

**Dynamique d'invasion de deux végétaux
introduits dans le bassin méditerranéen,
Carpobrotus spp. (Aizoaceae)
sur l'île de Bagaud
(Parc National de Port-Cros, S.E. France) : hybridation,
structure clonale et stratégies de reproduction**

Carey M. SUEHS, Laurence AFFRE, Frédéric MÉDAIL

*Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléoécologie
(IMEP, UMR CNRS 6116),*

*Université d'Aix-Marseille III, Faculté des Sciences et Techniques
de Saint-Jérôme, case 461, F-13397 Marseille cedex 20, France*

Résumé : Cette étude analyse les paramètres morphologiques, génétiques et reproducteurs de deux taxons du genre *Carpobrotus*, originaires d'Afrique du sud, et présents sur l'île de Bagaud (Var, sud-est de la France) afin de comparer leur dynamique d'invasion. Différentes combinaisons alléliques démontrent la présence d'individus intermédiaires résultant d'une introgression d'une partie du génome de *C. edulis* dans celui de *C. acinaciformis*. Ces deux taxons présentent des valeurs élevées de diversité génétique et clonale. *C. acinaciformis* est caractérisé par une croissance clonale plus importante comparé à *C. edulis*, ce qui se traduit par des clones plus larges et continus pour *C. acinaciformis*. A la suite de diverses pollinisations contrôlées, la quantification de la production de fruits/graines, de la biomasse des graines, de la germination des graines et de la taille des plantules révèle que *C. edulis* se reproduit facultativement par agamospermie, est complètement auto-fertile et auto-compatible, et ne présente aucune évidence de dépression de consanguinité et une faible vigueur hybride. *C. acinaciformis* est très faiblement agamospermique, auto-fertile, auto-compatible, et présente une faible dépression de consanguinité et une vigueur hybride très élevée. L'excès d'individus intermédiaires et les performances plus élevées en hybridation inter-taxon suggèrent fortement une origine hybride pour *C. acinaciformis* et une grande instabilité du fait de l'introgression continue de gènes de *C. edulis*. Pour ces raisons, nous préférons désigner ce taxon en tant que *C. affine acinaciformis*. Au vu de ces résultats, *C. edulis* et *C. affine acinaciformis* menacent fortement les écosystèmes littoraux, la première en raison des diverses alternatives de reproduction asexuée et sexuée, et la dernière du fait d'une croissance végétative et d'une vigueur hybride importantes. En conséquence, une des priorités de gestion pour les habitats insulaires et littoraux consiste à l'éradication des deux taxons lorsqu'ils sont en sympatrie.

* **Mots-clés :** invasion biologique, plantes envahissantes, agamospermie, auto-compatibilité, clonalité, dépression de consanguinité, diversité génétique, introgression, nuage hybride, propagation végétative.

Abstract : In this study, we analyze morphometric, genetic and reproductive parameters of two South African *Carpobrotus* taxa present on the island of Bagaud (Var, southeastern France) in order to compare their invasion dynamics. Different allele combinations demonstrated the presence of intermediary individuals resulting from an introgression of part of the *C. edulis* genome to that of *C. acinaciformis*. Both taxa have elevated genetic and clonal diversities, though *C. acinaciformis* has larger and more continuous clones than *C. edulis*. Following various controlled pollinations, seed counts, biomass, germination and seedling sizes demonstrated that *C. edulis* is facultatively agamospermic, is completely self-fertile and self-compatible, has no evidence of inbreeding depression, and a weak hybrid vigor. *C. acinaciformis* is very weakly agamospermic, weakly self-fertile and self-compatible, has a slight inbreeding depression and a very strong hybrid vigor. The excess of intermediary individuals and high performances in inter-taxon hybridization strongly suggest a hybrid origin for *C. acinaciformis* and a strong instability due to the continued introgression of *C. edulis* genes. For these reasons, we prefer to refer to this taxon as *C. affine acinaciformis*. In light of these results, both *C. edulis* and *C. acinaciformis* are a severe menace to coastal ecosystems, the former because of its diverse alternatives for sexual or asexual reproduction, and the latter due to its strong clonal growth and hybrid vigor. Eradication of sympatric populations is thus a priority as regards the maintenance and control of these taxa.

INTRODUCTION

L'étude des processus d'invasion des espèces envahissantes constitue un thème majeur en écologie évolutive (D'ANTONIO & DUDLEY, 1995 ; VITOUSEK *et al.*, 1996 ; EWEL *et al.*, 1999), et semble représenter actuellement la deuxième menace vis à vis du maintien de la biodiversité mondiale, après la destruction et la fragmentation des habitats (WILLIAMSON, 1996). L'impact des espèces envahissantes peut se traduire par une altération du fonctionnement des écosystèmes, de la structure des communautés et de la dynamique des populations, et par une accélération de l'extinction des espèces indigènes (MACDONALD *et al.*, 1988 ; HIGGINS *et al.*, 1996 ; VITOUSEK *et al.*, 1996 ; WILLIAMSON, 1996 ; DAEHLER, 1998).

Par rapport aux écosystèmes continentaux, les systèmes insulaires sont particulièrement vulnérables aux invasions biologiques en raison de la fréquence et de l'importance des impacts engendrés par les espèces étrangères (D'ANTONIO & DUDLEY, 1995 ; VITOUSEK *et al.*, 1996 ; MOONEY & CLELAND, 2001). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer une telle situation ; les îles se caractérisent en effet par (i) un nombre plus important de niches écologiques vacantes, (ii) une réduction ou une absence d'ennemis indigènes (prédateurs/parasites/pathogènes) d'où une simplification des réseaux trophiques, (iii) une diminution des espèces compétitrices, et (iv) des régimes de perturbation différents (ex. D'ANTONIO & DUDLEY, 1995). L'ampleur de ces invasions est d'autant plus préoccupante que les systèmes insulaires possèdent souvent un nombre important d'espèces à haute valeur patrimoniale, dont de nombreuses endémiques. C'est le cas des îles du bassin méditerranéen qui ont joué, pour la plupart, un rôle majeur de zones refuges et qui constituent aussi des territoires propices aux processus de spéciation.

végétale (HEYWOOD, 1995 ; MÉDAIL & QUÉZEL, 1997). Tout ceci rend le contrôle des espèces envahissantes une priorité de gestion vitale au sein des systèmes insulaires méditerranéens.

Dans ce contexte, cette étude examine la dynamique d'invasion de *Carpobrotus edulis* (L.) N. E. Br. et *C. acinaciformis* (L.) L. Bol (Aizoaceae) sur l'île de Bagaud (Parc National de Port-Cros) où les deux taxons se rencontrent en sympatrie. Originaires d'Afrique du Sud, ils ont été introduits dans le sud-est de la France au début des années 1800 (GOUFFÉ DE LA COUR, 1813) et se sont naturalisés le long du littoral provençal et sur l'archipel des îles d'Hyères au début des années 1900 (ALBERT & JAHANDIÉZ, 1908). Comparé à *C. acinaciformis*, *C. edulis* est considéré comme un taxon plus envahissant et il constitue une sévère menace pour plusieurs plantes indigènes endémiques ou rares (SUEHS *et al.*, 2001). Cependant, en contradiction avec plusieurs décennies de signalisations floristiques soulignant la présence de deux espèces de *Carpobrotus*, AKEROYD et PRESTON (1990, 1993) considèrent que seul *C. edulis* est présent sous la forme de plusieurs variétés. D'autres paramètres peuvent complexifier la situation, en particulier la potentialité d'hybridation entre les espèces de *Carpobrotus*, ce qui a été clairement noté entre *C. edulis* et *C. chilensis* en Californie (ALBERT *et al.*, 1997; GALLAGHER *et al.*, 1997), et *C. acinaciformis*, *C. quadrifidus* et *C. mellei* en Afrique du Sud (WISURA & GLEN, 1993), et *C. virescens* en Australie (BLAKE, 1969).

Les objectifs de cette étude consistent donc à comparer pour chacun des deux taxons, le polymorphisme isozymique, la variation morphologique et les performances sous divers traitements de pollinisations afin, (i) d'expliquer l'ambiguïté taxonomique existant dans la littérature, et de quantifier : (ii) la potentialité d'hybridation entre les deux taxons et ses implications, (iii) la diversité génétique et la structure spatiale clonale, (iv) l'importance relative de l'apomixie, au travers de la propagation végétative et de l'agamospermie, par rapport à la reproduction sexuée, (v) les performances en auto-fertilité et auto-compatibilité, et (vi) les niveaux de dépression de consanguinité et d'hybridation. Une meilleure compréhension des facteurs écologiques et évolutifs impliqués dans la dynamique d'invasion des deux taxons devrait permettre de proposer des stratégies de gestion efficaces pour les écosystèmes du littoral méditerranéen.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Sites et taxons étudiés

Carpobrotus edulis et *C. acinaciformis* sont des plantes succulentes, pérennes et clonales, caractérisées par des feuilles allongées, épaisses et triangulaires. Les fleurs solitaires et actinomorphes présentent un réceptacle globuleux à sub-globuleux avec de

nombreuses étamines entourant 9-14 styles, disposés en étoile à maturité, et des nectaires à la périphérie. Les fruits charnus indéhiscents produisent de nombreuses petites graines dispersées par endozoochorie (VILÀ & D'ANTONIO, 1998a). Les deux taxons se distinguent l'un de l'autre par la couleur des fleurs, *C. edulis* étant le seul membre du genre avec des fleurs jaunes et *C. acinaciformis* produisant des fleurs rose-magenta (WISURA & GLEN, 1993).

Dans le bassin méditerranéen, les *Carpobrotus* se rencontrent le long des côtes, dans des habitats très variés : littoral rocheux et sableux, falaises, et maquis. Sur les îles d'Hyères, les deux taxons présentent de grandes populations sur Porquerolles, sur la côte sud de l'île du Levant et sur l'île de Bagaud (SUEHS *et al.*, 2001). Cette dernière, réserve naturelle de 45 ha au sein du Parc National de Port-Cros, localisée à 7500 m du continent et 450 m à l'ouest de l'île de Port Cros, a été retenue comme site d'étude (**Fig. 1**). Deux populations de *Carpobrotus*, distantes l'une de l'autre d'au moins 250 m ont été étudiées ; la première (population 1; **Fig. 1**), localisée au sud-ouest de l'île, consiste en un mélange d'individus aux fleurs rose-magenta ou jaune sur une surface de 1500 m², la deuxième (population 2; **Fig. 1**), située à l'est de l'île, ne comporte que des individus à fleurs jaunes sur une surface de 2050 m².

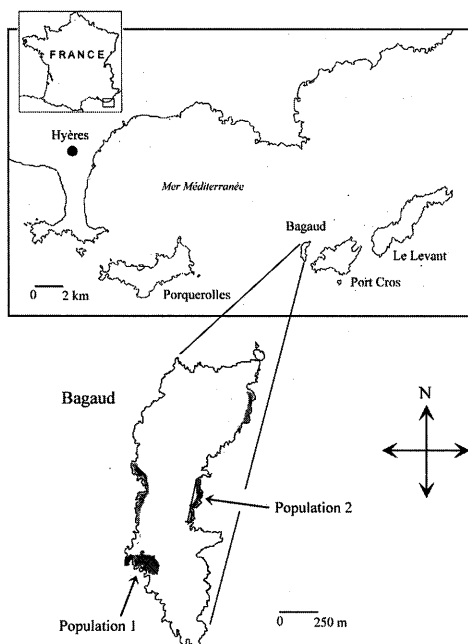


Figure 1. Carte de l'archipel des îles de Hyères, de la côte provençale (sud-est de la France). Les populations 1 (*C. acinaciformis*) et 2 (*C. edulis*) sont positionnées sur l'île de Bagaud. Les traits indiquent les transects principaux réalisés pour la collecte des feuilles et les zones ombragées représentent la localisation des taches de *Carpobrotus* sur l'île de Bagaud.

Electrophorèse des protéines enzymatiques

Afin de distinguer et spatialiser les différents individus de *Carpobrotus* dans le tapis végétal multiclonal, 4-5 jeunes feuilles ont été échantillonnées, en janvier 1999, à chaque point de jonction d'un quadrillage de maillage 3 x 3 m. 265 échantillons pour la population 1 et 268 pour la population 2 ont été récoltés. Les feuilles ont été broyées dans un tampon d'extraction ajusté pour les plantes avec une quantité importante de substances secondaires (WENDEL & WEEDEN, 1989) : 0.1 M tampon Tris-HCl, pH 7,5 ; 10 % Polyvinylpyrrolidone MW 40.000 ; 0,25 M Acide ascorbique sel de sodium ; 0,02 M Diéthylthiocarbamate ; 1% Albumine bovine ; 0,2 M Borate de sodium. Les broyats de feuille ont été alors centrifugés pendant 20 min à 15000 g. Les extraits ont été absorbés sur des papiers buvard (3 x 15 mm), chargés dans un gel d'amidon (12,5%), et soumis à un courant électrique constant pour l'électrophorèse des protéines enzymatiques. Toutes les étapes d'extraction et de migration ont été réalisées à 4°C pour préserver l'activité des enzymes.

Parmi les 13 systèmes enzymatiques testés, 7 ont pu être analysés : phosphatase acide (ACP ; E.C. 3.1.3.2), malate déshydrogénase (MDH ; E.C. 1.1.1.37), 6-phosphogluconate déshydrogénase (PGD ; E.C. 1.1.1.44), phosphoglucoisomérase (PGI ; E.C. 5.3.1.9), phosphoglucomutase (PGM ; E.C. 5.4.2.2), shikimate déshydrogénase (SKD ; E.C. 1.1.1.25), et isocitrate déshydrogénase (IDH ; E.C. 1.1.1.42). Les 7 systèmes enzymatiques ont été révélés pour chacun des deux taxons selon les recettes de tampon gel, de tampon d'électrodes et de coloration d'après WENDEL et WEEDEN (1989). Les profils de bandes de la descendance issue de croisements contrôlés sont consistants avec une hérédité diploïde pour chacun des deux taxons. Les formes isozymiques et alléliques les plus fréquentes ont été codées 1, et toutes les autres ont été désignées selon la mobilité relative de leur(s) produit(s) comparée à celle des formes les plus fréquentes.

Structure génétique et clonale des populations

Plusieurs paramètres de diversité génétique ont été calculés pour chaque population, tels que les fréquences alléliques à chaque locus, le pourcentage de loci polymorphes (P, seuil à 95%), le nombre moyen d'allèles par locus (A), les hétérozygoties moyennes observée (H_{obs}) et attendues (H_{att}) sous l'équilibre d'Hardy-Weinberg et le coefficient de consanguinité de Wright (F). Comme la population 1 est ultérieurement divisée en deux sous-populations, la structure génétique populationnelle a été analysée grâce aux statistiques F (WRIGHT, 1965; WEIR & COCKERHAM, 1984) et le paramètre G_{ST} de Nei (NEI, 1973, 1977). Les distances génétiques entre *C. edulis*, *C. acinaciformis*, et les sous-populations ont été ensuite quantifiées en utilisant les distances génétiques

de NEI (D ; NEI, 1973, 1977). Les paramètres génétiques ont été estimés avec le logiciel GENETIX 4.0 (BELKHIR, 1999), excepté le coefficient de consanguinité F qui a été quantifié en utilisant le logiciel BIOSYS-1 (SWOFFORD & SELANDER, 1981).

Afin d'évaluer la diversité clonale, la proportion identifiable (PI) des clones (nombre de clones / nombre d'individus) a été calculée dans les populations 1 et 2 selon ELLSTRAND et ROOSE (1987). La proportion du recrutement par les graines par rapport au recrutement par la propagation végétative a été ensuite estimée en quantifiant la probabilité d'identité clonale selon HARADA *et al.* (1997), avec le logiciel S-PLUS (MATHSOFT, 1999).

Variation morphologique

Une analyse de divers caractères foliaires et reproducteurs a été réalisée pour discriminer les deux taxons. Au cours des périodes de floraison et de fructification, 37 et 32 clones identifiés précédemment sur la base du polymorphisme isozymique ont été sélectionnés respectivement dans les populations 1 et 2. Pour chacun des clones, ont été mesurés (**Fig. 2**) : le nombre de carpelles par fruit (NC), le diamètre du cercle des étamines (DCE), la largeur du réceptacle floral (LAR), la longueur du réceptacle floral (LOR), la longueur des entre-noeuds de la tige (LN), la longueur moyenne des feuilles (LF), la largeur (L1) et

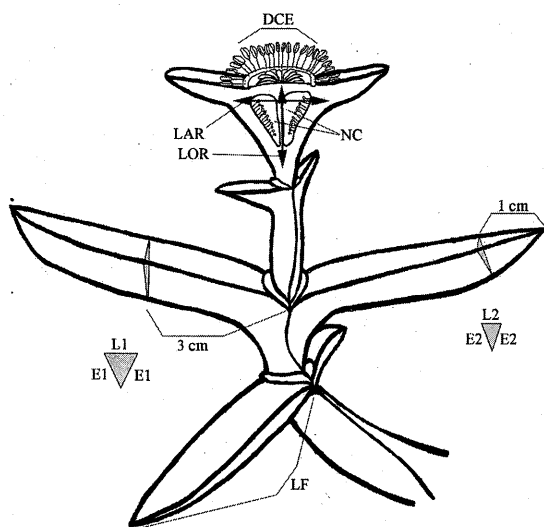


Figure 2. Schéma d'un rameau fleuri de *Carpobrotus* représentant divers caractères morphométriques. Le nombre d'étamines a été réduit et les pétales n'ont pas été représentés pour la clarté du schéma. Abréviations de la figure : DCE = diamètre du cercle des étamines, NC = nombre de carpelles, LAR = largeur du réceptacle, LOR = longueur du réceptacle, L1 et E1 = largeur et épaisseur de la section des feuilles à 3 cm du point d'insertion des feuilles, L2 et E2 = largeur et épaisseur de la section des feuilles à 1 cm à partir du sommet des feuilles, LF = longueur des feuilles.

l'épaisseur (E1) de la section des feuilles à 3 cm à partir du point d'insertion des feuilles, et la largeur (L2) et l'épaisseur (E2) de la section des feuilles à 1 cm à partir du sommet des feuilles. Pour l'ensemble des mesures, trois réplifications par clone ont été faites, excepté pour la

longueur des feuilles pour laquelle 6 réplifications par clone ont été effectuées. Un index d'équilatéralité pour chacune des deux sections des feuilles a été ensuite calculé selon la relation suivante : $I1 = L1 / E1$ et $I2 = L2 / E2$. Finalement, le ratio de la largeur des feuilles sur la longueur des feuilles ($L1 / LF$) et la différence $I1 - I2$ ont été estimés. L'ensemble des mesures morphométriques a été réalisé en utilisant un pied à coulisse (précision de 0,01 mm).

Une Analyse en Composante Principale (ACP) a été réalisée sur l'ensemble des caractères morphologiques afin de visualiser les groupements taxonomiques potentiels dans un espace multivarié, suivie d'une analyse de variance multivariée (MANOVA) et d'une analyse discriminante pour tester la significativité des différences entre ces groupements. Les coefficients canoniques standardisés pour chacun des caractères sur les axes canoniques significatifs ont été calculés afin de déterminer la contribution de chaque caractère dans la discrimination des groupements taxonomiques.

Pollinisations contrôlées

En avril 1999, 7 types de pollinisations contrôlées ont été réalisés pour chacun des 37 et 32 clones des populations 1 et 2 respectivement. Sept boutons floraux de chaque clone ont été sélectionnés, étiquetés et soumis aux traitements suivants : (i) un bouton a été laissé non-manipulé (libre pollinisation) ; (ii) un bouton a été ensaché et ensuite laissé non-manipulé (autogamie spontanée) ; (iii) un bouton a été ensaché et manuellement auto-pollinisé (autogamie manuelle) ; (iv) un bouton a été émasculé, ensaché et manuellement allo-pollinisé en utilisant du pollen issu d'un individu génétiquement différent de même unité taxonomique (allogamie manuelle) ; (v) un bouton a été émasculé, ensaché et manuellement allo-pollinisé en utilisant du pollen issu d'un individu génétiquement différent d'une autre unité taxonomique (hybridation manuelle) ; (vi) un bouton a été ensaché et soumis à la section du style et des étamines (agamospermie) ; (vii) un bouton a été ensaché et soumis à des pulvérisations de l'insecticide Bathroïde (2 ml / L) afin de tester l'impact des thrips sur la pollinisation (autogamie spontanée avec insecticide).

Tous les traitements de pollinisation ont été alloués de manière aléatoire sur un rameau de manière à éviter l'effet de différences phénologiques parmi les fleurs d'un individu. L'ensachement des boutons floraux grâce à un voilage en nylon (0,5 x 0,5 mm) permet d'exclure l'activité des agents pollinisateurs sans pour autant perturber l'accès de la lumière et de l'air. Les pollinisations manuelles ont été réalisées deux fois par bouton floral, entre 11 heures et 16 heures en utilisant des cotons-tiges distincts sur les stigmates réceptifs (i.e. position en étoile des pistils). Pour le traitement "allogamie manuelle",

les donneurs de pollen ont été sélectionnés sur des individus différents aussi distants que possible des receveurs de pollen.

Production des fruits/graines

Après récolte des fruits issus de chaque traitement de pollinisation, le pourcentage de fruits matures, i.e. fruits contenant au moins une graine, a été déterminé selon le ratio du nombre de fruits matures sur le nombre de fleurs pollinisées. Le poids total des graines (mg) produites par fruit a été ensuite quantifié et le nombre de graines par fruit a été estimé en rapport au poids de 100 graines comptées manuellement. Le poids moyen des graines (mg), i.e. le poids moyen d'une graine par fruit, a été alors estimé selon le ratio du poids de 100 graines comptées manuellement sur le nombre de 100 graines, ou si le nombre de graines par fruit était inférieur à 100 selon le ratio du poids des graines totales sur le nombre total des graines.

Une analyse log-linéaire pour le pourcentage de fruits matures et des analyses de variance univariées (ANOVA) à deux facteurs pour la production et la biomasse des graines ont été réalisées afin de tester les effets des traitements de pollinisation et des populations. Lorsque ces effets se sont révélés significatifs, des tests exacts de Fisher (SOKAL & ROHLF, 1995) et des comparaisons planifiées ont été réalisées pour le pourcentage de fruits matures, la production et la biomasse des graines respectivement. Les comparaisons planifiées ont été réalisées entre les populations 1 et 2 pour le traitement "libre pollinisation" et, pour chaque population, entre les différents traitements de pollinisation suivants : (i) libre pollinisation vs. allogamie manuelle, (ii) autogamie spontanée vs. allogamie manuelle, (iii) autogamie manuelle vs. allogamie manuelle, (iv) hybridation manuelle vs. allogamie manuelle, (v) agamospermie vs. allogamie manuelle, et (vi) autogamie spontanée vs. autogamie spontanée avec insecticide ; le traitement "allogamie manuelle" étant reconnu pour maximiser la quantité et la qualité des descendants (LLOYD & SCHOEN, 1992).

Indices d'auto-fertilité et d'auto-compatibilité

Un index d'auto-fertilité, i.e. la capacité de produire des fruits/graines en l'absence d'agents pollinisateurs, a été calculé, pour chaque clone dans chaque population, selon le ratio suivant modifié à partir de LLOYD et SCHOEN (1992) : $AF = \text{nombre total de graines produites par fruit en autogamie spontanée} / \text{somme du nombre total de graines produites par fruit en autogamie spontanée et en allogamie manuelle}$.

Un index d'auto-compatibilité, i.e. la capacité de produire des fruits/graines sous un régime autogame, a été aussi calculé de manière similaire : $AC = \text{nombre total de graines produites par fruit en autogamie manuelle} / \text{somme du nombre total de graines produites par fruit en autogamie manuelle et en allogamie manuelle}$.

Selon la modification apportée aux deux ratios ci-dessus, des valeurs inférieures à 0,5 indiquent une auto-fertilité et auto-compatibilité partielles. Un test t unilatéral a été réalisé afin de comparer les deux ratios par rapport à la valeur seuil de 0,5 (AGREN & SCHEMSKE, 1993), i.e. la valeur indiquant des performances égales pour les deux traitements de pollinisation "allogamie manuelle" et "autogamie spontanée" ou "autogamie manuelle" et donc une auto-fertilité et auto-compatibilité maximale.

Germination des graines

En novembre 2000, 30 graines par fruit ont été sélectionnées pour les traitements de pollinisation "autogamie manuelle", "allogamie manuelle" et "hybridation manuelle" dans chaque population. Pour les fruits contenant moins de 30 graines, toutes les graines ont été sélectionnées. Chaque lot de 30 graines a été scarifié puis placé dans une boîte de Pétri sur du sable de Fontainebleau afin de quantifier la germination des graines à température ambiante (18-20° C). Un traitement au benlate (1 g/L) a été réalisé le 11°, 25° et 43° jour afin d'éviter des infections fongiques. Une randomisation des boîtes de Pétri a été effectuée tous les 15 jours afin de réduire les effets de position. Le nombre de graines germées a été recensé tous les 2-3 jours pendant deux mois et les fréquences cumulées de germination ont été ensuite calculées pour chacun des traitements de pollinisation et des populations. Sur dix plantules, ont été mesurées 3 paramètres : la longueur de la tige, la longueur des cotylédons et la largeur des cotylédons. Des analyses de variance univariées (ANOVA) à deux facteurs ont été réalisées afin de détecter les différences entre les traitements de pollinisation et les populations en ce qui concerne (i) les fréquences cumulées de germination et (ii) la taille des jeunes plantules, i.e. l'estimation multiplicative des 3 paramètres. Les taux de germination (Δ fréquence de germination / Δ jours) ont été calculés et analysés en utilisant une analyse de variance univariée avec un facteur de répétition (ANOVAR) afin d'étudier les différences temporelles pour la vitesse de germination des graines entre les traitements de pollinisation et les populations. Pour cette dernière analyse, ont été appliqués la correction de Greenhouse-Geiser pour tester la non-sphéricité (STEVENS, 1992) et le test de Scheffé pour les comparaisons de moyennes deux à deux.

Dépressions de consanguinité et d'hybridation

Deux indices de dépression de consanguinité et d'hybridation ont été calculés à partir des performances relatives de chaque clone dans chaque population, et ceci de manière cumulative, sur l'ensemble des traits d'histoire de vie tels que le nombre total de graines par fruit, le poids moyen des graines, le pourcentage de germination des graines, la longueur de la tige des plantules et la longueur et largeur des coty-

lédons. Une estimation cumulative de la dépression de consanguinité a été ainsi calculée pour chaque clone selon le ratio $PRC = (Wall - Waut) / (Wmax)$, où $Wall$ = performance moyenne en allogamie manuelle, $Waut$ = performance moyenne en autogamie manuelle, $Wmax = Waut$ quand la performance en autogamie manuelle est supérieure à la performance en allogamie manuelle, et $Wmax = Wall$ quand la performance en autogamie manuelle est inférieure à la performance en allogamie manuelle (AGREN & SCHEMSKE, 1993). De manière similaire, une estimation cumulative de la dépression d'hybridation a été calculée pour chaque clone selon le ratio $PRH = (Wall - Wh) / (Wmax)$. Lorsque les valeurs du PRC sont positives, une dépression de consanguinité existe, les valeurs supérieures à 0,5 indiquant une zone où l'allogamie est favorisée (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1987, 1990). Les valeurs négatives pour le PRC représentent des performances plus élevées en autogamie manuelle par rapport à l'allogamie manuelle indiquant ainsi une dépression d'allogamie. En ce qui concerne l'indice PRH, toutes les valeurs positives indiquent une dépression d'hybridation et les valeurs négatives représentent des performances plus élevées en hybridation manuelle par rapport à l'allogamie manuelle indiquant l'existence d'une vigueur hybride. Un test t unilatéral a été réalisé afin de comparer (i) les indices PRC par rapport aux valeurs les plus proches de la valeur seuil de 0,5 et (ii) les indices PRH par rapport à la valeur seuil de zéro (AGREN & SCHEMSKE, 1993).

Toutes les analyses statistiques concernant les caractéristiques morphologiques et reproductrices ont été réalisées en utilisant le logiciel STATISTICA 5.1 (STATSOFT FRANCE, 1997). Les données ont été transformées lorsque cela s'est révélé nécessaire afin de minimiser l'hétéroscedasticité (SOKAL & ROHLF, 1995).

RÉSULTATS

Identification des hybrides

Sur l'ensemble des 265 et 268 échantillons foliaires des populations 1 et 2 respectivement, seulement 253 ont fourni des extraits analysables. Parmi les 7 systèmes enzymatiques, 8 loci ont été révélés pour la population 1 : ACP-1, PGD-1, PGI-1, PGM-1, PGM-2, SKD-1, IDH-1, et IDH-2, et la population 2 : ACP-1, PGD-1, PGI-1, SKD-1, MDH-1, MDH-2, IDH-1 et IDH-2. Les loci ACP-1, MDH-2, PGD-1 et PGI-1 ont présenté des profils de bande consistant avec une enzyme dimère, tandis que les loci MDH-1, PGM-1, PGM-2 et SKD-1 se sont révélés monomères. Le locus MDH-1, présent aussi dans la population 1, s'est révélé être un locus dupliqué dans cette population, et n'a donc pas été pris en compte dans les analyses génétiques. Un seul allozyme a été révélé pour les loci IDH-1 et IDH-2 dans les populations 1 et 2 et

le locus SKD-1 dans la Population 2, qui ont été alors considérés comme monomorphes. Ainsi, parmi les 8 loci analysés, 6 ont été considérés polymorphes dans la population 1 et 5 dans la population 2.

Certains allèles ou combinaisons alléliques sont caractéristiques d'une population donnée. La population 1 a pu être ainsi distinguée par (i) la présence de l'allèle 1 au locus SKD-1, (ii) l'absence du locus MDH-2, et (iii) la présence de l'allèle 3 au locus ACP-1 (**Tableau 1**). Les caractéristiques génétiques de la population 2 ont consisté à (i) la fixation de l'allèle 2 au locus SKD-1, (ii) l'existence du locus MDH-2, et (iii) la présence de l'allèle 2 au locus ACP-1 (**Tableau 1**). Les individus présentant une combinaison de ces caractéristiques génétiques ont été

Tableau 1. Fréquences alléliques pour la Population 1 (sous-populations *C. acinaciformis*, types intermédiaires, et nuage hybride) et la Population 2 (*C. edulis*). N indique le nombre d'individus. Seul le nuage hybride a été considéré lorsque un seul allèle est présent dans la population 1.

Locus	Sous-population	Pop.	N	Fréquences alléliques						
				1	2	3	4	5	6	7
ACP-1	<i>C. acinaciformis</i>	1	84	0.500		0.500				
	Types intermédiaires	1	169	0.465	0.071	0.465				
	Nuage hybride	1	253	0.476	0.047	0.476				
	<i>C. edulis</i>	2	253	0.512	0.488					
PGD-1	<i>C. acinaciformis</i>	1	84	0.304	0.696					
	Types intermédiaires	1	169	0.349	0.651					
	Nuage hybride	1	253	0.334	0.666					
	<i>C. edulis</i>	2	253	0.457	0.544					
PGI-1	<i>C. acinaciformis</i>	1	84			0.476		0.464	0.006	0.054
	Types intermédiaires	1	168	0.009	0.003	0.357	0.006	0.441	0.006	0.179
	Nuage hybride	1	252	0.006	0.002	0.397	0.004	0.448	0.006	0.137
	<i>C. edulis</i>	2	253	0.004	0.002	0.081	0.053	0.433	0.046	0.381
PGM-1	<i>C. acinaciformis</i>	1	83	0.488	0.030	0.482				
	Types intermédiaires	1	161	0.509	0.034	0.457				
	Nuage hybride	1	244	0.502	0.033	0.465				
PGM-2	<i>C. acinaciformis</i>	2	84	0.286	0.423	0.119	0.173			
	Types intermédiaires	1	167	0.365	0.506	0.033				
	Nuage hybride	1	251	0.339	0.478	0.062	0.122			
SKD-1	<i>C. acinaciformis</i>	1	84	0.500	0.500					
	Types intermédiaires	1	169	0.488	0.512					
	Nuage hybride	1	253	0.492	0.508					
	<i>C. edulis</i>	2	253		1.000					
MDH-1	<i>C. edulis</i>	2	253		0.530	0.470				
MDH-2	<i>C. edulis</i>	2	253	0.530		0.470				
IDH-1	Nuage hybride	1	253	1.000						
	<i>C. edulis</i>	2	253	1.000						
IDH-2	Nuage hybride	1	253	1.000						
	<i>C. edulis</i>	2	253	1.000						

considérés comme des types intermédiaires, et ont été détectés seulement dans la population 1. Parmi les 253 échantillons de la population 1, 84 ont été considérés caractéristiques de *C. acinaciformis* et 169 caractéristiques de types intermédiaires, alors que tous les échantillons de la population 2 ont été déterminés comme étant *C. edulis*. La présence de types intermédiaires dans la population 1 a permis la subdivision de cette population en deux sous-populations, nommées par la suite sous-populations "type intermédiaire" et "*C. acinaciformis*". Un type intermédiaire pouvant résulter (i) de croisements F1 entre *C. acinaciformis* et *C. edulis*, (ii) de croisements entre les générations F1 ou les générations suivantes, et/ou (iii) de croisements en retour; la totalité de la population 1 a été considérée comme un "nuage hybride", c'est-à-dire un mélange complexe de formes parentales, d'hybrides F1, de types résultant de croisements en retour et des produits de ségrégation (GRANT, 1971).

Structure génétique et clonale des populations

Les fréquences alléliques pour *C. acinaciformis*, les types intermédiaires et le nuage hybride, et *C. edulis* sont détaillées dans le **Tableau 1**. Le pourcentage de loci polymorphes est supérieur chez *C. acinaciformis* (75,0%), les types intermédiaires (75,0%) et le nuage hybride (75,0%) en comparaison avec *C. edulis* (62,5%). D'une manière similaire, le nombre moyen d'allèles par locus est plus important pour les types intermédiaires ($2,88 \pm 0,69$), le nuage hybride ($2,88 \pm 0,69$), et *C. acinaciformis* ($2,38 \pm 0,42$) comparé à *C. edulis* ($2,25 \pm 0,70$). L'hétérozygotie moyenne observée est nettement supérieure à l'hétérozygotie moyenne attendue pour *C. acinaciformis*, les types intermédiaires et le nuage hybride, en comparaison de *C. edulis* (**Tableau 2**). Les valeurs du

Tableau 2. Valeurs des hétérozygoties moyennes attendue (H_{att}) et observée (H_{obs}), et des coefficients de consanguinité (F) à chaque locus pour la Population 1 (sous-populations *C. acinaciformis*, types intermédiaires, et nuage hybride) et la Population 2 (*C. edulis*).

Locus	Population 1									Population 2		
	<i>C. acinaciformis</i>			Types intermédiaires			Nuage hybride			<i>C. edulis</i>		
	H_{att}	H_{obs}	F	H_{att}	H_{obs}	F	H_{att}	H_{obs}	F	H_{att}	H_{obs}	F
ACP-1	0.500	0.952	-0.905	0.563	0.905	-0.607	0.544	0.921	-0.693	0.500	0.289	0.423
PGD-1	0.423	0.583	-0.380	0.455	0.686	-0.510	0.445	0.652	-0.466	0.496	0.858	-0.729
PGI-1	0.555	0.941	-0.695	0.646	0.893	-0.381	0.623	0.909	-0.460	0.656	0.791	-0.206
PGM-1	0.529	0.904	-0.709	0.531	0.907	-0.708	0.531	0.906	-0.707			
PGM-2	0.696	0.893	-0.283	0.600	0.790	-0.317	0.638	0.825	-0.292			
MDH-1										0.266	0.103	0.614
MDH-2										0.498	0.593	-0.190
SKD-1	0.500	1.000	-1.000	0.500	0.917	-0.836	0.500	0.945	-0.890	0	0	0
IDH-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IDH-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Moyenne	0.400	0.659	-0.662	0.412	0.637	-0.560	0.410	0.645	-0.585	0.302	0.329	-0.018
Ecart-type	0.091	0.150	0.283	0.069	0.093	0.197	0.073	0.109	0.217	0.139	0.324	0.539

coefficient de consanguinité (F) sont ainsi fortement négatives pour la population 1, tandis que les valeurs du coefficient de consanguinité sont proches de zéro pour *C. edulis* (Tableau 2). Les sous-populations de *C. acinaciformis* et des types intermédiaires présentent des indices F_{ST} (0,005 et 0,004 respectivement) et G_{ST} (0,005 et 0,001 respectivement) très faibles. Les distances génétiques de Nei (D) entre *C. acinaciformis* et *C. edulis* sont plus élevées (0,153), par rapport aux distances entre les types intermédiaires et *C. edulis* (0,119) et entre *C. acinaciformis* et les types intermédiaires (0,005).

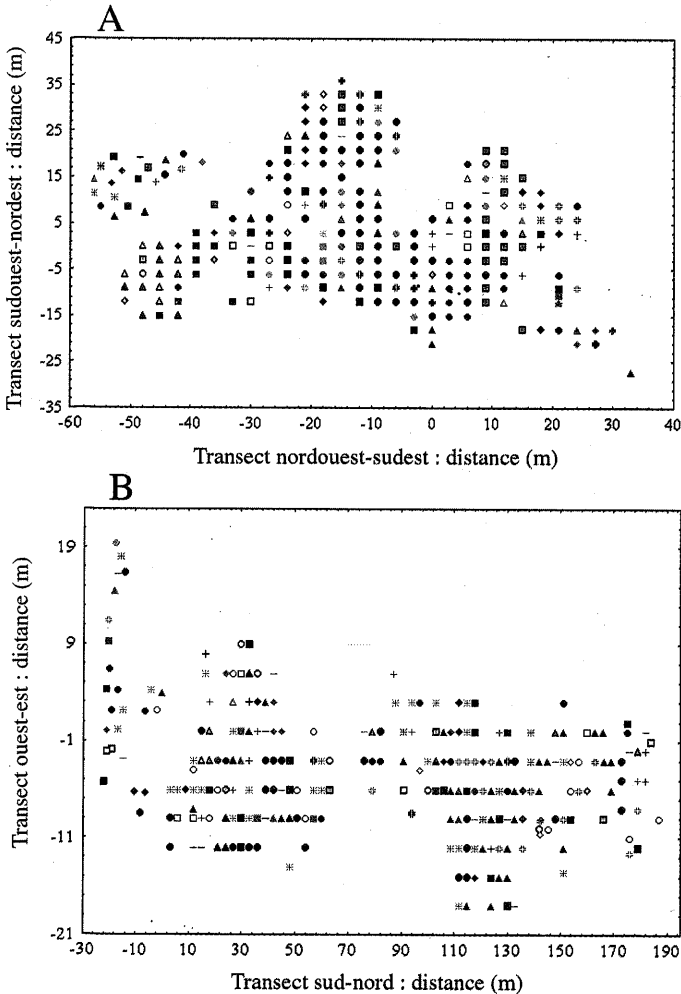


Figure 3. Représentation spatiale des clones pour (A) la population 1 (*C. acinaciformis*; 121 clones) et (B) la population 2 (*C. edulis*; 93 clones). Chaque combinaison de symboles et de couleurs indique un clone différent.

La population 1 est composée d'un total de 121 clones (**Fig. 3A**), i.e. une proportion identifiable de clones (PI) de 0,48, dont 34 sont caractéristiques de *C. acinaciformis* (PI = 0,40), et 87 des types intermédiaires (PI = 0,52). Pour la population 2, 93 clones ont été discriminés (**Fig. 3B**) avec un PI de 0,37. La probabilité d'identité clonale décroît de manière logarithmique avec la distance seulement pour la population 1 (**Fig. 4**). En outre, le recrutement par la propagation végétative est plus important par rapport au recrutement par les graines dans cette population.

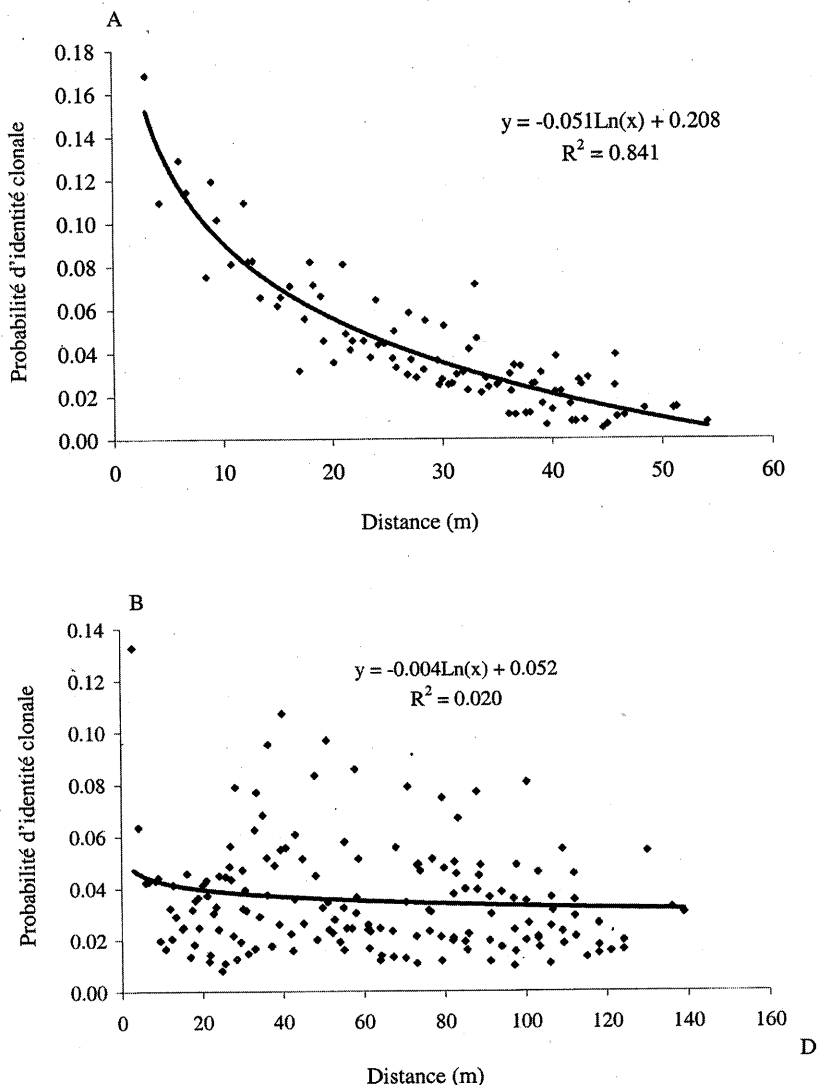


Figure 4. Représentation de la relation entre la probabilité d'identité clonale et la distance pour (A) la population 1 et (B) la population 2.

Variation morphologique

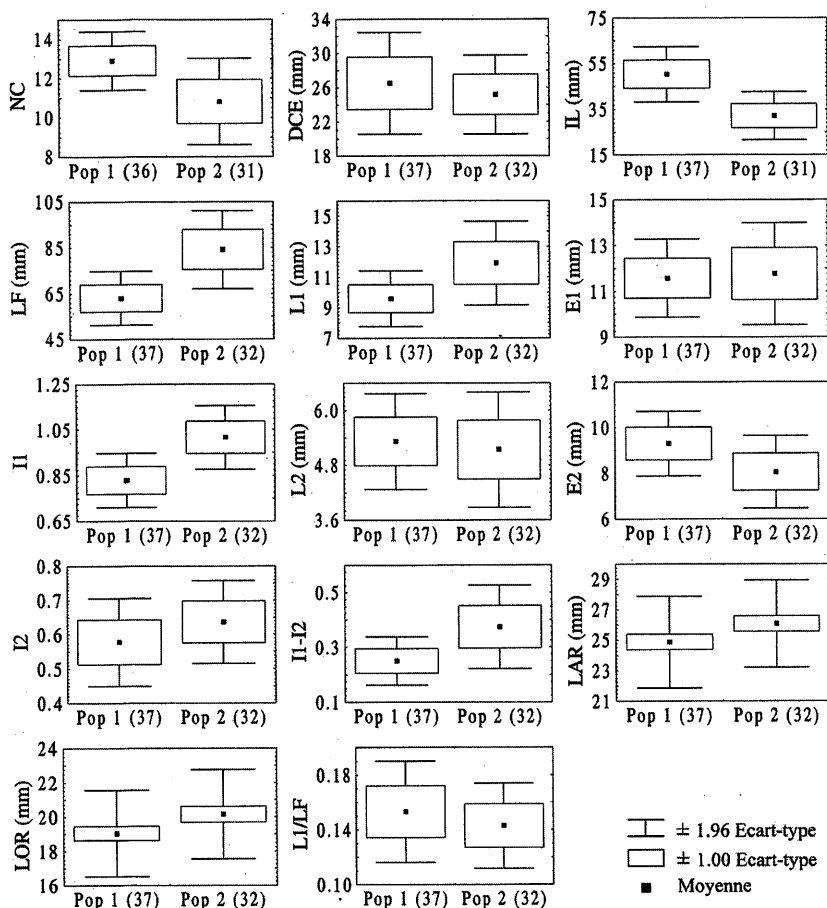


Figure 5. Moyennes et écart-types pour les 14 caractères morphométriques mesurés dans les populations 1 et 2. Les parenthèses indiquent le nombre d'individus. NC = nombre de carpelles, DCE = diamètre du cercle des étamines, LN = longueur des entre-nœuds, LF = longueur des feuilles, L1 et E1 = largeur et épaisseur de la section des feuilles à 3 cm du point d'insertion des feuilles, I1 = Index d'équilatéralité 1, L2 et E2 = largeur et épaisseur de la section des feuilles à 1 cm à partir du sommet des feuilles, I2 = index d'équilatéralité 2, I1-I2 = différence entre les deux indices d'équilatéralité, LAR = largeur du réceptacle, LOR = longueur du réceptacle, L1/LF = ratio de la largeur des feuilles sur la longueur des feuilles.

Les valeurs moyennes ($\pm$ écart-types) des caractères morphométriques dans chacune des deux populations sont représentées dans la **Figure 5**. Trois axes en composants principaux représentant 37,22%, 16,94% et 11,93% de la variation totale ont été sélectionnés pour une représentation cumulée de 66,13%. Dans cet espace multivarié, deux

ensembles de points bien distincts peuvent être visualisés correspondant aux deux populations, sans aucune identification claire d'un groupement mixte pour les types intermédiaires de la population 1 (Fig. 6). Les résultats de la MANOVA ($F = 37,94$; $ddl = 14,52$; $p < 0,001$) ont révélé des différences significatives entre ces deux groupements pour l'ensemble des caractères morphologiques. L'analyse discriminante a mis en évidence un axe canonique unique qui explique 100% de la variation totale. Sur cet axe, les valeurs des coefficients canoniques standardisés démontrent que les caractères morphométriques longueur des feuilles (-1,55), index d'équilatéralité 1 (1,52), ratio de la largeur des feuilles sur leur longueur (-1,27), différence l_1-l_2 (-1,17), épaisseur de la section des feuilles E2 (1,13), et à moindre degré, longueur des entrenœuds (0,72) et épaisseur de la section des feuilles E1 (0,71) permettent une discrimination claire des deux populations ; il est donc possible de reconnaître les deux taxons sur des critères morphologiques.

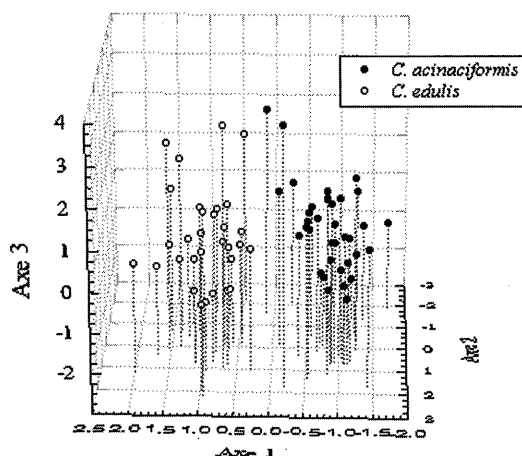


Figure 6. Résultats de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) pour 14 caractères morphométriques des populations 1 (*C. acinaciformis*) et 2 (*C. edulis*).

Production des fruits/graines et germination des graines

Le pourcentage de fruits matures, le nombre moyen de graines produites par fruit et le poids moyen des graines (mg) pour chaque traitement de pollinisation et population sont représentés dans la **Figure 7**. L'analyse log-linéaire a démontré des différences significatives entre (i) populations x traitements de pollinisation, (ii) populations x maturation des fruits et (iii) traitements de pollinisation x maturation des fruits ($\chi^2 = 17,31$, $ddl = 6$, $p < 0,01$). Le pourcentage de fruits matures s'est révélé ainsi plus élevé sur l'ensemble des traitements de pollinisation chez *C. edulis*. Des différences significatives existent entre les

traitements de pollinisation mais chacune des deux populations varie différemment selon les traitements de pollinisation. Le test exact de Fisher indique des différences significatives ($p < 0,05$) pour le pourcentage de fruits matures chez *C. edulis* (96,88%) par rapport à *C. acinaciformis* (81,08%) pour le traitement "libre pollinisation". Pour *C. acinaciformis*, les résultats de ce test ont aussi révélé un pourcentage de fruits matures significativement plus élevé pour les traitements de "libre pollinisation" ($p < 0,001$) et "hybridation manuelle" ($p < 0,001$) et significativement plus faible pour le traitement "agamospermie" ($p < 0,01$) en comparaison du traitement "allogamie manuelle". Chez *C. edulis*, le pourcentage de fruits matures est significativement plus faible pour le traitement "agamospermie" ($p < 0,001$) par rapport au traitement "allogamie manuelle".

Les indices d'auto-fertilité et d'auto-compatibilité se sont révélés très faibles pour *C. acinaciformis* (moyenne $\pm$ écart-type = $0,14 \pm 0,32$ et $0,11 \pm 0,29$ respectivement) en comparaison de *C. edulis* (moyenne $\pm$ écart-type = $0,51 \pm 0,13$ et $0,54 \pm 0,12$ respectivement). Un nombre important de données égales à zéro n'a pas permis de tester statistiquement les deux indices chez *C. acinaciformis*. Pour *C. edulis*, la valeur de l'indice d'auto-fertilité ne dévie pas significativement ($t = 0,25$, ddl = 30, $p = 0,40$) par rapport à la valeur seuil de 0,5 alors que la valeur de l'indice d'auto-compatibilité est significativement ($t = 1,69$, ddl = 31, $p < 0,05$) supérieure par rapport à la valeur seuil de 0,5, ce qui indique une auto-fertilité complète et une auto-compatibilité préférentielle dans cette population.

En ce qui concerne la production de graines par fruit, les résultats de l'ANOVA ont démontré des différences significatives entre (i) les populations ($F = 70,27$, ddl = 1, $p < 0,001$), (ii) les traitements de pollinisation ($F = 6,06$, ddl = 6, $p < 0,001$), et (iii) pour l'interaction populations x traitements de pollinisation ($F = 3,40$, ddl = 6, $p < 0,01$). Les comparaisons planifiées ont révélé alors une production de graines par fruit pour le traitement "libre pollinisation" significativement ($F = 53,44$, ddl = 1, $p < 0,001$) plus élevée chez *C. edulis* (moyenne $\pm$ écart-type = $1331,42 \pm 414,84$) comparé à *C. acinaciformis* (moyenne $\pm$ écart-type = $366,60 \pm 476,72$). La production de graines par fruit s'est révélée, chez *C. edulis*, significativement ($F = 61,33$, ddl = 1, $p < 0,001$) plus faible pour le traitement "agamospermie" comparé au traitement "allogamie manuelle". Les résultats de l'ANOVA ont déterminé, pour la biomasse des graines, des différences significatives entre les taxons ($F = 7,87$, ddl = 1, $p < 0,01$) et les traitements de pollinisation ($F = 3,84$, ddl = 6, $p < 0,01$). Les comparaisons planifiées ont mis en évidence des graines significativement ($F = 8,49$, ddl = 1, $p < 0,01$) plus lourdes chez *C. edulis* par rapport à *C. acinaciformis* pour le traitement "libre pollinisation" (**Fig. 7**). Pour *C. edulis* uniquement, le poids des graines s'est

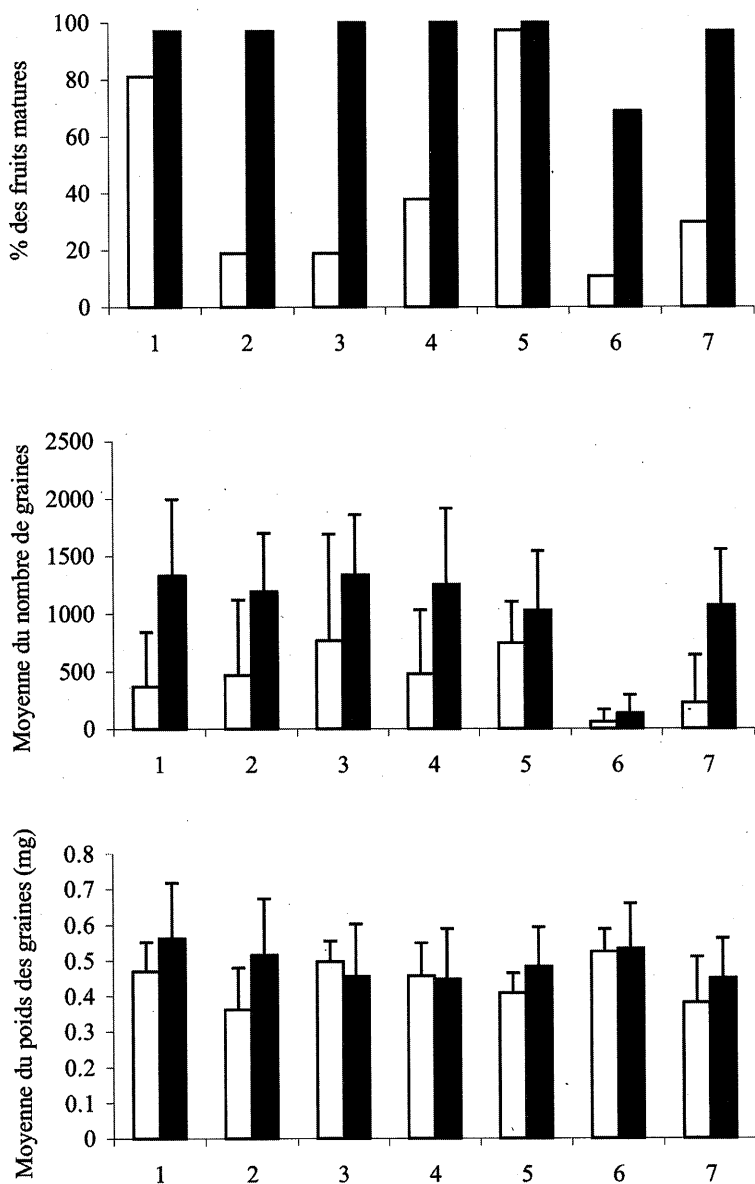


Figure 7. Pourcentage des fruits matures, moyenne du nombre de graines produites par fruit et moyenne du poids des graines (mg) pour les populations 1 (en blanc) et 2 (en noir) pour chacun des 7 traitements de pollinisation : (i) libre pollinisation, (ii) autogamie spontanée, (iii) autogamie manuelle, (iv) allogamie manuelle, (v) hybridation manuelle, (vi) agamospermie, et (vii) autogamie spontanée avec insecticide.

révélé significativement plus élevé (i) pour les traitements "libre pollinisation" ($F = 13,97$, $ddl = 1$, $p < 0,001$), "autogamie spontanée" ($F = 4,90$, $ddl = 1$, $p < 0,05$) et "agamospermie" ($F = 6,42$, $ddl = 1$, $p < 0,05$) en comparaison avec le traitement "allogamie manuelle" et (ii) pour le traitement "autogamie spontanée" ($F = 4,37$, $ddl = 1$, $p < 0,05$) comparé au traitement "autogamie spontanée avec insecticide", ce qui suggère un effet de l'insecticide sans pour autant interférer dans l'interprétation des autres résultats.

Les résultats des ANOVA ont démontré une fréquence cumulée de germination des graines significativement ($F = 8,70$, $ddl = 1$, $p < 0,01$) plus élevée chez *C. edulis* (moyenne $\pm$ écart-type = $0,41 \pm 0,25$) que chez *C. acinaciformis* (moyenne $\pm$ écart-type = $0,28 \pm 0,22$) sur l'ensemble des traitements de pollinisation. Pour la taille des jeunes plantules, seules les différences entre les traitements de pollinisation sont significatives ($F = 48,39$, $ddl = 2$, $p < 0,001$) au sein de chaque population selon les relations suivantes : "autogamie manuelle" vs. "allogamie manuelle" ($p < 0,001$), "autogamie manuelle" vs. "hybridation manuelle" ($p < 0,001$) et "allogamie manuelle" vs. "hybridation manuelle" ($p < 0,001$) (**Fig. 8**).

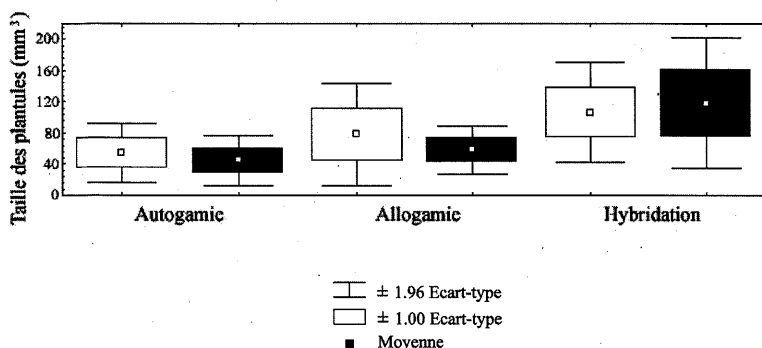


Figure 8. Moyenne de la taille des plantules pour les populations 1 (en blanc) et 2 (en noir), pour chacun des 3 traitements de pollinisation : (i) autogamie spontanée, (ii) allogamie manuelle, et (iii) hybridation manuelle.

Dépansions de consanguinité et d'hybridation

Les valeurs de l'indice PRC chez *C. edulis* (moyenne $\pm$ écart-type = $-0,02 \pm 0,62$) non significativement différentes de la valeur seuil zéro ($t = 0,21$, $ddl = 31$, $p = 0,42$) mettent en évidence aucune dépression de consanguinité (**Fig. 9**). Au contraire, pour *C. acinaciformis*, les valeurs de l'indice PRC (moyenne $\pm$ écart-type = $0,18 \pm 0,42$), significativement différentes par rapport à la valeur seuil zéro ($t = 2,48$, $ddl = 33$, $p < 0,01$), indiquent une très faible dépression de consanguinité dans cette population. Les valeurs de l'indice PRH pour *C. acinaciformis* (moyenne

$\pm$ écart-type = $-0,71 \pm 0,90$) et *C. edulis* (moyenne $\pm$ écart-type = $-0,19 \pm 0,57$) sont significativement inférieures par rapport à la valeur seuil zéro ($t = 4,66$, ddl = 35, $p < 0,001$ et $t = 1,90$, ddl = 31, $p < 0,05$ respectivement), ce qui indique une vigueur hybride dans les deux populations, celle de *C. acinaciformis* étant cependant significativement plus forte ($t = 24,34$, ddl = 1, $p < 0,001$).

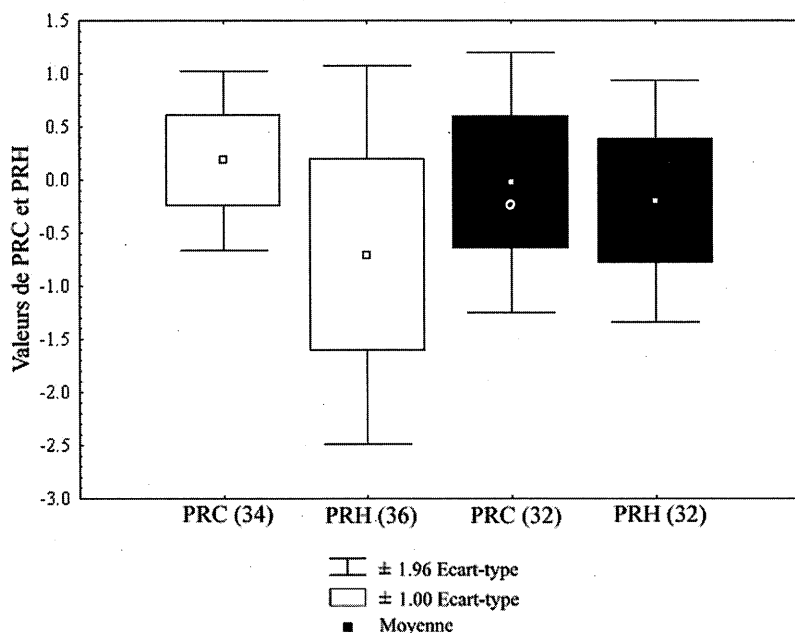


Figure 9. Moyenne de la performance relative de consanguinité (PRC) et d'hybridation (PRH) pour les populations 1 (en blanc) et 2 (en noir). Les parenthèses indiquent le nombre d'individus.

DISCUSSION

Position taxonomique des *Carpobrotus*

La présente étude, basée sur la variation morphologique et génétique, indique clairement la présence de deux taxons bien distincts de *Carpobrotus*. L'ensemble des caractères foliaires et reproducteurs sont en accord avec les descriptions de *C. edulis* et *C. acinaciformis* (TUTIN *et al.*, 1964 ; FERNANDES, 1972 ; HASLAM *et al.*, 1977 ; HUXLEY & TAYLOR, 1977). Les distances génétiques observées entre *C. edulis*, *C. acinaciformis* et les types intermédiaires confirment l'existence de deux taxons. Ceci contredit les résultats de AKEROYD et PRESTON (1990, 1993) qui considèrent seulement la présence d'un seul taxon dans le bassin méditerranéen, *C. edulis*, tandis que *C. edulis* var. *rubescens* Druce aux

fleurs rose-magenta correspondrait selon eux à *C. acinaciformis*. Nous confirmons donc bien l'identification de *C. acinaciformis* dans la population 1, taxon distinct de celui présent dans la population 2 reconnu comme étant *C. edulis*.

Des études similaires ont été réalisées en Californie (ALBERT *et al.*, 1997) afin de discriminer *C. edulis* et *C. chilensis*. Parmi les 6 caractères morphométriques en commun avec la présente étude, trois caractères foliaires permettent de discriminer *C. edulis* et *C. chilensis* en Californie et *C. edulis* et *C. acinaciformis* en Provence : longueur des feuilles, largeur des feuilles et longueur des entre-noeuds. Notre étude souligne que l'index d'équilatéralité constitue une caractéristique diagnostique importante dans la discrimination des espèces de *Carpobrotus*. De plus, l'identité génétique de NEI (1987) observée entre *C. edulis* et *C. chilensis* en Californie, correspondant à une distance génétique de 0,13 (GALLAGHER *et al.*, 1997), est similaire à celle observée entre *C. edulis* et *C. acinaciformis* (0,15).

Le second point notable de la présente étude concerne l'existence d'une proportion importante de types intermédiaires dans la population 1, l'ensemble de cette population constituant un nuage hybride. Ces types intermédiaires sont très peu différenciés (faibles valeurs de F_{ST} et G_{ST}) par rapport aux entités parentales de *C. acinaciformis*. Ceci suggère des phénomènes d'hybridation fréquents et suffisamment anciens pour permettre une fréquence élevée de croisements en retour se traduisant par l'introgression de gènes de *C. edulis* dans le génome de *C. acinaciformis*. En outre, les caractéristiques de reproduction asexuée et sexuée, chez *C. acinaciformis*, démontrent (i) une croissance clonale très importante et supérieure au recrutement par les graines, (ii) une faible auto-fertilité et auto-compatibilité et (iii) une performance supérieure en hybridation pour tous les stades de vie de production des graines, de germination et de croissance des plantules (valeur de RPH fortement négative). En regard de l'ensemble de ces caractéristiques génétiques et reproductrices, *C. acinaciformis* sur l'île de Bagaud semble être d'origine hybride. Ce taxon doit présenter des problèmes méiotiques lors des croisements intra-taxon d'où les performances très faibles observées. En l'absence d'étude comparative avec *C. acinaciformis* indigène d'Afrique du Sud, il s'avère ainsi plus judicieux de désigner la population 1 comme *C. affine acinaciformis*. La répartition de *C. acinaciformis* et *C. edulis* est chevauchante dans leur aire d'origine et des hybrides ont été signalés entre ces deux taxons (WISURA & GLEN, 1993). Il est ainsi possible que des individus hybrides ou introgressés de *C. acinaciformis* aient pu être plantés et disséminés au gré des multiples introductions sur le pourtour méditerranéen. Sur l'île de Bagaud, des hybridations/introgressions récurrentes au cours des générations successives ont alors engendré un nuage hybride. Les hybridations

entre des espèces indigènes et allochtones et/ou entre des espèces étrangères sont de plus en plus fréquentes, particulièrement au sein des habitats insulaires (ABBOTT, 1992). Elles peuvent entraîner des impacts génétiques et écologiques négatifs pour la flore indigène (VILÀ *et al.*, 2000). Il est intéressant de noter qu'un processus similaire a pu se réaliser en Californie, où *C. edulis* est supposé avoir été introduit comme hybride le long des côtes californiennes (C. D'Antonio, comm. pers.), et subit des introgressions de gènes à partir du génome de *C. chilensis* (GALLAGHER *et al.*, 1997). Ainsi dans les deux situations, c'est le taxon supposé hybride, *C. affine acinaciformis* en Provence et *C. edulis* en Californie, qui reçoit un flux de gènes à partir du génome d'un taxon supposé plus pur, *C. edulis* en Provence et *C. chilensis* en Californie.

Structure génétique et clonale des populations

Les traits d'histoire de vie sont reconnus comme des facteurs majeurs pouvant influencer les niveaux de diversité génétique et son organisation au sein et entre les populations d'un grand nombre d'espèces végétales (HAMRICK *et al.*, 1979). *C. edulis*, *C. affine acinaciformis*, les divers types intermédiaires, et le nuage hybride présentent des niveaux de diversité génétique (pourcentage de loci polymorphes, nombre moyen d'allèles par locus, hétérozygotie moyenne observée) plus élevés que les estimations moyennes relatives aux espèces ayant un système de reproduction asexué, sexué, allogame et mixte, et par des mécanismes de dispersion zoochores (HAMRICK *et al.*, 1979). En outre, *C. affine acinaciformis*, les divers types intermédiaires, et le nuage hybride présentent aussi une diversité génétique plus importante comparée aux estimations moyennes pour les espèces pérennes à long cycle de vie (HAMRICK *et al.*, 1979). De même, la proportion identifiable des clones (PI) est plus élevée chez *C. edulis* et *C. affine acinaciformis* comparée aux estimations moyennes pour 21 espèces clonales (moyenne de 0,17) citées dans ELLSTRAND et ROOSE (1987).

Dans la population 1 (*C. affine acinaciformis*, les divers types intermédiaires, et le nuage hybride), les valeurs du coefficient de consanguinité (F) de Wright, fortement négatives, suggèrent une forte fréquence de flux de gènes entre des individus non apparentés et ainsi peu de consanguinité dans cette population. De plus, dans cette population, a déjà été mentionné la forte proportion d'hybridation/introgression. Tout ceci, associé au fait que *C. affine acinaciformis* présenterait une origine hybride, permet d'expliquer les niveaux plus élevés de diversité génétique, comparativement à *C. edulis*. Une telle diversité génétique peut contribuer à une plus grande plasticité écologique et ainsi favoriser les processus d'invasion chez *C. affine acinaciformis*.

La distribution spatiale des clones étant souvent auto-corrélée, il devrait exister une relation négative entre la distance séparant deux

individus et la probabilité selon laquelle les deux individus appartiennent au même clone (HARADA *et al.*, 1997). Une telle relation a été démontrée chez *C. affine acinaciformis*, avec une distance moyenne entre individus du même clone de 12,36 m. En outre, la propagation végétative est plus importante que le recrutement sexuel chez ce taxon, ce qui est confirmé par la taille des clones (cf. **Fig. 3**). Ainsi, un taux réduit de reproduction sexuée peut maintenir des niveaux élevés de diversité génétique chez les espèces clonales à long cycle de vie (ELLSTRAND & ROOSE, 1987). La taille réduite des clones de *C. edulis* suggère des schémas de croissance en mosaïque basés sur le fractionnement des rameaux et une reproduction sexuée plus efficace.

Stratégies de reproduction

Les stratégies de reproduction représentent un élément clé dans la détermination de l'établissement et le succès des plantes envahissantes (BAKER, 1955 ; BROWN & BURDON, 1987). Immédiatement après l'introduction, des modalités de reproduction indépendantes telles que l'agamospermie, l'autogamie ou la propagation végétative sont très importantes dans l'établissement d'une plante qui possède un faible nombre d'individus introduits (BAKER, 1955, 1986 ; BAZZAZ, 1986 ; BROWN & BURDON, 1987 ; ROY, 1990). Au cours de la colonisation immédiate, l'agamospermie et l'autogamie augmentent la transmission de gènes favorables aux générations suivantes et favorisent ainsi une meilleure adaptation locale alors que la propagation végétative permet une occupation spatiale immédiate dans le proche environnement (PYSEK, 1997 ; KOLAR & LODGE, 2001). L'expansion des espèces introduites dépend ensuite de la capacité de réponse à des pressions de sélection nouvelles et variées, i.e. le maintien d'une forte diversité génétique (BROWN & BURDON, 1987 ; ROY, 1990). Dans ce cas, l'allogamie ainsi que l'hybridation inter-spécifique (si une vigueur hybride existe) apparaissent avantageuses puisqu'elles fournissent de nouvelles combinaisons génétiques potentiellement favorables pour s'adapter à de nouveaux environnements (VILÀ *et al.*, 2000). Une espèce exotique aux capacités optimales d'envahissement devrait alors posséder différentes stratégies de reproduction, incluant des modalités de reproduction indépendante (apomixie et/ou autogamie) et dépendantes (allogamie et/ou hybridation) (BAKER, 1986 ; BAZZAZ, 1986 ; BROWN & BURDON, 1987 ; ELLSTRAND & SCHIERENBECK, 2000).

Un aspect important de cette étude concerne les stratégies de reproduction très différentes entre les deux taxons, *C. edulis* et *C. affine acinaciformis*. Chez *C. edulis*, les performances en agamospermie pour la maturation des fruits (68,75%) et la production de graines (moyenne $\pm$ écart-type = 131 ± 162) suggèrent que l'agamospermie peut être considérée comme une alternative reproductrice chez ce taxon, ce qui n'est pas le cas pour *C. affine acinaciformis* caractérisé par une très

faible maturation des fruits (10,81%). Cette faible proportion d'agamospermie pourrait résulter de l'introgression de certains gènes du génome de *C. edulis*. *C. affine acinaciformis* et *C. edulis* présentent aussi des indices d'auto-fertilité et d'auto-compatibilité contrastés. *C. edulis* est complètement auto-fertile, i.e. capacité à produire des fruits/graines en l'absence des pollinisateurs, et auto-compatible, i.e. capacité de produire des fruits/graines en autogamie, alors que *C. affine acinaciformis* est faiblement auto-fertile et auto-compatible (moyenne AF et AC inférieure à 0,5). L'indice PRC indique aucune évidence de dépression de consanguinité chez *C. edulis* et une légère dépression de consanguinité chez *C. affine acinaciformis*. Les valeurs fortement négatives du coefficient de consanguinité (F) chez ce dernier taxon, indiquant peu de flux de gènes entre des individus apparentés, pourraient expliquer l'existence d'une faible dépression de consanguinité chez *C. affine acinaciformis* peu consanguin. *C. edulis*, avec des valeurs du coefficient de consanguinité proches de zéro, présenterait un système de reproduction plus aléatoire (équilibre d'Hardy-Weinberg). L'absence de différences significatives entre la libre pollinisation et l'allogamie indique que la reproduction des deux taxons n'est pas limitée par l'activité des agents pollinisateurs. En fait, les fleurs des deux taxons sont activement pollinisées par un bourdon, *Bombus terrestris* L. (C. Suehs, obs. pers.). Ainsi, sur l'île de Bagaud, les pollinisations naturelles chez *C. affine acinaciformis* semblent favoriser les croisements inter-taxons participant ainsi à la proportion importante de types intermédiaires observés chez ce taxon.

Impacts génétiques et reproducteurs sur la dynamique d'invasion des *Carpobrotus* de l'île de Bagaud

Les stratégies de reproduction très contrastées entre les deux taxons impliquent différentes dynamiques d'établissement et d'invasion sur l'île de Bagaud. *C. edulis* présente un système de reproduction mixte, optimal dans le succès des espèces envahissantes, i.e. modalités de reproduction indépendantes (propagation végétative, agamospermie, auto-fertilité et auto-compatibilité) assurant son établissement dans une nouvelle région et modalités de reproduction dépendantes (allogamie et hybridation) favorisant ensuite son expansion. Le système de reproduction de *C. affine acinaciformis* est caractérisé par une croissance clonale importante, ce qui favorise son implantation en occupant rapidement l'espace local. Cette croissance clonale est particulièrement agressive sur l'île de Bagaud puisque *C. affine acinaciformis* s'étend actuellement vers l'intérieur de l'île (**Fig. 1**) au sein du matorral sclérophylle à *Pistacia lentiscus*, *Erica arborea*, *Myrtus communis*, *Phillyrea angustifolia*, et *Quercus ilex*, alors que *C. edulis* reste actuellement cantonné aux ceintures halophiles et halorésistantes du littoral (**Fig. 1**). En outre, *C. affine acinaciformis* présente des performances élevées seulement en hybridation inter-taxon. Les hybridations peuvent engendrer

des changements génétiques, i.e. une "flexibilité génétique" favorables à l'adaptation des individus dans de nouveaux environnements (RIESEBERG & CARNEY, 1998; NEUFFER *et al.*, 1999; VILÀ *et al.*, 2000) et augmenter leur expansion (ABBOTT, 1992), ce qui est le cas de *C. affine acinaciformis*. En outre, la vigueur hybride importante observée favorise les processus d'invasion (DAEHLER & STRONG, 1997; VILÀ & D'ANTONIO, 1998b) chez ce taxon. Finalement, au travers des phénomènes d'introggression, certains gènes avantageux de *C. edulis*, taxon fréquemment menaçant pour la flore indigène en Provence, peuvent être incorporé dans le génome de *C. affine acinaciformis*, taxon localement envahissant, ce qui peut créer de nouvelles combinaisons génotypiques avec de fortes potentialités d'invasion, aggravant ainsi l'impact de *C. affine acinaciformis*.

Des études moléculaires sont donc nécessaires pour déterminer l'existence d'un tel phénomène, i.e. comparer les valeurs sélectives relatives des entités parentales et des divers types intermédiaires dans les populations naturelles. Un tel rôle des hybridations/introggressions a été déterminé en Californie, où les types intermédiaires contribuent au succès de l'invasion des *Carpobrotus* du fait de la formation de génotypes additionnels envahissants (VILÀ & D'ANTONIO, 1998b ; WEBER *et al.*, 1998).

En conclusion, les différences observées dans les stratégies de reproduction et les niveaux d'hybridation entre les deux taxons impliquent différentes méthodes de gestion afin de contrôler leur expansion. Premièrement, une des priorités consiste à distinguer les deux taxons et contrôler leur présence en sympatrie afin d'éviter les impacts négatifs cités ci-dessus liés aux phénomènes d'hybridation/introggression. *C. edulis* requiert plus particulièrement un contrôle de la production importante de graines en raison de son succès pour toutes les modalités de reproduction sexuée et en agamospermie. Au contraire, en raison de sa forte expansion clonale, le contrôle de *C. affine acinaciformis* dépend plus de l'arrachage manuel des larges tapis uniformes.

Remerciements

Ce travail a bénéficié de financements du Parc National de Port-Cros (contrat n° 97.029.83400), du projet européen EPIDEMIE (contrat n° EVK2-2000-00736) et du projet INVABIO du Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (contrat n° 01113). Nous remercions Patrice D'Onofrio, Natalia Diaz-Burlinson, Lidwine Le Mire Pecheux, P. Vandenbrouk et Eric Vidal pour leur aide sur le terrain, France di Giusto pour son aide lors des électrophorèses des protéines enzymatiques, et François Bretagnolle et Thierry Boudemaghe pour leur conseils statistiques.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBOTT R.J., 1992. - Plant invasions, interspecific hybridization and the evolution of new plant taxa. *Trends Ecol. Evol.*, 7 : 401-405.
- AGREN J., SCHEMSKE D.W., 1993. - Outcrossing rate and inbreeding depression in two annual monoecious herbs, *Begonia hirsuta* and *B. semiovata*. *Evolution*, 47 : 125-135.
- AKERROYD J.R., PRESTON C.D., 1990. - Notes on some Aizoaceae naturalized in Europe. *Bot. J. Linn. Soc.*, 103 : 197-200.
- AKERROYD J.R., PRESTON C.D., 1993. - *Carpobrotus* N.E. Br. *Flora Europaea* volume 1: *Psilotaceae to Platanaceae*, T.N.G. TUTIN, A. BURGESS, A.O. CHATER, J.R. EDMONSON, V.H. HEYWOOD, D.M. MOORE, D.H. VALENTINE, S.M. WALTERS ET D.A. WEBB eds., Cambridge Univ. Press, Cambridge : pp. 135.
- ALBERT A., JAHANDIEZ E., 1908. - *Catalogue des plantes qui croissent naturellement dans le département du Var*. Mus. Hist. Nat. Toulon reprints, 1985, Toulon : 1-614.
- ALBERT M.E., D'ANTONIO C.M., SCHIERENBECK, K.A., 1997. - Hybridization and introgression in *Carpobrotus* spp. (Aizoaceae) in California. I. Morphological evidence. *Am. J. Bot.*, 84 : 896-904.
- BAKER H.G., 1955. - Self-compatibility and establishment after "long-distance" dispersal. *Evolution*, 347-349.
- BAKER H.G., 1986. - Patterns of plant invasion in North America. *Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii*, H.A. MOONEY, J.A. DRAKE eds., Springer-Verlag, New York : 45-57.
- BAZZAZ F.A., 1986. - Life history of colonizing plants: some demographic, genetic, and physiological features. *Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii*, H.A. MOONEY, J. A. DRAKE eds., Springer-Verlag, New York : 96-110.
- BELKHIR K., 1999. - *GENETIX. Release 4.0*. Laboratoire Génome et Populations, Montpellier.
- BLAKE S.T., 1969. - A revision of *Carpobrotus* and *Sarcocolla* in Australia, genera allied to *Mesembryanthemum* (Aizoaceae). *Contr. Queensland Herb.*, 7 : 1-65.
- BROWN A.H.D., BURDON J.J., 1987. - Mating systems and colonizing success in plants. *Colonization, succession and stability*, A.J.M. GRAY, J. CRAWLEY, P.J. EDWARDS, eds. *The 26th symposium of the British Ecological Society held jointly with the Linnean Society of London*, Blackwell Scientific Publications, Oxford : 115-131.
- CHARLESWORTH D., CHARLESWORTH B., 1987. - Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 18 : 237-268.
- CHARLESWORTH D., CHARLESWORTH B., 1990. - Inbreeding depression with heterozygote advantage and its effect on selection for modifiers changing the outcrossing rate. *Evolution*, 44 : 870-888.
- DAEHLER C.C., 1998. - Variation in self-fertility and the reproductive advantage of self-fertility for an invading plant (*Spartina alterniflora*). *Evol. Ecol.*, 12 : 553-568.
- DAEHLER C.C., STRONG D.R., 1997. - Hybridization between introduced smooth cordgrass (*Spartina alterniflora*; Poaceae) and native California cordgrass (*S. foliosa*) in San Francisco Bay, California, USA. *Am. J. Bot.*, 84 : 617-611.
- D'ANTONIO C.M., DUDLEY T.L., 1995. - Biological invasions as agents of change on islands versus mainland. *Biological diversity and ecosystem function Islands*, P.M. VITOUSEK, L.L. LOOPE, H. ADSESEN eds., Springer, Berlin : 103-121.
- ELLSTRAND N.C., ROOSE M.L., 1987. - Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Am. J. Bot.*, 74 : 123-131.
- ELLSTRAND N.C., SCHIERENBECK K.A., 2000. - Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceed. Natl. Acad. Sci. USA*, 97 : 7043-7050.
- EWEL J.J., O'DOWD D.J., BERGELSON J., DAEHLER C.C., D'ANTONIO C.M., GOMEZ L.D., GORDON D.R., HOBBS R.J., HOLT A., HOPPER K.R., HUGHES C.E., LAHART M., LEAKEY R.R.B., LEE W.G., LOOPE L.L., LORENCE D.H., LOUDA S.M., LUGO A.E., MCEVOY P.B., RICHARDSON D.M. VITOUSEK P.M., 1999. - Deliberate introductions of species: research needs. *BioScience*, 49 : 619-630.
- FERNANDES R.B., 1972. - Mesembryanthemaceae. *Anu. Soc. Broteriana*, 38 : 127-136.

- GALLAGHER K.G., SCHIERENBECK K.A., D'ANTONIO C.M., 1997. - Hybridization and introgression in *Carpobrotus* spp. (Aizoaceae) in California II. Allozyme evidence. *Am. J. Bot.*, 84 : 905-911.
- GOUFFÉ DE LA COUR M., 1813. - Mémoire sur les végétaux exotiques qui peuvent être naturalisés dans les départements méridionaux de la France, suivi de la liste des plantes rares qui ont fleuri et de celles qui ont fructifié dans divers jardins de Marseille principalement dans le jardin de botanique et de naturalisation de cette ville. *Mém. Académie Marseille*, 11 : 149-259.
- GRANT V., 1971. - *Plant speciation*. Columbia University Press, New York, NY.
- HAMRICK J.L., LINHART Y.B., MITTON J.B., 1979. - Relationship between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 10 : 173-200.
- HARADA Y., KAWANO S., IWASA Y., 1997. - Probability of clonal identity: inferring the relative success of sexual versus clonal reproduction from spatial genetic patterns. *J. Ecol.*, 85 : 591-600.
- HASLAM S.M., SELL P.D., WOLSELEY P.A., 1977. - *A flora of the Maltese islands*. Malta University Press, Msida, Malta.
- HEYWOOD V.H., 1995. - The Mediterranean flora in the context of world biodiversity. *Ecol. Medit.*, 21 : 11-18.
- HIGGINS S.I., RICHARDSON D.M., COWLING R.M., 1996. - Modeling invasive plant spread: the role of plant environment interactions and model structure. *Ecology*, 77 : 2043-2054.
- HUXEL G.R., 1999. - Rapid displacement of native species by invasive species: effects of hybridization. *Biol. Conserv.*, 89 : 143-152.
- HUXLEY A., TAYLOR W., 1977. - *Flowers of Greece and Aegean*. Chatto & Windus, London.
- KOLAR C.S., LODGE D.M., 2001. - Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends Ecol. Evol.*, 16 : 199-204.
- LLOYD D.G., SCHOEN D.J., 1992. - Self- and cross- fertilization in plants. I. Functional dimensions. *Int. J. Plant Sci.*, 153 : 358-369.
- MACDONALD I.A.W., GRABER D.M., DEBENEDETTI S., GROVES R.H., FUENTES E.R., 1988. - Introduced species in nature reserves in Mediterranean-type climatic regions of the world. *Biol. Conserv.*, 44 : 37-66.
- MATHSOFT, 1999. - *S-PLUS 2000 Professional Edition for Windows. Release 2*. MathSoft, Inc., Seattle, Washington.
- MÉDAIL F., QUEZEL P., 1997. - Hot-spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean Basin. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, 84 : 112-127.
- MOONEY H.A., CLELAND E.E., 2001. - The evolutionary impact of invasive species. *Proceed. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 : 5446-5451.
- NEI M., 1973. - Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceed. Natl. Acad. Sci. USA*, 70 : 3321-3323.
- NEI M., 1977. - F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Ann. Human Genet.*, 41 : 225.
- NEI M., 1987. - *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York, N.Y.
- NEUFFER B., AUGÉ H., MESCH H., AMARELL U., BRANDL R., 1999. - Spread of violets in polluted pine forests: morphological and molecular evidence for the ecological importance of interspecific hybridization. *Mol. Ecol.*, 9 : 365-377.
- PYSEK P., 1997. - Clonality and plant invasions: can a trait make a difference? *The Ecology of clonal plants*, H. DE KROON, J. VAN GROENENDAEL eds., Backhuys Publisher, Leiden : 405-427.
- ROY J., 1990. - In search of the characteristics of plant invaders. *Biological invasions in Europe and the Mediterranean Basin*, F. DI CASTRI, A.J. HANSEN, M. DEBUSSCHE (eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht : 335-352.
- RIESEBERG L.H., 1997. - Hybrid origins of plant species. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 28 : 359-389.
- RIESEBERG L.H., CARNEY S.E., 1998. - Tansley Review No. 102. Plant hybridization. *New Phytol.*, 140 : 599-624.
- SOKAL R.R., ROHLF F.J., 1995. - *Biometry*, 3rd. edn. Freeman and Company, New York.
- STATSOFT FRANCE, 1997. - *STATISTICA pour Windows (manuel du programme). Release 5.1*. StatSoft France, Paris.

- STEVENS J., 1992. - *Applied multivariate statistics for the social sciences*, 2nd. edn. Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale, New Jersey.
- SUEHS C.M., MEDAIL F., AFFRE L. 2001. Ecological and genetic features of the invasion by the alien *Carpobrotus* plants in Mediterranean island habitats. *Plant invasions: species ecology and ecosystem management*, G. BRUNDU, J. BROCK, I. CAMARDA, L. CHILD & WADE M. eds., Backhuys Publishers, Leiden : 145-158.
- SWOFFORD D.L., SELANDER R.S., 1981. - *BIOSYS-1. A computer program for the analysis of allelic variation in genetics. User's manual*. University of Illinois, Urbana.
- TUTIN T.G., HEYWOOD V.H., BURGESS N.A., VALENTINE D.H., WALTERS S.M., WEBB D.A. eds. 1964. *Flora Europaea. Vol. 1*. Cambridge University Press, Cambridge.
- VILA M., D'ANTONIO C.M., 1998a. - Fruit choice and seed dispersal of invasive vs. noninvasive *Carpobrotus* (Aizoaceae) in coastal California. *Ecology*, 79 : 1053-1060.
- VILA M., D'ANTONIO C.M., 1998b. - Hybrid vigor for clonal growth in *Carpobrotus* (Aizoaceae) in coastal California. *Ecol. Appl.*, 8 : 1196-1205.
- VILA M., WEBER E., D'ANTONIO C.M., 2000. - Conservation implications of invasion by plant hybridization. *Biol. Inv.*, 2 : 207-217.
- VITOUSEK P.M., D'ANTONIO C.M., LOOPE L.L., WESTBROOKS R., 1996. Biological invasions as global environmental change. *Am. Sci.*, 84 : 468-478.
- WEBER E.F., VILA M., ALBERT M., D'ANTONIO C. M., - 1998. Invasion by hybridization: *Carpobrotus* in coastal California. *Plant invasions: ecological mechanisms and human responses*, U. STARFINGER, K. EDWARDS, I. KOWARIK, M. WILLIAMSON eds., Backhuys Publishers, Leiden : 275-281.
- WEIR B.S., COCKERHAM C.C., 1984. - Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38 : 1358-1370.
- WENDEL J.F., WEEDEN N.F., 1989. - Visualization and interpretation of plant isozymes. *Isozymes in plant biology*, D.E. SOLTIS, P.S. SOLTIS eds. Chapman and Hall, London : 5-45.
- WILLIAMSON M., 1996. - *Biological invasions*. Chapman and Hall, London.
- WISURA W., GLEN H.F., 1993. - The South African species of *Carpobrotus* (Mesembryanthema - Aizoaceae). *Contr. Bolus Herb.*, 15 : 76-107.
- WRIGHT W., 1965. - The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19 : 395-420.