de tri, autant de coups de

pouce qui donnent l'impression de faire partie d'une équipe et qui aident grandement les 'apprenti-chercheurs' de mon espèce (décidément, ses pouces auront été mis à dure épreuve par les Anne(s) B. et C.).

Mon enthousiasme à écrire des manips sur le papier a coûté cher en travail à celles et ceux qui m'ont ensuite aidé à les réaliser: un grand merci à Christophe Blanquier sans qui je ne serais jamais arrivée au bout de mes lourdes manips, à Boutros pour les heures passées à suivre les rhizomes au fond du labo bien loin des oiseaux, aux 'hommes forts' du Mas qui ont construit les 'jacousis' et les exclos, à Peggy et Nathalie pour les heures passées avec les arabis, et enfin à Laurine qui, en plus d'avoir supporté mon tabagisme et ma capacité certaine à générer un bazar ambiant, m'a donné un bon coup de pinceau.

Merci aussi à toute l'équipe du secrétariat, aux cantinières, à l'équipe ornithos, poissons, gestion-conservation, aux hydro-magiciens, à Wendy, Isa l'arcachonaise, Aura, Tao mon collègue, Kiko, Jean Laurent, Boutros, Yves et tous les autres pour les complicités, rires, bringues, et autres bons moments.

Je voudrais associer aussi mon Sud-Ouest natal: Monsieur Sessac, 'Cimpello', Gérard, Eva, Do, les néracais, agenais et toulousains, à qui j'ai souvent pensé.

Les chats (la griotte, le matou, mèche courte, la boulette, le papi, le cousin, le aïe-aïe, l'intello, la miauleuse, la mamette) et les humains de Mas d'Agon, les premiers que j'ai nourris de croquettes et les seconds qui m'ont nourrie de caris et de gratins, Jean Marc, Nathalie ...et puis Nicolas.

Mes grand-frères, Loïc et Alain, ma mère et bien sûr, mon père.

SOMMAIRE

Introduction

I. Problématique 1

II. La clonalité chez les plantes 4

1. Distribution de la clonalité chez les végétaux 4
2. Les individus clonaux: durée de vie et taille 6
3. Dynamique des populations de plantes clonales 7
   - *A l'échelle des ramets* 7
   - *A l'échelle des genets* 7
4. Clonalité et diversité génétique 8
   - *Diversité génotypique* 8
   - *Diversité génétique* 9

III. Fonctionnement et architecture clonale 10

1. Fonctionnement clonal 10
2. Architecture clonale 12
3. Contraintes de la clonalité pour la reproduction sexuée 13
   - Fonctionnement clonal 13
   - Architecture clonale 14

IV. *Scirpus maritimus*: une macrophyte émergente clonale 15

1. Les plantes aquatiques émergentes 15
2. *Scirpus maritimus* 15
   - *Reproduction sexuée et recrutement* 15
   - *Multiplication végétative* 16
   - *Intérêt écologique* 16

V. Objectifs et plan de thèse 17

Partie 1: Fonctionnement clonal

Introduction 18

Chapitre 1.1: Intégration physiologique, propagation spatiale et variabilité morphologique des ramets

I. Intégration physiologique et propagation spatiale 21

1. Méthode 21

2. Principaux résultats et Discussion 22

2.1 *Variabilité de la taille des ramets* 22

2.2 *Occupation de l'espace par les clones* 23

II. Variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets 24

1. Méthode 24

2. Principaux résultats et Discussion 25

2.1. La reproduction sexuée 25

2.2. L'assimilation photosynthétique et le stockage des réserves 26

III. Conclusion 27

Chapitre 1.2: Rôle de l'intégration physiologique et de la taille des tubercules dans la persistance des genets

I. Introduction 29

II. Méthodes 29

III. Résultats et discussion 30

1. Section artificielle des rhizomes connectant les tubercules hivernants 30

2. Démarrage des tubercules hivernant en milieu naturel 32

IV. Conclusion 33

Partie 2: Architecture clonale

Introduction 35

Chapitre 2.1. Régulation densité-dépendante de la croissance clonale: compétition interclonale *versus* intraclonale

I. Introduction 37

II. Méthode 39

III. Résultats 41

1. Production de tiges et de tubercules sans partie aérienne 41
2. Relation densité-poids moyen des tiges 42
3. Architecture clonale 42

IV. Discussion 44

Chapitre 2.2. Clonalité et fécondité

I. Introduction 48

II. Matériel et Méthodes 50

1. *Scirpus maritimus* 50
2. Auto-compatibilité *versus* auto-incompatibilité 50
3. Tour du Valat: Relation entre superficie des populations locales et fécondité 51
4. Roquehaute: Etude du succès de la reproduction sexuée 51
5. Analyse des données 52

III. Résultats et Discussion 53

1. Auto-compatibilité *versus* auto-incompatibilité 53
2. Tour du Valat: Relation entre superficie des populations locales et fécondité 54
3. Roquehaute: Etude du succès de la reproduction sexuée 54
4. Conclusion 55

Conclusion

I. *Scirpus maritimus*: un modèle de clonalité peu étudié 59

II. Application des résultats pour la conservation des zones humides 63

Références bibliographiques 68

Annexes

Annexe 1: Role of water level and salinity in the regulation of *Juncus gerardi* populations in former ricefields. Charpentier A., Mesléard F. & Grillas P. (accepté dans Journal of Vegetation Science)

Annexe 2: The effects of rhizome severing on the clonal growth and clonal architecture of *Scirpus maritimus*. Charpentier A., Mesléard F. & Thompson J.D. (accepté dans Oikos)

Annexe 3: Functional specialization of interconnected ramets in *Scirpus maritimus*: Division of labour for storage, growth and sexual reproduction? Charpentier A. & Stuefer J. F. (soumis à Plant Ecology)

Introduction

I. Problématique

L'évolution des traits d'histoires de vie liés à la reproduction et la survie (tels que la durée de vie, l'âge et la taille à la maturité, le taux d'investissement dans la reproduction) représente un thème central en biologie évolutive. Ces traits, qui interagissent pour déterminer la valeur sélective des individus, sont reliés par des relations contraignantes, les compromis, existant lorsque le bénéfice qui découle du changement d'un trait est obligatoirement lié au coût associé au changement d'un autre trait. Les principaux compromis auxquels sont contraints les individus au cours de leur vie sont la reproduction actuelle *versus* la survie et la reproduction future, la quantité *versus* la qualité des descendants. L'évolution des traits d'histoire de vie et leurs interactions peut déterminer ainsi la dynamique des populations. (Stearns 1992)

Les modèles de biologie des populations ont été initialement développés à partir de l'étude d'organismes "unitaires" caractérisés par un cycle zygote-zygote simple. Les organismes vivants présentent souvent une histoire de vie plus complexe. Un des mécanismes qui complexifie le cycle de vie est la croissance clonale. **La clonalité** (*synonymes*: reproduction asexuée, apomixie au sens large) peut être définie comme la capacité d'un individu à croître et à se propager par auto-replication, de sorte que différentes parties d'un organisme génétique puissent fonctionner et survivre par elles mêmes. La clonalité permet donc la production d'unités génétiquement identiques appelées **ramets** qui peuvent fonctionner et survivre de façon autonome si elles sont séparées les unes des autres au cours du développement ou après des blessures. L'ensemble des ramets développés à partir d'un seul zygote sont des membres potentiellement ou effectivement indépendants d'un même **individu**, appelé **genet** (*synonyme*: clone) (Harper 1977).

Les procédés permettant la croissance clonale sont très variés (voir encadré 1). Dans cette étude, nous ne traiterons pas des procédés dérivés de la reproduction sexuée (apomixie au sens strict, polyembryonie) qui relèvent de processus évolutifs particuliers (pour plus d'informations voir par exemple Bierzychudek 1987). Nous ne considérerons, au sein des modes de clonalité, que les procédés permettant la reproduction végétative (*synonyme*: multiplication végétative) (voir encadré 1). Dans ce cas, l'autonomie potentielle, en terme de fonctionnement et de survie, des ramets formés par multiplication végétative, différencie la clonalité d'autres procédés de croissance modulaire (exemple: architecture des arbres) par

lesquels les modules formés ne sont pas capables de survivre indépendamment les uns des autres.

L'application des modèles de biologie des populations à des espèces clonales pose différents problèmes car la clonalité complexifie l'histoire de vie des individus (Schmid 1990, Watkinson & White 1985) et affecte la dynamique des populations (Sackville et al 1987).

La principale conséquence de la clonalité à l'échelle des populations est qu'elle génère deux niveaux démographiques différents: le ramet et le genet (Harper & Bell 1979). La survie d'un individu (genet) dépend du taux de naissance et du taux de mortalité des ramets qui le constituent. Comme pour un organisme "unitaire", la valeur sélective d'un genet dans un environnement donné peut être considérée comme étant le nombre relatif de ses descendants (genets) qui contribue aux futures générations. Cependant, mesurer la contribution d'un genet dans la prochaine génération de genets nécessite de mesurer la contribution intégrée des différents ramets qui le constituent et de leurs propres expériences (Begon et al. 1986).

L'expérience vécue par chaque ramet et sa contribution dans la prochaine génération de genets dépend du **fonctionnement clonal** propre à chaque espèce, c'est à dire la façon dont les différentes fonctions (reproduction sexuée, multiplication végétative, survie) sont assurées au sein de la 'population' de ramets constituant chaque genet. Chez certaines espèces, l'expérience vécue par chaque ramet peut être en partie partagée entre les ramets en raison de la présence de connexions physiologiques (ex: rhizomes, stolons) permettant l'échange des ressources captées dans le milieu. Chez d'autres espèces, les ramets sont physiquement déconnectés les uns des autres, et de ce fait la survie et la reproduction de chaque ramet est potentiellement indépendante de l'expérience vécue par les autres ramets du clone. Ainsi le degré d'intégration physiologique existant entre les ramets détermine le niveau d'indépendance de chaque ramet au sein du genet. De plus, la reproduction sexuée, la multiplication végétative et la survie d'un genet peuvent être assurées de façon inégale par les différents ramets constituant un genet. Chez certaines espèces, la taille des ramets formés détermine leur capacité de reproduction sexuée et végétative (Hartnett 1990, Schmid et al. 1995) ou leur survie (Cain 1990). Chez d'autres espèces, les ramets sont prédéterminés dès le stade de bourgeon, pour porter une inflorescence (ramets sexués) ou pour rester végétatifs (Watson 1990).

L'architecture clonale, c'est à dire le nombre et la position des ramets dans l'espace, conditionne également l'expérience des ramets dans le milieu et la reproduction sexuée. La dispersion des ramets dans l'espace peut avoir pour effet de répétitivement exprimer certains

gènes ou combinaison de gènes dans des environnements différents et donc de rencontrer des pressions de sélection différentes. Au contraire, si les ramets restent regroupés sur un même site, ils peuvent entrer en compétition pour l'acquisition des ressources du milieu avec d'autres ramets du même genet. L'architecture clonale des genets influe également sur les patrons de pollinisation au sein des populations, le regroupement dans l'espace des ramets d'un même genet augmentant les probabilités de pollinisation entre les ramets d'un même genet (Handel 1985).

Ainsi, l'étude de la biologie des populations clonales soulève des questions différentes de celles posées pour des individus unitaires. Chaque genet constitue une "population" de ramets pouvant interagir avec des milieux différents mais aussi interagir entre eux. La survie et la reproduction sexuée des genets vont donc être influencés par:

- le fonctionnement clonal:

Les ramets partagent-ils ou non leurs expériences?

Les ramets sont-ils morphologiquement identiques et assurent-ils les mêmes fonctions (reproduction sexuée, multiplication végétative, stockage des réserves) ou présentent-ils une variabilité morphologique et/ou fonctionnelle?

- l'architecture clonale:

Les ramets sont-ils dispersés dans l'espace ou bien au contraire regroupés?

Quelles sont les conséquences de l'architecture clonale sur les patrons de pollinisation et le régime de reproduction sexuée (allo *versus* autogamie)?

Nous avons abordé ces questions dans le cadre de l'étude d'une espèce végétale clonale, *Scirpus maritimus*. Cette Cypéracée se développe dans les milieux aquatiques peu profonds, doux ou faiblement salés. C'est une plante émergente pérenne qui, grâce à un réseau de rhizomes et de tubercules, peut se propager rapidement par multiplication végétative et former de grands peuplements monospécifiques.

Avant de développer les différentes étapes de ce travail, nous présenterons un aperçu des connaissances générales sur la clonalité, les principales composantes du fonctionnement et de l'architecture clonale et sur leurs conséquences à l'échelle des populations de plantes.

II. La clonalité chez les plantes.

1. Distribution de la clonalité chez les végétaux

Les procédés permettant l'autoreplication d'un individu sont multiples (voir encadré 1). Certains nécessitent la production d'organes spécialisés (rhizomes, stolons, bulbes..), d'autres consistent en des phénomènes de fragmentation, fission, bourgeonnement. (Rappelons ici que la clonalité peut aussi dériver de la reproduction sexuée par des procédés tel que l'agamospermie ou la polyembryonie). Ces mécanismes s'avèrent très largement répandus dans le monde vivant qu'il soit animal ou végétal (voir encadré 2). Chez les plantes par exemple, les espèces clonales prédominent dans un grand nombre d'habitats aquatiques ou terrestres (van Groenendael et al. 1996). On trouve des espèces clonales aussi bien parmi les plantes inférieures que supérieures qu'elles soient herbacées ou arborescentes.

Deux études comparatives sur la phylogénie et l'ontogénie des plantes conduisent à considérer la croissance clonale par des rhizomes ou stolons comme un "passage obligé", une contrainte lors du développement et de la croissance de beaucoup d'espèces clonales (Mogie & Hutchings 1990, Tiffney & Niklas 1985). Chez les végétaux inférieurs, l'absence de tissus vasculaires contraint la croissance dans un plan horizontal, amenant au développement de la croissance par rhizomes. Au cours de l'évolution, la croissance secondaire a permis le développement d'axes verticaux et l'apparition de l'arborescence chez les végétaux vasculaires. La translation de la croissance horizontale vers la croissance verticale a conduit à la restriction de la croissance clonale (Tiffney & Niklas 1985). Ainsi Mogie et Hutchings (1990) considèrent que le passage, chez les plantes vasculaires, d'une croissance de l'axe principal unipolaire à bipolaire ainsi que l'apparition de la croissance secondaire ont un effet déterminant sur la clonalité. Pour ces auteurs, les plantes vasculaires unipolaires et/ou sans croissance secondaire sont ontogéniquement contraintes à la clonalité. Ainsi, pour la plupart des angiospermes monocotylédones la clonalité est une nécessité fondamentale pour croître. Par contre, "la bipolarité fournit la base, et la croissance secondaire le moyen, par lesquels la croissance clonale peut être évitée" (Mogie & Hutchings 1990). Ainsi, la plupart des gymnospermes, et des angiospermes dicotylédones qui possèdent à la fois la croissance bipolaire et la croissance secondaire ne sont pas ontogénétiquement contraints à la clonalité pour se développer. L'ontogénie et la phyllogénie pourraient donc en partie expliquer les importantes variations observées dans la distribution de la clonalité parmi les plantes vasculaires (voir encadré 2) (van Groenendael et al. 1996).

Cependant, un nombre important de plantes actuelles non "ontogéniquement contraintes" à la clonalité, spécialement parmi les dicotylédones, sont pourtant clonales. On trouve chez les monocotylédones et dicotylédones des formes clonales et des formes non clonales à l'intérieur d'un même genre et d'une même espèce (Tutin et al. 1964-1980). Par exemple, dans la flore d'Europe centrale, la moitié des genres de dicotylédones sont composés d'un mélange d'espèces clonales et non-clonales (van Groenendael et al. 1996). Cette variation pourrait-elle être adaptative? Répondre à cette question nécessite de connaître les composantes génétiques de la croissance clonale et son héritabilité ainsi que les pressions de sélections impliquées. Les connaissances sur le déterminisme génétique de la clonalité reste pour le moment très fragmentaires. Par exemple, chez *Hippocrepis comosa*, les formes diploïdes sont non clonales et érigées alors que les tétraploïdes sont prostrées et capables de développer des racines adventices sur les noeuds (Fearn 1973). De même, parmi les sous-espèces de *Rumex acetosella* et de *Valeriana officinalis*, la capacité de croissance clonale augmente avec le niveau de polyploïdie (Klimeš et al. 1997). Quelques connaissances indirectes, issues de l'hybridation entre espèces apparentées clonales et non-clonales suggèrent que la présence de rhizomes et stolons est héritée comme un caractère dominant (Mogie & Hutchings 1990). Très peu d'études ont tenté de mettre en relation, dans les populations, la variabilité phénotypique des traits liés à la croissance clonale et la variation génétique (Cheplick 1995), ou bien encore de mesurer la différentiation génétique des traits affectant la croissance clonale (Skalova et al. 1997).

La très grande fréquence de la clonalité dans le règne végétal n'exclue cependant pas la présence de la reproduction sexuée. La grande majorité des espèces végétales clonales combinent clonalité et reproduction sexuée et rares sont les espèces végétales dont on ne connaît pas de mode de reproduction sexuée (Silander 1985). Ce constat amène la question du maintien de la reproduction sexuée face à la reproduction asexuée. Cette question, soulevée par la démonstration du coût du sexe par Maynard Smith (1971) et Williams (1975), a donné lieu au développement d'une dizaine de théories sur les avantages à court et long terme du sexe (voir Gouyon et al. 1993 et Stearns 1987 pour revue). S'il n'est pas ici question de développer l'ensemble de ces théories, rappelons simplement que la reproduction sexuée, par la recombinaison génétique, permet de générer la diversité génétique nécessaire pour répondre aux pressions de la sélection naturelle. La reproduction asexuée ne peut créer de diversité génétique, à l'exception de la diversité due aux mutations somatiques qui reste très limitée sans recombinaison du génome (Maynard Smith 1978).

2. Les individus clonaux: durée de vie et taille

Une première approche globale de l'impact de la clonalité sur l'histoire de vie concerne la durée de vie et la taille des individus. Des estimations révèlent l'existence de clones âgés de plusieurs centaines voir milliers d'années (Cook 1983). Dans plusieurs expériences de cultures en laboratoire de populations asexuées aucun signe de sénescence des individus n'a été constaté après plusieurs dizaines voir centaines de réplications (voir Bell 1988 pour revue). Ces données suggèrent que l'auto-replication infinie d'un génome pourrait permettre à l'individu génétique d'être potentiellement immortel. Cependant, le fait que des clones puissent atteindre une durée de vie très importante ne signifie pas nécessairement qu'ils échappent à des phénomènes de sénescence. Des détériorations et dégénérescences ont été constatées chez certains clones de plantes et d'animaux (Pedersen 1995, Watkinson 1992). Des modélisations réalisées à partir des deux principales théories actuellement proposées pour expliquer la sénescence (l'accumulation progressive de mutations délétères et l'action d'allèles à effets pleïotropiques antagonistes), ne permettent pas de déterminer si la clonalité permet ou non d'éviter la sénescence (Pedersen 1995, Orive 1995). Cette question reste donc posée et demande avant tout une meilleure connaissance des mécanismes responsables de la sénescence (Watkinson 1992).

La croissance végétative représente également un puissant mécanisme de propagation dans l'espace. La croissance des organismes unitaires est limitée par la diminution du rapport surface/volume. L'organisation en unités permet à un individu modulaire de croître en taille sans transgresser ces lois et ainsi d'échapper aux contraintes de taille. Parmi les records de superficie atteint par un seul individu, citons par exemple 81 ha pour un clone de *Populus tremuloides* (Kemperman & Barnes 1976) et 20 ha pour un clone de *Pteridium aquilinum* (Oinonen 1967). Une très grande longévité et un très grande taille n'est cependant pas un trait obligatoire des plantes clonales. Certaines plantes clonales présentent un cycle de vie annuel, comme par exemple beaucoup de plantes submergées des milieux aquatiques temporaires (ex: *Zannichellia* spp., *Callitriche* spp.)

La croissance clonale, qui permet théoriquement de former des individus modulaires potentiellement illimités dans le temps et l'espace (Watkinson & White 1985), rend difficile la mesure de la valeur sélective d'un génotype sur la base du cycle zygote-zygote. Différentes méthodes de mesure ont été récemment proposées pour tenter de dépasser ces difficultés (Fagerström 1992, Pedersen & Tuomi 1995, Wikberg 1995).

3. Dynamique des populations de plantes clonales

La dynamique des populations de plantes clonales est caractérisée par l'existence de deux niveaux démographiques imbriqués: les ramets et les genets. La survie d'un genet dépend du taux de naissance et de mortalité des ramets qui le constituent. Si le risque de mortalité de chaque ramet est indépendant des autres ramets, le risque d'extinction d'un genet est partagé entre tous les ramets et de ce fait, plus le nombre de ramets est élevé et plus le risque d'extinction du genet diminue (Cook 1979, Eriksson & Jerling 1990).

- A l'échelle des ramets

Une conséquence importante de la multiplication végétative est l'augmentation rapide de la densité des ramets dans les populations et donc des risques de compétition. Pourtant, chez beaucoup espèces, la taille des ramets n'est pas corrélée à la densité de ramets, ce qui suggère que la densité de ramets est maintenue à des niveaux assez faibles pour ne pas entraîner de mortalité densité-dépendante des ramets (Hutchings 1979, Pitelka et al. 1985). Des cas de mortalité densité-dépendante de ramets ont cependant été montrés chez quelques espèces (de Kroon & Kalliola 1995). Chez les espèces n'expérimentant que peu ou pas de mortalité densité-dépendante, le contrôle de la densité semble essentiellement résulter d'une régulation du taux de naissance des ramets (Briske & Butler 1989, Hartnett 1993). L'échelle à laquelle est réalisée cette régulation reste encore sujet à discussion. Le contrôle du taux d'initiation des nouveaux ramets pourrait être réalisé à l'échelle de chaque ramet (de Kroon & Kwant 1991) ou bien à l'échelle du genet, au moyen de l'intégration physiologique (Hutchings 1979, Hutchings & Bradbury 1986).

- A l'échelle des genets

L'étude démographique des populations à l'échelle des genets nécessite de pouvoir identifier les individus génétiques. Pour beaucoup d'espèces il est pour cela nécessaire d'utiliser les marqueurs génétiques. De plus, beaucoup d'espèces clonales étant longévives, l'approche dynamique des populations nécessite souvent des suivis à long terme. Du fait de ces difficultés, les connaissances sur la dynamique des genets sont le plus souvent partielles, et généralement confinées aux premiers stades de vie (plantules).

Il a longtemps était considéré que l'établissement de nouvelles plantules dans les populations de plantes clonales était rare (Harper 1977, Cook 1979, 1985). Une synthèse bibliographique montre cependant que pour 40 % des espèces étudiées (n = 68), le recrutement

de nouvelles plantules à l'intérieur de populations déjà établies a été observé (Eriksson 1989). Barrett et Silander (1992) ont ainsi montré, dans des populations de *Trifolium repens*, que le recrutement de nouvelles plantules avait lieu chaque année. Eriksson (1993) décrit le mode de recrutement sexué chez les plantes clonales comme un spectre continu allant des espèces de type "recrutement initial", pour lesquelles il n'a plus de recrutement après la phase de colonisation, jusqu'aux espèces de type "recrutement répété" qui présente un recrutement continu. Dans le cas d'un recrutement sexué exclusivement initial, la population de genets sera le reflet de la cohorte de plantules qui ont colonisé le site (excepté les genets disparus). Par contre, dans le cas d'un recrutement sexué continu, la population sera un mélange des cohortes de plantules successivement recrutées. Ainsi, le mode de recrutement influe sur la diversité génétique des populations.

4. Clonalité et diversité génétique

- diversité génotypique

- *intrapopulation*

Le premier modèle de recrutement proposé pour les plantes clonales (Kay et Harper 1974) considérait une phase unique de recrutement lors de la fondation de la population, suivie d'une diminution progressive du nombre de clones jusqu'à un stade d'équilibre consistant en un nombre réduit d'individus génétiques. Ce modèle a part la suite été conforté par différentes études qui montraient une diminution du nombre d'individus avec l'âge de la population (Hartnett & Bazzaz 1985, Maddox et al. 1989). Ainsi, une des premières hypothèses énoncées concernant les conséquences de la clonalité a été la faible diversité génotypique des populations clonales. Cependant, un nombre croissant d'études (voir les synthèses d'Ellstrand & Roose 1987 et de Widén et al. 1994) montre que la majorité des populations de plantes clonales sont composées de plusieurs clones, les populations monoclonales restant l'exception à la règle. Ces résultats ont conduit à déterminer quels étaient les mécanismes permettant de maintenir plusieurs clones dans les populations clonales.

La reproduction sexuée, qui permet le recrutement de nouveaux individus dans la population, est unanimement considérée comme le principal facteur responsable du maintien de la diversité génétique dans les populations clonales (Ellstrand & Roose 1987, Eckert & Barrett 1993). Plusieurs modélisations ont montré que même un faible taux de recrutement est suffisant pour assurer le maintien de la diversité génétique chez les plantes clonales (Watkinson & Powell 1993).

Mais la clonalité pourrait également ralentir la perte de diversité génotypique intra-population au cours du temps. Le fait de répartir le risque de mortalité entre les différents ramets d'un même individu pourrait réduire la probabilité de mortalité des genets et donc permettre de préserver la diversité génotypique (Cook 1983). L'intégration physiologique entre les ramets pourrait tamponner, à l'échelle des genets, les effets de forces de sélection locales et ainsi permettre de maintenir la diversité génotypique (Hartnett & Bazzaz 1985).

Enfin, le maintien de la diversité génotypique dans les populations clonales peut théoriquement résulter, au même titre que dans les populations non-clonales, de forces telles que la migration, la mutation somatique, ou la sélection fréquence-dépendante, bien que ces mécanismes soient le plus souvent suggérés et non démontrés dans les études sur les plantes clonales (voir Silander 1985 pour revue).

- interpopulation

La synthèse réalisée par Ellstrand et Roose (1987) montre une diversité génotypique interpopulation relativement élevée (nombre moyen de population par génotype: 2.9 pour un nombre moyen de populations par étude de 12.5). La plupart des génotypes sont présents dans une seule population (76% des génotypes) alors que 20 % des génotypes sont présents dans plus de 75% des populations échantillonnées.

- Diversité génétique

intrapopulation

Hamrick et Godt (1989) ont récemment passé en revue la littérature afin de comparer la diversité allozymique entre les plantes non-clonales et les plantes qui associent à la fois croissance clonale et reproduction sexuée. Cette étude ne montre pas une plus grande diversité génétique dans les populations de plantes non-clonales. Cependant, à l'échelle des espèces, le taux de loci polymorphes est plus élevé chez les espèces n'utilisant pas la croissance clonale que chez les espèces clonales.

interpopulation

Hamrick et Godt (1989) ont également comparé les 2 groupes de plantes sexuées (sans clonalité et avec clonalité) en utilisant les paramètres de diversité génétique de Nei (1973) et n'ont trouvé aucune différence significative entre les 2 groupes de plantes. Ainsi, la part de la différentiation inter-population dans la diversité génétique totale varie selon les espèces étudiées. Selon les espèces, la diversité inter-population peut être très faible (Jelinski & Cheliak 1992, Lokker et al. 1994) ou bien au contraire contribuée pour plus d'un tiers dans la diversité

génétique totale (Murawski & Hamrick 1990). Cette variabilité de la diversité génétique des populations clonales semble en partie liée à l'importance relative de la reproduction clonale et de la reproduction sexuée (Jonsson et al. 1996).

Les plantes clonales montrent une importante diversité dans la dynamique et la génétique des populations (ex: durée de vie moyenne des individus, taux de recrutement de nouveaux individus, taille des populations, diversité génotypique et génétique). Cette diversité est à mettre en relation avec la diversité des procédés permettant la clonalité (voir encadré 1). En effet, à chaque type de procédé sont associés un fonctionnement et une architecture clonale qui déterminent la capacité des genets à tamponner la variabilité spatiale et temporelle du milieu (Eriksson & Jerling 1990, Klimes et al. 1997), à se disperser ou au contraire à se maintenir localement face à la compétition avec d'autres individus (Herben & Hara 1997), ou face aux parasites et pathogènes (Peterson & Jones 1997, D'Hertefeldt & van der Putten 1998), et ainsi influent sur la dynamique des populations. De même, le fonctionnement et l'architecture clonale propre à chaque espèce influent sur la reproduction sexuée (Handel 1985, Watson 1990) et le recrutement de nouveaux individus (Eriksson 1997), et donc sur la diversité génétique des populations.

III. Fonctionnement et architecture clonale

1. Fonctionnement clonal

Le degré d'intégration physiologique, c'est à dire le transport entre les ramets d'eau, minéraux, carbohydrates, et hormones via des connexions (stolons, rhizomes..) varie selon les procédés de reproduction clonale (voir encadré 1) et aussi souvent selon le stade ontogénique de l'individu. La présence de connexions physiologiques permet au **genet** de fonctionner comme **une seule unité physiologiquement intégrée,** composée de sous-unités fonctionnelles (les ramets). A l'opposé, en l'absence de connexions, ou si celles-ci disparaissent très tôt dans le développement ontogénique, le genet constitue alors **un ensemble d'unités physiologiques indépendantes** les unes des autres. Ces 2 cas représentent les 2 points extrêmes du spectre de l'intégration physiologique chez les plantes clonales. Entre ces deux extrêmes, beaucoup de degrés intermédiaires sont possibles (ex: intégration temporaire pendant les premières phases

du développement des ramets, intégration à l'intérieur de sous-ensembles de ramets) (Watson & Casper 1984).

Cette grande variabilité du degré d'intégration physiologique chez les plantes clonales a suscité beaucoup d'études destinées à déterminer les coûts *versus* les bénéfices de ces connexions physiologiques afin d'expliquer leur maintien ou leur disparition au cours de l'évolution (voir tableau 1). Ainsi, l'intégration physiologique peut par exemple influer sur la propagation spatiale des genets, leur survie dans des milieux spatialement hétérogènes, leur risque de mortalité après des perturbations locales ou des attaques par des pathogènes (Tableau 1).

Une autre caractéristique du fonctionnement clonal est le degré de variabilité morphologique entre les ramets d'un même genet. Ce trait a jusqu'à présent fait l'objet de beaucoup moins d'études que l'intégration physiologique. Pourtant, la taille des ramets peut déterminer l'allocation des ressources dans la reproduction sexuée, la multiplication végétative ou leur survie (Cain 1990, Harnett 1990, Schmid et al. 1995). La variabilité morphologique des ramets pourrait permettre leur coexistence dans un environnement fluctuant et ainsi augmenter la survie d'un genet en tamponnant la variabilité de milieu (Eriksson et Jerling 1990). Par exemple, *Glaux maritima* produit des ramets de taille très variable, les petits ramets étant moins productifs que les gros mais aussi significativement moins prédatés que les gros. Ainsi, Jerling (1988) conclue que la variabilité de la taille des ramets pourrait être avantageuse face à la pression de prédation.

La variabilité entre les ramets peut aussi être fonctionnelle. Un premier type de spécialisation fonctionnelle des ramets, plastique et inductible par l'environnement, a été mis en évidence chez certaines espèces se développant dans des milieux spatialement hétérogènes (Hutchings & Price 1993, Alpert & Stuefer 1997, Hutchings & Wijesinghe 1997). Par exemple, chez *Trifolium repens*, chaque ramet se spécialise morphologiquement dans l'acquisition de la ressource la plus abondante localement (ex: eau, lumière) et peut ensuite partager ses ressources avec les autres ramets grâce aux connexions physiologiques. Un tel 'partage du travail' entre les ramets peut augmenter la performance du genet en terme d'acquisition de biomasse (Stuefer et al. 1996).

Un deuxième type de spécialisation fonctionnelle des ramets peut être ontogénétiquement programmé. Par exemple, chez deux espèces de *Carex*, *C. bigelowii* et *C. arenaria*, la fonction assurée par les ramets change au cours de la vie des ramets (Jóndóttir et

al. 1996). Les jeunes ramets sont essentiellement responsables de l'assimilation chlorophyllienne alors que les ramets plus âgés assurent la capture de l'eau et des nutriments et le stockage des réserves (Jóndóttir & Callaghan 1988). Dans un environnement temporellement variable, ces réserves peuvent permettre de diminuer les risques de mortalité des individus en leur permettant de survivre à des périodes défavorables (Jonsdottir & Callaghan 1988, Eriksson & Jerling 1990). Chez d'autres espèces, comme par exemple chez *Podophyllum peltatum*, le type des ramets (ramets sexués *versus* végétatifs) est prédéterminé au stade de bourgeon, l'année précédant le développement des ramets. Ainsi, au printemps suivant, les bourgeons hivernant contiennent soit une tige sexuée soit une tige végétative (Benner & Watson 1989, Watson 1990). A l'exception de quelques exemples, très peu d'études ont porté sur cette spécialisation fonctionnelle des ramets ontogénétiquement programmée et sur ses implications écologiques en terme de coût et bénéfices pour les genets.

2. L'architecture clonale

La distribution des ramets dans l'espace est déterminante pour l'acquisition des ressources, en particulier dans le cas où l'environnement est spatialement hétérogène. Chez beaucoup de plantes clonales, les ramets, situés à l'extrémité de stolons ou rhizomes se développant horizontalement, confèrent au genet la potentialité de se déplacer dans l'espace. Ainsi la croissance clonale chez les plantes, en permettant une certaine mobilité des individus dans le milieu, peut avoir certaines analogies avec le comportement des animaux unitaires (Bell 1984). L'aspect "comportemental" des plantes clonales qui a suscité le plus d'études est la notion de "foraging behaviour", stratégie qui consiste pour un genet, à maximiser l'acquisition des ressources dans un environnement hétérogène en concentrant ses ramets dans les sites riches en ressources (voir de Kroon 1995 pour revue).

L'architecture clonale influe également sur la compétition entre les genets pour l'acquisition des ressources. Dans les populations constituées de clones compacts, formant des tâches monoclonales, l'interaction entre ramets se passe le plus souvent au sein d'un même clone (excepté dans les zones de contact entre clones). A l'opposé, dans les populations de clones imbriqués, les ramets interagissent le plus souvent entre clones d'espèces différentes ou entre clones différents d'une même espèce. Ainsi, selon l'architecture clonale, la compétition pour l'acquisition des ressources peut être essentiellement intra-individu, inter-individu ou inter-spécifique (Hutchings & Mogie 1990).

Le regroupement ou au contraire la dispersion des ramets peut également influer sur leur risque de mortalité par les agents pathogènes ou la prédation. Jusqu'à présent, peu d'études ont porté sur ce sujet (voir McLellan et al. 1997, Peterson & Jones 1997).

3. Contraintes de la clonalité pour la reproduction sexuée

L'interaction entre clonalité et reproduction sexuée est certainement un des facteurs déterminant de la dynamique des populations et de leur diversité génétique (Eriksson 1997).

- Fonctionnement clonal et reproduction sexuée:

L'application du concept de compromis, tel qu'il est défini en biologie des populations, à l'étude des relations entre reproduction sexuée et croissance clonale, a suscité de nombreux travaux théoriques dans les années 1970 et 1980 (voir Lovett-Doust 1989 pour revue). L'hypothèse initialement proposée est qu'il existe un compromis physiologique entre la clonalité et la reproduction sexuée. En d'autres termes, ces deux fonctions sont en compétition pour l'allocation d'une quantité limitée de ressources, et de ce fait, l'augmentation de l'allocation dans une de ces fonctions se traduit par une diminution de l'allocation dans l'autre. Ce compromis serait contrôlé par le succès relatif des plantules *versus* des ramets dans le milieu (notion de stratégie optimale, pour revue: Hartnett 1990, Reekie 1991, Sackville Hamilton et al. 1987). Mais tester ces hypothèses c'est avéré très difficile car il est souvent difficile de déterminer quelles structures et activités du genet sont associées à la reproduction sexuée *versus* la clonalité, et quelles sont les ressources à mesurer (Reekie & Bazzaz 1987a). De plus, si les ramets sont physiologiquement connectés entre eux, ceux-ci peuvent échanger des ressources, ce qui rend la démonstration de compromis à l'échelle du ramet très difficile (Bazzaz et al. 1987). L'investissement dans la reproduction sexuée et la croissance clonale peut également dépendre de la taille des ramets (Hartnett 1990, Schmid et al. 1995) ou de leur différentiation à un stade très précoce du développement. Par exemple, chez *Podophyllum peltatum*, la différentiation entre ramets végétatifs *versus* sexués se fait au stade bourgeon l'année précédant leur développement (Benner & Watson 1989). Chez d'autres espèces, la reproduction sexuée et la croissance clonale peuvent être décalées dans le temps, comme par exemple dans le genre *Hieracium*, chez lequel l'initiation des stolons n'a lieu qu'après la floraison (Bishop et al. 1978). Aussi, si quelques rares études ont pu montrer un compromis entre la reproduction sexuée et la croissance clonale (Sutherland & Vickery 1988, Watson 1984) beaucoup d'autres n'ont pu le faire (Ashmun et al. 1985, Horvitz & Schemske 1988, Reekie 1991, Reekie & Bazzaz 1987b).

- Architecture clonale et reproduction sexuée:

L'architecture clonale peut influer sur la reproduction sexuée au moment de la pollinisation et lors du recrutement de nouveaux individus à partir de la banque de graines.

La position des ramets les uns par rapport aux autres influe sur les probabilités d'auto- et d'allo-pollinisation, et ainsi a un effet important sur le régime de reproduction sexuée. Dans le cas des clones à architecture compacte, la proximité dans l'espace d'un nombre important de tiges fleuries appartenant au même individu génétique favorise les probabilités d'auto-pollinisation. Chez les plantes herbacées, les espèces ayant une architecture compacte sont souvent auto-incompatibles alors que les espèces ayant une architecture clonale lâche (clones imbriqués) sont souvent auto-compatibles (Silander 1985). Certains auteurs suggèrent de ce fait que la clonalité pourrait agir chez les espèces à architecture compacte comme une force sélective pour le changement dans le régime de reproduction sexuée et la mise en place de systèmes promoteurs de fécondation croisée (ex: auto-incompatibilité, dïoécie) (Handel 1985). En contre partie, chez les espèces auto-incompatibles ou dïoiques, la propagation dans l'espace des individus grâce à la clonalité peut limiter le nombre d'individus génétiques dans une population et donc limiter la quantité d'allopollen disponible (Eriksson & Bremer 1993).

L'architecture clonale peut également être une contrainte pour le recrutement de nouveaux genets dans les populations à partir de la banque de graines. Chez beaucoup d'espèces présentant des genets à architecture compacte, ce recrutement ne peut généralement pas se faire au sein des genets adultes en raison de la compétition entre ramets et plantules, et nécessite donc l'existence de zones ouvertes (Eriksson & Ehrlén 1992, Eriksson 1997).

C'est dans ce contexte des relations existant entre fonctionnement et architecture clonale des genets et dynamique des populations clonales que ce situe cette étude sur *Scirpus maritimus*. Nous avons essayé de comprendre en quoi le **fonctionnement** et l'**architecture** clonale déterminent la façon dont un genet interagit avec son environnement et induisent des interactions entre clonalité et reproduction sexuée.

Nous avons tenté de déterminer comment la présence de connexions physiologiques entre les ramets (rhizomes) et l'existence d'une importante variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets peuvent intervenir dans le maintien et la colonisation locale des genets dans le milieu. Nous avons également envisagé quelles pouvaient être les conséquences de l'expansion spatiale des genets sur la compétition entre genets pour l'acquisition des ressources et sur leur fécondité.

IV. *Scirpus maritimus*: une macrophyte émergente clonale

1: les plantes aquatiques émergentes

Chez les plantes aquatiques émergentes, qui comptent beaucoup d'espèces clonales (ex: *Scirpus* spp., *Phragmites* spp., *Typha* spp., *Juncus* spp.), la germination des graines et la survie des plantules requièrent généralement des conditions abiotiques et biotiques strictes qui limitent le recrutement dans des fenêtres temporelles et spatiales bien définies (Eriksson 1992, Eriksson & Ehrlén 1992, voir annexe 1). Généralement, ce recrutement a lieu dans des zones peu profondes et ouvertes, sur les bordures des marais ou dans les zones temporairement exondées (Grace 1984, Keddy & Ellis 1985). Chez ces espèces émergentes, le procédé de multiplication végétative le plus répandu est la formation d'organes végétatifs souterrains, en particulier de rhizomes (Grace 1993). Ce mode de clonalité permet d'assurer le stockage de réserves, l'encrage dans le substrat, l'acquisition des ressources, la protection contre les dommages et, dans une moindre mesure, la multiplication et la dispersion. Ainsi, la clonalité a été identifiée chez plusieurs espèces d'émergentes comme un facteur déterminant de la dynamique des populations (Shumway & Bertness 1992, Brewer & Bertness 1996, annexe 1).

2. Scirpus maritimus

Scirpus maritimus est une Cypéracée fréquemment rencontrée dans les marais peu profonds, pas ou peu salé, aussi bien en Europe, qu'en Amérique du nord, Asie ou Afrique (Kantrud 1996). En Europe, l'importante variabilité morphologique des inflorescences (épillets sessiles *vs* pédonculés, épillets longs *vs* courts), des akènes (trigones *vs* plan-convexe), du nombre de styles par ovaire (2 *vs* 3) a conduit certains auteurs à différencier plusieurs variétés à l'intérieur de l'espèce (voir Krahulec et al. 1996 pour revue). D'autres auteurs considèrent ces variations comme induites par l'environnement ou intra-individuelles et donc sans valeur taxonomique (Norlindh 1972). En Camargue, Molinier et Tallon (1974) ont constaté une certaine variabilité intra et interpopulation de la longueur des épillets et des pédoncules. Cependant devant le peu de données disponibles dans cette région, nous considérerons dans cette étude l'espèce *Scirpus maritimus* sans faire de distinction de variétés.

- <u>Reproduction sexuée et recrutement</u>

Au printemps, certaines tiges forment une inflorescence apicale aérienne, composée de plusieurs épillets regroupant des fleurs hermaphrodites, protogynes. Le déterminisme qui

conduit certaines tiges à porter des inflorescences et d'autres à rester végétatives, ainsi que le régime de reproduction (allogamie ou autogamie) de cette espèce ne sont pas connus. La pollinisation qui a lieu au printemps est anémophile. Les graines (des akènes pour être précis) arrivent à maturité au cours de l'été. La dispersion des graines est essentiellement assurée par l'eau et probablement dans une moindre mesure par les animaux (Kantrud 1996). Elles sont entourées d'un manteau temporairement imperméable qui leur permet de flotter plusieurs mois à la surface de l'eau et ainsi d'être dispersées sur de longues distances. Après un certain passé dans l'eau, le manteau des graines se détériore, les graines s'imbibent d'eau et coulent. Elles peuvent alors rester en dormance dans la banque de graines plusieurs années (Clevering 1995).

La nécessité de lumière et de fluctuations de température pour déclencher la germination des graines indique que cette espèce ne peut germer que dans des zones peu profondes, c'est à dire les bordures de marais ou les zones de vasières périodiquement exondées (Clevering 1995). Le développement des plantules ne peut se réaliser que sous un faible niveau d'eau (< 10 cm) (Clevering 1995). De plus, la mortalité de plantules constatée au milieu des peuplements matures indique que la compétition avec les adultes limite le recrutement à des zones ouvertes (Lieffers & Shay 1982 a).

- Multiplication végétative (voir Introduction Partie 1 pour description détaillée)

La tige issue de la germination d'une graine émet à sa base de 1 à 3 rhizomes, à l'origine de chaînes branchées tiges. Une plantule peut ainsi former en une seule saison de croissance plusieurs dizaines de tiges connectées par les rhizomes. La base de l'ensemble des tiges formées pendant la saison de croissance se renfle pour former un tubercule portant 1 à 3 bourgeons. A la fin de l'été, la partie aérienne des tiges meurt, alors que les tubercules et les rhizomes persistent plusieurs années dans le sol. Au printemps, la levée de dormance des bourgeons portés par les tubercules hivernant permet la formation de nouvelles tiges qui émettent à nouveau 1 à 3 rhizomes, recommençant ainsi un nouveau cycle végétatif (Fig. 1)

- Intérêt écologique

Sur le pourtour méditerranéen, *S. maritimus* est une des espèces dominantes des marais temporaires, caractérisés par un assec estival (Molinier et Tallon 1974). Son statut d'espèce dominante lui confère un rôle écologique important dans les marais temporaires. Elle contribue à structurer la végétation émergente et émergée et par conséquent les habitats pour la faune (Mesléard et al.1995). De plus, elle constitue une ressource alimentaire importante pour la

faune sauvage et domestique. Ces tubercules sont abondamment consommés par les oies cendrées (Amat et al. 1991) et les sangliers (Dardaillon 1984), et ses graines par des canards granivores (Pirot et al. 1984, Tamisier 1971). Les tiges vertes sont également pâturées par les herbivores domestiques (Duncan 1992). La connaissance de la biologie et de dynamique de cette espèce représente donc un intérêt pour la gestion et la réhabilitation des marais temporaires en zones humides méditerranéennes.

V. Objectifs et plan de la thèse

Les objectifs de cette étude sont de:

1. Caractériser les traits propres au fonctionnement et à l'architecture clonale chez *S.maritimus*.
2. Essayer de définir le rôle du fonctionnement et de l'architecture clonale dans la réponse des genets aux principales contraintes du milieu (perturbations, régime hydrique, compétition intraspécifique) et d'étudier l'interaction entre croissance clonale et reproduction sexuée.

Dans la première partie de cette étude, consacrée au **fonctionnement clonal,** nous étudierons deux traits du fonctionnement clonal de *S. maritimus*: le maintien de connexions physiologiques entre les ramets et la variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets.

Dans le premier chapitre, nous étudierons le rôle de l'intégration physiologique (1) dans la propagation spatiale des genets et (2) dans la variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets générée au cours de la croissance clonale.

Dans le deuxième chapitre, nous tenterons de déterminer le rôle du maintien de connexions physiologiques entre les tubercules hivernants et de la variabilité de la taille des tubercules pour le maintien des genets dans le milieu.

Dans la deuxième partie, consacrée à **l'architecture clonale,** nous étudierons l'impact de la croissance clonale, en terme de densité de ramets et de propagation spatiale des genets, sur la compétition pour l'acquisition des ressources et la fécondité des genets.

Dans le premier chapitre, nous comparerons la régulation de la croissance clonale en situation de compétition intra-clonale et inter-clonale.

Dans le deuxième chapitre, nous étudierons l'impact de la propagation spatiale des genets sur leur fécondité.

Première partie:

Fonctionnement clonal

Introduction

Pour se reproduire par voie sexuée ou végétative ou pour persister dans le milieu, un genet doit réaliser au cours de sa vie différentes fonctions: l'acquisition des ressources (photosynthèse, capture des nutriments dans le sol), la production de gamètes, graines ou fruits, l'émission d'organes spécialisés dans la multiplication végétative (ex: rhizomes, stolons), le stockage de réserves dans des organes spécialisés (ex: tubercules, bulbes...).

Dans cette première partie, nous regrouperons sous le terme **'fonctionnement clonal'** la réalisation, au sein de la « population » de ramets que constitue un genet, des différentes fonctions (acquisition des ressources, reproduction végétative et sexuée, stockage de réserves) qui celui-ci doit mener à bien pour s'amplifier par voie sexuée ou végétative, ou bien persister.

Deux composantes principales des traits d'histoire de vie liés au fonctionnement clonal seront considérées:

- La présence de connexions physiologiques entre les ramets
- Le degré de variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets.

L'objectif de cette première partie est de déterminer l'implication de ces deux composantes du fonctionnement clonal dans la régulation des populations de *S. maritimus*. Pour cela, nous étudierons comment ses 2 composantes sont impliquées d'une part dans la propagation spatiale des genets et d'autre part dans leur persistance grâce au stockage de réserves.

Fonctionnement clonal chez *Scirpus maritimus*

Le fonctionnement clonal de *Scirpus maritimus* se caractérise à la fois par (1) **une importante variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets** et part (2) **l'existence de connexions physiologiques entre les ramets** (voir Fig.1).

(1) Chez *Scirpus maritimus*, les premiers ramets, issus directement du démarrage végétatif des tubercules hivernants portent généralement une **inflorescence** (Lieffers & Shay 1981). Ces ramets émettent de 1 à 3 rhizomes le long desquels plusieurs **ramets végétatifs** (sans inflorescence) peuvent être successivement formés, produisant à leur tour 1 à 3 rhizomes. Zákravský et Hroudová (1994) ont constaté que les rhizomes se terminent souvent par un

ramet composé uniquement d'un tubercule sans partie aérienne (voir Fig. 1). L'ensemble de ces observations montre l'existence d'une importante **variabilité fonctionnelle** entre les ramets (ramets sexués *vs* ramets végétatifs *vs* tubercules sans parties aériennes) qui semble être programmée dans le développement du genet, les différents types de ramets se succédant le long des rhizomes.

De plus, **la taille des tubercules formés à la base des tiges augmente au fur et à mesure des itérations** (les tubercules placés à l'extrémité apicale des rhizomes sont plus gros que les tubercules placés en position basale) (Lieffers & Shay 1982, Clevering 1995), générant ainsi une importante **variabilité morphologique** des tubercules (voir Fig.1).

(2) L'ensemble des ramets formés au cours de la saison de croissance sont **connectés entre eux par des rhizomes qui persistent plusieurs années dans le sol**. Zákravský et Hroudová (1994) ont cependant estimé qu'ils ne devaient plus être physiologiquement fonctionnels (c'est à dire permettre le transport d'eau, ressources ou hormones) après la saison de croissance pendant laquelle ils ont été formés.

La partie aérienne des ramets est annuelle et disparaît à l'automne. Les seules parties qui restent dans le sol pendant l'hiver sont donc les tubercules, connectés par les rhizomes, qui peuvent persister plusieurs années (souvent plus de 5 ans, Zákravský & Hroudová 1994). Par conséquent, les générations successives de tubercules formés chaque année s'accumulent dans le sol. S'il n'y a pas de perturbation-prédation, après quelques années de vie, un genet est donc essentiellement constitué (en terme de nombre et de biomasse) de tubercules souterrains connectés entre eux par des rhizomes (Hroudová & Zákravský 1995). Les tiges vertes que l'on peut voir dans les marais pendant la saison de croissance ne représentent donc que la « partie émergée de l'iceberg ».

Au printemps, les tubercules hivernants de *S. maritimus* peuvent avoir 2 « comportements »: ils restent dormants ou bien s'expriment (levée de dormance d'un des 3 bourgeons qu'ils portent et production d'un ramet érigé) (voir fig.1). La dormance des tubercules de *S. maritimus* est un phénomène mal connu. On sait seulement que cette dormance peut durer plusieurs années (Zákravský & Hroudová 1994, Hroudová & Zákravský 1995).

Questions posées

Dans le premier chapitre, nous étudierons le rôle de l'intégration physiologique dans la propagation végétative des genets en posant la question suivante:
(1) La présence de connexions physiologiques entre les ramets est-elle un avantage ou une contrainte pour la propagation végétative des genets de *S. maritimus?*

Nous étudierons ensuite plus succinctement la variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets, en amenant quelques premiers éléments de réponse à la question suivante:
(2) La variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets de *S. maritimus* est-elle un trait fixé (programmé dans le développement du genet) ou bien plastique (inductible par les conditions environnementales)?

Afin d'aborder ces questions (1) Nous avons tout d'abord mesuré l'effet de la section artificielle des rhizomes sur la colonisation spatiale des genets (2) Nous avons ensuite quantifié la variabilité morphologique des ramets dans une population naturelle et en condition de culture expérimentale à 2 niveaux de densité.

Le deuxième chapitre sera consacré à l'étude du rôle de l'intégration physiologique et de la variabilité de la taille des tubercules dans la persistance des genets. Nous poserons les questions suivantes:
(1) L'intégration physiologique est-elle maintenue entre les tubercules hivernants? Si c'est le cas, est-elle impliquée dans la gestion des réserves stockées dans les tubercules?
(2) La variabilité de la taille des tubercules a-t-elle un effet sur leur contribution pour les générations futures de ramets?

Pour aborder ces questions, nous avons expérimentalement mesuré (1) l'effet de la section artificielle des rhizomes sur le démarrage végétatif des tubercules au printemps et (2) l'effet de la taille des tubercules sur le nombre et la biomasse de ramets produits à partir de leur démarrage. Nous avons ensuite mesuré dans des populations naturelles la taille et le taux de démarrage végétatif des tubercules hivernants.

Chapitre 1.1

Intégration physiologique, propagation spatiale et variabilité morphologique des ramets

I. Intégration physiologique et propagation spatiale

La présence de connexions physiologiques entre les ramets peut représenter un coût ou au contraire un bénéfice pour la propagation spatiale des genets (voir Tableau 1 de l'Introduction). L'émission de rhizomes ou stolons permet de coloniser de nouveaux habitats et ainsi de capturer de nouvelles ressources (concept de « *foraging strategy* », de Kroon 1995 pour revue). Au contraire, la production localisée d'un nombre important de tiges peut être un moyen de consolider la présence d'un genet dans une zone riche en nutriments et ainsi, en saturant l'espace disponible, d'empêcher d'autres individus de s'y installer (stratégie « phalanx » Lovett Doust 1981). De plus, la dispersion dans l'espace des ramets peut être un moyen de diminuer les risques de mortalité d'un genet quand l'impact des agents de mortalité est très localisé (ex: perturbations, défoliations par insectes, pathogènes) (Cook 1979, Eriksson 1988, Eriksson & Jerling 1990). Ainsi, la relation entre intégration physiologique et propagation spatiale est importante car la capacité de colonisation spatiale que confère la clonalité aux individus est un paramètre déterminant pour leur survie.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de déterminer si l'intégration physiologique entre les ramets de *S. maritimus* favorise la propagation spatiale des genets ou au contraire si la présence de connexions physiologiques limite la dispersion des ramets.

1. Méthode

Nous avons comparé la croissance de clones intacts (n = 4) et de clones donc les rhizomes ont été artificiellement sectionnés au fur et à mesure de la formation des ramets (n = 4). Ces huit clones ont été obtenus à partir d'un tubercule hivernant placé au printemps au centre d'un container (55 x 35 x 15 cm) rempli d'un mélange de sable et compost (4:1) maintenu saturé en eau pendant toute la durée de l'expérience. Afin d'éviter d'endommager les systèmes racinaires des ramets, les jeunes ramets se développant très prés d'un ramet existant n'ont pas été déconnectés. Entre 21 et 24 rhizomes ont été sectionnés pour chacun des 4 clones concernés. A la fin de la saison de croissance, des mesures ont été réalisées à l'échelle des ramets (nombre et poids sec des ramets, longueur des rhizomes non sectionnés) et à l'échelle des genets (distribution spatiale des tiges dans les containers).(voir annexe 2)

2. Principaux résultats et discussion

2.1. Variabilité de la taille des ramets

La section artificielle des rhizomes entraîne une modification profonde de l'architecture de *S. maritimus* en terme de nombre *versus* taille des ramets formés. Les clones artificiellement déconnectés ont produit autant de tiges par émission de rhizome que les clones intacts, mais le poids moyen des tubercules formés à la base de ces tiges est très nettement inférieur à celui des tiges connectées (Tableau 1). En revanche, les clones déconnectés ont produit deux fois plus de tiges axillaires que les clones intacts. Ces tiges résultent de la levée de dormance d'un des 3 bourgeons axillaires situés à la base des tiges formées par émission de rhizome (voir Fig. 1 introduction partie 1). Le poids moyen des tubercules à la base de ces tiges est toujours très faible et ne diffère pas significativement entre les 2 traitements (Tableau 1).

Cette double réponse à la section artificielle des rhizomes (diminution de la taille des tubercules formés à la base des tiges et levée de dormance des bourgeons axillaires des tiges) permet de penser que l'augmentation successive de la taille des tubercules au fur et à mesure des itérations de tiges est le résultat d'un important flux acropétale de ressources le long des rhizomes (des tiges anciennes vers les nouvelles tiges). Les jeunes tiges, formées à l'extrémité des rhizomes (position apicale) sont des puits de ressources qui maintiennent dormants les bourgeons axillaires des tiges plus anciennes (position basale) et bénéficient des ressources captées par celles-ci. L'intégration physiologique, en permettant un flux uni-directionnel de ressources le long des rhizomes, semble donc être à l'origine de la variabilité de la taille des tubercules observée chez *S. maritimus*.

Cette variabilité de la taille des tubercules chez *S. maritimus* est intéressante car elle diffère radicalement des prédictions faites par plusieurs auteurs (Hutchings 1979, Schmid & Bazzaz 1987, Hutchings & Mogie 1990) qui suggèrent qu'une forte intégration physiologique, en permettant la répartition des ressources entres les différents ramets, résulte en une relative égalité de la taille des ramets. L'idée consistant à considérer que l'intégration physiologique permet de tamponner la variabilité spatiale du milieu en répartissant équitablement les ressources entre les différents ramets d'un genet (*'myth of environmental averaging in clonal plants'* Hutchings et Price 1993) a été récemment contredite par différentes études montrant une importante variabilité morphologique et fonctionnelle entre des ramets connectés se développant en milieu spatialement hétérogène (pour revue: Hutchings & Price 1993, Alpert & Stuefer 1997). *S. maritimus* représente, à notre connaissance, le premier exemple documenté

montrant que même en l'absence de variabilité spatiale du milieu, l'intégration physiologique peut **à elle seule** engendrer une forte variabilité de la taille de ramets (voir annexe2).

2.2. Occupation de l'espace par les clones

La variabilité de la taille des ramets de *S. maritimus* a des conséquences importantes sur la capacité de colonisation spatiale des genets. En effet, la modification de la taille et du nombre des tiges formées par la section artificielle des rhizomes s'accompagne d'un important changement de l'architecture des clones en terme de distribution des tiges dans l'espace. Les clones intacts occupent uniformément tout l'espace disponible sous forme de petits groupes de tiges (coefficient de dispersion: 1.5) (Fig. 1). En revanche, la diminution de la taille des tiges due à la déconnexion artificielle entraîne une diminution de leur capacité colonisatrice (longueur moyenne des rhizomes pour les tiges des clones intacts: 8.1 cm $\pm$ 0.8, n=4, des clones déconnectés: 4.0 cm $\pm$ 0.4, n=4). De ce fait, les clones déconnectés forment un seul groupe de tiges au centre du container (Coef. de dispersion: 3.1) dans lequel la densité de tiges est très élevée à cause de la faible longueur des rhizomes émis et de la production en grand nombre de tiges axillaires (Fig. 1).

Ce résultat montre que l'intégration physiologique est impliquée dans l'architecture des clones et ceci de deux façons. Premièrement, les connexions physiologiques permettent une inégale répartition des ressources entre les tiges et donc une inégale capacité de colonisation de ces tiges. Grâce au flux acropétale des ressources, l'augmentation régulière de la taille des tiges formées successivement en bout de chaîne permet d'augmenter leur capacité colonisatrice. Ainsi, l'intégration physiologique sert de « moteur » pour la propagation spatiale des clones en permettant à chaque nouvelle tige formée à l'extrémité d'un rhizome de produire un rhizome plus long et un nombre de ramets plus grand que la tige précédente. Deuxièmement, la présence de connexions physiologiques entre les ramets permet le maintien en dormance d'un stock de bourgeons axillaires. De ce fait, la section artificielle des rhizomes, c'est à dire la perte de l'intégration physiologique, qui entraîne la levée de dormance des bourgeons, se traduit par un changement brutal d'architecture clonale.

Chez certaines espèces, la fragmentation des clones peut avoir pour conséquence un 'relâchement' de l'architecture clonale, c'est à dire une plus grande dispersion des tiges (exemple: dispersion par l'eau des fragments de certaines plantes aquatiques, Grace 1993). Chez *S. maritimus* au contraire, la perte de l'intégration physiologique se traduit par un 'ressérage' de l'architecture clonale, c'est à dire une concentration locale des tiges. Ce

changement d'architecture pourrait être un moyen de récupération après les perturbations. En effet, les rhizomes de *S. maritimus* peuvent être endommagés et sectionnés par le piétinement des herbivores domestiques (chevaux, taureaux) qui pénètrent dans les marais pour consommer les tiges vertes (Duncan 1992). La levée de dormance des bourgeons axillaires à la base des tiges après ces perturbations pourrait permettre la production rapide et localisée de nouvelles tiges et ainsi favoriser la recolonisation locale des zones perturbées. Le maintien, grâce aux connexions physiologiques, d'un stock de bourgeons dormants pouvant être recrutés après l'endommagement du réseau de rhizomes a déjà été mis en évidence chez *Carex bigelowii* (Jóndóttir & Callaghan 1988) et *Podophyllum peltatum* (de Kroon et al. 1991, Jóndóttir & Watson 1997). Notre étude illustre clairement l'importance écologique de cette stratégie en mettant en évidence la production locale de ramets après la déconnexion des rhizomes grâce à la levée de dormance des bourgeons axillaires.

II. Variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets

Nous avons vu dans la première partie de ce chapitre que les ramets de *S. maritimus* présentent une importante variabilité morphologique en terme de taille des tubercules formés à leur base. D'autres types de variabilité existent entre les ramets de *S. maritimus* (tiges sexuées *vs* végétatives, tiges *vs* tubercules sans partie aérienne) (voir introduction partie 1). Les observations réalisées lors de différentes études (Lieffers & Shay 1981 et 1982, Clevering 1995, Zákravský & Hroudová 1994) suggèrent que ces différents types de ramets ne sont pas répartis de façon aléatoire le long des rhizomes mais se succèdent selon l'ordre suivant: tiges fleuries, tiges végétatives, tubercules sans partie aérienne. Cependant, cet aspect du fonctionnement clonal chez *S. maritimus* n'a jusqu'à présent jamais fait l'objet d'étude particulière.

L'objectif de cette partie est de quantifier cette variabilité morphologique des ramets et d'essayer d'apporter quelques premiers éléments de réponse aux questions suivantes: (1) Cette variabilité est-elle ontogéniquement programmée dans le développement du genet ou bien est-elle induite par des facteurs environnementaux? (2) Quels peuvent être les conséquences écologiques de cette variabilité en terme de coût et bénéfice pour la croissance des genets?

1. Méthode

En septembre, nous avons déterminé la position occupée par les ramets (classés en 3 catégories fonctionnelles: tige sexuée, tige végétative et tubercule sans partie aérienne) le long de rhizomes produits pendant l'année et récoltés dans 3 échantillons de sols (20x20 cm) dans une population naturelle de la Tour du Valat (Manche Nord des Relongues) (voir annexe 3). La position des ramets le long des rhizomes a été définie en trois catégories: (1) ramet de rang 1: issu directement du démarrage d'un tubercule hivernant, (2) ramet intermédiaire: placé le long des rhizomes et (3) ramet terminal: placé à l'extrémité du rhizome. Les tiges axillaires constituaient une quatrième catégorie.

Nous avons ensuite réalisé les mêmes mesures sur des clones développés en condition contrôlée à deux niveaux de densité: (1) les 4 clones intacts (dont les rhizomes n'ont pas été artificiellement sectionnés) développés à partir d'un tubercule hivernant dans les containers (55 x 35 x 15 cm) et (2) 4 clones également obtenus à partir du démarrage d'un tubercule hivernant placé dans un pot (diamètre: 18 cm, hauteur 14 cm). Tous ces tubercules hivernants avaient été collectés dans la même population naturelle (Manche Nord des Relongues) (voir annexe 3).

2. Principaux résultats et discussion

2.1. La reproduction sexuée

En milieu naturel, toutes les tiges sexuées sont placées en première position sur les rhizomes, c'est à dire sont directement issues d'un tubercule hivernant (Fig. 2). En revanche, sur les clones développés en containers ou en pots, des inflorescences ont été formées aussi bien par des tiges de rang 1 que par des tiges en position intermédiaire ou finale le long des rhizomes, et même par certaines tiges axillaires (Fig. 2). La formation d'une inflorescence n'est donc pas déterminée ontogéniquement selon la place des tiges le long du rhizome mais semble être induite par un (ou plusieurs) facteur environnemental. La photopériode ne semble pas être ce facteur. En effet, les bourgeons floraux sont apparus début mai dans la population naturelle, début juin dans les pots et en juillet dans les containers. Par contre, les premiers bourgeons floraux sont apparus alors que la densité de tiges était comparable aussi bien en milieu naturel (473 ± 45 tiges/m², $n = 3$) que dans les pots (495 ± 35 tiges/m², $n = 5$) et containers (357 ± 39 tiges/m², $n = 4$) ($ddl = 2$, $F = 3.8$, $p>0.05$). Les facteurs environnementaux, tels que le régime

(Lieffers & Shay 1981, 1982). Sur le domaine de la Tour du Valat, les populations en milieux modérément salés et peu profonds ont un taux de floraison supérieur à celui des populations en milieux doux et relativement profonds (Encadré 1).

L'induction des bourgeons floraux par des facteurs du milieu tels que la densité, ou le stress salin pourrait être un moyen d'optimiser la valeur sélective des genets en adaptant l'allocation des ressources dans la reproduction sexuée *versus* la propagation végétative en fonction du succès relatif des plantules *versus* des ramets selon les conditions du milieu (notion de « stratégie optimale », Sackville Hamilton et al. 1987, Harnett 1990, Reekie 1991). Dans un milieu défavorable à la croissance de *S. maritimus* (ex: stress salin), la production de graines pourrait être plus avantageuse que la production de ramets, en permettant d'échapper temporairement (dormance des graines) ou spatialement (dispersion des graines) aux conditions défavorables. De même, Abrahamson (1980) a posé comme hypothèse que la propagation végétative qui permet la colonisation rapide d'habitats favorables pourrait être positivement sélectionnée tant que la densité de tiges est faible, alors que la production de graines serait avantageuse à forte densité, pour permettre la colonisation de nouveaux sites. Cependant, valider cette hypothèse nécessite au préalable de démontrer l'existence d'un compromis physiologique entre production de graines et production de ramets, ce qui n'a jusqu'à présent pas été réalisé chez *S. maritimus*.

2.2. L'assimilation photosynthétique et le stockage des réserves

Dans la population naturelle comme pour les clones développés en conditions contrôlées, les tiges végétatives sont positionnées principalement en position intermédiaire sur les rhizomes alors que les tubercules sans partie aérienne sont presque toujours en position terminale (Fig.2). Au fur et à mesure des itérations de ramets le long des rhizomes, le ratio du poids du tubercule / des parties vertes de chaque ramet augmente (Lieffers & Shay 1982, Clevering 1995). Le stade ultime de cette modification de la morphologie des ramets est la formation de tubercules sans aucune partie aérienne à l'extrémité des rhizomes. Cette modification des ramets observée aussi bien en milieu naturel (Lieffers & Shay 1982) qu'en culture expérimentale (Clevering 1995) semble être programmée. L'expérience de section artificielle des rhizomes présentée dans la première partie de ce chapitre montre que l'augmentation successive de la taille des tubercules est due à un transfert acropétale des ressources. Concernant la diminution des parties aériennes, il serait intéressant de tester séparément les effets de la position des ramets sur le rhizome et de la photopériode pour

déterminer si cette modification est programmée ou bien induite. En effet, les derniers ramets formés sur les rhizomes sont également les derniers ramets formés pendant la saison de croissance. La durée du jour au moment de la formation des premiers et des derniers ramets le long des rhizomes est donc différente.

La diminution de l'allocation de biomasse dans les parties vertes au fur et à mesure des itérations pourrait s'expliquer par l'augmentation du rapport coût / bénéfice de la production de parties vertes au fur et à mesure de l'avancement de la saison de croissance. Les parties vertes des premières tiges, formées au début du printemps, peuvent être utilisées pendant toute la saison de croissance. En revanche, pour les ramets formés en fin d'été, l'investissement dans la production de parties vertes pourrait être moins avantageux car celles-ci ne peuvent être fonctionnelles que sur une courte durée. Ainsi, la spécialisation des premiers ramets formés dans l'assimilation chlorophyllienne alors que les derniers assurent principalement le stockage des réserves pourrait être avantageuse à l'échelle du genet en maximisant l'allocation des ressources entre production de parties vertes et stockage de réserves.

Cette spécialisation requière la présence de connexions physiologiques entre les ramets qui permettent le transport des assimilats des premiers ramets (ramets « assimilateurs ») vers les derniers ramets (ramets « stockeurs »). Chez *S. maritimus*, ce transfert acropétale des ressources ne se traduit pas seulement dans la formation de tubercules aussi gros à la fin qu'au début des rhizomes (malgré la plus faible capacité d'assimilation des derniers ramets), mais résulte dans la formation de tubercules **de plus en plus gros au fur et à mesure des itérations**. Cette augmentation de la taille des tubercules peut s'expliquer par l'effet additionnel de la translocation acropétale de ressources réalisée par toutes les tiges placées le long des rhizomes.

III. Conclusion

Le maintien de connexions physiologique entre les ramets est un trait d'histoire de vie très important chez *S. maritimus* car il est impliqué dans différents aspects de la croissance clonale.

Tout d'abord, l'intégration physiologique favorise la colonisation de l'espace en permettant l'augmentation successive de la taille des ramets placés à l'extrémité des rhizomes, et donc de leur capacité colonisatrice. Les connexions physiologiques permettent également le

maintien en dormance des bourgeons axillaires à la base des tiges pouvant être recrutés après des perturbations et permettre ainsi une recolonisation locale des zones perturbées. Ainsi, les résultats de ce chapitre montre que le fonctionnement clonal, et en particulier le degré d'intégration physiologique entre les ramets, est intimement lié à l'architecture clonale des genets. L'impact de l'architecture clonal sur la dynamique des populations de *S. maritimus* sera abordé dans la deuxième partie de cette thèse.

D'autre part l'intégration physiologique permet de générer une variabilité entre les ramets d'un même genet. Cette variabilité peut être fonctionnelle, comme part exemple la spécialisation de ramets dans l'assimilation chlorophyllienne *versus* le stockage des réserves qui n'est possible que grâce à la présence de connexions physiologiques entre les deux types. Cette «division du travail» entre les ramets d'un même genet pourrait être un moyen d'optimiser la réalisation de ces deux fonctions physiologiques.

L'intégration permet également de générer une variation morphologique des ramets en terme de taille des tubercules formés. Cette inégale répartition des réserves entre les différents tubercules formés pourrait avoir des conséquences importantes pour la persistance des genets dans les marais peu profonds présentant d'importantes fluctuations du niveau d'eau. Cet aspect du fonctionnement clonal chez *S. maritimus* sera développé dans le prochain chapitre.

Chapitre 1.2

Rôle de l'intégration physiologique et de la taille des tubercules dans la persistance des genets dans le milieu

I. Introduction

Chez *S. maritimus*, la partie aérienne de toutes les tiges formées pendant une saison de croissance disparaît à la fin de l'été. Par conséquent, la survie des genets après leur première année de vie dépend entièrement du devenir des tubercules qui persistent dans le sol. Peu de connaissances existe sur le fonctionnement du stock de tubercules accumulés au fur et à mesure des années de croissance, et plusieurs questions restent sans réponse:

- Les rhizomes connectant les tubercules, qui persistent également plusieurs années dans le sol, sont-ils encore physiologiquement fonctionnels après la première année? En d'autres termes, les tubercules présents dans le sol sont-ils physiquement connectés entre eux mais physiologiquement indépendants les uns des autres, ou bien constituent-ils un réseau physiologiquement intégré?

- Pourquoi certains tubercules démarrent au printemps suivant leur formation alors que d'autres peuvent rester dormants plusieurs années?

- La taille très variable des tubercules a-t-elle un effet sur le succès de leur démarrage végétatif et leur contribution dans les générations futures de ramets?

L'objectif de ce chapitre est de répondre à ces différentes questions afin de mieux comprendre le fonctionnement clonal de *S. maritimus* et d'essayer de déterminer en quoi ce fonctionnement favorise la persistance des genets dans le milieu.

II. Méthodes

A l'automne 1995, 34 séries de tubercules produits pendant la saison de croissance 1995 ont été collectées dans une population de la réserve de la Tour du Valat (voir annexe 2). Ces séries étaient composées de 3 tubercules successivement formés le long d'un rhizome (respectivement de rang 1, 2 et 3). En avril 1996, 17 séries intactes et 17 séries pour lesquelles le rhizome connectant les 3 tubercules avait été préalablement sectionné ont été placées dans des pots en plein air. Le nombre de tubercules ayant démarré a été compté tous les 15 jours. En septembre, le poids sec des 3 tubercules de chaque série (très fortement corrélé au poids frais avant le démarrage, voir annexe 2), ainsi que la hauteur du premier ramet émis, le nombre de ramets et le poids sec total produit à partir de chaque tubercule ayant démarré ont été

mesurés. En raison d'une panne d'arrosage à la fin de l'expérience, la production de 7 des 17 séries de tubercules déconnectés n'a pu être mesurée à la fin de l'expérience.

Afin de compléter les résultats obtenus en conditions expérimentales, des mesures ont été réalisées en septembre 1996 dans 8 populations situées sur le domaine de la Tour du Valat (voir encadré 1 chapitre 1.1). Quatre de ces populations étaient implantées dans des marais relativement 'profonds' (niveau d'eau moyen au début d'avril 1996: 55 cm +/- 21) et les quatre autres dans des marais 'peu profonds' (niveau d'eau au début d'avril 1996: 31 cm +/- 9). Dans chaque population, les parties souterraines ont été prélevées dans 3 quadrats de 20 cm de côté. Dans chaque quadrat, le nombre et le poids des tubercules restés en dormance, et de ceux qui ont démarré au printemps 1996 a été mesuré.

III. Résultats et Discussion

1. Section artificielle des rhizomes connectant les tubercules hivernants

Dans les séries intactes, tous les tubercules de rang 3 ont démarré, alors que 4 des 17 tubercules de rang 2 et 13 des 17 tubercules de rang 1 sont restés dormants (Fig.1). La section artificielle des rhizomes a entraîné la levée de dormance de tous les tubercules de rang 1 et 2 (Fig.1). Ce résultat démontre la fonctionnalité physiologique des rhizomes connectant des tubercules d'un an d'âge. Ces connexions physiologiques permettent la dominance apicale des tubercules de rang le plus élevé (tubercules les plus gros, en position apicale) sur les tubercules de plus faible rang qui restent dormants (tubercules les plus petits, en position basale).

Le poids des tubercules déconnectés, corrélé à la quantité de réserves qu'ils contiennent (Clevering 1995), détermine la longueur de la première tige émise, le nombre et le poids sec total de ramets produits (Fig.2). Cependant, cette relation est moins significative quand les tubercules sont connectés (séries intactes) (Fig.2). Dans ce cas, la production de nouveaux ramets à partir des tubercules ne dépend pas seulement de leur poids mais également des tubercules qui les entourent. En effet, pour les 11 séries intactes dans lesquelles le tubercule de rang 2 et celui de rang 3 ont démarré, les résidus (calculés entre la valeur mesurée et la valeur attendue en fonction du poids de chaque tubercule) du nombre et du poids total de ramets produit par le tubercule de rang 2 et de rang 3 sont inversement proportionnels (Fig.3).

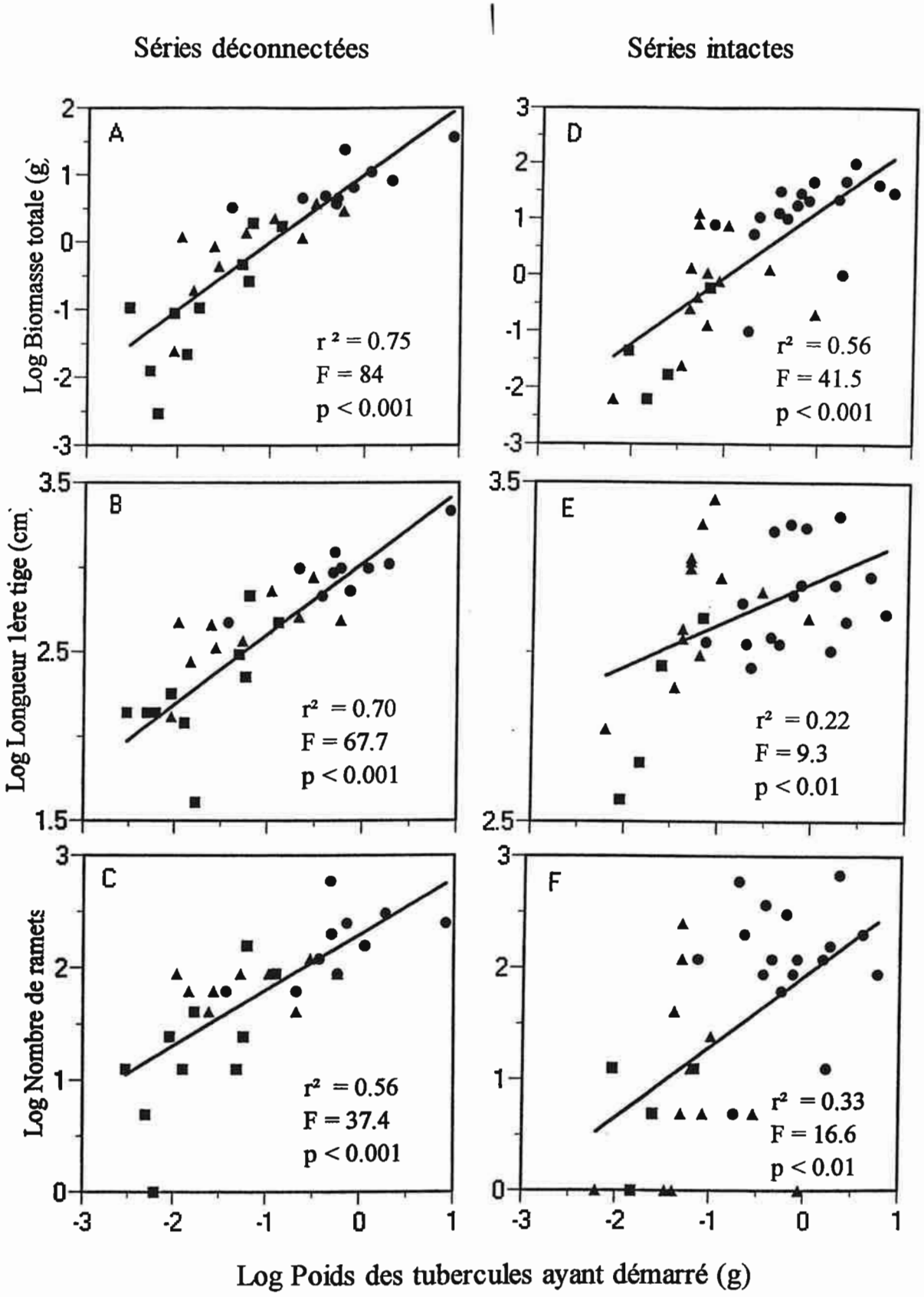


Figure 2: Relation entre le logarithme du poids des tubercules ayant démarré et le logarithme de la biomasse totale produite, de la longueur de la première tige émise et du nombre total de ramets produits, pour les séries déconnectées (n = 30) et les séries intactes (n = 34). Les carrés, triangles et ronds représentent respectivement les tubercules ayant démarré de rang 1, 2 et 3.

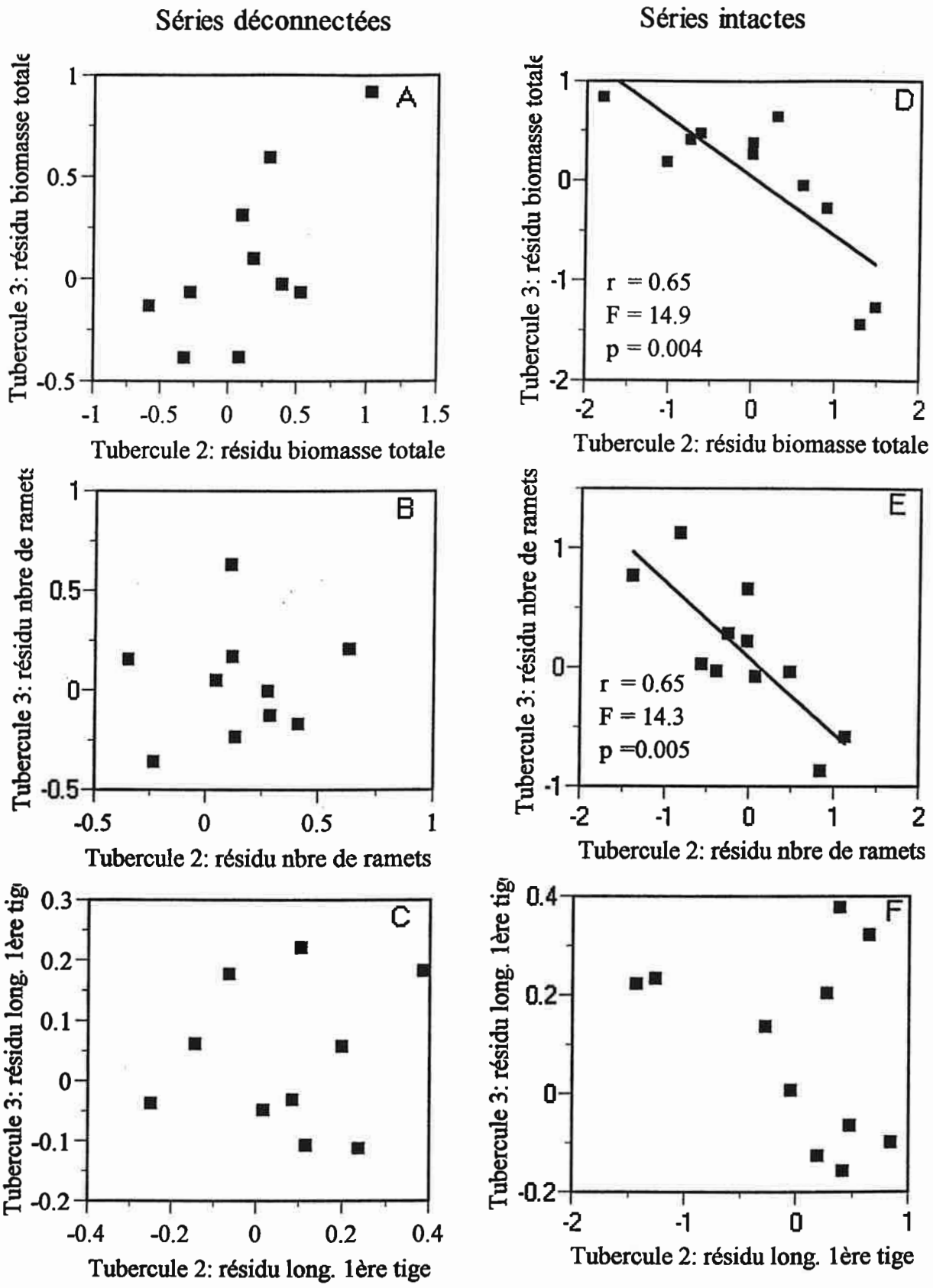


Figure 3. Relation entre le résidu de la biomasse totale produite, du nombre total de ramets produits et de la longueur de la première tige (calculé respectivement à partir des régressions linéaires de la fig. 2) pour le tubercule de rang 2 et celui de rag 3). Cette relation a été calculée pour les 10 séries déconnectées et les 11 séries intactes pour lesquelles le tubercule de rang 2 et celui de rang 3 avait démarré alors que celui de rang 1 était resté dormant.

En d'autres termes, quand un tubercule a produit plus de ramets que le nombre attendu en fonction de son poids, le tubercule auquel il était connecté a produit moins de ramets que le nombre attendu connaissant son poids.

La biomasse totale de ramets produite par les séries intactes est significativement mieux expliquée par le poids des tubercules qui se sont exprimés et celui des tubercules restés dormants (régression multiple à 2 facteurs: $r^2 = 0.72$, $n = 17$, $p<0.001$) que part le seul poids des tubercules exprimés ($r^2 = 0.55$, $n = 17$, $p = 0.001$). Ainsi, les connexions physiologiques entre les tubercules pourraient permettre des échanges de réserves entre tubercules qui s'expriment et également un transfert de réserves des tubercules restés en dormance vers les tubercules qui s'expriment.

Chez *S. maritimus*, la photosynthèse des tiges sous l'eau est très limitée (Clevering et al. 1995) et de ce fait la survie des tiges émises au printemps n'est possible que si elles émergent de la surface de l'eau. Nous avons montré que la quantité de réserves stockées dans les tubercules détermine la longueur de la première tige émise au printemps. Ainsi, le niveau d'eau au printemps pourrait être un facteur de sélection de la taille des tubercules formés par les genets (Fig. A). Dans les marais peu profonds, dans lesquels *S. maritimus* est souvent l'espèce émergente dominante, le niveau d'eau au printemps est très variable d'une année sur l'autre car il dépend des conditions pluviométriques (voir encadré 1, niveaux d'eau en 1995 et 1996). L'inégale répartition des réserves entre les tubercules formés, et donc la variabilité morphologique que cela engendre, pourrait être un moyen de tamponner la variabilité temporelle du niveau d'eau. Le rôle de la variabilité morphologique des ramets pour la survie de genets se développant dans des milieux présentant une forte variabilité temporelle a été suggéré par Eriksson & Jerling (1990) mais reste jusqu'à présent très peu documenté. La concentration des réserves dans les tubercules terminaux (ceux qui démarrent préférentiellement) plutôt qu'une équitable répartition entre tous les tubercules pourrait également augmenter les chances de survie des tiges émises. Un récent modèle théorique (Suzuki & Hutchings 1997), destiné à prédire l'allocation des réserves entre différentes tiges d'un même genet, a montré que la concentration des réserves dans la croissance de la tige ayant la plus grande quantité initiale de réserves (dans le cas de *S. maritimus*, la tige émise par le plus gros tubercule) pouvait permettre de maximiser la croissance des genets.

2. Démarrage de tubercules hivernants en milieu naturel

La densité de tubercules hivernants ainsi que la fraction de tubercules ayant démarré au printemps sont très variables d'une population à l'autre et ne sont pas significativement affectées par le type de marais ('profond' *versus* 'peu profond') (Tableau 1). En revanche, la fraction de tubercules hivernants qui a démarré au printemps, pouvant aller de 5 à 35% du nombre total de tubercules présents, est négativement corrélée à la densité de tubercules hivernants présents (Fig.4a). Ainsi, plus la densité de tubercules hivernants est élevée et plus la fraction de tubercules qui démarre est réduite. Les relations de dominance apicale entre les tubercules hivernants qui s'exercent grâce au maintien de rhizomes physiologiquement fonctionnels pourraient expliquer ce résultat. Plus la densité de tubercules augmente au fur et à mesure des années de croissance, plus la proportion de tubercules placés en position intermédiaire le long des rhizomes, et donc maintenus dormants par les tubercules en position terminale, est élevée. De ce fait, le maintien de connexions physiologiques entre les tubercules permettrait de limiter la densité de tubercules qui démarrent chaque année. Ainsi, la densité de tubercules qui démarre est indépendante de la densité de tubercules présents (Fig. 4b).

L'intégration physiologique a depuis longtemps été proposée comme un moyen de réguler au cours de la saison de croissance le recrutement de nouveaux ramets produits à partir des ramets existant et ainsi de limiter la compétition intra-spécifique et les risques de mortalité qui en découlent (Hutchings 1979, pour revue de Kroon 1993, Suzuki & Hutchings 1997). Les résultats obtenus chez *S. maritimus* suggèrent que l'intégration physiologique pourrait intervenir dans la régulation de la densité de ramets beaucoup plus tôt dans la saison de croissance, en limitant le nombre de ramets qui émergent chaque printemps à partir des organes souterrains.

Le poids moyen des tubercules prélevés dans les populations naturelles est significativement affecté par le type de marais ('profond' *versus* 'peu profond') et par la nature des tubercules (restés dormant, ayant démarré et produits) (Tableau 2).

Les tubercules restés dormant ont un poids moyen légèrement inférieur à celui des tubercules ayant démarré et des tubercules produits (Fig. 5). Ceci peut être dû au fait que les réserves stockées dans les tubercules dormants ont été déjà en partie utilisées lors de précédentes années de croissance. La position de ces 3 catégories de tubercules le long des rhizomes pourrait également expliquer cette différence: les tubercules restés dormant étant en grande partie des tubercules de rang initiaux ou intermédiaires, les tubercules ayant démarré

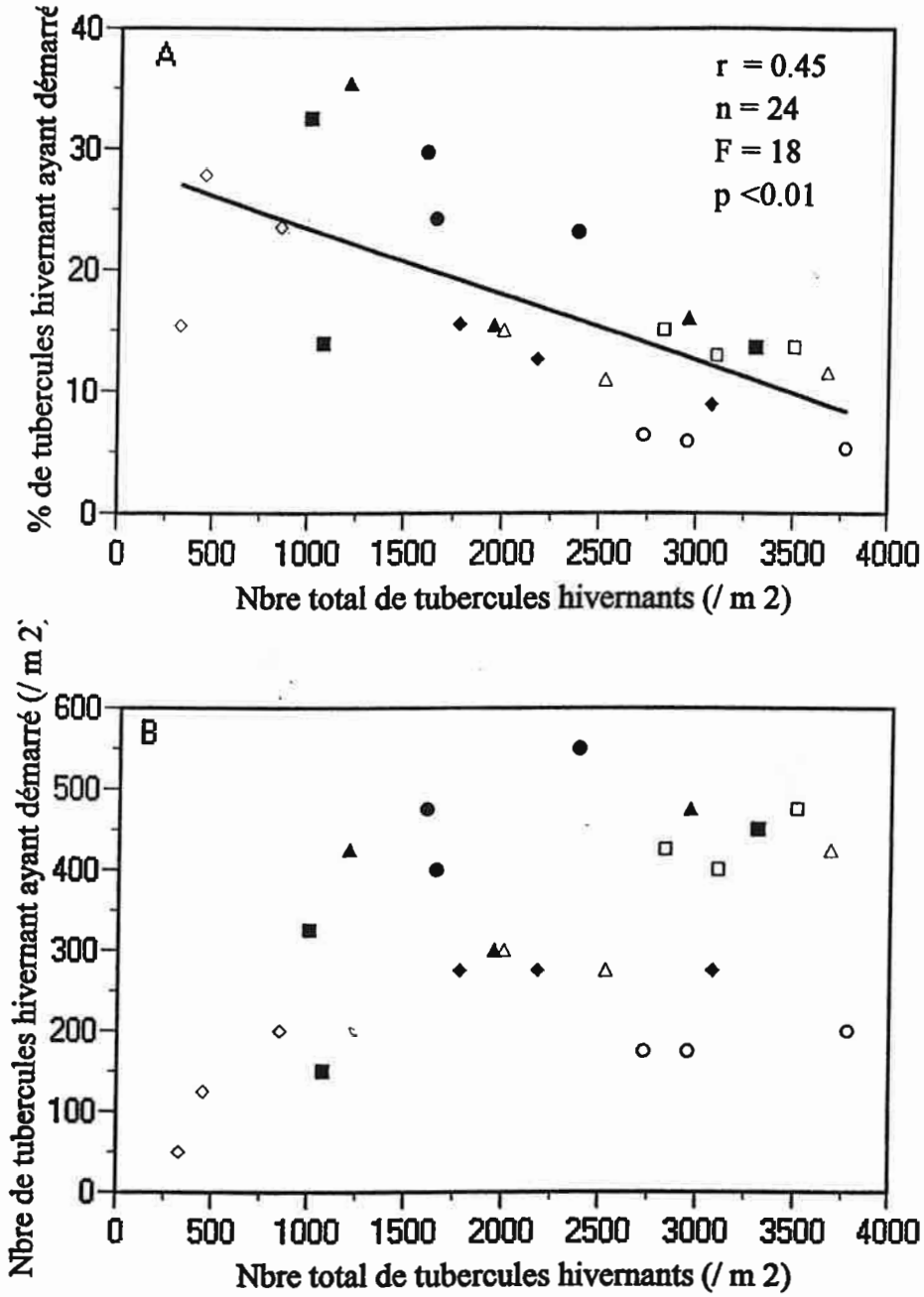


Figure 4. Relations entre la densité de tubercules hivernants et (A) le pourcentage de tubercules hivernants ayant démarré et (B) la densité de tubercules ayant démarré. Les symboles ouverts représentent les marais 'profonds' (carré, rond, triangle, lozange pour TA, RN, BS, BC) et les symboles fermés représentent les marais 'peu profonds' (carré, rond, triangle, lozange, pour CF, FA, MN, ET) (voir tableau 1).

étant pour la plupart des tubercules terminaux (les plus gros), et les tubercules produits constituant un mélange de tubercules initiaux, intermédiaires et terminaux.

Le poids moyen des tubercules est plus élevé dans les marais 'profonds' que dans les marais 'peu profonds' (Fig. 5). Cette différence ne pas être le résultat d'une plasticité de l'allocation des ressources en fonction du niveau d'eau. En effet, deux expériences de culture de *S. maritimus* à différents niveaux d'eau ont montré que la taille des tubercules produits n'est pas affectée par le niveau d'eau tant que celui-ci est faible ou modéré et a tendance à diminuer quand le niveau d'eau devient très élevé (Lieffers & Shay 1981, Clevering 1995). En revanche, la plus faible taille des tubercules dans les marais peu profonds pourrait être due à une plus courte saison de croissance, les marais peu profonds s'asséchant généralement plutôt dans la saison que les marais profonds, ou à une plus faible richesse nutritive du substrat. Une autre explication possible est que cette différence est le résultat de la pression de sélection exercée par le niveau d'eau sur la survie des tiges produites au printemps. Dans les milieux profonds, le niveau d'eau élevé peut être un facteur de sélection de genets capables de produire des tubercules de taille importante. Cette production de tubercules de taille importante peut être le résultat d'une plus forte translocation acropétale des ressources, qui accentue la différence de taille entre les premiers et les derniers tubercules formés, ou bien d'une modification de compromis entre le nombre *versus* la taille des tubercules produits. Cette hypothèse est supportée par l'existence en Europe de l'Est de deux variétés de *S. maritimus* présentant une différentiation d'habitat: *S. maritimus* var. *compactus* est présente dans les habitats peu profonds alors que *S. maritimus* var. *maritimus* forme des peuplements dans les marais plus profonds. Ces 2 variétés montrent des différences dans la taille et le nombre des tubercules: la variété se développant dans les marais peu profonds (var. *compactus*) produit des tubercules plus petits mais en nombre plus grand que la variété *maritimus* inféodée aux milieux plus profonds (Zákravský & Hroudová 1994, Hroudová & Zákravský 1995).

IV. Conclusion

L'importante variabilité de la taille des tubercules formés par *S. maritimus* pourrait jouer un rôle important dans le maintien des genets dans les marais temporaires. L'inégale répartition des réserves entre les différents tubercules pourrait en effet permettre de tamponner

l'imprédictabilité du niveau d'eau au printemps et d'augmenter les chances de survie des tiges émises à partir des réserves stockées dans les tubercules.

La deuxième caractéristique importante du fonctionnement clonal de *S. maritimus* est que les tubercules hivernants ne sont pas indépendants les uns des autres mais forment un réseau physiologiquement intégré. Le maintien de l'intégration physiologique entre ces tubercules permet de réguler le nombre de tubercules démarrant chaque printemps par le jeu des dominances apicales. Ce stock de tubercules maintenus dormant peut être recruté suite à la levée de dominance apicale après la destruction du réseau de rhizomes lors de la prédation des tubercules, et favoriser ainsi la recolonisation des zones prédatées. En effet, les tubercules de *S. maritimus*, riches en carbohydrates, sont abondamment consommés par les sangliers (Dardaillon 1984) et les oies cendrées hivernant sur le pourtour méditerranéen (Amat et al. 1991). La limitation du nombre de tiges émergentes à partir des parties souterraines pourrait également contribuer à réguler la densité de tiges. Chez les plantes clonales, qui forment souvent des peuplements monospécifiques denses, la régulation densité-dépendante du recrutement des tiges est un des paramètres importants de la dynamique des populations. Cet aspect sera abordé dans la deuxième partie de cette thèse.

Deuxième Partie:

Architecture clonale

Introduction

La première partie de cette étude, consacrée au fonctionnement clonal de *S. maritimus*, a mis en évidence l'importance de la clonalité dans le développement spatial des individus. En conditions contrôlées, plusieurs dizaines de nouveaux ramets peuvent être produits en une seule saison de croissance à partir d'un seul tubercule hivernant. Cette multiplication végétative a pour conséquences (1) une augmentation rapide de la densité de ramets et (2) une colonisation spatiale importante des genets.

Dans cette deuxième partie nous étudierons l'impact de l'augmentation de la densité des ramets et de la propagation spatiale des genets sur (1) **la compétition pour l'acquisition des ressources** et (2) **la fécondité des genets**.

(1) **La compétition** entre individus pour l'acquisition des ressources (lumière, eau, nutriments) est un facteur important de régulation des populations (Antonovics & Levin 1980). L'intensité de la compétition dépend du nombre et de la taille des individus présents (Silvertown 1982). Un point important est le fait que chez les espèces clonales, la structuration spatiale des genets détermine la nature de la compétition expérimentée par les ramets: **intra *versus* interclone**. Les ramets de genets à architecture compacte, formant des tâches monoclonales, ont une forte probabilité de rentrer en compétition avec d'autres ramets du même genet (compétition intraclonale). A l'inverse, dans une population formée de clones imbriqués, les ramets ont une plus forte probabilité d'entrer en compétition avec des ramets de différents genets (compétition interclonale) (Schmid & Bazzaz 1987). Ceci soulève une question que nous examinerons dans le chapitre 2.1:

Est-ce que le développement d'un genet diffère selon que ses ramets sont en compétition entre eux ou bien avec des ramets de genets différents?

Pour aborder cette question nous avons expérimentalement comparé les effets de différents niveaux de densité intraclonale et interclonale sur le nombre et la taille des ramets recrutés par les genets (voir chapitre 2.1).

(2) **La fécondité,** en terme de nombre de graines produites par individu, est un paramètre important pour la dynamique des populations (recrutement de nouveaux individus) mais également des ensembles de populations (dispersion des graines). Lors de la reproduction sexuée, le déploiement spatio-temporel des fleurs de chaque individu influe sur les patrons de

pollinisation au sein des populations. De ce fait, la structuration spatiale des genets, en terme de nombre de ramets simultanément en fleur mais également de leur disposition dans l'espace, interfère sur les probabilités d'auto-pollinisation et de pollinisation croisée entre genets (Handel 1985). Le nombre de genets, qui détermine le nombre de partenaires potentiels, est également un paramètre important pour le régime et le succès de la reproduction sexuée. Ce nombre peut être un facteur limitant de la fécondité chez les espèces pour lesquelles la fécondation ne peut être réalisée qu'entre individus différents (ex: auto-incompatibilité). Ainsi, dans des habitats de superficie généralement limitée, la grande superficie que peuvent potentiellement atteindre les genets grâce à la multiplication végétative soulève une question que nous examinerons dans le chapitre 2.2:

Est-ce que la clonalité, en permettant aux individus d'atteindre une grande taille, peut interférer sur leur fécondité?

Pour aborder cette question, nous avons tout d'abord déterminé si *S. maritimus* est auto-compatible ou auto-incompatible. Nous avons ensuite testé, dans 2 ensembles de populations locales, l'hypothèse que le taux de fécondité est limité par le nombre de genets présents lorsque les habitats sont de petite superficie (voir chapitre 2.2).

Chapitre 2.1

Régulation densité-dépendante de la croissance clonale: compétition interclonale *versus* intraclonale

I. Introduction

L'étude des mécanismes de régulation des populations représente un thème central en biologie des populations. Les différents facteurs susceptibles de réguler la taille des populations peuvent être considérés selon qu'ils sont ou non dépendants de la densité (nombre d'individus par unité de surface). Un facteur est considéré comme densité-dépendant si son effet sur le taux de mortalité ou de fécondité des individus varie en fonction de la densité (Antonovics & Levin 1980). Ainsi certains facteurs tels que les perturbations ou les conditions climatiques sont indépendants de la densité. En revanche, les effets de la compétition, de l'action de certains prédateurs, pathogènes ou parasites peuvent dépendre de la densité d'individus dans la population. La compétition intraspécifique a depuis longtemps été considérée comme un facteur important dans la régulation de la taille des populations (Clements 1929). Chez les plantes, organismes fixes, la compétition pour l'acquisition des ressources s'opère principalement entre individus proches dans l'espace. De ce fait, la compétition expérimentée par un individu dépend du nombre, de la taille et de la position de ses voisins. La densité représente donc une estimation du niveau moyen de compétition à l'intérieur d'une population, chaque individu subissant les effets de la compétition avec ses voisins et non pas à l'échelle de la population (Harper 1977).

De nombreuses monocultures expérimentales réalisées avec des espèces végétales non clonales, particulièrement des graminées et des arbres, ont permis d'édicter les lois qui régissent les relations entre la densité et la taille des individus (voir encadré 1). La loi du *"constant final yield"* permet d'exprimer le poids moyen de chaque individu en fonction de la densité quand la production de biomasse par unité de surface a atteint un optimum propre à chaque espèce dans un milieu donné (la capacité au champ ou *"carrying capacity"*) (Silvertown 1982). La deuxième loi, dite "loi de la puissance - 3/2" *("-3/2 power law")* décrit, pour les populations denses, "l'auto éclaircissement" *("self-thinning")* de la population, dû à la mortalité densité-dépendante d'une partie des individus, associé à l'augmentation du poids moyen des individus survivants (Yoda et al. 1963, Westoby 1984, voir encadré 1).

Plusieurs études expérimentales suggèrent que la compétition chez les plantes est asymétrique, c'est à dire que l'avantage compétitif d'un individu n'est ni indépendant ni proportionnel à sa taille (compétition symétrique) mais que les individus les plus grands ont un avantage surproportionné par rapport à leur taille (Schmitt et al. 1986, Weiner 1990). Dans ce cas, les plus grands individus hypothèquent la croissance des plus petits ce qui se traduit, à

l'échelle de la population, par une augmentation au cours du temps de la variabilité de la taille des individus et peut aboutir à la mort des individus les plus petits (Weiner & Thomas 1986). Cette asymétrie serait essentiellement due à la compétition aérienne pour la lumière, alors que la compétition souterraine des racines serait de type symétrique (Weiner 1986).

Beaucoup d'espèces clonales forment dans les milieux naturels des peuplements monospécifiques dans lesquels la densité élevée est susceptible d'entraîner une compétition intraspécifique importante pour l'acquisition des ressources (lumière, eau, nutriments) (pour revue de Kroon 1993). Cependant, l'application des lois édictées à partir des plantes non clonales à l'étude des plantes clonales reste difficile. Si de récentes études ont pu montrer des mortalités de ramets densité-dépendantes chez certaines espèces clonales (de Kroon & Kalliola 1995, Makita 1996), pour la grande majorité des espèces étudiées, l'existence de phénomènes de mortalité densité-dépendante des ramets n'a pu être démontrée (Hutchings 1979, Mook & van der Toorn 1982, Carlsson & Callaghan 1990). Plusieurs études chez des plantes clonales se développant en touffes denses ont mis en évidence un contrôle densité-dépendant du taux d'initiation des nouveaux ramets (Hutchings 1979, Briske & Butler 1989, de Kroon & Kwant 1991, Hartnett 1993). Cette régulation empêcherait d'atteindre de trop fortes densités et éviterait ainsi la mortalité densité-dépendante des ramets en ne dépassant pas la ligne puissance - 3/2. Ce contrôle permettrait ainsi de stabiliser la population de ramets quand elle atteint une combinaison poids-densité optimale (Hutchings 1979).

Selon l'architecture clonale des genets, la compétition intraspécifique peut s'appliquer à deux niveaux différents: interclone (entre des ramets de genets différents) et intraclone (entre les différents ramets d'un même genet). Pitelka (1984) a proposé deux scénarios théoriques de l'évitement de la mortalité densité-dépendante des ramets selon que la compétition est principalement intraclone (clones compacts) ou interclone (clones imbriqués) (Fig. 1). Chez les espèces se développant sous forme de clones discrets et purs, l'arrêt du recrutement des ramets stabiliserait la densité juste avant qu'il y ait une réduction densité-dépendante du poids des ramets. Par contre, chez les espèces à clones imbriqués, la diminution du poids moyen des ramets à l'approche de la ligne d'auto-éclaircissement permettrait de continuer le recrutement de nouveaux ramets, tout en évitant la mortalité densité-dépendante, et serait avantageuse lors de la compétition interclonale. Cette hypothèse est étayée par l'observation de cas de diminution densité-dépendante du poids des ramets chez certaines espèces clonales (Thompson & Beattie 1981), alors que pour d'autres espèces, le poids moyen des ramets est indépendant de la densité (Pitelka et al. 1985). Cependant, il est souvent difficile de comparer la

combinaison densité-poids moyen entre des populations différentes, susceptibles de croître dans des conditions de milieu différentes, et d'être d'âge différent. De plus, dans les populations naturelles, il n'est souvent pas possible de distinguer les genets les uns des autres sans investigations génétiques et donc de connaître la structure spatiale des genets permettant de déterminer le niveau intra ou interclonal de la compétition.

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est de comparer les effets de la compétition intraclonale (entre les ramets d'un même genet) et de la compétition interclonale (entre les ramets de différents genets) sur la croissance clonale. Les questions suivantes ont été posées dans le cas de la compétition intraclonale et interclonale:

(1) Y a-t-il un contrôle du taux d'initiation des ramets empêchant d'atteindre des densités susceptibles d'entraîner des mortalités densité-dépendantes de ramets?

(2) S'il y a contrôle du recrutement des ramets, la densité de ramets se stabilise-t-elle à un niveau permettant un poids moyen maximal des ramets, ou bien à un plus élevé niveau correspondant à un poids moyen de ramets plus faible?

Afin de comparer la régulation densité-dépendante intra *versus* interclone de la croissance clonale, nous avons expérimentalement soumis des plantules de *Scirpus maritimus* à différentes intensités de densité intraclonale (individus isolés dans des bacs de différentes tailles) et interclonale (différents nombres d'individus dans un même bac).

II. Méthode

Trois niveaux de densité interclonale (2, 6, et 12 plantules par bac d'1 m^2) et trois niveaux équivalents de densité intraclonale (1 plantule dans un bac de 0.5 m^2, 0.166 m^2 et 0.083 m^2, soit un rapport de taille 1/2, 1/6 et 1/12) ont été testés avec quatre réplicats par niveau. De plus, un niveau « témoin » de très faible densité (1 individu par bac d'un m^2, 4 réplicats) était commun aux deux traitements (densité inter- et intraclonale). Le protocole expérimental consistait donc en un total de 7 x 4 = 28 bacs (voir fig. 2).

Le 15 mai 1996, de jeunes plantules de *S. maritimus*, obtenues à partir de graines collectées en 1995 dans un même marais (Réserve de la Tour du Valat, emprunt de la Baïsse salée), sont installées dans des bacs en plein air. Les bacs sont remplis d'un mélange de 80% de sable et 20% de compost et sont maintenus inondés (niveau d'eau de 5 cm au-dessus de la surface du sol). Les tiges sont comptées tous les 15 jours. Pour les traitements comprenant plusieurs individus par bac (densité interclonale), il a rapidement été impossible de différencier les genets les uns des autres. Aussi, pour les bacs contenant 2, 6 et 12 individus, le nombre de nouvelles tiges recrutées par genet a été estimé en divisant le nombre total de nouvelles tiges produites par bac par le nombre de genets présents.

Le 15 septembre, le recrutement des ramets de l'année étant terminé, les clones sont enlevés des bacs. Dans les bacs contenant plusieurs genets, il n'a pas été possible de séparer les genets les uns des autres avant d'effectuer les mesures finales à cause de l'enchevêtrement des rhizomes. De ce fait, le nombre et le poids sec des tiges (tubercules, parties vertes et inflorescences pesés séparément), des tubercules sans parties aériennes et des rhizomes a été mesuré à l'échelle de chaque bac.

Afin d'étudier l'architecture clonale des genets, des mesures ont été réalisées sur des chaînes linéaires de ramets formées à partir des germinations (poids sec et taux de branchement de chaque ramet et longueur de chaque rhizome constituant la chaîne). Pour les bacs contenant 1 seul genet, les mesures ont été réalisées sur au minimum 3 chaînes de ramets. Dans les bacs contenant 2 genets, au minimum une chaîne sur un genet et deux chaînes sur l'autre genet ont été mesurées. Dans les bacs contenant 6 ou 12 genets, pour 3 genets pris au hasard au moins une chaîne de ramets a été mesurée avec précision. Ainsi pour chaque traitement, au minimum trois chaînes complètes de ramets ont été mesurées.

Analyses statistiques

Des analyses de variance des différents paramètres mesurés ont été réalisées afin de tester l'effet de la densité, décomposée en 2 facteurs croisés: le type de densité (2 niveaux: intra et interclonal) et le niveau de densité (3 niveaux: 2, 6 et 12). Lorsqu'il n'y avait pas d'effet 'type de densité' significatif, les 4 réplicats intraclonal et les 4 réplicats interclonal ont été regroupés pour chaque niveau de densité (2, 6 et 12). Une ANOVA à 1 facteur a ensuite été réalisée pour comparer les 4 niveaux de densité (niveau 1: $n = 4$, niveau 2, 6 et 12: $n = 8$). Lorsque l'effet 'type de densité' était significatif, des ANOVAs à 1 facteur ont ensuite été

réalisées pour comparer les 4 niveaux (1, 2, 6 et 12) de densité intraclonale d'une part, et les 4 niveaux de densité interclonale d'autre part (pour chacun des 4 niveaux: n = 4). Des comparaisons de moyennes ont été réalisées après les ANOVAs significatives.

La relation entre le log (poids moyen des tiges) et le log (densité de tiges) à la capacité au champ a été déterminée par ajustement linéaire. Six bacs (3 de niveau 1 de densité et 3 de niveau 2 de densité) dans lesquels la biomasse totale produite au m² (383 g ± 87 n = 6) était nettement inférieure à celle des autres bacs (899 g ± 171, n = 22), ont été considérés comme n'ayant pas atteint la capacité au champ et n'ont donc pas été pris en compte dans ce calcul.

III. Résultats

1. Production de tiges et de tubercules sans partie aérienne

La densité de tiges produites est significativement affectée par le type de densité (intraclonale *versus* interclonale), le niveau de densité initialement fixé (2, 6 ou 12) et leur interaction (Tableau 1). A la fin de l'expérience, pour le plus fort niveau de densité initiale (niveau 12), la densité de tiges est significativement plus faible en situation de compétition intraclonale qu'interclonale (Fig. 3).

Le nombre de nouvelles tiges recrutées par chaque genet au cours du temps est affecté par le niveau de densité initialement fixé (Tableau 1). A partir du 1er juillet, le nombre de nouvelles tiges recrutées par genet est significativement plus faible pour les genets placés en situation de forte densité initiale (niveau 12 et 6) (Fig. 4). Cette diminution du recrutement devient également significative pour le niveau 2 de densité initiale à partir du 15 juillet (Fig. 4).

Les genets ont également produit un nombre important de tubercules sans partie aérienne (Tableau 2). Le ratio du nombre de tiges/tubercules sans partie aérienne est significativement affecté par le niveau de densité initiale. A forte densité, les genets ont produit proportionnellement plus de tubercules sans tige aérienne qu'à faible densité (Tableau 2).

La biomasse totale de ramet produite par m² (tiges et tubercules sans partie aérienne) ne diffère pas selon le type de densité (intra *versus* interclonale). En revanche, la biomasse produite par m² est plus élevée pour les forts niveaux de densité initiale (niveau 6 et 12) que pour les faibles niveaux (1 et 2) (Tableau 2).

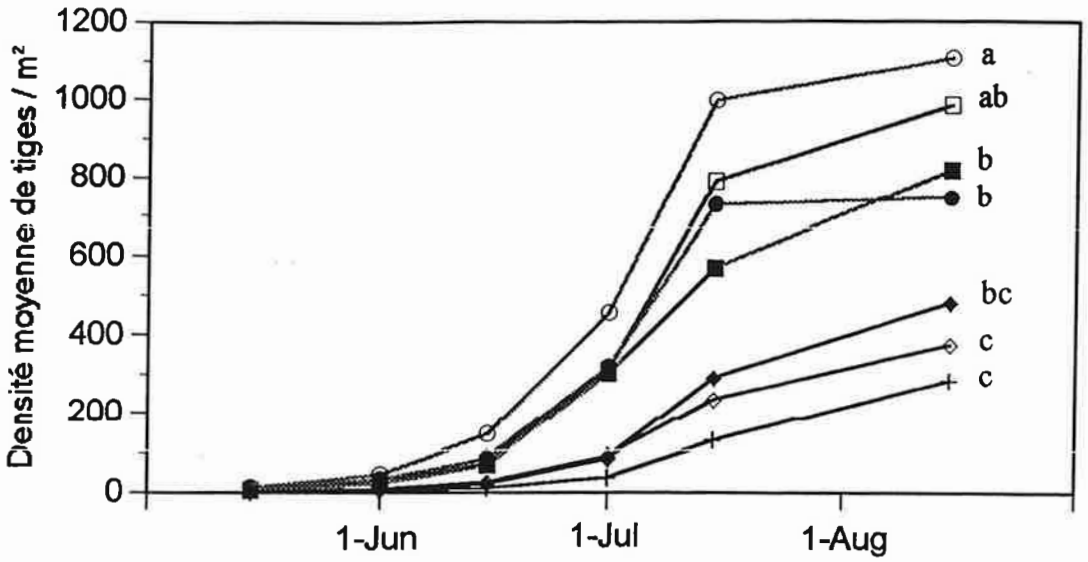


Figure 3: Evolution au cours du temps de la densité moyenne de tiges à partir d'une densité initiale de niveau 1, 2, 6 et 12 (respectivement représenté par des croix, lozanges, carrés et ronds) intraclonale (symboles fermés) et interclonale (symboles ouverts) (n = 4). Les lettres indiquent des différences significatives entre les moyennes intraclonale à la fin de la saison de croissance.

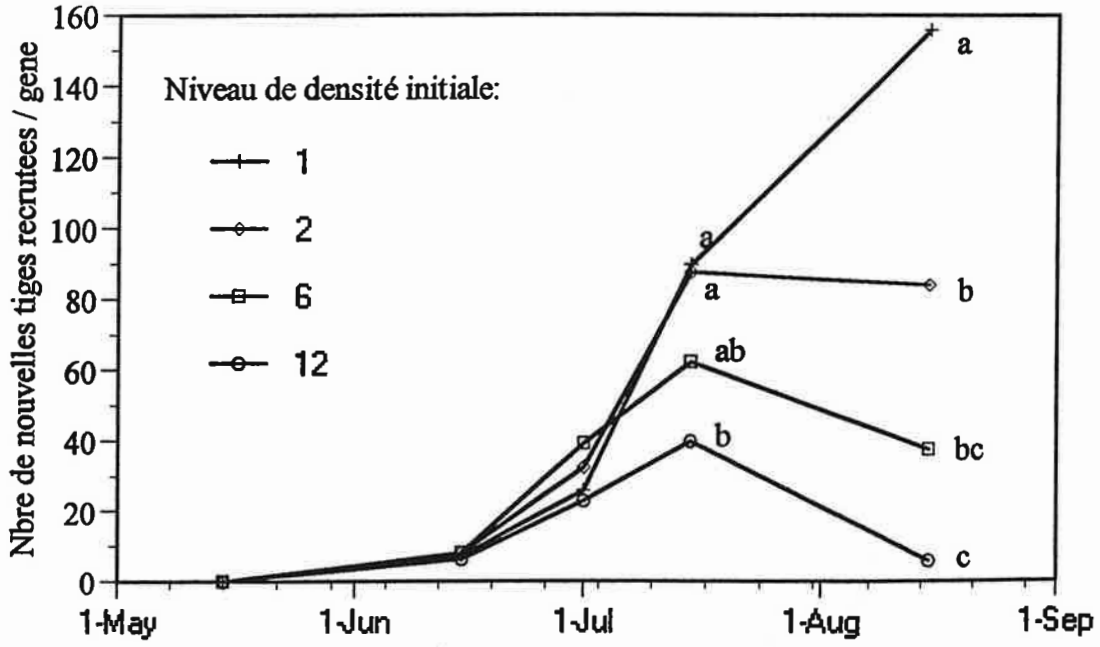


Figure 4: Evolution du nombre de nouvelles tiges recrutées par genet. Les lettres indiquent des différences significatives entre les moyennes pour une date donnée (niveaux de densité 2, 6 et 12, n = 8, niveau de densité 1, n = 4)

2. Relation densité-poids moyen des tiges

Le type de densité (intra *versus* interclonale) et le niveau de densité initiale (2, 6 ou 12) affectent significativement le poids moyen des tubercules formés à la base des tiges (Tableau 3). Ce poids est significativement plus élevé en situation de compétition intraclonale qu'en situation de compétition interclonale (Tableau 3). Il est également plus faible pour les genets placés en situation de forte densité initiale que pour ceux en situation de faible densité initiale (Tableau 3).

Pour les 22 bacs ayant atteint la capacité au champ (voir méthode) le logarithme du poids moyen des tiges diminue significativement avec l'augmentation du logarithme de la densité selon une pente de -0.9 (Fig. 5).

3. Architecture clonale

Le nombre d'itérations successives réalisées à partir de la germination est significativement affecté par le niveau de densité initiale (2, 6 et 12) (Tableau 3). A forte densité initiale (niveau 12), les genets ont réalisé moins d'itérations successives qu'à faible densité (niveau 1 et 2), formant ainsi des chaînes de tiges composées d'un plus petit nombre de tiges (Tableau 3).

Afin de tester les effets de la densité sur le poids du tubercule et de la partie aérienne des tiges de chaque rang successif, les tiges de rang 1 et 2, c'est à dire les 2 premières itérations à partir de la germination n'ont pas été considérées. En effet, la partie aérienne de ces tiges formées très tôt dans la saison était en partie désagrégée à la fin de l'expérience. De plus, les tubercules de ces tiges étaient très petits (moins de 0.1g de poids sec) et ne représentaient qu'une proportion très faible du nombre total de tubercules par genet. De même, les rangs de tiges produits uniquement par les genets en situation de faible densité (rang 7 et 8) n'ont pas été considérés dans les analyses mais sont représentés dans les fig.6 et 7.

Le poids des tubercules formés à la base des tiges est affecté par le rang des tiges et le type de densité (intra *versus* interclonal) (Tableau 4). Il est significativement plus élevé en situation de compétition intraclonale qu'interclonale (Fig. 6a). Il ne diffère pas entre les niveaux 2, 6 et 12 de densité (Tableau 4) mais est significativement plus faible pour le niveau 1 de densité (Fig. 6a, 6b, 6c).

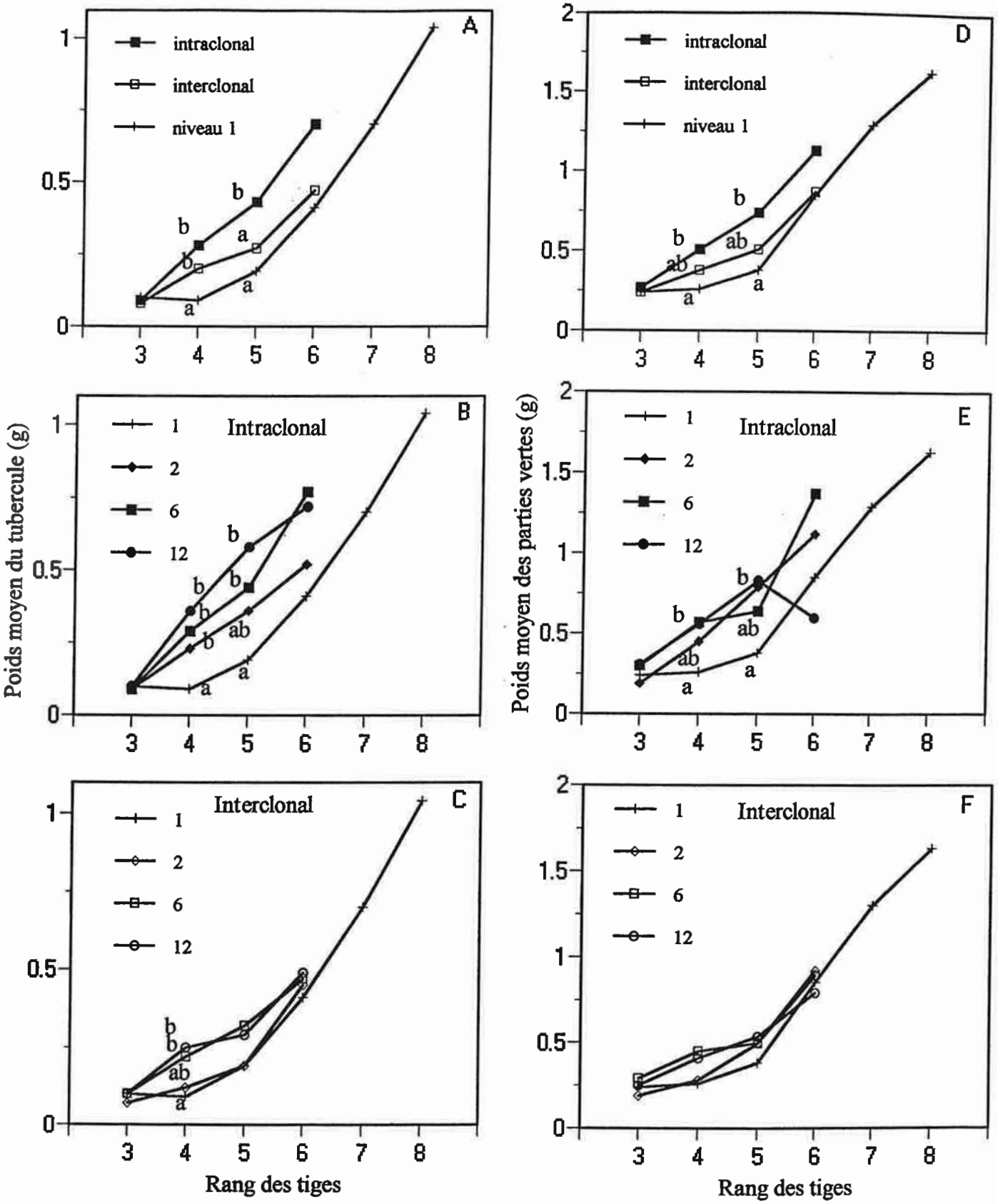


Figure 6: Poids moyen du tubercule (A, B et C) et des parties vertes (D, E et F) des tiges à chaque itération successive (rang). (A, D) Comparaison entre le niveau 1 de densité initia le (n = 4) et la moyenne des niveaux 2, 6 et 12 (n = 12) dans le cas de la compétition intraclonale et interclonale. Comparaison entre les 4 niveaux de densité (n = 4) dans le cas d'une compétition intraclonale (B, E) et interclonale (C, F). Les différentes lettres représentent des différences significatives entre les moyennes pour un rang donné de ramet.

De même, le poids des parties aériennes est significativement plus élevé pour les tiges en situation de forte densité intraclonale (niveau 2, 6 et 12) qu'en situation de faible densité (niveau 1), et montre des valeurs intermédiaires pour les tiges en situation de forte compétition interclonale (niveau 2, 6 et 12) (Tableau 4, Fig. 6d, 6e, 6f).

Le ratio du poids des parties aériennes / tubercule est affecté par le rang des tiges et par l'interaction entre le rang et le niveau de densité (Tableau 4). Pour les faibles niveaux de densité (1 et 2), ce ratio ne diffère pas entre les rangs 3, 4, 5 et 6 (Fig. 7). Par contre, pour les forts niveaux de densité (6 et 12), ce ratio diminue au fur et à mesure des itérations (Fig. 7) devenant significativement plus faible que celui des niveaux 1 et 2 pour les rangs 5 et 6.

IV. Discussion

La croissance clonale chez *S. maritimus* est fortement régulée par la densité. Lorsque les genets se développent dans des conditions de faible densité, ils recrutent un grand nombre de tiges, dont le poids, qui augmente à chaque nouvelle itération, atteint une valeur moyenne élevée. Dans des conditions de forte densité, le nombre d'itérations successives est réduit et de ce fait les tiges formées, qui sont toutes de rang peu élevé, ont un poids moyen plus faible. Cependant, cette régulation densité-dépendante dépend également du type de compétition subie par les tiges (intra *versus* interclonal). En situation de forte compétition intraclonale, la densité de tiges se stabilise à un niveau plus bas et le poids moyen des tiges est plus élevé qu'en situation de forte compétition interclonale (Tableau 5). Dans cette expérience, les niveaux croissants de compétition intraclonale ont été obtenus en diminuant la taille des bacs alors que tous les niveaux de compétition interclonale ont été réalisés dans des grands bacs (1 m^2) (voir fig. 2). La diminution de la taille des bacs a pu avoir un effet sur les conditions de développement des plantules (ex: lumière, température). Cependant, ces effets (ex: effet de bordures) semblent faibles puisque, pour chaque niveau de densité testé, la biomasse totale produite au m^2 est identique en situation de compétition intraclonale (petit bac) et interclonale (grand bac).

Régulation densité-dépendante de la croissance clonale:

A forte densité, il n'y a pas eu d'observations systématiques de mortalité de tiges ni de diminution de leur densité qui pourrait indiquer un "auto-éclaircissement" de la population de ramets. Cette absence de mortalité densité-dépendante des ramets résulte du très fort contrôle du recrutement de nouvelles tiges, permettant de stabiliser la densité. La régulation densité-dépendante du recrutement des ramets observée chez *S. maritimus* est un mécanisme de contrôle de la densité largement répandu chez les plantes clonales formant de denses peuplements (de Kroon 1993 pour revue).

Une deuxième régulation densité-dépendante concerne l'allocation des ressources entre la partie aérienne et le tubercule des ramets. En situation de forte densité, l'allocation de biomasse dans les tubercules s'accentue beaucoup plus fortement au fur et à mesure des itérations. Ainsi, en situation de forte densité, les derniers rangs de ramets formés (rang 5 et 6) allouent la même proportion de biomasse dans leurs tubercules que les derniers rangs formés en situation de faible densité (rang 7 et 8) (voir fig. 7). Cette accentuation de la diminution du ratio poids des parties vertes/tubercule quand la densité est élevée pourrait jouer un rôle important dans l'évitement de la mortalité densité-dépendante des tiges. En effet, l'allocation des assimilats des parties vertes vers les organes de réserves souterrains peut être un moyen d'éviter la compétition entre les tiges (Suzuki & Hutching 1997, Suzuki & Kubo 1997). Le point extrême de cette diminution consiste dans la formation de tubercules sans partie aérienne. Ce type extrême de ramets, allouant 100 % des assimilats au stockage, est produit en proportion significativement plus grande quand la densité est élevée (voir aussi annexe 3). La production de ces tubercules sans partie aérienne permet de continuer à produire de nouveaux ramets sans augmenter la densité de tiges aériennes, consolidant ainsi la présence des genets.

L'absence de mortalité de ramets dans cette expérience traduit *a fortiori* l'absence de mortalité densité-dépendante de genets dans la gamme de densité testée. Des mortalités de genets densité-dépendantes ont été observées expérimentalement pendant les premières phases d'installation des plantules chez d'autres plantes clonales lorsque la densité initiale de plantules était très élevée (de Kroon et al. 1992 pour revue). Dans notre expérience, la densité initiale des plantules était faible (12 plantules au m2 au maximum), ce qui a permis aux plantules de se développer et de produire un nombre assez élevé de ramets avant de rentrer en compétition. Les effets de la compétition ont donc porté sur un stade avancé du développement des plantules pour lequel la mortalité densité-dépendante des genets semble rare. Chez

Brachypodium pinnatum et *Carex flacca*, deux autres herbacées rhizomateuses, de Kroon et al. (1992) n'ont mesuré en fonction de la densité de genets ni mortalité ni augmentation de la variabilité de la taille des genets après la phase d'installation des clones. Ainsi, ces auteurs ont suggéré que chez les plantes clonales, la compétition entre genets serait de type symétrique en raison de leur mode de croissance. La propagation horizontale des plantes clonales limiterait le chevauchement des individus et donc la compétition asymétrique pour la lumière généralement observée chez les plantes se développant verticalement. Cette compétition symétrique engendrerait une faible mortalité de genets dans les peuplements matures et pourrait expliquer le maintien de populations multiclonales même si le recrutement de nouveaux genets est rare.

En situation de forte densité, la diminution du nombre d'itérations successivement réalisées se traduit par une diminution du poids moyen des ramets, due au fait que seuls les premiers rangs de ramets sont formés. Cet effet négatif est en partie compensé par l'augmentation relative du poids des ramets des premiers rangs (comparé à celui des ramets de même rang mais dans des chaînes plus longues). Ces ramets, qui sont à l'origine de très peu de nouvelles itérations, investissent moins d'énergie dans la fabrication de nouveaux rhizomes et dans le support de croissance de nouveaux ramets (voir chapitre 1.1), ce qui pourrait expliquer leur poids plus élevé. Ce système de croissance clonale des plantules de *S. maritimus*, qui nécessite la réalisation de plusieurs itérations successives avant de former des ramets de taille importante, pourrait limiter les chances de survie de plantules se développant dans des peuplements matures. Dans ces peuplements, l'espace disponible est très limité et les plantules sont en compétition avec des ramets de grande taille émis à partir des tubercules hivernants. La très forte limitation du recrutement dans les peuplements matures en raison de la compétition avec les genets présents est très fréquemment rencontrée chez les plantes clonales (Eriksson & Ehrlén 1992, Eriksson 1997). Ainsi, pour beaucoup de macrophytes émergentes, le recrutement de nouvelles plantules est limité à des fenêtres spatio-temporelles (ex: vasières en bordure des marais, zones temporairement exondées et ouvertes après perturbations) (Grace 1984, Keddy & Ellis 1985).

Compétition intraclonale *versus* interclonale:

En situation de forte compétition intraclonale le recrutement de nouvelles tiges s'arrête quand la densité de tiges est plus faible qu'en situation de forte compétition interclonale mais le poids moyen des tiges est plus élevé (Fig. 8). La nature des mécanismes permettant de réguler la natalité des ramets reste actuellement sujet à discussions. Une première hypothèse

consiste à considérer que la diminution de l'intensité lumineuse et la modification de la qualité de la lumière, alors que la densité de tiges augmente, inactiverait les bourgeons à la base de chaque tige (Briske & Butler 1986, De Kroon & Kwant 1991). Ce mécanisme de régulation à l'échelle de chaque ramet est indépendant du nombre de genets présents et ne peut donc pas expliquer la différence de densité finale mesurée dans cette expérience entre compétition intra et interclonale. Dans notre expérience, la taille des bacs a pu influer sur la quantité de lumière captée par les genets. Les genets placés dans les petits bacs ont pu bénéficier de plus de lumière grâce à d'un effet de lisière proportionnellement plus important. Mais dans ce cas, si le recrutement est fonction de l'intensité lumineuse, il aurait du être plus fort dans les petits bacs (compétition intraclonale), ce qui n'a pas été le cas.

Une seconde hypothèse consiste à envisager le contrôle de la natalité des ramets à l'échelle du genet, par le moyen de l'intégration physiologique (Hutchings 1979, Hutchings & Bradbury 1986, Schmid & Bazzaz 1987, Hara et al. 1993). Dans ce cas, les connexions physiologiques entre les tiges permettraient d'intégrer le niveau de disponibilité des ressources à l'échelle du genet et de réguler la production de nouvelles tiges en fonction de la quantité de ressources disponibles. Sous cette hypothèse, on peut attendre une régulation du taux de natalité des ramets plus efficace en situation de compétition intraclonale (l'ensemble des ramets qui interagissent sont interconnectés) qu'en situation de compétition interclonale pour laquelle le degré d'intégration physiologique à l'échelle de la population de ramets est plus faible (les ramets interagissant n'appartenant pas obligatoirement au même clone). Nos résultats concordent avec ces prédictions, suggérant donc que la régulation de la natalité des ramets a lieu à l'échelle du genet plutôt qu'à celle de chaque ramet.

En situation de compétition intraclonale, l'arrêt du recrutement des tiges à un niveau de densité plus faible permet la formation de ramets plus gros qu'en situation de compétition interclonale. Ceci pourrait avoir des conséquences importantes sur la survie des genets. En effet, les tubercules formés à la base des ramets représentent l'unique forme de survie végétative pendant l'hiver et leur poids (corrélé à la quantité de réserves stockées) conditionne le succès du démarrage végétatif au printemps (voir chapitre 1.1). De ce fait, la production de tubercules plus gros pourrait augmenter les chances de survie des jeunes genets l'année suivant leur installation.

La formation de grandes tâches monoclonales pourrait être un type de structuration spatiale des populations avantageux pour la survie des genets de *S. maritimus*. En effet, le fort

degré d'intégration physiologique à l'intérieur de ces tâches pourrait permettre une meilleure régulation de la croissance des ramets en contrôlant d'un part le démarrage végétatif des tubercules au printemps (voir chapitre 1.2) et d'autre part la densité de ramets produits et donc leur taille (en particulier les tubercules). Cependant, dans une population composée d'un faible nombre de genets formant de grandes tâches monoclonales, certaines contraintes peuvent également exister pour les genets. Ces contraintes peuvent être physiologiques, comme par exemple le coût du maintien de l'intégration physiologique entre les différents ramets. De même, une telle structuration des populations peut être une contrainte pour la reproduction sexuée des genets. Chez les espèces auto-compatibles, le fort taux de géitonogamie (fécondation entre fleurs différentes d'un même individu) dans les tâches monoclonales peut, en augmentant le taux d'autofécondation, augmenter les risques de dépression de consanguinité (Silander 1985). Chez les espèces auto-incompatibles, le nombre restreint d'individus dans la population peut être un facteur limitant du succès de la reproduction sexuée en raison de la faible disponibilité en allopollen compatible (voir chapitre suivant).

Chapitre 2.2

Clonalité et fécondité

I. Introduction

La plupart des habitats aquatiques ne sont pas distribués de façon continue mais forment souvent des îles discrètes dans le paysage terrestre. De ce fait, les plantes inféodées au milieu aquatique, parmi lesquelles un grand nombre d'espèces clonales (Grace 1993), se distribuent souvent sous forme de populations locales. Les possibilités de flux génique entre les populations locales dépendent des connexions par le réseau hydrographique mais aussi du mode de dissémination sexuée (pollen, graines) et végétative (propagules végétatives) propre à chaque espèce (Barrett et al. 1993, Lokker et al. 1994). Ces ensembles de populations locales, liées entre elles par des épisodes d'extinctions et de colonisations, peuvent à ce titre être considérés comme des méta-populations (Husband et Barrett 1996). Le nombre de genets constituant chaque population locale varie d'une population à l'autre, et peut être réduit à l'extrême quand un seul clone a colonisé végétativement la totalité d'un habitat (Widén et al. 1994, Piquot et al. 1996). Le nombre de genets présents et leur structuration spatiale ont des conséquences importantes sur le régime de reproduction sexuée (Back et al. 1996, Jonsson et al. 1996) et sur le succès de la reproduction sexuée (Widén et Widén 1990, Aspinwall et Christan 1992). La production de graines qui permettent le recrutement local de nouveaux individus mais également la colonisation de nouveaux sites est un paramètre important dans la dynamique des ensembles de populations (Eriksson et Bremer 1993).

Handel (1985) fut un des premiers à considérer une éventuelle « intrusion de la clonalité dans le régime de reproduction », c'est à dire à envisager l'effet de la clonalité sur les probabilités d'auto-pollinisation et de pollinisation croisée. En effet, le nombre souvent important de fleurs déployées simultanément par un individu en raison de la multiplication végétative des tiges sexuées, ainsi que leur regroupement dans l'espace, plus ou moins important selon le type d'architecture clonale, sont deux facteurs augmentant la probabilité de pollinisation entre fleurs d'un même individu (pollinisation géïtonogame) (Handel 1985). Par conséquent, la clonalité peut être considérée chez les espèces auto-compatibles comme une force sélective favorisant la mise en place de mécanismes diminuant les risques de dépression de consanguinité (ex: dïoécie, auto-incompatibilité) (Handel 1985, Thomson & Brunet 1990, de Jong et al. 1993).

L'auto-incompatibilité est un des mécanismes d'évitement de l'autofécondation les plus répandus chez les plantes clonales et non clonales (au moins 50 % des Angiospermes, Richards 1986). Cependant, l'auto-incompatibilité présente aussi des contraintes pour la reproduction

sexuée. D'une part, l'auto-incompatibilité n'affranchit pas les individus de tous les coûts liés à la géitonogamie. Les individus auto-incompatibles peuvent subir une perte de pollen et d'ovules, correspondant à la partie du pollen restée sur l'individu qui peut saturer la place disponible sur les stigmates et dans certains cas faire avorter les ovules (de Jong et al. 1992, Harder & Barrett 1995). D'autre part, le taux de fécondité dans chaque population locale dépend de la disponibilité en allopollen compatible. Dans les populations locales composées d'un nombre réduit d'individus, la faible quantité d'allopollen et le nombre réduit de types d'incompatibilité présents peuvent limiter le succès de la reproduction sexuée (Byers 1995).

Les contraintes potentielles à la production de graines dans chaque population locale diffèrent selon que les genets sont auto-compatibles (risque de dépression de consanguinité) ou auto-incompatibles (risque de déficit en allo-pollen, de perte de pollen et d'ovules, de consanguinité biparentale due au croisement entre apparentés). Aussi, afin d'étudier le succès de la reproduction sexuée chez *S. maritimus*, nous avons d'abord déterminé expérimentalement si cette espèce présentait un système d'auto-incompatibilité. L'expérience réalisée a montré que *S. maritimus* est **auto-incompatible**. Dans ces conditions, le nombre d'individus compatibles présents dans une population représente un facteur potentiellement limitant du succès de la reproduction sexuée.

Les populations de *S. maritimus*, dans lesquelles il n'est pas possible d'identifier visuellement les genets et donc d'estimer leur nombre, occupent des superficies très variables selon la superficie disponible (taille et profil topographique des marais). Nous avons posé comme hypothèse que **la superficie d'habitat occupée par chaque population locale peut être un facteur limitant du nombre de genets présents**. Dans ce cas, un faible taux de fécondité, dû à la faible disponibilité en allo-pollen compatible, est attendu dans les populations locales de petite superficie.

Pour tester cette hypothèse nous avons mesuré le taux de fécondité dans 2 ensembles de populations: la réserve de la Tour du Valat et celle de Roquehaute qui présente chacune une gamme de taille d'habitats très différente.

(1) La réserve de la Tour du Valat (voir carte 1), dans le delta du Rhône, comprend un ensemble de marais de superficie très variable (quelques dizaines à plusieurs milliers de m^2) occupés par des populations locales de *S. maritimus* de superficie tout aussi variable. Dans

cette gamme de superficie nous avons testé si le taux de fécondité est corrélé à la superficie occupée par les populations locales.

(2) La réserve naturelle de Roquehaute est composée de plus de 200 petites mares entourées par une dense végétation arbustive (voir carte 2). Dans moins d'une vingtaine de ces mares, *S. maritimus* est présent sous forme de populations locales de petite superficie (<400 m^2). Des observations préliminaires ont révélé une très faible production de graines dans ces petites populations. Nous supposons que ce faible succès de la reproduction sexuée est le résultat d'un déficit en allopollen dans chaque population locale dû (1) à une très faible diversité génotypique intra-population et, (2) à un très faible flux pollinique inter-population. Pour tester cette hypothèse, nous avons d'abord quantifié la production de graines dans différentes populations locales puis nous avons réalisé une expérience de pollinisation manuelle supplémentaire intra-population et inter-population.

II. Matériel et Méthodes

1. Scirpus maritimus

Les tiges sexuées de *S. maritimus* portent une inflorescence apicale, composée de plusieurs épillets regroupant des fleurs hermaphrodites. Une importante variabilité de la longueur des épillets a été notée par plusieurs auteurs (voir Norlindh 1972). Les fleurs sont protogynes, ce qui peut représenter une barrière temporelle à l'autopollinisation à l'intérieur d'une même fleur mais vraisemblablement pas une barrière à la pollinisation entre les fleurs d'une même inflorescence ou entre les inflorescences d'un même genet. La pollinisation a lieu au printemps et est essentiellement anémophile.

2. Auto-compatibilité *versus* auto-incompatibilité

Afin de déterminer si *S. maritimus* est auto-compatible ou auto-incompatible, 45 inflorescences choisies au hasard dans un marais de la Réserve de la Tour du Valat (Relongues nord) ont été enfermées au stade de bourgeon floral dans un sac en Cellophane (fin mai 1995). Chaque inflorescence a subi l'un des 3 traitements suivant:

- **auto-pollinisation:** 25 inflorescences n'ont subi aucune pollinisation manuellement.

- **pollinisation avec une tige proche:** 10 inflorescences ont été pollinisées manuellement avec du pollen récolté sur une inflorescence située à proximité immédiate de la tige pollinisée, donc présentant une forte probabilité d'appartenir au même genet (Harada et al. 1997).

- **pollinisation croisée:** 10 inflorescences ont été pollinisées manuellement avec du pollen récolté sur une inflorescence d'une population différente (marais de la Baïsse salée).

Les pollinisations manuelles ont été effectuées en une seule séquence de pollinisation par inflorescence. Les sacs polliniques d'une seule l'inflorescence 'donneur de pollen' ont été collectés et ouverts. Le sac en cellophane recouvrant l'inflorescence 'receveur de pollen' a été enlevé et le pollen de l'inflorescence donneur a été déposé sur les styles à l'aide d'un pinceau.

Au mois de juillet, 41 inflorescences ont été récoltées (2 inflorescences auto-pollinisées, une inflorescence pollinisée avec une tige proche et une autre ayant subi une pollinisation croisée avaient été détruites) ainsi que 15 inflorescences n'ayant subi aucun traitement (**contrôle**). Le nombre d'épillets et le nombre de graines par épillet ont été quantifiés pour chacune des 55 inflorescences.

3. Tour du Valat: Relation entre superficie des populations locales et fécondité

En août 1995, dans 7 populations situées dans la Réserve de la Tour du Valat (Delta du Rhône, 43°29' N, 2°57' E) 30 inflorescences par population ont été collectées et la superficie de chaque population a été mesurée (carte 1, tableau 1). En août 1996, dans 9 populations (dont 6 avaient été échantillonnées en 1995) 10 inflorescences par population ont été collectées et la superficie occupée par chaque population a également été mesurée (tableau 1). Le nombre et la longueur des épillets ainsi que le nombre de graines par épillet ont été quantifiés pour toutes les inflorescences collectées.

Les mesures de superficie étaient approximatives en raison de la forme très irrégulière des populations mais aussi très variable dans le temps à cause des perturbations par les sangliers et les herbivores domestiques.

4. Roquehaute: étude du succès de la reproduction

La réserve de Roquehaute (40°18'N et 3°22'E), située à 10 km à l'est de Béziers sur un plateau basaltique (altitude 30 m) compte 205 mares réparties sur une superficie de 158 ha

couverte d'une végétation dense (*Quercus ilex*, *Pistachia lentiscus*, *Phillyrea angustifolia*, *Cistus monspeliensis*). *S. maritimus* est présent dans une quinzaine de ces mares (voir carte 2). Afin de mesurer le succès de la reproduction sexuée chez *S. maritimus*, 10 inflorescences ont été collectées en août 1996 dans chacune des 12 populations locales étudiées et le nombre et la longueur des épillets ainsi que le nombre de graines par épillet ont été quantifiés.

En juin 1996, une expérience de pollinisation manuelle supplémentaire a été réalisée dans 5 des mares échantillonnées (voir carte 2). Chaque inflorescence pollinisée manuellement a reçu en une seule fois le pollen prélevé dans les sacs polliniques d'une seule inflorescence 'donneur de pollen'. Dans chaque mare, **quatre types de pollinisation supplémentaire** ont été réalisés, le nombre de réplicats pour chaque type étant de 3 ou 4 (3 ou 4 tiges pollinisées manuellement, avec 3 ou 4 tiges 'donneurs de pollen') (voir Tableau 2):

Intra-mare 'proche': pollen collecté dans la même mare sur une inflorescence située à moins de 3 mètres de la tige pollinisée manuellement.

Intra-mare 'loin': pollen collecté dans la même mare sur une inflorescence située le plus loin possible de la tige pollinisée manuellement (entre 7 et 20 mètres selon la superficie occupée par la population) (voir Tableau 2).

Inter-mare 'proche': pollen collecté sur une inflorescence d'une autre mare située dans un rayon de 50 mètres autour de mare considérée (à l'exception de la mare n° 53 pour laquelle la population existante la plus proche se situait à 120 mètres, voir carte 2).

Inter-mare 'loin': pollen collecté sur une inflorescence d'une autre mare située à au moins 100 mètres de la mare considérée (voir Tableau 2).

5. Analyse des données

Des ANOVA's du nombre moyen de graines produites par épillet ont été réalisées afin de tester: (1) l'effet des auto-pollinisations, pollinisations manuelles avec une tige proche et croisées et (2) l'effet des pollinisations manuelles supplémentaires réalisées à Roquehaute (intra-mare proche et loin et inter-mare proche et loin). Les données ont été ln +1 transformées avant les analyses afin d'homogénéiser les variances. Des corrélations linéaires ont été réalisées entre la superficie occupée par les populations locales de la Tour du Valat en 1995 et 1996 et le taux de fécondité (nombre de graines par cm d'épillet).

III. Résultats et Discussion

1. Auto-compatibilité *versus* auto-incompatibilité chez *S. maritimus*

Les inflorescences protégées d'un sac et n'ayant subi aucune pollinisation manuelle ont produit en moyenne 0.5 graines par épillet ce qui représente seulement 6.6 % de la production de graines après pollinisation manuelle croisée (Fig. 1 et Fig. 2). La production de graines après pollinisation manuelle avec une tige proche est de 2.1 graines par épillet, ce qui ne diffère pas significativement de la production obtenue en autopollinisation (Fig. 1). Sur les 9 tiges pollinisées manuellement, 7 l'ont été avec du pollen collecté sur une tige très proche (< 50 cm) alors que pour les 2 autres, la tige donneur de pollen était à plus de 2,50 m de distance (Fig. 2). Dans ce dernier cas, la probabilité que la tige donneur de pollen appartienne au même genet était donc plus faible. Pour les 7 tiges pollinisées avec une tige très proche, le nombre moyen de graines produites par épillet est de 0.6 (+/- 0.4).

La production de graines après pollinisation manuelle croisée est significativement plus élevée que celle obtenue en autopollinisation stricte ou après pollinisation manuelle avec une tige proche, mais reste inférieure à la production des inflorescences témoins (Fig. 1, Fig. 2). Ce résultat peut s'expliquer par le fait que toutes les fleurs des inflorescences n'étaient pas réceptives au moment de la pollinisation manuelle et n'ont donc pas pu être fécondées.

L'échec de l'auto-fécondation traduit très probablement l'existence chez *S. maritimus* d'un système d'auto-incompatibilité. La très faible production de graines après auto-fécondation peut être due à l'introduction accidentelle d'allopollen dans les sacs (lors de leur mise en place et de leur ouverture au moment des pollinisations manuelles) étant donné les conditions de réalisation de cette expérience (dans un environnement naturel très riche en pollen). Cet échec de l'auto-fécondation pourrait également être le résultat d'une dépression de consanguinité s'exprimant très tôt au cours du développement embryonnaire. Un test de coloration des ovules permettant de voir s'il y a ou non fécondation ainsi que des tests de viabilité des graines produites pourraient permettre de trancher entre ces deux interprétations possibles. L'auto-incompatibilité semble cependant la plus probable. En effet, dans le cas d'une dépression de consanguinité conduisant à l'avortement de toutes les fleurs auto-pollinisées, la très forte production de graines des inflorescences témoins paraît difficilement explicable étant donné les fortes probabilités d'auto-pollinisation par géitonogamie (entre fleurs d'une même inflorescence et entre inflorescences différentes d'un même individu).

Chez cette espèce pour laquelle la pollinisation croisée entre genets est nécessaire pour assurer la fécondation des fleurs, le taux de fécondité dépend de la disponibilité en allopollen compatible.

2. Tour du Valat: Relation entre superficie des populations locales et fécondité

En 1995, le taux de fécondité (nombre moyen de graines produites par cm d'épillet) mesuré dans 7 populations locales de la Tour du Valat, est positivement corrélé à la superficie occupée par les populations (Fig. 3). En 1996, ce taux est beaucoup plus élevé qu'en 1995. Le nombre moyen de graines produites par épillet est de 7.6 ($\pm$ 3.6, n = 7) pour l 'ensemble des 7 populations échantillonnées en 1995 et de 16.2 ($\pm$ 7.5, n = 9) pour l'année 1996. En 1996, pour l'ensemble des 9 populations échantillonnées, couvrant de 50 à 4000 m², il n'y a pas de relation significative entre la superficie des populations et le taux de fécondité. Cette corrélation est cependant significative si l'on considère uniquement les 7 populations dont la superficie était inférieure à 2000 m² ($n = 6$, $r^2 = 0.7$, $p<0.05$). Au cours des 2 années d'étude la population du marais du Tamarguiron (superficie de 2500 m² environ) a présenté un taux de fécondité particulièrement faible malgré une superficie importante (voir Fig. 3).

3. Roquehaute: étude du succès de la reproduction:

A Roquehaute, les populations locales de *S. maritimus* occupent des superficies comprises entre 10 et 400 m² (Tableau 3). Le taux de fécondité n'est pas corrélé à la superficie occupée (Fig 4). Ce taux est très faible pour l'ensemble des 12 populations (1.1 $\pm$ 1.2 graines produites par épillet, n = 12) (Tableau 3) et est significativement inférieur à celui mesuré dans les 4 populations de la Tour du Valat occupant également une superficie de moins de 400 m² (6.8 + 1.6 graines / épillet, n = 4) (ddl=1, F=54, $p<0.001$) (voir tableau 1) .

Les pollinisations manuelles supplémentaires ont eu un effet significatif sur le nombre de graines produites par épillet dans chacune des 5 mares considérées (Tableau 4).

Dans les mares n° 53 et 81, la production de graines ne diffère pas entre les inflorescences témoins et les inflorescences ayant subi une pollinisation intra-mare proche et intra-mare loin (Fig. 5). Par contre, la pollinisation inter-mare proche et inter-mare loin a augmenté significativement le nombre de graines produites par épillet.

Tableau 3: Succès de la reproduction sexuée dans les 12 populations locales échantillonnées dans la Réserve de Roque-Haute. Les 5 mares marquées d'une étoile sont celles où ont été réalisé les pollinisations manuelles. Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les moyennes ($p<0.05$).

N° mare	Superficie estimée de la population (m^2)	Nb moyen d'épillets par inflorescence (+/- écart type, n = 10)	Nb moyen de graines par épillet (+/- écart type, n = 10)
82*	150	35.8 (11.3)	4.7 (2.2) d
81*	150	44.5 (10.9)	1.7 (1.1) c
63	50	10.8 (3.6)	1.6 (0.9) bc
85	10	12.2 (3.4)	1.3 (0.7) abc
11	10	7.5 (4.2)	1.2 (1.0) abc
83*	100	18.6 (6.7)	0.9 (0.9) abc
67	400	12.5 (4.1)	0.7 (0.7) abc
69	100	20.3 (14)	0.6 (1.2) abc
53*	40	31.4 (10.9)	0.4 (0.3) abc
66	200	10.9 (6.3)	0.2 (0.4) ab
88	100	18.7 (8.2)	0.2 (0.1) ab
90*	50	32.1 (8.7)	0.01 (0.01) a

Tableau 4: Valeurs du F et seuil de significance des ANOVAs du nombre de graines par épillet pour les 5 types de pollinisation considérés: inflorescences témoins (n = 10), pollinisation intra-mare proche, intra-mare loin, inter-mare proche et inter-mare loin (voir tableau 2 pour le nombre de réplicats). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

	ddl	mare n° 53	mare n°81	mare n° 83	mare n° 82	mare n°90
pollinisation	4	259 ***	79.7 ***	30.9 ***	4.5 *	100 ***

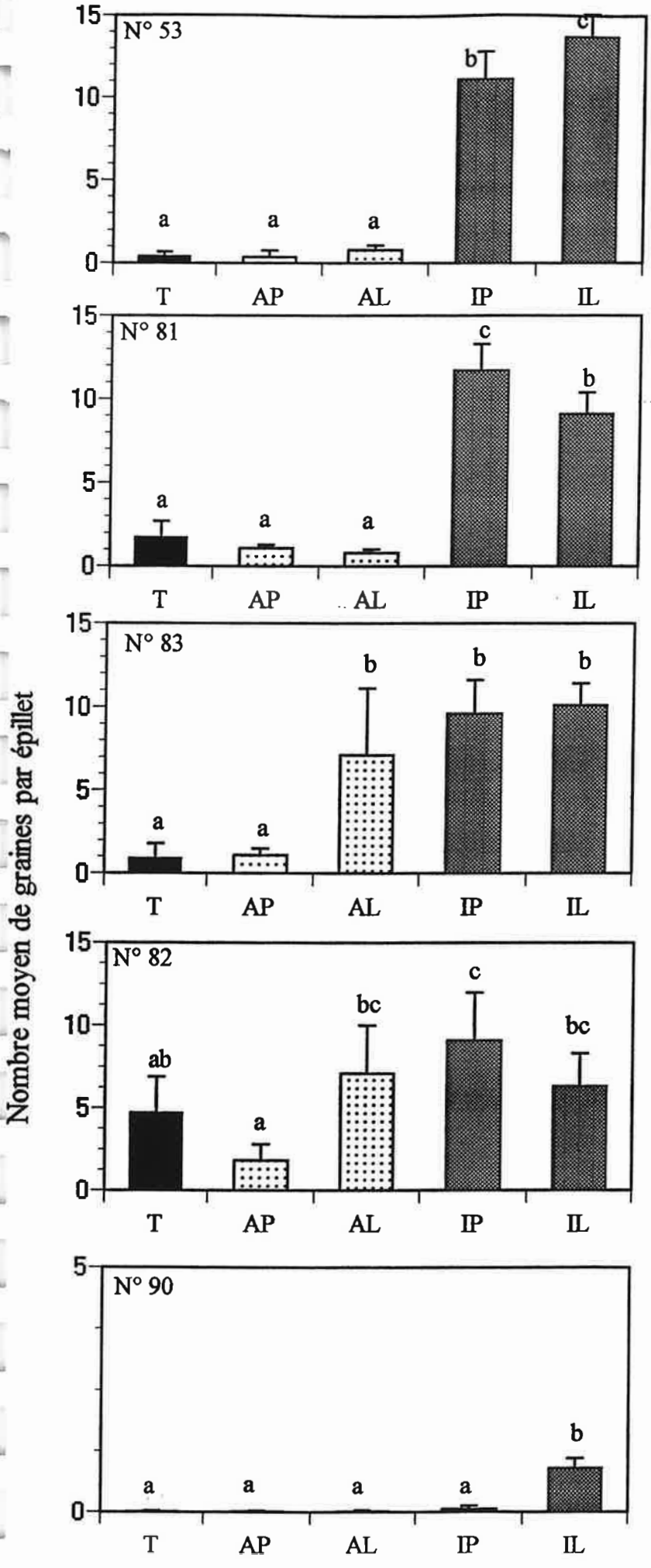


Figure 5: Nombre moyen de graines par épillet (± écart type) pour (T) les inflorescences témoins (n = 10), et après les 4 types de pollinisation manuelle: (AP) intra-mare proche, (AL) intra-mare loin, (IP) inter-mare proche et (IL) inter-mare loin (voir tableau 2 pour le nombre de réplicats) dans les 5 mares étudiées. Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les moyennes.

Dans la mare n° 83, la pollinisation intra-mare proche n'a pas eu d'effet sur la production de graines. Les 3 autres types de pollinisation: intra-mare loin, inter-mare proche et inter-mare loin ont significativement augmenté la production de graines (Fig. 5).

La population locale de la mare n° 82 présentait un succès de la reproduction sexuée supérieur aux autres populations étudiées (Tableau 3 et Fig. 5). Le nombre moyen de graines par épillet après pollinisation intra-mare loin, inter-mare proche et inter-mare loin est plus élevé que celui des inflorescences témoins bien que cette différence ne soit significative que pour la pollinisation inter-mare proche. La production de graines après pollinisation intra-mare proche ne diffère pas significativement de celle des inflorescences témoins mais est significativement plus faible que celle mesurée après pollinisation intra-mare loin.

Dans la mare n°90, toutes les inflorescences de *S. maritimus* possédaient des fleurs à style très court, ne dépassant pas des écailles, ce qui a rendu la pollinisation manuelle très difficile. Cette particularité morphologique a également été constatée sur les inflorescences de la mare n° 69 qui servaient de donneur de pollen pour la pollinisation inter-mare proche. Dans la mare n°90, le succès de la reproduction était particulièrement bas (tableau 3). La production de graines après pollinisation intra-mare proche, intra-mare loin et inter-mare proche n'a pas augmenté. Le nombre de graines produites par épillet après pollinisation inter-mare loin était significativement plus élevé bien que très nettement inférieur aux valeurs obtenues avec ce type de pollinisation dans les 4 autres mares étudiées (Fig. 5).

4. Conclusion

L'étude des deux ensembles de populations (Tour du Valat et Roquehaute) montre que la superficie occupée par chaque population locale est un facteur limitant la quantité d'allopollen disponible. Le taux de fécondité est faible aussi bien dans les populations locales de petite superficie de la Tour du Valat que dans celles de Roquehaute, occupant toutes de petites superficies.

Le faible taux de fécondité dans les populations de petite superficie est à mettre en relation avec le nombre de genets présents. Une diminution de la fécondité dans les populations comprenant peu d'individus a en effet été montrée chez des espèces auto-incompatibles aussi bien anémophiles (Nilsson & Wästljung 1987) que zoophiles (Agren 1996). Cette diminution est due à une réduction de la quantité d'allopollen disponible, mais aussi du nombre de types d'incompatibilité, en raison d'une perte de diversité au locus-S par dérive génétique (Byers

1995, Agren 1996). Les résultats des pollinisations manuelles supplémentaires intra-mare réalisées à Roquehaute montrent que les populations locales sont constituées d'un très petit nombre de types d'incompatibilité différents, voir peut-être d'un seul type pour 3 des populations étudiées. Les pollinisations manuelles n'ont augmenté le taux de fécondité dans aucune des 5 mares étudiées lorsque le pollen était collecté sur une tige située à moins de 3 m, et dans 2 mares seulement lorsque le pollen était collecté sur une tige éloignée, située généralement à une quinzaine de mètres. Cette très faible diversité des types d'incompatibilité reflète probablement un nombre très réduit de genets, voir peut-être un seul genet, comme cela a été montré chez d'autres plantes clonales auto-incompatibles (Eriksson et Bremer 1993).

La superficie occupée par chaque population locale n'est pas le seul facteur déterminant de la quantité d'allopollen disponible. Dans la population du marais du Tamarguiron (Tour du Valat), la fécondité est restée très faible durant les deux années d'étude malgré la superficie importante de la population. La grande homogénéité morphologique de cette population (hauteur et couleur des tiges, forme des inflorescences) laisse supposer que ce marais puisse être colonisé végétativement par un nombre réduit de genets occupant de grande superficie. Valider cette hypothèse nécessiterait de mettre en évidence une relation entre la variation des traits morphométriques d'une part et l'identification des genets par marqueurs génétiques d'autre part (voir Cronberg 1996 pour exemple). Les résultats de la Tour du Valat montrent également que la disponibilité en allopollen présente des variations inter-annuelles importantes. Des pluies importantes au cours du printemps 1995 ont pu gêner la pollinisation anémophile et ainsi limiter le succès de la reproduction. Les marais de petite superficie s'assèchent généralement plus tôt au cours de la saison que les marais de grande superficie, ce qui pourrait raccourcir la période de pollinisation dans les petits marais et donc diminuer le taux de fécondation. Cependant, les marais les plus petits sont aussi les moins profonds, et de ce fait la phénologie de la floraison est plus avancée. Par exemple, en 1996 la floraison a commencé début mai dans les marais de petite superficie et seulement en juin pour les marais les plus grands.

Le taux de fécondité diffère également selon que les populations locales appartiennent à l'ensemble de Roquehaute ou à celui de la Tour du Valat. Les populations locales de Roquehaute ont un taux de fécondité plus faible que celui des populations locales de la Tour du Valat occupant des superficies comparables (< 400 m²). Cette différence peut être due au contexte régional de ces deux ensembles de populations, pouvant influer sur les flux polliniques entre populations locales et/ou sur le nombre de genets présents chaque population. A

Roquehaute, la dense végétation arbustive qui entoure les mares semble être un obstacle important à la pollinisation anémophile inter-mare. En effet, alors que le succès des pollinisations supplémentaires inter-mare montre que les mares même très proches sont colonisées par des genets différents potentiellement capables de s'inter-féconder, le taux de fécondité est très faible dans toutes les mares étudiées. Une exception a cependant été rencontrée lors la pollinisation manuelle entre la mare n° 90 et 69 qui n'a pas donné lieu à fécondation (le pollen collecté dans la mare n° 69 ayant par ailleurs fécondé les fleurs de la mare n°63). La particularité morphologique des fleurs (styles très courts) observées dans les mares 90 et 69 laisse supposer que ces deux mares, très proches l'une de l'autre, puissent être colonisées végétativement par un même genet présentant un dysfonctionnement de la fonction femelle. Des cas de clones stériles se propageant uniquement végétativement ont été mentionnés chez plusieurs espèces de plantes aquatiques (Eckert et Barrett 1993).

Dans la réserve de la Tour du Valat, le paysage plus ouvert peut être plus favorable aux flux polliniques inter-populations, bien que la distance parfois importante entre les populations ainsi que certaines barrières naturelles (ex: rideau d'arbres) puissent gêner la pollinisation anémophile. De plus, cette réserve est située dans une grande zone humide (le delta du Rhône), incluant un grand nombre de marais de superficie souvent très importante, dans laquelle *S. maritimus* est une espèce très commune. Des flux de graines entre populations (via les connexions hydrographiques ou le transport par les animaux) peuvent assurer le recrutement de nouveaux genets dans les petites populations. A l'inverse, la réserve de Roquehaute couvre une superficie très réduite et est isolée d'autres milieux aquatiques sur un plateau basaltique. De plus, *S. maritimus*, présent seulement dans une quinzaine de mares, est une espèce peu fréquente dans ce milieu. Un très faible stock de graines, limitant le recrutement des individus, pourrait expliquer le faible nombre de genets présents dans chaque mare quelque soit la superficie occupée par les populations. Dans ce cas, la dynamique de cet ensemble de populations serait fragile, chaque petite population locale assurant son maintien grâce à la croissance clonale d'un ou de très peu de genets et les probabilités de colonisation de nouvelles mares étant faibles à cause de la faible production de graines.

Chez *S. maritimus*, le mode de clonalité (production de rhizomes et tubercules souterrains) permet le maintien et la propagation des genets dans les populations locales. Les résultats de Roquehaute montrent qu'un seul type d'incompatibilité, correspondant probablement à un seul genet, peut couvrir grâce à la propagation clonale plusieurs dizaines de

m². En revanche, à l'échelle des ensembles de populations locales, la colonisation de nouveaux habitats est assurée par la dissémination des graines qui flottent à la surface de l'eau (Clevering 1995). Quand la superficie occupée par chaque population locale est limitée en raison de la taille réduite de l'habitat, comme par exemple à Roquehaute, un très petit nombre de genets (voir un seul) peut alors saturer l'espace disponible par propagation clonale. Ce ou ces individus ont alors un faible succès de la reproduction sexuée à cause du déficit en allo-pollen compatible et donc de faible probabilité de dispersion de leur descendance. Dans ce cas, des pressions de sélection divergentes selon l'échelle spatiale considérée pourraient s'exercer sur la clonalité (Olivieri et al. 1995). A l'échelle des populations locales, la clonalité, en tant que puissant moyen de propagation spatiale et de persistance des genets pourrait être positivement sélectionnée. Au contraire à l'échelle des méta-populations, la capacité de propagation locale des genets grâce à la clonalité pourrait être contre sélectionnée en raison des contraintes qu' elle représente pour la production de graines, seul moyen de dispersion vers d'autres habitats.

Conclusion

Scirpus maritimus: un modèle de clonalité peu étudié

Les objectifs de cette étude étaient de caractériser les traits propres au fonctionnement et à l'architecture de *S. maritimus* et de comprendre comment ces traits pouvaient intervenir dans la dynamique des populations.

S. maritimus présente un fonctionnement et une architecture clonale originaux comparés aux procédés de multiplication végétative classiquement étudiés chez les plantes clonales. Jusqu'à présent, beaucoup d'études ont porté sur les espèces stolonifères se développant dans des milieux terrestres spatialement hétérogènes (exemple: *Trifolium repens*), ou bien encore sur les espèces rhizomateuses des milieux terrestres à faibles niveaux de ressources (exemple: *Carex bigelowii*). A la différence de ces espèces, les genets de *S. maritimus*, qui se développent en milieux aquatiques, assurent leur survie grâce au stockage des réserves dans des organes spécialisés (tubercules), et produisent des ramets présentant une forte variabilité morphologique et fonctionnelle. Ces caractéristiques du fonctionnement et de l'architecture clonale de *S. maritimus* ont permis d'aborder sous des angles nouveaux certains aspects de la clonalité déjà très largement travaillés (ex: intégration physiologique, régulation densité-dépendante de la croissance), et également d'aborder des thèmes moins étudiés jusqu'à présent (ex: stockage des réserves, variabilité morphologique et spécialisation fonctionnelle des ramets).

Malgré l'existence d'un très grand nombre d'espèces clonales pérennes capables de stocker des réserves dans des organes spécialisés (ex: tubercules, bulbes), très peu d'études ont porté sur la fonction de stockage des réserves assurée par la clonalité. Aussi, plusieurs auteurs ont récemment souligné la nécessité de recherche fondamentale sur le rôle du stockage des réserves dans la survie des genets et la régulation des populations clonales (Suzuki & Hutchings 1997, Klimeš et al. 1997).

- Stockage des réserves et persistance des genets dans le milieu:

Pour assurer leur maintien dans le milieu, les genets de *S. maritimus* présentent une forme de 'division du travail' entre génération de ramets, déjà mise en évidence chez *Carex bigelowii* (Jónsdóttir & Callaghan 1988). Les anciennes générations, qui ne sont plus constituées que d'organes souterrains, assurent le stockage des réserves et le maintien d'une

banque de bourgeons dormants alors que les jeunes ramets assurent l'assimilation chlorophyllienne et la capture des nutriments. Ce changement des fonctions assurées au cours de la vie des ramets a été interprété comme un moyen de maximiser l'acquisition des ressources dans les milieux pauvres et variables (Jónsdóttir et al. 1996).

Nous avons montré chez *S. maritimus* le rôle du maintien de connexions physiologiques entre les ramets anciens (tubercules) dans le maintien d'un stock de bourgeons dormants et de réserves pouvant être mobilisées après la destruction du réseau des rhizomes par les prédateurs (piétinement par les grands herbivores, prédation des tubercules par les oies cendrées ou les sangliers). Le rôle de l'intégration physiologique dans le maintien d'une banque de bourgeons dormants permettant de répondre à des perturbations a déjà été envisagé chez des espèces telles que *Carex bigelowii* ou *Podophyllum peltatum* (Jónsdóttir & Watson 1997). Notre étude illustre cet aspect du fonctionnement en montrant le changement d'architecture qui suit la destruction des connexions physiologiques et qui se traduit par une production locale de nouveaux ramets.

Une caractéristique importante et originale de *S. maritimus* est que les réserves ne sont pas uniformément réparties le long des rhizomes, mais sont concentrées dans des tubercules de taille très variable. Par cette caractéristique morphologique *S. maritimus* diffère des prédictions d'égale répartition des ressources entre les ramets chez les espèces présentant un fort degré d'intégration physiologique (Hutchings & Moggie 1990). La variabilité de la taille des tubercules de *S. maritimus* semble être le résultat d'un fort flux acropétale des ressources le long des rhizomes en cours de formation. Le maintien de connexions physiologiques entre les ramets semble donc permettre de générer la variabilité morphologique des ramets de *S. maritimus*. Etant donné le rôle des connexions physiologiques dans le fonctionnement clonal de cette espèce (maintien en dormance des bourgeons axillaires, variabilité morphologique et fonctionnelle des ramets), il serait intéressant dans une étape ultérieure de déterminer le sens des translocations (uni ou bi-directionnel) et la nature des échanges entre ramets (hormones, eau, sels nutritifs, carbohydrates). Une telle investigation de l'intégration physiologique chez cette espèce permettrait de mieux connaître les différents aspects du fonctionnement intégré des genets mis en évidence dans cette étude.

Les conséquences, en terme de coût et de bénéfice pour la survie des genets, de la variabilité morphologique des ramets reste un sujet très peu étudié jusqu'à présent (Eriksson & Jerling 1990). Les fluctuations souvent importantes de niveaux d'eau dans les milieux

aquatiques peu profonds (frange externe des marais profonds ou marais temporaires) où émergent les tiges de *S. maritimus* au printemps pourraient représenter une contrainte importante pour cette macrophyte émergente. En effet, chez cette espèce, la capacité de photosynthèse sous l'eau est très limitée (Clevering et al. 1995), ce qui implique que les tiges doivent rapidement émerger à la surface. La relation que nous avons montrée entre la taille des tubercules hivernants et leur contribution dans la génération future de ramets (en particulier la hauteur du premier ramet émis), permet de penser que la variabilité de la taille des tubercules pourrait tamponner la variabilité temporelle des niveaux d'eau. La formation, en position apicale, de tubercules de taille plus importante, pourrait être un moyen d'augmenter les changes de survie des ramets émis au printemps à partir des organes souterrains en concentrant les réserves dans leur croissance. Cette interprétation ouvre des perspectives de travail intéressantes. Une étape ultérieure à cette étude pourrait par exemple consister à placer expérimentalement des séries de tubercules hivernants connectés *versus* déconnectés dans différentes conditions de niveau d'eau, afin de mesurer le taux de survie des ramets produits en fonction de la taille des tubercules hivernants, et également de déterminer le rôle de l'intégration physiologique dans la réponse des genets aux variations du niveau d'eau (démarrage *versus* dormance des tubercules par le jeu des dominances apicales, transfert de réserves entre tubercules).

- Stockage des réserves et régulation densité-dépendante de la croissance:

L'importante capacité de régulation densité-dépendante du recrutement des ramets, observée chez beaucoup de plantes clonales, a suscité beaucoup d'études essayant de déterminer si les plantes clonales sont soumises, au même titre que les espèces non-clonales, à la mortalité densité-dépendante ou bien possèdent des mécanismes de régulation permettant d'échapper à cette pression de sélection (Hutchings 1979, de Kroon 1993, Suzuki & Hutchings 1997).

Deux aspects du fonctionnement clonal de *S. maritimus*, mis en évidence dans cette étude, montrent l'existence d'une interaction entre le stockage des réserves et la régulation de la densité:

(1) Le maintien de connexions physiologiques entre les tubercules hivernants permet de réguler le nombre de nouveaux ramets formés chaque printemps à partir des organes souterrains.

(2) Au cours de la saison de croissance, la diminution du ratio biomasse des parties vertes / des tubercules au fur et à mesure des itérations de ramets le long des rhizomes est accentuée quand la densité des tiges est élevée. Cette régulation densité-dépendante de l'allocation des ressources entre parties aériennes et organes de stockage pourrait être un moyen de limiter la compétition. Suzuki & Hutchings (1997) ont en effet suggéré que l'allocation dans les organes de réserves, associée à une réduction de croissance des parties aériennes et donc de la compétition entre tiges pourrait expliquer l'absence de mortalité densité-dépendante observée chez beaucoup d'espèces clonales pérennes.

Les compromis entre traits d'histoire de vie:

- Taille *versus* nombre des ramets:

L'étude des compromis existant entre les différents traits d'histoire de vie, et leurs conséquences sur la dynamique des populations reste un thème central de la biologie des populations. L'investissement des individus dans la quantité *versus* la qualité de leurs descendants représente un des compromis les plus étudiés. Cette notion a été très peu appliquée à la clonalité, en tant que mode de reproduction asexuée, en terme de quantité *versus* qualité des ramets produits. La culture de plantules de *S. maritimus* réalisée à différents niveaux de densité montre que le compromis entre la taille *versus* du nombre de ramets produits peut dépendre du type de compétition intra *versus* inter-individu expérimenté par les ramets. Les plantules de *S. maritimus* forment un nombre plus important de ramets en situation de compétition interclonale qu'intraclonale, mais en contre partie la taille des ramets est plus élevée en situation de compétition intra-clonale. Ces résultats sont en accord avec les prédictions de Pitelka (1984). En situation de compétition intraclonale, l'arrêt du recrutement de nouveaux ramets avant que le niveau de densité n'implique une diminution de la taille des ramets permettrait d'éviter la mortalité densité-dépendante de ramets et la diminution de leur capacité à se reproduire par voie sexuée ou végétative (ex: importance de la taille des tubercules dans leur contribution aux générations futures de ramets dans le cas de *S. maritimus*). En revanche, lors de la compétition entre genets, la production d'un nombre important de ramets serait plus avantageuse que l'arrêt du recrutement.

- Reproduction sexuée *versus* clonalité:

Un autre type de compromis, celui-là très largement étudié, est le compromis entre clonalité et reproduction sexuée. La plupart des travaux réalisés sur ce thème portent sur le compromis physiologique pour l'allocation des ressources dans ces deux types de reproduction (voir Lovett-Doust 1989). En revanche, les contraintes générées par l'architecture clonale sur les patrons de pollinisation, et leurs conséquences sur le régime de reproduction sexuée, mises en évidence par Handel (1985), ont fait l'objet de moins d'attention. Les mesures du taux de fécondité ainsi que la réalisation de pollinisations manuelles supplémentaires dans les populations naturelles de *S. maritimus*, ont révélé un plus faible succès de la reproduction sexuée dans les populations occupant de petite superficie en raison d'un déficit en allo-pollen compatible . Ces résultats suggèrent que chez les espèces auto-incompatibles, la multiplication végétative, qui permet à un génotype de rapidement coloniser un site, peut représenter une contrainte pour la reproduction sexuée dans les habitats homogènes de petite superficie, pouvant être saturés par un seul ou très peu de genets. Ainsi, le compromis entre reproduction sexuée et clonalité peut aussi être envisagé en terme de colonisation locale *versus* fécondité.

Applications des résultats pour la conservation des zones humides

S. maritimus a une place importante dans les communautés d'émergentes des marais peu profonds. Dans les marais temporaires méditerranéens, elle est souvent l'espèce émergente dominante, occupant ainsi des surfaces importantes et conditionnant la structuration de la végétation submergée (Grillas 1992). Elle assure également un rôle important pour la faune sauvage et domestique en structurant les habitats (zones d'alimentation, de couvert, de reproduction) et en fournissant une ressource alimentaire importante. Ainsi, les fonctions de structuration de la végétation émergente et émergée, de structuration des habitats et de source d'alimentation pour la faune sauvage et domestique confèrent à cette espèce un rôle écologique important dans les zones humides (Kantrud 1996 pour revue).

Les connaissances acquises dans cette étude sur la biologie et la dynamique des populations de *S. maritimus*, présentent plusieurs intérêts en terme d'application de la recherche pour la conservation, la gestion et la réhabilitation de ces milieux.

Les objectifs de gestion des peuplements à *S. maritimus* peuvent être multiples comme par exemple (a) structurer les communautés végétales, (b) fournir des zones de couvert lors de la mue, la migration, l'hivernage des oiseaux d'eau (c) des zones de gagnage pour les oiseaux herbivores ou granivores utilisant les graines de *S. maritimus* comme ressource alimentaire ou comme grit (ex: canards, foulques, certains limicoles, bernaches) (d) des zones d'alimentation pour les oies ou pour les sangliers qui consomment les tubercules.

Nous prendrons ici deux exemples précis d'objectifs de gestion de peuplements à *S. maritimus* afin de montrer comment les résultats de cette étude peuvent fournir un support de connaissance pour la réalisation de ces objectifs:

(1) Réalisation et maintien de zones de gagnage pour canards granivores:

Nous avons montré que le taux de floraison de *S. maritimus* est très variable d'une population à l'autre (de 5 à 80 % de tiges fleuries selon les populations sur le domaine de la Tour du Valat) et est influencé par le régime hydrique et la salinité. Le taux de floraison est plus élevé dans les milieux peu profonds et temporaires que dans les milieux profonds et permanents, et est également plus élevé dans les milieux modérément salés que dans les milieux doux. Ainsi une gestion adaptée du niveau d'eau et de la salinité peut favoriser le taux de floraison des populations. De plus, nous avons montré que la pollinisation croisée entre individus est nécessaire pour permettre la fécondation et donc la production de graines de *S. maritimus*. De ce fait, la présence d'un nombre important d'individus dans les populations assure un meilleur taux de fécondité. Les conditions nécessaires à la germination et à la survie des plantules de *S. maritimus* sont bien connues: très faible niveau d'eau et salinité faible dans des milieux ouverts (voir Clevering 1995 et Kantrud 1996 pour revue). Une gestion hydrique de type 'marais temporaire' avec assec estival, ainsi que l'ouverture des peuplements (ex: perturbations par sangliers, oies cendrée, herbivores domestiques) permettent de réunir les conditions nécessaires au recrutement de nouvelles plantules de *S. maritimus* à partir de la banque de graines et donc au maintien de plusieurs d'individus. La taille de l'habitat peut être un facteur limitant la fécondité de *S. maritimus*. Les habitats de petite superficie, pouvant être rapidement colonisés par un ou très peu d'individus, sont moins favorables pour la production d'un stock de graines important.

(2) Maintien de zones d'alimentation pour les oies cendrées ou les sangliers:

La consommation des tubercules de *S. maritimus* par les oies cendrées en hivernage sur le pourtour méditerranéen confère au *S. maritimus* un rôle important dans la conservation de cette espèce (Amat et al. 1991). La mise en évidence du rôle des connexions physiologiques entre les tubercules dans la gestion des réserves stockées et le maintien d'une banque de bourgeons dormants permet de mieux comprendre la réponse de *S. maritimus* à la fragmentation du réseau de rhizomes. Le démarrage végétatif, déclenché par la section des rhizomes, des tubercules restants après les perturbations est certainement un des mécanismes permettant d'expliquer l'importante capacité de récupération des peuplements de *S. maritimus* mentionnée dans la littérature (Amat 1986, Kantrud 1996). Ces connaissances montrent également les limites de cette récupération. La taille des tubercules isolés détermine la hauteur de la première tige émise ainsi que le nombre de tiges produites par multiplication végétative au cours de la saison de croissance. De ce fait, le nombre et la taille des tubercules restant après la prédation sont des paramètres qui conditionnent la capacité de recolonisation des zones prédatées. A ce sujet, il est intéressant de noter que les oies cendrées consomment préférentiellement les petits tubercules de moins d'un centimètre de longueur (Amat 1995). En revanche, les sangliers, qui sont également d'importants consommateurs de tubercules de *S. maritimus*, semblent laisser après leur passage des tubercules de taille très variable (Trangosi 1996). Il serait intéressant de comparer les effets du type de prédation (ex: oies cendrées *versus* sangliers) en terme de taille des tubercules restants, et de leur degré d'intégration physiologique (ex: nombre de tubercules par fragment de rhizomes, proportion de tubercules complètement isolés) sur la capacité de récupération après perturbation. La destruction des connexions physiologiques empêche une réponse intégrée des tubercules restants aux différentes conditions de milieux (ex: transfert de ressources entre les tubercules), le succès du démarrage végétatif de chaque tubercule isolé ne dépendant plus que de la quantité de réserves qu'il contient. Afin d'assurer le maintien et la pérennité des zones de *S. maritimus* destinées au gagnage des oies ou à l'alimentation des sangliers, la prise en compte de ces connaissances permet de suggérer de laisser une période de récupération après perturbation, en évitant par exemple le cumul de perturbations (ex: prédation par les oies cendrées en hiver plus pâturage par les herbivores domestiques au printemps) ou de cumuler perturbation et stress abiotique (ex: prédation des tubercules en hiver suivi d'un important niveau d'eau au printemps ou d'une forte salinité ou sécheresse) qui risquent de dépasser la capacité de récupération des peuplements et d'entraîner leur disparition (pour exemple: Esselink et al. 1997).

Au-delà des connaissances précises, applicables dans le cadre de la réalisation d'objectifs de gestion destinée à la conservation des milieux, la recherche scientifique peut également apporter des idées et des concepts permettant de faire évoluer le regard que l'on porte sur les milieux naturels. L'idée du maintien de la diversité biologique est souvent associée à l'idée de sauvegarde d'habitats rares ou en cours de raréfaction auxquels sont inféodées des espèces ou des communautés d'espèces menacées. La diversité des habitats peut également être à l'origine d'une diversité intra-spécifique. L'existence de différentes populations d'une même espèce, occupant des habitats diversifiés et soumises à des pressions de sélection différentes, permet également de maintenir une diversité génétique à la source des processus évolutifs.

Scirpus maritimus est une espèce commune, largement répandue dans les zones humides, et qui peut présenter une importante variabilité morphologique en terme de hauteur et couleur des tiges, et de formes des inflorescences (Norlindh 1972, Podjeski 1981, Krahulec et al. 1996). Sur le domaine de la Tour du Valat, les différences morphologiques (taille des tubercules) mesurées entre les populations locales des marais profonds et peu profonds peuvent être le résultat d'une plasticité phénotypique en réponse à des différences de durée d'inondation ou de qualité nutritive du substrat. Une autre hypothèse possible est qu'une différence de pression de sélection exercée par le régime hydrique dans ces milieux soit à l'origine d'une différentiation génétique des populations. Des différences morphologiques des inflorescences (longueur des épillets, épillets pédonculés *vs* sessiles, forme et couleur des graines) également remarquées entre certaines de ces populations (pers. obs.) confortent cette deuxième hypothèse. C'est aspect intéressant mériterait d'être approfondi en réalisant par exemple des études génétiques permettant de mesurer la diversité génétique intra et interpopulation, et/ou des expériences de mise en culture en conditions contrôlées, ou de transplantation réciproque. En effet, la mise en évidence d'une différentiation génétique des populations de *S. maritimus* selon le régime hydrique du milieu serait un argument pour tenter de limiter la tendance, observée depuis quelques dizaines d'années dans des zones humides telles que la Camargue, à l'homogénéisation de la gestion hydrique, aussi bien d'un point de vue spatial (même régime hydrique dans tous les marais) que temporel (marais permanents sans fluctuation du niveau d'eau) (Tamisier & Grillas 1994).

Enfin, cette étude montre que la clonalité peut être une composante importante de la dynamique des populations de plantes. Dans les zones humides, les espèces clonales sont plus que majoritaires (Klimeš et al. 1997). Par exemple, les espèces dominantes des communautés d'émergentes sont toutes des espèces clonales qui comme *S. maritimus* stockent des réserves dans des organes souterrains pour assurer le redémarrage végétatif au printemps (ex: *Scirpus* spp., *Juncus* spp., *Typha* spp., *Phragmites* spp.). La clonalité est tout aussi largement représentée parmi les espèces émergées (*Zannichellia* spp., *Ruppia* spp., *Callitriche* sp., *Chara* spp., *Zostera* spp. etc.), ou bien encore les plantes envahissantes (ex: *Ludwigia* spp.). Les procédés de multiplication végétative rencontrés chez ces espèces aquatiques sont très diversifiés (Grace 1993). A la différence du *S. maritimus,* beaucoup d'espèces aquatiques utilisent la clonalité comme un moyen de propagation à longue distance en produisant des propagules végétatives pouvant être disséminées par le réseau hydraulique. L'étude des procédés de multiplication végétative chez les espèces clonales et des conséquences de l'architecture et du fonctionnement clonal sur la survie et la reproduction sexuée des individus permet de mieux comprendre la dynamique des populations et donc de mieux protéger et/ou gérer ces communautés végétales.

Références bibliographiques

Abrahamson, W. G. 1980. Demography and vegetative reproduction. In: O.T. Solbrig (ed.), Demography and evolution in plant populations. Oxford: Blackwell, pp 89-106

Agren, J. 1996. Population size, pollinator limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. Ecology 77: 1779-1790

Alpert, P. and Stuefer, J. F. 1997. Division of labour in clonal plants. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds), The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp 137-154

Amat, J. A. 1986. Numerical trends, habitat use, and activity of Greylag Goose Anser anser population. Bird Study 33: 74-80

Amat, J. A. 1995. Effects of wintering greylag geese *Anser anser* on their *Scipus* food plants. Ecography 18: 155-163

Amat, J. A., Garcia-Criado, B. and Garcia-Ciudad, A. 1991. Food, feeding behaviour and nutritional ecology of wintering greylag geese *Anser Anser*. Ardea 79: 271-282

Antonovics, J. and Levin, D. A. 1980. The ecological and genetic consequences of density-dependent regulation in plants. Ann. Rev. Ecol. Syst. 11: 411-452

Ashmun, J. W., Brown, R. L. and Pitelka, L. F. 1985. Biomass allocation in *Aster acuminatus*: variation within and among populations over 5 years. Can. J. Bot. 63: 410-417

Aspinwall, N. and Christian, T. 1992. Clonal structure, genotypic diversity, and seed production in populations of *Filipendula rubra* (Rosaceae) from the northcentral united states. Am. J. Bot. 1992: 294-299

Back, A. J., Kron, P. and Stewart, S. C. 1996. Phenological regulation of opportunities for within-inflorescence geitonogamy in the clonal species, *Iris versicolor* (Iridaceae). Am. J. Bot. 83: 1033-1040

Barrett, J. P. and Silander, J. A. 1992. Seedling recruitement limitation in white clover (*Trifolium repens*, Leguminosae). Am. J. Bot 79: 643-649

Barrett, S. C. H., Eckert, C. G. and Husband, B. C. 1993. Evolutionary processes in aquatic plant populations. Aquatic Botany 44: 105-145

Bazzaz, F. A., Chiariello, N. R., Coley, P. D. and Pitelka, L. F. 1987. Allocating resources to reproduction and defence. Bioscience 37: 58-67

Begon, M., Harper, J. L. and Townsend, C. R. 1986. Ecology: individuals, populations and communities. Blackwell Scientific publications. Oxford

Bell, A. D. 1984. Dynamic morphology: a contribution to plant population ecology. In R. Dirzo and J. Saukhan (eds), Perspectives on plant population ecology, pp. 48-65. Sinauer, Sunderland

Bell, G. 1988. Sex and death in Protozoa, the History of an Obsession. Cambridge Univ. Press, Cambridge

Benner, B. and Watson, M. A. 1989. Developmental ecology of mayapple: seasonal patterns of resource distribution in sexual and vegetative rhizome systems. Funct. Ecol. 3: 539-547

Bierzychudek, P. 1987. Patterns in plant parthenogenesis. In: Stearns, S. C. (ed), the evolution of sex and its consequences. Birkhäuser Verlag Basel. pp 197-216

Bishop, G. F., Davy, A. J. and Jeffries, R. L. 1978. Demography of *Hieracium pilosa* in a Breck grassland. J. Ecol. 66: 615-629

Brewer, J. S. and Bertness, M. D. 1996. Disturbance and intraspecific variation in the clonal morphology of salt marsh perennials. Oikos 77: 107-116

Briske, D. D. and Butler, J. L. 1989. Density-dependant regulation of ramet populations within the bunchgrass *Schizachyrium scoparium*: interclonal versus intraclonal interference. J. Ecol. 77: 963-974

Byers, D. L. 1995. Pollen quantity and quality as explanations for low seed set in small populations exemplified by *Eupatorium* (Asteraceae). Am. J. Bot. 82: 1000-1006

Cain, M. L. 1990. Patterns of *Solidago altissima* ramet growth and mortality: the role of below-ground ramet connections. Oecologia 82: 201-209

Carlsson, B. A. and Callaghan, T. V. 1990. Programmed tiller differentiation, intraclonal density regulation and nutrient dynamics in *Carex bigelowii*. Oikos 58: 219-230

Cheplick, G. P. 1995. Genotypic variation and plasticity of clonal growth in relation to nutrient availability in *Amphibromus scabrivalvis*. J. Ecol. 83: 459-468

Clements, F. E. 1929. Plant competition: an analysis of community function. Carnegie Institute of Washington, Washington, D. C.

Clevering, O; 1995. Life-history characteristics of *Scirpus lacustris* and *Scirpus maritimus*, with special reference to the restoration of these species in former tidal areas. PhD thesis, Wageningen, The Netherlands

Clevering, O., van Vierssen, W. and Blom, C. W. P. M. 1995. Growth, photosynthesis and carbohydrate utilization in submerged *Scirpus maritimus* L. during spring growth. New Phytol. 130: 105-116

Cook, R. E. 1979. Asexual reproduction: a further consideration. Am. Nat. 113: 769-772

Cook, R. E. 1983. Clonal plant populations. Am. Sci. 71: 244-253

Cook, R. E. 1985. Growth and development in clonal plant populations. In J.B.C. Jackson, L.W. Buss and R.E. Cook (eds), Population biology and evolution of clonal organisms, pp 399-436. Yale University Press. New Haven

Cronberg, N. 1996. Clonal structure and fertility in a sympatric population of the peat mosses *Sphagnum rubellum* and *Sphagnum capillifolium*. Can. J. Bot. 74: 1375-1385

Dardaillon, M. 1984. Le sanglier et le milieu camarguais, dynamique coadaptative. Thèse, Université P. Sabatier, Toulouse, France: 345 pp.

de Jong, T. J., Waser, N. M. and Klinkhamer, P. G. L. 1993. Geitonogamy: the neglected side of selfing. Trends Ecol. Evol. 8: 321-325

de Jong, T. J., Waser, N. M., Price, M. V. and Ring, R. M. 1992. Plant size, geitonogamy and seed set in *Ipomopsis aggregata*. Oecologia 89: 310-315

de Kroon, H. 1993. Competition between shoots in stands of clonal plants. Plant Species Biol. 8: 85-94

de Kroon, H. 1995. Morphological plasticity in clonal plants, the foraging concept reconsidered. J. Ecol. 83: 143-152

de Kroon, H. and Kalliola, R. 1995. Shoot dynamics of the giant grass *Gynerium sagittatum* in Peruvian Amazon floodplains, a clonal plant that does show self-thinning. Oecologia 101: 124-131

de Kroon, H. and Kwant, R. 1991. Density-dependent growth responses in two clonal herbs: regulation of shoot density. Oecologia 86: 298-304

de Kroon, H. and Schieving, F. 1990. Resource partitioning in relation to clonal growth stategy. In: J. van Groenendael and H. de Kroon (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 113-130

de Kroon, H., Hara, T. and Kwant, R. 1992. Size hierarchies of shoots and clones in clonal herb monocultures: do clonal and non-clonal plants compete differently? Oikos 63: 410-419

de Kroon, H., Whigham, D. F. and Watson, 1991. Developmental ecology of mayapple: effects of rhizome severing, fertilization and timing of shoot senescence. Funct. Ecol. 5: 360-368

De Steven, D. 1989. Genet and ramet demography of *Oenocarpus mapora* ssp. *mapora*, a clonal palm of panamanian tropical moist forest. J. Ecol. 77: 579-596

D'Hertefeldt, T. and van der Putten W. H. 1998. Physiological integration of the clonal plant *Carex arenaria* and its response to soil-borne pathogens. Oikos 81: 229-237

Duncan, P. 1992. Horses and grasses: the nutritional ecology of equids and their impact on the Camargue. Ecological studies vol. 87. Springer-Verlag, New York, NY

Eckert, C. G. and Barrett, S. C. H. 1993. Clonal reproduction and patterns of genotypic diversity in *Decodon verticillatus* (Lythraceae). Am. J. Bot. 80: 1175-1182

Ellstrand, N. C. and Roose, M. L. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. Amer. J. Bot. 74: 123-131

Eriksson, O. 1988. Patterns of ramet survivorship in clonal fragments of the stoloniferous plant *Potentilla anserina*. Ecology 69: 736-740

Eriksson, O. 1989. Seedling dynamics and life histories in clonal plants. Oikos 55: 231-238

Eriksson, O.1992. Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. Oikos 63: 439-448

Eriksson, O. 1993. Dynamics of genets in clonal plants. Trends Ecol. Evol 8: 313-316

Eriksson, O. 1997. Clonal life histories and the evolution of seed recruitment. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds), The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp. 211-226

Eriksson, O. and Bremer, B. 1993. Genet dynamics of the clonal plant *Rubus saxatilis*. J. Ecol. 81: 533-542

Eriksson, O. and Ehrlén, J. 1992. Seed and microsite limitation of recruitment in plant populations. Oecologia 91: 360-364

Eriksson, O. and Jerling, L. 1990. Hierarchical selection and risk spreading in clonal plants. In: J. van Groenendael and H. de Kroon (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 79-94.

Esselink, P., Helder, G. J. F., Aerts, B. A. and Gerdes, K. 1997. The impact of grubbing by Greylag Geese (Anser anser) on the vegetation dynamics of a tidal marsh. Aquatic Botany 55: 261-279

Fagerström, T. 1992. The meristem-merietem cycle as a basis for defining fitness in clonal plants. Oikos 63: 449-453

Fearn, G. M. 1973. *Hippocrepis comosa* L.. J. Ecol. 61: 915-926

Gouyon, P. H. Maurice, S., Reboud, X. and Till-Bottraud, I. 1993. Le sexe pour quoi faire. La Recherche 24: 70-76

Grace, J. B. 1984. Effects of tubificid worms on the germination and establishment of *Typha*. Ecology 65: 1689-1693.

Grace, J. B. 1993. The adaptive significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective. Aquatic Botany 44: 159-180

Grillas, P. 1992. Les communautés de macrophytes submergées des marais temporaires oligo-halins de Camargue. Etude expérimentale des causes de la distribution des espèces. Thèse, Université de Rennes I, France

Gu, J. and Marshall, C. 1988. The effect of tiller removal and tiller defoliation on competition between the main shoot and tillers of spring barley. Ann. Appl. Biol. 112: 597-608

Hamrick, J. L. and Godt, M. J. W. 1989. Allozyme diversity in plants species. In Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. and Weir, B. S. (eds), Plant population genetics, breeding and genetic resources, pp. 43-63. Sinauer, Sunderland, MA.

Handel, S. N. 1985. The intrusion of clonal growth patterns on plant breeding systems. Am. Nat. 125: 367-384

Hara, T., van der Toorn, J. and Mook, J. H. 1993. Growth dynamics and size structure of shoots of *Phragmites australis*, a clonal plant. J. Ecol. 81: 47-60

Harada, Y., Kawano, S. and Iwasa, Y. 1997. Probability of sexual identity: inferring the relative success of sexual versus clonal reproduction from spatial genetic patterns. J. Ecol. 85: 591-600

Harper, J. L. 1977. The population biology of plants. Academic Press, London

Harper, J. L. 1978. The demography of plants with clonal growth. In A.H.J. Freysen and J.W. Woldendorp (eds), Structure and functioning of plant populations, pp. 27-45. Noth Holland, Amsterdam

Harper, J. L. and Bell, A. D. 1979. The population dynamics of growth in organisms with modular construction. In: Population dynamics. The 20th Symposium of the British Ecological Society. Blackwell Scientific Publication. Oxford

Hartnett, D. C. 1990. Size-dependent allocation to sexual and vegetative reproduction in four composites. Oecologia 84: 254-259

Hartnett, D. C. 1993. Regulation of clonal growth and dynamics of *Panicum virgatum* (Poaceae) in tallgrass prairie: effects of neighbor removal and nutrient addition. Am. J. Bot. 80: 1114-1120

Hartnett, D. C. and Bazzaz, F. A. 1985. The genet and ramet dynamics of *Solidago canadensis* in an abandoned field. J. Ecol. 73: 407-413

Herben, T. and Hara, T. 1997. Competition and spatial dynamics of clonal plants. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds), The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp 311-330

Horvitz, C. C. and Schemske, D. W. 1988. Demographic cost of reproduction in a neotropical herb: an experimental field study. Ecology 69: 1741-1745

Hroudová, Z. and Zákravský, P. 1995. *Bolbochoenus maritimus* (L.) Palla - tuber production and dormancy in natural habitats. Abstracta Botanica 19: 89-94

Hughes, R. N. and Cancino, J. M. 1985. Ecological overview of cloning in metazoa. In J.B.C. Jackson, L.W. Buss and R.E. Cook (eds), Population biology and evolution of clonal organisms, pp 153-186. Yale University Press. New Haven

Husband, B. C. and Barrett, S. C. H. 1996. A metapopulation perspective in plant population biology. J. Ecol. 84: 461-469

Hutchings, M. J. 1979. Weight-density relationships in ramet populations of clonal perennial herbs, with special reference to the - 3/2 power law. J. Ecol. 67: 21-33

Hutchings, M. J. and Bradbury, I. K. 1986. Ecological perspectives on clonal perennial herbs. BioScience 36: 178-182

Hutchings, M. J. and Mogie, M. 1990. The spatial structure of clonal plants: control and consequences. In: J. van Groenendael and H. de Kroon (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 57-78.

Hutchings, M. J. and Price, A. C. P. 1993. Does physiological integration enable clonal herbs to integrate the effects of environmental heterogeneity? Plant Species Biology 8: 95-105

Hutchings, M. J. and Wijesinghe, D. K. 1997. Patchy habitats, division of labour and growth dividends in clonal plants. Trends. Ecol. Evol. 12: 390-394

Jelinski, D. E. and Cheliak, W. M. 1992. Genetic diversity and spatial subdivision of *Populus tremuloides* (salicaceae) in a heterogeneous landscape. Am. J. Bot. 79: 728-736

Jerling, L. 1988. Clone dynamics, population dynamics and vegetation pattern of *Glaux maritima* on a Baltic seashore meadow. Vegetation 74: 171-185

Jónsdóttir, I. S. and Callaghan, T. V. 1988. Interrelationships between different generations of interconnected tillers of *Carex bigelowii*. Oikos, 52: 120-128

Jónsdóttir, I. S. and Callaghan, T. V. 1989. Localized defoliation stress and the movement of 14C-photoassimilates between tillers of *Carex bigelowii*. Oikos 54: 211-219

Jónsdóttir, I. S. and Watson, M. A. 1997. Physiological integration in resource-poor environments. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds), The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp 109-136

Jónsdóttir, I. S., Callaghan, T. V. and Headley, A. D. 1996. Resource dynamics within arctic clonal plants. Ecological Bulletins, 45: 53-64

Jonsson, B. O., Jónsdóttir, I. S. and Cronberg, N. 1996. Clonal diversity and allozyme variation in populations of the artic sedge *Carex bigelowii* (Cyperaceae). J. Ecol. 84: 449-459

Jurik, T. W. 1983. Reproductive effort and CO_2 dynamics of wild stawberry populations. Ecology 64: 1329-1342

Kantrud, H. A. 1996. The alkali (*Scirpus maritimus* L.) and saltmarsh (*S. robustus* Pursh) bulrushes: a literature review. U.S. National Biological Service Information and Technology report 6. 77 pp

Kay, S. and Harper, J. L. 1974. The regulation of plant and tiller density in a grass sward. J. Ecol. 62: 97-105

Keddy, P. A. and Ellis, T. H. 1985. Seedling recruitment of 11 wetland species along a water level gradient: shared or distinct responses. Can. J. Bot. 63: 1876-1879

Kelly, C. K. 1995. Thoughts on clonal integration: facing the evolutionary context. Evol. Ecol. 9: 575-585

Kemperman, J. A. and Barnes, B. V. 1976. Clone size in American aspens. Can. J. Bot. 54: 2603-2607

Klimeš, L., Klimešovà, J. Hendriks, R., and van Groenendael, J. 1997. Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds), The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp 1-30.

Krahulec, F., Frantik, T. and Hroudova, Z. 1997. Morphological variation of *Bolboschoenus maritimus* population over a ten year period. Preslia 68: 13-21

Leereveld, H. 1984. Anthecological relations between reputedly anemophilous flowers and syrphid flies. VI. Aspects of the anthecology of Cyperaceae and *Sparganium erectum* L.. Acta Botanica Neerlandica 33: 475-482

Lieffers, V. J. and Shay, J. M. 1981. The effects of water level on the growth and reproduction of *Scirpus maritimus* var. *paludosus*. Can. J. Bot. 59: 118-121

Lieffers, V. J. and Shay, J. M. 1982a. Seasonal growth and standing crop of *Scirpus maritimus* var. *paludosus* in Saskatchewan. Can. J. Bot. 60: 117-125

Lieffers, V. J. and Shay, J. M. 1982b. Distribution and varaition in growth of *Scirpus maritimus* var. *paludosus* on the Cnadian prairies. Can. J. Bot. 60: 1938-1949

Lokker, C. Susko, D., Lovett-Doust, L. and Lovett-Doust J. 1994. Population genetic structure of *Vallisneria americana*, a dioecious clonal macrophyte. Am. J. Bot. 81: 1004-1012

Lovett Doust, J. 1989. Plant reproductive strategies and ressource allocation. Trends Ecol. Evol. 4: 230-234

Lovett Doust, L. 1981. Population dynamics and local specialisation in a clonal plant *Ranunculus repens*. I. The dynamics oof ramets in contrasting habitats. J. Ecol. 69: 743-755

Maddox, G. D., Cook, R. E., Winberger, P. H. and Gardescu, S. 1989. Clone structure in four *Solidago altissima* (Asteraceae) populations: rhizome connections within genotypes. Am. J. Bot. 76: 318-326

Makita, A. 1996. Density regulation during the regerneration of two monocarpic bamboos: self-thinning or intraclonal regulation? J. Veg. Sc. 7: 281-288

Marshall, C. 1990. Source-sink relations of interconnected ramets. In: J. van Groenendael and H. de Kroon (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 23-42.

Maynard Smith, J. 1971. What use is sex? J. Theor. Biol. 30: 319-335

Maynard Smith, J. 1978. The evolution of sex. Cambridge University Press

Mc Lellan, A. J., Prati, D., Kaltz, O. and Schmid, B. 1997. Structure and analysis of phenotypic and genetic variation in clonal plants. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds), The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp. 185-210

Mesléard, F., Grillas, P. and Tan Ham, L. 1995. Restoration of seasonally-flooded marshes in abandoned ricefirelds in the Camargue (southern France) - preliminary results on vegetation and use by ducks. Ecological Engineering 5: 95-106

Mogie, M. and Hutchings, M. J. 1990. Phylogeny, ontogeny and clonal growth in vascular plants. In: J. van Groenendael and H. de Kroon (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 3-22.

Molinier, R. and Tallon, G. 1974. Documents pour un inventaire des plantes vasculaires de la Camargue. Bull. Hist. Nat. Marseille T 34

Mook, J. H. and van der Toorn, J. 1982. The influence of environmental factors and management on stands of *Phragmites australis*. 2. Effetcs on yield and its relationships with shoot density. J. Appl. Ecol. 19: 501-517

Murawski, D. A. and Hamrick, J. L. 1990. Local genetic and clonal structure in the tropical terrestrial bromeliad, *Aechmea magdalenae*. Am. J. Bot. 77: 1201-1208

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70: 3321-3323

Nilsson, S. G. and Wästljung, U. 1987. Seed predation and cross-pollination in mast-seeding beech (*Fagus sylvatica*) patches. Ecology 68: 260-265

Norlindh, T. 1972. Notes on the variation and taxonomy in the *Scirpus maritimus* complex. Bot. Notiser, Lund, 125: 397-405

Oinonen 1967. The correlation between the size of Finnish bracken (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) clones and certain periods of site history. Acta For. Fenn. 83: 1-51

Olivieri, I., Michalakis, Y. and Gouyon, P. H. 1995. Metapopulation genetics and the evolution of dispersal. Am. Nat. 146: 202-228

Orive, M. E. 1995. Senescence in organisms with clonal reproduction and complex life histories. Am. Nat. 145: 90-108

Pedersen, B. 1995. An evolutionary theory of clonal senescence. Theoretical Population Biology 47: 292-320

Pedersen, B. and Tuomi, J. 1995. Hierarchical selection and fitness in modular and clonal organisms. Oikos 73: 167-180

Peterson, C. J. and Jones, R. H. 1997. Clonality in woody plants. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds), The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp 263-289

Piquot, Y., Saumitou-Laprade, P., Petit, D., Vernet, P. and Epplen, J. T. 1996. Genotypic diversity revealed by allozymes and oligonucleotide DNA fingerprinting in French populations of the aquatic macrophyte *Sparganium erectum*. Mol. Ecol. 5: 251-258

Pirot, J. Y., Chessel, D. and Tamisier, A. 1984. Exploitation des zones humides de camargue par cinq espèces de canards de surface en hivernage et en transit: modelisation spatio-temporelle. Terre et vie 39:167-193

Pitelka, L. F. 1984. Application of the - 3/2 power law to clonal herbs. Am. Nat. 123: 442-449

Pitelka, L. F. and Ashmun, J. W. 1985. Physiology and integration of ramets in clonal plants. In J.B.C. Jackson, L.W. Buss and R.E. Cook (eds), Population biology and evolution of clonal organisms, pp 399-436. Yale University Press. New Haven

Pitelka, L. F., Hansen, S. B. and Ashmun, J. W. 1985. Population biology of *Clintonia borealis*. I. Ramet and patch Dynamics. J. Ecol. 73: 169-183

Podlejski, V. D. 1981. Observations sur *Scirpus maritimus* L. en Camargue. Ecologia Mediterranea n° 7.

Reekie, E. G. 1991. Cost of seed versus rhizome production in *Agropyron repens*. Can. J. Bot. 69: 2678-2683

Reekie, E. G. and Bazzaz, F. A. 1987a. Reproductive effort in plants. 1. Carbon allocation to reproduction. Am. Nat. 129: 876-896

Reekie, E. G. and Bazzaz, F. A. 1987b. Reproductive effort in plants. 3. Effect of reproduction on vegetative activity. Am. Nat. 129: 907-919

Richards, A. J. 1986. Plant breeding systems. George Allen and Unwin, London

Sackville Hamilton, N. R., Schmid, B. and Harper, J. L. 1987. Life-history concepts and the population biology of clonal organisms. Proc. R. Soc. Lond. B 232: 35-57

Schmid, B. 1990. Some ecological and evolutionary consequences of modular organization and clonal growth in plants. Evolutionary Trends in Plants 4: 25-33

Schmid, B. and Bazzaz, F. A. 1987. Clonal integration and population structure in perennials: effects of severing rhizome connections. Ecology 68: 2016-2022

Schmid, B., Bazzaz, F. A. and Weiner, J. 1995. Size dependency of sexual reproduction and clonal growth in two perennial plants. Can. J. Bot. 73: 1831-1837

Schmitt, J., Eccleston, J. and Ehrhardt, D. W. 1987. Dominance and suppression, size-dependent growth and self-thinning in a natural *Impatiens capensis* population. J. Ecol. 75: 651-665

Shumway, S. W. and Bertness, M. D. 1992. Salt stress limitation of seedling recruitment in a salt marsh plant community. Oecologia 92: 490-497.

Silander, J. A. 1985. Microevolution in clonal plants. In J.B.C. Jackson, L.W. Buss and R.E. Cook (eds), Population biology and evolution of clonal organisms, pp 107-152. Yale University Press. New Haven

Silvertown, J. W. 1982. Introduction to plant population ecology. Longman, London, 209 p

Silvertown, J., Franco, M., Pisanty, I. and Mendoza, A. 1993. Comparative plant demography: relative importance of life cycle components to the finite rate of increase in woody and herbaceous perennials. J. Ecol. 81: 465-476

Skalova, H., Pechackova, S., Suzuki, J., Herben, T., Hara, T., Hadincova, V. and Krahulec, F. 1997. Within population genetic differentiation in traits affecting clonal growth: *Festuca rubra* in a mountain grassland. J. Evol. Biol. 10: 383-406

Stearns, S. C. 1987. The evolution of sex and its consequences. Birkhäuser Verlag Basel

Stearns, S. C. 1992. The evolution of life histories. Oxford University Press. Oxford, U.K.

Steinger, T., Körner, C. and Schmid, B. 1996. Long-term persistence in a changing climate: DNA analysis suggests very old ages of clones of alpine *Carex curvula*. Oecologia 105: 94-99

Stuefer, J. F. 1997. Division of labour in clonal plants? On the response of stoloniferous herbs to environmrntal heterogenity. PhD thesis. Utrecht University, The Netherlands

Stuefer, J. F., de Kroon, H. and During, H. J. 1996. Exploitation of environmental heterogeneity by spatial division of labour in a clonal plant. Funct. Ecol. 10: 328-334

Sutherland, S. and Vickery, R. K. 1988. Trade-offs between sexual and asexual reproduction in the genus *Mimulus*. Oecologia 76: 330-335

Suzuki, J. and Hutchings, M. J. 1997. Interactions between shoots in clonal plants and the effects of stored resources on the structure of shoot populations. In de Kroon and van Groenendael (eds) - The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leyden, the Netherlands

Suzuki, J. and Kudo, T. 1997. Why do clonal plants not exhibit self-thinning? The answer from an individual based model.

Suzuki, J.-I. and Hutchings, M. J. 1997. Shoot interactions and the effects of storage. In: H. de Kroon and J. van Groenendael (eds), The ecology and evolution of clonal plants, Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands. pp 311-329

Tamisier, A. 1971. Régime alimentaire de la Sarcelle d'hiver, *Anas c. crecca* L. en Camargue. Alauda 39: 261-311

Tamisier, A. and Grillas, P. 1994. A review of habitat changes in the Camargue: an assessment of the effects of the loss of biological diversity on the wintering waterfowl community. Biological Conservation 70: 39-47

Thompson, J. D. and Brunet, J. 1990. Hypotheses for the evolution of dioecy in seed plants. Trends Ecol. Evol. 5: 11-16

Thomson, D. A. and Beattie, A. J. 1981. Density mediated seed and stolon production in *Viola* (Violaceae). Am. J. Bot. 68: 383-388

Tiffney, H. and Niklas, K. J. 1985. Clonal growth in land plants: a paleobotanical perspective. In In J.B.C. Jackson, L.W. Buss and R.E. Cook (eds), Population biology and evolution of clonal organisms, pp 35-66. Yale University Press. New Haven

Trangosi, R. 1996. Impacts du sanglier sur le scirpe maritime en Camargue. Rapport de BTSA Gestion et Protection de la Nature, Ecole d'Agronomie de Poisy, France.

Tutin et al. 1964-1980. Flora Europea. The University Press, Cambridge

van Groenendael, J. M., Klimeš, L., Klimešovà, J. and Hendriks, R. 1996. Comparative ecology of clonal plants. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 351: 1331-1339

Watkinson, A. 1992. Plant senescence. Trends Ecol. Evol. 7: 417-420

Watkinson, A. R. and Powell, J. C. 1993. Seedling recruitment and the maintenance of clonal diversity in plant populations - a computer simulation of *Ranunculus repens*. J. Ecol. 81: 707-717

Watkinson, A. R. and White, J. 1985. Some life-history consequences of modular construction in plants. Phil. Trans. R. Coc. Lond. B 313: 31-51

Watson, M. A. 1984. Developmental constraints: effect on population growth and patterns of resource allocation in a clonal plant. Am. Nat. 123: 411-426

Watson, M. A. 1990. Phenological effects on clone development and demography. In J. van Groenendael and H. de Kroon (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 43-55

Watson, M. A. and Casper, B. B. 1984. Morphogenetic constraints on patterns of carbon distribution in plants. Ann. Rev. Ecol. Syst. 15: 233-258

Weiner, J. 1986. How competition for light and nutrients affects size variability in *Ipomoea tricolor* populations. Ecology 67: 1425-1427

Weiner, J. 1990. Asymmetric competition in plant populations. Trends Ecol. Evol. 5: 360-364

Weiner, J. and Thomas, S. C. 1986. Size variability and competition in plant monocultures. Oikos 47: 211-222

Westoby, M. 1984. The self-thinning rule. Adv. Ecol. Res. 14: 167-225

Whitham, T. G. and Slobodchikoff, C. N. 1981. Evolution by individuals, plant-herbivore interactions, and mosaics of genetic variability: the significance of somatic mutations in plants. Oecologia 49: 287-292

Widén, B. and Widén, M. 1990. Pollen limitation and distance-dependent fecundity in females of the clonal gynodioecious herb *Glechoma hederacea* (Lamiaceae). Oecologia 83: 191-196

Widén, B., Cronberg, N. and Widén, M. 1994. Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genets in clonal plants, a literature survey. Folia Geobot. Phytotax. 29: 245-263

Wijesinghe, D. K. and Handel, S. N. 1994. Advantages of clonal growth in heterogeneous habitats: an experiment with *Potentilla simplex*. J. Ecol. 82: 495-502

Wikberg, S. 1995. Fitness in clonal plants. Oikos 72: 293-297

Williams, G. C. 1975. Sex and evolution. Princeton University Press

Yoda, K., Kira, T., Ogawa, H. and Hozumi. K. 1963. Intraspecific competition among higher plants. XI. Self-thinning in overcrowed pure stands under cultivated and natural conditions. J. Biol. Osaka City Univ. 14: 107-129

Zákravský, P. and Hroudová, Z. 1994. The effect of submergence on tuber production and dormancy in two subspecies of *Bolbochoenus maritimus*. Folia Geobot. Phytotax., Praha, 29: 217-226

STATION BIOLOGIQUE DE LA TOUR DU VALAT
BIBLIOTHEQUE
13200 ARLES (FRANCE)

Annexes

Annexe 1

Role of water level and salinity in the regulation of *Juncus gerardi* populations in former ricefields.

Accepté dans Journal of Vegetation Science

Role of water-level and salinity in the regulation of *Juncus gerardi* populations in former ricefields

Charpentier, A. , Mesléard, F. & Grillas, P.

Station Biologique de la Tour du Valat, Le Sambuc, Arles F-13200, France;

Tel. +33 90972013; Fax +33 90972019; E-mail anne.charpentier@sansouire-tourduvalat.fr

Abstract. In the Rhône delta (Southern France), the distribution of *Juncus gerardi* in artificially flooded former ricefields is strongly aggregative. In order to explain this pattern, the effects of water depth, salinity and their interaction were measured on (1) seed germination and seedling development and (2) vegetative growth of *J. gerardi* in a controlled environment experiment.

The germination pattern of *J. gerardi* was affected by salinity. Low salinity (2 g/l NaCl) delayed germination while moderate salinity (12 g/l NaCl) reduced germination rate. In contrast the germination of *J. gerardi* was not affected in the range of water depths tested (i.e. 0-10 cm). Salinity negatively affected the development of below-ground parts, shoots and inflorescences. This negative effect of salinity on the vegetative growth of *J. gerardi* was amplified when combined with flooding. Flooding with fresh water (0 cm to 20 cm water depth) did not limit biomass production during the experiment. However, a decrease in the ratio of below : above-ground dry weight at deeper water depths suggests a limitation of the vegetative propagation of *J. gerardi* under prolonged flooding conditions. This hypothesis is supported by the negative correlation measured in an abandoned ricefield between the cover of *J. gerardi* and water depth. The limitation on seedling recruitment imposed by salinity and the depression of vegetative growth of *J. gerardi* due to a combination of salinity and water depth could explain the aggregative distribution of *J. gerardi* in former ricefields.

Keywords: artificial flooding; population dynamics; Rhône delta; seedling recruitment; vegetative growth, wetlands.

Nomenclature: Tutin et al. (1964 - 1980)

INTRODUCTION

The Gleasonian theory of succession in wetlands hypothesises that vegetation dynamics can be predicted by the analysis of life history traits of species and their ability to cope with the intensity of various stresses (Van der Valk 1981). Salinity and flood-associated stresses are the main constrains that control the distribution and abundance of vegetation in estuarine wetlands (Ungar 1991, Neill 1993, Mitsch & Gosselink 1993, Van der Valk et al. 1994) although additional factors such as grazing (Mesléard et al. 1995b) competition and facilitation must be considered (Bertness & Shumway 1993, Keddy et al. 1994).

Juncus gerardi is a dominant species on the edges of many salt marshes where this rhizomatous species forms dense monospecific patches. In New England salt marshes, *J. gerardi* dominates the terrestrial borders of high marshes, rarely subject to tidal inundation and it also colonises disturbed bare patches in secondary succession (Bertness 1991). In these saline and hypersaline conditions, germination, seedling survival and vegetative growth of *J. gerardi* are severely limited by the salinity (Bertness et al. 1992, Shumway & Bertness 1992).

In the Rhône Delta (Southern France), *J. gerardi* is abundant in halophyte grasslands and on the margins of seasonally-flooded marshes, characterised by a marked temporal variability and unpredictability of water levels and salinity (Molinier & Tallon 1970). In former ricefields artificially flooded for wildlife or livestock production (Mesléard 1994), *J. gerardi* is a dominant species. However, its distribution remains patchy and the development of new patches is infrequent (Mesléard et al. 1995b). Field observations suggest that the abundance of *J. gerardi* changes along with microtopography with maximum abundance on higher areas. In this context, it is possible that the abiotic conditions, the long duration of flooding and moderate water salinity be important components of the regulation of *J. gerardi* populations in former ricefields.

Previous studies of population dynamics in several perennial salt marsh communities of emergent macrophytes have shown that the sexual recruitment from the seedbank is rare in mature stands (Grace 1984, Eriksson 1992). Generally, seedling recruitment takes place on mudflats or in uncovered areas during the temporary drought period (Keddy & Ellis 1985). Clonal growth, which is a widespread feature of these species, has been identified as a major trait in the dynamics of these populations (Shumway & Bertness 1992, Brewer & Bertness 1996).

In this context, we have investigated the impact of water depth and salinity, in the range measured on abandoned ricefields, on seedling recruitment and vegetative growth of *J. gerardi*. We first measured the impact of water depth on the cover of *J. gerardi* in an abandoned ricefield that was artificially flooded, and then experimentally measured the effect of water depth, salinity and their interaction on (1) the germination and seedling growth of *J. gerardi* and (2) the vegetative growth of sward samples of *J. gerardi*.

MATERIAL AND METHODS

Cover of *J. gerardi* in an abandoned ricefield

The study was carried out during an experiment on the rehabilitation of wetlands on former ricefields abandoned in 1970's (Mesléard et al. 1995a). In the rehabilitation experiment the plots were submitted to artificial flooding from 1 November to 31 April each year from 1989 to 1994. At the end of April 1994, water depth and the cover of *J. gerardi* were measured along a 30 m long random transect. A 40x40 cm quadrat was placed 75 times along the thirty meter transect. The quadrat was divided into sixteen 10x10 cm squares. The percentage cover of *J. gerardi* was estimated in each square as follows: 0: absence, 1: low density (estimated cover <25%), 2: high density (estimated cover >25%). Four water depth measurements were done in the quadrat. For each quadrat, the sixteen values of cover were summed in order to obtain a cover index from 0 to 32. The mean of the four water depth values was also calculated. The soil salinity was lower than 1 g/l NaCl and thus can be considered negligible (Mesléard et al. 1995b).

Germination and seedling development

Four levels of water depth and five levels of salinity were tested in a two way factorial design, with three replications. Sixty transparent plastic pots (8 cm diameter, 15 cm depth) were filled with 200 g of soil. Soil was taken from an abandoned ricefield, desalinated with fresh water, dried, crushed and sterilised. Sea-salt was dissolved in fresh water in order to obtain five saline solutions tested (0: freshwater, 2, 6, 12 and 18 g/l NaCl corresponding to 0, 2.2, 6.6, 13.1 and 19.7 total salt content respectively, total salt content = 1.805xCl^-). Pots were

filled with the saline solutions and adjusted to the four water-levels tested (saturated soil; 1,5 cm ; 4 cm and 10 cm water depth above soil surface). For the saturated soil treatments, pots were filled with 600 ml of saline solution during four days, then water was removed up to the soil surface. 30 seeds of *J. gerardi* were placed on the soil surface of each pot.

The pots were placed in a single randomised block in a controlled climate chamber (12 hours light at 22°C, 12 hours dark at 10°C) and randomly moved weekly. The water depths were adjusted with freshwater and water salinity was controlled by measuring water conductivity weekly. Seedlings were counted every 3 days. The experiment started on 22 March 1994 and ended on 9 July 1994 (110 days later). At the end of the experiment, the number of leaves per plant was counted and seedlings were ranked in 5 phenological classes: cotyledon stage, one leaf, two leaves, three leaves and four leaves per plant.

Vegetative growth of sward samples

The effects of water depth and salinity on the growth of *J. gerardi* were tested according to a 4 x 5 (water depth x salinity) factorial design, with three replications. On the 25th and 26th march 1994, seventy sward samples of *J. gerardi* were removed from an abandoned ricefield (cover of *J. gerardi* > 80%) at the beginning of the growing season. The sward samples were extracted with a circular clod of earth (21 cm diameter, 10 cm depth).

Sixty sward samples were transferred into pots (23 cm diameter, 32 cm depth) and randomly assigned to treatments in an outdoor experiment. Pots were filled with the same five saline solutions used for the germination experiment (0: freshwater, 2, 6, 12 and 18 g/l NaCl). Water levels (saturated soil, 5 cm water depth, 10 cm water depth and 20 cm water depth above the soil surface) were adjusted every 2 days with fresh water. Saline solutions were entirely renewed twice during the experiment.

The dry weight of above- and below-ground plant parts at the start of the experiment was measured on the ten remaining sward samples according to the method applied to the sixty other samples at the end of the experiment (see below).

The experiment started on 30 March 1994 and ended on 15 June 1994, when shoots began to turn yellow and lines of dehiscence on capsules became visible. At the end of the experiment shoots were clipped at the soil surface, and flowering and vegetative shoots were counted. The length of vegetative shoots was measured on a random sub-sample of 20 shoots per pot. On a random sub-sample of 20 flowering shoots per pot, the shoot length, the number

of capsules per inflorescence and the phenological stage of fruits were measured. Four phenological stages were defined for the inflorescences as follows: 1- *aborted flowers*. 2.- *immature fruit*, seeds in the capsules are green or light yellow. 3- *mature fruit*, seeds are brown. 4- *dehiscent fruit*, capsule walls are strongly lignified and lines of dehiscence are visible. The shoots and the inflorescences were weighed separately after drying at 80° C until constant weight. The dry weight of roots and rhizomes in each sward sample was measured on a sub-sample (approximately 25 %). Rhizomes and roots were collected by washing the soil away and were weighed after drying at 80° C until constant weight.

Data analysis

Germination and seedling development

The begining of germination was defined as the number of days needed to obtain five seedlings per pot. When the number of seedlings was less than five at the end of the experiment (after 110 days), the time of germination was noted as 111 days.

Because of non-homogeneity of variances, a Kruskal-Wallis one way analysis of variance by ranks was used to test significance of differences in time of germination, rate of germination, and survival rate of seedlings (maximum number of seedlings / final number of seedlings). When significant differences were found, multiple comparisons of individual treatments were performed following the procedure described in Siegel and Castellan (1988).

The number of seedlings at each phenological stage were summed for the 3 replicates of each treatment. The effects of the salinity and water-depth on the distribution of seedlings into the different phenological stages were tested using two sided Linear by Linear association test (Agresti 1990).

Vegetative growth of sward samples

Differences between treatments were calculated for all parameters of biomass and morphology using a two way ANOVA with salinity and water level as factors, followed by t-tests and Student-Newman-Keuls tests (SNK tests) for testing differences between means. Prior to the ANOVAs, the data were ln-transformed in order to homogenise variances.

Wilcoxon signed ranks test was used to compare the mean length of vegetative and flowering shoots for each water depth and salinity level. The effects of water depth and salinity on the phenology of fructification were tested using a test of independence in three way

contingency tables. The number of inflorescences recorded in each phenological stage was summed beforehand for the three replicates of each treatment.

RESULTS

Cover of *J. gerardi* in an abandoned ricefield

The water depths measured in the abandoned ricefield varied between 3 and 17 cm and the cover of *J. gerardi* varied between 0 and more than 25%. Along the transect, there was a significant negative correlation (least square linear regression) between the cover of *J. gerardi* and water depth (Fig. 1), water depth contributing to explain 37% of the total variance of the cover of *J. gerardi*.

Germination and seedling development

Water-level had no significant effect on the time and rate of germination (Table 1, Fig. 2). In contrast, salinity affected both the time and the rate of germination. The time needed for germination increased significantly with salinity. The germination rate was higher at lower salinity (0, 2 and 6 g/l NaCl) than at higher salinity 12 and 18 g/l NaCl (Table 1, Fig. 2).

Salinity had a negative effect on the number of leaves per plant at the end of the experiment (Table 2, Fig. 3). In contrast, high water level had a positive effect on the number of leaves per plant except at the highest salinity (18 g/l NaCl) for which there was no significant effect (Table 2, Fig. 3).

The survival rate of seedlings after 110 days of the experiment did not significantly differ among salinity treatments ($H = 6.04$, $df = 4$, $n = 60$, ns) and water-level treatments ($H = 6.03$, $df = 3$, $n = 60$, ns).

Vegetative growth of sward samples

Dry matter production

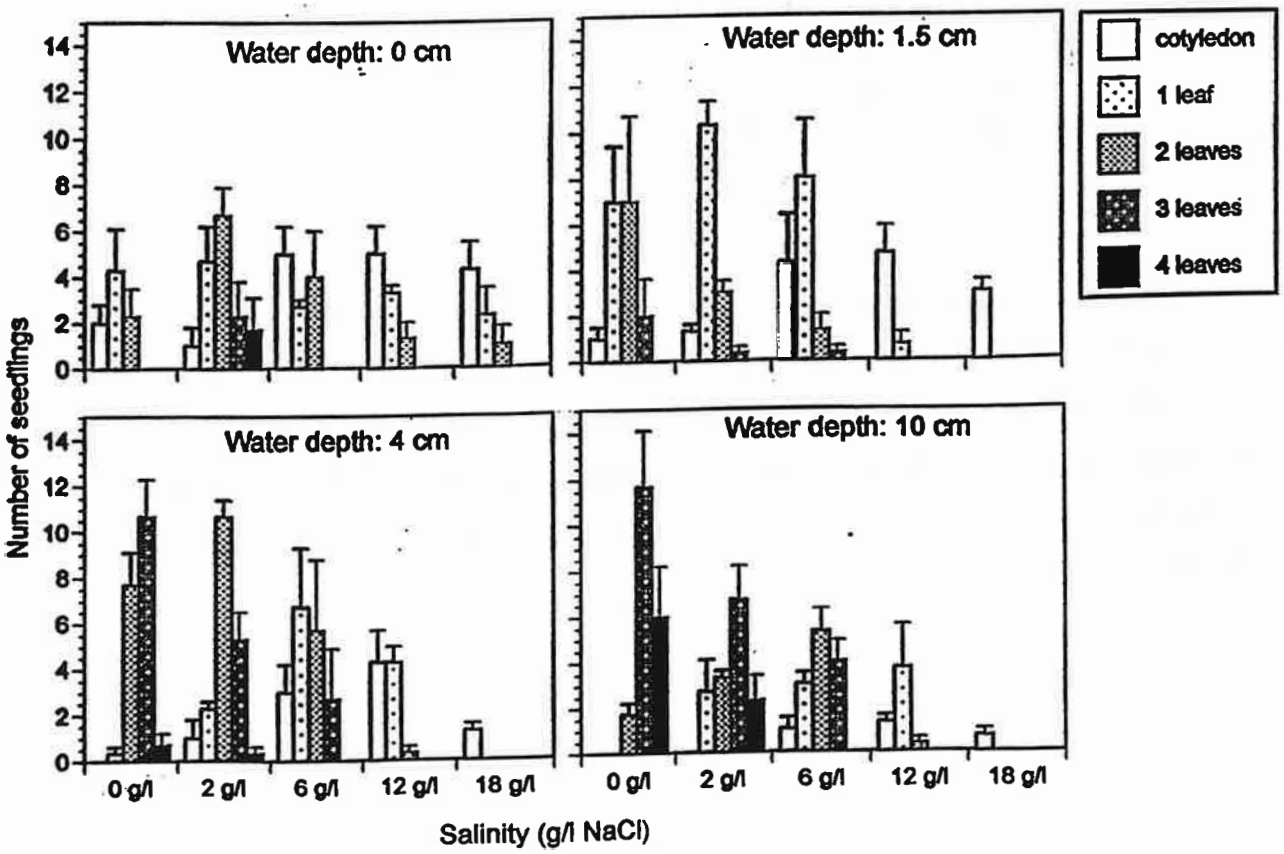
At the start of the experiment the mean dry weight of below-ground parts and shoots was 73.3 g/pot (s.d.: 10.4 g, $n = 10$) and 16.1 g/pot (s.d. 4.9 g , $n = 10$) respectively.

Table 2. The effect of salinity (0, 2, 6, 12, 18 g/l NaCl) and water-level (0, 1.5, 4, 10 cm above soil surface) on the number of leaves per plant after 110 days of experiment. For each treatment, seedlings were assigned to 5 phenological classes (cotyledon stage, one, two, three and four leaves). Standardized values of the two sided linear by linear association test were calculated per water-level and per salinity treatment.

Treatment					
	Water depth (cm)				
	0	1.5	4	10	
Salinity	-4.65 ***	-7.54 ***	-9.67 ***	-9.07 ***	
	Salinity (g/l NaCl)				
	0	2	6	12	18
Water-depth	+9.99 ***	+5.06 ***	+5.52 ***	+2.65 **	-1.82 ns

ns=not significant; * P<0.05; ** P<0.01 and *** P<0.001

Figure 3: The number of seedlings (+/- s.e, n = 3) ranked in five phenological classes (cotyledon, one, two, three or four leaves) obtained 110 days after the start of the experiment, with an initial number of 30 seeds, at four water-depths and five salinity treatments.



At the end of the experiment the biomass of below-ground parts, shoots and inflorescences was significantly affected by salinity and water depth and there was a significant salinity x water depth interaction for the biomass of shoots and inflorescences (Table 3).

The below-ground biomass of *J. gerardi* was significantly higher at the end of the experiment than at the start for all water depths at 0 and 2 g/l NaCl (Fig. 4A). At 6 g/l NaCl this production was significant only in shallow water (0 and 10 cm water depth) while there was no significant production of below-ground parts at 12 and 18 g/l NaCl (Fig. 4A).

The production of shoot biomass during the experiment was significant at all water levels tested when flooding was made with fresh water (Fig. 4B). Similar results were obtained at 2 g/l NaCl, except at the highest water depth (20 cm). At 6 g/l NaCl, the production of shoot biomass was only significant at the lowest water level (0 cm). A significant decrease of the shoot biomass was found for 12 g/l NaCl at 20 cm water depth and for 18 g/l NaCl at 5, 10 and 20 cm water depths (Fig. 4B).

Inflorescence biomass did not differ significantly between water depth treatments when water salinity was low (0, 2 or 6 g/l NaCl) (Fig. 4C). At the higher salinity (12 and 18 g/l NaCl) inflorescence biomass was significantly higher at 0 and 5 cm water depth than at 20 cm. Inflorescence biomass significantly decreased with increasing salinity at water depth of 10 and 20 cm (Fig. 4C).

The ratio of below : above-ground dry weight significantly decreased with increasing water depth at 0 g/l NaCl (SNK test : 0 cm a, 10 cm ab, 5 cm ab, 20 cm b, treatments are arranged left to right by increasing mean value, significant differences are indicated with different letters, $p<0.05$) whereas there was no difference between water level treatments at 2, 6, 12 and 18 g/l NaCl (data not shown). This ratio significantly increased with increasing salinity at 10 cm water depth (SNK test: 0 g/l a, 2 g/l ab, 12g/l ab, 6g/l ab, 18g/l b, $p<0.05$) and 20 cm water depth (SNK test: 0 g/l a, 6g/l b, 2 g/l b, 12g/l b, 18g/l c, $p<0.05$).

Morphology and phenology

Water level and salinity significantly affected the morphological parameters measured (Table 3). The number of flowering shoots was higher at 0 and 5 cm water depth than at 10 and 20 cm water depth whereas no significant differences in the number of vegetative shoots occurred between water level treatments (Table 4). Consequently, the ratio of flowering : vegetative shoot was significantly higher at the low water depths (0 and 5 cm) than at water depth of 10 and 20 cm (Table 4).

Table 3: F-values and significance of a two-way ANOVA for the effect of water depth and salinity on above- and below-ground dry matter, and morphological parameters at the end of the experiment. All values were ln-transformed prior analyses (df-values in parentheses).

factors	water depth (3)	salinity (4)	water depth x salinity (12)
Dry weight:			
shoots	13.6 ***	48.9 ***	2.8 **
inflorescences	37.4 ***	31.1 ***	4.4 ***
below-ground parts	7.4 ***	6.8 ***	0.7 ns
below-ground/above-ground	3.1*	13.1 ***	2 *
Morphological parameters:			
No. flowering shoots	37.6 ***	26.4 ***	4.9 ***
No. vegetative shoots	3.1 *	13.7 ***	0.8 ns
No. flowering shoots/No. vegetative shoots	13.4 ***	2.2 ns	2 *
length of flowering shoots	4.9 **	10.2 ***	0.9 ns
length of vegetative shoots	8.7 ***	8.2 ***	0.6 ns
No. capsules per inflorescence	2.4 ns	24.4 ***	2.3 *

ns=non significant * P<0.05 ** P<0.01 *** P<0.001

Table 4: Means (+/- s.e.) of the number of vegetative and flowering shoots, the number of flowering/vegetative shoots ratio, and the number of capsules per inflorescence at four water depths (n = 15) and five salinity levels (n = 12). Significant differences tested for water depth and salinity treatment separately following significant ANOVA are indicated with different letters (lower case P<0.05).

Treatment	No. flowering shoots	No.vegetative shoots	No. flowering/ vegetative shoots ratio	No.capsules per inflorescence
Water depth (cm)				
0	127 (16) a	188 (34) ns	1.02 (0.2) a	22.8 (1.5) ns
5	121 (13) a	142 (20) ns	1.08 (0.2) a	21.1 (1.8) ns
10	67 (13) b	206 (33) ns	0.36 (0.07) b	20.2 (2.5) ns
20	47 (14) b	127 (22) ns	0.32 (0.08) b	20.4 (2.2) ns
Salinity (g/l NaCl)				
0	144 (11) a	242 (30) a	0.78 (0.15) ns	27.6 (2.1) a
2	103 (16) ab	231 (42) a	0.63 (0.14) ns	23.3 (1.2) a
6	88 (19) bc	179 (24) a	0.57 (0.14) ns	25.1 (1.6) a
12	79 (19) bcd	106 (11) b	0.86 (0.28) ns	16.9 (1.6) b
18	39 (11) d	72 (7) b	0.65 (0.27) ns	12.7 (1.3) b

Flowering shoot length was significantly higher than vegetative shoot length at all water depths tested, except for at 10 cm (not significant difference) (Table 5). The length of vegetative and flowering shoots was significantly higher at the higher water depths (10 and 20 cm) than at the lower water depths (0 and 5 cm) (Table 5).

The mean number of capsules per inflorescence showed no variation among water depth treatments (Table 4). However, the fruit maturation significantly decreased with increasing water depth ($G = 50.2$, $df = 12$, $p<0.01$) (Fig. 5).

Both the number of flowering and vegetative shoots decreased in response to increasing salinity (Table 4). In consequence, the ratio of flowering : vegetative shoots did not vary in relation to salinity (Table 4). At 0, 2 and 6 g/l NaCl, the flowering shoots were taller than vegetative shoots (Table 5). At 12 and 18 g/l NaCl, both the length of flowering and of vegetative shoots decreased whereas there was no significant difference in length between them (Table 5).

The mean number of capsules per inflorescence decreased significantly at 12 and 18 g/l NaCl water salinity (Table 4). Salinity significantly affected the phenology of fructification ($G = 117.2$, $df = 12$, $p<0.01$) (Fig. 5). Fruit maturation occured faster at high salinity than at low salinity (number of dehiscent capsules: 73 % ± 17 and 40 % ± 15, $n = 4$, at 18 and 0 g/l NaCl respectively, $F = 7.8$, $df = 1$, $p<0.05$).

DISCUSSION

J. gerardi, which generally grows on the edge of marshes submitted to fluctuating conditions of flooding and salinity, showed different responses in germination rate, morphology, production and biomass allocation depending on the intensity and nature of the stress applied.

Increasing salinity resulted both in delayed germination from 2 g/l NaCl and reduced germination rate from 12 g/l NaCl. Previous studies have demonstrated that the survival of seedling cohorts is correlated with the date of germination, the latest cohorts having the highest mortality rate and a very low probability of reaching adult stages (Riehl & Ungar 1982, Khan & Ungar 1986). In contrast not significant effect of water depth (0 to 10 cm water depth) on germination of *J. gerardi* was observed in our experiment. The interaction between the salinity and water depth could not be measured because of a non homogeneity of variances.

The seedlings were less developed in saline or water saturated (0-1.5 cm) conditions than in freshwater and flooded (5-10 cm) conditions. Field experiments have previously demonstrated that high soil salinity can decrease the growth and survival of seedlings of *J. gerardi* (Bertness et al. 1992). During our experiment the survival rate of seedlings was not affected by salinity. However, seedlings at high salinity remained without any leaves after 110 days and were unlikely to survive. The positive effect of water depth on the development of seedlings may be due to soil characteristics. On saturated soils seedling development seemed to be initially limited by their ability to root in poorly structured sediment. In contrast, in flooded conditions, the pressure exerted by the water column on the sediment might have contributed to its compaction and stabilisation which enhanced the rooting of seedlings. In more stable sediments (i.e. sand), seedlings of *J. gerardi* develop normally in satured soil and better than under flooded conditions in which shoots are in an anaerobiotic situation (Rozema & Blom 1977).

Both salinity and water depth had a significant effect on the morphology, phenology, production and biomass allocation of *J. gerardi* in the sward cultivation experiment.

The shoot elongation associated with a decrease in shoot number observed on *J. gerardi* in response to water depth is a common feature in emergent macrophytes (Grace 1989) as well as the reduction of plant height and shoot number under saline conditions (Naidoo & Mundree 1993). Moreover, under deep water conditions, *J. gerardi* showed a reduction of the proportion of flowering shoots and a maintenance of inflorescence size whereas under saline conditions, the proportion of flowering shoots was conserved and the inflorescence size was reduced. Fruit maturation of *J. gerardi* was delayed under deep water whereas it was faster under saline conditions. When submerged, the terrestrial and emergent macrophyte species show generally a low or negligible underwater photosynthetic activity (Laan & Blom 1990, Voesenek et al. 1993, Clevering et al. 1995). In consequence, changes in morphology (i.e. the production of longer stems and leaves), induced by flooding and mediated by hormones, may permit the maintenance of a supply of above-ground resources (Lieffers & Shay 1981, Grace 1989, Rea & Ganf 1994). In the same way, the flexibility in response to water-level regime (i.e. delayed growth under flooded conditions and early development in dry conditions) has been observed in several emergent macrophytes (Lieffers & Shay 1981, Froend and McComb 1994). The early fruit maturation in response to increased salt concentration, which causes a physiological drought, may be related to the shift in phenology of emergent macrophytes in dry conditions (Froend and McComb 1994).

In fresh water conditions (from 0 to 20 cm water depth) shoot and below-ground part production was significant during the experiment. However, the allocation of resources to below ground biomass decreased when water depth increased. In saline conditions the production of below-ground parts and shoots was reduced and stopped at 12 g/l NaCl at all water depth tested. The effects of salinity and water depth stress on biomass production of *J. gerardi* appeared to be additive. Water salinity of 2 g/l NaCl with a water depth of 20 cm were sufficient to stop the production of shoots and below-ground parts and to decrease the seed production.

The results of the experiments fit with the observed distribution of *J. gerardi* in abandoned ricefields according to salinity and microtopography. The reduced and delayed germination associated with depressed seedling growth as well as the lack of biomass production observed in experimental conditions at 12 g/l NaCl could explain why *J. gerardi* is not recorded in abandoned ricefields at salinity above 12.7 g/l NaCl (Mesleard et al. 1991). In artificially flooded former ricefields, the input of fresh water progressively decreases salinity (Mesleard et al. 1991). In this case, the maintenance of several centimetres of water depth was sufficient to reduce the investment in below-ground parts. Under prolonged flooding conditions, a reduction of the reserves stored in below-ground organs would limit the shoot emergence in spring due to shortage of carbohydrates (Grace & Wetzel 1982, Barclay & Crawford 1983, Grace 1989) and consecutively limit the vegetative propagation of *J. gerardi.* This hypothesis is supported by the negative correlation measured in the field between the cover of *J. gerardi* and water depth and could explain the patchy distribution of *J. gerardi* in the upper areas. In parallel, we observed that low water depth did not have any direct effect on the timing and the rate of germination of *J. gerardi*. In the light of this result, seedling recruitment should be expected in former ricefields flooded for several years, in which *J. gerardi* is one of the more abundant species in the seed bank (Tourenq et al. 1997). This is not the case, the development of a new patch of *J. gerardi* in these habitats remains rare (Mesléard et al. 1995b). Even in plots where the other dominant species *Scirpus maritimus* and *Phragmites australis* are suppresed by grazing, and *J. gerardi* alone dominates, the rate of recruitment of new individuals outside the patches remains very low (Mesléard et al. 1995b). The difficulty for seedlings to root in the abandoned ricefield sediment that we have observed in controlled conditions probably also exists in the field. The maintenance of flooding on poorly structured sediments would limit rooting of seedlings by softening the sediment and

amplifying the effects of disturbances, particularly trampling by herbivores and the effect of northerly winds (ca. 50 % of the time in the Camargue, Heurteaux 1970).

The artificial water input in former ricefield can be considered as a rehabilitation process for several ecological functions (Lewis 1990). The conditions of flooding and salinity in these habitats are closely related to the one on the borders of salt marshes. However, these conditions differ in the regularity in duration of flooding and water depths. The maintenance of a constant water level during long periods, combined with low water salinity can limit the population dynamics and the vegetative propagation of *J. gerardi*.

Acknowledgements. We thank J. Lepart for helpful discussions at different stages of this work. Extensive comments and suggestions by J. Thompson greatly improved the manuscript. Three anonymous referees further contributed to the improvement of the manuscript.

References

Agresti, A. 1990. Categorical Data Analysis. John Wiley & Sons, New York.

Barclay, A. M. & Crawford, R. M. M. 1983. The effect of anaerobiosis on carbohydrate levels in storage tissues of wetland plants. Ann. Bot. 51: 255-259.

Bertness, M. D. 1991. Interspecific interactions among high marsh perennials in a New England salt marsh. Ecology 72: 125-137.

Bertness, M. D., Gough, L. & Shumway, S. W. 1992. Salt tolerances and the distribution of fugitive salt marsh plants. Ecology 73: 1842-1851.

Bertness, M. D. & Shumway, S. W. 1993. Competition and facilitation in marsh plants. Am. Nat. 142: 718-724.

Brewer, J. S. & Bertness, M. D. 1996. Disturbance and intraspecific variation in the clonal morphology of salt marsh perennials. Oikos 77: 107-116.

Clevering, O. A., van Vierssen, W. & Blom, C. W. P. M. 1995. Growth, photosynthesis and carbohydrate utilization in submerged *Scirpus maritimus* L. during spring growth. New Phytol. 130: 105-116.

Eriksson, O. 1992. Evolution of seed dispersal and recruitment in clonal plants. Oikos 63: 439-448.

Froend, R. H. & McComb, A. J. 1994. Distribution, productivity and reproductive phenology of emergent macrophytes in relation to water regimes at wetlands of South-western Australia. Aust. J. Mar. Freswater Res. 45: 1491-1508

Grace, J. B. 1984. Effects of tubificid worms on the germination and establishment of *Typha*. Ecology 65: 1689-1693.

Grace, J. B. 1989. Effects of water depth on *Typha latifolia* and *Typha domingensis*. Am. J. Bot. 76: 762-768.

Grace, J. B. & Wetzel, R. G. 1982. Niche differentiation between two rhizomatous plant species: *Typha latifolia* and *Typha angustifolia*. Can. J. Bot. 60: 46-57.

Heurtaux, P. 1970. Rapport des eaux souterraines avec les sols halomorphes et la végétation en Camargue. Rev. Ecol. Terre Vie 4: 47-56.

Keddy, P. A. & Ellis, T. H. 1985. Seedling recruitment of 11 wetland species along a water level gradient: shared or distinct responses. Can. J. Bot. 63: 1876-1879

Keddy, P.A., Twolan-Strutt, L. & Wisheu, I. C. 1994. Competitive effect and response rankings in 20 wetland plants: are they consistent across three environments? J. Ecol. 82: 635-643.

Khan, M. A. & Ungar, I. A. 1986. Life history and population dynamics of *Atriplex triangularis*. Vegetatio 66: 17-25.

Laan, P. & Blom, C. W. P. M. 1990. Growth and survival reponses of *Rumex* species to flooded and submerged conditions: the importance of shoot elongation, underwater photosynthesis and reserve carbohydrates. J. Exp. Bot. 41: 775-783.

Lewis, R. R. 1990. Wetland restoration / creation / enhancement. Terminology: suggestions for standardization. In: Kusler, J. A. and Kentula, M. E. (eds) Wetland creation and restoration. The status of science. Island Press, 417-422.

Lieffers, V. J. & Shay, J. M. 1981. The effets of water level on the growth and reproduction of *Scirpus maritimus* var. *paludosus*. Can. J. Bot. 59: 118-131.

Mesléard, F. 1994. Agricultural abandonment in a wetland area: abandoned ricefields in the Camargue, France - can they be of value for conservation? Environ. Conserv. 21: 354-357.

Mesléard, F., Grillas, P. & Lepart, J. 1991. Plant community succession in a coastal wetland after abandonment of cultivation: the example of the Rhône delta. Vegetatio 94: 35-45.

Mesléard, F., Grillas, P. & Tan Ham, L. 1995a. Restoration of seasonally-flooded marshes in abandoned ricefields in the Camargue (southern France) - preliminary results on vegetation and use by ducks. Ecol. Eng. 5: 95-106.

Mesléard, F., Lepart, J. & Tan Ham, L. 1995b. Impact of grazing on vegetation dynamics in former ricefields. J. Veg. Sci. 6: 683-690.

Mitsch, W. J. & Gosselink, J. G. 1993. Wetland. 2nd ed. Van Nostrand Reinhold, New York.

Molinier, R. & Tallon, G. 1970. Prodome des unités phytosociologiques observées en Camargue. Bull. Mus. Hist. Nat. Marseille 30: 5-110.

Naidoo, G. & Mundree, S. G. 1993. Relationship between morphological and physiological responses to waterlogging and salinity in *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. Oecologia 93: 360-366.

Neill, C. 1993. Seasonal flooding, soil salinity and primary production in northern prairie marshes. Oecologia 95: 499-505.

Rea, N. & Ganf, G. G. 1994. Water depth changes and biomass allocation in two contrasting macrophytes. Aust. J. Mar. Freswater Res. 45: 1459-1468.

Riehl, T. E. & Ungar, I. A. 1982. Growth and ion accumulation in *Salicornia europaea* under saline field conditions. Oecologia 54: 193-202.

Rozema, J. & Blom, B. 1977. Effects of salinity and inundation on the growth of *Agrostis stolonifera* and *Juncus gerardii*. J. Ecol. 65: 213-222.

Shumway, S. W. & Bertness, M. D. 1992. Salt stress limitation of seedling recruitment in a salt marsh plant community. Oecologia 92: 490-497.

Siegel, S. & Castellan Jr, N. J. 1988. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. 2d Edition. McGraw-Hill Book Inc., Singapore, 399pp.

Tourenq, C., Mesléard F., Roux, D. & Grillas, P. 1997. Restoration of feeding grounds on former ricefields. In: Wildlife management and land use in open landscapes, proceedings of XXIII congres of IUGB, Lyon, France. In press

Tutin, T. G. et al. 1964-1980. Flora Europaea. Cambridge University Press, Cambridge.

Ungar, A. I. 1991. Ecophysiology of vascular halophytes. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Van der Valk, A. G. 1981. Succession in wetlands: a Gleasonian aproach. Ecology 62: 688-696.

Van der Valk, A. G., Squires, L. & Welling, C. H. 1994. An evaluation of three approaches for assessin the impacts of an increase in water level on wetland vegetation. Ecol. Appl. 4: 525-534.

Voesenek, L. A. C. J., van Oorschot, F. J. M. M., Smits, A. J. M. & Blom, C. W. P. M. 1993. The role of flooding resistance in the establishment of *Rumex* seedlings in river flood plains. Func. Ecol. 7: 105-114.

Annexe 2

The effects of rhizome severing on the clonal growth and clonal architecture of *Scirpus maritimus*

Accepté dans Oikos

The effects of rhizome severing on the clonal growth and clonal architecture of *Scirpus maritimus*

A. Charpentier[1], F. Mesléard[1] and J. D. Thompson[2]

[1]Station Biologique La Tour du Valat, Le Sambuc, 13200 Arles, France; fax: +33 0490972019; email: anne.charpentier@sansouire-tourduvalat.fr

[2]Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5, France

Abstract

Physiological integration is a major component of growth in many clonal plants. However, in many species, integration is disrupted by clone fragmentation due to habitat perturbation and herbivory. The consequences of such clone fragmentation remain poorly studied. The purpose of this paper is to quantify the effects of rhizome severing on ramet size variation, clonal growth and clonal architecture in *Scirpus maritimus*, a rhizomatous perennial, in which ramet size increases with the successive iterations that occur in each year of growth, causing marked intra-generation ramet-size variability. We first compared the development of a ramet generation, from a single sprouted tuber, either left to grow naturally or artificially severed. Intact clones consisted of ramets of various size and occupied most of the container. Severed clones formed more numerous but smaller ramets, with shorter rhizomes, and remained strongly clumped in the centre of the container. Resource translocation between ramets may promote spatial propagation of *S. maritimus* clones by successively increasing the size and the colonisation capacity of the late formed ramets. A comparison of the sprouting of one year old tubers showed that in intact clones, smaller tubers remained dormant while larger tubers sprouted. In severed clones, all tubers sprouted. The weight of sprouted tubers was significantly correlated with first shoot length, ramet number and total biomass. In the intact clones, resource translocation both from dormant to sprouted tubers and between sprouted tubers may partially buffer the effect of sprouted tuber weight. Release of buds from dormancy, due to rhizome severing, may be an important component of the response to frequent local perturbation and clone fragmentation by herbivore activity in *S. maritimus* since it will permit rapid re-colonization after such disturbance.

INTRODUCTION

Clonal plants are characterised by the vegetative production of ramets that are genetically identical but potentially independent (Harper 1977). The transport of water, mineral nutrients, carbohydrates, and hormones via connections between ramets (stolons and rhizomes) allows the genet to function as an physiologically integrated system (Watson & Casper 1984). The degree of physiological integration varies however between species (Pitelka & Ashmun 1985, Eriksson & Jerling 1990). Physiological connections between ramets may disappear during the initial stages of development ("genet splitter") or persist during the formation of all ramets developed from reiterations in a single year ("integrated genets"). In long-lived species, this integration can persist for several years resulting in clones composed of several interconnected ramet generations (Eriksson & Jerling 1990, Williams & Briske 1991).

The existence of variation between species in the degree of physiological integration introduces important questions concerning the possible functional and evolutionary significance of physiological integration between ramets. The functional significance of physiological integration, in terms of the potential costs and benefits for clonal plants to retain ramet connections has received much attention (Salzman & Parker 1985, Eriksson & Jerling 1990, de Kroon & van Groenendael 1990). The benefits of integration may be numerous, e.g. integrated daughters may survive where seedlings may not (De Steven 1989), integration may buffer the effects of herbivory (Gu & Marshall 1988, Jónsdóttir & Callaghan 1989), and may enhance the colonization of heterogeneous environments (Grime 1979, Pitelka & Ashmun 1985, Stuefer 1997). However, in many clonal plants, the network of physiological connections can be broken where disturbance (e.g. trampling by herbivores) causes the severing of physiological connections between ramets. Severing may drastically modify the physiological functionning of a genet due to a loss of physiological integration and the formation of a «population » of clone fragments or isolated ramets which survive as independent units. The consequences of such 'disintegration' in species which frequently suffer such disturbance remain however poorly documented.

Physiological integration have been suggested to permit resource partitioning between interconnected ramets and thus lead to a relative equality in ramet size (Hutchings 1979, Schmid & Bazzaz 1987, Hutchings & Mogie 1990). However, unidirectionnal transport of resources may also increase size variation among connected ramets (Eriksson & Jerling 1990, Hutchings & Price 1993). Since ramet size can determine ramet colonisation capacity by having an effect on the initiation of runners and the number of daughter-ramets produced

(Eriksson 1988, Cain 1990), integration may alter patterns of spatial colonisation. Consequently, the severing of physiological connections between ramets may affect clonal architecture in terms of ramet size variability and spatial occupation. Hence, it would be particularly worthwhile to examine the proximate effects of clone fragmentation on the growth of clonal plants and the evolutionary significance of such clone disintegration.

Two levels of integration between ramets can be considered: the within generation level, i.e. among connected ramets formed in a single growing season, and the between generation level, when sucessive ramet generations persist for several years. The maintenance of physiological integration between generations of ramets has been demonstrated in *Carex bigelowii* by Jónsdóttir & Callaghan (1988). In this species, the physiological connections between successive generations of ramets allows the transport of stored resources from old ramets to young ramets to support the development of the later. No study has however quantified whether maintaining physiological integration among old below-ground ramets (i.e. within generation level) provides a benefit to the clone.

In order to investigate whether the severing of ramet connections may influence ramet size variability and spatial occupation, and whether the maintenance of physiological connections among old below-ground ramets may benefit clonal growth, we have performed an experimental study of the clonal wetland macrophyte *Scirpus maritimus*, a long-lived rhizomatous species. In *S. maritimus*, old ramets (i.e. tubers) sprout in the spring to form new shoots which produce branched chains of several rhizome-shoot complexes (Lieffers & Shay 1982b). Ramets formed from later iterations, located at the end of rhizome-ramet chains, are larger than ramets developed from first iterations, producing marked size variation within a ramet generation (Lieffers & Shay 1982b). At the end of the growing season, above-ground shoots and roots die-off whereas below-ground shoots (i.e tubers and rhizomes) persist for several years. Populations of this species in southern France are frequently perturbed by trampling by cattle and wild boar herbivory, which cause clone fragmentation and create open spaces within populations. The consequences of such clone disintegration are however unstudied in this species.

In this study we examine the effects of rhizome severing within a ramet generation of *S. maritimus* on two time scales. First, in the year of ramet generation formation, when a ramet generation develops by successive iterations and colonizes space, we hypothesed that the severing of rhizomes results in a decrease in both ramet size variability and spatial colonization. To test this hypothesis, we compared ramet size and spatial colonization between connected

and artificially severed ramets of a single generation in experimental conditions. Second, in the following year, when ramets consist of tubers and sprout to form a new ramet generation, we examine whether tuber size determines tuber contribution to the future ramet generation. In this part of the study, we ask the following questions: (1) is physiological integration maintained between one year old tubers? If so, (2) does integration allow the control of tuber dormancy and the management of stored reserves? To do so, we measured the effect of tuber size and rhizome severing on the sprouting of one year old tubers.

MATERIAL AND METHODS

THE STUDY SPECIES

Scirpus maritimus forms dense monospecific stands in brackish shallow marshes (Lieffers & Shay 1982a, de Leeuw et al. 1996). In general, one axillary bud per tuber sprouts to form directly (i.e. without emitting a new rhizome) a new shoot each spring (see Fig.1). At the base of the new shoot, constitued by a tuber, one to three rhizomes develop and form new shoots. This iteration can be repeated many times during a single growing season and results in the formation of branched chains of shoots composed of several tens of shoots (Lieffers & Shay 1982b). Each shoot possesses at the top of the tuber three axillary buds which can sprout to produce directly a new shoot. However, most of the axillary buds remain dormant the first year, and the iteration proccess takes place primarily by rhizome initiations (see Fig. 1). At the end of the rhizome-shoot chains, the last formed tubers generally do not form above-ground shoots. The increase in ramet size with successive rhizome-shoot iterations has been assumed to be ontogenetic (Clevering 1995). Tubers can remain dormant several years before sprouting (Hroudova & Zakravsky 1995). However, although rhizomes may persist several years, they apparently lose their physiological function (i.e. transport of water, nutrients, hormones) after the first growing season (Zakravsky & Hroudova 1994).

EXPERIMENT 1: RAMET SIZE AND SPATIAL COLONIZATION

In November 1995, tubers (fresh weight between 1.8 and 2.3 g) produced during the 1995 growing season were collected from a population at the "Relongue Nord" marsh, in the

Camargue (Rhône Delta, France) and stocked in wet sand at 4°C in the dark. At the end of April, tubers were planted outdoors in pots filled with sand. After two weeks, eight sprouted tubers were transplanted to 55 cm x 35 cm x 15 cm plastic containers filled with a sand-compost mixture (80%-20%) which was maintained water saturated throughout the experiment. In four randomly chosen containers, the clone was left to grow and develop new ramets naturally. In the remaining four containers, ramets were severed as clones grew. The newly formed ramets were severed when their above-ground shoot reached 10 cm in height by sectioning the rhizome which had produced them. To avoid root system damage, young ramets growing too close to other ramets were not severed. Between twenty one and twenty four ramets were severed in each container.

On September 1st 1996, a map of the shoot distribution was drawn using a grid formed by 11 x 7 quadrats (25 cm^2) put on each container. A number and spatial coordinates (x,y) were attributed to each shoot. Three zones were distinguished per pot: a central zone (24 quadrats) which surrounded the quadrat where the initial tuber was planted, an intermediate zone (24 quadrats) which surrounded the central zone and a peripheral zone (28 quadrats) composed of two external strips. Clones were carefully excavated by hosing the sand/compost mixture. Shoots and tubers without above ground shoots were identified as having developed either from a rhizome or from an axillary bud. The dry weight of shoots (above-ground parts and tubers separately) and tubers without above-ground shoots, and rhizome length were measured.

EXPERIMENT 2: TUBER CONTRIBUTION TO THE NEW RAMET GENERATION

In November 1995, clone fragments produced during the 1995 growing season were collected from the same sites as experiment 1. The clone fragments were composed of an initial shoot produced by an overwintering tuber, and two shoots successively produced from the first shoot by rhizomes (see Fig 1). The above-ground parts of the three shoots were severed in order to conserve the three tubers only. A total of thirty four series, each composed of three connected tubers of first, second and third rank respectively were stocked in wet sand at 4 °C in the dark. On May 1st 1996, seventeen randomly chosen tuber series were planted in 20 cm x 9 cm x 6 cm pots filled with sand. For the seventeen remaining tuber series, the two rhizomes which connected tubers were sectioned. The fresh tuber weight was measured on these sectionned tubers which were then individually planted in pots (diam.: 8 cm, height: 4 cm)

filled with sand. Sand was maintained water saturated during the experiment. Sprouts were counted every two weeks. On 10 September 1996, the dry weight of planted tubers, the length of the first shoot produced (resulting from the sprouting), total number of ramets and total biomass produced per planted tuber were measured. During August, a fault in the irrigation system caused seven of the severed tuber series to dry out, hence final measures were realised on only ten series.

DATA ANALYSIS

Experiment 1: Ramet size and spatial colonization

One-way analysis of variance, followed by mean comparisons were used to test the effect of rhizome severing (treated as a fixed effect) on ramet biomass, rhizome length and clone biomass. Data were log-transformed to achieve normality and homogeneity of variance where necessary. The effect of rhizome severing on the number of sprouted buds per planted tuber was tested using a Mann-Whitney test for small samples (Siegel & Castellan 1988). Frequencies of shoot number per quadrat (25 cm^2) were compared with a Poisson distribution using chi-square tests. The coefficient of dispersion (mean : variance ratio) was calculated to estimate the shoot clumping (Sokal & Rohlf 1981). The percentage of occupied quadrats was compared between zones using a Friedman two-way analysis of variance by ranks (Siegel & Castellan 1988).

For the intact clones, when a mother ramet of rank N produced more than one daughter ramets of rank N+1 (i.e. branching rate was more than 1), these daughter ramets were ordered according to the rhizome length which had produced them. Three traits were compared between the daughter ramets: tuber dry weight, the length of the longest rhizome emitted from each of them, and clone fragment size (i.e. total ramet number) produced by each of them. These three traits were compared using sign tests for two daughter-ramets, and page tests for ordered alternatives for three and four daughter-ramets (Siegel & Castellan 1988).

Experiment 2: Tuber contribution to the new ramet generation

To test the effect of tuber rank on tuber dry weight, Friedman two-way analysis of variance by ranks were used. The number of sprouted tubers for each rank was compared between intact and severed series using Fisher exact test for 2x2 tables.

The relationship between sprouted tuber dry weight and total biomass, first shoot length and number of ramets was determined using linear regression adjusted with least squares method. The data were log transformed prior to analyses. To examine any potential relationship between sprouted tuber production, linear regressions were adjusted using the least rectangles method, since it was not possible to ascribe second and third tubers as dependant or independant variables. The relationship between the total biomass produced per series and the dry weight of sprouted and dormant tubers was determined using stepwise multiple regression.

RESULTS

EXPERIMENT 1: RAMET SIZE AND SPATIAL COLONIZATION

Ramet level

The mean dry weight of tubers formed at the basis of the shoots initiated from axillary buds did not significantly differ between intact clones (0.15 g ± 0.03 n = 4) and severed clones (0.13 g ± 0.04 n = 4) (F = 0.4 ns) (Fig. 2A). In contrast, the mean dry weight of tubers at the basis of shoots resulting from rhizome initiation was significantly higher in the intact clones (0.83 g ± 0.15 n = 4) than in the severed clones (0.34 g ± 0.1 n = 4) (F = 23.8 $p<0.01$) (Fig. 2B). For tubers without above-ground shoots, the mean tuber dry weight did not significantly differ between the intact clones (0.39 g ± 0.06 n = 4) and the severed clones (0.25 g ± 0.1 n = 4) (F = 3.96 p = 0.078).

The mean length of rhizomes which produced shoots was significantly higher in the intact clones (8.1 cm ± 0.76 n = 4) than in the severed clones (4.0 cm ± 0.42 n = 4) (F = 91.2, n = 4, $p< 0.001$). However, in the severed clones, only the non-severed rhizomes were measured, which represents half the total number of rhizomes in each clone (49.6 % ± 5.4 %, n = 4). As the shorter rhizomes had not been severed in order to preserve roots, it is probable that the pool of measured rhizomes in severed clones contains a high proportion of short rhizomes. In order to avoid this bias, the rhizomes of each intact clone were ranked by increasing length, and the mean length of the 50 % shortest rhizomes was calculated. This mean value (5.8 cm ± 0.51 n = 4) was still significantly higher than the measured mean length

in severed clones ($F = 29.9$, $n = 4$, $p<0.05$), confirming that rhizome severing did have an effect on rhizome length.

Clone level

The number of sprouted buds developed by the planted tubers was significantly higher in severed clones (2, 2, 3 and 3 buds per tuber) than in intact clones (1, 1, 1 and 2 buds per tuber) (Mann Whitney test $p<0.05$).

The number of shoots and tubers without above-ground shoots was significantly higher in severed clones than in intact clones (Table 1). The higher shoot number in severed clones resulted from a greater axillary bud development (Table 1). In contrast, the higher number of tubers without above-ground shoots resulted from a higher number of rhizome initiations (Table 1). Rhizome severing increased the total number of sprouting buds and the total number of initiated rhizomes (Table 1).

The intact clones produced significantly more above-ground shoot and shoot tuber biomass than the severed clones (Table 2). The biomass of tubers without above-ground shoots did not differ significantly between intact and severed clones (Table 2). The total biomass of produced tubers (tubers with shoots plus tubers without above-ground shoots) was not significantly different between intact and severed clones (Table 2).

In the intact clones, shoot distribution (i.e. number of shoot per 25 cm^2 quadrat) differed significantly from a random distribution ($X^2 = 30.3$, $p<0.001$), with a coefficient of dispersion ($CD = 1.5$) indicating a clumped distribution. In severed clones, shoots were more markedly clumped ($X^2 = 308$, $p<0.001$, $CD = 3.1$).

The total number of quadrats (25 cm^2) occupied per pot was not significantly different between the intact clones (37.75 ± 2.06 $n = 4$) and the severed clones (32.25 ± 6.34 $n = 4$) ($F = 2.7$ ns). However, the distribution of the occupied quadrats differed markedly between the two treatments (Fig. 3). In the intact clones, the percentage of occupied quadrats was similar in the central, intermediate and peripheral zones ($Fr = 4.5$ ns). In contrast, in the severed clones, the percentage of occupied quadrats decreased from the central zone to the peripheral zone ($Fr = 8$, $p<0.01$) (Fig. 3).

Spatial architecture of intact clones

When a mother ramet of rank N had produced two rhizomes (i.e. two daughter ramets of rank N+1), the longest rhizome emitted the daughter ramet with the largest tuber (sign test:

23 +, 5 -, $p<0.001$). Similarly, the daughter ramet emitted from the longest rhizome had itself produced the longest rhizome (sign test: 22 +, 4 -, 2 equalities, $p<0.001$) and the largest clone fragment (sign test: 20 +, 5 - and 3 equalities $p<0.01$).

When a mother ramet produced three or four rhizomes, the tuber dry weight of the daughter ramets increased significantly with the increase in rhizome length which had emitted them (Table 3). The same relationship was observed for the length of the longest rhizome (Table 3) and the clone fragment size produced by each daughter ramet (Table 3).

EXPERIMENT 2: TUBER CONTRIBUTION TO THE NEW RAMET GENERATION

Tuber biomass

Tuber fresh weight prior to sprouting, as measured on severed tubers, was strongly correlated with tuber dry weight after sprouting for each tuber rank category ($r^2 = 0.88$, $r^2 = 0.82$, $r^2 = 0.78$ for the first, the second and the third tuber categories respectively, $n = 17$, $p < 0.001$). In consequence, tuber dry weight measured after sprouting represented a close approximation of tuber weight before sprouting.

Tuber rank had a significant effect on the tuber dry weight for both severed ($Fr = 30.11$, $p<0.001$) and intact series ($Fr = 30.11$, $p<0.001$). In the severed series and intact series, 15 of the 17 replicates showed an increased tuber dry weight from first to second to third tuber.

Sprouting rate of tubers

After two months of growth, the number of sprouted tubers for the first, second and third tuber rank categories was 17, 17 and 16 in the severed series and 4, 13 and 17 in the intact series (Fig. 4). The sprouting rate of third rank tubers did not differ between treatments (Fisher exact test non significant). In contrast, the sprouting rate of first rank tubers (Fisher exact test $p<0.001$) and to a lesser extent, second rank tubers (Fisher exact test $p=0.051$) were significantly less in intact series.

Biomass production per sprouted tuber

When sprouted tubers were severed, the total biomass, first shoot length and, to a lesser extent, number of ramets per tuber, were strongly correlated with sprouted tuber dry weight (Table 4). For each tuber rank category, the total biomass produced per tuber and the

first shoot length were positively correlated with sprouted tuber dry weight (Table 4). Likewise, the number of ramets was positively correlated with sprouted tuber dry weight in the first tuber rank category (Table 4).

When tubers were connected, the relationship between total biomass and sprouted tuber dry weight was weaker than in the severed series (Table 4). Similarly, the correlation between the sprouted tuber dry weight and both first shoot length and ramet number per tuber was weak but still significant (Table 4). For each tuber rank category, the only significant correlation was between first shoot length and sprouted tuber dry weight in the first tuber category (Table 4).

Interaction between sprouted tubers

In order to have as large a homogenous sample as possible for the intact series, only the 11 intact series in which the second and the third tuber had sprouted and in which the first tuber had remained dormant were examined. The relationship between the production of the second and the third tuber was investigated in these 11 intact series on one hand and in the 10 severed series measured at the end of the experiment (see methods) on the other hand.

For each sprouted tuber dry weight, the residual between the measured value of total biomass, ramet number and first shoot length, and the estimated value (linear regression) was calculated on the severed series and intact series. For the severed tubers there was no significant correlation between the second and the third tuber rank categories for the residual values of total biomass, ramet number and first shoot length. In contrast, in the intact tuber series, the residual values of total biomass and ramet number were significantly negatively correlated between the second and the third sprouted tubers ($r^2 = 0.65$ and $r^2 = 0.65$ $n = 11$ $p < 0.01$ respectively).

Role of dormant tubers in the biomass production per tuber series

There is a significant linear relationship between the total biomass produced per series and the sum of the sprouted tuber dry weights (St) in the severed ($r^2 = 0.74$, $n = 10$, $p = 0.001$) and intact series ($r^2 = 0.55$, $n = 17$, $p = 0.001$). Introducing the sum of the dormant tuber dry weights of each series (Dt) as a second explanatory variable of the total biomass produced per intact series strongly increased the percentage of explained variance (multiple regression with St and Dt, $r^2 = 0.72$, $n = 17$, $p<0.001$).

DISCUSSION

Influence of rhizome severing on ramet size variation and spatial colonization

The purpose of the present paper was to examine the effects of clone fragmentation on the clonal growth of *S. maritimus*. An important finding of the present study is that artificial severing of rhizomes decreases the trend for ramet size to increase with successive ramet iterations in *S. maritimus* (Lieffers & Shay 1982b, Clevering 1995) and causes a release of axillary buds from dormancy. The tuber dry weight of severed shoots did not exceed 1.25 g whereas 33 % of the connected shoots formed tubers with dry weights of between 1 and 3 g. Both the size reduction in severed daughter ramets and the release of buds from dormancy support the idea that young ramets constitute a resource sink and strongly benefit from resources supplied by mother ramets (Hartnett & Bazzaz 1983). Resource translocation to younger ramets placed at the end of chains may thus allow for the successive increase in ramet size. This result differs from the prediction of a relative equality in ramet size for compact clonal species due to resource sharing (Hutchings 1979, Schmid & Bazzaz 1987).

Our results add to previous investigations on the role of physiological integration in clone colonization (e.g. Evans & Whitney 1992, Stuefer et al. 1994, Wijesinghe & Handel 1994) by indicating how an increase in size of young ramets placed successively along ramet chains can enhance clonal propagation. The particular patterns of ramet size variability in *S. maritimus* has important consequences in term of spatial propagation due to the relationship between ramet size and ramet colonisation capacity (i.e. the length of produced rhizomes and the number of daughter ramets). The size variability of connected ramets results in a complex clonal architecture which allows intact clones to form uniformly distributed clusters of few shoots. Clevering (1995) observed that ramets produced a long, a medium and a short rhizome which she qualified as "colonisator" and « consolidators" respectively. Our results show that the size of the daugher ramets formed at the tip of these rhizomes increased with rhizome length. Furthermore, tall daughter ramets produced longer rhizomes and more numerous ramets than small daugter ramets. The longest rhizome was generally produced first and grew as a continuation of the rhizome which emitted the ramet. In contrast, the shorter rhizomes were produced later and laterally (pers. obs.), which could explain why the longest rhizome benefited from more resources and produced taller ramets (Carlsson & Callaghan 1990). This architecture leads to a mixture of colonization and consolidation as observed in other clonal plants (De Kroon & Knops 1990, Carlsson & Callaghan 1990). The linear chains of long

rhizomes with tall ramets may enhance colonization further from the center of the clone, while shorter lateral rhizomes may enhance the consolidation of already occupied areas.

The severing of connections between ramets of *S. maritimus* during the growing season (e.g. trampling by large mammalian herbivores such as horses and cattle, Duncan 1992) drastically modifies the clonal architecture described above. Severed ramets, which were small and produced short rhizomes, formed a single cluster without colonising external zones. Furthermore, rhizome severing caused the release from dormancy of both the second and third buds on sprouted tubers and the axillary buds on isolated shoots. This release from dormancy resulted in an increase in the number of locally produced shoots. Consequently, rhizome severing caused a change in clonal architecture of *S.maritimus*, intact clones contained a mixture of colonisation and consolidation strategies whilst fragmented clones had a more uniform consolidation strategy. This change in clonal architecture provides an example of how physiological integration may be involved in the plastic response of clonal plants, in term of their clonal architecture, to enhance rapid localised re-colonization of disturbed areas.

Ecological significance of the maintenance of integration between tubers

Both clone fragmentation and the change in ramet size-number relations resulting from rhizome severing, i.e. few ramets with marked size variability in intact clones *versus* more numerous but smaller ramets in fragmented clones, may have ecological consequences for the future growth of clones.

When above-ground parts of ramets had disappeared and tubers sprouted to form the next ramet generation, tuber dry weight determined the length of the first shoot as well as the total number of ramets developed from this shoot and the total biomass produced. Tuber size in emergent macrophytes such as *S. maritimus* is likely to be selected by water depth when sprouts emerge in the spring. Although some emergent macrophytes, such as *S. maritimus* may show a low but significant underwater photosynthesis activity (Clevering et al. 1995, Voesenek et al. 1993), it is generally thought that the success of spring emergence depends on the reserves stored in below-ground organs (Grace 1993, Laan & Blom 1990). In the Camargue, water depths in temporally flooded marshes are strongly dependent on annual rainfall, and show marked between year variability (Tamisier & Grillas 1994). In these unpredictable water depth conditions, tuber size variability in intact clones could buffer the environmental variability, and could be advantageous for the whole plant (Eriksson & Jerling 1990).

In *S. maritimus*, the contribution of each tuber to the next ramet generation depends not only on its size but also on the other tubers connected to it. The release of buds from dormancy on lower rank tubers (first and second rank) following rhizome severing from higher rank tubers (third rank) demonstrated that one year old rhizomes were physiologically functional and were involved in the apical dominance of higher rank tubers on lower rank tubers. The maintenance of physiological connections among overwintering tubers could have severals benefits in terms of genet persistence. As long as tubers were connected it appears that rhizomes permit resource translocation between tubers. The total biomass produced by the sprouting of a connected tuber chain was more strongly related to the total biomass of tubers, i.e. sprouted plus dormant tubers, than to the biomass of sprouted tubers only. So, at least a part of dormant tuber reserves seems to be used by sprouted tubers to produce a new ramet generation. Resource translocation also appears to occur between sprouted tubers. When a sprouted tuber produced more biomass than expected according to its size, the sprouted tuber connected to it produced less biomass than expected according to its size, a result which suggests that the sprout on the first tuber benefited from a part of the reserves stored in the second sprouted tuber.

The dormancy of certain tubers, while their reserves were translocated to sprouted tubers may allow clones to concentrate nutrients in only a few sprouts, which could be advantageous in nutrient poor environments (Jónsdóttir & Callaghan 1988). Zakravsky and Hroudova (1994) showed that submergence, which limits access to above-ground resources (light, carbon and oxygen), increased tuber dormancy in *S. maritimus*, a result which supports this hypothesis. Furthermore, the dormant tubers constituted a reserve of buds which can be used after events of ramet mortality and clone damage. A similar release of bud dormancy in response to rhizome severing, as demonstrated in *S. maritimus*, has been observed in *Carex bigelowii* (Jónsdóttir & Callaghan 1988) and *Podophyllum peltatum* (de Kroon et al. 1991). The severing of rhizomes which connect overwintering tubers is likely to be frequant under natural conditions for *S. maritimus*. Tubers of *S. maritimus* are rich in carbo-hydrates and eaten by wild boar (*Sus scrofa*) (Mesléard 1994) and wintering greylag geese (*Anser anser*) (Amat *et al.* 1991) which break down the rhizome network whilst foraging on tubers. After such disturbance, the release of buds from dormancy on overwintering tubers, due to the severing of rhizomes, could enhance rapid recovery from damage. However, sprout emergence above the water surface from isolated tubers, which can not benefit from reserve translocation, depends on their size. In consequence, clone fragmentation and tuber size reduction may

fragilize clones in their response to environmental factors such as unpredictable water depth conditions.

Acknowledgements: We thank J. Escarré, J. Lepart, H. de Kroon and two referees for helpful comments on the manuscript. This work was conducted whilst AC was in receipt of a PhD grant from the Fondation Sansouire and the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (CIFRE 649/94).

References:

Amat, J. A., Garcia-Criado, B. and Garcia-Cuidad, A. 1991. Food, feeding behaviour and nutritional ecology of wintering greylag geese *Anser anser*. - Ardea 79: 271-282.

Cain, M. L. 1990. Patterns of *Solidago altissima* ramet growth and mortality: the role of below-ground ramet connections. - Oecologia 82: 201-209.

Carlsson, B. A. and Callaghan, T. V. 1990. Programmed tiller differentiation, intraclonal density regulation and nutrient dynamics in *Carex bigelowii*. - Oikos 58: 219-230.

Clevering, O. A. 1995. Life-history characteristics of *Scirpus lacustris* and *Scirpus maritimus*. PhD Thesis Univ. Nijmegen, Wageningen.

Clevering, O. A., Van Vierssen, W. and Blom, C. W. P. M. 1995. Growth, photosynthesis and carbohydrate utilization in submerged *Scirpus maritimus* L. during spring growth. - New Phytol. 130: 105-116.

de Kroon, H. and Knops, J. 1990. Habitat exploration through morphological plasticity in two chalk grassland perennials. - Oikos 59: 39-49.

de Kroon, H. and van Groenendael, J. 1990. Regulation and function of clonal growth in plants: an evaluation. - In: J. van Groenendael and H. de Kroon (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 57-78.

de Kroon, H., Whigham, D. F. and Watson, M. A. 1991. Developmental ecology of mayapple: effects of rhizome severing, fertilisation and timing of shoot senescence. - Funct. Ecol. 5: 360-368.

de Leeuw, J., Wielemaker, A., de Munck, W. and Herman, P. M. J. 1996. Net aerial primary production (NAPP) of the marsh macrophyte *Scirpus maritimus* estimated by a

combination of destructive and non-destructive sampling methods. - Vegetatio 123: 101-108.

de Steven, D. 1989. Genet and ramet demography of *Oenocarpus mapora* ssp. *mapora*, a clonal palm of Panamanian tropical moist forest. - J. Ecol. 77: 579-596

Duncan, P. 1992. Horses and grasses: The nutritional ecology of equids and their impact on the Camargue. - Ecological studies vol. 87. Springer-Verlag, New York, NY.

Eriksson, O. 1988. Ramet behaviour and population growth in the clonal herb *potentilla anserina*. - J. Ecol. 76:522-536.

Eriksson, O. and Jerling, L. 1990. Hierarchical selection and risk spreading in clonal plants. - In: J. van Groenendael and H. de Kroon (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 79-94.

Evans, J. P. and Whitney, S. 1992. Clonal integration across a salt gradient by a nonhalophyte, *Hydrocotyle bonariensis* (Apiaceae). - Am. J. Bot. 79: 1344-1347.

Grace, J. B. 1993. The adaptative significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective. - Aquatic Botany 44: 159-180.

Grime, J. P. 1979. Plant strategies and vegetation processes. John Wiley and Sons, New York.

Gu, J. and Marshall, C. 1988. The effect of tiller removal and tiller defoliation on competition between the main shoot and tillers of spring barley. - Ann. Appl. Biol. 112: 597-608.

Harper, J. L. 1977. Population biology of plants. Academic Press, London.

Hartnett, D. C. and Bazzaz, F. A. 1983. Physiological integration among intraclonal ramets in *Solidago canadensis*. - Ecology 64: 779-788.

Hroudova, Z. and Zakravsky, P. 1995. *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla - tuber production and dormancy in natural habitats. - Abstracta Botanica 19: 89-94.

Hutchings, M. J. 1979. Weight-density relationships in ramet populations of clonal perennial herbs, with special reference to the - 3/2 power law. - J. Ecol. 67: 21-33.

Hutchings, M. J. and Mogie, M. 1990. The spatial structure of clonal plants: control and consequences. - In: van Groenendael, J. and de Kroon, H. (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague, pp 57-78.

Hutchings, M. J. and Price, E. A. C. 1993. Does physiological integration enable clonal herbs to integrate the effects of environmental heterogeneity? - Plant Species Biol. 8: 95-105.

Jónsdóttir, I. S. and Callaghan, T. V. 1988. Interrelationships between different generations of interconnected tillers of *Carex bigelowii*. - Oikos 52: 120-128.

Jónsdóttir, I. S. and Callaghan, T. V. 1989. Localized defoliation stress and the movement of 14C-photoassimilates between tillers of *Carex bigelowii*. - Oikos 54: 211-219.

Laan, P. and Blom, C. W. P. M. 1990. Growth and survival responses of *Rumex* species to flooded and submerged conditions: the importance of shoot elongation, underwater photosynthesis and reserve carbohydrates. - Journal of experimental botany 41:775-783.

Lieffers, V. J. and Shay, J. M. 1982a. Distribution and variation in growth of *Scirpus maritimus var. paludosus* on the Canadian prairies. - Can. J. Bot. 60: 1938-1949.

Lieffers, V. J. and Shay, J. M. 1982b. Seasonal growth and standing crop of *Scirpus maritimus var. paludosus* in Saskatchewan. - Can. J. Bot 60: 117-125.

Mesléard, F. 1994. Agricultural abandonment in a wetland area: Abandoned ricefields in the Camargue (France), can they be a value for conservation? - Environ. Conserv. 2: 354-357.

Pitelka, L. F. and Ashmun, J. W. 1985. Physiology and integration of ramets in clonal plants. - In: J. B. C. Jackson, L. W. Buss and R. E. Cook (eds), Population biology and evolution of clonal organisms. Yale University Press, New Haven, pp 399-435.

Salzman, A. G. and Parker, M. A. 1985. Neighbors ameliorate local salinity stress for a rhizomatous plant in a heterogeneous environment. - Oecologia 65: 273-277.

Schmid, B. and Bazzaz, F. A. 1987. Clonal integration and population structure in perennials: effects of severing rhizome connections. - Ecology 68: 2016-2022.

Siegel, S. and Castellan Jr, N. J. 1988. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. 2d Edition. McGraw-Hill Book inc., Singapore.

Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. 1981. Biometry, 2nd ed. W. H. Freeman and Co, New York.

Stuefer, J. F. 1997. Division of labour in clonal plants? On the response of stoloniferous herbs to environmental heterogeneity. PhD thesis, Utrecht Univ.

Stuefer, J. F., During, H. J. and de Kroon, H. 1994. High benefits of clonal integration in two stoloniferous species, in response to heterogeneous light environments. - J. Ecol. 82: 511-518.

Tamisier, A. and Grillas, P. 1994. A review of habitat changes in the Camargue: an assessment of the effects of the loss of biological diversity on the wintering waterfowl community. - Biological Conservation 70: 39-47.

Voesenek, L. A. C. J., van Oorschot, F. J. M. M., Smits, A. J. M. & Blom, C. W. P. M. 1993. The role of flooding resistance in the establishment of *Rumex* seedlings in river flood plains. - Functional Ecology 7: 105-114.

Watson, M. A. and Casper, B. B. 1984. Morphogenetic constraints on patterns of carbon distribution in plants. - Ann. Rev. Ecol. Syst. 15: 233-258.

Wijesinghe, D. K. and Handel, S. N. 1994. Advantages of clonal growth in heterogenous habitats: an experiment with *Potentilla simplex*. - J. Ecol. 82: 495-502.

Williams, D. G. and Briske, D. D. 1991. Size and ecological significance of the physiological individual in the bunchgrass *Schizachyrium scoparium*. - Oikos 62: 41-47

Zakravsky, P. and Hroudova, Z. 1994. The effect of submergence on tuber production and dormancy in two subspecies of *Bolboschoenus maritimus*. - Folia Geobot. Phytotax. 29: 217-226.

Annexe 3

Functional specialization of interconnected ramets in *Scirpus maritimus*: Division of labour for storage, growth and sexual reproduction?

soumis à Plant Ecology

Functional specialization of interconnected ramets in *Scirpus maritimus*: Division of labour for storage, growth and sexual reproduction?

Anne Charpentier[1] and Josef F. Stuefer[2]

[1] author for correspondence: Station Biologique de la Tour du Valat, Le Sambuc, Arles F-13200, France. Fax: +33 04 90 97 20 19. E-mail: anne.charpentier@sansouire-tourduvalat.fr

[2] Departement of Plant Ecology and Evolutionary Biology, Utrecht University, P.O. Box 800.84, 3508 TB Utrecht, the Netherlands

ABSTRACT

In the emergent macrophyte *Scirpus maritimus*, functional variation occurs among interconnected ramets formed along rhizomes. Some ramets have a tuber with an above ground shoot (with or without inflorescence) which disappears at the end of the first growing season, whilst other ramets consist of tubers without above ground shoots. Both in the field and in clones grown in pots at two density levels, the specialization of ramets to carbon assimilation and storage is primarily determined by their position along the rhizomes. Ramets with above ground shoots are in first and intermediate positions along rhizomes, while tuber ramets are mainly terminal ramets. Moreover, the size of tubers increase from first to terminal ramets. In contrast, flowering ramets have been observed in all positions along rhizomes, a result which suggests that ramet allocation to sexual reproduction is a plastic response to environmental conditions. An other plastic response concerns the proportion of tuber ramets which increases with increasing density. This density-dependant regulation may be a mechanism to limit competition between above ground shoots.

The behavioural variation among ramets of *S. maritimus* may represent a developmentally programmed syndrome, that causes ramets of a specific stage in their ontogenetic development to specialize as either generative, vegetative or tuber ramets. This functional specialisation of interconnected ramets depends on ramet position along rhizomes and also on interactions between the developmental program and environmental conditions.

INTRODUCTION

Clonal plants can be seen as populations of potentially independent units, called ramets. In many clonal herbs, ramets remain physically connected for various periods of time. Nevertheless, they are capable of an independent existence, and each of them has the basic ability to perform most essential tasks of plant growth and development. In addition to this basic totipotency, structural and behavioural variation among interconnected ramets has been described for various clonal plant species. Such intra-clonal variability can concern the size and architecture of ramets (Hutchings & de Kroon 1994, Cain 1990), the ramet allocation to sexual reproduction and vegetative growth (Hartnett 1990, Schmid et al. 1995), or the biomass allocation to roots and to shoots (Birch & Hutchings 1994, Stuefer et al. 1996). It has been hypothesed that the behavioural variation among ramets may increase genet fitness in spatially and temporally heterogeneous habitats (Eriksson & Jerling 1990), as it allows for an exploitation of spatially scattered resources (Hutchings & Price 1993, Stuefer et al. 1996), and it increases the efficiency with which specific tasks are performed by a genet (Alpert & Stuefer 1997). A functional and structural specialization of interconnected ramets of clonal plants can hence be compared to task splitting and behavioural specialization in colonies of modular animals or social insect communities (Stuefer in press). It has been also suggested that such response patterns are analogous to a division of labour in space-economical systems (Alpert & Stuefer 1997, Hutchings & Wijesinghe 1997, Jónsdóttir & Watson 1997, Stuefer et al. in press).

Two basic types of functional specialization of interconnected ramets of clonal plants have been described so far. In some species, ramets can vary their structure and function according to environmental conditions. Such inducible specialization includes variations in architectural, e.g. internode length and branching (Hutchings & Slade 1988, Hutchings & Wijesinghe 1997), or to changes in biomass allocation to different organs (Friedman & Alpert 1991, Birch & Hutchings 1994, Stuefer et al. 1994). It has been proposed that such variation in structure and function of ramets may be an adaptative response to spatial heterogeneity in resource supply (Hutchings & de Kroon 1994, Alpert & Stuefer 1997, Stuefer 1997). In spatially heterogeneous habitats with complementary resource supplies, interconnected ramets can specialize morphologically in the uptake of the locally most abundant resource (e.g. water, light), and they can share captured resources by internal translocation (physiological

integration) between ramets. This 'division of labour' among ramets increases the performance of genets growing in spatially heterogenous habitats (Stuefer et al. 1996).

In another group of species, the specialization of ramets is a developmentally programmed syndrome. In *Carex bigelowii* for example, the function of ramets changes predictably with ramet age. Young tillers bear green leaves and only few roots and are thus mainly responsible for assimilation, while older ramets have no above-ground parts and serve mainly as uptake organs for water and nutrients, and as storage organs for resources and buds (Jónsdóttir 1989, Jónsdóttir et al. 1996). In other species, the ramets are pre-determined to carry out specific functions during certain stages of their ontogeny. In mayapple (*Podophyllum peltatum*) overwintering buds contain either a vegetative or a sexual shoot (Watson 1990), implying that the fate and function of ramets is decided the growing season prior to their actual outgrowth (Geber et al. 1997). This second type of specialization has been referred to as non-plastic division of labour in clonal herbs (Jónsdóttir et al. 1996, Alpert & Stuefer 1997, Jónsdóttir & Watson 1997). Except for the examples mentioned above, the developmental, ecological and evolutionary significance of ramet specialisation remain poorly understood.

Scirpus maritimus is a rhizomatous macrophyte, which occurs mainly in brackish shallow marshes. Lieffers and Shay (1981) have observed that overwintering tubers sprout to form erect ramets which generally bear an inflorescence. These generative ramets emit rhizomes on which vegetative ramets are produced. Zakravsky and Hroudova (1994) furthermore noticed that ramets formed at the end of the rhizomes (i.e. the youngest ramets) do not usually form above-ground shoots, but they consist of a relatively large storage organ only (i.e. tuber). During the growing season, generative and vegetative ramets form tubers at the basis of above-ground parts. The dry weight of tubers formed along the rhizomes clearly increases from older to younger ramets (Lieffers & Shay 1982 a, Clevering 1995) (Fig. 1). These observations suggest that the structure and function of ramets may vary considerably along rhizomes of *S. maritimus*. The tasks of sexual reproduction, carbon assimilation and resource storage appear to be unevenly distributed over interconnected ramets of this species. Furthermore, such functional specialization of ramets seems to be a predictable function of genet development, i.e. the observed variability in the structure and function of interconnected ramets occurs along ramet chains. The ecological implications of such ramet specialization, as well as the occurrence and significance of plasticity in this trait (i.e. interactions between this developmental program and environmental conditions) remain however unclear.

The aim of this study is to further investigate structural and functional variability among ramets in *S. maritimus* in this context. We quantified the distribution of sexual and vegetative ramets as well as tubers without above-ground shoots (i.e. tuber ramets) along rhizomes in a natural population. We then compared the clonal architecture of field-grown plants with that observed in a cultivation experiment with two shoot density treatments.

MATERIAL AND METHODS

The Species

The study was carried out with the perennial, rhizomatous macrophyte *S. maritimus*. Ramets produce photosynthetically active parts for one single growing season. In autumn all above-ground parts die back, and only below-ground parts persist into the next year. Overwintering organs include tubers formed at the basis of above ground shoots, tuber ramets (i.e. tubers without above ground shoots) and rhizome connections between tubers. Each ramet has three axillary buds on the upper side of the tuber. These buds generally remain dormant for the first year and sprout in the following spring to give rise to erect ramets (Fig. 1). During the growing season these ramets emit one to three (in rare cases four) rhizomes, producing branched chains of ramets which continue to grow and develop until the end of summer (Fig. 1).

Field observations

A mature stand of *S. maritimus* inhabiting a marsh (Manche nord des relongues) situated in the Tour du Valat Wildlife Reserve (43'30' N, 04'30' E, Rhone delta, France) was monitored during one growing season in 1996. A 6m x 6m exclosure was established in this stand in April 1996 to prevent perturbations by herbivores. The exclosure was divided into 36 plots (1m x 1m). Every two weeks, the number of vegetative and sexual shoots of *S. maritimus* was counted within a quadrat (40cm x 40cm) randomly placed in the centre of three plots, in excluding plots which have been already measured to avoid repeated measures. For the sexual stage of plants three phenological stages (floral buds, flowers, fruits) were distinguished.

In September 1996, a 20cm x 20cm subquadrat was placed in the centre of each 40x40 cm quadrat. The basis of all vegetative and sexual shoots within these three subquadrats were

colour coded with plastic rings. Above-ground shoots were cut above the rings. Below-ground parts were excavated together with a 15cm deep clod of soil which was washed free of soil. Each below-ground sample included a mixture of intact chains of connected ramets and chain fragments. A total of 63 ramets with above ground shoots and 25 tubers without above-ground shoots (i.e. ramet tubers) produced in 1996 were collected. In all, 32 pairs of connected ramets (two successive ramets along a rhizome) were counted.

All ramets (including sexual, vegetative ramets and ramet tubers) produced in 1996 were assigned to one of the three following categories to indicate their position along the ramet chains. (1) First ramets are those which had been directly produced from an overwintering tuber. (2) Intermediate ramets are those produced by further growth of first ramets during the growing season. (3) Final ramets are later formed ramets, positioned at the end of rhizomes. The dry weights of all tubers were measured individually.

Cultivation experiment

In autumn 1995, tubers were collected from the stand described above and stocked in wet sand at 4°C in a dark room. At the end of April 1996, tubers were planted into pots filled with sand. After two weeks, eight sprouting tubers were individually transplanted to circular pots (18 cm wide by 13.5 cm deep). Four other tubers were individually planted into larger containers (55cm x 35cm x 15cm deep). Both the pots and containers were filled with a 4:1 mixture of sand and potting compost and kept water-satured throughout the experiment. The number of vegetative and flowering ramets was counted every two weeks.

In September 1996, all clones which had developed in the containers and only four in the pots were carefully excavated. The number of sexual ramets, vegetative ramets and tubers without above-ground shoots (tuber ramets) was measured. The position of each ramet on the rhizomes (first, intermediate and final ramets) was noted. Ramets that did not originate from rhizome initiations but developed directly from axillary buds at the basis of a ramet (see Fig. 1) were assigned to a fourth category: axillary ramets.

Data analysis

A one way ANOVA was used to compare the mean shoot density when flowering started in the mature stand, the containers and the pots. G-tests were used to compare the

distribution of the number of sexual ramets, vegetative ramets and tubers without above-ground shoots within the four categories (first, intermediate, final, axillary ramets, see above). Differences in mean tuber dry weight between first, intermediate and final ramets were tested by non parametric Kruskall-Wallis analysis of variance by ranks, followed by pair comparisons (Siegel & Castellan 1988). Differences in tuber dry weight between two successive ramets on a rhizome were tested using a Wilcoxon signed ranks test. A one way ANOVA was performed to compare the ratio of the number of ramets with above ground shoots / ramets without above ground shoots between the containers and the pots.

RESULTS

Field Study

Phenology & Shoot Density

The sprouting of overwintering tubers started in early April (Fig. 2). The first floral buds appeared in early May, when shoot density reached value of 473 shoots per square meter (S.D. = 45, n = 3). The number of flowering shoots increased until early June. From mid-June onwards, no new sexual shoots were produced. At the end of the growing season, the density was about 750 shoots per square meter, and one third of all shoots were sexual.

Clonal architecture

The three types of ramets (flowering, vegetative and tuber ramets) were not randomly positioned along the rhizomes formed in 1996 ($G = 107$, $p<0.001$; Fig. 3). All flowering ramets were first ramets. This means that all of them had resulted directly from the sprouting of overwintering tubers. Vegetative ramets were mainly intermediate ramets, which were produced during the growing season. Some first and final ramets on the rhizomes were also vegetative (Fig. 3). Nearly all tuber ramets (i.e. ramets without above-ground shoots) were located at the distal end of rhizomes, implying that they represented the ontogenetically youngest ramets within clonal fragments. In some rare cases tuber ramets were located at an intermediate position along the rhizome (Fig. 3). In such cases tuber ramets produced a new tuber without above-ground shoot. The ratio between the number of ramets with and without above-ground shoots was 2.5.

In pairs of connected ramets (i.e. two successive ramets along a rhizome), the developmentally younger ramet had a significant higher tuber dry weight than its adjacent older ramet (Wilcoxon test $p<0.01$). The mean tuber dry weight of first ramets (0.59 g +/- 0.27, n = 33) was significantly lower than that of intermediate (1.33g +/- 0.87; n = 30) and final ramets (1.02 g +/- 0.86; n = 25, H = 16.2, $p<0.01$) (Fig. 4). The tuber dry weights of the later two ramet categories were not significantly different from one another.

Cultivation experiment

Phenology & shoot density

Five of the eight clones grown in small pots produced flowering ramets, while the other three clones remained vegetative during the experiment. Flowering started in early June for three of the generative clones, and in early July for the two other clones. Floral buds appeared when shoot density had reached value of 495 shoots per meter square (S.D. = 98, n = 5).

All clones grown in the bigger containers produced sexual ramets. The inflorescence appeared in early July in one of the containers and in mid-July in the three others, when shoot density had reached value of 357 shoots per meter square (S.D. = 57, n = 4).

The shoot density when the first floral buds appeared did not significantly differ between the mature stand, the pots and the containers ($df = 2$, $F = 3.8$, $p>0.05$). In the pots as well as in the containers the production of inflorescence continued after mid-July. At the end of the growing season, the density of shoots reached mean values of 1305 shoots per square meter (S.D. = 175; n = 8) in pots and 384 shoots per square meter (S.D.= 18, n = 4) in containers.

Clonal architecture

The distribution of sexual ramets, vegetative ramets and tuber ramets (i.e. tubers without above-ground shoots) over the four ramet categories (first, intermediate, final ramets, and ramets resulting directly from an axillary bud) differed significantly from a random distribution both for plants grown in pots ($G = 18.8$, $p<0.01$) and those grown in containers ($G = 26.6$ $p<0.001$; Fig. 5). In the containers, all first ramets remained vegetative. In contrast, inflorescence appeared on some intermediate and final ramets and also on some ramets resulting from direct bud sprouting (Fig. 5b). In the pots, inflorescence appeared on three

ramet categories: the first and intermediate ramets along the rhizomes and the ramets resulting from axillary bud sprouting (Fig. 5a).

The ratio between the number of ramets with and without above-ground shoots was significantly lower in pots (1.5 +/- 0.5, n=4) than in containers (3.7 +/-0.75, n=4) ($F = 23.5$, $df = 1$, $p<0.01$).

DISCUSSION

In *S. maritimus*, as has been described for rhizomatous plants such as *Carex bigelowii* and *Podophyllum peltatum* (Jónsdóttir & Watson 1997), the function of ramets changes predictably with ramet age. Ramets in the youngest generation bear leaves and photosynthesize while older ramets on the same clonal fragment have no above-ground organs but remain viable as storage organs for extended periods of time. This differentiation between photosynthetic and storage ramets indicates a functional specialization of ramets from different overlapping generations (i.e. ramets formed during one growing season). It has been suggested that such developmentally programmed « division of labour » among ramet generations is part of a « Sit and Wait » strategy which may be advantageous in extremely poor and temporally heterogeneous soil sources (Jónsdóttir et al. 1996, Watson & Jónsdóttir 1997).

This study also indicates that a functional specialization may occur on a much smaller time-scale, i.e. within one growing season, among ramets of the youngest ramet generation. This functional specialization of interconnected ramets in *S. maritimus* appears to be a developmentally programmed syndrome. During their first year of growth, ramets at a specific stages in their ontogenetic development specialize in generative ramets, vegetative ramets or tuber ramets (i.e. tubers without above-ground parts). Consequently, the tasks of sexual reproduction, carbon assimilation and storage of resources may be unevenly distributed over interconnected ramets along rhizomes (Fig. 3 and Fig. 5).

The functional specialization ramets undergo during development is mainly determined by their position along the rhizome. The task of carbon assimilation is carried out by several ramets along rhizomes. However, the dry weight of above-ground parts usually decreases from ontogenetically older (basal) to younger (distal) along the rhizomes (Lieffers 1982a, Clevering 1995). In contrast, the function of storing carbohydrates increases gradually from older to younger ramets. Most of ramets formed at the end of the growing season (final ramets) have no above-ground organs, which means that they serve as storage organs only (Fig. 1). As a

consequence of this increasing specialization for storage with ontogenetic age of the ramets, the biomass ratio of tubers to above-ground parts increases gradually as the number of ramet iterations increases (Lieffers 1982a, Clevering 1995). This variation in biomass allocation to above *versus* below ground organs represents an ontogenetically fixed growth pattern. This means that the structural specialization of interconnected ramets also develops in the absence of any environmental heterogeneity.

The structural and functional specialization of early and late formed ramets in capturing light and producing photo-assimilates on one hand, and for storing resources on the other may ultimately relate to seasonal changes in the costs and benefits of biomass allocation to above-ground plant parts. Vegetative ramets produced early in spring are probably most rewarding if used for light capture and carbon assimilation. The leaves of these ramets are active during the whole growing season. For ramets which appear in summer, biomass allocation to stems and leaves may be less rewarding because these assimilating organs can only be used during a short period of time. This implies, however, that later formed ramets are less self-sufficient, hence acropetal transport of resources from assimilating ramets to ramets that specialize in storage is necessary.

This resources translocation towards ontogenetically younger ramets on the rhizomes results in the formation of tubers which successively increase in size. This increase in tuber size along rhizomes, which has been reported several times in *S. maritimus* (Lieffers & Shay 1982a, Clevering 1995) may thus result from the uni-directional translocation of resources from all vegetative shoots along the rhizome (Charpentier et al.). An ecological interpretation of the structural specialization in terms of an unequal distribution of stored resources among ramets may be found in the relationship between the probability of a tuber sprouting in spring and tuber size. Tubers of *S. maritimus* represent the only vegetative structure which stays alive during winter. This implies that the survival of genets depends on the success of overwintering tubers sprouting during the following springs. For emergent macrophytes such as *S. maritimus*, the shoot survival depends mainly on the ability of shoots to emerge above the water surface. The probability of spring emergence depends on the amount of reserves stored in below-ground organs (Grace 1993). In *S. maritimus*, the size of sprouting tubers determines the length of the first ramet produced in spring (Charpentier et al.). In shallow marshes, water-depths in spring are strongly unpredictable, because they depend on annual levels of rain fall. The variability in tuber size, as observed in *S. maritimus*, may thus be a mechanism to buffer plants against temporal variability in water-depth (Fig. 6).

However, observations on flowering (see below) and increase in proportion of ramet tubers with increasing density suggest that some aspects of the functional specialization do change in response to habitat characteristics, and should thus be considered plastic changes in the development of clonal fragments.

In mature stands of *S. maritimus*, sexual reproduction is mainly carried out by those ramets which result from direct sprouting of overwintering tubers. In some rare cases intermediate ramets can also bear inflorescences (Lieffers & Shay 1982a). In contrast, in our cultivation experiment, flowering ramets could be found at all positions within clonal fragments, i.e. generative ramets could be first, intermediate, final and axillary ramets. This suggests that ramet rank does not necessarily determine floral bud initiation in *S. maritimus*. Lieffers & Shay (1982b) could not find preformed floral buds on overwintering tubers. They consequently concluded that the initiation of floral buds occurs after shoot growth has started. Photoperiod is also unlikely to trigger flowering in this species as clones from the natural population flowered in May, while those grown in pots and containers flowered in early June and in July, respectively. However, both in the natural population and in the experimentally grown plants, the initiation of flowering started when density reached about 400 shoots per square meter. This result suggests that shoot density may play a crucial role in the regulation of the timing of sexual reproduction in *S. maritimus*. Environmental factors such as salinity and water depth can also affect the initiation of sexual reproduction in this species (Lieffers & Shay 1982b).

The formation of tubers without above-ground shoots increases strongly at high levels of shoot density. This suggests that the formation of these highly specialized ramets seems to be regulated at least in part by density-dependent processes. The allocation of assimilates from above-ground shoots to storage organs has been proposed as a mechanism to prevent shoots of clonal plants from severe competition and self-thinning (Suzuki & Hutchings 1997). A simulation model demonstrated that the probability of ramets experiencing self-thinning decreases as the percentage of assimilates allocated to storage increases (Suzuki & Kudo, in prep.). In *S. maritimus* shoot density increases with successive shoot iterations. The increased formation of tuber ramets at high levels of shoot density may permit genets to produce new tubers without further increasing the shoot density, thereby allowing genets to expand and consolidate without the risk of self-thinning. The functional specialization of ramets may thus have manifold consequences for the adaptation of clonal plants to heterogenous habitats both in terms of temporally variable resources and space availability.

Acknowledgements: Extensive suggestions by John D. Thompson greatly improved the manuscript. This work was conduced whilst AC was in receipt of a PhD grant from the Fondation Sansouire and the Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (Convention CIFRE 649/94).

REFERENCES

Alpert, P. & Stuefer, J.F. 1997. Division of labour in clonal plants. pp. 137-154. In: de Kroon, H. & van Groenendael, J. (eds), The ecology and evolution of clonal plants. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.

Birch, C.P.D. and Hutchings, M.J. 1994. Exploitation of patchily distributed soil resources by the clonal herb *Glechoma hederacea*. Journal of Ecology 82: 653-664.

Cain, M.L. 1990. Patterns of *Solidago altissima* ramet growth and mortality: the role of below-ground ramet connections. Oecologia 82: 201-209.

Charpentier, A., Mesléard, F. & Thompson, J.D. The effects of rhizome severing on the clonal growth and clonal architecture of *Scirpus maritimus*. Accepted in Oikos.

Clevering, O. 1995. Life-history characteristics of *Scirpus lacustris* and *Scirpus maritimus*, with special reference to the restoration of these species in former tidal areas. PhD thesis, Wageningen, The Netherlands.

Eriksson, O. & Jerling, L. 1990. Hierarchical selection and risk spreading in clonal plants. pp. 79-94. In: van Groenendael, J. & de Kroon, H. (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague.

Friedman, D. and Alpert, P. 1991. Reciprocal transport between ramets increases growth of *Fragaria chiloensis* when light and nitrogen occur in separate patches but only if patches are rich. Oecologia 86: 76-80.

Geber, M.A., Watson, M.A. & de Kroon, H. 1997. Organ preformation, development, and resource allocation in perennials. pp. 113-141. In: Bazzaz, F.A. & Grace, J. (eds), Plant resource allocation. Academic Press, London.

Grace, B. 1993. The adaptative significance of clonal reproduction in angiosperms: an aquatic perspective. Aquatic Botany 44: 159-180

Hartnett, D.C. 1990. Size-dependent allocation to sexual and vegetative reproduction in four composites. Oecologia 84: 254-259.

Hutchings, M.J. & de Kroon, H. 1994. Foraging in plants: the role of morphological plasticity in resource acquisition. Advances in Ecological Research 25: 159-238.

Hutchings, M.J. & Price, E.A.C. 1993. Does physiological integration enable clonal growth herbs to integrate the effects of environmental heterogeneity? Plant Species Biology 8: 95-105.

Hutchings M.J. & Slade A.J. 1988. Morphological plasticity, foraging and integration in clonal perennial herbs. pp. 83-109. In: Davy, A.J., Hutchings M.J. & Watkinson A.R. (eds), Plant Population Biology. Blackwell Scientific Publication, Oxford.

Hutchings, M.J. & Wijesinghe, D.K. 1997. Patchy habitats, division of labour and growth dividends in clonal plants. Trends in Ecology & Evolution 12: 390-394.

Jónsdóttir, I.S. 1989. The population dynamics, intraclonal physiology and grazing tolerance of *Carex bigelowii*. PhD thesis, Lund University, Sweden.

Jónsdóttir, I.S., Callaghan, T.V. & Headley, A.D. 1996. Resource dynamics within arctic clonal plants. Ecological Bulletin 45: 53-64.

Jónsdóttir, I.S. & Watson, M.A. 1997. Physiological integration in resource-poor environments. pp. 109-136. In: de Kroon, H. & van Groenendael, J. (eds), The ecology and evolution of clonal plants. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.

Lieffers, V.J. & Shay, J.M. 1981. The effects of water level on the growth and reproduction of *Scirpus maritimus* var. *paludosus*. Canadian Journal of Botany 59: 118-121.

Lieffers, V.J. & Shay, J.M. 1982 a. Seasonal growth and standing crop of *Scirpus maritimus* var. *paludosus* in Saskatchewan. Canadian Journal of Botany 60: 117-125.

Lieffers, V.J. & Shay, J.M. 1982 b. Distribution and variation in growth of *Scirpus maritimus* var. *paludosus* on the Canadian prairies. Canadian Journal of Botany 60: 1938-1949.

Schmid, B., Bazzaz, F.A. & Weiner, J. 1995. Size dependency of sexual reproduction and clonal growth in two perennial plants. Canadian Journal of Botany 73: 1831-1837.

Siegel, S. & Castellan Jr, N.J. 1988. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. 2d Edition. McGraw-Hill Book inc., Singapore.

Stuefer, J.F. 1997. Division of labour in clonal plants? On the response of stoloniferous herbs to environmental heterogeneity. PhD thesis. Utrecht University, The Netherlands.

Stuefer, J.F., de Kroon, H. & During, H.J. 1996. Exploitation of environmental heterogeneity by spatial division of labour in a clonal plant. Funcional Ecology 10: 328-334.

Stuefer, J.F., During, H.J. & de Kroon, H. 1994. High benefits of clonal integration in two stoloniferous species, in response to heterogeneous light environments. Journal of Ecology 82:511-518.

Stuefer, J.F. 1998. Benefits, costs and constraints of division of labour in clonal plants. Perspectives in Plant Ecology, Evolution & Systematics (in press).

Stuefer, J.F., During, H.J. & Schieving, F. 1998. A model on optimal root-shoot allocation and water transport in clonal plants. Ecological Modelling (in press).

Suzuki, J. & Hutchings, M.J. 1997. Interactions between shoots in clonal plants and the effects of stored resources on the structure of shoot populations. pp 311-329. In: de Kroon, H. & van Groenendael, J. (eds), The ecology and evolution of clonal plants. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.

Suzuki, J. & Kudo, T. Why do clonal plants not exhibit self-thinning? The answer from an individual model. (In preparation)

Watson, M.A. 1990. Phenological effects on clone development and demography. pp 43-55. In van Groenendael, J. & de Kroon, H. (eds), Clonal growth in plants: regulation and function. SPB Academic Publishing, The Hague.

Zakravshy, P. & Hroudova, Z. 1994. The effect of submergence on tuber production and dormancy in two subspecies of *Bolbochoenus maritimus*. Folia Geobot. Phytotax. 29: 217-226.