

Université de Montréal

**Reproduction sexuée et asexuée chez le poisson *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*
: contexte, mécanismes et implications**

par

Joëlle Lafond

Département de sciences biologiques

Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de *Philosophiae Doctor* (Ph.D)
en sciences biologiques

Janvier 2024

© Joëlle Lafond, 2024

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée

**Reproduction sexuée et asexuée chez le poisson *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*
: contexte, mécanismes et implications**

Présentée par
Joëlle Lafond

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

David Morse
Président-rapporteur

Bernard Angers
Directeur de recherche

Julie Turgeon
Membre du jury

Ingo Schlupp
Évaluateur externe

Résumé

La reproduction est un processus essentiel à la persistance et à l'évolution des espèces. En ce sens, il existe une diversité incroyable de stratégies permettant la prolifération des individus. La reproduction sexuée typique, abondante chez les animaux, est très souvent la première qui vient à l'esprit. Cependant, chez les vertébrés, on retrouve plusieurs reproductions atypiques, où il est possible de manipuler la gamétogenèse de façon surprenante. Retrouvées surtout chez les hybrides, ces reproductions alternatives peuvent nous en apprendre long sur le fonctionnement de la méiose et de la gamétogenèse en général via l'étude de ses exceptions. Les projets réunis sous cette thèse ont ainsi pour objectif global d'apporter une meilleure description de ces reproductions atypiques avec une approche multidisciplinaire. À ce but, un complexe de vertébrés possédant plusieurs ploïdies, compositions génomiques et reproductions atypiques différentes a été choisi comme sujet d'étude. Le complexe d'hybrides sujet de cette thèse est ainsi celui de *Chrosomus eos-neogaeus*, un groupe de cyprinidés s'étendant des États-Unis au Canada, dans lequel on retrouve à la fois de la reproduction sexuée et asexuée. Plus précisément, ce projet de recherche cherche à décrire la façon dont se reproduisent les triploïdes hybrides *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*, le déterminisme derrière la dichotomie reproductive de ces derniers, ainsi que l'impact des reproductions sexuées et asexuées sur les organismes de ce complexe. Les différentes études réalisées ont permis de réaliser ce but, en accomplissant les 3 objectifs suivants. Le premier chapitre avait comme objectif la description des types de reproduction chez les hybrides triploïdes *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus* à partir de croisements expérimentaux. Le second, d'inférer le déterminisme à la base des deux gamétogenèses (sexuée et asexuée) retrouvées chez les triploïdes via l'analyse de loci épigénétiques. Finalement, le troisième avait pour objectif de déterminer les effets de la sexualité et l'asexualité en l'absence de facteurs confondants, et ce, via une analyse en morphométrie. Ces différentes études auront mené, premièrement, à la découverte d'une nouvelle voie reproductive chez les vertébrés (hybridogenèse améiotique), retrouvée chez certaines femelles triploïdes, en plus de la reproduction sexuée déjà observée chez d'autres (hybridogenèse méiotique). Ensuite, l'origine de la dichotomie reproductive aura été corrélée à la ploïdie maternelle des triploïdes. Ainsi, une femelle diploïde donnera naissance à des triploïdes se reproduisant de façon asexuée, et ces dernières à des triploïdes se reproduisant de façon sexuée. Finalement, les analyses morphométriques chez les organismes sexués et asexués de ce complexe auront montré une

différence de forme inhérente au type de gonades, et ce, en absence de facteurs confondants, qui est conservée même entre des individus de composition génomique différente. En prenant connaissance de ces informations, il est alors possible de mieux comprendre la flexibilité entourant la gamétogenèse chez les vertébrés, ainsi que les impacts de ces changements sur les organismes eux-mêmes et ceux qui les entourent. Cette thèse aura ainsi avancé les connaissances au niveau des reproductions atypiques dans le complexe *C. eos-neogaeus*, mais ces découvertes seront aussi d'une grande utilité pour les complexes similaires et pour l'étude des différentes stratégies reproductives retrouvées chez les vertébrés.

Mots clés : Gynogenèse, Hybridogenèse, Oogenèse, *Chrosomus eos-neogaeus*, Reproduction sexuée, Reproduction asexuée, Hybrides, Triploïdes

Abstract

Reproduction is an essential process for the persistence and evolution of species. In this sense, there is an incredible diversity of strategies for the proliferation of individuals. Typical sexual reproduction, abundant in animals, is certainly the first that comes to mind. However, among vertebrates, various atypical reproductions can be found, where it is possible to manipulate gametogenesis in surprising ways. Mostly found in hybrids, these alternative reproductions can teach us a lot about the functioning of meiosis and gametogenesis in general through the study of their exceptions. The projects gathered under this thesis aim to provide a better description of these atypical reproductions with a multidisciplinary approach. In this regard, a complex of vertebrates with multiple ploidies, genomic compositions, and different atypical reproductions has been chosen as the subject of study. Indeed, the hybrid complex studied in this thesis is *Chrosomus eos-neogaeus*, a group of cyprinids extending from the United States to Canada, which exhibits both sexual and asexual reproduction. Specifically, this research project seeks to describe the reproductive context of triploid hybrids *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*, the determinism behind their reproductive dichotomy, and the impact that sexual and asexual reproduction can have on organisms in this complex. The various studies conducted have achieved these goals by accomplishing the following three specific objectives. The first chapter aimed to describe the types of reproduction in triploid hybrids *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus* through experimental crossings. The second objective was to infer the determinism behind the two gametogenic pathways (sexual and asexual) found in triploids through the analysis of epigenetic loci. Finally, the third objective was to determine the effects of sexuality and asexuality in the absence of confounding factors through morphometric analysis. These different studies have led, firstly, to the discovery of a new reproductive pathway in vertebrates (ameiotic hybridogenesis), found in some triploid females, in addition to the sexual reproduction already observed in others (meiotic hybridogenesis). Next, the origin of reproductive dichotomy has been correlated with the maternal ploidy of triploids. Thus, a diploid female will give birth to triploids reproducing asexually, and these will give birth to triploids reproducing sexually. Finally, morphometric analyses of the sexual and asexual organisms in this complex have shown an inherent shape difference in the gonads, in the absence of confounding factors, which is preserved even among individuals of different genomic compositions. With this information, it will be possible to better understand the flexibility

surrounding gametogenesis in vertebrates, as well as the impacts of these changes on the organisms themselves and those around them. This thesis has advanced knowledge in atypical reproductions in the *C. eos-neogaeus* complex, but this knowledge will also be of great utility for similar complexes and for the study of different reproductive strategies.

Keywords: Gynogenesis, Hybridogenesis, Oogenesis, *Chrosomus eos-neogaeus*, Sexual reproduction, Asexual reproduction, Hybrids, Triploids.

Table des matières

Résumé	3
Abstract	5
Table des matières	7
Liste des Tableaux	9
Liste des Figures	10
Liste des Sigles et des Abréviations	11
Remerciements	13
1. Introduction générale	15
1.1 La persistance des espèces	16
1.2 La reproduction animale	18
1.3 Sexué ou asexué ?	29
1.4 Et la méiose, dans tout ça ?	32
1.5 L'hybridation chez les vertébrés	35
1.6 Comprendre le typique par l'atypique	38
1.7 Modèle biologique	39
1.8 Objectifs, hypothèses et structure de la thèse	41
2. Voies oogéniques inattendues chez le poisson triploïde <i>Chrosomus eos-neogaeus</i>	44
2.1 Abstract	46
2.2 Introduction.....	47
2.3 Material and method	50
2.4 Results.....	52
2.5 Discussion	56
2.6 Conclusion	61
2.7 Acknowledgments.....	61
3. La ploïdie maternelle façonne les voies reproductives dans l'hybride triploïde <i>Chrosomus eos</i> × <i>eos-neogaeus</i>	62
3.1 Abstract	64
3.2 Introduction.....	65
3.3 Method	69
3.4 Results.....	74
3.5 Discussion.....	78

3.6	Conclusion	84
3.7	Acknowledgments.....	85
4.	L’asexualité façonne des traits animaux.....	86
4.1	Summary.....	88
4.2	Introduction.....	89
4.3	Results.....	92
4.4	Discussion.....	100
4.5	Methods.....	103
4.6	Extended Data Tables	107
4.7	Acknowledgement	109
4.8	Data Accessibility Statement	109
4.9	Code Accessibility Statement	109
4.10	Author Contributions section.....	109
5.	Discussion générale	110
5.1	Introduction.....	111
5.2	Résumé des principaux résultats.....	111
5.3	Leçons globales.....	117
5.4	Perspectives.....	125
5.5	Conclusions.....	127
6.	Références Bibliographiques.....	129
7.	Annexes (Supplementary materials)	146
7.1	Annexe 1 (Chapitre II).....	147
7.2	Annexe 2 (Chapitre III).....	150
7.3	Annexe 3 (Chapitre IV)	157

Liste des Tableaux

Chapitre II

Table 2.I. Genomic composition of the offspring issued from crosses between female triploids of <i>C. eos-neogaeus</i> and males <i>C. eos</i>	52
Table 3.I. Experimental design for the analysis of epigenetic variation in larvae.	71
Table 3.II. Characterization of reproductive phenotypes in different hybrid lineages.	77
Table 3.III. Assignment of adult females to epigenetic multilocus profiles of reference.	78
Extended Data Table 4.I. Results of the RDA and pairwise analyses.	107
Extended Data Table 4.II. Sampling of the study.	108

Annexe I

Supplementary Table I. Genotypes of the offspring issued from crosses between female triploids of <i>C eos-neogaeus</i> and males of <i>C. eos</i> based on PHO-2 and CA-12 loci.	147
Supplementary Table II. Genotypes of the offspring issued from cross 8 between a female triploid of <i>C. eos- neogaeus</i> and a male of <i>C. eos</i> based on PHO-60 locus.	149
Supplementary Table I. Polymorphic HpaII Loci in triploid larvae.	150
Supplementary Table II. Polymorphic MspI Loci in triploid larvae.	155
Supplementary Table III. Zygote sizes for diploid and triploid hybrid females.	156
Supplementary Data I. Landmarks coordinates and information on the samples used in this study.	157
Supplementary Data II. Code used for the analysis of this chapter.	231

Liste des Figures

Chapitre I

Figure 1.1. Reproductions atypiques chez les invertébrés.....	20
Figure 1.2. Reproductions atypiques chez les vertébrés.....	23
Figure 1.3. Le double coût de la reproduction sexuée.....	28
Figure 1.4. Méiose chez un organisme femelle (oogenèse).....	33
Figure 1.5. Complexe <i>Chrosomus eos-neogaeus</i> tel que connu au début de cette thèse.....	40
Figure 2.1. Formation of triploid hybrids in the <i>Chrosomus eos-neogaeus</i> complex.....	49
Figure 2.2. Oogenic pathways observed in the triploid hybrid <i>C. eos</i> × <i>eos-neogaeus</i>	54
Figure 2.3 Hypothetic scenarios of the reproductive cycle in female triploids <i>C. eos</i> × <i>eos-neogaeus</i> through generations.....	59
Figure 3.1. Reproductive pathways in the <i>Chrosomus eos-neogaeus</i> complex.....	67
Figure 3.2. Results of the correspondence analysis on the larval loci.....	74
Figure 3.3. Gonadal morphology of the two types of triploids and zygote (before cell division) size comparison among hybrids.....	76
Figure 3.4. Sequential structure of the hybrid biotypes in the <i>C. eos-neogaeus</i> complex.....	82
Figure 4.1. <i>Chrosomus eos-neogaeus</i> fish complex.....	91
Figure 4.2. Shape variation of sex and asex triploid females.....	93
Figure 4.3. Shape changes according to reproductive strategy.....	97
Figure 4.4. Shape variation according to reproductive strategies in all members of <i>C. eos-neogaeus</i> fish complex.....	99
Figure 5.1. Médiane du succès d'éclosion et du nombre d'œufs produits par biotype.....	114
Figure 5.2. Modèles démographiques simples dans le complexe hybride <i>C. eos-neogaeus</i>	122

Liste des Sigles et des Abréviations

A	Haplome hypothétique d'une espèce "A"
A-11/B-01	Lignées hybrides
ADN/DNA	Acide désoxyribonucléique/Deoxyribonucleic acid
AH	Hybridogenèse améiotique
ANOVA	Analysis of variance
ARN/RNA	Acide ribonucléique/Ribonucleic acid
Asex	Asexual Reproduction/Reproduction Asexuée
B	Haplome hypothétique d'une espèce "B"
bp	base pair/Pair de base
CA	Correspondence analyses
CCA	Canonical correspondence analyses
E, E' ou E*	Haplome <i>C. eos</i>
GPA	General Procrustes Analysis
GY	Gynogènes (hybride diploïdes)
MH	Hybridogenèse méiotique
MSAP	Methylation-sensitive amplified polymorphism
N	Haplome <i>C. neogaeus</i>
p	p-value
PCA	Principal Component Analysis
RDA	Redundancy Analysis
Sex	Sexual Reproduction/Reproduction Sexuée

“I may not have gone where I intended to go, but I think I have ended up where I needed to be.”

— Douglas Adams, The Long Dark Tea-Time of the Soul

“There is a theory which states that if ever anyone discovers exactly what the Universe is for and why it is here, it will instantly disappear and be replaced by something even more bizarre and inexplicable.

There is another theory which states that this has already happened.”

— Douglas Adams, The Restaurant at the End of the Universe

Remerciements

Premièrement, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers mon directeur de thèse, Bernard Angers, dont le suivi attentif et les conseils éclairés ont été des piliers tout au long de ces 5 années de doctorat. Merci infiniment pour ta disponibilité inébranlable, ton enthousiasme indéfectible pour la recherche, et pour les réponses aux chaînes de courriels tardifs que je t'ai envoyées à bien plus d'une occasion ! Je suis également reconnaissante pour la confiance que tu as placée en moi, me permettant de mener à bien ce parcours académique, et le soutien financier qui m'a permis de me rendre jusqu'au bout.

Un sincère merci s'adresse également aux divers organismes qui ont contribué financièrement à ce projet. Les bourses provenant de la FESP (Faculté des Études Supérieures et Postdoctorales), du Département de sciences biologiques, d'Hydro-Québec, de la FAECUM (Fédération des associations étudiantes du campus de l'Université de Montréal), du GRIL (Groupe de Recherche Interuniversitaire en Limnologie et en environnement aquatique), du CSBQ (Centre de la Science de la Biodiversité du Québec), ainsi que de la Fédération des Caisses Desjardins du Québec m'ont permis de poursuivre mes études dans des conditions optimales.

Un grand merci à mes collègues de laboratoire et amis, en particulier Tatiana, Érik, et Maéva, qui ont été des compagnons essentiels tout au long de ce voyage académique. Tatiana et Érik, votre soutien et votre écoute pendant les moments difficiles ont été précieux. Maéva, la charge de cours que nous avons enseignée ensemble reste un souvenir mémorable, malgré les défis imposés par la COVID. Ta passion pour l'enseignement est inspirante, et j'espère sincèrement avoir l'opportunité de collaborer à nouveau avec toi. Un chaleureux remerciement à Sophie Breton et Annie Angers pour leurs réponses éclairées à mes nombreuses interrogations. Enfin, une reconnaissance toute particulière à tous mes collègues avec qui j'ai eu le plaisir de collaborer sur les chapitres inclus dans cette thèse. Travailler avec vous a été un réel plaisir !

Ensuite bien sûr, je voudrais remercier ma famille, qui m'a investi d'un amour pour la nature et d'une grande curiosité envers elle. Elle m'a appris la persévérance et le travail. C'est grâce à cette énergie que j'ai pu réaliser ce doctorat, qui est loin d'avoir été aussi simple et linéaire que prévu.

Jérôme, mon amour, je te suis infiniment reconnaissante de m'avoir accompagnée dans cette aventure. Ta présence a été un soutien inestimable, rendant l'impossible possible. Merci pour tes conseils éclairés, ton assistance précieuse, et ton soutien indéfectible au fil de ces années. And cheers to many, many more!

Chapitre I

1. Introduction générale

1.1 La persistance des espèces

1.1.1 Le principe d'évolution et les forces qui le régissent

Chaque espèce est dotée de traits remarquables qui, ensemble, participent à la rendre unique. Cette diversité incroyable est permise grâce à la rencontre de deux éléments : l'hétérogénéité environnementale et la possibilité d'évolution des organismes. En effet, une grande diversité de niches écologiques dans un espace donné permet alors à de multiples espèces d'y résider et de s'y développer, via des adaptations les avantageant dans leur milieu respectif. Il y a donc souvent une corrélation positive entre la diversité spatiale d'un habitat et la biodiversité y résidant (Tamme *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2015), bien qu'il existe des exemples du cas contraire (Yang *et al.*, 2015 et références citées). Dans le premier cas cependant, le tout permet alors la coexistence de nombreuses espèces dans un environnement donné tout en limitant la compétition entre elles.

Ces nombreuses adaptations ont pu apparaître chez les espèces grâce au phénomène d'évolution, résultant en un changement des traits d'une population. L'évolution des populations est affectée par les quatre grandes forces suivantes (Gillespie, 1998; Hartl et Clark, 2007) :

- 1) Les mutations, souvent neutres, qui apportent de la variabilité génétique en modifiant les allèles ou les chromosomes existants (pour le meilleur et pour le pire !);
- 2) La dérive, une force menant à une variation aléatoire des fréquences alléliques dans une population suivant une ou plusieurs générations, parfois à la suite d'évènements de contractions démographiques;
- 3) La migration, soit l'échange d'allèles entre des populations via l'échange d'individus; et
- 4) La sélection, qui discrimine les individus selon leur valeur adaptative, amenant ceux dont le phénotype est le plus approprié à l'environnement à se reproduire davantage.

Ces forces, ensemble, mènent à une variation dans les fréquences alléliques d'une population et ainsi, à son évolution – qu'elle soit adaptative ou non. Alors que les trois premières forces sont surtout le fruit du hasard, la sélection permettra une adaptation des espèces face à leur environnement. Pour que le tout soit possible cependant, il faudra que ces traits respectent certains critères (Endler, 1986) :

1. Il faut déjà que les traits en question soient variables (variation phénotypique dans la population);

2. Qu'ils résultent en une différence de valeur adaptative;
3. Qu'ils soient héréditaires;
4. Que l'environnement (soit les pressions de sélection) reste stable.

Cette sélection sur un caractère confère alors aux plus compétitifs un avantage, leur permettant potentiellement de laisser une progéniture plus abondante et modifiant ainsi les fréquences alléliques d'une espèce ou population donnée.

La variation d'un trait se traduit ainsi par des différences qui affecteront de façon globale la morphologie et le comportement des organismes, et plus spécifiquement la façon dont ils se nourrissent, trouvent refuge, se reproduisent et se défendent contre les éléments abiotiques et les prédateurs. Ce cycle d'amélioration et diversification des traits est continu, dû à la persistance de la compétition entre les espèces. La bien connue théorie de la Reine Rouge relève d'ailleurs ce fait (Van Valen, 1973, 1977), stipulant que la coévolution entre les espèces les amènera toujours à améliorer leurs traits liés à l'exploitation de la ressource pour laquelle il y a compétition. Ceci résultera une course évolutionnaire où chaque espèce, pour survivre, devra continuellement s'améliorer dans ses capacités d'exploitation de ressources.

1.1.2 Les forces derrière la sélection naturelle

Le concept de sélection naturelle, introduit par Charles Darwin, comportait dès ses débuts une spécification importante concernant son fonctionnement (Darwin, 1859). Darwin postulait en effet que la sélection naturelle se composait de deux éléments fondamentaux : l'aptitude à la survie (ou *sélection de survie*) et la *sélection sexuelle*. Il aura ensuite suggéré la division de cette dernière en deux catégories : la *sélection sexuelle* en elle-même et la *sélection de fécondité* (Darwin, 1871; Darwin, 1874), encore d'actualité aujourd'hui (Pincheira-Donoso et Hunt, 2017).

Via la **sélection de survie**, il est possible d'agir sur les traits qui affectent, sans surprise, les probabilités de survie d'un organisme. Cette forme de sélection opère donc sur l'ensemble des caractéristiques liées à la capacité d'un organisme à résister à son environnement (biotique ou abiotique) et à l'exploiter de manière efficace (Darwin, 1859). Parmi ces contraintes figurent par exemple la composition physico-chimique et climatique du milieu et les interactions biotiques, incluant la compétition intraspécifique (Birch, 1955; Ullyett, 1950) et interspécifique (Martin et Martin, 2001) pour l'accès aux ressources ainsi que la prédation (Endler, 1986).

De son côté, la **sélection sexuelle** intervient alors qu'un trait en particulier permet d'obtenir un meilleur succès reproducteur (Andersson, 1994). Elle se produit de façon intraspécifique, et inclut tout ce qui touche au choix de partenaire (sélection intersexuelle) et à la compétition à l'intérieur d'un sexe (intrasexuelle) (Avisé et Ayala, 2009; Darwin, 1874). Comme l'investissement reproductif des femelles est généralement plus grand que pour les mâles, avec des gamètes plus gros et moins nombreux, ce sont souvent elles qui exercent la plus grande sélection intersexuelle. Un exemple de ceci est la sélection des spermatozoïdes post-copulation, possible chez les femelles de certaines espèces, qui éviteront alors les spermatozoïdes de moins bonne qualité (Eberhard, 1996; Thornhill, 1983). Au niveau de la sélection intrasexuelle, les exemples les plus parlants sont ceux des combats entre mâles pour l'accès aux femelles (Avisé et Ayala, 2009), mais on peut aussi penser à la compétition entre les spermatozoïdes de plusieurs mâles chez les organismes permettant les copulations multiples avant la fécondation des œufs des femelles (Parker, 1970).

La **sélection de fécondité**, pour sa part, stipule que pour qu'un organisme lègue ses gènes efficacement, il se doit de produire des gamètes de haute qualité et en quantité abondante (Olsson *et al.*, 2002; Pincheira-Donoso et Hunt, 2017; Serrano-Meneses et Székely, 2006). En effet, un trait délétère héritable en ce qui concerne ces éléments sera forcément éliminé par la sélection puisque les organismes présentant ce trait auront une progéniture moins abondante.

Ces mécanismes sélectifs opèrent de manière coordonnée, résultant en un différentiel au niveau de la capacité de chaque individu à survivre, trouver un partenaire et se reproduire de manière efficace (Fisher, 1930). Il est donc évident qu'au cœur de la persistance des populations réside la nécessité fondamentale d'une reproduction efficace chez les individus. C'est sur ce pilier crucial que cette thèse se concentrera, explorant ainsi un élément essentiel dans l'évolution des espèces. La diversité des voies reproductives, leurs conséquences, origines et mécanismes, plus spécifiquement chez les animaux, seront ainsi mis d'avant tout au long de cette introduction, et constitueront le cœur des projets de recherche inclut dans cette thèse.

1.2 La reproduction animale

La mise en place de la reproduction sexuée aura permis aux organismes de profiter de certains avantages. En effet, via le brassage génétique du matériel des parents d'un organisme, et la fusion

subséquente avec le matériel génétique d'un autre, on retrouve un gain au niveau de la diversité génétique ainsi que le potentiel de purger certains allèles néfastes dans les populations. C'est ainsi sur cette diversité génétique que la sélection naturelle pourra opérer.

Déjà présente chez le dernier ancêtre commun des eucaryotes (Goodenough et Heitman, 2014), la reproduction sexuée est aujourd'hui souvent vue comme étant omniprésente, surtout chez les vertébrés complexes où le tout est effectué via la méiose et la gamétogenèse. Il n'est donc pas surprenant que la reproduction sexuée soit la première à venir en tête lorsqu'il est question de reproduction, surtout chez les animaux. Il faut cependant garder en tête qu'il existe une grande diversité au niveau de la façon de se reproduire, qui peut mener à des stratégies bien différentes entre les organismes, et ce, autant au niveau intra qu'interspécifique. Il peut alors en surgir des différences au niveau comportemental (soins parentaux, nidification) (Kokko et Jennions, 2003), gamétique (nombre de gamètes, énergie y étant investie, ou composition génomique) (Hayward et Gillooly, 2011; Macarthur et Wilson, 1967; Vrijenhoek *et al.*, 1989), ou démographique (ratio mâles/femelles) (Vrijenhoek *et al.*, 1989). Ces différences peuvent être observées à l'intérieur d'un même type de reproduction, ou bien entre différents types.

Ces *différentes reproductions* dont il est question, référées comme « reproductions atypiques » tout au long de cette thèse, seront exposées dans les deux sous-sections qui suivent. Elles concernent plus précisément les alternatives à la reproduction sexuée typique que l'on retrouve dans le monde animal.

1.2.1 Reproductions atypiques uniques aux invertébrés

Chez les invertébrés, il existe plusieurs façons de se reproduire sans partenaire. On y connaît entre autres la fission, le bourgeonnement ainsi que la fragmentation (Figure 1.1) (de Meeûs *et al.*, 2007). Ces reproductions ne passent toutefois pas par la production de gamètes, et bien que classées comme « atypiques », on retrouve des façons alternatives de se reproduire bien plus fréquemment chez les invertébrés que chez les vertébrés.

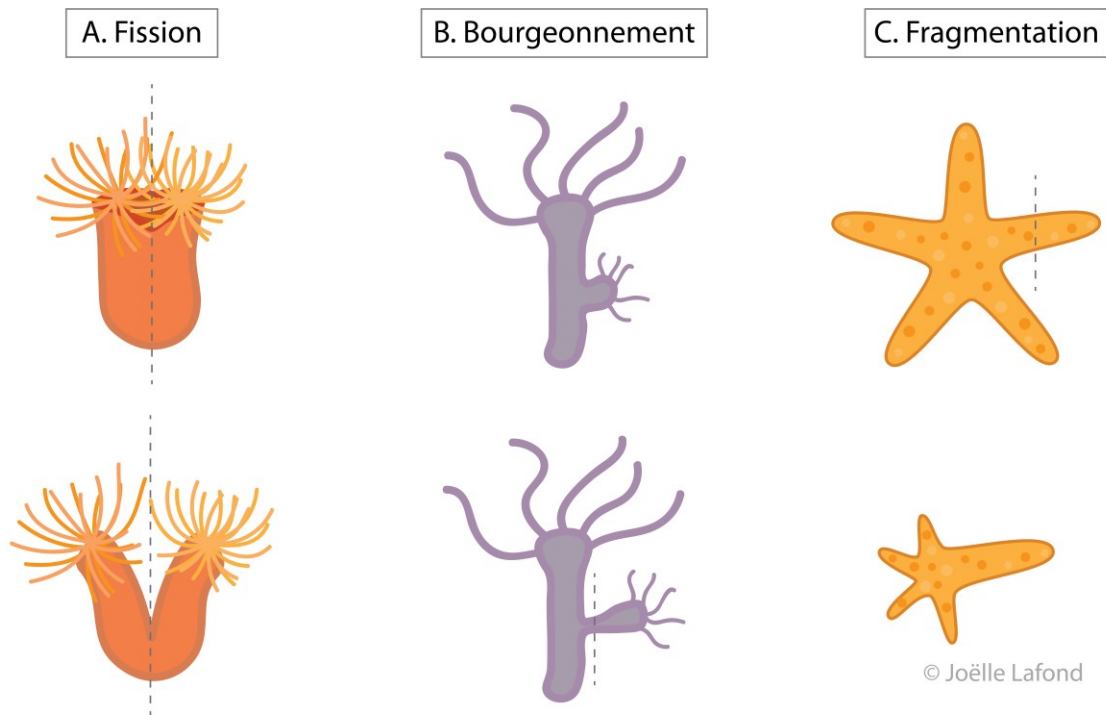


Figure 1.1. Reproductions atypiques chez les invertébrés. A) La fission permet la division binaire d'un organisme parent en deux nouveaux organismes. B) Le bourgeonnement permet la production d'un individu de taille réduite qui se détachera de l'organisme parent, avant de croître de façon indépendante. C) La fragmentation permet de produire des fragments, volontairement via des organes spécialisés ou involontairement (par déchirure d'un membre par exemple), qui se régénéreront afin de produire de nouveaux individus de petite taille.

Pour commencer, la **fission** (Figure 1.1 A) permet à un individu de se diviser en deux et, si nécessaire, de régénérer les parties manquantes à chaque moitié. Il en résulte ainsi deux organismes indépendants de taille similaire. On retrouve ce type de division chez plusieurs organismes tels que des espèces du genre *Anthopleura* (anémones de mer) (Schmidt, 1970) et du genre *Holothuria* (concombres de mer) (Chao *et al.*, 1993).

Ensuite, le **bourgeonnement** (Figure 1.1 B) permet aux organismes de produire plusieurs *bourgeons*, soit des organismes clonaux, entiers, mais de petite taille, qui vont croître à même l'organisme parental avant de s'en détacher lorsque pouvant fonctionner indépendamment. Bien que ce type de reproduction soit surtout connu chez les plantes telles que les *Kalanchoë* (Garcês *et al.*, 2007), on la retrouve aussi chez des invertébrés tels que chez les hydres (Burnett, 1961) et certains coraux (*Lophelia pertusa* par exemple) (Rogers, 1999).

Finalement, on retrouve la **fragmentation** (Figure 1.1 C), une pratique retrouvant des similarités avec la fission. Dans cette dernière, un organisme parent se séparera d'une ou plusieurs parties de son corps qui auront alors la possibilité de se régénérer afin de produire un organisme complet. Elle se différencie de la fission par plusieurs éléments, soit 1) que la résultante peut être une progéniture bien plus abondante (la fission ne donne qu'un nouvel individu, en plus de l'individu parent), 2) le résultat de la fragmentation est une progéniture bien moins complète au niveau morphologique – on parle d'un fragment et non pas d'un individu presque entier, et 3) la progéniture résultante est souvent d'une taille bien inférieure à l'organisme parent. Il y a donc un travail de régénération bien plus important chez cette reproduction.

Les fragments en question peuvent être une partie de l'organisme parent – un bras pour les astérides (par exemple, les étoiles de mer), ou la queue pour des vers plats – ou bien peut provenir d'un organe spécialisé à cet effet, comme c'est le cas des algues vertes *spirogyra*, où les fragments composant le corps de l'organisme ont pour but de se détacher afin de se disséminer. On retrouve la fragmentation chez de nombreux invertébrés, incluant certaines espèces parmi les éponges (Wulff, 1991), cnidaires (Lasker, 1984), Némertes (Coe, 1930), vers plats (Child, 1910, 1932) et échinodermes (Dolmatov, 2014).

Il faut noter, toutefois, que les définitions de la fragmentation et la fission sont variables dans la littérature. Les deux sont parfois combinées en une seule reproduction (Coe, 1930). Alternativement, il est parfois considéré que la fragmentation serait une forme de fission (Dolmatov, 2014). La perte d'un membre menant à la croissance d'un nouvel individu est elle-même souvent considérée comme de la fission (Dolmatov, 2014).

1.2.2 Reproductions atypiques présentes chez les vertébrés

Bien que les reproductions précédentes soient absentes chez les vertébrés, on retrouve tout de même un certain lot de reproductions atypiques à l'intérieur de ce taxon. Chez les vertébrés, on comptait déjà, il y a plus de 20 ans, environ 80 espèces connues pour de telles reproductions (Alves *et al.*, 2001) – et plusieurs autres ont été ajoutées à ce compte depuis (Avisé, 2015). Parmi ces espèces, on retrouve la parthénogenèse, la gynogenèse, l'androgenèse et les différentes hybridogenèses (Figure 1.2) (Neaves et Baumann, 2011; Ryskov, 2008; Vrijenhoek *et al.*, 1989).

Il faut noter que, contrairement aux invertébrés, les reproductions atypiques des vertébrés passent toujours par la production de gamètes. La raison principale derrière ceci est la présence

d'un système circulatoire complexe chez les vertébrés. Ce dernier irrigue les organes et les membres en sang oxygéné; ainsi, un membre ne possède pas l'autonomie de le faire s'il est détaché du corps de l'organisme. Ceci impose donc une grande contrainte sur la partie coupée, qui devrait alors se régénérer extrêmement rapidement de façon à reproduire un nouveau système respiratoire avant que les cellules commencent à se dégrader, ce qui semble alors très peu réalisable. À l'inverse, les hydres et les plathelminthes, pouvant se reproduire par fragmentation, ne possèdent pas de système circulatoire et ont donc plus de liberté à ce niveau.

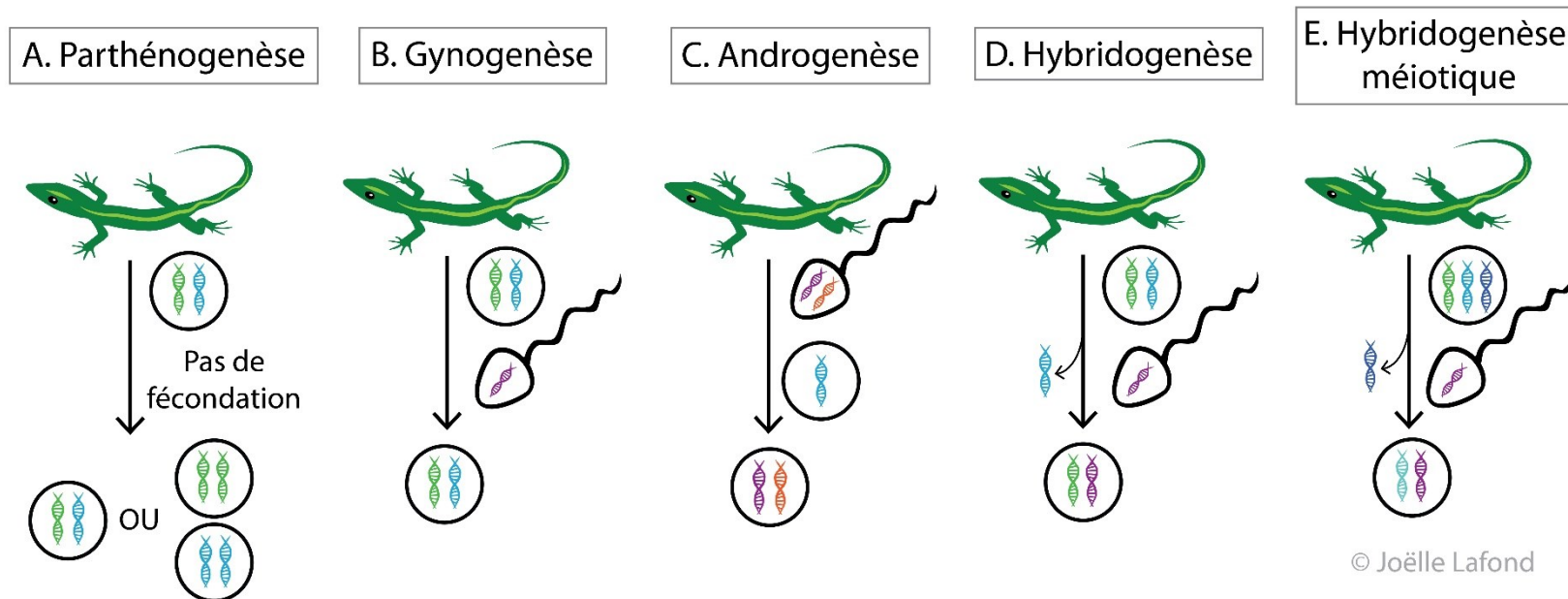


Figure 1.2. Reproductions atypiques chez les vertébrés. En A, la parthénogenèse permet la production de progéniture sans contribution d'un mâle. Les embryons résultants peuvent soit être génétiquement identiques à la mère, soit contenir la moitié de son génome et être alors homozygote à tous les allèles. En B, la gynogenèse permet à des femelles de léguer des gamètes clonaux, mais cette fois-ci, un spermatozoïde doit activer le développement de l'œuf. Son matériel génétique n'est toutefois pas nécessaire au développement de l'embryon et peut être rejeté. En C, l'androgenèse est un phénomène similaire à la gynogenèse, mais dans ce cas, seul le matériel génétique du père sera conservé dans l'embryon. En D, l'hybridogenèse permet de rejeter un haplome précis, donnant un gamète haploïde. La fécondation est alors obligatoire pour former un embryon viable. À noter, l'haplome rejeté est souvent celui de l'espèce qui servira alors de donneur de sperme (dans cet exemple, l'haplome violet (spermatozoïde) et bleu (œuf) proviendraient de la même espèce). Ainsi, l'état hybride peut être rétabli dans l'embryon. Finalement, en E, une déviation de l'hybridogenèse retrouvée chez les triploïdes hybrides leur permet de rejeter l'haplome qui diffère des deux autres dans leurs gamètes (un triploïde AAB rejettera l'haplome B). Par la suite, un déroulement normal de la méiose donnera des œufs haploïdes, qui auront besoin d'être fécondés pour se développer, comme pour une reproduction sexuée typique. Ainsi, dans cet exemple, l'haplome violet (spermatozoïde) et bleu foncé (œuf) proviendraient d'espèces différentes.

Pour commencer, la **parthénogenèse** permet aux organismes de transmettre leur génome à leur progéniture, sans l'aide des mâles, car les femelles produisent des gamètes qui se développeront sans fécondation (Figure 1.2A). On pense ainsi souvent à tort que seuls les hybrides peuvent effectuer ce type de reproduction. En réalité, seuls les hybrides le pratiquent par obligation : certains autres vertébrés le pratiquent comme une voie facultative. Parmi ces hybrides, on retrouve certains organismes des lézards des genres *Cnemidophorus* (Hardy et Cole, 1981; Parker et Selander, 1976; Taylor *et al.*, 2001; Walker *et al.*, 1997), *Lacerta* (Macculloch *et al.*, 1997) ainsi que le serpent triploïde *Indotyphlops braminus* (Booth et Schuett, 2016). Cependant, cette reproduction a été observée chez nombreux organismes non-hybrides, incluant chez certains reptiles tels que le dragon de Komodo (*Varanus komodoensis*) (Watts *et al.*, 2006), le lézard *Leiolepis ngovantrii* (Grismer et Grismer, 2010) et très récemment chez le crocodile Américain (Booth *et al.*, 2023). On la retrouve également chez certains élastomobranches tels que des requins, raies et poissons-scies (Chapman *et al.*, 2007; Fields *et al.*, 2015; Harmon *et al.*, 2016) et même dans certaines espèces d'oiseaux. Parmi ces derniers, on trouve la parthénogenèse chez les dindes, les poulets, les pigeons et les diamants mandarins, bien que cette reproduction y soit rare, généralement provoquée artificiellement par l'homme, et avec un succès faible (Ramachandran et McDaniel, 2018; Schut *et al.*, 2008).

Il convient de noter que la parthénogenèse ne donne pas toujours des individus clonaux. Il est en effet possible de voir des gamètes réduits chez les femelles, qui peuvent fusionner ensemble dans un processus très similaire à l'autofécondation (Engelstädter, 2017). Il faut donc distinguer la parthénogenèse *apomictique*, qui forme des gamètes identiques à la mère, et la parthénogenèse *automictique*, qui mène à la fusion de deux cellules femelles, lors de la méiose, menant à un gamète diploïde, mais non clonal – il ne contiendra en effet qu'une fraction du génome maternelle (Engelstädter, 2017).

Ensuite, on retrouve la **gynogenèse** (Figure 1.2B), un processus relativement proche de la parthénogenèse (le terme anglais *sperm-dependant parthenogenesis* illustre bien ce fait) (Schley *et al.*, 2004). Dans ce processus, on retrouve la formation de gamètes avec une ploïdie identique à celle de la mère. Pour se développer, l'œuf devra rencontrer un spermatozoïde, mais le matériel génétique de ce dernier pourra par la suite être rejeté de l'embryon (Lamatsch et Stöck, 2009). En effet, chez de nombreux vertébrés, les spermatozoïdes donnent des éléments essentiels au démarrage de l'embryogenèse. Le mâle en question peut faire partie d'une espèce apparentée,

puisque les espèces gynogénétiques sont entièrement composées de femelles. Le tout est dû au fait que les gamètes produits par gynogénèse sont généralement clonaux et donc, le sexe de la femelle est lui aussi conservé parmi la progéniture. On peut citer, par exemple, le poisson *Poecilia formosa* comme une espèce pratiquant la gynogénèse (Lamatsch et Stöck, 2009; Turner *et al.*, 1983), ainsi que la grenouille *Hyla chrysoscelis* (Bogart, 2021); on la retrouve également chez une certaine proportion des salamandres femelles du complexe *Ambystoma* (Avisé, 2008; Bogart, 2019; Bogart *et al.*, 2007). **L'androgénèse** (Figure 1.2C), pour sa part, est l'équivalent mâle de la gynogénèse. Dans ce cas particulier, seulement le matériel génétique du père sera conservé dans les embryons, tel que vu chez les poissons *Squalius alburnoides* (Morgado-Santos *et al.*, 2017).

Finalement, il y a **l'hybridogénèse** (Figure 1.2D), un mode de reproduction quelque peu plus complexe. Cette reproduction est caractérisée par le rejet d'un haplome complet (un ensemble de chromosomes) pendant la gamétogenèse, ainsi qu'une fécondation obligatoire où il y aura fusion des deux pronoyaux (Lamatsch et Stöck, 2009). L'haplome rejeté est généralement l'haplome tout nouvellement intégré dans le génome de l'organisme. En effet, chez les hybrides diploïdes (A^1B^1) par exemple, un haplome est conservé (A^1) et, à chaque nouvelle génération, l'état hybride recréé par un accouplement avec un organisme de la même espèce que l'haplome rejeté (B), formant donc un nouvel hybride (A^1B^2). L'haplome nouvellement intégré sera celui rejeté à la génération suivante, et ainsi de suite. Bien qu'elle soit plus fréquente chez les femelles, certains cas chez les mâles ont aussi été observés (Chmielewska *et al.*, 2022). On retrouve cette reproduction chez plusieurs espèces de grenouilles dont *Pelophylax esculentus* (Chmielewska *et al.*, 2018; Graf, 1989), bien qu'elle fut découverte pour la première fois chez les poissons du genre *Poeciliopsis* (Schultz, 1969).

Ce type de reproduction inclut aussi une sous-catégorie, l'hybridogénèse *méiotique* (Figure 1.2E). Chez cette dernière, observée dans des organismes triploïdes, l'haplome rejeté est celui qui est différent des autres dans le génome (par exemple, un hybride triploïde avec des haplomes A^1A^2B perdra son haplome B), comme observé chez le poisson *Squalius alburnoides* (Crespo-López *et al.*, 2006). Il y a donc une rupture dans le génome hybride, puis une réduction parmi le matériel génétique résiduel menant à la production de gamètes haploïdes. Le tout implique que la ploïdie initiale de la mère n'est pas restaurée après la fécondation, ni l'état hybride (Morishima *et al.*, 2008).

Une mention spéciale peut aussi être attribuée à la **kleptogenèse**. Dans ce dernier cas, une femelle a la possibilité de se reproduire avec plusieurs mâles pour ensuite « choisir » quelles parties de leur génome sera alors intégré dans les œufs. Ainsi, les femelles de ces espèces exhibent un comportement de parasitisme, ou vol, envers le matériel génétique des mâles, d'où le terme kleptogenèse (basé sur *kléptō*, du grec ancien « voler » et *génésis*, « création »). La résultante de cette reproduction est variable au niveau de la progéniture, car l'intégration du matériel génétique des mâles dans les œufs est facultative. De même, les gamètes produits par la femelle peuvent voir leur matériel génétique être transmis clonalement, ou une certaine partie peut être remplacé par le matériel génétique d'un mâle. Ainsi, une grande variabilité génétique existe dans la progéniture résultant de cette reproduction (Bogart, 2021; Bogart *et al.*, 2007).

À noter que tout au long de la thèse, il sera souvent question de femelles parasitant les mâles d'autres espèces (par exemple via gynogenèse) pour se reproduire. Dans un optique de simplification et d'homogénéisation, il ne sera pas mention du cas inverse, soit où les mâles parasitent les femelles lors de la reproduction (par exemple via androgenèse). Cependant, il faut noter que les constats effectués seront aussi applicables à ces derniers.

1.2.3 Des partenaires coûteux

Parmi les définitions des reproductions atypiques présentées, plusieurs mentionnent le fait de ne pas avoir besoin de mâles, ou bien d'utiliser des mâles d'espèces différentes pour se reproduire. Il s'agit là d'une caractéristique très importante qui peut prodiguer des gains majeurs à ces organismes.

Premièrement, dans le cas de la parthénogenèse, l'absence du besoin de partenaires peut résulter en une baisse des coûts de la reproduction. En effet, la recherche de partenaires et les démonstrations de valeur adaptative (par exemple via des danses de séduction ou des combats) nécessitent un fort coût énergétique. On peut également ajouter aux inconvénients la transmission de maladies transmises sexuellement, le risque de blessures et d'épuisement, ainsi que le risque de prédation pendant les accouplements (Daly, 1978; Lehtonen *et al.*, 2012).

De même, un gain partagé par toutes les reproductions atypiques se produisant chez des organismes femelles unisexués est une baisse du coût démographique lié à la reproduction. En effet, il existe un coût à la présence des sexes, soit le *double coût de la sexualité* (the *two-fold cost of sex*). Ce principe, relevé pour la première fois par Maynard Smith (Maynard Smith, 1971, 1978),

explique le fait suivant : à l'intérieur d'une population, seules les femelles ont la possibilité de donner une progéniture directement. Ceci rend un sexe limitant pour l'autre, généralement les femelles, car leur investissement est souvent plus élevé (Dimijian, 2005; Gibson *et al.*, 2017; Roze, 2012). En effet, comme les mâles ne peuvent pas produire de descendants seuls, ils sont limités par le nombre de femelles capables de se reproduire, limitant l'expansion de la population (Gibson *et al.*, 2017; Kobayashi et Hasegawa, 2016; Maynard Smith, 1978). Ainsi, dans un cas typique où l'on retrouve mâles et femelles en proportion égale dans une population, seulement 50% produiront des œufs – et l'autre 50% ne servira qu'à la fécondation de ces derniers. À l'inverse, une population ne consistant que de femelles asexuées, se reproduisant donc sans mâle, verra 100% de ses individus donner des œufs. Pour mettre cet exemple en nombre, imaginons deux populations de 2 individus (Figure 1.3): l'une se reproduisant de façon sexuée (Figure 1.3A) et l'autre par parthénogenèse (Figure 1.3B). Si chaque femelle obtient 2 progénitures, dans la population sexuée, il y aura production d'un mâle et d'une femelle, contre 4 femelles dans la population unisexuée. Une autre génération plus tard, si seulement la progéniture se reproduit, on aura alors de nouveau un mâle et une femelle dans la population sexuée, contre 8 femelles dans la population unisexuée! Alors que la population sexuée ne voit pas de croissance démographique, la population asexuée a déjà quadruplé en deux générations.

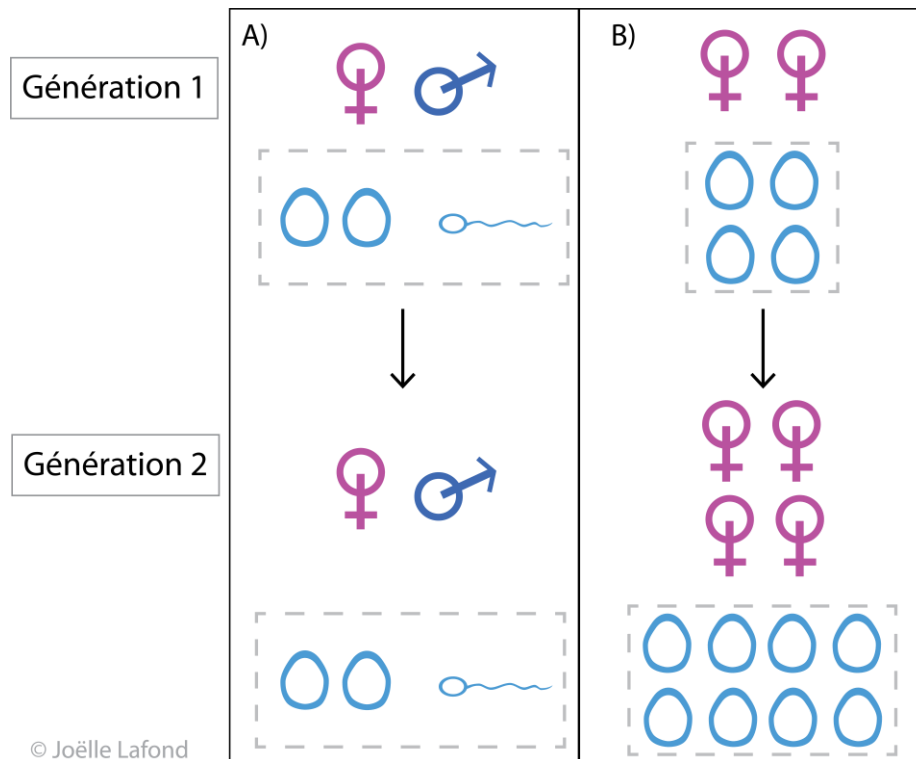


Figure 1.3. Le double coût de la reproduction sexuée. Selon cette théorie, la production de femelles uniquement par les organismes unisexués (B) leur donnerait un avantage démographique sur les organismes sexués (A). Ainsi, pour une population de taille identique ($n=2$), dans le cas hypothétique extrême où une femelle ne peut se reproduire qu'une fois dans sa vie en donnant 2 petits, il n'y aura pas de croissance démographique dans le cas d'une population sexuée (A). Une population unisexuée femelle cependant (B), verra son abondance quadruplée en seulement 2 générations. Les boîtes délimitées par un trait gris représentent la progéniture totale des individus à une génération donnée.

Donc, très rapidement, la croissance des deux types de populations se montrera extrêmement différente, avec un clair avantage pour la population parthénogénétique. Ce type d'avantage peut cependant être diminué en présence d'un ratio mâles:femelles dans une population sexuée favorisant les femelles (Avisé, 2015; Kobayashi et Hasegawa, 2016).

Bien qu'il y ait un avantage démographique et énergétique clair aux reproductions asexuées, l'omniprésence de la reproduction sexuée chez les espèces met en évidence que les coûts de cette dernière ne surpassent pas les gains qu'elle procure. Cependant, l'existence actuelle et la persistance dans le temps des deux stratégies, même en proportions inégales, permet de se prononcer sur le fait que dans certaines conditions précises, chacune peut présenter une stratégie adéquate.

1.3 Sexué ou asexué ?

On est en droit de se demander, avec toutes ces façons de se reproduire, quelles reproductions tombent sous la définition de « reproduction *sexuée* » ou « *asexuée* ». La réponse à cette question peut varier (Hörandl *et al.*, 2020), et n'est pas aussi simple à trouver qu'il ne le paraît. En effet, de nombreux ouvrages utilisent le terme « reproduction asexuée » sans réellement définir ce qu'ils y incluent, et quels sont les critères pour qu'une façon de se reproduire en fasse partie (Lively et Morran, 2014).

Lorsqu'il est question de reproduction asexuée, il y a souvent simplification de la définition : on parle d'absence de partenaire ou de copulation, menant ainsi à des organismes clonaux, ou même d'absence de méiose et de gamètes. La réalité se trouve à être bien plus complexe : il existe en effet plusieurs définitions de l'asexualité, souvent biaisée par le groupe d'étude dont il est question (Engelstädter, 2008). La suite de cette discussion, cependant, se penchera exclusivement chez les animaux, avec une concentration plus particulière sur les vertébrés.

1.3.1 Une absence de copulation

Pour certains donc, la possibilité de se reproduire sans partenaire et copulation est ce qui définit la reproduction asexuée (Gerber et Kokko, 2016). On y considérerait donc, chez les vertébrés, seulement la parthénogenèse comme asexuée. Cependant, cette définition peut être plus difficile à appliquer qu'il ne paraît. En effet, la présence d'un partenaire peut être corrélé avec le succès reproducteur chez de nombreux organismes, au-delà du simple transfert de spermatozoïdes. Par exemple, chez plusieurs vertébrés, l'ovulation chez la femelle est provoquée par des comportements reproducteurs, incluant chez les chats, lapins et mustélinés (Schiml *et al.*, 2000). De même, une corrélation a souvent été établie entre le succès reproducteur et la longueur ou le nombre d'actes de copulation, indépendamment de la quantité de spermatozoïdes transférés (Lanier *et al.*, 1975; Wilson *et al.*, 1965). Le tout serait lié à la production d'hormones corrélées à la fertilité, telles que la progestérone et l'estrogène.

Ainsi, malgré l'absence du besoin de spermatozoïdes, les comportements de copulation peuvent rester essentiels pour permettre à une femelle d'avoir une fertilité compétitive. Le tout a d'ailleurs été observé dans plusieurs taxons parthénogénétiques, malgré les risques et coûts associés (perte de temps et d'énergie, prédation, maladies ou parasites transmis sexuellement)

(Neiman, 2004). Ce comportement de copulation ou pseudo-copulation peut avoir lieu avec des mâles d'espèces proches, ou bien simplement avec d'autres femelles parthénogénétiques, comme chez des lézards du genre *Cnemidophorus* (Crews et Young, 1991; Moore *et al.*, 1985; Paulissen et Walker, 1989). Ainsi, pour que la reproduction ait lieu, la présence d'un ou une partenaire est nécessaire, malgré l'absence de copulation réelle. Selon cette définition plutôt restrictive de la reproduction asexuée, on pourrait donc argumenter que même à l'intérieur des organismes se reproduisant par parthénogenèse, certains ne seraient pas réellement asexués.

1.3.2 Une progéniture clonale

Alternativement, d'autres se penchent plutôt sur la formation de gamètes clonaux (incluant aussi parfois les gamètes semi-clonaux) pour définir les reproductions asexuées (Dukić *et al.*, 2019). Selon cette définition, le descriptif « sexué » se pose non pas sur le comportement de copulation, mais plutôt sur le déroulement de la méiose et la résultante de celle-ci.

Lors du processus de reproduction typique, des événements de recombinaison entre les haplomes homologues permettent un brassage génétique. Puis, suivant deux événements de ségrégation des chromosomes et de division cellulaire, quatre cellules-filles méiotiques seront produites, ayant chacune un contenu génétique réduit. Ainsi, chaque ovule produit par une femelle sera différent dans son contenu génétique. À l'inverse, les reproductions asexuées, selon cette définition, produiront toujours le même type d'ovule dans sa composition génétique. Quel que soit le processus, une femelle aura des gamètes clonaux ou semi-clonaux qui seront identiques (ou partiellement identique) entre eux. La progéniture résultante pourra toutefois être quelque peu génétiquement variable, dans le cas où la reproduction permet une fusion avec un pronoyau mâle (gynogenèse, hybridogenèse).

Cette définition est donc plus permissive quant aux reproductions considérées comme asexuées, avec parmi celles énumérées, seulement l'hybridogenèse méiotique réellement hors du groupe. Cependant, elle rejeterait alors les cas particuliers de parthénogenèse où il y a production de gamètes non clonaux (automixie) puisque cette dernière serait donc plutôt sexuée selon cette même définition (Engelstädter, 2017).

1.3.3 Une absence de mâles

L'absence de mâles ou d'hermaphrodites dans une espèce donnée peut aussi être la clé de l'asexualité (Birky, 2010). Selon cette définition, qui précise identifier la reproduction asexuée obligatoire uniquement, seulement l'unisexualité de l'espèce est indicatrice de reproduction asexuée.

Cette définition inclurait alors les différents types d'hybridogenèse comme reproductions asexuées, malgré une fusion obligatoire des pronoyaux mâle et femelle lors de la reproduction, sur la base que ces reproductions sont vues chez des organismes venant de populations entièrement femelles. De même, l'hybridogenèse méiotique exécute une réduction méiotique, et produit des gamètes haploïdes. Elle est donc plus proche de la reproduction sexuée typique, sur le mécanisme, que les autres reproductions dites asexuées selon cette définition.

Il faut aussi noter qu'à l'inverse de cette définition, une population possédant à la fois des mâles et des femelles peut cacher des organismes se reproduisant avec des gamètes clonaux ou semi-clonaux. En effet, en théorie, toutes les reproductions atypiques discutées dans cette thèse ont la possibilité de donner une progéniture composée de mâles et femelles et donc, d'avoir une population aux sexes mixtes. Premièrement, certains organismes possèdent un déterminisme sexuel lié à l'environnement – la température, par exemple. C'est le cas entre autres des crocodiles (Bull, 1983), chez qui on a récemment découvert un cas de parthénogenèse facultative (Booth *et al.*, 2023) – la progéniture pourra alors être un mixte de mâles et de femelles. Ensuite, bien que ce système n'existe pas dans les vertébrés, l'haplodiploïdie, basée sur la parthénogenèse, permet de produire des organismes haploïdes mâles dans une population contenant à la fois des mâles et des femelles. C'est le cas des hyménoptères, par exemple (Heimpel et de Boer, 2007). Finalement, selon le système de détermination sexuel mis en place par les espèces donatrices de sperme, des organismes effectuant la gynogenèse pourront voir le sexe de la progéniture varier suivant l'incorporation accidentelle de matériel mâle dans ses œufs. Les cas d'hybridogenèse, demandant une fusion obligatoire des pronoyaux, seront aussi affectés.

Ainsi, bien qu'en théorie une population constituée uniquement de femelles est bel et bien indicatrice de reproduction asexuée, cette définition ne permet pas de recenser toutes ces reproductions, seulement celles qui sont les plus évidentes! On pourrait aussi mentionner qu'une population sexuée normale pourrait avoir un ratio mâles/femelles fortement biaisé vers les

femelles, ce qui pourrait mener en erreur l'identification de la reproduction effectuée selon cette définition. Cette dernière ne porte pas non plus de distinction sur le mécanisme à la base de la gamétogenèse pour distinguer et grouper ces reproductions, ce qui en fait une définition plus permissive, mais moins précise que les autres.

1.3.4 Une caryogamie facultative

Finally, une définition à la fois inclusive, mais précise de décrire l'asexualité est de suivre la règle suivante : lorsqu'un gamète peut se développer sans fusion obligatoire de son pronoyau avec celui d'un gamète de type opposé, il y a asexualité (Engelstädter, 2008). Cette définition simple permet d'inclure tous les types de parthénogenèse comme reproductions asexuées, tout en rejetant l'hybridogenèse méiotique du groupe. De même, elle n'exclut pas les reproductions où le parasitisme de mâles est nécessaire pour le développement des embryons, lorsque le matériel génétique de ce dernier n'est pas obligatoirement conservé.

Au final, cette variété de définitions, encore parfois entremêlées aujourd'hui, est le signe d'un domaine en évolution. En effet, plus il y a d'espèces ayant des reproductions atypiques qui sont découvertes et qualifiées, plus l'on en apprend sur les mécanismes de ces gamétogenèses particulières. Il est important en ce sens de mentionner que dans le cadre de cette thèse, la définition de *reproduction asexuée* sera la dernière présentée, soit l'absence de caryogamie obligatoire.

1.4 Et la méiose, dans tout ça ?

Quel est alors le rôle de la méiose dans ces reproductions atypiques? Avant de répondre à cette question, il faut tout premièrement revoir le cycle méiotique. Sans entrer dans trop de détails, la méiose suit les étapes suivantes (Figure 1.4) :

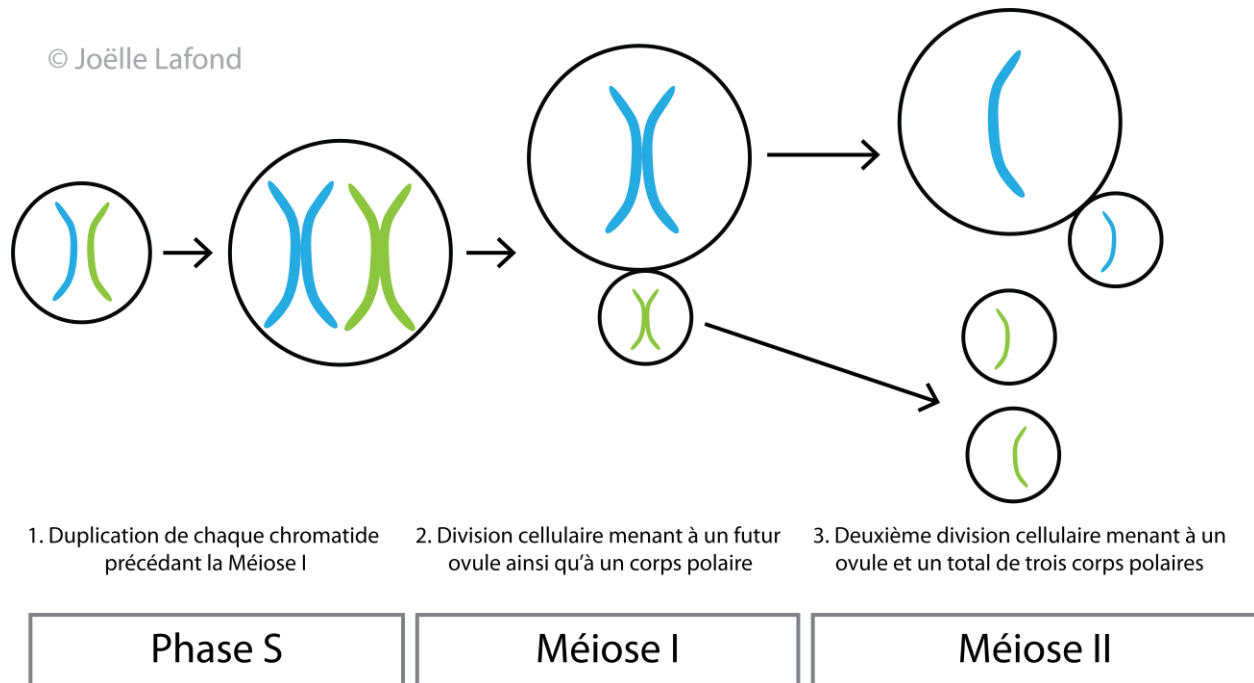


Figure 1.4. Méiose chez un organisme femelle (oogenèse). En résumé, 1) la première étape importante de la méiose est la duplication de chaque chromatide (en bleu et vert selon l'origine parental), puis leur condensation. Par la suite, les chromosomes formés pourront procéder à des échanges alléliques (recombinaisons – non montrés sur la figure). 2) La première division cellulaire aura lieu et donnera un futur ovule ainsi qu'un premier corps polaire. À ce stade, le futur ovule contiendra seulement un chromosome d'origine maternel ou paternel – il y a donc eu réduction de la diversité génétique. Finalement, 3) la seconde division cellulaire aura lieu, et donnera un ovule et un total de trois corps polaires.

- 1) Le tout commence avec une duplication de l'ADN présent dans la cellule, précédant la première prophase (Phase S, puis Méiose I). Les chromosomes homologues (d'origine paternelle et maternelle) sont alors indépendamment dupliqués, puis condensés, chacun formant deux chromatides sœurs, ou 4 chromatides au total. Les chromosomes se lient ensuite et des événements de recombinaison ont lieu entre les copies maternelles et paternelles.
- 2) Il y a alors alignement des chromosomes au centre de la cellule, puis séparation de ces derniers, également, en deux cellules-filles. Dès lors, chaque cellule possède une chromatide et sa copie, originaire soit de la mère, soit du père de l'individu – il y a ainsi réduction de la ploïdie et de la diversité génétique dès cette étape. Chez la femelle, seulement une de ces

cellules-filles se développera en ovule et grandira en taille. La seconde deviendra un corps polaire, cellule de petite taille amenée à se dégrader à la fin du cycle.

- 3) Il y a ainsi, à ce moment, deux cellules : le futur ovule et le premier corps polaire. Après un nouveau cycle de division, il en résultera un ovule possédant une seule des deux chromatides – et donc une réduction génétique importante par rapport à la cellule-mère originale –, ainsi qu'un nouveau corps polaire issu de cette division. Le premier corps polaire émis à l'étape précédente pourra potentiellement, selon les espèces, produire deux corps polaires résultants de la division de ce dernier. Dans tous les cas, ces corps polaires seront dégradés, et l'ovule sera prêt pour la suite des événements. À noter que chez les mâles, en débutant avec un spermatocyte primaire, la résultante est plutôt 4 spermatozoïdes, comme chez ces derniers, la gamétogenèse ne produit pas de cellules-filles de taille différente et donc, pas de corps polaires.

1.4.1 Les reproductions atypiques, sans méiose ?

Peut-on donc dire que les reproductions asexuées sont exemptes de méiose? Non, chez les vertébrés, ces reproductions n'évitent pas le processus méiotique. La méiose reste à la base de la production des gamètes, qui ne peuvent être produits sans méiose. De même, en opposition à l'oogenèse, une mitose, dans une situation équivalente, produirait à partir d'une cellule-mère 2 cellules-filles, qui elles-mêmes pourraient mener le tout à 4 cellules-filles après un cycle de division supplémentaire. La résultante serait donc 4 cellules-filles identiques. Inversement, la méiose produira après deux cycles de division un seul ovule, ainsi que 3 corps polaires. Donc non, une mitose ne peut remplacer la méiose dans la production de gamètes chez les vertébrés. Cette dernière est donc présente dans toutes les reproductions gamétiques, qu'elles soient sexuées ou asexuées.

Il existe toutefois une raison bien simple à cette croyance : chez les plantes, une forme particulière d'apomixie (parthénogenèse) repose bel et bien sur un processus entièrement mitotique (Hojsgaard et Hörandl, 2019). Ce même terme est parfois utilisé aussi chez les animaux, mais pour décrire un processus différent, différence liée à la formation respective des ovules entre ces deux groupes (Van Dijk, 2009). Ainsi, l'apomixie telle que retrouvée chez les plantes est absente chez les animaux, tout comme une reproduction gamétique sans méiose (Asker et Jerling, 2017).

1.4.2 Une gamétogenèse modifiée

Il existe cependant des façons de modifier le résultant de la méiose. En effet, parmi les reproductions atypiques discutées plus haut, on remarque deux modifications majeures principales quant à la formation de gamètes : 1) la possibilité de léguer des gamètes clonaux (ou semi-clonaux), et 2) celle de rejeter certains haplomes lors de la gamétogenèse.

Pour le premier, soit la production de gamètes clonaux, il existe de nombreuses façons d'y arriver. Premièrement, il est possible de doubler l'ADN une fois de plus dans les cellules sexuelles. Ce mécanisme, *l'endoréplication préméiotique*, permet tel son nom l'indique une réplication supplémentaire de l'ADN avant d'entrer réellement dans le cycle méiotique et donc, sans division cellulaire (Dedukh *et al.*, 2021). Le tout amène donc à un total de 8 chromatides par chromosome! Cette duplication de l'ADN permettra de procéder à la méiose en distribuant uniquement des copies aux corps polaires – le contenu génétique de l'ovule sera donc identique à celui de la mère. Deuxièmement, il est aussi possible d'avoir une fusion (ou réabsorption) d'un globule polaire par le futur ovule – le tout pouvant permettre de restaurer une partie du contenu génétique (Chourrout, 1982; Schmerler et Wessel, 2011). Cependant, bien que cette façon puisse restaurer la ploïdie, elle ne résulte pas toujours en la clonalité de l'ovule. Pour ce faire, il faudra absorber une cellule-fille du premier corps polaire produit, spécifiquement, et non pas réabsorber le second corps polaire produit par l'ovule. Dans ce second cas, il y aura possibilité de former un ovule diploïde – mais il ne sera pas clonal. Il s'agit là des deux façons les plus fréquentes d'obtenir ces gamètes sans réduction de la ploïdie; cependant, la fusion d'ovules matures aurait aussi été observée (Wang *et al.*, 2016). Les deux premiers processus ont eux-mêmes été documentés dans plusieurs cas de parthénogenèse et gynogenèse (Dedukh *et al.*, 2022).

En plus d'obtenir des gamètes clonaux, il est possible pour certaines de ces reproductions de rejeter un haplome entier du génome parental, avant de poursuivre avec la gamétogenèse. C'est le cas des différents types d'hybridogenèse. Toutefois, peu d'information est disponible concernant ce mécanisme intrigant, et comment l'haplome à rejeter est « marqué », bien que le processus ait évolué à de multiples reprises (Lavanchy et Schwander, 2019). Il a cependant été observé, chez les poissons du genre *Poeciliopsis*, que l'haplome en question était rejeté tôt lors du cycle méiotique (Cimino, 1972a, b; Moore, 1984; Schultz, 1969).

1.5 L'hybridation chez les vertébrés

Après avoir énuméré toutes les façons connues de former des gamètes, une autre discussion essentielle demeure. Chez qui retrouvons-nous ces reproductions alternatives? Chez les vertébrés, la majorité des espèces concernées par ces reproductions sont des hybrides, bien que certaines exceptions demeurent, telles que mentionnées dans la section couvrant ces reproductions.

1.5.1 Hybridation et reproductions atypiques

L'apparition de reproductions atypiques chez les organismes hybrides demeure un mystère. Pour commencer, ce n'est pas tous les hybrides qui y arriveront; plusieurs seront soit non viables ou infertiles. Il a été argumenté que, pour que ces hybrides puissent exhiber ces reproductions, il fallait qu'il y ait une distance phylogénétique « balancée » entre les espèces parentales – qu'ils soient ni trop près, ni trop éloignés phylogénétiquement (Kearney *et al.*, 2009; Moritz *et al.*, 1989). En effet, deux organismes trop proches verraient, chez leur hybride, une méiose qui fonctionnerait plutôt normalement; mais la présence de chromosomes divergents pourrait mener à des gamètes non viables. À l'inverse, l'hybride de deux espèces trop éloignées serait soit impossible à produire, soit non viable ou avec une valeur adaptative trop réduite pour tenter de se reproduire. Entre les deux cependant, il y aurait possibilité d'obtenir des hybrides à la fois viables et fertiles – par des voies alternatives à la reproduction sexuée typique (Freitas *et al.*, 2019). La façon dont ces reproductions « surgissent » chez ces hybrides, cependant, reste un mystère; mais le tout implique que ces processus sont latents chez les espèces et peuvent être réactivés dans certaines conditions très spécifiques.

Il est important de mentionner que l'apparition de reproductions atypiques peut être limitée dans certains groupes, notamment concernant la parthénogenèse. En effet, un critère important au développement embryonnaire chez plusieurs groupes de vertébrés est celui de la fécondation de l'œuf. Ainsi, chez plusieurs organismes, les œufs se doivent d'être activés par un contact avec un spermatozoïde, ce dernier pouvant aussi parfois fournir des centrioles et d'autres facteurs paternels à l'embryon pour son bon développement. La présence abondante d'unisexués demandant la fécondation par des mâles d'espèces proches illustre d'ailleurs bien ce besoin (Engelstädter, 2008). Ensuite, l'apparition d'un embryon clonal est théoriquement impossible chez les mammifères. L'hypothèse derrière ceci est basée sur la contrainte des empreintes parentales, des marques épigénétiques qui perdurent jusqu'à la formation de l'embryon. Ces empreintes sont apposées différemment selon qu'il s'agisse de gamètes mâles ou femelles, de sorte qu'à ce qu'un haplome

sur deux soit silencé au niveau d'un gène en particulier (Barlow et Bartolomei, 2014). Obtenir alors un embryon ne contenant que du matériel génétique femelle seulement mènerait à l'inhibition totale des allèles concernés, et donc à un embryon non viable (Engelstädter, 2008).

Il est possible d'imaginer que chez les hybrides, ce genre de reproduction permet de contourner les problèmes reliés à la présence d'haplomes d'origines différentes dans les cellules germinales. En effet, l'impact d'un génome hétéroclite sur les organismes peut être grand, surtout lorsque les espèces parentales sont phylogénétiquement relativement éloignées. Il arrive d'ailleurs fréquemment que ces haplomes se comportent de façon distincte dans le génome de l'organisme hybride. Dans le cas de triploïdes hybrides, on voit parfois même l'inhibition de l'expression de l'haplome en sous-nombre (p. ex. l'haplome B d'un organisme AAB), tel que chez *Squalius alburnoides* (Pala *et al.*, 2008). Les mécanismes de reproduction abordés dans les sections précédentes sont donc ici un avantage évolutif essentiel à ces organismes, car ils présentent la possibilité de procéder à la gamétogenèse en évitant les processus de recombinaisons entre des haplomes qui, dans ce cas, ne permettraient pas une ségrégation fonctionnelle des différents chromosomes. De même, il existe plusieurs cas où la production d'un hybride amène un gain (vigueur hybride) où l'hybride possède une meilleure valeur adaptative concernant un trait quelconque que les deux espèces parentales. C'est le cas par exemple chez le maïs (*Zea mays*), où le tout est fortement étudié (Xiao *et al.*, 2021). Ainsi, une reproduction clonale permettra de conserver cet atout.

1.5.2 Les hybrides asexués, des culs-de-sac évolutifs?

Les hybrides asexués ont longtemps été considérés comme des aberrations dans le monde des organismes vertébrés, considérés comme des culs-de-sac évolutifs (Castagnone-Sereno et Danchin, 2014; Janko *et al.*, 2023; Tripp, 2016). Observées uniquement chez quelques rares espèces, et naturellement absentes chez les mammifères, ces reproductions étaient souvent considérées comme inefficaces, conduisant à la formation de gamètes dégradés ou, au mieux, à une faible abondance et qualité de la progéniture (Avisé, 2015). Toutefois, face à la liste non exhaustive des contraintes de la reproduction sexuée explicitée plus haut, il est clair que des alternatives au niveau reproductif peuvent se trouver à être plus avantageuses lorsque les bonnes conditions sont réunies.

Plus précisément, à plus long terme, on s'attendait à ce que les complexes soient des « culs-de-sac évolutifs » dû à l'absence 1) de recombinaison, menant à l'accumulation de mutations néfastes (cliquet de Müller), et 2) de la production de nouveaux traits par la combinaison d'allèles variée (Maynard Smith, 1978). Cette absence de diversité théorique menait à l'idée que ces organismes devraient succomber plus rapidement aux pressions de sélection, tels que le parasitisme, les maladies et la prédation, dû à une homogénéité de la population et à un potentiel adaptatif négligeable (Lively, 2010). Cependant, la persistance dans le temps de plusieurs espèces asexuées (Bi et Bogart, 2010) a remis en cause cette idée (Neiman *et al.*, 2009).

1.6 Comprendre le typique par l'atypique

Pourquoi s'intéresser à la reproduction chez ces organismes étranges? Il existe plusieurs raisons de le faire.

Pour commencer, les hybrides possédant ces reproductions sont capables de les exploiter dès l'hybridation originale, soit dès la F1. Ainsi, le résultat de la copulation entre deux espèces différentes donnera un hybride pouvant se reproduire dès lors par gynogenèse, par exemple. Il n'y a donc pas de période tampon où l'hybride doit s'adapter; sur l'espace d'une génération, le fonctionnement essentiel de la gamétogenèse s'en trouve modifié. Il n'y a, de fait, pas non plus de sélection sur ce trait. Cela suppose donc que les processus mentionnés plus haut concernant les modifications liées à la méiose, permettant de léguer des ovules clonaux (ou semi-clonaux) ainsi que de rejeter certaines parties précises du génome lors de la gamétogenèse, sont déjà présents dans les espèces parentales – mais qu'ils ne sont pas actifs. Ainsi, le premier intérêt d'étudier ces espèces atypiques est de comprendre comment ces mécanismes procèdent, avec pour but à long terme de comprendre pourquoi ils sont à l'inverse inactifs chez les espèces sexuées.

Ensuite, il existe chez certains complexes d'hybrides de nombreux biotypes; il s'agit bien souvent de différents niveaux de ploïdies ou parfois de composition génétique différente, avec des triploïdes AAB ou ABB, par exemple. Toutefois, un autre grand intérêt dans ce cadre est la présence de plusieurs voies gamétogénétiques dans des biotypes (différents groupes au sein d'une même espèce) de composition génétique similaire, tels des hybrides diploïdes et triploïdes d'un même complexe. Ce genre de cas permet de comparer, en limitant la diversité génétique, les avenants et aboutissants de ces différentes reproductions.

Finalement, avec la présence de plusieurs reproductions atypiques, ploïdies et compositions génomiques, il est possible d'étudier comment ces derniers peuvent influencer les organismes. Un exemple illustrant ce fait est l'étude de la persistance de populations clonales à long terme, qui peut nous renseigner sur plusieurs phénomènes tels que la plasticité phénotypique (Leung et al., 2016; Leung et al., 2018) en limitant les biais.

La recherche dans ces organismes atypiques permet ainsi quelque chose de magnifique : soit d'aider à comprendre le typique en étudiant l'atypique.

1.7 Modèle biologique

Les projets réunis sous cette thèse ont ainsi pour objectif global d'apporter une meilleure description de ces reproductions atypiques, plus précisément concernant leur diversité, leurs origines ainsi que leurs impacts sur les organismes. En ce sens, un complexe de vertébrés possédant plusieurs ploïdies, compositions génomiques et reproductions atypiques a été choisi comme sujet d'étude.

En effet, le complexe d'hybrides sujet de cette thèse est celui de *Chrosomus eos-neogaeus*, autrefois connu sous le nom de *Phoxinus eos-neogaeus* (Dawley et al., 1987). Ce complexe regroupe des poissons nord-américains de la famille des cyprinidés, incluant les deux espèces parentales *C. eos* (méné ventre rouge du nord) et *C. neogaeus* (méné ventre citron), ainsi que leurs hybrides (Figure 1.5). Ce système commence par un accouplement entre un mâle *C. eos* et une femelle *C. neogaeus*, ce qui entraîne la formation d'hybrides diploïdes *C. eos-neogaeus* (Dawley et al., 1987; Goddard et Dawley, 1990; Goddard et al., 1998). Ces hybrides unisexués (femelles seulement) peuvent se reproduire par gynogenèse, impliquant la contribution d'un mâle sans nécessairement intégrer son matériel génétique. Cependant, ces embryons résultent de façon étonnamment fréquente en triploïdes, par caryogamie accidentelle des pronoyaux mâle et femelle, phénomène appelé *fuite paternelle* (Goddard et Dawley, 1990). Bien que le biotype comprenne des femelles en abondance, il existe également un certain pourcentage de mâles (Dawley et al., 1987). Les femelles triploïdes n'ont pas la capacité de se reproduire par gynogenèse (Goddard et al., 1998). La reproduction de ces dernière était donc incertaine avant le début de cette thèse. Cependant, un faible nombre de femelles étudiées avait montré la production des gamètes haploïdes, contenant uniquement un haplome *C. eos*, par hybridogenèse méiotique. Ainsi, de vrais

clones triploïdes ne sont pas présents dans la nature (Angers et Schlosser, 2007; Binet et Angers, 2005; Goddard et Schultz, 1993). La progéniture de ces femelles est intéressante, car elle nécessite une fécondation par des mâles *C. eos*, ce qui permet de produire des individus diploïdes avec un génome entièrement composé de *C. eos*. Cependant, ils portent toujours les mitochondries de *C. neogaeus* en raison de leur origine maternelle hybride (Binet et Angers, 2005; Goddard *et al.*, 1998). On les appelle *cybrides* en raison de leur hybridité cytoplasmique.

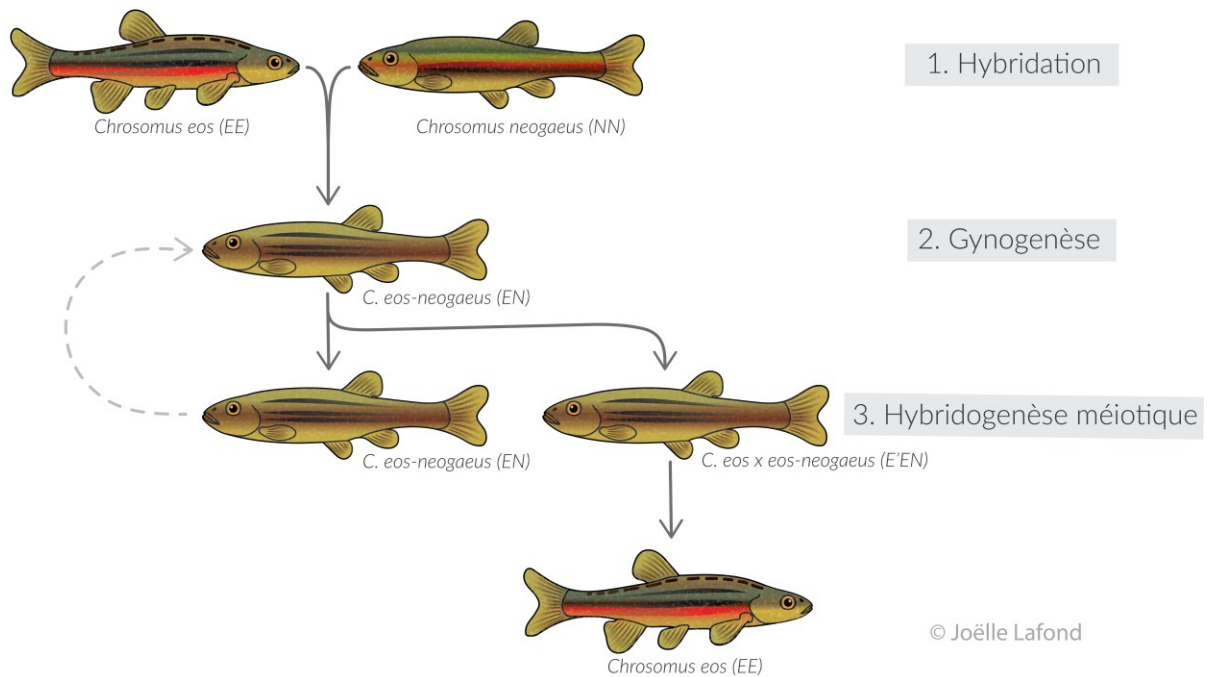


Figure 1.5. Complexe *Chrosomus eos-neogaeus* tel que connu au début de cette thèse. 1) Ces hybrides sont ainsi le résultat d'un mâle *C. eos* (EE) et d'une femelle *C. neogaeus* (NN). 2) Les diploïdes (EN) produits par ce croisement sont capables de gynogenèse, et donc de produire des œufs clonaux. Ces derniers sont parfois accidentellement fécondés, menant à des organismes triploïdes (E'EN, où E' est le nouvel haplome). 3) Chez ces derniers, l'hybridogenèse méiotique avait été recensée, menant à la production d'œufs haploïdes *C. eos*.

Ce complexe possède donc nombreuses reproductions atypiques et présente plusieurs biotypes hybrides et polyploïdes, constituant donc un modèle d'étude exemplaire pour mieux caractériser ces reproductions alternatives. De même, il s'agit d'un complexe possédant une distribution géographique extrêmement large, comme ce poisson est retrouvé communément un peu partout au sud du Canada et aux États-Unis. Tel que discuté en amont, ces organismes peuvent

avoir des effets démographiques importants sur les autres espèces, en parasitant les mâles d'espèces proches pour se reproduire (entre autres), ainsi les recherches de cette thèse pourront avoir des retombées importantes au niveau des efforts de conservation et de l'encadrement de l'utilisation d'appâts vivants pour la pêche, pour nommer quelques exemples.

1.8 Objectifs, hypothèses et structure de la thèse

Les sections précédentes ont ainsi mis l'accent sur l'importance de la reproduction comme moteur à l'évolution et à la persistance des espèces. Cependant, la reproduction gamétique sexuée est coûteuse, surtout lorsque le besoin des mâles est présent et encore davantage lorsque les mâles en question doivent provenir de la même espèce, ce qui amène un fort coût démographique. Tel que mentionné en amont, il y a aussi de nombreux coûts liés à la recherche de partenaire et à l'accouplement, au niveau énergétique et transmission de maladies, par exemple. Face à ces coûts, il est donc facile de voir en quoi les reproductions atypiques asexuées peuvent être efficaces énergétiquement et démographiquement, mais ces dernières sont, de façon surprenante, retrouvées chez les vertébrés presque exclusivement chez les hybrides. Cette grande variation de voies reproductrices découvertes, ainsi que les coûts et conséquences les accompagnant, montre la reproduction comme un trait relativement variable, même chez les vertébrés, ce qui peut être déroutant considérant son rôle central à la persistance des espèces et à leur évolution.

Ainsi, l'objectif général de cette thèse est d'explorer les mécanismes, origines et implications de ces reproductions chez les vertébrés via l'observation du modèle fourni par le complexe *Chrosomus eos-neogaeus*. En prenant connaissance de ces informations, il sera alors possible de mieux comprendre la flexibilité entourant la gamétogenèse chez les vertébrés, ainsi que les impacts de ces changements sur les organismes eux-mêmes et ceux qui les entourent. Plus précisément, ce projet de recherche cherche à mieux comprendre la diversité reproductive surprenante pouvant figurer parmi ces organismes, l'origine d'une telle diversité ainsi que l'impact que ces reproductions peuvent avoir sur les organismes en question. Ces 3 sous-objectifs distincts, posés sous forme de question ci-dessous, correspondent chacun à un chapitre de recherche différent (Ch. 2 à 5) :

1) *Quel est le succès reproducteur des triploïdes *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*?*

Afin d'avoir une vision plus globale de ce complexe, le premier volet a pour objectif de caractériser le succès reproducteur des triploïdes. En effet, avant le début de ce chapitre, ces hybrides étaient connus pour effectuer l'hybridogénèse méiotique, menant à la production de cybrides, des individus *C. eos* possédant une mitochondrie d'origine *C. neogaeus*. Cependant, l'abondance de ces derniers dans certains lacs est faible, voire nulle, même lorsque les triploïdes affluent dans ces mêmes environnements (Angers *et al.*, 2018; Angers et Schlosser, 2007).

L'hypothèse mise d'avant suggère ainsi soit un mauvais succès reproducteur, soit une pièce manquante dans la compréhension de ce système. Le tout est appuyé par le fait que les organismes triploïdes, dû à leur nombre impair d'haplomes, sont souvent victime d'une mauvaise ségrégation des chromosomes lors de la méiose et donc, produisent fréquemment des gamètes non viables (Vrijenhoek, 1994; Vrijenhoek, 2006).

Dans le cadre de ce chapitre, un élément essentiel pour les chapitres suivants a été décrit. En effet, les résultats de ce chapitre ont montré contre toute attente un type d'hybride triploïde se reproduisant de façon asexuée, de façon semblable aux gynogènes. Cette reproduction sera expliquée plus en détails dans le Chapitre 2, mais connaître son existence est essentiel à la compréhension des objectifs suivants.

2) *Quelle est l'origine de la dichotomie reproductive des triploïdes ?*

Les résultats du premier chapitre de recherche montrent donc que les triploïdes de ce complexe ne possèdent pas une, mais deux reproductions atypiques possibles. Ces nouvelles connaissances ont ainsi mené à ce second volet de recherche, dont l'objectif est de trouver l'origine d'une telle disparité.

L'hypothèse poursuivie est que cette dichotomie reproductive naît de l'origine maternelle d'une femelle triploïde : il s'agirait alors d'un cas d'effets maternels. La raison pour laquelle cette hypothèse est mise d'avant est que, tel que proposé dans le premier chapitre de recherche, les femelles triploïdes peuvent avoir deux types de mères : diploïde ou triploïde. Ces différences d'origine semblent donc un candidat susceptible d'apporter la différence de voies reproductives dont il est question.

3) *Comment les voies reproductives affectent-elles les organismes?*

La présence de ces deux voies reproductives chez les triploïdes représente une situation parfaite en ce qui concerne l'analyse des effets du développement des gonades sur la morphologie globale des organismes. En effet, ce complexe présente à la fois des organismes aux reproductions asexuées (diploïdes et triploïdes) et sexuées (triploïdes et espèces parentales – *C. eos* dans ce cas). De même, ces organismes sont génétiquement homogènes au niveau populationnel (mais les femelles diffèrent entre elles par un haplome) et affichent une sélection sexuelle similaire. Finalement, chez les triploïdes, aucune sélection n'a pu agir à long terme pour influencer le développement de certains traits en réponse à la façon de se reproduire puisque ces reproductions sont séquentielles dans le cycle reproducteur de ce complexe et ne persiste pas plus d'une génération.

L'hypothèse suivant ce projet est donc que la production de gonades de type sexué ou asexué influencera le développement global (somatique) des organismes. Ainsi, on s'attend à voir une ressemblance entre les organismes partageant des voies reproductrices ayant les mêmes aboutissants (gamètes clonales/semi-clonales ou réduites/recombinées), et ce, malgré une certaine différence génétique (entre les diploïdes/triploïdes et triploïdes/*C. eos*).

Chapitre II

2. Voies oogéniques inattendues chez le poisson triploïde *Chrosomus eos-neogaeus*

Unexpected Oogenic Pathways for the Triploid Fish *Chrosomus eos-neogaeus*

Joëlle Lafond¹, Philippe Hénault¹, Christelle Leung¹ et Bernard Angers¹

¹ Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal, Montréal, Québec H3C 3J7
Canada.

Statut

Publié dans *Journal of Heredity*, 2019, Volume 110, Issue 3

DOI : <https://doi.org/10.1093/jhered/esy072>

Format modifié pour les besoins de la présente thèse

Contributions

Les idées à la base de cet article ont été conçues par JL, CL et BA. L'échantillonnage a été effectué par tous les auteurs. Le travail de laboratoire a été effectué par JL et PH. L'article ci-présent a été écrit par JL et BA, et révisé par PH et CL.

2.1 Abstract

Triploid vertebrates from unisexual complexes often perpetuate themselves asexually. In the fish *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*, triploids are continuously produced by diploid hybrids. However, they are not expected to perpetuate since *C. eos* are their only known progeny. This study aims to investigate the oogenesis of these triploid hybrids through experimental crosses. A total of 337 larvae from 12 female triploids and 3 2n/3n mosaics fertilized with *C. eos* sperm were genetically characterized. The detection of *C. eos* as progeny of triploid hybrids confirmed the occurrence of a pathway similar to meiotic hybridogenesis but only for half of the triploids. The presence of tetraploid offspring for all these females revealed the formation of unreduced triploid eggs as a probable failure of meiotic hybridogenesis. The remaining female triploids and all mosaics produced diploid and triploid hybrids. Triploids excluded the haplome from paternal leakage and produced eggs with the diploid hybrid genome through an ameiotic hybridogenesis. Both types of hybridogenesis occurred in a mutually exclusive manner. This leads us to consider 2 hypothetical scenarios: First, any female triploids can perform either type of hybridogenesis, allowing the long-term persistence of triploid hybrids by a fraction of the population. Alternatively, ameiotic hybridogenesis occurs in triploids of the first generation (from diploid mothers), while meiotic hybridogenesis occurs in triploids of the second generation (from triploid mothers); triploid hybrids then are not perpetuating lineages. The population dynamics of the *C. eos-neogaeus* complex appears a step more complicated than previously expected.

Key words: experimental crosses, hybridogenesis, gynogenesis, oogenesis, polyploidy, unisexual organism

2.2 Introduction

Polyploidy is a condition in which a nucleus contains more than two complete sets of chromosomes (Madlung, 2013). It can apply to either one cell or one entire organism, or represent only a proportion of one individual in mosaicism (Bogart *et al.*, 2007; Goddard *et al.*, 1998). Polyploidy is common in plants (Adams et Wendel, 2005), but remains unusual in animals (but see Mable, 2004). While most organisms have even ploidy levels, some species may display an uneven ploidy, being triploids in most of these cases.

In organisms reproducing sexually, triploids are generally sterile due to the uneven segregation of chromosomes during meiosis (Kobayashi *et al.*, 2008; Stöck *et al.*, 2002). The aneuploid gametes that would result from this meiosis would then be unable to create viable progeny (but see Stöck *et al.*, 2002) and, as a consequence, perpetuating lineages of triploid organisms are extremely unusual. However, triploids still occur in unisexual forms of fishes (Comai, 2005), amphibians (Bi *et al.*, 2008), and reptiles (Booth et Schuett, 2016; Macculloch *et al.*, 1997; Taylor *et al.*, 2001; Walker *et al.*, 1997). Usually, these organisms are issued from hybridization between sexual species, are almost all females, and reproduce without sex (Stöck *et al.*, 2002). The contribution of males, generally from a related species, could therefore be completely null (parthenogenesis), only trigger eggs development (gynogenesis), or be asexually replaced at each generation (hybridogenesis). These 3 reproduction modes are nowadays well known and are often represented by several species in each case.

For instance, parthenogenesis is observed in triploid hybrids of the genera *Cnemidophorus* (Hardy et Cole, 1981; Parker et Selander, 1976; Taylor *et al.*, 2001; Walker *et al.*, 1997) and *Lacerta* (Macculloch *et al.*, 1997). These females are able to produce unreduced eggs and reproduce clonally without the intervention of males. A similar process has also been observed in the triploid snake *Indotyphlops braminus* (Booth et Schuett, 2016). However, parthenogenesis is uncommon in vertebrates.

Alternatively, triploid clones of the fish *Poecilia formosa* from the field reproduce gynogenetically (Lamatsch et Stöck, 2009; Turner *et al.*, 1983). The all-female species produces unreduced triploid hybrid eggs. While they need sperm from males of a related species to trigger the egg's development (Lamatsch et Stöck, 2009), the genetic material of the spermatozoid does not contribute to offspring genotype.

Another mode of reproduction found in triploid organisms is hybridogenesis. This includes different types of gametogenesis, but all are characterized by an initial expulsion of one haplome. The persistence – or not – of the triploid lineage depends on the expelled haplome. In the triploid loaches *Misgurnus anguillicaudatus*, only the diploid hybrid genome is passed intact through generations (Oshima *et al.*, 2005). The remaining fraction of the genome is discarded and replaced every generation when the eggs are fertilized by spermatozooids, leading to the persistence of triploids. In the cyprinid fish *Squalius alburnoides*, triploid hybrids discard the uneven set of chromosomes (the heterogametic genome) leading to meiotic hybridogenesis. Meiosis can thereafter occur on the even set of chromosomes (the remaining homogametic genome) and results in haploid gametes (Morishima *et al.*, 2008). In such a case, there is no persistence of the triploid lineage.

The hybrid fish *Chrosomus eos-neogaeus* (formerly *Phoxinus eos-neogaeus*) is the most widely distributed unisexual vertebrate, being commonly found in the northern United States and in southern Canada. It finds its origins in the hybridization between male *Chrosomus eos* and female *Chrosomus neogaeus*, both diploid and sexual species (Figure 2.1).

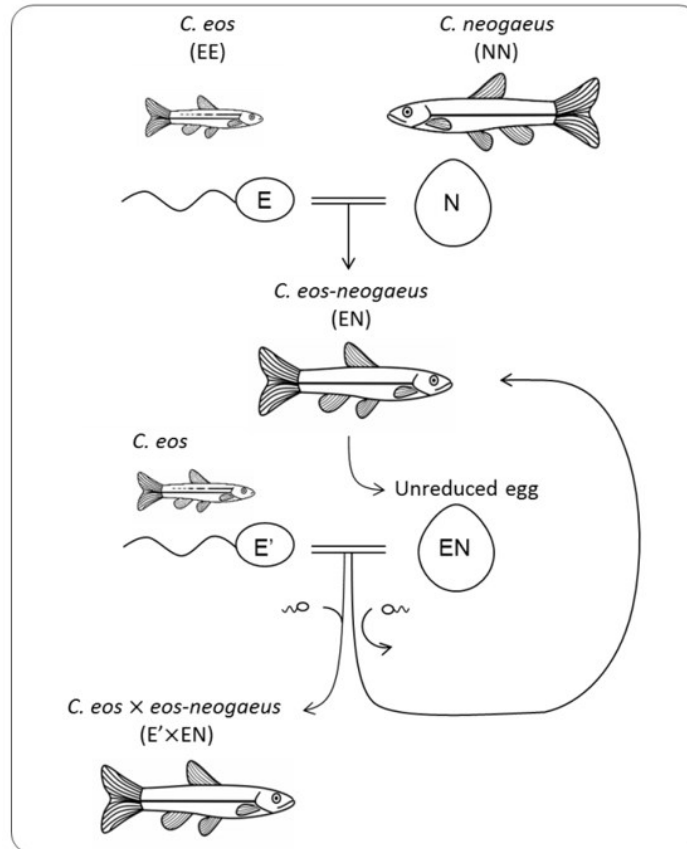


Figure 2.1. Formation of triploid hybrids in the *Chrosomus eos-neogaeus* complex. Diploid hybrids *C. eos-neogaeus* result from hybridization between a male *C. eos* and a female *C. neogaeus*. This hybrid reproduces asexually by gynogenesis. However, the formation of triploid hybrids following paternal leakage is expected to occur at a high rate. E refers to the *C. eos* haplome in the hybrid, N to the *C. neogaeus* haplome in the hybrid, and E' to a *C. eos* from paternal leakage.

The reproductive cycle of this hybrid fish complex was described as simple (Figure 2.1). It is mainly composed of diploid hybrid lineages perpetuating clonally by gynogenesis (Dawley *et al.*, 1987; Goddard et Dawley, 1990; Goddard *et al.*, 1998). However, gynogens can produce an unusually high proportion of triploid individuals by paternal leakage, that is, when the genome of the sperm is incorporated in the diploid egg. Goddard *et al.* (1998) performed analysis of progeny using tissue grafts and revealed the absence of gynogenesis in triploid hybrids. Analyses with highly variable molecular markers performed on hundreds of individuals from natural populations also failed to detect genetically identical triploids, confirming the absence of clonal reproduction in triploid *C. eos x eos-neogaeus* (Angers et Schlosser, 2007; Binet et Angers, 2005; Vergilino *et al.*, 2016).

So far, *C. eos* cybrids are the only known progeny of triploid hybrids. They result from haploid *C. eos* eggs produced by meiotic hybridogenesis and fertilized by *C. eos* males (Lamatsch et Stöck, 2009; Mee et Taylor, 2012). These *C. eos* cybrids are easily distinguishable since they maternally inherit their mitochondria from *C. neogaeus* (Binet et Angers, 2005; Goddard *et al.*, 1998). Triploid hybrid genotypes are therefore not expected to persist since meiotic hybridogenesis is the only mode of reproduction inferred from these individuals.

Interestingly, in spite of a high proportion of triploid hybrids in all sites where hybrids were detected (Angers et Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016), *C. eos* cybrids resulting from meiotic hybridogenesis were detected only in a few natural populations (Angers *et al.*, 2018; Angers et Schlosser, 2007). This suggests a very low fitness of triploid individuals (Leung et Angers, 2018) or a missing piece in this puzzle. Since oogenesis has never been genetically assessed in experimental crosses, this paper aims at documenting the oogenic pathways in triploid *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*.

2.3 Material and methods

2.3.1 Experimental crosses

Male *C. eos* and female hybrids were captured using minnow traps in Desjardins Lake, located in the southern part of Quebec, Canada (45°54'58"N, 74°04'23"W), on June 6 and 7, 2018. All hybrids of this lake belong to the same lineage (Vergilino *et al.*, 2016). We externally identified individuals as *C. eos* or hybrids according to New (1962). Male *C. eos* were discriminated from females according to their thick pectoral fins. Diploid and triploid hybrids could not be visually discriminated and were *a posteriori* identified using genetic markers.

Experimental crosses were performed in the field between male *C. eos* and female hybrids according to (Mee *et al.*, 2013), except that each male was used to fertilize 2 females (Table SII.I et SII.II). A piece of caudal fin of about 3–5 mm from each parent was collected and preserved in ethanol for genetic analyses. Approximately 100 eggs per female were collected. Fertilized eggs of each cross were placed in Falcon™ 15 mL Conical Centrifuge Tubes filled with natural water from the lake and then kept at approximately 18 °C for transfer to the fish rearing facility of the *Université de Montréal* (less than 4 h postfertilization). Eggs were then placed in vertical tumbler

incubators at 20 °C, each cross isolated in a different incubator. The light intensity of the facility was regulated as to follow the same cycle as natural light.

Larvae hatched 5–6 days post-fertilization. To assess the success of each experimental cross, larvae and dead eggs were transferred to a petri dish, and a digital photo was taken. The number of hatched individuals and dead eggs was counted using Image-J software (Rueden *et al.*, 2017; Schneider *et al.*, 2012). The number of deformed larvae was also noted and counted as failure when evaluating the reproductive success of females. We collected around 30 larvae (when possible) per cross to determine the oogenic pathway of female triploids. Individuals were quickly euthanized using eugenol (Davis *et al.*, 2015) and placed in 95% ethanol until DNA extraction and genotyping were carried out.

2.3.2 DNA Extraction and Determination of Ploidy Level

In addition to the males and females from the experimental crosses, we genetically analyzed a total of 337 larvae. DNA extraction was performed according to Sambrook *et al.* (1989), using either a piece of caudal fin for the adults or the whole body for the larvae. Individuals were identified as diploids or triploids by using CA-12 and PHO-2 microsatellite loci. The first locus amplified both *C. eos* and *C. neogaeus* alleles, while the second was specific to *C. eos* (Angers et Schlosser, 2007; Binet et Angers, 2005). *Chrosomus neogaeus* alleles in hybrids are different from those of *C. eos* and were used to confirm the presence of this genome in the case of hybrid production, or its absence if meiotic hybridogenesis occurred. Both loci are highly variable, and alleles from the males used in the experimental crosses could be discriminated from those of hybrids. In the rare cases in which dissociating the alleles of the male and those of the female was problematic, we used additional loci to evaluate the ploidy level of the larvae: SEAT-412 amplifying both *C. eos* and *C. neogaeus* alleles and PHO-60 specific to *C. eos* (Angers et Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). Finally, the presence of *C. neogaeus* allele in some individuals was confirmed with the PEG1/MEST marker (Binet et Angers, 2005).

Mosaic 2n/3n individuals could be abundant in this fish complex, varying from 9% to 38% (Dawley et Goddard, 1988; Doeringsfeld *et al.*, 2004). A special attention was then given to female triploids from the experimental crosses. Since only a piece of caudal fin was collected, it has not been possible to assess the presence of 2n and/or 3n cells with flow cytometry or chromosomes count (Dawley et Goddard, 1988). We used a semiquantitative PCR approach (Adinolfi *et al.*,

1997) to estimate the relative abundance of the *C. eos* alleles in female triploids at 4 loci (CA-12, SEAT-412, PHO-2 and PHO-60) after 20, 25, and 30 cycles. Because the number of DNA segments increased exponentially through PCR cycles, such method enabled to detect haplomes that are present in different proportion within a given sample before they reached a plateau. Therefore, an individual was considered as mosaic when the intensity of the allele from paternal leakage (only present in 3n cells) was lower than that of the hybrid alleles (present in 2n and 3n cells). To assess the sensitivity of the method, we analyzed different mixtures of diploid and triploid individuals to produce “artificial mosaic individuals” (from zero to 100% of triploid cells). The results indicated that mosaic individuals with 50% of triploid cells or less can be unambiguously identified with this approach. Some mosaic individuals with a low proportion of diploid cells may be misidentified as triploid individuals. However, according to Dawley et Goddard (1988), mosaic individuals with 50% of triploid cells or less represent more than 80% of the mosaic individuals detected by flow cytometry.

2.4 Results

A posteriori identification of 25 female hybrids used for experimental crosses (Table 2.I) indicated a total of 7 diploids (28%) and 15 triploids (60%). In addition, 3 individuals were unambiguously identified as 2n/3n mosaic individuals (12%); all loci provided a consistent signal of 2n/3n mosaicism. All females produce viable embryos except 3 female triploids that failed in providing any viable embryos even if their eggs were fertilized by males that successfully fertilized other females’ eggs. Therefore, only the larvae of the resulting 12 female triploids and 3 mosaics were genetically analyzed.

Table 2.I. Genomic composition of the offspring issued from crosses between female triploids of *C. eos-neogaeus* and males *C. eos*. Hatching success refers to the percentage of larvae hatched per total number of eggs produced (mean \pm SD). Number of larvae genotyped per cross, and number (%) of individuals for each genomic composition are indicated. Each E represents one *C. eos* haplome, and N to one *C. neogaeus* haplome. EE refers to diploid *C. eos*, EN to diploid hybrids, EEN to triploid hybrids, and EEEN to tetraploid hybrids.

Cross	Success	Larvae	EE	EN	EEN	EEEN
		n	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Group I						
1	22.0	11	10 (91)	-	-	1 (9)
2	95.3	26	25 (96)	-	-	1 (4)
3	3.4	10	9 (90)	-	-	1 (10)

4	42.9	12	11 (92)	-	-	1 (8)
5	2.0	2	1 (50)	-	-	1 (50)
Total	33.1 ± 38.5	61	56 (91.8)	-	-	5 (8.2)
Group II						
6	39.5	33	-	1 (3)	32 (97)	-
7	93.4	30	-	2 (7)	28 (93)	-
8	10.4	16	-	4 (25)	12 (75)	-
9	25.3	31	-	2 (6)	29 (94)	-
10	17.9	12	-	0	12 (100)	-
11	61.4	29	-	0	29 (100)	-
12	62.1	31	-	0	31 (100)	-
Total	44.3 ± 29.6	182	-	9 (4.9)	173 (95.0)	-
Mosaic 2n-3n						
13	83.9	32	-	3 (9)	29 (91)	-
14	48.3	29	-	0	29 (100)	-
15	96.1	33	-	0	33 (100)	-
Total	76.1 ± 24.8	94	-	3 (3.2)	91 (96.8)	-

Five out of the 12 female triploids produced diploid *C. eos* larvae, without the *C. neogaeus* nuclear genome (Group I, females 1 to 5; Table 2.I). The maternal *C. neogaeus* haplome was likely discarded before meiosis, producing haploid *C. eos* eggs (Figure 2.2 A). Meiosis was confirmed since either *C. eos* allele of the *C. eos* × *eos-neogaeus* females could be transmitted to the progeny, and loci segregate independently of each other (Supplementary Table I, Annexe 1). Fertilization then brought another *C. eos* haplome (from the male *C. eos*) to the progeny, forming cybrid individuals with a diploid *C. eos* nuclear genome and *C. neogaeus* mitochondria. These results confirmed the occurrence of meiotic hybridogenesis (Goddard *et al.*, 1998). No mosaic individuals were detected among the female triploids performing meiotic hybridogenesis.

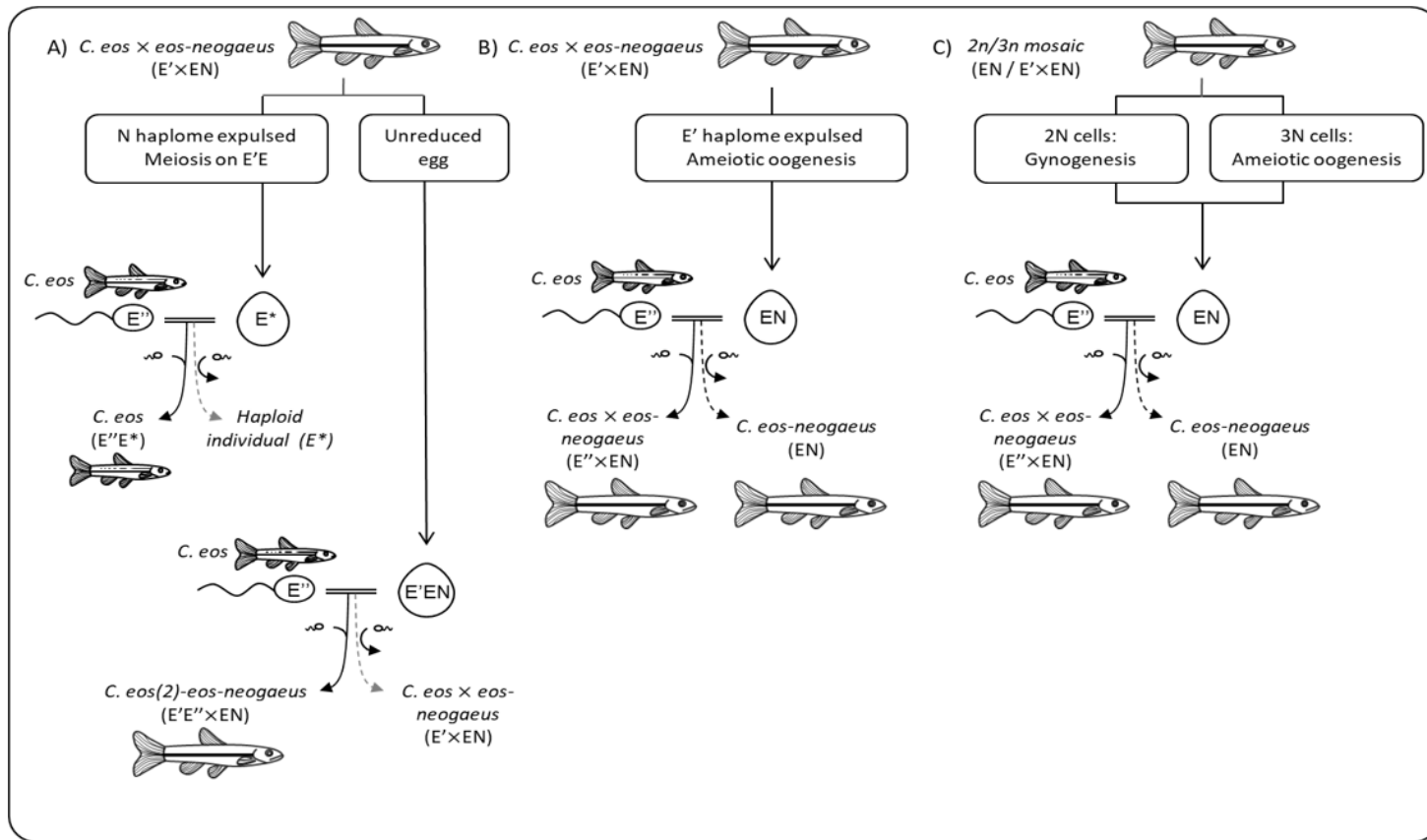


Figure 2.2. Oogenic pathways observed in the triploid hybrid *C. eos* × *eos-neogaeus*. (A) In meiotic hybridogenesis, the *C. neogaeus* haplome is expelled and meiosis occurs on the diploid *C. eos* genome, resulting in haploid eggs. Fertilization of these eggs by *C. eos* sperm leads to the formation of *C. eos* individuals (with *C. neogaeus* mtDNA). Oogenesis resulting in unreduced triploid eggs is also observed in these females, leading to the formation of tetraploid hybrid individuals after fertilization. (B) In ameiotic hybridogenesis, the *C. eos* haplome from paternal leakage is excluded, and eggs composed of the hybrid diploid genome are ameiotically produced. Fertilization (or not) of these eggs by *C. eos* sperm leads to the formation of triploid (or diploid) hybrids. (C) Diploid and triploid cells produced diploid eggs, via gynogenesis or ameiotic hybridogenesis respectively. E refers to the *C. eos* haplome in hybrid, N to the *C. neogaeus* haplome in hybrid, and E' and E'' to a *C. eos* from paternal leakage of different generation; E* = *C. eos* haplome meiotically produced. Dashed lines refer to genotypes that were not observed or not confirmed in this study.

Interestingly, female triploids performing meiotic hybridogenesis also produced tetraploid hybrids *C. eos* × (*C. eos* × *eos-neogaeus*), as observed in 5 out of the 337 larvae analyzed (1.5%; Table 2.I). Production of triploid eggs and fertilization of these eggs (Figure 2.2 A) increased the ploidy level, resulting in the formation of tetraploid individuals. Tetraploid individuals were only detected in progeny of females performing meiotic hybridogenesis but in all crosses including these females (Table 2.I). Tetraploid individuals have never been reported in this complex before.

Hatching success of females performing meiotic hybridogenesis varied from 2.0% to 95.3% (mean 33.1%; Table 2.I). However, the absolute number of offspring per female was low as 4 of the 5 females provided at most 12 larvae (including cross #5 where only 2 larvae developed).

An unexpected result of these experimental crosses is that the 7 remaining female triploids produce triploid offspring (Group II, females 6 to 12; Table 2.I). The additional *C. eos* haplome differed between triploid mothers and their progeny (Supplementary Table II, Annexe 1), excluding the possibility of clonal reproduction for triploids. The additional haplome of triploid progeny was transmitted by the male used to fertilize eggs (Supplementary Table II, Annexe 1). This indicated that genotype of the eggs produced by those triploids is composed of a diploid hybrid genome. Four out of these female triploids also produced a low number of diploid hybrids (3.6%, 12 out the 337 larvae analyzed; Table 2.I) indicating these eggs did not incorporate the male haplome.

Hatching success of female triploids from group II was also variable and ranged from 10.4% to 93.4% (mean 44.3%; Table 2.I). It is not significantly different (Mann–Whitney U test; $U = 15$, $p > 0.05$) than that of female triploids of group I.

Females identified as $2n/3n$ mosaic produced both diploid and triploid hybrids, but no progeny without the *C. neogaeus* nuclear genome (females 13 to 15; Table 2.I). As for female triploids from group II, this result suggests that $2n/3n$ mosaic female also produce diploid eggs and triploid progeny inherited of an additional haplome from the *C. eos* male used for fertilization (Supplementary Table II, Annexe 1).

2.5 Discussion

2.5.1 Different Oogenic Pathways

Analyses of experimental crosses between triploid hybrids *C. eos* × *eos-neogaeus* and male *C. eos* gave results consistent with the extensive analyses previously performed (Binet et Angers, 2005; Goddard et Dawley, 1990; Goddard *et al.*, 1998; Goddard et Schultz, 1993). However, our results also provided unexpected results about the oogenic pathways of triploid hybrids.

Meiotic hybridogenesis inferred by (Goddard *et al.*, 1998) was confirmed by the presence of individuals with only *C. eos* nuclear genome as progeny of triploids and random segregation of *C. eos* alleles observed in the progeny. Surprisingly, all females performing meiotic hybridogenesis produced unreduced triploid eggs resulting in tetraploid individuals following paternal leakage. Albeit at a low rate, this process appeared as an inevitable consequence of meiotic hybridogenesis. Similarly, production of tetraploids associated to meiotic hybridogenesis of female triploids has been proposed in *S. alburnoides*, a unisexual complex of Cyprinidae living in the Iberian Peninsula, while it was not actually observed in nature, neither in artificial crosses (Crespo-López *et al.*, 2006). The low occurrence of tetraploids in our study supports the scarcity of those individuals in nature and may explain why they have never been documented before in this complex. Alternatively, tetraploids viability could be restricted to the larval stage, explaining why they have never been observed in nature before.

While unreduced triploid eggs were produced by females of group I, we did not detect individuals sharing the same genotype as their mothers. This indicated that no clonal triploid individuals were produced from these unreduced eggs by gynogenesis, or if so, at a very low rate, in agreement with previous studies (Binet et Angers, 2005; Goddard et Dawley, 1990; Goddard *et al.*, 1998; Goddard et Schultz, 1993). It appears extremely unlikely that tetraploid individuals resulted from the conditions associated to artificial fertilization because the process leading to triploid eggs (instead of haploid *C. eos* eggs) occurred long before fertilization. However, this process could theoretically lead to the production of clonal triploid individuals, but at a very low rate. Nonetheless, the incorporation of male haplome occurred at a very high rate in our experimental crosses and may have prevented the production of clonal triploid individuals in artificial fertilization.

However, the most surprising result of this study is that female triploids of group II could also yield triploid offspring. This indicates that an important proportion of female triploids can produce diploid hybrid eggs. Following incorporation of a haplome from the male used for fertilization, these eggs produced triploid progeny where haplome from paternal leakage is different between mother and progeny. Moreover, offspring produced by 2n/3n mosaic individuals are indistinguishable from those of the female triploids of group II. Females of both groups produced diploid and triploid progeny in similar proportion. However, while they yield the same product, the processes behind are likely different.

In 2n/3n mosaic females, the eggs from diploid cells are expected to be produced asexually by gynogenesis. If such eggs incorporated the male haplome, this will result in difference between the triploid cells of the mother and triploid progeny. However, the fate of eggs produced by their triploid cells remains unclear. Since female mosaics did not produce diploid *C. eos* as progeny, meiotic hybridogenesis is clearly not the oogenic pathway of the eggs from triploid cells.

Since only diploid and triploid hybrid progeny were produced, we can therefore conclude that all eggs produced by female mosaic are diploid *C. eos-neogaeus*. If diploid cells produced eggs via gynogenesis, no pathway has been proposed for triploid cells to produce diploid hybrid eggs. One possible scenario is a kind of ameiotic hybridogenesis as described in Figure 2.2B. In this pathway, the haplome from the paternal leakage is excluded during gametogenesis, leading to the formation of eggs with a diploid hybrid genome. This process is similar to the “unnamed form of hybridogenesis” (Stöck *et al.*, 2011). It is extremely uncommon in triploid vertebrates and was restricted so far to triploid loaches (Oshima *et al.*, 2005). Ameiotic hybridogenesis has never been documented in *C. eos-neogaeus* but appeared a likely process to explain our results in triploid hybrids. This is the first evidence for ameiotic hybridogenesis in *C. eos-neogaeus*.

Goddard et Dawley (1990) reported that successful fertilization with the sperm haplome occurs at a rate of 50% for ova of *C. eos-neogaeus* diploid hybrids, resulting in mosaic and triploid offspring. In addition to this process, our results revealed ameiotic hybridogenesis as an alternative process to produce triploid hybrids by triploids and mosaics. This process was frequent and occurred in half of the female triploids (7 out of 12).

2.5.2 Reproductive Success of Triploids

Female triploids displayed a high variance in reproductive success. Three out of the 15 female triploids failed to produce viable eggs, even if they were fertilized by males that successfully fertilized other females' eggs. The absence of any viable progeny suggests major problems with oogenesis of these females. However, in the absence of offspring, it was not possible to determine their oogenic pathway. At the other end of the spectrum, some females had more than 90% hatching success, although we did not assess the long-term survival of these individuals.

The hatching success of meiotic and ameiotic hybridogenesis pathways was extremely variable and did not differ significantly depending on hybridogenesis type. However, tetraploid individuals were detected in all females performing meiotic hybridogenesis, which suggests that this oogenic pathway could be defective to some extent. Abnormalities during gametogenesis prevented the complete expulsion of the *C. neogaeus* haplome, resulting in the abortion of meiosis and leading to the formation of unreduced triploid eggs. The low hatching success of female triploids that performed meiotic hybridogenesis, coupled with the fact that this oogenic pathway did not occur in all female triploids, may explain the low occurrence of cybrids formation in natural populations (Leung et Angers, 2018).

2.5.3 Perpetuating Lineages or Not?

A striking result of this study is that the 2 main oogenic pathways occurred in a mutually exclusive fashion, with either meiotic or ameiotic hybridogenesis. The signal triggering each oogenic pathway is unknown, but the development through one pathway or the other appears to be an inherent property of the females. This leads us to propose 2 hypotheses depending on whether these pathways occur in parallel or series.

The first hypothesis is that any female triploid can perform either meiotic or ameiotic hybridogenesis according to an unknown signal (Figure 2.3 A). The succession of ameiotic hybridogenesis in triploid hybrids could allow the persistence of the hybrid genome's integrity, as hemiclonal hybridogenesis does with diploid species like *Rana esculenta* or *Poeciliopsis sp.* (Negovetic *et al.*, 2001; Quattro *et al.*, 1992; Schultz, 1969; Stenberg et Saura, 2013). This involves the possibility that triploid hybrids could represent perpetuating lineages independent of diploid hybrids.

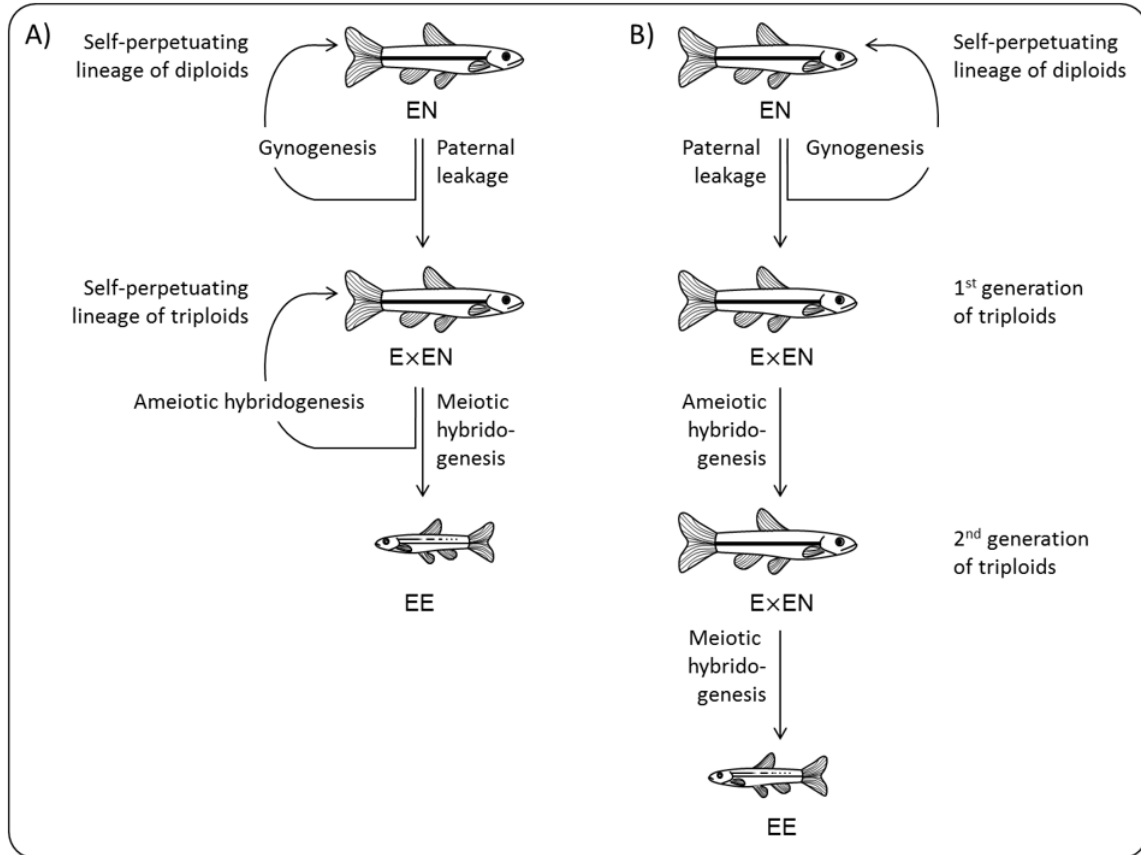


Figure 2.3 Hypothetic scenarios of the reproductive cycle in female triploids *C. eos* × *eos-neogaeus* through generations. A- A given female triploid can perform either type of hybridogenesis. This allows the persistence of triploid hybrids by a fraction of the population while the rest produces *C. eos* individuals. B- Ameiotic hybridogenesis occurs in triploids of first generation, following paternal leakage upon eggs from diploid mothers. Triploids of second generation then perform meiotic hybridogenesis and produce *C. eos* individuals. Triploid hybrids are then not perpetuating lineages. E = *C. eos* haplome; N = *C. neogaeus* haplome.

A high number of triploids is produced *de novo* by diploid hybrids in every generation (Goddard *et al.*, 1989). Such a continuous formation of triploids coupled with their capacity to asexually reproduce *via* ameiotic hybridogenesis is expected to result in an explosive increase in the number of these triploid hybrids. However, the abundance of triploids in natural populations, while variable from site to site, globally ranged from 56% to 67% in the southern Quebec, Canada (Leung et Angers, 2018). Males were observed in triploid hybrids, though their abundance seems very low (Goddard *et al.*, 1989). If triploids can theoretically produce half of their progeny as males and if half of the females are meiotic hybridogens, this can result in a stable demography of

triploids with twice as many triploid as diploid hybrids, a proportion close to that observed in natural conditions (Leung et Angers, 2018).

However, this scenario is not consistent with the absence of diploid and triploid divergent lineages (Angers et Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). The lack of evidence of persisting triploid lineages in natural conditions is likely the main reason explaining that ameiotic hybridogenesis has never been proposed in spite of the numerous previous studies of this complex.

Our second hypothesis relies on the fact that triploid *C. eos* × *eos-neogaeus* can originate from 2 distinct processes: ploidy elevation from paternal leakage following fertilization of an unreduced diploid hybrid egg (from female diploids or from 2n cells in mosaics) or ameiotic hybridogenesis (from female triploid or from 3n cells in mosaics). It is tempting to propose that the origin of those female triploids and their distinct oogenic pathways are related: Ameiotic hybridogenesis occurred in triploids (and from 3n cells in mosaics) of the first generation (F1 from diploid mothers), while meiotic hybridogenesis occurred in triploids of the second generation (only F2 from triploid mothers) (Figure 2.3 B). That mosaics performed ameiotic hybridogenesis, but not meiotic hybridogenesis suggests that an extrinsic environmental signal is not responsible of one or the other pathway. We can therefore predict that mosaic only originated from 2n cells from diploids or mosaics. According to this scenario of different hybridogenesis alternation, triploid hybrids are not a perpetuating lineage, even in the presence of ameiotic hybridogenesis.

The mechanism responsible for the different oogenic pathway is intriguing, especially because triploid hybrids are not genetically distinguishable one from each other. However, according to our second hypothesis, they would originate either from a diploid or a triploid female themselves. Maternal effects could be the mechanism triggering developmental differences between female triploids and resulting in distinct oogenic pathways. In addition to the material encoded by the maternal genes and stored in the eggs (Li *et al.*, 2010), a biased expression toward the maternal genome was detected in hybrids (Li *et al.*, 2018). Maternal effects are known to strongly influence the phenotype of progeny (e.g., Sakwińska (2004)) and produce difference between reciprocal crosses, such as triploid progeny from diploid and tetraploid parents (Burton et Husband, 2000).

In their review of unisexual fishes, Lamatsch et Stöck (2009) proposed a sequence of reproductive modes (gynogenesis → paternal leakage → hybridogenesis → meiotic

hybridogenesis) as a “speculative evolutionary (re-) transition from asexuality to sexuality”. The *C. eos-neogaeus* complex appears to fit this tendency exactly with the all-female diploid hybrids, low number of males among the triploid hybrids and sexually reproducing individuals in the progeny resulting from meiotic hybridogenesis. Producing *C. eos* progeny leads triploids to an asexual reproductive dead-end. This reproductive pathway would then reduce the 2-fold demographic advantage of the asexual hybrids by both ending the persistence of triploids (Leung et Angers, 2018) and producing *C. eos* males (Binet et Angers, 2005).

2.6 Conclusion

This study provides the opportunity to revisit the population dynamics of the *Chrosomus eos-neogaeus* complex, which appears a step more complicated than previously expected. Previously considered as reproductive dead ends, the triploid hybrids of this complex appear to be able to produce not only sexual offspring but also triploid hybrids, be they perpetuating or not. This opens a new view on the fertility of polyploids and reveals a rare case of ameiotic hybridogenesis encountered in a triploid vertebrate.

2.7 Acknowledgments

We would like to thank the 3 anonymous reviewers for their insightful comments and suggestions. This research was performed under institutional animal care guidelines (permit #18-019 delivered by the Université de Montréal), and conforms to the mandatory guidelines of the Canadian Council on Animal Care. Sampling permits were provided by the Quebec Ministry of Natural Resources and Wildlife (MRNF). This research was supported by a research grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) to B.A. (#238600). The work of PH was supported by a NSERC – Undergraduate Student Research Undergraduate Student Research Awards.

Chapitre III

**3. La ploïdie maternelle façonne les voies
reproductives dans l'hybride triploïde *Chrosomus*
eos × *eos-neogaeus***

Maternal ploidy shapes reproductive pathways in the triploid hybrid
Chrosomus eos × *eos-neogaeus*

Joëlle Lafond¹ et Bernard Angers¹

¹ Département de sciences biologiques, Université de Montréal, Montréal, Québec H3C 3J7
Canada.

Statut

Publié dans *Molecular Ecology*, 2024, Volume 33, Issue 5

DOI : <https://doi.org/10.1111/MEC.17264>

Format modifié pour les besoins de la présente thèse

Contributions

Les idées à la base de cet article ont été conçues par tous les auteurs. Le travail de laboratoire, l'analyse des données et la première version de l'article ont été effectués par JL. BA a fourni les réactifs et de la supervision à travers cette étude, ainsi qu'une révision critique du manuscrit.

3.1 Abstract

Elements transferred from a mother to her eggs may strongly influence the phenotype of her offspring. Such maternal effects depend on the genotype of the mother, and while multiple ploidy levels occur naturally in some vertebrate species, studies evaluating the impact of maternal ploidy on offspring are scarce. This paper aimed to test whether maternal ploidy is responsible for the two reproductive phenotypes observed in the triploid fish *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*. Indeed, these hybrids have two different maternal origins (diploid or triploid) and display two reproductive phenotypes, ameiotic and meiotic hybridogenesis, resulting in diploid and haploid eggs, respectively. To this end, we first conducted a genomic survey to identify epigenetic variations in triploid larvae reared under common garden conditions, concordantly with their maternal origin. The results revealed that the polymorphic epigenetic loci of the larvae clustered into two highly distinct groups consistently with the ploidy of their mother. Diagnostic epigenetic loci were then tested in triploid adult females whose reproductive pathways were already known, to infer their own maternal origin. Altogether, the results suggest that triploid larvae from diploid and triploid mothers will develop the ameiotic and meiotic hybridogenesis pathway, respectively. This confirms that the development of a given reproductive pathway in triploid females results from the ploidy of their mother. Overall, this study supports a strong maternal effect, introducing maternal ploidy and reproductive pathways as additional cause and effect of maternal effects, respectively.

3.2 Introduction

Parental effects, referring to a causal relationship between specific parental traits and the phenotype of the offspring, are known to be an important source of phenotypic plasticity (Badyaev et Uller, 2009). Among them, maternal effects have been extensively documented in the literature (Moore *et al.*, 2019; Wolf et Wade, 2009). These effects include all non-genetic contributions from the mother that affect the phenotype of her offspring, from behaviors such as nursing to RNAs and proteins inputs in the provision of the eggs (Green, 2008; Wolf et Wade, 2009). Because they can dramatically affect the phenotype of the offspring, these processes can significantly alter the ecological and evolutionary properties of populations (Lubzens *et al.*, 2017; Uller, 2012).

When maternal effects depend on the genotype of the mother, the influence is most often attributed to the abundance and nature of RNAs and/or proteins stored in the eggs. These factors can have major consequences on the phenotype of the offspring, as they regulate the very first stages of embryonic development (Abrams et Mullins, 2009; Wolf et Wade, 2016), while the cellular machinery of the embryo is only slowly starting. Indeed, embryonic transcription begins after a few cell divisions in the embryos of several taxa. For example, in *Danio rerio* and *Drosophila melanogaster*, it takes up to 12 and 13 division cycles, respectively, before the transition to zygotic expression (Vastenhouw *et al.*, 2019). The maternal provisions used in the early cell division cycles are then critical for the development of the offspring. One of the best known examples of such effects is the shell coiling direction in pulmonate snails such as *Lymnaea peregra*, where this trait in a given individual depends on the genotype of its mother (Boycott *et al.*, 1931; Diver *et al.*, 1925; Freeman et Lundelius, 1982; Sturtevant, 1923).

While the genotype of the mothers is often characterized only by the alleles they carry, their ploidy level may also be important. Because the expression of different numbers of gene

copies can alter RNA and protein production, maternal ploidy is expected to be a potential source of maternal effects. Although multiple ploidy levels in vertebrate species are rare, a few instances are known to be naturally occurring within hybrid complexes (Lamatsch et Stöck, 2009). In such systems, diploid, triploid and even tetraploid individuals may coexist within a given population, such as in the fish *Misgurnus anguillicaudatus* (Arai, 2023 and references therein), *Carassius auratus* (Xiao *et al.*, 2011), *Squalius alburnoides* (Crespo-López *et al.*, 2007), and in the salamander *Ambystoma laterale-jeffersonianum* (Lowcock *et al.*, 1991). Elevation of ploidy level has been predicted to increase the probability of survival in hybrids (Buggs *et al.*, 2009 and references therein). Such changes in ploidy level are often associated with different reproductive pathways, which has been documented in most of the aforementioned systems, as well as in the *Poeciliopsis* (Schultz, 1967, 1969), *Chrosomus* (Lafond *et al.*, 2019), *Cobitis* (Dedukh *et al.*, 2023), and *Misgurnus* complexes (Kuroda *et al.*, 2019).

In the *Chrosomus eos-neogaeus* hybrid complex, the presence of diploids and triploids has been extensively documented. In this complex, hybridizations between *C. eos* (E) and *C. neogaeus* (N) resulted in the formation of a diploid hybrid (EN), an all-female organism capable of gynogenesis (Dawley *et al.*, 1987) (Figure 3.1 A). These females are thus dependent on males of a closely related species, as this reproductive pathway leads to the formation of clonal, unreduced eggs that require fertilization to initiate their development. However, the genetic material of the male is not essential to the zygote and may be degraded instead of fusing with the maternal pronucleus. Such rejection of the paternal haplome results in an offspring that is completely clonal to the mother, whereas its integration, which occurs in about half of the progeny, produces triploid individuals (E'EN, where E' is the paternal haplome) (Dawley *et al.*, 1987; Goddard et Dawley,

1990; Goddard et Schultz, 1993). Thus, diploid mothers can generate both diploid and triploid hybrids.

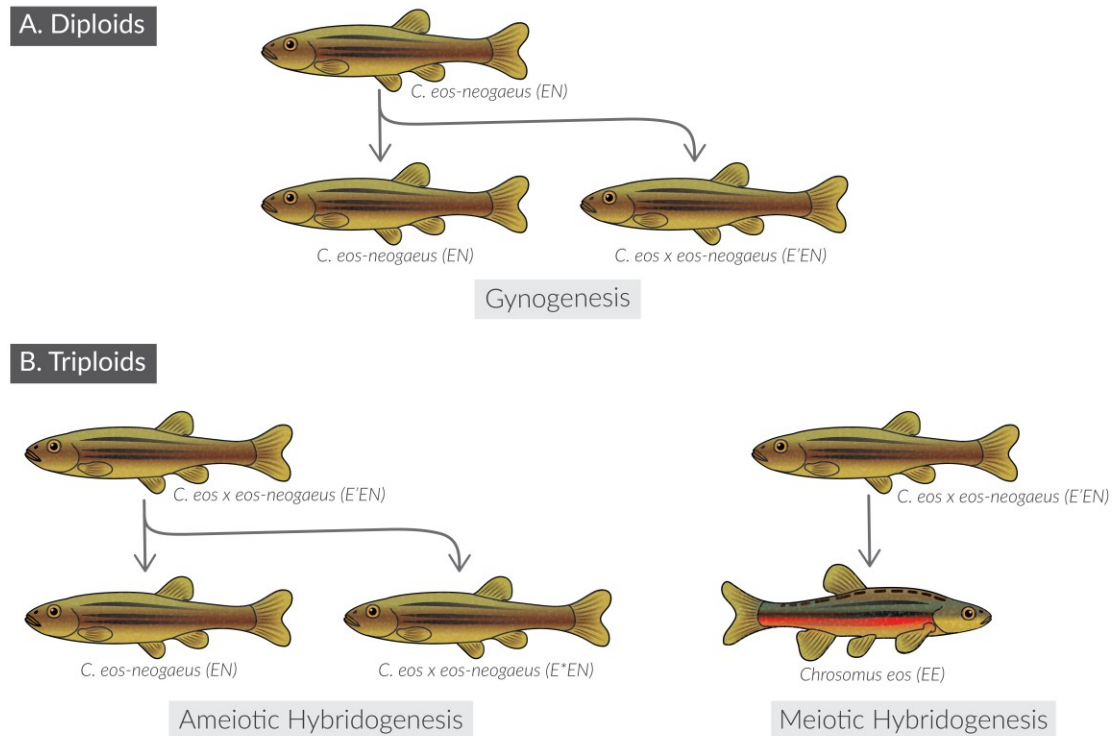


Figure 3.1. Reproductive pathways in the *Chrosomus eos-neogaeus* complex. A) Gynogenesis, in diploids, allows clonal progeny (EN genome) in absence of paternal DNA incorporation in the embryo. Otherwise, fusion of both pronuclei leads to triploids where a new *C. eos* haplome (E') is incorporated to form a triploid (E'EN). B) In triploids (E'EN), two alternative reproductive phenotypes are known based on progeny genotyping. Ameiotic Hybridogenesis is closely related to gynogenesis, producing both diploid and triploid larvae after rejection of the newly acquired paternal E' haplome. Incorporation of a new *C. eos* haplome (E*) may restore ploidy level in the larvae. Meanwhile, Meiotic Hybridogenesis produces *C. eos* larvae after having rejected their *C. neogaeus* haplome and gone through meiotic reduction, followed by an obligate fertilization by a *C. eos* male and pronuclei fusion.

In the all-female triploid hybrids (E'EN), two mutually exclusive reproductive phenotypes were recently shown to coexist, based on progeny genotyping (Lafond *et al.*, 2019), in addition to the already documented gynogenesis in diploid hybrids. Some of them underwent a process similar

to gynogenesis but requiring the prior expulsion of the paternal *C. eos* haplome (E') that led to the formation of the triploid (Figure 3.1 B) in the reproductive cells. This process, termed *ameiotic hybridogenesis*, refers to a meiotic pathway that results in semi-clonal oocytes (EN) rather than genetically mixed, reduced oocytes such as in meiotic hybridogenesis (Lamatsch et Stöck, 2009). These diploid hybrid oocytes can thus give rise to diploid or triploid hybrids, such as observed in gynogenesis, all depending on the potential incorporation of the paternal haplome. As such, some triploid mothers can also generate both diploid and triploid hybrids.

The remaining triploid females underwent meiotic hybridogenesis (MH), which differs from the previous pathway as it begins with the expulsion of the *C. neogaeus* haplome in their reproductive cells. The two remaining *C. eos* haplomes (E'E) then complete meiosis and produce haploid eggs that require obligate fertilization and pronuclear fusion. This produces cybrids: individuals with a *C. eos* nuclear genome and a *C. neogaeus* mitochondrial genome (Binet et Angers, 2005; Goddard *et al.*, 1998; Goddard et Schultz, 1993).

Despite the documented presence of two triploid phenotypes, the trigger behind this reproductive dichotomy remains elusive. However, the ability of both diploid and triploid females to produce triploids suggests that triploids can be maternally derived from either diploid or triploid individuals. Therefore, this study aims to test whether maternal effects due to ploidy level are responsible for the different reproductive pathways observed in the triploid hybrid *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*.

Since maternal effects influence the development of the offspring in the very first steps, and each developmental process involves a specific epigenetic program and is often influenced by the environment (Angers *et al.*, 2010; Skinner, 2011), variation in the epigenome across maternal origin is expected. Therefore, we search for variations in the epigenome of triploid larvae reared

under common garden conditions, that could be related to their maternal origin. The affected loci were then sought in adult females with known phenotypes to confirm or refute the relationship between the two.

3.3 Method

3.3.1 Approach overview

First, we sought epigenetic differences in triploid larvae hatched from either diploid or triploid mothers as a proxy of distinct developmental pathways induced by maternal effects. We used larvae reared under controlled conditions to reduce environmental effects. Analyses included half-siblings, where larvae shared the same father but came from two different mothers with different ploidy levels. These individuals were analyzed to rule out the possibility that the father was responsible for the reproductive phenotypic divergence.

Second, we determined whether the observed epigenetic differences in the larvae of the two maternal origins were correlated with the different reproductive pathways. To this end, we identified the reproductive phenotype of adult females (AH or MH) by gonadal examination. Diagnostic epigenetic loci were then tested in triploid adult females whose reproductive pathways were already known, to infer their own maternal origin. Such a correlation between the two life stages would imply a potential causal influence of maternal ploidy on larval reproductive development.

3.3.2 Samples selection

All individuals used for epigenetic analyses were from the same location (Desjardins Lake, Quebec, Canada; 45.91693, -74.07292) and were already part of the laboratory collection. Adults were collected from the bank of the lake, according to institutional animal care guidelines and conforming with the mandatory guidelines of the Canadian Council on Animal Care. All hybrids

from this lake originated from a single hybridization event and belong to the same lineage B-01, based on their mitochondrial haplotype and multilocus genotype (Angers et Schlosser, 2007; Vergilino *et al.*, 2016). Therefore, all diploids are clonal, while the genome of triploid individuals differs only by their one paternal *C. eos* haplome.

Newly hatched larvae (aged between 5-6 days post-fertilization) from eggs artificially fertilized and reared under controlled conditions (Lafond *et al.*, 2019) were selected as to reduce environmental noise. To obtain the larvae, crosses were made with female hybrids (diploids and triploids) from a natural habitat, with *C. eos* individuals as fathers. DNA extracts from the whole larvae were used for the analyses and were obtained from a previous experiment (Lafond *et al.*, 2019). DNA from ethanol-preserved adult females was extracted from the cardiac tissue using a phenol-chloroform method (Sambrook *et al.*, 1989). Although not associated with reproductive functions, the heart develops during embryogenesis from the anterior lateral plate mesoderm, which is also the root of gonadal development in fish (Prummel *et al.*, 2020). This tissue was chosen for its homogeneity, in contrast to ovarian tissue, which is composed of cells at different stages of maturity and of highly differentiated cell lineages. As all these cells are expected to display a specific epigenetic profile, analyses pooling them may result in a less precise signal between individuals.

The ploidy of all individuals was assessed by microsatellite analyses using 4 different markers (Ca-12, SEAT-412, Pho2 and Pho60) according to Vergilino *et al.* (2016). The first 2 markers amplify both *C. eos* and *C. neogaeus* alleles, while the latter amplify only *C. eos* alleles. Mosaics, individuals with a mixture of diploid and triploid cells (Dawley et Goddard, 1988), were excluded from the study.

3.3.3 Characterization of epigenetic loci in larvae

The first part of this study aimed to identify epigenetic differences between larvae hatched from diploid and triploid mothers. Eight larvae from each maternal ploidy were used for the epigenetic analyses. The larvae came from 6 different crosses: 3 for each maternal ploidy (Table 3.I). For each maternal origin, 2 half-sibling crosses were included, where one father had offspring with both a diploid and a triploid mother. Thus, larvae from these crosses served as a control for effects of the paternal genome.

Table 3.I. Experimental design for the analysis of epigenetic variation in larvae. All adults (shown in bold) were caught from their natural habitats to perform the crosses. Females were hybrids (diploid or triploid), and male *C. eos* individuals (no F1 were produced). The chosen larvae were all triploids, as checked by microsatellite analyses. The number of larvae chosen per cross is indicated in the table. For instance, 3 larvae of the cross between Female 1 and Male 1 were used. Female 1 and 4 shared Male 1 for their progeny, and Female 2 and 5 shared Male 2. Male 3 and 4 only fathered offspring of a diploid (Female 3) or triploid female (Female 6), respectively.

	Diploid mothers			Triploid mothers		
	Female 1	Female 2	Female 3	Female 4	Female 5	Female 6
Male 1	3			4		
Male 2		1			3	
Male 3			4			
Male 4						1

3.3.4 Detecting maternal effects in adults

Two sets of 14 triploid adults were then used to correlate the reproductive phenotypes with epigenetic loci discriminant in larvae. These adults were not directly related to the larvae in the preceding part but were however from the same hybrid lineage. The selected adults were sexually mature, of similar size and collected during their reproductive period. Inference of the reproductive pathway in females was made by visual examination of the gonadal morphology. Gonads at this time are at their maximum size and contain many mature cells. Since MH and AH result in haploid and diploid eggs respectively, and as ploidy is strongly correlated with egg size in fishes (Hu *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019), the discrimination of the reproductive pathways can be done by

visual examination of mature eggs. Furthermore, the correlation between reproductive pathways and egg size was visually assessed during artificial reproduction of these hybrids in a previous crossing experiment (Lafond *et al.*, 2019) (Angers B, unpublished results).

To confirm the relevance of such inferences, the gonadal morphology of triploid females was assessed to confirm the presence of the two inferred phenotypes. To this end, the egg size of different hybrid biotypes of experimental crosses was compared to validate this method. Images of zygotes a few hours old (before the first cell division) were used to estimate egg size. All eggs were fertilized by *C. eos* males. Both diploid and the two triploid phenotypes were investigated, with 15 zygotes per biotype. Measurements were made using the measurement tool in Adobe Illustrator CC 2019.

We also visually assessed the presence of both egg types in 49 additional triploid females from 9 other distinct lineages, and added to those 12 females from Desjardins Lake detailed in another study (Lafond *et al.*, 2019) as references, totaling 61 females. The other lineages (A-06, A-07, A-08, A-09, A-11, A-12, A-18, B-03 and B-06) were collected in a previous study (Vergilino *et al.*, 2016). Lineages were designated according to their mitochondrial haplotype (A or B) and multilocus genotype (Angers et Schlosser, 2007). Small eggs specific to MH are expected to be present in all of these lineages as they are known to produce *de novo* cybrids (Angers *et al.*, 2018) whereas the presence of females with large diploid eggs would indicate the presence of AH.

3.3.5 Methylation sensitive amplified polymorphism analysis

Methylation-sensitive amplified polymorphism (MSAP) was performed to assess epigenetic differences in the genome of hybrids. This method discriminates DNA methylation variations among individuals by selectively amplifying DNA fragments that were digested with methylation-sensitive restriction endonucleases. These loci have been shown to be potentially

functionally relevant, as some have been found in either genes or regulatory regions (Massicotte *et al.*, 2011). MSAP analyses were performed according to a modified version of Xiong *et al.* (1999), as described by Leung *et al.* (2016). Two separate analyses were performed, using HpaII or MspI restriction enzymes that both recognize CCGG restriction sites. While HpaII cuts unmethylated cytosine in the CpG of the restriction sites, creating different loci depending on the methylation status of the DNA, MspI cuts at this same site regardless of methylation status. Screening with MspI thus provides an overview of the total genetic variation between individuals and was used to restrict the variation detected at HpaII to epigenetic effects. Eight different primers were used for amplification in the analyses, all starting with 5'-GATGAGTCCTGAGCGGNNN-3'; these NNN nucleotides were as follows: CTG, AAC, ATC, ATG, AGC, ACA, AAT, and ATT.

3.3.6 Statistical analyses

Statistical analyses were performed in RStudio (version 2023.6.1.524) (Posit Team, 2023), running on R4.1.3 (R Core Team, 2022). Correspondence analyses (CA) were first used to represent the variation of both genetic (MspI) and epigenetic larval loci (HpaII). Canonical correspondence analyses (CCA) were then used to describe the variation explained by maternal ploidy and parental identities, which defines the mother and father of each larva. Correspondence analyses are well suited for analyzing categorical variables, and more specifically binary data in this situation (Song *et al.*, 2017). To quantify the association of epigenetic loci with the maternal origin of larvae, Fisher's exact tests were performed for each locus separately. Loci were considered significantly associated when the p-value was less than or equal to 0.001 after a Benjamini and Hochberg multitest correction (Benjamini et Hochberg, 1995; Steneck *et al.*, 2002), following the recommendation by Baldanzi *et al.* (2022) for small sample sizes. To compare the zygote size of both diploid and triploid females, an analysis of variance (ANOVA) was first

performed to detect the presence of any significant relationship between zygote size and maternal biotype. Homogeneity of variance was verified with a Levene's Test. A Tukey's test was then performed to determine which biotypes showed a significant difference and to what extent the mean size differed between them. The packages *vegan* (Oksanen *et al.*, 2020), *car* (Fox et Weisberg, 2019), *stats* (R Core Team, 2022), and *ggplot2* (Wickham, 2016) were used for analyses and visualization.

3.4 Results

3.4.1 Epigenetic discrimination in larvae

In the larvae, 290 clear and unambiguous epigenetic loci were detected over the 8 different primers, of which 191 were polymorphic (65.9%) (Supplementary Table I, Annexe 2). A correspondence analysis on these loci revealed two clusters of larvae separated along the first axis, representing 39.51% of the total variation (Figure 3.2 A). This partitioning was visually correlated with maternal ploidy, whereas paternal identity did not appear to induce any clustering.

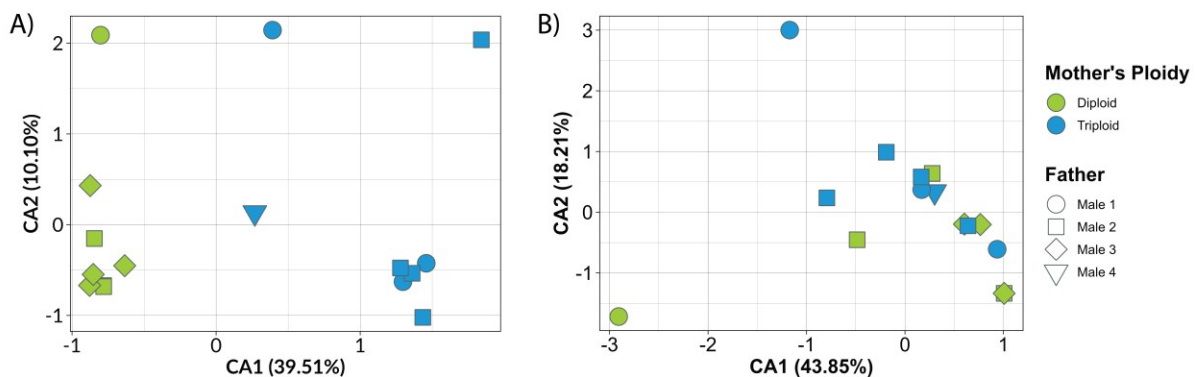


Figure 3.2. Results of the correspondence analysis on the larval loci. In A, the distribution of larvae according to their epigenetic profile resulting from the HpaII digestion is shown. In B, MspI is used instead of HpaII, resulting in genetic loci. Shapes indicate crosses involving a given father, while green and blue colors refer to diploid or triploid mother, respectively.

Variation partitioning using canonical correspondence analysis showed that parental identities (i.e., both paternal and maternal identity) and maternal ploidy significantly explained

40.66% of the observed epigenetic variation ($p < 0.001$). The pure (marginal) effect of male identity was small (6.8%) but significant ($p = 0.012$). Furthermore, 31.4% of the variation was shared by the effects of maternal ploidy and female identity ($p < 0.001$), but the absence of a significant pure effect of female ID ($p = 0.307$; adjusted $R^2 = 0.009$) indicated that maternal ploidy rather than individual female identity was responsible for this epigenetic difference.

Fisher's exact test revealed that 18 of the 191 initial loci (9.4%) were significantly associated with maternal ploidy. The loci retained by this analysis are fully diagnostic, as they were present in only one group of larvae and did not show any mismatch in presence/absence expectations under these conditions.

MspI digestion confirmed the very low genetic variation among these hybrids, as only 16 polymorphic loci were detected out of 124 clear, unambiguous loci (12.9%) (Supplementary Table II, Annexe 2). No visual association with maternal ploidy or parental identity (Figure 3.2 B) was observed. Furthermore, the overall model including parental identities and maternal ploidy as explanatory variables was not significant ($p = 0.115$), nor were any of the individual variables.

3.4.2 Morphology of adult gonads and eggs

Comparison of the gonads of triploid females revealed two phenotypes, with either small or large mature eggs (Figure 3.3 A). Furthermore, measurement of young zygotes revealed the following mean sizes for each biotype: $10.6 \pm 0.4 \mu\text{m}$ for zygotes of diploid gynogens, $11.7 \pm 0.5 \mu\text{m}$ for those of AH triploids, and $7.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ for those of MH triploids (Supplementary Table III, Annexe 2). Homogeneity of variance was confirmed by Levene's test ($p = 0.9083$). A significant difference in mean size was observed (ANOVA: $F\text{-value} = 195.7$, $Df = 2$, $p < 0.0001$), and a Tukey's test showed that each biotype was significantly different from the others ($p < 0.0001$). Compared to the zygotes from diploid gynogens, the mean size of AH triploids was somewhat larger

(TukeyHSD: 1.119), whereas the zygotes of MH triploids were considerably smaller (TukeyHSD: -3.188) (Figure 3.3 B). The comparison of both types of triploids showed the highest difference in mean zygote size (TukeyHSD: -4.307).

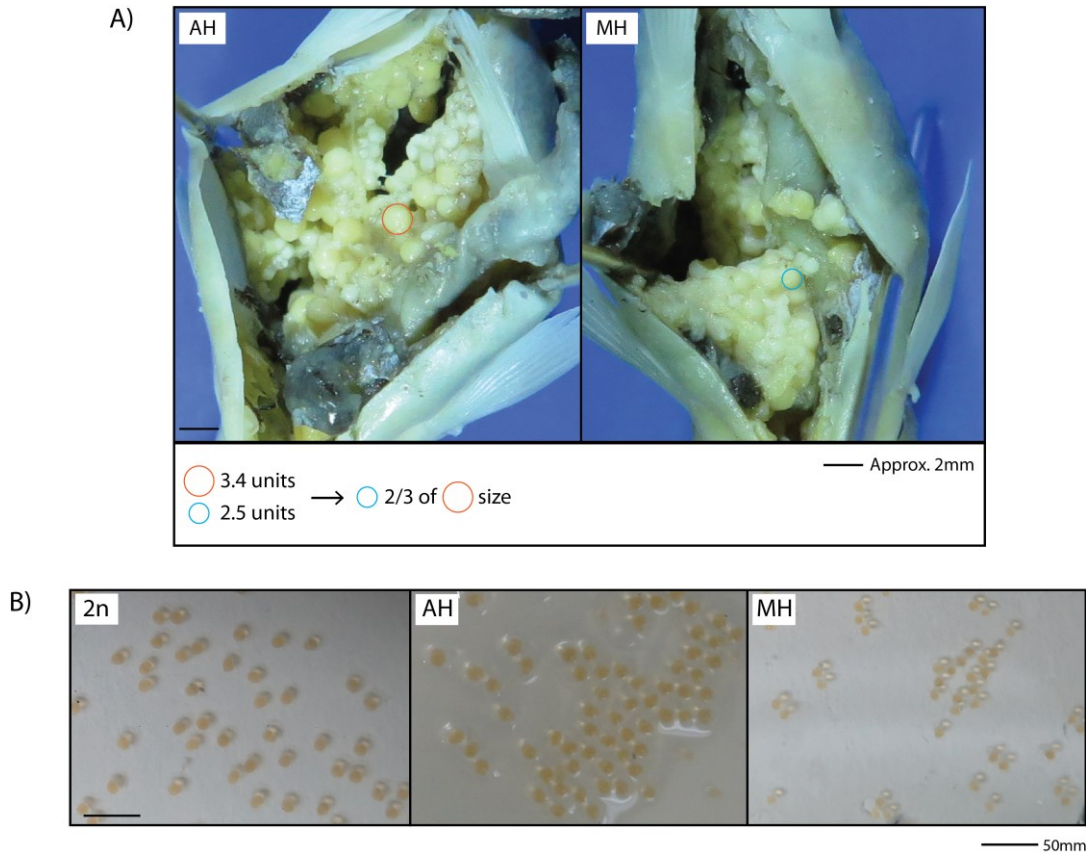


Figure 3.3. Gonadal morphology of the two types of triploids and zygote (before cell division) size comparison among hybrids. In A), females under AH possess larger mature eggs than their MH counterparts. Circles of color outline one typical egg per female to allow size comparison. In B) Zygote (before cell division) size comparison between diploids, AH and MH triploids. Pictures were taken a few hours after fertilization by *C. eos* males. A few 2-cells stage embryos can also be seen on the pictures, but were not used for the analysis. 2n = Diploid; AH = Aneuploid hybridogenesis; MH = Meiotic hybridogenesis.

Examination of the two reproductive phenotypes in females originating from different hybridization events (Table 3.II) revealed the presence of both gonadal phenotypes at each site, in an approximately 1:1 ratio. This indicated that the presence of both AH and MH pathways was generalized and not restricted to the B-01 lineage as found in Desjardins Lake.

Table 3.II. Characterization of reproductive phenotypes in different hybrid lineages. Site name, position and hybrid lineages according to Vergilino *et al.* (2016) and unpublished data; reproductive phenotypes of Desjardins Lake (in grey) detailed in Lafond *et al.* (2019). All fish were caught as adults in their natural site; lineages names according to their mitochondrial haplotypes (A or B) and multilocus genotype. Note that B-01 individuals were used throughout this study. Number of individuals assigned to ameiotic hybridogenesis (AH) and meiotic hybridogenesis (MH) are shown, as well as the total number of triploid investigated per site.

Sites	Latitude	Longitude	Hybrid Lineages	Assigned to AH	Assigned to MH	Total
Desjardins (NO-10)	45.91693	-74.07292	B-01	7	5	12
SF-7	45.21576	-71.90875	B-06	5	2	7
RI-2 & RI-4	45.04327	-72.36197	A-11	5	3	10
RI-4	45.05040	-72.31757	B-03	0	2	
RI-4	45.05040	-72.31757	A-12	1	1	2
CO-1,	45.15419	-71.54815	A-06	4	1	20
CO-2 & SF-14	45.15121	-71.54683	A-07	2	2	
	45.18459	-71.55366	A-08	4	3	
			A-09	0	4	
SF-12	45.13015	-71.67275	A-18	6	4	10
Total						61

3.4.3 Epigenetic discrimination of adults

The correlation between the reproductive pathway of adult females and the larval epigenetic profiles was then tested. Females were analyzed with five diagnostic loci, all from different primers, selected for their reproducibility and clearness (Table 3.III). Other diagnostic loci were either absent or not polymorphic in the adult cardiac tissue. This multilocus profile could therefore be used as a diagnostic tool in adult females with respect to their inferred maternal origin. Overall, 24 of the 28 adult females (85.7%) were perfectly assigned to one or the other group of larvae according to their multilocus profile. A single mismatch was detected in three of the remaining females. Females identified as performing AH were assigned to larvae from diploid mothers, while those performing MH were assigned to larvae from triploid mothers.

Table 3.III. Assignment of adult females to epigenetic multilocus profiles of reference. Each of the 5 loci are designated according to their primer and their size in base pairs (bp). Binary data represents their presence/absence status. Number (proportion) of adults assigned to each multilocus profile per reproductive pathway is also shown. Presence/absence data in bold highlights the expected multilocus profile in adult females, based on the corresponding larvae profile (larvae with diploid mothers for AH; triploid mothers for MH). Grey cells show locus presence/absence not respecting expectations. 1 indicates the presence of the loci, while 0 indicates its absence; 2n = diploid; 3n = triploid; AH = Aneuploid hybridogenesis; MH = Meiotic hybridogenesis.

	Size (bp)	Larvae multilocus profiles		Adults multilocus profile partitioning					
				AH phenotypic females (n=14)			MH phenotypic females (n=14)		
		2n Mother	3n Mother	12 (0.86)	1 (0.07)	1 (0.07)	12 (0.86)	1 (0.07)	1 (0.07)
AAC	224	1	0	1	1	1	0	0	0
ATC	200	0	1	0	0	1	1	1	0
ATG	140	0	1	0	0	0	1	0	1
AAT	100	1	0	1	0	0	0	0	0
CTG	285	1	0	1	1	1	0	0	0

3.5 Discussion

This study aimed to test whether maternal ploidy could be responsible for the different reproductive pathways observed among *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus* triploid hybrids. Overall, our results support the presence of a strong maternal effect in this system and indicate that triploid larvae from diploid and triploid mothers will develop different reproductive pathways. Indeed, triploid larvae collected 5-6 days post-fertilization showed two distinct clusters of epigenetic profile that correlated with the ploidy of their mother, while no such discrimination could be observed with genetic variation. Furthermore, the epigenetic profiles of females identified as AH or MH, depending on the size of their eggs, were respectively assigned to the larvae of diploid or triploid maternal origin. Altogether, these results confirmed differential investment – beyond the genetic material transmitted – from hybrid mothers to their offspring, based on their ploidy level.

As an alternative to maternal effects, genetic variation could have been hypothesized to lead to the different reproductive phenotypes. This would have raised two possible hypotheses, given the clonal, diploid hybrid genome: 1) fathers would be responsible for this phenotypic divergence, or 2) a mutation in the hybrid genome would have led to the phenotypic variation in triploids. In the first situation, the development of the AH and MH pathways could have been triggered by a genetic source inherited from the father or resulted from paternal effects. Although we detected a minor influence of the paternal identity on the epigenetic profiles of the larvae, we did not observe the expected dichotomous differentiation according to the father, so they are unlikely to be related to these reproductive phenotypes.

In the second situation, a genetic effect could be expected from mutations in the diploid hybrid genome. Such a scenario is not unlikely in itself, as a few genetic mutations have been detected in hybrids of the same lineage (Leung *et al.*, 2016; Massicotte *et al.*, 2011). We tested this hypothesis by inferring the presence of both reproductive pathways in hybrids of different lineages, as it is unlikely that the same mutation has occurred independently several times. We confirmed the presence of both AH and MH in these lineages, and that these two reproductive phenotypes are well-spread among hybrid lineages. This suggests that the proposed mutation would have occurred independently many times, a scenario that is not parsimonious.

Thus, this study establishes maternal effects as responsible for the determination of the reproductive phenotypes in *C. eos x eos-neogaeus* triploids. However, the mechanism behind this developmental disparity remains unknown. Since maternal ploidy affects the ratio of *C. eos* : *C. neogaeus* haplomes in the maternal genome, it is possible that such a difference leads to variation in the RNAs and proteins transferred to the eggs, if all haplomes are expressed equally, at least at some loci. Indeed, for a given locus, diploids would have one allele of each parental species, while

triploids would have two *C. eos* for one *C. neogaeus*. This could then affect the development and phenotype of the offspring, but the relevance of such a scenario depends on the relative expression of each haplome. Conversely, dosage compensation events may occur on different alleles and at different intensities between diploid and triploid females, resulting in differences in the offspring. For example, in *Squalius alburnoides* triploids, the expression of certain genes in the gonads was shown to be skewed toward the haplomes of only one parental species. Indeed, triploids with one *S. pyrenaicus* haplome and two *Anaocypris hispanica* haplomes (SAA) expressed mostly or only AA alleles, whereas diploid hybrids expressed their two haplomes (SA). This discrepancy between the two types of hybrids was found not only in the gonads, but also in other tissues, always in favor of the AA haplomes for the triploids (Pala *et al.*, 2008). Such a phenomenon could also be responsible for the reproductive phenotype of the *C. eos x eos-neogaeus* hybrids. Under the same conditions as *S. alburnoides*, we would expect triploid hybrids with a triploid mother to be more similar to *C. eos* than any other hybrids. Indeed, diploid females would express both haplomes in their gonads and produce hybrid offspring with a strong maternal influence from both species. However, triploid females producing hybrids would express mostly or exclusively *C. eos* haplomes in their ovaries, influencing the development of their offspring. Interestingly, this study suggests that the offspring in question would include the triploids with a MH phenotype, which are the only somewhat sexually reproducing hybrids in this complex.

More recently, however, genome dosage and non-additive expression patterns at different ploidy levels have been investigated in numerous hybrids, with varying results. For example, in *Cobitis* hybrids, it was shown that the intermediate phenotype in hybrids was mostly due to the combination of individual genes with dominant expression, rather than from additivity directly (Bartoš *et al.*, 2019). Furthermore, they found that crosstalk between trans-regulatory elements

appeared to be affected by genome dosage. This suggests that polyploidization may have important effects by altering the ratio between trans-regulatory elements and their binding sites. Other studies have also found homeolog expression dominance in allopolyploids due to mismatches between trans-effectors and their target (Bottani *et al.*, 2018). Moreover, in the cotton, such expression biases were found to differ between the natural and synthetic allopolyploids (Grover *et al.*, 2012; Yoo *et al.*, 2013). Thus, intricate elements are at play regarding the expression of genes in allopolyploids, and further research is needed to determine precisely how genome expression might be influenced by maternal effects in this situation.

Interactions between ploidy and environment may also indirectly affect maternal and offspring phenotypes. While maternal care is rare in most oviparous bony fishes (Gross et Sargent, 1985), females of different ploidy levels may exhibit different behaviors or occupy different ecological niches. Many fishes have shown different growth rates and sizes at maturity depending on their ploidy level (Piferrer *et al.*, 2009), which may result in differential niche selection. Such variation among mothers could lead to differences in gonadal and oocytes environment even before eggs are released from the female.

Overall, the results of this study shed light on the origin of the determination of different reproductive pathways in the triploid hybrids of the *C. eos-neogaeus* complex. According to these new data, it is possible to organize the numerous biotypes of this complex into a sequential, generational structure (Figure 3.4). Hybridization between a *C. eos* male and a *C. neogaeus* female results in to the first diploid, gynogenetic hybrid (EN) of a given lineage. In addition to diploid clones, the gynogenetic female produces triploid individuals that will develop the AH reproductive pathway (E'EN). Upon reaching maturity, these triploid females will produce both diploid gynogens and triploid females (E*EN), except that this time, triploids will develop the MH

reproductive pathway. In turn, this generation of triploid hybrids will produce sexually reproducing cybrids. Therefore, while diploid females can produce more gynogens in a loop, triploids are bound to break the hybrid cycle after one generation, following a path previously proposed by Lamatsch et Stöck (2009).

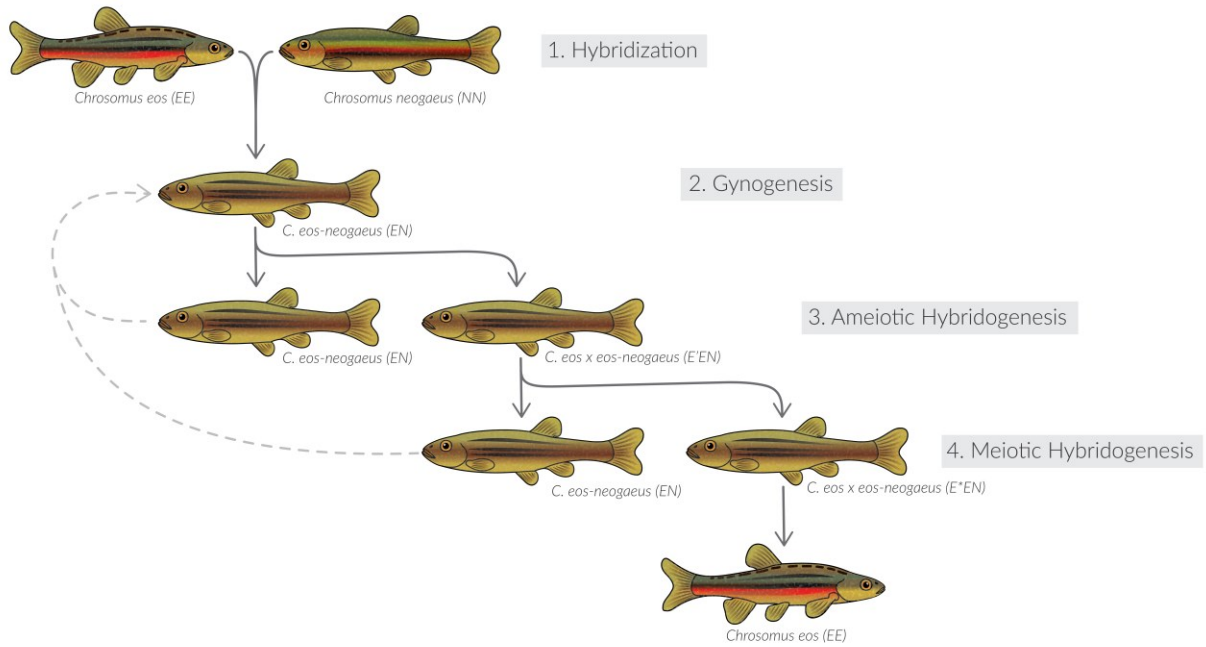


Figure 3.4. Sequential structure of the hybrid biotypes in the *C. eos-neogaeus* complex. 1) An ancestral hybridization event between a *C. eos* male and a *C. neogaeus* female leads to a diploid, clonal hybrid lineage (EN). 2) Under gynogenesis, the production of clonal hybrids as well as triploid hybrids (E'EN, where E' is the paternal haplome) is possible for diploid hybrids. 3) The first generation of triploid females (E'EN) produced by the diploids perform ameiotic hybridogenesis. This once again leads to the production of diploid and triploid hybrids by rejecting the E' haplome. 4) The second generation of triploid females (E*EN), having triploid mothers, then perform meiotic hybridogenesis after rejecting the *C. neogaeus* haplome they carry. This would lead to the end of the hybrid production cycle on the side of the triploids.

Interestingly, following the “balance hypothesis” proposed by Moritz *et al.* (1988), the establishment of such hybrids (especially asexual forms) was found to be related to the genetic divergence between the parental species (Reviewed in: Janko *et al.*, 2018; Stöck *et al.*, 2021). This hypothesis stated that asexual reproduction – the production of clonal or semi-clonal gametes –

occurs in hybrids with parents of the right phylogenetic distance; not too close, not too far. Our results suggest that not only parental genetic divergence, but also epigenetic effects are important in directing hybrid gametogenesis, thus adding more depth to this concept.

It is also worth noting that the differences observed in the reproductive pathways among the triploid are the results of progeny genotyping (Lafond *et al.*, 2019). Thus, it is possible that all hybrids of this complex produce more than one cell type, but that only oocytes of a given type survive through gametogenesis. This has already been observed in other complexes using mainly cytogenetical analyses, including *Cobitis* and *Misgurnus* hybrids (Dedukh et Krasikova, 2022; Dedukh *et al.*, 2021; Dedukh *et al.*, 2023; Marta *et al.*, 2023).

Interestingly, approximately half of the offspring in *C. eos-neogaeus* diploid females are triploid (Goddard et Dawley, 1990). Furthermore, estimates of the frequency of triploids in natural populations are not significantly different from 50% (Leung et Angers, 2018), based on two separate samplings totaling nearly 500 hybrids (Massicotte *et al.*, 2011; Vergilino *et al.*, 2016). According to Leung et Angers (2018), triploids of the *C. eos-neogaeus* complex could be considered as the equivalent of males in sexual organisms (Maynard Smith, 1978). Indeed, triploid females were not expected to produce hybrid clones in the same way that males do not produce offspring themselves in sexual species. This reproductive handicap is expected to limit the demographic expansion of the clones and, consequently, limit the extinction of sexual species that act as sperm donors. Contrary to the expectations of this hypothesis, Lafond *et al.* (2019) found that a proportion of triploid hybrids (AH phenotypic females) in this complex also produced diploid hybrids. However, the sequential production of triploids (AH then MH) inferred in the current study suggests that triploid females only spread the hybrid genome on a single generation.

This, therefore, sheds new light on the demographic handicap hypothesis proposed by Leung et Angers (2018).

The speculative evolutionary transition (sexual to asexual to sexual again) was already proposed by (Lamatsch et Stöck, 2009), however, the two proposed mechanisms were of genetic origin. The first hypothesis followed the balance hypothesis, which stated that reproductive pathways (clonal or not) would depend on the parental phylogenetic distance. The second concerned the potential genome shuffling, recombination, and introgression caused by paternal leakage in hybrids, which were hypothesized to increase the compatibility between hybrids and the sexual species, eventually leading back to sexual reproduction. Our results thus add a new process behind such a reproductive diversity in hybrids, where maternal effects are a promoter of such transition, allowing the complex to relieve pressure on the sexual species by stopping the hybrid production loop.

As many systems with multiple ploidy levels are known, it is possible that similar maternal ploidy effects may be found in other hybrid systems. Whether or not it affects their reproductive pathways, these results show that maternal effects have the potential to affect development in these organisms in a non-negligible way. Therefore, these effects should also be investigated in other hybrid complexes in future research.

3.6 Conclusion

Maternal effects are known to exert a wide range of influences on multiple phenotypic traits, resulting from numerous potential factors. The results of this study therein add maternal ploidy and reproductive pathways as an additional cause and effect, respectively, to this process. Furthermore, the fact that epigenetic loci associated with reproductive phenotypes were detected in adult cardiac tissues suggests that differences due to maternal ploidy are at least partially

maintained through growth but, more importantly, are likely to affect numerous components throughout the organism. While reproduction has been the focus of this study, it is then expected that other differences will be found at the physiological, behavioral, and/or morphological level. How and to what extent maternal ploidy affects the development of organisms is of great importance due to the fundamental role of phenotypic variation in ecology and evolution.

3.7 Acknowledgments

We are grateful to Christelle Leung for statistical advice and to Tatiana Menicucci for the pictures on which Figure 3.3B is based. This research was performed under institutional animal care guidelines (permit #18-019, #19-021 and #21-023 issued by the Université de Montréal) and conforms to the mandatory guidelines of the Canadian Council on Animal Care. Sampling permits were provided by the Quebec Ministry of Natural Resources and Wildlife (MRNF). This research was supported by a research grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) to BA (#RGPIN-2020-04954). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Chapitre IV

4. L'asexualité façonne des traits animaux

Asexuality shapes animal traits

Joëlle Lafond¹, Christelle Leung² et Bernard Angers¹

¹ Département de Sciences Biologiques, Université de Montréal, Montréal, Québec H3C 3J7
Canada.

² Institut Maurice Lamontagne, Pêches et Océans Canada, Mont-Joli, QC, Canada.

Statut

En révision à *Nature Communications*

Format modifié pour les besoins de la présente thèse

Contributions

JL a planifié/conçu l'étude, réalisé les expériences, acquis les données et réalisé les analyses statistiques, préparé les figures/tableaux, rédigé le manuscrit et approuvé la version finale. CL a contribué à la conception et aux analyses statistiques, a révisé le manuscrit de manière critique et a approuvé la version finale. BA a planifié/conçu l'étude, a fourni des réactifs/matériels, a fourni des conseils, des idées et une contribution intellectuelle tout au long de l'étude, a révisé de manière critique le manuscrit et a approuvé la version finale.

4.1 Summary

Animal morphology can be influenced by several factors. Among these, gonadal development and gametogenesis are known to be involved in the development of many secondary characteristics (Sharpe, 2001). Although these effects are well documented in male and female differentiation, much less is known about same-sex effects of sexual and asexual reproduction. Despite numerous studies on the subject, satisfactory answers have been elusive due to multiple confounding factors (Carter *et al.*, 2012; Kearney et Shine, 2004; Parker *et al.*, 2019a; Petrović *et al.*, 2015; Schwander *et al.*, 2013; van der Kooi et Schwander, 2014). Using geometric morphometric analyses, we compared two groups of all-female triploid hybrid fish (*Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*) that differ only in their sexual and asexual mode of reproduction and demonstrated that differences arise from factors inherently associated with reproductive strategies. We uncovered the same shape differences between sexual and asexual individuals, in both triploids and closely related sexual (*C. eos*) and asexual (*C. eos-neogaeus*) references. In addition to advancing developmental biology research, these findings have important implications for the ecology of asexual organisms as the affected traits may modify their ecological niche and fitness. Furthermore, our findings contribute to the study of sex evolution by adding complexity to the *paradox of sex* theory. Finally, they revisit the considerations of the costs and benefits of both reproductive strategies, which have mostly been of a demographic, population genetic, or genetic nature (Bell, 2019; Hörandl, 2013; Maynard Smith, 1978; Otto, 2009).

4.2 Introduction

4.2.1 Main

Sexuality (hereafter referred to as sex), characterized by genetic mixing, meiotic reduction, and effective fusion of two different genetic materials, has been a successful adaptation that arose in the last eukaryotic common ancestor (Goodenough et Heitman, 2014) and provided populations with an efficient mechanism to cope with fluctuating environments (Becks et Agrawal, 2012; Luijckx *et al.*, 2017). However, the frequent reappearance of asexuality (hereafter referred as asex), either as an obligate or a facultative reproductive strategy, suggests that it also has advantages under certain conditions. Indeed, asexual reproduction is more flexible than its counterpart and is characterized by a wide variety of processes across taxa, producing offspring from mitotic divisions or from gametes with little to no genetic shuffling or genome reduction (de Meeûs *et al.*, 2007; Engelstädter, 2008).

The *paradox of sex* describes this counterintuitive fact: although asexual reproduction appears to have many advantages, sexual reproduction still dominates in most eukaryotes, suggesting that benefits must outweigh costs (Otto et Lenormand, 2002). Considerations of the costs and benefits of sexuality and asexuality have often been of demographic, population genetic, or genetic nature (Bell, 2019; Hörandl, 2013; Maynard Smith, 1978; Otto, 2009). However, another underappreciated component of this paradox is the developmental cost of each reproductive strategy to the individual itself. For example, meiotic reduction in animals results in eggs that are smaller than their asexual counterparts (Arai *et al.*, 1999; Uzzell *et al.*, 1975; Zhang *et al.*, 1998). This either reduces the cost of producing a given number of eggs or results in a higher number of eggs for the same energetic cost (Gould *et al.*, 2022). Thus, asexual females are expected to make a trade-off in their energy allocation, potentially leading to inherent changes in their

development. Furthermore, asexual reproduction leads to variations in or around the meiotic process, which in turn result from differences in gene expression compared to their sexual counterparts (Huylmans *et al.*, 2021; McElroy *et al.*, 2022; Parker *et al.*, 2019a, b), which may consequently affect their development.

In addition to the reproductive structures themselves, does asexuality inherently alter the shape of somatic traits in animals? While this question has been the subject of many studies, none have provided a satisfactory answer due to multiple confounding factors. For example, studies comparing sex and asex exclusively in different species (Parker *et al.*, 2019a), lineages (Petrović *et al.*, 2015) or ploidies (Kearney et Shine, 2004), leave the effects of genetic variation intertwined with those of reproductive strategies. Sexual selection has also been shown to confound results. Because parthenogenetic females do not require a mate to reproduce, sexual selection is relieved and may explain differences with closely related sexual species or lineages (Carter *et al.*, 2012; Schwander *et al.*, 2013; van der Kooi et Schwander, 2014).

Thus, the inherent shape of reproductive strategies can be elusive and difficult to isolate. To our knowledge, no published study in animals has the potential to distinguish whether the observed divergence between asexual and sexual females is due to their reproductive strategy or to confounding factors. In this paper, we aim to determine whether sexual and asexual gametogenesis are associated with an inherent shape.

4.2.2 Study system

To address this objective, we performed geometric morphometric analyses in the *Chrosomus eos-neogaeus* fish complex, which is characterized by the presence of all-female hybrids with distinct reproductive pathways (**Figure 4.1**). We focused on two groups of triploid hybrids which exhibit both sex and asex and in which the known confounding factors are absent.

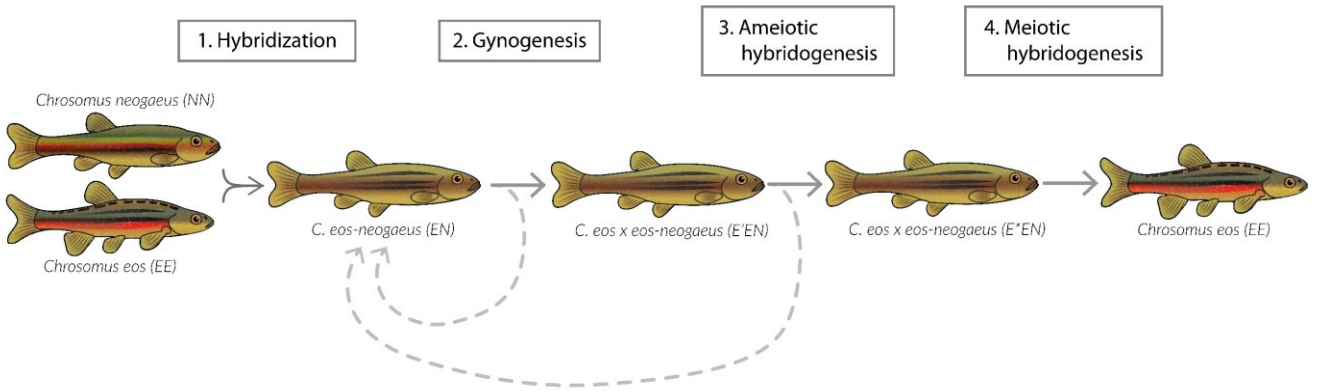


Figure 4.1. *Chrosomus eos-neogaeus* fish complex. Hybridization events between *C. eos* (EE) and *C. neogaeus* (NN) resulted in diploid hybrids (EN) that reproduce asexually by gynogenesis: unreduced eggs require sperm from males of a close species, such as *C. eos*, to initiate development (Dawley *et al.*, 1987). The sperm haplome (E') may or may not be incorporated into the embryo (paternal leakage), resulting in either triploid individuals (E'EN) or diploid clones identical to their mother (EN) (Dawley *et al.*, 1987; Goddard et Dawley, 1990; Goddard et Schultz, 1993). The first generation of triploids reproduce asexually: they reject the sperm haplome (E') before meiosis and produce eggs with the hybrid genome (EN), in a process called *ameiotic hybridogenesis* (Lafond et Angers, 2023; Lafond *et al.*, 2019). Again, the sperm haplome (E*) may or may not be incorporated into the embryo, leading to triploid (E*EN) or diploid individuals. These second-generation triploids reproduce sexually: they reject the *C. neogaeus* haplome (N) before meiosis and produce reduced *C. eos* haploid eggs in a process called *meiotic hybridogenesis* (Lafond et Angers, 2023; Lafond *et al.*, 2019). Fertilization by a *C. eos* sperm results in the production of *C. eos* individuals. Legend: Solid lines indicate fusion of the paternal genome with the maternal genome in the embryo; dashed lines indicate exclusion of the paternal genome from the embryo.

The sex and asex triploids of this complex are a prime model for the purpose of this study. They both occurred following the integration of a *C. eos* haplome into a clonal hybrid genome. Thus, in a given hybrid lineage, triploids differ from each other by one haplome inherited from their fathers. However, since the paternal genome comes from the same population of *C. eos*, there is no difference in the genetic composition of the two groups of triploid hybrids. Both triploid groups show a modified gametogenesis starting with the rejection of one haplome to form diploid cells, followed by meiosis leading to the production of gametes with or without genetic reduction. All triploid hybrids are also expected to be under similar sexual selection since they are all females and must compete for the sperm of the same males to trigger the development of their eggs. They

reproduce at the same time, coexist in the same environment (Lafond *et al.*, 2019), and spermatozooids from males of a close species (often *C. eos*) are required for cytosolic components (asex) and as additional genetic material (sex). Thus, sexual selection is expected to be homogeneous amongst all-female hybrids and their female sexual counterparts. Finally, such triploid lineages cannot have developed specific adaptations to their asexual or sexual mode of reproduction since neither group persists more than a single generation in nature (Lafond et Angers, 2023). Therefore, if triploids exhibit shape differences, these are expected to spontaneously result from factors associated with the reproductive strategies.

4.3 Results

4.3.1 Shape differs between triploids

We first tested the hypothesis of morphological differences resulting from reproductive strategy by analyzing the shape of these genetically similar triploids in their natural environment. We compared the morphometric portrait based on 9 landmarks and 40 semi-landmarks of the anterior part of sexual and asexual adult triploid hybrids (**Figure 4.2a**). To increase the reliability of the results, we analyzed two genetically distinct lineages from different habitats: A-11 (creek) and B-01 (lake) (Vergilino *et al.*, 2016).

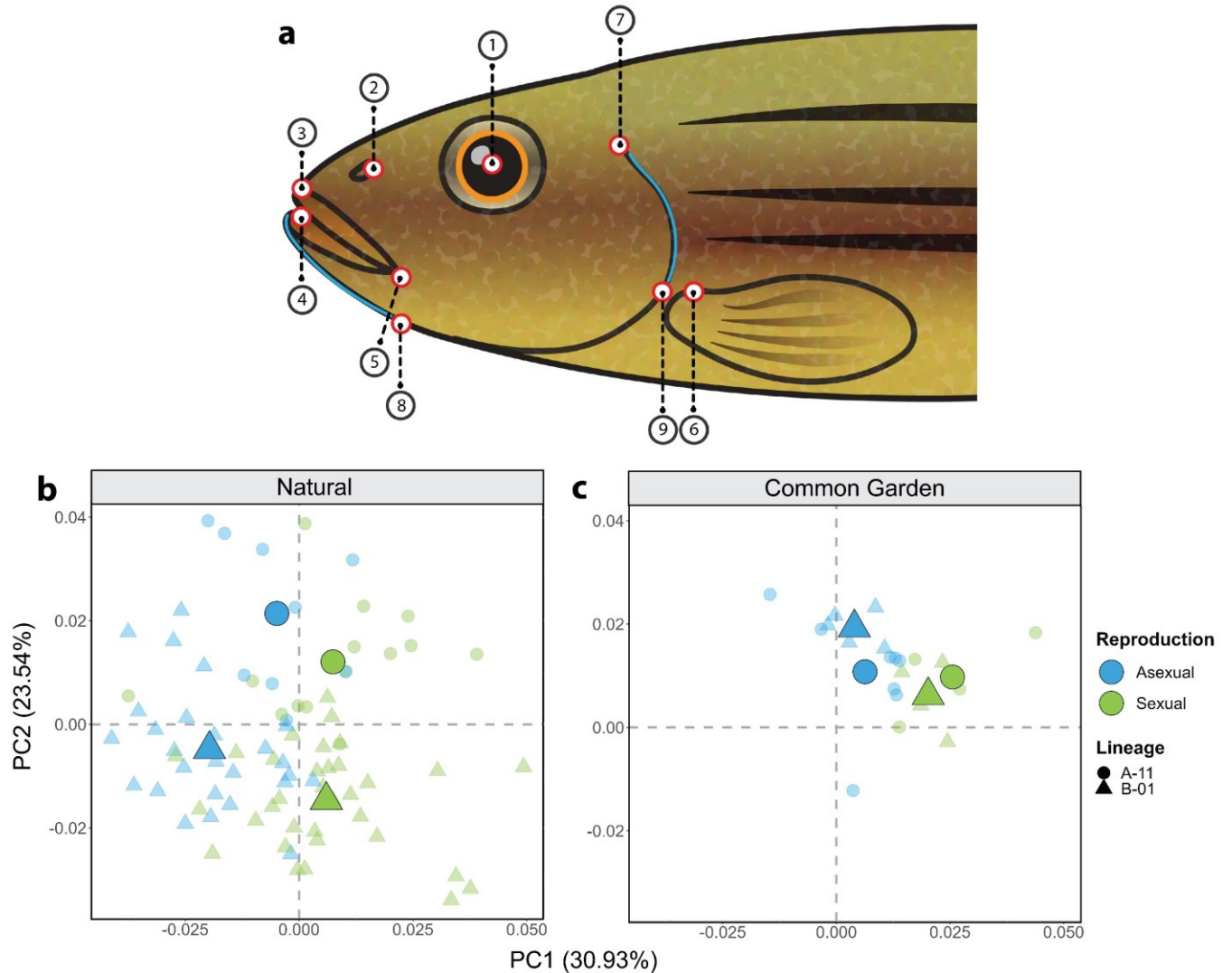


Figure 4.2. Shape variation of sex and asex triploid females. **a**, Landmarks placement. Open red dots and blue lines represent the landmarks (1-9) and the semi-landmarks, respectively, used in this study. For the semi-landmarks, 15 were used on the chin curve and 25 on the operculum curve. **b** and **c**, Shape variation. Principal Component Analysis (PCA) of the two hybrid lineages (A-11 and B-01, shape) with individuals originating from two natural habitats (creek and lake, respectively) (**b**) or from common garden conditions (**c**), and according to their reproductive strategy (color). In both **a** and **b**, small data points represent individuals, while large data points represent centroids. While a single PCA was performed among all samples, two panels according to environments were used to represent the ordination, for more clarity.

We first determined how triploids clustered, according to their shape, by partitioning individuals of each lineage into two groups (expected to discriminate sexual and asexual individuals) using a k -means clustering analysis. This partitioning resulted in a high proportion (65.2% for A-11, $n=23$ and 81.4% for B-01, $n=59$) of triploid individuals successfully assigned to their own reproductive strategies considering only morphological traits. Even though individuals belonged to distinct lineages (genetically different) and originated from different habitats (lake/creek), a principal component analysis (PCA) showed that the main axis of variance in the measured shape was related to the reproductive strategies (**Figure 4.2b**), while genetic differences between lineages were observed only along the second axis. A multivariate linear regression by redundancy analysis (RDA) confirmed reproductive strategy as the most important factor explaining shape variation (Adjusted $R^2=10.20\%$, $p\leq 0.0001$, **Extended Data Table 4.I**) compared to lineages (Adj $R^2=4.81\%$, $p\leq 0.0001$) and size (Adj $R^2=2.13\%$, $p=0.0055$). These results suggested a specific shape associated with sexual and asexual reproduction, that could be discriminated from the effects of lineages/habitats.

4.3.2 Differential survival does not drive shape

To determine whether differences between hybrids resulted from the effects of reproductive strategies on the development of these traits, we first had to rule out the possibility that morphological differences were driven by differential survival due to the influence of environmental conditions. To this end, we used individuals of the same two lineages reared together in a common garden setting from a previous study (Leung *et al.*, 2018). Nearly all individuals transferred from natural conditions at the larval stage survived the five months of the experiment, suggesting no selection due to the artificial environment (de Villemerueil *et al.*, 2016).

The next analyses were therefore to determine whether the morphological differences observed in natural conditions persisted in such common garden.

All individuals reared in controlled conditions were successfully assigned to their reproductive strategies using the *k*-means clustering analysis (A-11 n=12; B-01 n=9) and a clear difference in the shape of sexual and asexual individuals for both lineages can be observed along the first axis of the PCA (**Figure 4.2c**). Again, an RDA confirmed the determining effect of the reproductive strategies (AdjR²=22.17%, p≤0.0001, **Extended Data Table 4.I**) whereas genetic differences between lineages had only a limited effect on shape (AdjR²=3.96%, p=0.0337). In absence of mortality during the experiment, such discrimination between sex and asex ruled out the possibility that morphological differences in triploids were the result of differential survival. This suggested that the effects of reproductive strategies on development were responsible for the difference on their traits.

4.3.3 Effects of reproduction on shape

We then assessed which traits among all the landmarks were specifically affected by sex and asex. To disentangle the effect of reproductive strategies from the effect of environment on shape variation, we compared individuals of both lineages from natural and common garden conditions. First, we used a model selection based on constrained ordination to objectively select a subset of explanatory variables to explain the measured morphological variation. We confirmed the determining effect of reproductive strategies (AdjR²=8.83%, p≤0.0001, **Extended Data Table 4.I**), in addition to size (AdjR²=1.70%, p=0.0033) and environment × lineage interaction (AdjR²=1.95%, p=0.0007). Such a significant environment × lineage interaction is observed by a different natural to common garden morphological change for individuals of the B-01 lineage, compared to those of the A-11 lineage (**Figure 4.2b and 4.2c**).

Using a partial RDA to assess the marginal effect of reproductive strategy, but controlling for other covariates, we detected a significant divergence between sex and asex at 4 landmarks and 20 semi-landmarks (**Figure 4.3a**). Using sexual individuals as a reference, the eye position (#1) and the top of the operculum (#7) of asex were located more dorsally, while the pectoral fin (#6) and the end of the operculum (#9) were displaced ventrally. This resulted in the development of a larger operculum in the asex. In addition, semi-landmarks describing the curve of the operculum (from 25 to 49) were significantly different between reproductive strategies (except #39-43 in the middle of the structure), highlighting the global shift of the operculum curve toward the posterior region of the asex females. These differences could be observed on specimens (**Figure 4.3b**).

The structures in the anterior part of the head (nostril, mouth and chin) did not change significantly according to the reproductive strategies. However, they are strongly influenced by genomic composition and environmental conditions as observed previously (Leung *et al.*, 2018; New, 1962). These results underline the heterogeneous response of the analyzed structures due to genetic and environmental components, while the difference between sex and asex remained the same.

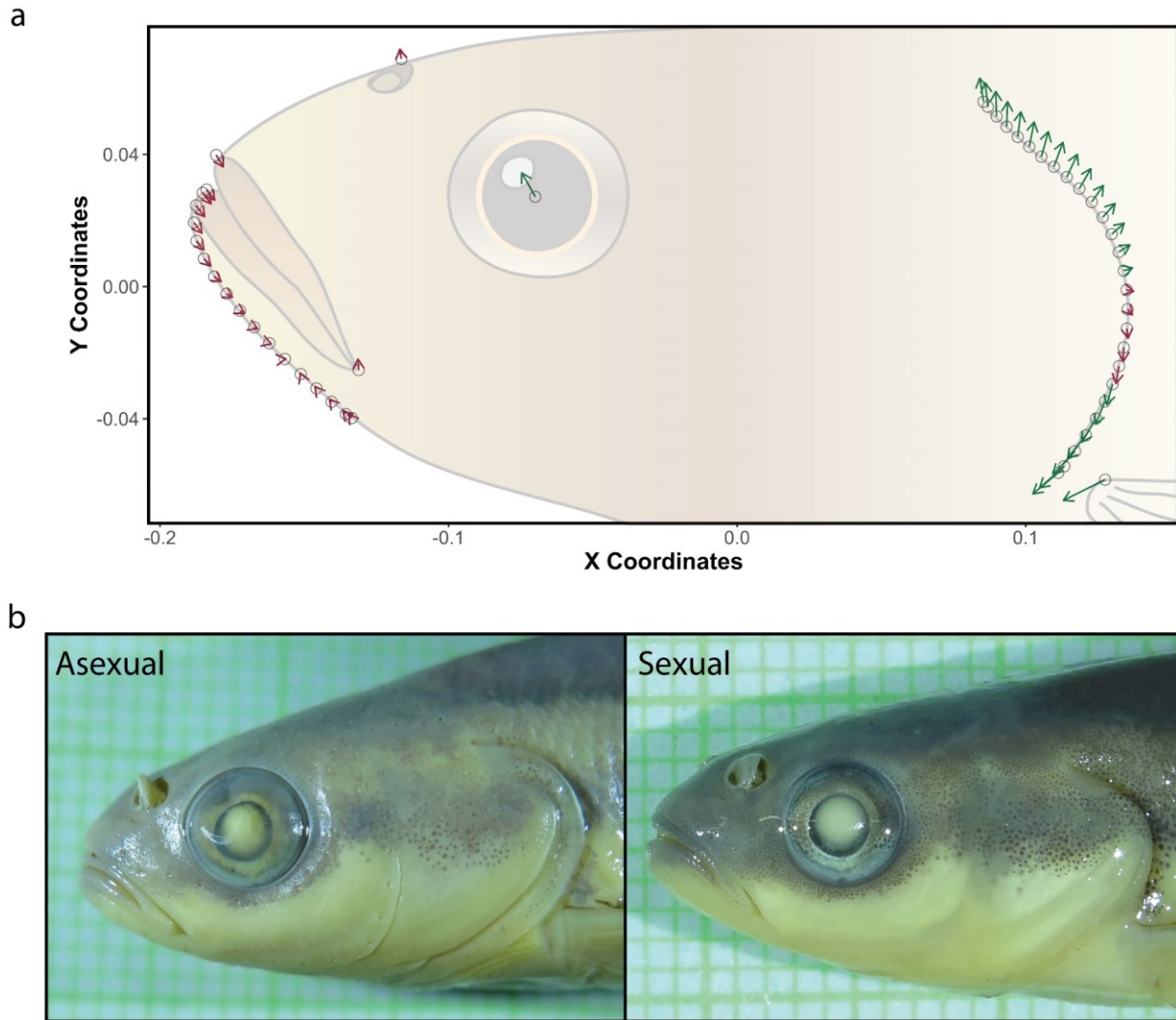


Figure 4.3. Shape changes according to reproductive strategy. **a**, Marginal effect of reproductive strategy on shape variation. Landmark deviation from sexual to asexual forms (arrows, not magnified), when controlling for size and environment \times lineage interaction. Green and red arrows represent respectively significant ($p \leq 0.05$) and nonsignificant ($p > 0.05$) difference between sex and asex for each landmark after Bonferroni correction. Landmarks points are gray filled, while semi-landmarks are empty. **b**, Asexual and sexual individual head photographs. Typical lineage B-01 asexual triploid (left) and sexual triploid (right), from the natural habitat are shown to highlight the difference at the level of the operculum. The graph paper behind the subjects shows 1 mm^2 squares.

4.3.4 Gametogenesis changes shape

The morphological differences detected between sex and asex triploids could arise from two distinct mechanisms: the mechanism of targeting and excluding one of the haplomes (i.e. the *C. neogaeus* haplome in sexual hybrids; the *C. eos* haplome in asexual hybrids), or the mechanism related to gametogenesis itself (i.e. reduction or non-reduction of gametes content). To disentangle these mechanisms, we included in the analyses two diploid members of the complex as references for reproductive strategies: the sexual parental species *C. eos* and asexual diploid hybrids (B-01 lineage only), from both natural and common garden conditions. Since these additional forms did not reject a haplome prior to meiosis, our prediction is that if the factors responsible for the differences in shape are inherent to the production of unreduced gametes, both diploids and triploids will exhibit the same morphology for a given reproductive strategy.

Using the landmarks significantly correlated with reproductive strategy, we determined whether reproductive strategies explained shape variation across all members of the fish complex. Variation partitioning indicated that differences between sex and asex members explained the higher proportion of the total variation ($\text{AdjR}^2=8.21\%$, $p\leq 0.0001$, **Extended Data Table 4.I**). Environmental conditions ($\text{AdjR}^2=5.79\%$, $p\leq 0.0001$), lineages ($\text{AdjR}^2=2.53\%$, $p\leq 0.0001$) and size ($\text{AdjR}^2=2.29\%$, $p\leq 0.0001$) were also retained. Such major effect of reproductive strategy was illustrated by sex individuals occupying different morphospace than asex: sexually reproducing individuals were located to the right of asex in the PCA ordination (**Figure 4.4**).

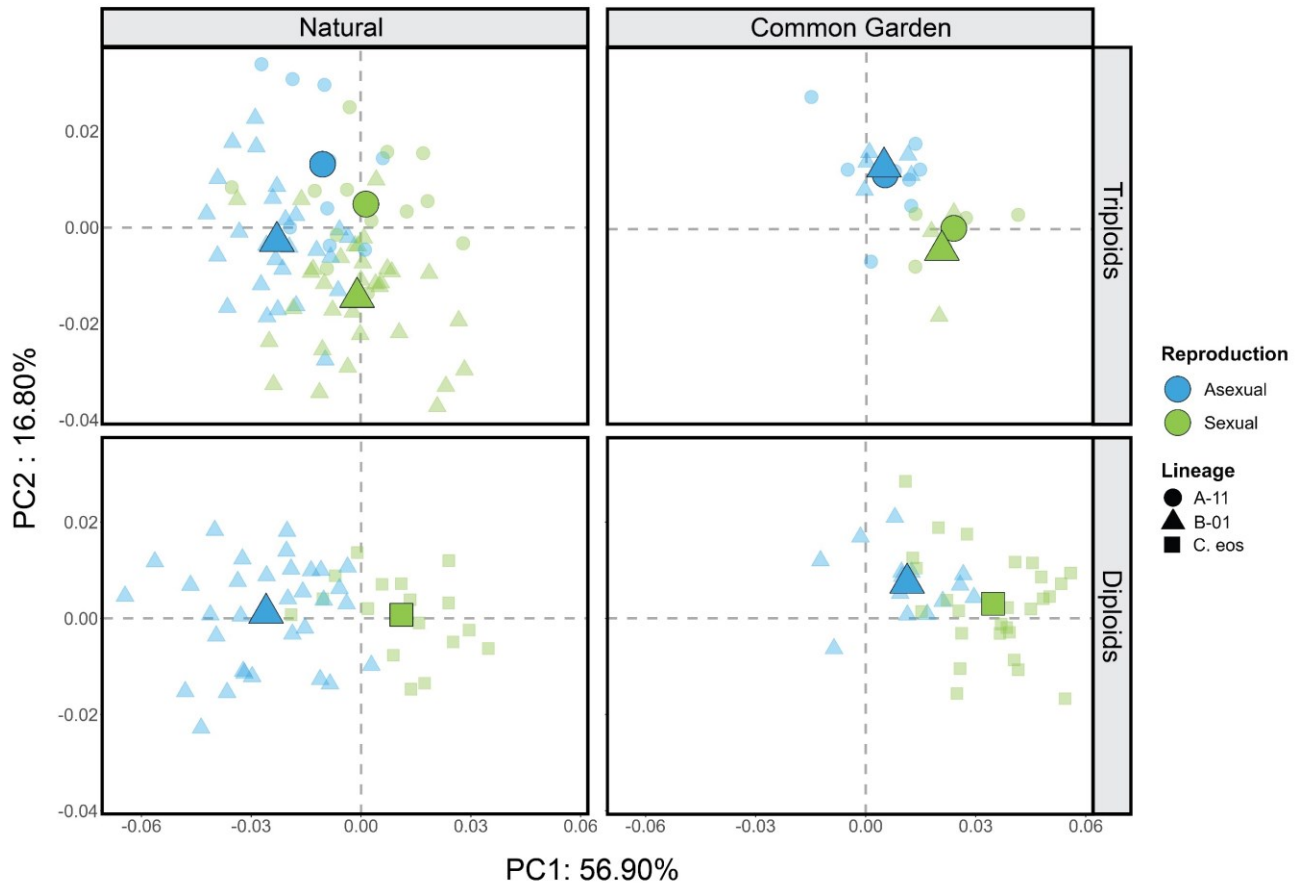


Figure 4.4. Shape variation according to reproductive strategies in all members of *C. eos-neogaeus* fish complex. PCA from all individuals in both natural and common garden conditions, with lineages (shape) and reproductive strategy (color) highlighted. Small data points represent individuals, while large data points represent centroids. While a single PCA was performed among all samples, four panels (according to environments and ploidy) were used to represent the ordination, for more clarity.

As expected from our prediction, the ploidy variable was not retained by the multivariate model selection (nor its interaction with other components), indicating that differences between diploids and triploids do not affect the shape, especially in asexual individuals. In fact, for a given condition, asexually reproducing hybrids (both diploid and triploid) could not be morphologically distinguished (pairwise analyses $p > 0.8984$, **Extended Data Table 4.I**). Sexual triploid hybrids were different from *C. eos* in natural conditions ($p = 0.0004$), but not in the common garden ($p = 0.2360$). This result suggests that differences between sexual triploid hybrids and *C. eos* may

be a consequence of a different habitat use under natural conditions, rather than genetic differences between these two biotypes. Overall, these results showed a clear morphological convergence of traits according to reproductive strategy, demonstrating that trait differences are not specific to triploid hybrids, but are found globally as an inherent shape of reproductive strategy in all females of this fish complex.

4.4 Discussion

The morphometric analyses conducted on triploid hybrids *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus* revealed a clear shape differentiation between sexually and asexually reproducing individuals. This difference between reproductive strategies was consistently detected in genetically different hybrid lineages, under different environmental conditions, and when compared to genomically different members of this complex encompassing different ploidy (*C. eos* and diploid hybrids).

We ruled out differential survival as a cause of sex and asex differences, since individuals reared in a common garden show the same differences. Furthermore, diploid and triploid asexually reproducing hybrids reared in a given environment could not be morphologically distinguished, indicating that the additional genome of triploid hybrids, as well as the mechanism leading to the exclusion of the paternal haplome prior to meiosis, have no detectable effect on the measured morphological traits. Taken together, these results indicate that morphological differences are the consequence of altered gametogenesis in the asex hybrids.

In order to produce clonal eggs, modification of gametogenesis is required, often including mechanisms that allow duplication of the genome of the reproductive cells prior to meiosis (premeiotic genome endoreplication) (Dedukh *et al.*, 2021). The resulting unreduced (or partially

reduced) oocytes are then larger and less abundant (Lafond et Angers, 2023) than those of sexually reproducing females. This fundamental difference with sexual organisms is expected to lead to a trade-off between either less abundant, larger eggs, or more abundant, smaller eggs. The consequence of such a dichotomy in gametogenesis may lead to a domino effect, influenced by hormones and gene expression, to the observed variation in development. How these changes occur and whether they are direct modification or a by-product of the modification of another trait have not been addressed and remain unclear, but open the doors to further research in developmental biology.

Morphological differences between sex and asex individuals mostly affected operculum size and shape, with asexually reproducing females having a larger operculum than their sexually reproducing counterparts. Operculum shape has been well documented, and is known to be ecologically relevant in trophic and habitat specialization of fishes, affecting for example their attractiveness to mates, swimming performance, niche adaptations, detection by prey, and susceptibility to predation (Arif *et al.*, 2009; Hulsey *et al.*, 2018; Kimmel *et al.*, 2012). The results of this paper have thus far reached implications well outside the complex studied. This inherent developmental dichotomy between sexually and asexually reproducing individuals suggests that they may occupy different ecological niches. A niche shift resulting from the development of a specific morphology according to reproductive strategies in genetically similar groups of hybrids is expected to reduce competition between sex and asex, which in turn may alleviate the costs of asexual and sperm-dependent organisms on the sexual populations. Indeed, in addition to negatively impacting the demography of the sexual species by stealing the gametes of the males, they also compete with them for other resources (Janko *et al.* (2023) and references therein). In both cases, niche shifting may facilitate the coexistence between sex and asex by reducing

competition, but also by limiting the demography of asex according to the productivity of that particular niche. The findings of this paper suggest that asexually reproducing hybrids may actually have a lesser impact on sexual females than previously thought, by occupying a somewhat different ecological niche than the sexual species.

Morphological changes may also be a potential cost in asexual organisms. Changes in traits associated with gametogenesis could impair the ability of individuals to interact with the environment, thereby reducing fitness as a result. This may in part explain why asexual lineages that emerge in a sexually reproducing species have a hard time establishing themselves (de Vienne *et al.*, 2013).

These findings have broad implications for how sex and its costs are viewed. The *paradox of sex* focuses mostly on how offspring are produced, what Maynard Smith (Maynard Smith, 1978) called the "cost of males", and its genetic diversity to face environmental changes. The results of this study suggest an additional potential cost of asexual reproduction: an ecological niche shift or a reduction in fitness in the niche of sexual organisms, adding more layers to the *paradox of sex* concept.

4.5 Methods

4.5.1 Samples

All individuals used in this study were already part of the laboratory's ethanol-preserved collection and were sampled according to institutional animal care guidelines and in accordance with the mandatory guidelines of the Canadian Council on Animal Care. Hybrid and *C. eos* fish from the natural environments were collected from Desjardins Lake (B-01 lineage; Quebec, Canada; 45.91693, -74.07292) and Halfway Creek (A-11 lineage; Quebec, Canada; 45.04337, -72.36199) (Leung *et al.*, 2018). The sample totalized 193 females (**Extended Data Table 4.II**). Within a given sampling site, all hybrids belong to the same lineage (Vergilino *et al.*, 2016); therefore, all diploids are clonal, and triploid individuals only differ by their one paternal *C. eos* haplome.

Specimens from natural environments were sexually mature and collected during their reproductive season, while those from the common garden were younger (approximately 5 months old) (Leung *et al.*, 2018). To select only true diploid and triploid females, ploidy was confirmed using six microsatellite markers: four on the *C. eos* genome and two on the *C. neogaeus* genome (Vergilino *et al.*, 2016). Suspected mosaic individuals (with a mixture of diploid and triploid cells (Dawley et Goddard, 1988)) were excluded from the study. The reproductive phenotype of triploid individuals (sex or asex) was assessed according to the egg size following the procedure in Lafond and Angers (Lafond et Angers, 2023).

4.5.2 Morphological data acquisition

High-resolution digital photographs were taken on the left side of the anterior part, with specimen orientation following the horizontal axis. Landmarks were placed and samples scaled using the tpsDIG2 program (Rohlf, 2006) (**Supplementary Data I**), by a single observer to minimize

measurement error/variation. Samples were randomly organized to reduce bias in landmark positioning.

Shape was assessed with 9 homologous “fixed” landmarks and 40 sliding semi-landmarks (Bookstein, 1991; Bookstein, 1996, 1997; Gunz et Mitteroecker, 2013) (**Figure 2a**). Landmarks were chosen for their adequacy to describe the overall head shape and were based on similar study cases (Baranov, 2020; Leung *et al.*, 2018; Østbye *et al.*, 2016). Semi-landmarks, used to describe the chin and operculum curves, were used because they have been suggested to increase statistical power in a similar setting (Collyer *et al.*, 2015). While the relationship between the chin and trophic niche is more obvious, the operculum curve was also used as its relationship to trophic niche has been previously established in cichlids (Wilson *et al.*, 2015). The two curves were delimited respectively by landmarks 4-6 and 7-9 and resampled to be equidistant. The number of semi-landmarks in both curves was chosen in a way to precisely define the shape without losing details in more complex parts of each anatomical part. While semi-landmarks may not always add much new information in statistical analyses beyond a certain number, they typically add anatomical resolution, which can be helpful in interpretation and shape reconstruction, and exceeding this threshold does not affect the results of nonparametric statistical tests (Collyer *et al.*, 2015; Gunz et Mitteroecker, 2013).

To perform downstream analyses and compare individuals purely on their shape, landmark coordinates were adjusted by a General Procrustes Analysis (GPA) (Rohlf et Slice, 1990), so that size, orientation and position were among all photographs. Minimum bending energy was used to slide landmarks during GPA (Theska *et al.*, 2020). Measurement error due to 2D parallax and landmark positioning was assessed by digitizing twice 34 randomly selected individuals, and thus placing landmarks on a total of 68 pictures. Then, a linear model was produced with *Individual*

Identity as predictor. This analysis revealed that 96.1% ($p \leq 0.0001$) of the variation was detected between individuals, leaving a small amount of within-individual variation (Fruciano, 2016).

4.5.3 Statistical analyses

To assess whether triploids were different according to their reproductive strategies, *k*-means clustering analyses (Hartigan et Wong, 1979) were performed with two groups reflecting sexual/asexual reproduction. The success of each analysis was then calculated as the proportion of individuals correctly assigned to their own reproductive strategy. Principal Component Analyses (PCA) were performed to visualize shape variation across the first principal components. We used multivariate linear models to extract the relative effects of the main variables. First, we used a model selection analysis to highlight the factors that best explained shape variation. This function used an automatic stepwise model for constrained ordination methods, with permutation tests in both forward and backward selection. We then assessed the proportion of variation explained by the factors selected in the previous step, expressed as the adjusted R^2 ($\text{Adj}R^2$) and whose significance were assessed by permutation tests using 9999 randomizations (Legendre et Legendre, 2012). We used centroid size (square root of the summed squared distances between landmarks and the centroid of the individual, as a proxy for individual size to control for potential allometry (Klingenberg, 2016)), ploidy (diploid/triploid), environmental conditions (natural/common garden), lineages (A-11, B-01, *C. eos*), reproductive strategies (sex/asex) as well as their interactions as explanatory variables, and according to the tested hypothesis (**Extended Data Table 4.II**), and shape coordinates after GPA as the response variable.

To visualize shape changes, we plotted the mean shape of both reproductive strategies of all triploid individuals, with each landmark connected by an arrow showing the trajectory of change. To assess the significance of differences in landmark positioning between sexual and

asexual individuals, we performed a partial RDA with reproductive strategies as the main fixed factor and controlling for the other factors selected by the previous automatic stepwise model (i.e., centroid size and environment \times lineage interaction included as conditional variation in the analysis). Adjustment for multiple testing was performed using a Bonferroni correction.

Statistical analyses were performed in RStudio (version 2023.6.1.524) (Posit Team, 2023), running on R4.1.3 (R Core R Core Team, 2022). GPA and mean shapes were computed using the *geomorph* package (V4.0.3) (Adams *et al.*, 2021; Baken *et al.*, 2021). Model selection and RDA analysis were performed using *ordistep* and *rda* function from the *vegan* package (Oksanen *et al.*, 2020). For other analyses (*anova*, *p.adjust* and *pr.comp*), visualization and figures, packages *stats* (R Core Team, 2022) and *ggplot2* (Wickham, 2016) were used.

4.6 Extended Data Tables

Extended Data Table 4.I. Results of the RDA and pairwise analyses. Detailed statistics for each of the four model selection analyses and subsequent variation partitioning, as well as the pairwise analysis. Adjusted p-values were corrected with a Bonferroni correction. Factors not selected in the automatic stepwise procedure were not included in the marginal effects. Factors included in the model selections were the following, when applicable: size, reproduction (reproductive strategy), environment (natural or common garden), lineage (A-11, B-01 or *C. eos*) and ploidy (diploid or triploid). Sex=organisms under sexual reproduction; Asex=organisms under asexual reproduction.

	Explanatory factors	Df	Variance	F	Pr(>F)	Adjusted R ²	Adjusted p-values
Analysis #1: Comparison of sex/asex triploids in natural conditions							
Model selection	Lineage + Reproduction + Size	3	0.00035059	12.021	0.0001	28.98%	
Marginal effects	Reproduction	1	0.00012003	12.347	0.0001	10.20%	
	Lineage	1	0.00006175	6.3521	0.0001	4.81%	
	Size	1	0.00003271	3.365	0.0055	2.13%	
	Residual	78	0.00075829				
Analysis #2: Comparison of sex/asex triploids in common garden							
Model selection	Lineage + Reproduction	2	0.00021679	4.509	0.0002	25.98%	
Marginal effects	Reproduction	1	0.00016082	6.69	0.0001	22.17%	
	Lineage	1	0.00004848	2.0166	0.0337	3.96%	
	Residual	18	0.00043271				
Analysis #3: Comparison of sex/asex triploids in both natural and common garden environments							
Model selection	Size + Reproduction + Environment × Lineage	5	0.00046405	12.828	0.0001	36.70%	
Marginal effects	Reproduction	1	0.00010619	14.6779	0.0001	8.83%	
	Size	1	0.00002632	3.6377	0.0033	1.70%	
	Environment:Lineage	1	0.00002911	4.0237	0.0007	1.95%	
	Residual	97	0.00070178				
Analysis #4: Comparison of sex and asex in both triploids and diploids							
Model selection	Size + Reproduction + Environment + Lineage	5	0.00051617	38.899	0.0001	49.67%	
Marginal effects	Reproduction	1	0.00008401	31.657	0.0001	8.21%	
	Environment	1	0.00006009	22.644	0.0001	5.79%	
	Lineage	2	0.00003050	5.7471	0.0001	2.53%	
	Size	1	0.00002536	9.555	0.0001	2.29%	
	Residual	187	0.00049628				
Analysis #5: Pairwise diploids versus triploids							
	Ploidy	1	0.00001225	1.2503	0.2654	0.44%	1

Asex in natural conditions	Residual	56	0.00054847				
Asex in common garden	Ploidy	1	0.00002305	1.3321	0.2246	1.81%	0.8984
	Residual	17	0.00029422				
Sex in natural conditions	Ploidy	1	0.00009301	7.5593	0.0001	11.81%	0.0004
	Residual	48	0.00059060				
Sex in common garden	Ploidy	1	0.00003333	2.3429	0.0615	4.28%	0.2360
	Residual	29	0.00041258				

Extended Data Table 4.II. Sampling of the study. Sample size and genomic composition of individuals used in this study (A-11 or B-01 hybrid lineages and *C. eos*) according to environmental conditions. The first hypothesis of this study used only sexual and asexual triploids from natural conditions. The second hypothesis added the triploids from the common garden. Finally, the third hypothesis added asexual diploid hybrids and sexual *C. eos* from both conditions.

	Natural Conditions			Common Garden			Total
	B-01	A-11	<i>C. eos</i>	B-01	A-11	<i>C. eos</i>	
Asexual triploids	26	9	–	5	8	–	48
Sexual triploids	33	14	–	4	4	–	55
Diploids (Asexual)	32	–	–	14	–	–	46
<i>C. eos</i> (Sexual)	–	–	17	–	–	27	44
Total	91	23	17	23	12	27	193

4.7 Acknowledgement

This research was performed under institutional animal care guidelines (permit #13-084, #19-021, #20-022 and #21-023 issued by the Université de Montréal) and conforms to the mandatory guidelines of the Canadian Council on Animal Care. Sampling permits were provided by the Quebec Ministry of Natural Resources and Wildlife (MRNF). This research was supported by a research grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) to BA (#RGPIN-2020-04954). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

4.8 Data Accessibility Statement

All data are incorporated into the article and its online supplementary material (**Supplementary Data 1**).

4.9 Code Accessibility Statement

All codes are incorporated into the article and its online supplementary material (**Supplementary Data 2**).

4.10 Author Contributions section

JL planned/designed the study, performed the experiments, data and statistical analyses, prepared figures/tables, drafted the manuscript and approved the final draft. CL contributed to the conception and statistical analyses, critically revised the manuscript and approved the final draft. BA planned/designed the study, contributed reagents/material, provided guidance, ideas, and intellectual input throughout the study, critically revised the manuscript, and approved the final draft.

Chapitre V

5. Discussion générale

5.1 Introduction

Vu l'importance capitale de la reproduction dans la persistance et l'évolution des espèces, cette thèse avait pour objectif général de mieux comprendre les mécanismes, origines et conséquences sous-jacentes aux gamétogenèses atypiques chez les vertébrés. Les différentes études de ce projet de recherche ont permis de réaliser ce but, en mettant premièrement l'emphase sur le succès reproducteur et les mécanismes de reproduction chez les hybrides triploïdes *Chrosomus eos* × *eos-neogaeus*, puis sur l'origine de la dichotomie reproductive chez ces organismes (présence de reproduction sexuée et asexuée). Finalement, une analyse de la morphologie chez les divers biotypes de ce complexe aura permis de mieux comprendre comment les voies reproductives affectent les organismes au niveau global.

Ensemble, ces projets de recherche, dont les résultats et retombées sont décrites ci-dessous, auront permis un avancement des connaissances non pas uniquement applicable aux organismes de ce complexe, mais bien de façon beaucoup plus globale. Ce chapitre final portera ainsi sur une description des principales découvertes de chaque article, puis sur une perspective sur les retombées apportées par ces nouvelles connaissances.

5.2 Résumé des principaux résultats

5.2.1 Oogenèse dans les triploïdes *C. eos* × *eos-neogaeus*

Le but de ce premier article de recherche était de caractériser le succès reproducteur chez les triploïdes *C. eos* × *eos-neogaeus*. Bien qu'on connût la présence d'hybridogenèse méiotique dans ce système, plusieurs éléments semblaient indiquer qu'il manquait une pièce du puzzle : le point le plus important étant la faible abondance de jeunes lignées de cybrides, qui suggérait que les triploïdes avaient une progéniture peu abondante ou viable. Pour mieux comprendre les dynamiques de la reproduction des triploïdes dans ce système, une analyse génétique de la progéniture de ces femelles, suivant des croisements artificiels avec des mâles *C. eos*, fut effectuée. Il était ainsi possible de déterminer, avec des allèles très variables (microsatellites), quels haplomes avaient été légués par chaque parent et d'en inférer la reproduction.

Cette étude a montré que, contrairement à l'hypothèse avancée, les triploïdes avaient un bon succès reproducteur (bien que très variable entre les individus). Cependant, ces femelles ne se reproduisaient pas entièrement comme prévu! En effet, tel qu'attendu, la présence d'hybridogénèse méiotique a premièrement été noté. Certaines femelles pouvaient donc rejeter leur haplome *C. neogaeus* avant de poursuivre leur gamétogénèse avec une méiose assez typique, léguant des œufs haploïdes devant être fécondés. Par contre, les autres femelles se reproduisaient tout autrement; elles rejetaient de leurs gamètes leur haplome *C. eos* reçu de leur père, avant de léguer le reste de leur génome de façon clonale.

Cette reproduction, nommé hybridogénèse *améiotique* (terme proposé au cours de cette thèse compte tenu de l'absence de terme correspondant), commence elle aussi avec le rejet d'un haplome, mais pas le même que pour l'hybridogénèse méiotique. En effet, si les haplomes de l'organisme sont A^1A^2B , il y a plutôt perte de l'haplome A^1 dans les cellules sexuelles de la femelle. Cet haplome provient, originellement, du père de la femelle – et donc de grand-père de la future progéniture. Il sera ensuite remplacé, après la fécondation, par l'haplome d'un mâle de la même espèce que l'haplome rejeté (A). La fécondation (et la fusion des pronoyaux) étant facultative, certains individus conservent un génome réduit par rapport à leur mère. Finalement, aucun clone triploïde n'a été observé, tel que noté précédemment par d'autres études, ce qui indique que la gynogénèse est bel et bien absente de ces femelles (Angers et Schlosser, 2007; Binet et Angers, 2005; Vergilino *et al.*, 2016). Ces femelles triploïdes peuvent donc produire une progéniture diploïde ou triploïde, mais hybride dans tous les cas.

Le tout était effectué de façon mutuellement exclusive, avec une femelle n'exécutant qu'un des deux types de reproduction et ne présentant, parmi les œufs à maturité, qu'un type de gamètes. De plus, la présence d'organismes tétraploïdes a été noté pour la première fois dans ce complexe. En effet, les femelles se reproduisant par hybridogénèse méiotique ont toutes eu quelques bébés tétraploïdes, issues de la fécondation de gamètes non réduites. Ce processus était toutefois rare, ce qui peut expliquer pourquoi ces organismes n'avaient jamais été recensé en nature. Leur taux de survie pourrait également être faible, voire nul.

Un point supplémentaire à cet article concernant cette reproduction asexuée est qu'elle ne semble pas provenir d'organismes avec des gonades mosaïques, mais bel et bien de triploïdes purs (ou avec une très faible abondance de cellules diploïdes). En effet, la présence d'organismes

mosaïques dans ce complexe (des poissons avec un mélange de cellules diploïdes et triploïdes) aurait pu être un argument contre ce nouveau type de reproduction. Un organisme possédant à la fois des tissus triploïdes et diploïdes aurait alors pu avoir des gonades diploïdes, mais être qualifié de triploïde suivant quels tissus servent à l'analyse de la ploïdie. Cependant, plusieurs éléments indiquent qu'il s'agit bel et bien de triploïdes effectuant une forme rare d'hybridogénèse.

Premièrement, il a été testé que des organismes ayant cette reproduction étaient triploïdes à la fois dans des tissus somatiques (nageoire caudale) et germinaux. Deuxièmement, admettant cependant que seul l'hybridogénèse méiotique existe dans les cellules gamétiques triploïdes de ce complexe, les options seraient les suivantes pour un ovaire mosaïque :

1. Formation de gamètes diploïdes hybrides via gynogénèse pour les cellules diploïdes ET *gamètes haploïdes produits par les cellules germinales triploïdes via hybridogénèse méiotique*; ou
2. Formation de gamètes diploïdes hybrides via gynogénèse pour les cellules diploïdes ET *non viabilité des gamètes issues de cellules triploïdes*;

Tel que mentionné plus haut, ce premier cas de figure, qui donnerait alors un mélange de la progéniture entre hybrides et cybrides, n'a pas été observé dans la progéniture. Ensuite, le second point mènerait alors à une progéniture peu abondante. En effet, si les cellules sont majoritairement triploïdes au niveau des gonades (donnant alors un génotype triploïde lors des analyses), mais que ces cellules ne donnent pas de gamètes viables, la progéniture devrait être faible. Cependant, les femelles diploïdes et triploïdes se reproduisant par hybridogénèse améiotique ont eu un nombre d'œufs et un succès d'éclosion semblable, voir meilleur pour les femelles asexuées (Figure 5.1). Ces deux caractéristiques rendent donc peu probable la possibilité que ces femelles triploïdes possèdent, finalement, des gonades diploïdes ou mosaïques.

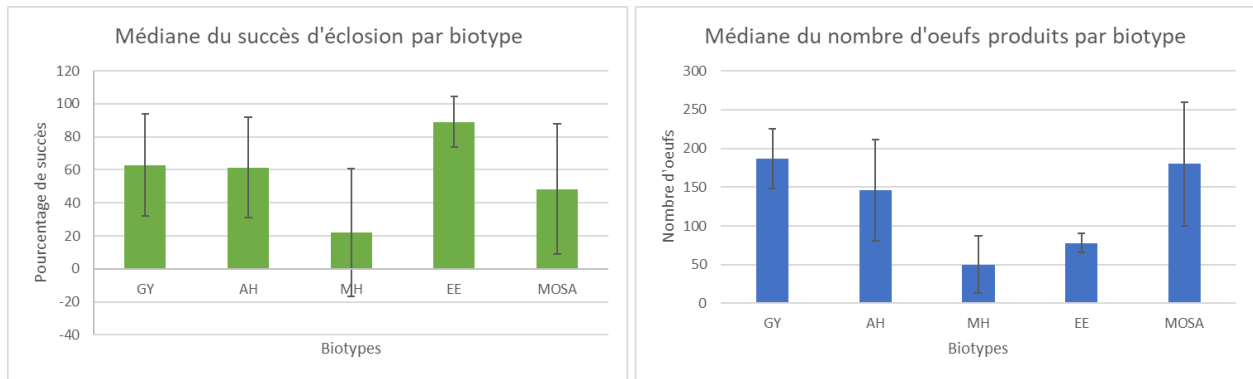


Figure 5.1. Médiane du succès d'éclosion et du nombre d'œufs produits par biotype. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. Les biotypes sont les suivants : GY (diploïdes gynogènes); AH (triploïdes se reproduisant par hybridogenèse améiotique); MH (triploïdes se reproduisant par hybridogenèse méiotique); EE (*Chrosomus eos*); MOSA (individus mosaïques diploïdes/triploïdes).

De façon intéressante, quelques femelles mosaïques confirmées ont été notées dans cette étude, avec une assez forte abondance de cellules triploïdes. Ces 3 individus ne produisaient qu'un type de gamètes (des œufs hybrides diploïdes). Suivant la discussion précédente, on peut conclure aux possibilités suivantes :

1. Ce faible échantillonnage n'a pas donné la possibilité de voir des mosaïques se reproduisant via gynogenèse et hybridogenèse méiotique;
2. Les mosaïques ne font que des gamètes diploïdes hybrides, signifiant :
 - a. Que les mosaïques gynogénétique/hybridogenèse méiotique sont infertiles, non viables ou inexistantes (pour une raison inconnue);
 - b. Que dans cette situation, les gamètes d'origine triploïdes ne sont pas viables (mais encore une fois, le succès reproducteur des mosaïques ne semble pas réellement plus bas que pour les hybrides diploïdes);
 - c. Que les gonades de ces organismes étaient entièrement constituées de cellules diploïdes – ce qui n'a pas été confirmé expérimentalement.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Goddard et Dawley (1990), qui avaient pour leur part un échantillonnage plus élevé (6 individus). Cependant, il faut mentionner qu'en absence des données concernant l'abondance relative de chaque type cellulaire dans cette étude, il est difficile de savoir si les gonades pouvaient alors être composées majoritairement de cellules diploïdes ou

non. En effet, certains mosaïques de leur étude possédaient moins de 20% de cellules triploïdes, et ils ont obtenus sur ces 6 femelles seulement 24 petits – donc il est possible que les gonades de ces individus ne comportaient pas ou peu de cellules triploïdes. Un échantillonnage plus poussé serait alors nécessaire pour éclaircir la reproduction des organismes mosaïques de ce complexe.

5.2.2 Effets maternels et reproduction dans les triploïdes *C. eos* × *eos-neogaeus*

Les résultats du chapitre précédent ont donc amené à la question suivante : quel est l'origine de la dichotomie reproductrice chez les triploïdes *C. eos* × *eos-neogaeus* ? L'hypothèse principale était la présence d'effets liés à la ploïdie maternelle. En effet, la présence de femelles diploïdes et triploïdes pouvant toutes deux donner naissance à des organismes triploïdes relevait la curiosité à ce niveau. Afin de caractériser si ce facteur était responsable de la reproduction des triploïdes, des recherches au niveau épigénétique ont été conduites sur des larves ayant des mères de ploïdie connue, et inversement sur des adultes ayant des reproductions établies. Le but était alors de voir si des marqueurs épigénétiques exclusifs à un groupe (par exemple, les larves avec des mères diploïdes) se retrouvaient, dans l'autre cas de figures, de façon exclusive à une reproduction (par exemple, seulement chez les femelles se reproduisant par hybridogenèse améiotique).

Les résultats auront ainsi montré qu'en effet, certains marqueurs épigénétiques concordaient entre un certain groupe de larves et d'adultes. Le tout signifiait donc que des effets maternels semblaient responsables de la dichotomie reproductrice observée chez les triploïdes. Les femelles diploïdes produisaient donc des triploïdes se reproduisant par hybridogenèse *améiotique*, et ces dernières des triploïdes se reproduisant par hybridogenèse *méiotique*. De la même façon, des hypothèses alternatives, soient que les pères ou des mutations dans le génome hybride étaient potentiellement responsables de ces phénotypes, ont été rejetées.

Cependant, la façon exacte dont les effets maternels affectent la progéniture reste incertaine. En effet, les effets maternels pourraient agir de deux façons principales : soit directement, via le transfert d'éléments dans les œufs liés à leur génome, ou indirectement, via l'interaction des mères avec leur environnement. Par exemple, on pourrait penser que les mères diploïdes et triploïdes utilisent des niches trophiques différentes ou pondent leurs œufs dans des endroits différents. Ces interactions entre la ploïdie maternelle et l'environnement pourraient alors influencer la progéniture via un environnement différent pour les œufs, incluant par exemple

comme facteurs une alimentation différente chez les mères ou une température d'incubation différente pour les œufs selon l'endroit choisi par les femelles pour nicher.

Cet article de recherche aura donc par le fait même confirmé l'hypothèse apportée dans le premier article de recherche, soit qu'un cycle existe entre les biotypes hybrides. Ce dernier serait alors le suivant : diploïdes gynogènes → Triploïdes (Hybridogenèse améiotique) → Triploïdes (Hybridogenèse méiotique) → *Chrosomus eos*. Ce genre de transition entre la reproduction sexuée, asexuée, puis sexuée à nouveau avait d'ailleurs déjà été suggéré par Lamatsch et Stöck (2009).

5.2.3 Effets des stratégies de reproduction sur la forme

Les reproductions sexuées et asexuées peuvent être la source de grandes différences morphologiques entre les organismes, par exemple suivant des pressions sélectives différentes. Le développement des gonades est lui aussi tout autre, et on pourrait alors s'attendre à ce que ces différences provoquent un effet domino sur d'autres traits morphologiques, que ce soit par un différentiel d'énergie alloué à la croissance des gonades ou des gamètes, ou par un changement hormonal. Bien que la littérature offre déjà quelques indices sur ce sujet, les études comparent souvent des organismes sexués et asexués ayant aussi d'autres facteurs pouvant biaiser la différence entre les groupes : la présence/absence de sélection sexuelle, par exemple, augmentera la différence entre des organismes parthénogénétique et leurs semblables sexués. Une différence au niveau de la ploïdie peut, de façon similaire, influencer les résultats. Ainsi, dans le cadre de ce chapitre, une comparaison morphométrique chez les triploïdes sexués et asexués a été faite, tirant parti de leur similarité (au niveau composition génétique et sélection sexuelle), avant d'être généralisée aux autres membres du complexe *C. eos-neogaeus*.

Les résultats de ce projet de recherche sont très marqués. En résumé, une différence a été observée chez les triploïdes selon leurs stratégies reproductives (sexué ou asexué), et ce, autant avec des individus ayant grandi dans leur milieu naturel que ceux élevés dans des conditions contrôlées (jardin commun). Ce signal est d'ailleurs retrouvé dans les deux lignées hybrides analysées, suggérant que ce trait est commun et non pas unique à une seule lignée. Malgré que les différences entre les deux types de triploïdes soient conservées dans les trois conditions (soit les individus des deux lignées en milieu sauvage et les individus du jardin commun), certains traits avaient tendance à se différencier différemment, suggérant une certaine plasticité dans les traits analysés.

De façon surprenante, les autres membres du complexe, soit les diploïdes gynogènes (asexuées) et les femelles *C. eos* (sexuées), ont montré une incroyable similarité avec les triploïdes partageant leur stratégie reproductive. Les deux biotypes asexués avaient une forme presque identique, alors que les triploïdes sexués ressemblaient davantage aux femelles *C. eos* qu'à leurs homologues triploïdes au niveau de certains traits. Ceci supporte l'idée que les effets maternels, à la base de la détermination du type de reproduction de ces femelles, ne sont pas pour autant responsable de la différence observée au niveau de la forme. En effet, avoir été le cas, les diploïdes, avec des origines maternelles diploïdes et triploïdes, auraient alors eu un phénotype intermédiaire entre les deux types de triploïdes, ce qui n'est pas observé ici.

Les différences au niveau de la forme concernaient surtout la forme et la taille de l'opercule. En effet, les femelles sexuées avaient tendance à avoir un opercule plus écrasé et dont le haut se trouvait à être courbé antérieurement. À l'inverse, les femelles asexuées avaient un opercule plus large dont la partie dorsale s'extrudait postérieurement. En somme, les caractéristiques montraient aussi un écrasement général de la tête chez les sexués. Ces différences peuvent avoir un impact à plusieurs niveaux, incluant la sélection de niches chez les organismes, ce qui a d'ailleurs déjà été démontré (Arif *et al.*, 2009; Hulsey *et al.*, 2018; Kimmel *et al.*, 2012). On note aussi un lien entre la forme et la taille de l'opercule dans plusieurs autres domaines, tels que la spécialisation trophique, l'attractivité aux partenaires, les performances à la nage et la détection par les proies et prédateurs (Arif *et al.*, 2009; Hulsey *et al.*, 2018; Kimmel *et al.*, 2012).

Ces résultats montrent donc l'incroyable effet des voies reproductives sur les organismes, et suggèrent un impact global lié au développement des gonades, impact pouvant alors exercer une influence sur la sélection et la niche occupée par ces biotypes.

5.3 Leçons globales

Ces trois chapitres de recherche offrent une perspective approfondie sur la reproduction au sein du complexe *C. eos-neogaeus*. Toutefois, leurs implications vont au-delà de ce seul complexe. En réalité, de nombreux groupes d'organismes présentent à la fois un mode de reproduction sexuée classique et des méthodes plus atypiques. Comme souligné dans l'introduction de cette thèse, un nombre étonnant de vertébrés adoptent ces modes de reproduction, avec, pour beaucoup, au moins un biotype dépendant des mâles d'autres espèces. Ainsi, les mécanismes, dynamiques, origines et

conséquences explorés dans les chapitres précédents peuvent être applicables à de nombreux autres cas. Les prochains volets ont ainsi pour but d'examiner plus en profondeur les leçons et gains qu'il est possible de tirer de ces trois chapitres de recherche.

5.3.1 La diversité des reproductions atypiques et de leurs origines

Tel que présenté dans l'introduction, de nombreuses reproductions atypiques sont connues (Lamatsch et Stöck, 2009). Ces dernières incluent des mécanismes et des éléments déclencheurs tout aussi différents qui ensemble forment une diversité remarquable de processus.

Dans le cadre de cette thèse, un nouveau gain au niveau des connaissances concernant la diversité des reproductions atypiques a été fait. En effet, l'apport le plus important du premier article de recherche de cette thèse reste la découverte et dénomination de l'hybridogenèse améiotique. Selon les connaissances actuelles, ce type de reproduction est très rare, voire unique chez les vertébrés; seulement deux instances anecdotiques sont connues. En effet, on la retrouverait peut-être présent chez la femelle triploïde *Misgurnus anguillicaudatus* (Oshima *et al.*, 2005) ou chez les grenouilles *Pelophylax esculentus* (Christiansen *et al.*, 2005), mais les études en question n'ont pas pu confirmer la présence d'une telle hybridogenèse. Dans la première, on a observé chez une femelle triploïde la présence d'un mélange d'œufs haploïdes et diploïdes, le second type correspondant peut-être à de l'hybridogenèse améiotique, mais qui reste impossible à confirmer sans le génotype exact des œufs. Dans la seconde étude, une femelle triploïde aurait peut-être eu des œufs hybrides diploïdes tel qu'attendu par hybridogenèse améiotique, mais la progéniture résultante n'ayant pas survécu jusqu'à la métamorphose, il a été supposé que ces œufs étaient potentiellement plutôt aneuploïdes. Ainsi, les triploïdes *C. eos* × *eos-neogaeus* sont les seuls vertébrés chez qui cette reproduction est confirmée de façon certaine. De même, il s'agit de la première fois qu'une telle hybridogenèse est nommée.

Cette reproduction s'ajoute donc à la panoplie de reproductions atypiques déjà connues, et met l'emphase sur la flexibilité qui existe au niveau de la gamétogenèse lorsque les bonnes conditions sont réunies. Elle met aussi d'avant une nouvelle voie reproductive dans un organisme triploïde, qui sont pourtant souvent supposés être stériles dû à leur nombre impair d'haploïdes. Ainsi, ce chapitre contribue à contrer l'idée que les triploïdes sont, par défaut, stériles, surtout chez les organismes hybrides.

Le second article de recherche amène aussi une contribution généreuse à ce niveau. En effet, la découverte des effets maternels comme déclencheurs de la dichotomie reproductive chez les triploïdes amène une meilleure compréhension des origines de celle-ci. Ce résultat soulève une nouvelle façon de provoquer « l'apparition » d'une reproduction atypique chez des organismes.

Dans la littérature, quelques hypothèses avaient déjà été mise d'avant concernant l'apparition de ces reproductions atypiques chez les hybrides. La plus connue est sûrement « l'hypothèse du balancier » (*balance hypothesis*), qui stipule que pour qu'un hybride présente ce genre de reproduction, il doit provenir de parents ayant une divergence génétique parfaite, soit ni trop élevée, ni trop faible (Moritz *et al.*, 1988). En effet, tel que présenté dans l'introduction, un hybride entre des espèces parentales trop près phylogénétiquement risque d'avoir une gamétogenèse sexuée (avec ou sans succès lors de la formation des gamètes), alors qu'inversement, deux espèces parentales trop éloignées qui produiraient ensemble un hybride lui léguerait des génomes trop différents; la survie ou la fertilité de l'hybride en serait alors affectée (Janko *et al.*, 2018; Stöck *et al.*, 2021). De même, un autre facteur connu est la ploïdie de l'individu lui-même. Dans de nombreux complexes, on retrouve en effet des reproductions différentes chez des hybrides ayant des ploïdies différentes, incluant chez *Poeciliopsis* (Schultz, 1967, 1969), *Cobitis* (Dedukh *et al.*, 2023) et *Misgurnus* (Kuroda *et al.*, 2019). Dans ce chapitre de recherche cependant, on rapporte pour la première fois qu'un effet parental est la principale cause menant à une reproduction atypique ou une autre. Cette étude amène donc un peu plus de profondeur en ce qui concerne l'origine des reproductions atypiques.

Ainsi, ces deux projets ensemble auront permis une meilleure connaissance au niveau de la diversité des mécanismes menant aux reproductions atypiques chez les hybrides. Ils reflètent de même l'étonnante flexibilité entourant la gamétogenèse dans les vertébrés.

5.3.2 Dynamique des populations sexuées/asexuées

Les dynamiques entourant la présence d'espèces (ou biotypes) unisexuées et sexuées dans un même environnement présente un mystère que l'on tente de résoudre depuis bien longtemps déjà. En effet, plus particulièrement lorsque les unisexués en question sont dépendants de mâles d'espèce proches pour se reproduire, ces femelles peuvent exercer une forte pression sur les espèces sexuées dont les mâles sont parasités. Tel que présenté dans l'introduction, la présence de

mâles dans une espèce présente des coûts démographiques. Lorsqu'en plus ces mâles se reproduisent avec des femelles d'autres espèces, ces coûts sont d'autant moins compensés (par les gains d'une reproduction sexuée intraspécifique) et peuvent grandement limiter l'expansion démographique d'une espèce, voir sa propre persistance (Leung et Angers, 2018). Ainsi, la question relevée est la suivante : comment est-il possible que la coexistence entre ces deux groupes persiste dans le temps ?

Plusieurs modèles ont été suggérés concernant cette question:

1. Discrimination par les mâles contre les femelles unisexuées (Barron *et al.*, 2016; Moore et McKay, 1971; Schlupp, 2009; Schlupp, 2010);
2. Une valeur adaptative plus faible des espèces asexuées, soit par une moins bonne exploitation des ressources, soit par une viabilité ou une fertilité/viabilité moindre (Schley *et al.*, 2004; Schlupp *et al.*, 2010);
3. L'utilisation de niches distinctes par les deux groupes (Schley *et al.*, 2004; Schlosser *et al.*, 1998; Schlupp, 2005).

Avant les recherches de cette thèse, une hypothèse supportant l'équilibre dans les populations du complexe *C. eos-neogaeus* suggérait une faible fertilité des triploïdes, selon le modèle 2 ci-dessus (Leung et Angers, 2018). En effet, une fertilité réduite à environ 50% de celle des espèces sexuées (*C. eos* dans ce cas) pouvait alors imiter le coût des mâles dans une espèce asexuée et mener à un équilibre démographique. Cependant, les résultats suivant le premier chapitre de recherche mettent en valeur la présence d'une nouvelle façon de se reproduire, produisant à nouveau des hybrides, et une fertilité élevée des triploïdes *C. eos* × *eos-neogaeus*, invalidant l'hypothèse en question. Les conséquences de cette découverte pour la dynamique des populations sexuées/asexuées étaient alors que le poids des hybrides sur *C. eos* devait être grand, malgré la stabilité apparente des populations. De façon intéressante toutefois, la proportion de chacun des types de triploïdes était d'environ 1:1. Ainsi, malgré une fécondité élevée, seulement la moitié des hybrides pouvaient alors produire d'autres hybrides; donnant une nouvelle lumière à l'hypothèse de Leung et Angers (2018).

De même, la première hypothèse de ce premier article de recherche stipulait que les triploïdes étaient continuellement produites en formant une boucle; la seconde, que ces différents

biotypes pouvaient alternativement être produits de façon séquentielle (diploïdes gynogènes → triploïdes (hybridogénèse améiotique) → triploïdes (hybridogénèse méiotique) → *Chrosomus eos*) et donc qu'il y avait un retour vers l'espèce sexuée après deux générations. Ces deux hypothèses impliquaient de grosses différences au niveau de la dynamique des populations, puisque la première permet un afflux beaucoup plus important d'hybrides. Tel que discuté précédemment, ceci aurait ajouté une forte contrainte sur l'espèce sexuée qui fournit les mâles. Ce problème aura donc été l'objectif du chapitre suivant, soit de comprendre l'origine de ces deux voies reproductrices chez les triploïdes et les conséquences qu'elles imposent sur le complexe. Ce second chapitre de recherche aura montré que la formation séquentielle des hybrides semblait se réaliser dans ce complexe d'hybrides. Les implications de ces découvertes étaient qu'une forte diminution des coûts des espèces asexuées existait dans ce complexe, contrairement à ce qu'il était auparavant supposé. En effet, la présence d'une boucle se terminant par la production d'organismes sexués et l'arrêt de la production d'hybrides suggère un coût démographique bien moins fort pour les espèces sexuées. Il s'agit donc potentiellement d'une partie de la réponse en ce qui concerne la cohabitation fructueuse de ces espèces.

La démographie des populations du complexe *C. eos-neogaeus* a été analysée à plusieurs reprises. Notamment, il a été noté que la proportion diploïdes:triploïdes en nature était approximativement 1:1 (Leung et Angers, 2018; Massicotte *et al.*, 2011; Vergilino *et al.*, 2016). Cependant, ce taux est sûrement surestimé car il considère à la fois les triploïdes et les mosaïques comme un seul groupe, alors que ces derniers semblent représenter une quantité assez élevée d'organismes (Goddard et Dawley, 1990). Ensuite, la proportion de *C. eos* par rapport aux hybrides (tous confondus) varie entre les environnements au Québec (Monette *et al.*, 2020). Cependant, en moyenne selon ce même article, on les retrouvait selon le ratio 1:2.6 (127 *C. eos* pour 332 hybrides) dans les environnements contenant les deux biotypes et en absence de *C. neogaeus*. On pourrait ainsi s'attendre à ce qu'un modèle applicable dans ce complexe favorise les biotypes hybrides, mais sans toutefois provoquer l'extinction des *C. eos*. Finalement, selon Goddard et Dawley (1990), environ 50% de la progéniture des femelles diploïdes absorbe le matériel génétique mâle. Cependant, Goddard et Dawley (1990) dans leur étude considérait l'incorporation du matériel génétique mâle autant dans les mosaïques que les triploïdes; ainsi, sur les 33 larves issues de femelles diploïdes, seulement 5 étaient réellement triploïdes (et 8 étaient mosaïques).

Ainsi, pour voir l'impact sur l'abondance des biotypes selon que ce complexe d'hybrides soit séquentiel ou non, un modèle simple a été produit selon ces données sur les biotypes présents dans cette thèse. En admettant une survie et fertilité similaire, ainsi qu'une progéniture composée environ de 25% de triploïdes (valeur conservatrice) et 25% de mosaïques pour les biotypes asexués, le modèle de la *séquentialité* suggère la survie du complexe entier avec environ autant de diploïdes que de triploïdes et mosaïques réunis (Figure 5.2 A). Ensemble, ces hybrides sont environ 2.25 fois plus nombreux que les *C. eos*. Finalement, on remarque que l'abondance respective des deux types de triploïdes varie, avec les asexués plus abondants que les autres. Le second modèle, en retirant l'aspect séquentiel (et en conservant tout le reste identique), change un peu les abondances respectives des biotypes (Figure 5.2 B). Dans ce dernier, on retrouve environ autant de diploïdes que de triploïdes/mosaïques, mais les deux types de triploïdes sont en proportion identique et en faible abondance. De même, on retrouverait alors environ autant de *C. eos* que d'hybrides, et non pas moins de *C. eos* tel qu'observé par Monette *et al.* (2020).

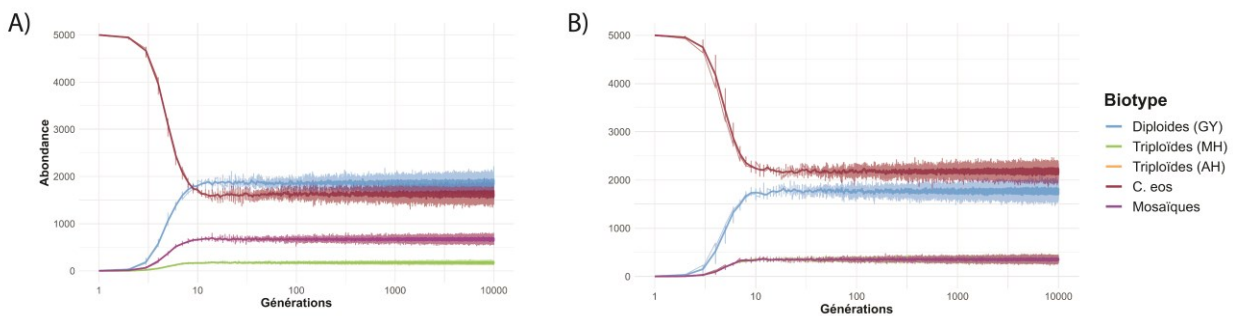


Figure 5.2. Modèles démographiques simples dans le complexe hybride *C. eos-neogaeus*. Effectué sur 10 000 générations et pour 10 réplicats. En A) Biotypes séquentiels et en B) Biotypes non-séquentiels. À noter que les deux types de triploïdes et les mosaïques se chevauchent dans le graphique B, tout comme les triploïdes AH et les mosaïques en A. Les biotypes sont les suivants : GY (diploïdes gynogènes); AH (triploïdes se reproduisant par hybridogenèse améiotique); MH (triploïdes se reproduisant par hybridogenèse méiotique).

Il faut cependant être prudent avec les conclusions à tirer de ces modèles, car ces derniers ne sont pas nécessairement représentatifs de la réalité. Ils sont en effet simplifiés pour montrer uniquement la variation en abondance des biotypes en conditions similaires, selon les deux conditions proposées, mais ne prennent pas en compte la multitude de facteurs pouvant influencer la survie et la fertilité de ces organismes. On peut cependant conclure que ces nouvelles connaissances ont potentiellement un impact au niveau démographique, puisqu'on retrouve une variation de l'abondance relative de chaque biotype entre ces deux modèles autrement identiques.

Sur un autre sujet, un second point important concernant la dynamique des populations sexuées/asexuées se trouve dans le troisième chapitre de recherche, où il est mentionné de l'utilisation de niches potentiellement différentes entre les organismes sexués et asexués de ce complexe. Cela suggère donc qu'il pourrait y avoir des forces sélectives différentes sur les deux groupes et une compétition somme toute plus faible sur les espèces sexuées qu'on ne l'aurait cru. En effet, le changement de forme et de taille de l'opercule pourrait affecter de nombreuses caractéristiques chez ces organismes, et donc mener à une exploitation de niches différentes selon la façon de se reproduire – sexuée ou asexuée. Cette étude permet de montrer en quoi les hybrides asexués de ce complexe posent, finalement, peut-être moins de coûts sur l'espèce sexuée qu'il était pensé. Elle suit alors, au moins partiellement, ce qui était énoncé par le modèle 3 décrit plus haut, soit que l'utilisation de niches différentes réduirait le coût des hybrides unisexués (Schley *et al.*, 2004; Schlosser *et al.*, 1998; Schlupp, 2005).

Finalement, ce même chapitre de recherche met d'avant que le passage d'un organisme sexué vers l'asexualité s'accompagne d'un changement phénotypique marqué pouvant alors influencer la niche dans lequel ce dernier peut évoluer. Si un tel organisme est créé, par l'hybridation entre deux espèces par exemple, il est alors possible que la modification de certains traits autrefois sélectionnés et adaptés à l'utilisation d'une ressource se produise, réduisant potentiellement la valeur adaptative de l'organisme. Cette hypothèse aurait alors comme impact que ces organismes partiraient dès le départ avec un handicap comparativement aux autres espèces proches desquelles elles proviennent. Ainsi, cette variation morphologique due au développement de gonades asexuées peut agir en tant que frein à la persistance de ces organismes ou à leur croissance démographique.

La recherche effectuée dans cette thèse permet ainsi d'ajouter une nouvelle façon d'obtenir la persistance des biotypes (avec un « handicap » chez les triploïdes où seulement un biotype sur deux produit des hybrides) ou facilitant celle-ci (avec un partitionnement des niches et éventuellement un changement dans les traits adaptés).

5.3.3 Les avancées concernant le développement

Le développement des organismes est un domaine complexe comprenant des influences variées, incluant bien évidemment la composition génomique de l'individu, mais aussi un large éventail d'influences externes. Lorsque la composition génomique est tenue constante, on parlera alors

surtout des influences épigénétiques liées à l'environnement comme influences potentielles. Comme preuve, il existe de la variation phénotypique dans des organismes clonaux, telles les femelles unisexuées se reproduisant par gynogenèse du complexe à l'étude (Leung *et al.*, 2016; Leung *et al.*, 2018).

Une source de variation phénotypique épigénétique connue depuis longtemps sont les effets parentaux (Badyaev et Uller, 2009). Ayant pour source des ressources investies dans les gamètes ou liées au comportement parental, ces effets sont connus pour influencer des caractères phénotypiques parfois très marqués. Les effets maternels plus particulièrement sont connus depuis longtemps et sont bien présents dans la littérature (Green, 2008; Moore *et al.*, 2019; Wolf et Wade, 2009). Alors que leurs impacts potentiels sur les populations peuvent être significatifs (Lubzens *et al.*, 2017; Uller, 2012), peu de cas chez les vertébrés sont connus.

Au niveau développement, le second chapitre de recherche de cette thèse amène deux découvertes importantes; déjà, la quantification d'effets maternels dans un organisme vertébré non-modèle, puis, la ploïdie maternelle comme facteur à la source de ces effets. De même, les impacts de ces effets sont marqués, avec une dichotomie reproductive parfaite entre les deux groupes de triploïdes étudiés. La présence de nombreux complexes hybrides, composés de biotypes avec des ploïdies différentes, suggère que les effets maternels trouvés dans le complexe *C. eos-neogaeus* pourraient aussi s'appliquer dans d'autres cas. Bien sûr, la façon de se reproduire pourra alors être entièrement décorrélée des effets maternels; mais il est bien possible que ces derniers affectent le phénotype à d'autres niveaux.

Une autre source de variation phénotypique explorée dans cette thèse est l'effet du développement des gonades sur la morphologie globale d'un organisme. Il est bien connu que le développement des gonades induit une forte réponse hormonale chez les organismes, les exemples les plus probants étant certainement leur apport au développement différentiel entre les mâles et les femelles, ou même à l'intérieur d'organismes d'un même sexe, tel qu'observé au niveau morphologique chez les mâles castrés par rapport à ceux ayant leurs organes sexuels intacts (De Vries *et al.*, 1984). Il était donc supposé que dans le cadre de ces recherches, le développement de gonades se différenciant par leur processus gamétogénétiques ait un effet sur la morphologie globale des organismes. Il existe deux raisons principales derrière cette idée, la première étant un potentiel différentiel énergétique mis dans le développement de chacun de ces types de gonades,

ou bien un différentiel au niveau hormonal. Quelques rares études semblent en effet suggérer une potentielle différence hormonale entre des triploïdes asexués et des diploïdes sexués, bien qu'il soit alors impossible de délier les deux facteurs (ploïdie et stratégies de reproduction) (Przybył *et al.*, 2022).

Cette étude aura donc montré qu'en absence de différentiel de sélection sexuelle et composition génétique, le développement de gonades sexuées et asexuées amènent à un développement global divergent à l'intérieur d'un même sexe. Il semble donc y avoir un effet inhérent à la production de chacun des types de gamètes. Cette découverte possède donc un énorme potentiel dans le domaine de la biologie développementale.

Les résultats de ces chapitres peuvent ainsi être d'une grande utilité pour la compréhension des mécanismes globaux qui affectent le développement des vertébrés. Ils relèvent ensemble des effets majeurs sur la morphologie globale des organismes, provoqués par des facteurs autres que génétique, sur le développement des organismes, soulignant que les effets épigénétiques ne sont pas à ignorer dans ce genre de situation.

5.4 Perspectives

5.4.1 Reproductions atypiques et conservation

La relation entre la persistance et l'évolution des espèces avec la reproduction a été discutée à de nombreuses reprises dans cette thèse. Ainsi, tout effort de conservation doit prendre cette dernière en considération. Que ce soit pour estimer la croissance démographique d'une population asexuée parasitant les mâles d'une autre espèce, ou son potentiel d'effets sur les populations sexuées existante, une meilleure connaissance des reproductions atypiques est nécessaire pour la gestion de ces populations. Le territoire occupé par le complexe *Chrosomus eos-neogaeus* s'étend de la moitié sud du Canada aux États-Unis, ainsi, l'influence que cette espèce peut avoir sur la biodiversité est grand. Connaître plus en détails le fonctionnement de ces reproductions atypiques ainsi que les niches occupées par ces organismes peut être un gain significatif lors de l'élaboration de stratégies de conservation ou de gestion de population élaborées. Il peut aussi être intéressant, lors de l'élaboration de règles concernant l'utilisation d'appâts vivants pour la pêche, de considérer le cycle reproducteur entier de ces hybrides. En effet, le relâchement de ces dernières dans un lac

contenant *C. eos* ou *C. neogaeus* pourrait avoir de gros impact sur les populations existantes, et connaître leur reproduction en détails est essentiel à la prise de décision à ce niveau.

Bien que *Chrosomus eos* et ses hybrides soient répandus, certains états des États-Unis considèrent ce premier comme « À risque » (Stringer et Clancy, 2020) ou « En danger » (Massachusetts Division of Fisheries & Wildlife, 2019), et la raison derrière ces chutes démographiques est encore inconnue. Ainsi, ces connaissances sont tout particulièrement indiquées pour la conservation de cette espèce. De la même façon, cela s'applique à tous les organismes provenant de populations mélangeant des espèces sexuées et des espèces (ou biotypes) asexuées parasitant les mâles d'autres espèces pour se reproduire.

5.4.2 Reproductions atypiques et applications

Acquérir de meilleures connaissances chez ces reproductions atypiques permettra ensuite d'aider à la compréhension de mécanismes de reproduction de façon globale. En effet, ces variations retrouvées dans la gamétogenèse peuvent inspirer la recherche, que ce soit au niveau animal ou médical.

Ces découvertes peuvent aussi avoir un impact important concernant l'utilisation en aquaculture de souches issues de clonage. En effet, l'induction de gynogenèse est souvent employée pour la production de ces organismes (Manan *et al.*, 2022). Ainsi, la présence d'effets parentaux et leur impact sur le phénotype de la progéniture pourraient, par exemple, être importants à analyser dans ces organismes. De même, l'impact de ses reproductions sur la croissance, la taille des œufs et le ratio mâles/femelles est aussi d'une grande utilité dans ces domaines, pour la production de chair et de caviar tout particulièrement (Chandra et Fopp-Bayat, 2021). Pour toutes ces raisons, les reproductions atypiques et les connaissances les entourant peuvent être d'utilité dans un nombre non-négligeable d'applications.

5.4.3 Reproductions atypiques et... typiques

Enfin, tel qu'il a été mentionné dans l'introduction et brièvement dans la section précédente, étudier les reproductions atypiques peut nous en apprendre long sur les processus plus typiques et ce qui les régissent.

Par exemple, dans le cas des organismes hybrides, ces reproductions se manifestent en une seule génération, suggérant ainsi la présence préalable du mécanisme à la base de phénomènes tels

que la gynogenèse chez les espèces parentales. Comprendre comment ce mécanisme se met en place nous permettra alors d'avoir une meilleure compréhension du mécanisme et de comment ce dernier est inhibé dans la majorité des organismes. Une meilleure compréhension de la gamétogenèse et des mécanismes à la base de celle-ci pourra alors en résulter, amenant un gain dans le domaine de la reproduction chez les animaux (et potentiellement dans d'autres organismes).

De même, la persistance à long terme de populations asexuées nous permet d'étudier plusieurs processus en absence de variation génétique, incluant les variations phénotypiques dû à la plasticité par exemple (Leung *et al.*, 2016; Leung *et al.*, 2018), limitant ainsi plusieurs sources de biais qui sont autrement présentes dans les espèces sexuées.

Finalement, la présence de variations au niveau de la ploïdie, de la gamétogenèse, des origines parentales (par exemple, femelle A/mâle B et vice-versa), des sexes (et du ratio mâles/femelles) ainsi que des origines mitochondriales (cybrides) permet d'étudier la réaction des génomes à toutes sortes de contraintes et d'environnements, mettant donc l'emphase sur la flexibilité et la complexité des interactions qui y règnent.

5.5 Conclusions

Les résultats de cette thèse montrent donc que les différences qui affectent les organismes sexués et asexués sont plus nombreuses qu'on ne le pensait. De par leurs nombreuses façons de modifier la gamétogenèse (Chapitre 2), la possibilité pour des organismes partageant un même génome de se reproduire différemment en fonction de leur origine maternelle (Chapitre 3), et finalement les différences morphologiques associées aux stratégies reproductives (Chapitre 4), ces organismes atypiques ont beaucoup à nous apprendre sur les processus typiques concernant la reproduction. La compréhension de ces mécanismes et de leurs conséquences permettra une meilleure clarté quant aux différents coûts associés à la reproduction. De même, une bonne compréhension de la reproduction et de ses impacts sur les organismes eux-mêmes, ainsi que ceux qui les entoure, est essentiel à tout projet de conservation d'espèces. Le complexe *Chrosomus eos-neogaeus* se retrouve un peu partout en Amérique du Nord, à l'exception du Nord Canadien; ainsi, les études concernant la reproduction de ces organismes auront un large impact.

Pour finir, cette thèse aura avancé les connaissances au niveau des reproductions atypiques dans le complexe *C. eos-neogaeus*, mais ces connaissances seront aussi de grande utilité pour les complexes similaires ainsi que pour le domaine de la reproduction animale en général. Explorer l'atypique permet ainsi, en posant les bonnes questions, de nous éclairer sur le typique.

Chapitre VI

6. Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abrams, E. et Mullins, M.C. (2009). *Early zebrafish development: It's in the maternal genes*. *Current Opinion in Genetics & Development*. 19 (4), 396-403.
- Adams, D.C., Collyer, M.L., Kaliontzopoulou, A. et Baken, E.K. (2021). *Geomorph: Software for geometric morphometric analyses*. 4.0.2. <https://cran.r-project.org/package=geomorph>.
- Adams, K.L. et Wendel, J.F. (2005). *Polyploidy and genome evolution in plants*. *Current Opinion in Plant Biology*. 8 (2), 135-141.
- Adinolfi, M., Pertl, B. et Sherlock, J. (1997). *Rapid detection of aneuploidies by microsatellite and the quantitative fluorescent polymerase chain reaction*. *Prenatal Diagnosis*. 17 (13), 1299-1311.
- Alves, M., Coelho, M. et Collares-Pereira, M. (2001). *Evolution in action through hybridisation and polyploidy in an Iberian freshwater fish: A genetic review*. *Genetica*. 111, 375-385.
- Andersson, M.B. (1994). *Sexual selection*, Princeton University Press Princeton, N.J.
- Angers, B., Castonguay, E. et Massicotte, R. (2010). *Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after*. *Molecular Ecology*. 19 (7), 1283-1295.
- Angers, B., Leung, C., Vétill, R., Deremiens, L. et Vergilino, R. (2018). *The effects of allospecific mitochondrial genome on the fitness of northern redbelly dace (*Chrosomus eos*)*. *Ecology and Evolution*. 8, 3311-3321.
- Angers, B. et Schlosser, I.J. (2007). *The origin of *Phoxinus eos-neogaeus* unisexual hybrids*. *Molecular Ecology*. 16, 4562–4571.
- Arai, K. (2023). *Meiosis and gametogenesis in hybrid, polyploid, and clonal fishes: case studies in the dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus**. *Fisheries Science*.
- Arai, K., Taniura, K. et Zhang, Q. (1999). *Production of second generation progeny of hexaploid loach*. *Fisheries Science*. 65 (2), 186-192.
- Arif, S., Aguirre, W.E. et Bell, M.A. (2009). *Evolutionary diversification of opercle shape in Cook Inlet threespine stickleback*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 97 (4), 832-844.
- Asker, S. et Jerling, L. (2017). *Apomixis in Plants*, CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Avise, J.C. (2008). *Clonality: The Genetics, Ecology, and Evolution of Sexual Abstinence in Vertebrate Animals*, Oxford University Press.
- Avise, J.C. (2015). *Evolutionary perspectives on clonal reproduction in vertebrate animals*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112 (29), 8867-8873.
- Avise, J.C. et Ayala, F.J. (2009). *In the light of evolution III: Two centuries of Darwin*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106 (supplement_1), 9933-9938.
- Badyaev, A.V. et Uller, T. (2009). *Parental effects in ecology and evolution: mechanisms, processes and implications*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*. 364 (1520), 1169-1177.

- Baken, E.K., Collyer, M.L., Kaliontzopoulou, A. et Adams, D.C. (2021). *geomorph v4.0 and gmShiny: enhanced analytics and a new graphical interface for a comprehensive morphometric experience*. *Methods in Ecology and Evolution*. 12, 2355-2363.
- Baldanzi, S., Saldías, G.S., Vargas, C.A. et Porri, F. (2022). *Long term environmental variability modulates the epigenetics of maternal traits of kelp crabs in the coast of Chile*. *Scientific Reports*. 12 (1), 18806.
- Baranov, V.Y. (2020). *Body Shape Variability of the Minnow Phoxinus phoxinus (Linnaeus, 1758) (Cyprinidae, Actinopterygii) in Large and Small Watercourses of the Sylva River Basin (Middle Urals)*. *Biology Bulletin*. 47 (10), 1285-1292.
- Barlow, D.P. et Bartolomei, M.S. (2014). *Genomic imprinting in mammals*. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 6 (2).
- Barron, J.N., Lawson, T.J. et Jensen, P.A. (2016). *Analysis of potential factors allowing coexistence in a sexual/asexual minnow complex*. *Oecologia*. 180, 707-715.
- Bartoš, O., Röslein, J., Kotusz, J., Paces, J., Pekárik, L., Petrýl, M. et al. (2019). *The Legacy of Sexual Ancestors in Phenotypic Variability, Gene Expression, and Homoeolog Regulation of Asexual Hybrids and Polyploids*. *Molecular Biology and Evolution*. 36 (9), 1902-1920.
- Becks, L. et Agrawal, A.F. (2012). *The evolution of sex is favoured during adaptation to new environments*. *PLoS Biology*. 10 (5), e1001317.
- Bell, G. (2019). *The masterpiece of nature: the evolution and genetics of sexuality*, Routledge.
- Benjamini, Y. et Hochberg, Y. (1995). *Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing*. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*. 57 (1), 289-300.
- Bi, K. et Bogart, J.P. (2010). *Time and time again: unisexual salamanders (genus *Ambystoma*) are the oldest unisexual vertebrates*. *BMC Evolutionary Biology*. 10 (1), 238.
- Bi, K., Bogart, J.P. et Fu, J. (2008). *The prevalence of genome replacement in unisexual salamanders of the genus *Ambystoma* (Amphibia, Caudata) revealed by nuclear gene genealogy*. *BMC Evolutionary Biology*. 8 (1), 158.
- Binet, M.-C. et Angers, B. (2005). *Genetic identification of members of the *Phoxinus eos-neogaeus* hybrid complex*. *Journal of Fish Biology*. 67 (4), 1169-1177.
- Birch, L.C. (1955). *Selection in *Drosophila pseudoobscura* in relation to crowding*. *Evolution*. 389-399.
- Birky, C.W., Jr (2010). *Positively Negative Evidence for Asexuality*. *Journal of Heredity*. 101 (suppl_1), S42-S45.
- Bogart, J.P. (2019). *A family study to examine clonal diversity in unisexual salamanders (genus *Ambystoma*)*. *Genome*. 62 (8), 549-561.
- Bogart, J.P. (2021). *Gynogenetic diploids, tetraploids, or octoploids, and a path to polyploidy in anuran amphibians*. *Genome*. 64 (12), 1053-1065.
- Bogart, J.P., Bi, K., Fu, J., Noble, D.W.A. et Niedzwiecki, J. (2007). *Unisexual salamanders (genus *Ambystoma*) present a new reproductive mode for eukaryotes*. *Genome*. 50 (2), 119-136.

- Bookstein, F.L. (1991). *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*, Cambridge University Press.
- Bookstein, F.L., Landmark methods for forms without landmarks: localizing group differences in outline shape, *Proceedings of the Workshop on Mathematical Methods in Biomedical Image Analysis*, 1996, pp. 279-289.
- Bookstein, F.L., Two shape metrics for biomedical outline data: bending energy, Procrustes distance, and the biometrical modeling of shape phenomena, *Proceedings of 1997 International Conference on Shape Modeling and Applications*, 1997, pp. 110-120.
- Booth, W., Levine, B.A., Corush, J.B., Davis, M.A., Dwyer, Q., De Plecker, R. *et al.* (2023). *Discovery of facultative parthenogenesis in a new world crocodile*. *Biology Letters*. 19 (6), 20230129.
- Booth, W. et Schuett, G.W. (2016). *The emerging phylogenetic pattern of parthenogenesis in snakes*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 118 (2), 172-186.
- Bottani, S., Zabet, N.R., Wendel, J.F. et Veitia, R.A. (2018). *Gene Expression Dominance in Allopolyploids: Hypotheses and Models*. *Trends in Plant Science*. 23 (5), 393-402.
- Boycott, A.E., Diver, C., Garstang, S.L. et Turner, F.M. (1931). *II. The inheritance of sinistrality in Limnaea peregra (Mollusca, Pulmonata)*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*. 219 (462-467), 51-131.
- Buggs, R.J.A., Soltis, P.S. et Soltis, D.E. (2009). *Does hybridization between divergent progenitors drive whole-genome duplication?* *Molecular Ecology*. 18 (16), 3334-3339.
- Bull, J.J. (1983). *Evolution of sex determining mechanisms*, Benjamin/Cummings Pub. Co., Advanced Book Program.
- Burnett, A.L. (1961). *The growth process in hydra*. *Journal of Experimental Zoology*. 146 (1), 21-83.
- Burton, T.L. et Husband, B.C. (2000). *Fitness differences among diploids, tetraploids, and their triploid progeny in Chamerion angustifolium: Mechanisms of inviability and implications for polyploid evolution*. *Evolution*. 54 (4), 1182-1191.
- Carter, M.J., Simon, J.-C. et Nespolo, R.F. (2012). *The effects of reproductive specialization on energy costs and fitness genetic variances in cyclical and obligate parthenogenetic aphids*. *Ecology and Evolution*. 2 (7), 1414-1425.
- Castagnone-Sereno, P. et Danchin, E.G. (2014). *Parasitic success without sex – the nematode experience*. *Journal of Evolutionary Biology*. 27 (7), 1323-1333.
- Chandra, G. et Fopp-Bayat, D. (2021). *Trends in aquaculture and conservation of sturgeons: a review of molecular and cytogenetic tools*. *Reviews in Aquaculture*. 13 (1), 119-137.
- Chao, S.M., Chen, C.P. et Alexander, P.S. (1993). *Fission and its effect on population structure of Holothuria atra (Echinodermata: Holothuroidea) in Taiwan*. *Marine Biology*. 116 (1), 109-115.
- Chapman, D.D., Shivji, M.S., Louis, E., Sommer, J., Fletcher, H. et Prodöhl, P.A. (2007). *Virgin birth in a hammerhead shark*. *Biology Letters*. 3 (4), 425-427.

- Child, C.M. (1910). *Physiological isolation of parts and fission in planaria*. Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen. 30 (2), 159-205.
- Child, C.M. (1932). *Experimental studies on a Japanese Planarian. 1. Fission and differential susceptibility*. Science Reports of the Tohoku University, Series. 4. Biology 7, 313-345.
- Chmielewska, M., Dedukh, D., Haczekiewicz, K., Rozenblut-Kościsty, B., Kaźmierczak, M., Kolenda, K. et al. (2018). *The programmed DNA elimination and formation of micronuclei in germ line cells of the natural hybridogenetic water frog Pelophylax esculentus*. Scientific Reports. 8 (1), 7870.
- Chmielewska, M., Kaźmierczak, M., Rozenblut-Kościsty, B., Kolenda, K., Dudzik, A., Dedukh, D. et al. (2022). *Genome elimination from the germline cells in diploid and triploid male water frogs Pelophylax esculentus*. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 10, 1008506.
- Chourrout, D. (1982). *Gynogenesis in vertebrates*. Reproduction Nutrition Development. 22 (5), 713-734.
- Christiansen, D.G., Fog, K., Pedersen, B.V. et Boomsma, J.J. (2005). *Reproduction and hybrid load in all-hybrid populations of Rana esculenta water frogs in Denmark*. Evolution. 59 (6), 1348-1361.
- Cimino, M.C. (1972a). *Egg-Production, Polyploidization and Evolution in a Diploid All-Female Fish of the Genus Poeciliopsis*. Evolution. 26 (2), 294-306.
- Cimino, M.C. (1972b). *Meiosis in Triploid All-Female Fish (Poeciliopsis, Poeciliidae)*. Science. 175 (4029), 1484-1486.
- Coe, W.R. (1930). *Asexual Reproduction in Nemertean*. Physiological Zoology. 3 (3), 297-308.
- Collyer, M.L., Sekora, D.J. et Adams, D.C. (2015). *A method for analysis of phenotypic change for phenotypes described by high-dimensional data*. Heredity. 115 (4), 357-365.
- Comai, L. (2005). *The advantages and disadvantages of being polyploid*. Nature Reviews Genetics. 6, 838-845.
- Crespo-López, M.E., Duarte, T., Dowling, T. et Coelho, M.M. (2006). *Modes of reproduction of the hybridogenetic fish Squalius alburnoides in the Tejo and Guadiana rivers: An approach with microsatellites*. Zoology. 109 (4), 277-286.
- Crespo-López, M.E., Pala, I., Duarte, T.L., Dowling, T.E. et Coelho, M.M. (2007). *Genetic structure of the diploid-polyploid fish Squalius alburnoides in southern Iberian basins Tejo and Guadiana, based on microsatellites*. Journal of Fish Biology. 71 (sc), 423-436.
- Crews, D. et Young, L.J. (1991). *Pseudocopulation in nature in a unisexual whiptail lizard*. Animal Behaviour. 42 (3), 512-514.
- Daly, M. (1978). *The Cost of Mating*. The American Naturalist. 112 (986), 771-774.
- Darwin, C. (1859). *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*, John Murray.
- Darwin, C. (1871). *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*, 1st edn., John Murray.
- Darwin, C.R. (1874). *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*, 2nd edn., John Murray.

- Davis, D.J., Klug, J., Hankins, M., Doerr, H.M., Monticelli, S.R., Song, A. *et al.* (2015). *Effects of Clove Oil as a Euthanasia Agent on Blood Collection Efficiency and Serum Cortisol Levels in Danio rerio*. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 54 (5), 564-567.
- Dawley, R.M. et Goddard, K.A. (1988). *Diploid-Triploid Mosaics Among Unisexual Hybrids of the Minnows Phoxinus eos and Phoxinus neogaeus*. *Evolution*. 42 (4), 649-659.
- Dawley, R.M., Schultz, R.J. et Goddard, K.A. (1987). *Clonal reproduction and polyploidy in unisexual hybrids of Phoxinus eos and Phoxinus neogaeus (Pisces; Cyprinidae)*. *Copeia*. 275-283.
- de Meeûs, T., Prugnolle, F. et Agnew, P. (2007). *Asexual reproduction: genetics and evolutionary aspects*. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 64 (11), 1355-1372.
- de Vienne, D.M., Giraud, T. et Gouyon, P.-H. (2013). *Lineage Selection and the Maintenance of Sex*. *PLOS ONE*. 8 (6), e66906.
- de Villemereuil, P., Gaggiotti, O.E., Mouterde, M. et Till-Bottraud, I. (2016). *Common garden experiments in the genomic era: new perspectives and opportunities*. *Heredity*. 116 (3), 249-254.
- De Vries, G.J., Buijs, R.M. et Sluiter, A.A. (1984). *Gonadal hormone actions on the morphology of the vasopressinergic innervation of the adult rat brain*. *Brain Research*. 298 (1), 141-145.
- Dedukh, D., Altmanová, M., Klíma, J. et Kratochvíl, L. (2022). *Premeiotic endoreplication is essential for obligate parthenogenesis in geckos*. *Development*. 149 (7).
- Dedukh, D. et Krasikova, A. (2022). *Delete and survive: strategies of programmed genetic material elimination in eukaryotes*. *Biological Reviews*. 97 (1), 195-216.
- Dedukh, D., Marta, A. et Janko, K. (2021). *Challenges and Costs of Asexuality: Variation in Premeiotic Genome Duplication in Gynogenetic Hybrids from Cobitis taenia Complex*. *International Journal of Molecular Sciences*. 22 (22).
- Dedukh, D., Marta, A., Myung, R.-Y., Ko, M.-H., Choi, D.-S., Won, Y.-J. *et al.* (2023). *From asexuality to sexual reproduction: cyclical switch of gametogenic pathways in hybrids depends on ploidy level*. *bioRxiv*. 2023.2006.2018.545483.
- Dimijian, G.G. (2005). *Evolution of sexuality: biology and behavior*. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)*. 18 (3), 244-258.
- Diver, C., Boycott, A. et Garstang, S. (1925). *The inheritance of inverse symmetry in Limnaea peregra*. *Journal of Genetics*. 15, 113-200.
- Doeringsfeld, M.R., Schlosser, I.J., Elder, J.F. et Evenson, D.P. (2004). *Phenotypic Consequences of Genetic Variation in a Gynogenetic Complex of Phoxinus eos-neogaeus Clonal Fish (Pisces: Cyprinidae) Inhabiting a Heterogeneous Environment*. *Evolution*. 58 (6), 1261-1273.
- Dolmatov, I.Y. (2014). *Asexual reproduction in holothurians*. *Scientific World Journal*. 2014, 527234.

- Dukić, M., Berner, D., Haag, C.R. et Ebert, D. (2019). *How clonal are clones? A quest for loss of heterozygosity during asexual reproduction in Daphnia magna*. *J Evol Biol.* 32 (6), 619-628.
- Eberhard, W. (1996). *Female control: sexual selection by cryptic female choice*, Princeton University Press.
- Endler, J.A. (1986). *Natural Selection in the Wild. (MPB-21), Volume 21*, Princeton University Press.
- Engelstädter, J. (2008). *Constraints on the evolution of asexual reproduction*. *Bioessays.* 30 (11-12), 1138-1150.
- Engelstädter, J. (2017). *Asexual but Not Clonal: Evolutionary Processes in Automictic Populations*. *Genetics.* 206 (2), 993-1009.
- Fields, A.T., Feldheim, K.A., Poulakis, G.R. et Chapman, D.D. (2015). *Facultative parthenogenesis in a critically endangered wild vertebrate*. *Current Biology.* 25 (11), R446-447.
- Fisher, R.A. (1930). *The genetical theory of natural selection*, Clarendon Press.
- Fox, J. et Weisberg, S. (2019). *An R Companion to Applied Regression*. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>.
- Freeman, G. et Lundelius, J.W. (1982). *The developmental genetics of dextrality and sinistrality in the gastropod Lymnaea peregra*. *Wilhelm Roux's archives of developmental biology.* 191 (2), 69-83.
- Freitas, S.N., Harris, D.J., Sillero, N., Arakelyan, M., Butlin, R.K. et Carretero, M.A. (2019). *The role of hybridisation in the origin and evolutionary persistence of vertebrate parthenogens: a case study of Darevskia lizards*. *Heredity.* 123 (6), 795-808.
- Fruciano, C. (2016). *Measurement error in geometric morphometrics*. *Development Genes and Evolution.* 226 (3), 139-158.
- Garcês, H., Champagne, C.E.M., Townsley, B.T., Park, S., Malhó, R., Pedroso, M.C. et al. (2007). *Evolution of asexual reproduction in leaves of the genus Kalanchoë*. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 104, 15578 - 15583.
- Gerber, N. et Kokko, H. (2016). *Sexual conflict and the evolution of asexuality at low population densities*. *Proceedings of the Royal Society : Biological sciences.* 283 (1841), 1280.
- Gibson, A.K., Delph, L.F. et Lively, C.M. (2017). *The two-fold cost of sex: Experimental evidence from a natural system*. *Evolution Letters.* 1 (1), 6-15.
- Gillespie, J.H. (1998). *Population genetics : a concise guide*, The Johns Hopkins University Press Baltimore, Md.
- Goddard, K.A. et Dawley, R. (1990). *Clonal Inheritance of a Diploid Nuclear Genome by a Hybrid Freshwater Minnow (Phoxinus eos-neogaeus, Pisces: Cyprinidae)*. *Evolution.* 44 (4), 1052-1065.
- Goddard, K.A., Dawley, R.M. et Dowling, T.E. (1989). *Origin and genetic relationships of diploid, triploid, and diploid-triploid mosaic biotypes in the Phoxinus eos-neogaeus unisexual complex*. *Evolution and ecology of unisexual vertebrates.* 466, 268-280.

- Goddard, K.A., Megwinoff, O., Wessner, L.L. et Giaimo, F. (1998). *Confirmation of gynogenesis in Phoxinus eos-neogaeus (Pisces: Cyprinidae)*. Journal of Heredity. 89 (2), 151-157.
- Goddard, K.A. et Schultz, R.J. (1993). *Aclonal Reproduction by Polyploid Members of the Clonal Hybrid Species Phoxinus eos-neogaeus (Cyprinidae)*. Copeia. 1993 (3), 650-660.
- Goodenough, U. et Heitman, J. (2014). *Origins of eukaryotic sexual reproduction*. Cold Spring Harb Perspect Biol. 6 (3).
- Gould, J., Beranek, C., Valdez, J. et Mahony, M. (2022). *Quantity versus quality: A balance between egg and clutch size among Australian amphibians in relation to other life-history variables*. Austral Ecology. 47 (3), 685-697.
- Graf, J. (1989). *Evolutionary genetics of the Rana esculenta complex*. Evolution and ecology of unisexual vertebrates. 289-301.
- Green, B.S. (2008). *Maternal Effects in Fish Populations*. In Advances in Marine Biology, pp. 1-105, Academic Press.
- Grismer, J. et Grismer, L. (2010). *Who'S Your Mommy? Identifying Maternal Ancestors Of Asexual Species Of Leiolepis Cuvier, 1829 And The Description Of A New Endemic Species Of Asexual Leiolepis Cuvier, 1829 From Southern Vietnam*. Zootaxa. 2433, 47-61.
- Gross, M.R. et Sargent, R.C. (1985). *The Evolution of Male and Female Parental Care in Fishes*. American Zoologist. 25 (3), 807-822.
- Grover, C.E., Gallagher, J.P., Szadkowski, E.P., Yoo, M.J., Fligel, L.E. et Wendel, J.F. (2012). *Homoeolog expression bias and expression level dominance in allopolyploids*. New Phytologist. 196 (4), 966-971.
- Gunz, P. et Mitteroecker, P. (2013). *Semilandmarks: A Method for Quantifying Curves and Surfaces*. Hystrix. 24, 103-109.
- Hardy, L. et Cole, C.J. (1981). *Parthenogenetic reproduction in lizards: Histological evidence*. Journal of Morphology. 170 (2), 215-237.
- Harmon, T.S., Kamerman, T.Y., Corwin, A.L. et Sellas, A.B. (2016). *Consecutive parthenogenetic births in a spotted eagle ray Aetobatus narinari*. Journal of Fish Biology. 88 (2), 741-745.
- Hartigan, J.A. et Wong, M.A. (1979). *Algorithm AS 136: A K-Means Clustering Algorithm*. Journal of the Royal Statistical Society. Series C (Applied Statistics). 28, 100-108.
- Hartl, D.L. et Clark, A.G. (2007). *Principles of Population Genetics*, Sinauer.
- Hayward, A. et Gillooly, J.F. (2011). *The Cost of Sex: Quantifying Energetic Investment in Gamete Production by Males and Females*. PLOS ONE. 6 (1), e16557.
- Heimpel, G.E. et de Boer, J.G. (2007). *Sex Determination in the Hymenoptera*. Annual Review of Entomology. 53 (1), 209-230.
- Hojsgaard, D. et Hörandl, E. (2019). *The Rise of Apomixis in Natural Plant Populations*. Frontiers in plant science. 10.
- Hörandl, E. (2013). *Meiosis and the paradox of sex in nature*. Meiosis. 1.
- Hörandl, E., Bast, J., Brandt, A., Scheu, S., Bleidorn, C., Cordellier, M. et al. (2020). *Genome Evolution of Asexual Organisms and the Paradox of Sex in Eukaryotes*. In Evolutionary

- Biology—A Transdisciplinary Approach (Pierre Pontarotti ed), pp. 133-167, Springer International Publishing.
- Hu, F., Fan, J., Qin, Q., Huo, Y., Wang, Y., Wu, C. *et al.* (2019). *The Sterility of Allotriploid Fish and Fertility of Female Autotriploid Fish*. *Frontiers in Genetics*. 10.
- Hulseley, C.D., Holzman, R. et Meyer, A. (2018). *Dissecting a potential spandrel of adaptive radiation: Body depth and pectoral fin ecomorphology coevolve in Lake Malawi cichlid fishes*. *Ecology and Evolution*. 8 (23), 11945-11953.
- Huylmans, A.K., Macon, A., Hontoria, F. et Vicoso, B. (2021). *Transitions to asexuality and evolution of gene expression in Artemia brine shrimp*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 288 (1959), 20211720.
- Janko, K., Mikuliček, P., Hobza, R. et Schlupp, I. (2023). *Sperm-dependent asexual species and their role in ecology and evolution*. *Ecology and Evolution*. 13 (10), e10522.
- Janko, K., Pačes, J., Wilkinson-Herbots, H., Costa, R.J., Roslein, J., Drozd, P. *et al.* (2018). *Hybrid asexuality as a primary postzygotic barrier between nascent species: On the interconnection between asexuality, hybridization and speciation*. *Molecular Ecology*. 27 (1), 248-263.
- Kearney, M., Fujita, M.K. et Ridenour, J. (2009). *Lost Sex in the Reptiles: Constraints and Correlations*. In *Lost Sex: The Evolutionary Biology of Parthenogenesis* (Isa Schön et al. eds), pp. 447-474, Springer Netherlands.
- Kearney, M. et Shine, R. (2004). *Morphological and Physiological Correlates of Hybrid Parthenogenesis*. *The American Naturalist*. 164 (6), 803-813.
- Kimmel, C.B., Hohenlohe, P.A., Ullmann, B., Currey, M. et Cresko, W.A. (2012). *Developmental dissociation in morphological evolution of the stickleback opercle*. *Evolution & Development*. 14 (4), 326-337.
- Klingenberg, C.P. (2016). *Size, shape, and form: concepts of allometry in geometric morphometrics*. *Development Genes and Evolution*. 226 (3), 113-137.
- Kobayashi, K. et Hasegawa, E. (2016). *A female-biased sex ratio reduces the twofold cost of sex*. *Scientific Reports*. 6, 23982.
- Kobayashi, K., Ishizu, H., Arioka, S., Cabrera, J.P., Hoshi, M. et Matsumoto, M. (2008). *Production of diploid and triploid offspring by inbreeding of the triploid planarian Dugesia ryukyuensis*. *Chromosoma*. 117 (3), 289-296.
- Kokko, H. et Jennions, M. (2003). *It takes two to tango*. *Trends in Ecology and Evolution*. 18 (3), 103-104.
- Kuroda, M., Fujimoto, T., Murakami, M., Yamaha, E. et Arai, K. (2019). *Aberrant Meiotic Configurations Cause Sterility in Clone-Origin Triploid and Inter-Group Hybrid Males of the Dojo Loach, Misgurnus anguillicaudatus*. *Cytogenet Genome Res*. 158 (1), 46-54.
- Lafond, J. et Angers, B. (2023). *Maternal ploidy shapes reproductive pathways in the triploid hybrid Chrosomus eos x eos-neogaeus*. *Molecular Ecology*.
- Lafond, J., Hénault, P., Leung, C. et Angers, B. (2019). *Unexpected Oogenic Pathways for the Triploid Fish Chrosomus eos-neogaeus*. *Journal of Heredity*. 110 (3), 370-377.

- Lamatsch, D.K. et Stöck, M. (2009). *Sperm-Dependent Parthenogenesis and Hybridogenesis in Teleost Fishes*. In *Lost Sex: The Evolutionary Biology of Parthenogenesis* (Isa Schön et al. eds), pp. 399-432, Springer Netherlands.
- Lanier, D.L., Estep, D.Q. et Dewsbury, D.A. (1975). *Copulatory behavior of golden hamsters: effects on pregnancy*. *Physiology and Behavior*. 15 (2), 209-212.
- Lasker, H.R. (1984). *Asexual reproduction, fragmentation, and skeletal morphology of a plexaurid gorgonian*. *Marine Ecology Progress Series*. 19 (3), 261-268.
- Lavanchy, G. et Schwander, T. (2019). *Hybridogenesis*. *Current Biology* 29, R9-R11.
- Legendre, P. et Legendre, L. (2012). *Numerical ecology*, Third Edition edn., Elsevier.
- Lehtonen, J., Jennions, M.D. et Kokko, H. (2012). *The many costs of sex*. *Trends in Ecology and Evolution*. 27 (3), 172-178.
- Leung, C. et Angers, B. (2018). *Imitating the cost of males: A hypothesis for coexistence of all-female sperm-dependent species and their sexual host*. *Ecology and Evolution*. 8 (1), 266-272.
- Leung, C., Breton, S. et Angers, B. (2016). *Facing environmental predictability with different sources of epigenetic variation*. *Ecology and Evolution*. 6 (15), 5234-5245.
- Leung, C., Breton, S. et Angers, B. (2018). *A trait-based ecology to assess the acclimation of a sperm-dependent clonal fish compared to its sexual host*. *PeerJ*. 6, e5896.
- Li, L., Zheng, P. et Dean, J. (2010). *Maternal control of early mouse development*. *Development*. 137 (6), 859-870.
- Li, W., Liu, J., Tan, H., Luo, L., Cui, J., Hu, J. et al. (2018). *Asymmetric expression patterns reveal a strong maternal effect and dosage compensation in polyploid hybrid fish*. *BMC Genomics*. 19 (1), 517.
- Lively, C.M. (2010). *Parasite virulence, host life history, and the costs and benefits of sex*. *Ecology*. 91 (1), 3-6.
- Lively, C.M. et Morran, L.T. (2014). *The ecology of sexual reproduction*. *Journal of Evolutionary Biology*. 27 (7), 1292-1303.
- Lowcock, L.A., Griffith, H. et Murphy, R.W. (1991). *The *Ambystoma laterale-jeffersonianum* Complex in Central Ontario: Ploidy Structure, Sex Ratio, and Breeding Dynamics in a Bisexual-Unisexual Community*. *Copeia*. 1991 (1), 87-105.
- Lubzens, E., Bobe, J., Young, G. et Sullivan, C.V. (2017). *Maternal investment in fish oocytes and eggs: The molecular cargo and its contributions to fertility and early development*. *Aquaculture*. 472, 107-143.
- Luijckx, P., Ho, E.K.H., Gasim, M., Chen, S., Stanic, A., Yanchus, C. et al. (2017). *Higher rates of sex evolve during adaptation to more complex environments*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 114 (3), 534-539.
- Mable, B. (2004). *'Why polyploidy is rarer in animals than in plants': myths and mechanisms*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 82.

- MacArthur, R.H. et Wilson, E.O. (1967). *The Theory of Island Biogeography*, REV - Revised edn., Princeton University Press.
- Macculloch, R.D., Murphy, R.W., Kupriyanova, L.A. et Darevsky, I.S. (1997). *The Caucasian rock lizard *Lacerta rostombekovi*: a monoclonal parthenogenetic vertebrate*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 25 (1), 33-37.
- Madlung, A. (2013). *Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools*. *Heredity*. 110 (2), 99-104.
- Manan, H., Noor Hidayati, A.B., Lyana, N.A., Amin-Safwan, A., Ma, H., Kasan, N.A. et al. (2022). *A review of gynogenesis manipulation in aquatic animals*. *Aquaculture and Fisheries*. 7 (1), 1-6.
- Marta, A., Tichopád, T., Bartoš, O., Klíma, J., Shah, M.A., Bohlen, V. et al. (2023). *Genetic and karyotype divergence between parents affect clonality and sterility in hybrids*. *Elife*. 12.
- Martin, P.R. et Martin, T.E. (2001). *Ecological and fitness consequences of species coexistence: a removal experiment with wood warblers*. *Ecology*. 82 (1), 189-206.
- Massachusetts Division of Fisheries & Wildlife (2019). *Natural Heritage & Endangered Species Program : Northern Redbelly Dace *Chrosomus eos**.
- Massicotte, R., Whitelaw, E. et Angers, B. (2011). *DNA methylation: A source of random variation in natural populations*. *Epigenetics*. 6 (4), 421-427.
- Maynard Smith, J. (1971). *The origin and maintenance of sex*. In *Group Selection* (Williams G. C. ed), pp. 163-175, Aldine Atherton, Chicago.
- Maynard Smith, J. (1978). *The evolution of sex*, Cambridge University Press.
- McElroy, K.E., Bankers, L., Soper, D., Hehman, G., Boore, J.L., Logsdon, J.M. et al. (2022). *Patterns of gene expression in ovaries of sexual vs. asexual lineages of a freshwater snail*. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 10.
- Mee, J.A., Noddin, F., Hanisch, J.R., Tonn, W.M. et Paszkowski, C.A. (2013). *Diets of sexual and sperm-dependent asexual dace (*Chrosomus spp.*): relevance to niche differentiation and mate choice hypotheses for coexistence*. *Oikos*. 122 (7), 998-1008.
- Mee, J.A. et Taylor, E.B. (2012). *The cybrid invasion: widespread postglacial dispersal by *Phoxinus (Pisces: Cyprinidae)* cytoplasmic hybrids*. *Canadian Journal of Zoology*. 90 (5), 577-584.
- Monette, K., Leung, C., Lafond, J., Wittische, J. et Angers, B. (2020). *Inferring responses to climate warming from latitudinal pattern of clonal hybridization*. *Ecology and Evolution*. 10 (1), 307-319.
- Moore, M.C., Whittier, J.M., Billy, A.J. et Crews, D. (1985). *Male-like behaviour in an all-female lizard: relationship to ovarian cycle*. *Animal Behaviour*. 33 (1), 284-289.
- Moore, M.P., Whiteman, H.H. et Martin, R.A. (2019). *A mother's legacy: the strength of maternal effects in animal populations*. *Ecology Letters*. 22 (10), 1620-1628.
- Moore, W.S. (1984). *Evolutionary Ecology of Unisexual Fishes*. In *Evolutionary Genetics of Fishes* (Bruce J. Turner ed), pp. 329-398, Springer US.

- Moore, W.S. et McKay, F.E. (1971). *Coexistence in Unisexual-Bisexual Species Complexes of Poeciliopsis (Pisces: Poeciliidae)*. *Ecology*. 52 (5), 791-799.
- Morgado-Santos, M., Carona, S., Vicente, L. et Collares-Pereira, M.J. (2017). *First empirical evidence of naturally occurring androgenesis in vertebrates*. *Royal Society Open Science*. 4 (5), 170200.
- Morishima, K., Yoshikawa, H. et Arai, K. (2008). *Meiotic hybridogenesis in triploid Misgurnus loach derived from a clonal lineage*. *Heredity*. 100, 581.
- Moritz, C., Brown, W.M., Densmore, L.D., Wright, J.W., Vyas, D., Donnellan, S. et al. (1988). *Genetic diversity and the dynamics of hybrid parthenogenesis in Cnemidophorus (Teiidae) and Heteronotia (Gekkonidae)*. *Evolution and ecology of unisexual vertebrates*. 87-112.
- Moritz, C., Donnellan, S., Adams, M. et Baverstock, P.R. (1989). *The Origin And Evolution Of Parthenogenesis In Heteronotia Binoei (Gekkonidae): Extensive Genotypic Diversity Among Parthenogens*. *Evolution*. 43 (5), 994-1003.
- Neaves, W.B. et Baumann, P. (2011). *Unisexual reproduction among vertebrates*. *Trends in Genetics*. 27 (3), 81-88.
- Negovetic, S., Anholt, B., D. Semlitsch, R. et U Reyer, H. (2001). *Specific Responses of Sexual and Hybridogenetic European Waterfrog Tadpoles to Temperature*. *Ecology*. 82 (3).
- Neiman, M. (2004). *Physiological dependence on copulation in parthenogenetic females can reduce the cost of sex*. *Animal Behaviour*. 67 (5), 811-822.
- Neiman, M., Meirmans, S. et Meirmans, P.G. (2009). *What can asexual lineage age tell us about the maintenance of sex?* *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1168, 185-200.
- New, J.G. (1962). *Hybridization between two cyprinids, Chrosomus eos and Chrosomus neogaeus*. *Copeia*. 147-152.
- Oksanen, J., F. Blanchet, G., Friendly, M., Roeland, K., Legendre, P., McGlinn, D. et al. (2020). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-7. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Olsson, M., Shine, R., Wapstra, E., Uivari, B. et Madsen, T. (2002). *Sexual dimorphism in lizard body shape: the roles of sexual selection and fecundity selection*. *Evolution*. 56 (7), 1538-1542.
- Oshima, K., Morishima, K., Yamaha, E. et Arai, K. (2005). *Reproductive capacity of triploid loaches obtained from Hokkaido Island, Japan*. *Ichthyological Research*. 52, 1-8.
- Østbye, K., Harrod, C., Gregersen, F., Schulz, M., Schluter, D. et Vøllestad, L. (2016). *The temporal window of ecological adaptation in postglacial lakes: A comparison of head morphology, trophic position and habitat use in Norwegian threespine stickleback populations*. *BMC Evolutionary Biology*. 16.
- Otto, S.P. (2009). *The evolutionary enigma of sex*. *Am Nat*. 174 Suppl 1, S1-s14.
- Otto, S.P. et Lenormand, T. (2002). *Resolving the paradox of sex and recombination*. *Nature Reviews Genetics*. 3 (4), 252-261.
- Pala, I., Coelho, M.M. et Scharl, M. (2008). *Dosage compensation by gene-copy silencing in a triploid hybrid fish*. *Current Biology*. 18 (17), 1344-1348.

- Parker, D.J., Bast, J., Jalvingh, K., Dumas, Z., Robinson-Rechavi, M. et Schwander, T. (2019a). *Repeated Evolution of Asexuality Involves Convergent Gene Expression Changes*. *Molecular Biology and Evolution*. 36 (2), 350-364.
- Parker, D.J., Bast, J., Jalvingh, K., Dumas, Z., Robinson-Rechavi, M. et Schwander, T. (2019b). *Sex-biased gene expression is repeatedly masculinized in asexual females*. *Nature Communications*. 10 (1), 4638.
- Parker, E.D. et Selander, R.K. (1976). *The organization of genetic diversity in the parthenogenetic lizard *Cnemidophorus tesselatus**. *Genetics*. 84 (4), 791-805.
- Parker, G.A. (1970). *Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects*. *Biological Reviews*. 45 (4), 525-567.
- Paulissen, M.A. et Walker, J.M. (1989). *Pseudocopulation in the Parthenogenetic Whiptail Lizard *Cnemidophorus laredoensis* (Teiidae)*. *The Southwestern Naturalist*. 34 (2), 296-298.
- Petrović, A., Mitrović, M., Ivanović, A., Žikić, V., Kavallieratos, N.G., Starý, P. et al. (2015). *Genetic and morphological variation in sexual and asexual parasitoids of the genus *Lysiphlebus* – an apparent link between wing shape and reproductive mode*. *BMC Evolutionary Biology*. 15 (1), 5.
- Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.-C., Flajšhans, M., Haffray, P. et Colombo, L. (2009). *Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment*. *Aquaculture*. 293 (3), 125-156.
- Pincheira-Donoso, D. et Hunt, J. (2017). *Fecundity selection theory: concepts and evidence*. *Biological Reviews*. 92 (1), 341-356.
- Posit Team (2023). *RStudio: Integrated Development Environment for R*. Posit Software, PBC. <http://www.posit.co/>.
- Prummel, K.D., Nieuwenhuize, S. et Mosimann, C. (2020). *The lateral plate mesoderm*. *Development*. 147 (12).
- Przybył, A., Juchno, D., Przybylski, M., Leska, A., Nowosad, J., Kucharczyk, D. et al. (2022). *Sex steroids in diploid and triploid gibel carp (*Carassius gibelio*) of both sexes in different phases of the reproductive cycle*. *Animal Reproduction Science*. 244, 107053.
- Quattro, J.M., Avise, J.C. et Vrijenhoek, R.C. (1992). *An ancient clonal lineage in the fish genus *Poeciliopsis* (Atheriniformes: Poeciliidae)*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 89 (1), 348-352.
- R Core Team (2022). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>.
- Ramachandran, R. et McDaniel, C.D. (2018). *Parthenogenesis in birds: a review*. *Reproduction*. 155 (6), R245-R257.
- Rogers, A.D. (1999). *The Biology of *Lophelia pertusa* (Linnaeus 1758) and Other Deep-Water Reef-Forming Corals and Impacts from Human Activities*. *International Review of Hydrobiology*. 84 (4), 315-406.
- Rohlf, F.J. (2006). *tpsDig2*. 2.10.

- Rohlf, F.J. et Slice, D. (1990). *Extensions of the Procrustes Method for the Optimal Superimposition of Landmarks*. Systematic Biology. 39 (1), 40-59.
- Roze, D. (2012). *Disentangling the Benefits of Sex*. PLoS Biology. 10 (5), e1001321.
- Rueden, C.T., Schindelin, J., Hiner, M.C., DeZonia, B.E., Walter, A.E., Arena, E.T. *et al.* (2017). *ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data*. BMC Bioinformatics. 18, 529.
- Ryskov, A.P. (2008). *Chapter 7 : Genetically Unstable Microsatellite-Containing Loci and Genome Diversity in Clonally Reproduced Unisexual Vertebrates*. In International Review of Cell and Molecular Biology (International Review of Cell and Molecular Biology ed), Institute of Gene Biology.
- Sakwińska, O. (2004). *Persistent maternal identity effects on life history traits in Daphnia*. Oecologia. 138 (3), 379-386.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. et Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd edn., Cold Spring Harbor Laboratory.
- Schiml, P., Wersinger, S. et Rissman, E. (2000). *Behavioral effects on the female neuroendocrine system*. In Reproduction in Context (K. Wallen & JE Schneider ed), pp. 445-472.
- Schley, D., Doncaster, C.P. et Sluckin, T. (2004). *Population models of sperm-dependent parthenogenesis*. Journal of Theoretical Biology. 229 (4), 559-572.
- Schlosser, I.J., Doeringsfeld, M.R., Elder, J.F. et Arzayus, L.F. (1998). *Niche Relationships of Clonal and Sexual Fish in a Heterogeneous Landscape*. Ecology. 79 (3), 953-968.
- Schlupp, I. (2005). *The evolutionary ecology of gynogenesis*. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics. 36.
- Schlupp, I. (2009). *Chapter 5 Behavior of Fishes in the Sexual/Unisexual Mating System of the Amazon Molly (Poecilia formosa)*. In Advances in the Study of Behavior, pp. 153-183, Academic Press.
- Schlupp, I. (2010). *Mate choice and the Amazon molly: how sexuality and unisexuality can coexist*. Journal of Heredity. 101 Suppl 1, S55-61.
- Schlupp, I., Taebel-Hellwig, A. et Tobler, M. (2010). *Equal fecundity in asexual and sexual mollies (Poecilia)*. Environmental Biology of Fishes. 88 (2), 201-206.
- Schmerler, S. et Wessel, G.M. (2011). *Polar bodies - more a lack of understanding than a lack of respect*. Molecular Reproduction and Development. 78 (1), 3-8.
- Schmidt, H. (1970). *Anthopleura stellula (Actiniaria, Actiniidae) and its reproduction by transverse fission*. Marine Biology. 5 (3), 245-255.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. et Eliceiri, K.W. (2012). *NIH Image to ImageJ: 25 years of Image Analysis*. Nature methods. 9 (7), 671-675.
- Schultz, R.J. (1967). *Gynogenesis and triploidy in the viviparous fish Poeciliopsis*. Science. 157 (3796), 1564-1567.
- Schultz, R.J. (1969). *Hybridization, Unisexuality, and Polyploidy in the Teleost Poeciliopsis (Poeciliidae) and Other Vertebrates*. The American Naturalist. 103 (934), 605-619.

- Schut, E., Hemmings, N. et Birkhead, T.R. (2008). *Parthenogenesis in a passerine bird, the Zebra Finch *Taeniopygia guttata**. Ibis. 150 (1), 197-199.
- Schwander, T., Crespi, B.J., Gries, R. et Gries, G. (2013). *Neutral and selection-driven decay of sexual traits in asexual stick insects*. Proc Biol Sci. 280 (1764), 20130823.
- Serrano-Meneses, M.-A. et Székely, T. (2006). *Sexual size dimorphism in seabirds: sexual selection, fecundity selection and differential niche-utilisation*. Oikos. 113 (3), 385-394.
- Sharpe, R.M. (2001). *Hormones and testis development and the possible adverse effects of environmental chemicals*. Toxicology Letters. 120 (1), 221-232.
- Skinner, M.K. (2011). *Role of epigenetics in developmental biology and transgenerational inheritance*. Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews. 93 (1), 51-55.
- Song, Y., Westerhuis, J.A., Aben, N., Michaut, M., Wessels, L.F.A. et Smilde, A.K. (2017). *Principal component analysis of binary genomics data*. Briefings in Bioinformatics. 20 (1), 317-329.
- Stenberg, P. et Saura, A. (2013). *Meiosis and Its Deviations in Polyploid Animals*. Cytogenetic and Genome Research. 140, 1-19.
- Steneck, R.S., Graham, M.H., Bourque, B.J., Corbett, D., Erlandson, J.M., Estes, J.A. et al. (2002). *Kelp forest ecosystems: biodiversity, stability, resilience and future*. Environmental Conservation. 29 (4), 436-459.
- Stöck, M., Dedukh, D., Reifová, R., Lamatsch, D.K., Starostová, Z. et Janko, K. (2021). *Sex chromosomes in meiotic, hemiclonal, clonal and polyploid hybrid vertebrates: along the "extended speciation continuum"*. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. 376 (1833), 20200103.
- Stöck, M., Lamatsch, D.K., Steinlein, C., Epplen, J.T., Grosse, W.R., Hock, R. et al. (2002). *A bisexually reproducing all-triploid vertebrate*. Nature Genetics. 30 (3), 325-328.
- Stöck, M., Ustinova, J., Betto-Colliard, C., Schartl, M., Moritz, C. et Perrin, N. (2011). *Simultaneous Mendelian and clonal genome transmission in a sexually reproducing, all-triploid vertebrate*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 1-7.
- Stringer, A. et Clancy, N. (2020). *Status of Northern Redbelly Dace (*Chrosomus eos*) in Montana*.
- Sturtevant, A.H. (1923). *Inheritance of Direction of Coiling in *Limnaea**. Science. 58 (1501), 269-270.
- Tamme, R., Hiiesalu, I., Laanisto, L., Szava-Kovats, R. et Pärtel, M. (2010). *Environmental heterogeneity, species diversity and co-existence at different spatial scales*. Journal of Vegetation Science. 21 (4), 796-801.
- Taylor, H.L., Cole, C.J., Hardy, L.M., Dessauer, H.C., Townsend, C.R., Walker, J.M. et al. (2001). *Natural hybridization between the teiid lizards *Cnemidophorus tesselatus* (parthenogenetic) and *C. tigris marmoratus* (bisexual) : assessment of evolutionary alternatives*. American Museum Novitates 3345, 1-65.
- Theska, T., Sieriebriennikov, B., Wighard, S.S., Werner, M.S. et Sommer, R.J. (2020). *Geometric morphometrics of microscopic animals as exemplified by model nematodes*. Nature protocols. 15 (8), 2611-2644.

- Thornhill, R. (1983). *Cryptic female choice and its implications in the scorpionfly Harpobittacus nigriceps*. *The American Naturalist*. 122 (6), 765-788.
- Tripp, E.A. (2016). *Is asexual reproduction an evolutionary dead end in lichens?* *The Lichenologist*. 48 (5), 559-580.
- Turner, B.J., Balsano, J.S., Monaco, P.J. et Rasch, E.M. (1983). *Clonal diversity and evolutionary dynamics in a diploid-triploid breeding complex of unisexual fishes (Poecilia)*. *Evolution*. 37 (4), 798-809.
- Uller, T. (2012). *Parental effects in development and evolution*. In *The Evolution of Parental Care* (Mathias Kölliker ed), pp. 246–266, Oxford University Press.
- Ulliyett, G. (1950). *Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. 234 (610), 77-174.
- Uzzell, T., Berger, L. et Günther, R. (1975). *Diploid and Triploid Progeny from a Diploid Female of Rana esculenta (Amphibia Salientia)*. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*. 127, 81-91.
- van der Kooij, C.J. et Schwander, T. (2014). *On the fate of sexual traits under asexuality*. *Biological Reviews*. 89 (4), 805-819.
- Van Dijk, P. (2009). *Apomixis: Basics for Non-botanists*. In *Lost Sex: The Evolutionary Biology of Parthenogenesis* (Isa Schön et al. eds), pp. 47-62, Springer Netherlands.
- Van Valen, L. (1973). *A new Evolutionary Law*. *Evolutionary Theory*. 1, 1-30.
- Van Valen, L. (1977). *The Red Queen*. *The American Naturalist*. 111, 809-810.
- Vastenhouw, N.L., Cao, W.X. et Lipshitz, H.D. (2019). *The maternal-to-zygotic transition revisited*. *Development*. 146 (11), dev161471.
- Vergilino, R., Leung, C. et Angers, B. (2016). *Inconsistent phylogeographic pattern between a sperm dependent fish and its host: in situ hybridization vs dispersal*. *BMC Evolutionary Biology*. 16 (1), 183.
- Vrijenhoek, R., Dawley, R., Cole, C. et Bogart, J. (1989). *A list of the known unisexual vertebrates*. *Evolution and ecology of unisexual vertebrates*.
- Vrijenhoek, R.C. (1994). *Unisexual fish: model systems for studying ecology and evolution*. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 25.
- Vrijenhoek, R.C. (2006). *Polyploid hybrids: multiple origins of a treefrog species*. *Current Biology*. 16 (7), R245-R247.
- Walker, J.M., Cordes, J. et Taylor, H.L. (1997). *Parthenogenetic Cnemidophorus tessellatus complex (Sauria: Teiidae): A neotype for diploid C. tessellatus (Say, 1823), redescription of the taxon, and description of a new triploid species*. *Herpetologica*. 53 (2), 233-259.
- Wang, J., Liu, Q., Luo, K., Chen, X., Xiao, J., Zhang, C. et al. (2016). *Cell fusion as the formation mechanism of unreduced gametes in the gynogenetic diploid hybrid fish*. *Scientific Reports*. 6, 31658-31658.

- Wang, Y., Zhang, M., Qin, Q., Peng, Y., Huang, X., Wang, C. *et al.* (2019). *Transcriptome Profile Analysis on Ovarian Tissues of Autotetraploid Fish and Diploid Red Crucian Carp*. *Frontiers in Genetics*. 10, 208.
- Watts, P.C., Buley, K.R., Sanderson, S., Boardman, W., Ciofi, C. et Gibson, R. (2006). *Parthenogenesis in Komodo dragons*. *Nature*. 444, 1021-1022.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wilson, J.R., Adler, N. et Le Boeuf, B. (1965). *The effects of intromission frequency on successful pregnancy in the female rat*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 53 (6), 1392-1395.
- Wilson, L.A., Colombo, M., Sánchez-Villagra, M.R. et Salzburger, W. (2015). *Evolution of opercle shape in cichlid fishes from Lake Tanganyika - adaptive trait interactions in extant and extinct species flocks*. *Sci Rep*. 5, 16909.
- Wolf, J.B. et Wade, M.J. (2009). *What are maternal effects (and what are they not)?* *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences*. 364 (1520), 1107-1115.
- Wolf, J.B. et Wade, M.J. (2016). *Evolutionary genetics of maternal effects*. *Evolution*. 70 (4), 827-839.
- Wulff, J.L. (1991). *Asexual fragmentation, genotype success, and population dynamics of erect branching sponges*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 149 (2), 227-247.
- Xiao, J., Zou, T., Chen, Y., Chen, L., Liu, S., Tao, M. *et al.* (2011). *Coexistence of diploid, triploid and tetraploid crucian carp (*Carassius auratus*) in natural waters*. *BMC Genetics*. 12 (1), 20.
- Xiao, Y., Jiang, S., Cheng, Q., Wang, X., Yan, J., Zhang, R. *et al.* (2021). *The genetic mechanism of heterosis utilization in maize improvement*. *Genome Biology*. 22 (1), 148.
- Xiong, L.Z., Xu, C.G., Saghai Maroof, M.A. et Zhang, Q. (1999). *Patterns of cytosine methylation in an elite rice hybrid and its parental lines, detected by a methylation-sensitive amplification polymorphism technique*. *Molecular and General Genetics*. 261 (3), 439-446.
- Yang, Z., Liu, X., Zhou, M., Ai, D., Wang, G., Wang, Y. *et al.* (2015). *The effect of environmental heterogeneity on species richness depends on community position along the environmental gradient*. *Scientific Reports*. 5 (1), 15723.
- Yoo, M.J., Szadkowski, E. et Wendel, J.F. (2013). *Homoeolog expression bias and expression level dominance in allopolyploid cotton*. *Heredity*. 110 (2), 171-180.
- Zhang, Q., Arai, K. et Yamashita, M. (1998). *Cytogenetic mechanisms for triploid and haploid egg formation in the triploid loach *Misgurnus anguillicaudatus**. *Journal of Experimental Zoology* 281 (6), 608-619.

Chapitre VII

7. Annexes (Supplementary materials)

Annexes

7.1 Annexe 1 (Chapitre II)

Supplementary Table I. Genotypes of the offspring issued from crosses between female triploids of *C. eos-neogaeus* and males of *C. eos* based on PHO-2 and CA-12 loci. Each E represents one *C. eos* haplome, and each N, one *C. neogaeus* haplome. EE refers to diploid *C. eos*, EN to diploid hybrids, EEN to triploid hybrids, and EEEN to tetraploid hybrids.

Cross	Number of larvae	PHO-2			CA-12				Biotype
1	Female	212	212	-	211	-	235	245	EEN
	Male	-	224	236	-	215	235	-	EE
	3	212	224	-	211	-	235	-	EE
	3	212	224	-	-	235	235	-	EE
	2	212	224	-	-	215	235	-	EE
	1	212	212	236	211	-	235	245	EEEN
	1	212	-	236	211	-	235	-	EE
2	1	212	224	-	211	215	-	-	EE
	Female	-	212	240	211	215	245	-	EEN
	Male	208	212	-	211	-	247	-	EE
	4	208	-	240	211	215	-	-	EE
	4	208	212	-	211	215	-	-	EE
	3	-	212	240	211	211	-	-	EE
	3	208	-	240	-	215	247	-	EE
	3	208	-	240	211	-	247	-	EE
	2	208	212	-	211	-	247	-	EE
	2	208	212	-	-	215	247	-	EE
	1	212	212	-	-	215	247	-	EE
	1	208	212	240	211	211	215	245	EEEN
	1	208	212	-	211	211	-	-	EE
1	212	212	-	211	-	247	-	EE	
1	212	212	-	211	215	-	-	EE	
3	Female	-	216	236	211	-	245	251	EEN
	Male 1	192	216	-	205	207	-	-	EE
	Male 2	-	240	256	207	235	-	-	EE
	2	-	216	236	205	211	-	-	EE
	2	-	216	236	207	-	-	251	EE
	2	216	216	-	207	-	-	251	EE
	1	-	216	236	207	211	245	251	EEEN
	1	-	216	236	205	-	-	251	EE
4	1	192	-	236	207	-	-	251	EE
	1	192	216	-	207	211	-	-	EE
	Female	212	-	216	211	235	245	-	EEN
	Male	204	208	-	215	-	-	251	EE
	2	204	-	216	211	-	-	251	EE
	2	208	212	-	211	-	-	251	EE
4	1	208	212	-	-	235	-	251	EE
	1	208	-	216	211	215	-	-	EE
	1	208	-	216	211	-	-	251	EE
	1	208	-	216	211	-	-	251	EE

	1	208	212	-	211	215	-	-	EE
	1	208	212	216	211	235	245	251	EEEN
	1	204	-	216	211	215	-	-	EE
	1	204	-	216	211	215	-	-	EE
	1	208	-	216	-	235	-	251	EE
5	Female	212	-	236	207	211	245	-	EEN
	Male	-	216	236	-	235	247	-	EE
5	1	-	216	236	211	-	247	-	EE
	1	212	-	236	207	211	247	-	EEEN**
	Female	204	212	-	207	235	-	257	EEN
	Male	224	224	-	211	-	239	-	EE
6									
	22	204	224	-	207	211	-	257	EEN
	10	204	224	-	207	-	239	257	EEN
	1	204	-	-	207	-	-	257	EN
7	Female	212	216	-	211	-	241	255	EEN
	Male	-	236	260	215	235	-	-	EE
	10	212	-	260	211	235	241	-	EEN
	6	212	236	-	211	215	241	-	EEN
	6	212	-	260	211	215	241	-	EEN
	6	212	236	-	211	235	241	-	EEN
	3	212	-	-	211	-	241	-	EN
1	212	220*	-	211	235	241	-	EEN	
8	Female	212	236	-	211	-	235	245	EEN
	Male	188	-	244	-	215	235	-	EN
	8	212	-	244	211	215	-	245	EEN
	6	212	-	244	211	-	235	245	EEN
	5	212	-	-	211	-	235	245	EEN
	4	212	-	244	-	-	-	-	EEN
	4	212	-	-	211	215	-	245	EEN
	2	212	-	-	211	-	-	245	EN
	1	188	212	-	211	-	235	245	EEN
9	Female	212	-	240	211	235	245	-	EEN
	Male	-	216	244	-	235	235	-	EE
	6	212	216	-	211	235	245	-	EEN
	5	212	-	244	211	235	245	-	EEN
	4	212	-	-	211	-	245	-	EN
1	212	216	-	-	-	-	-	EEN	
10	Female	212	220	-	-	211	215	245	EEN
	Male	-	240	244	207	215	-	-	EE
	8	212	-	244	-	211	215	245	EEN
	1	-	-	-	207	211	-	245	EEN
	3	212	-	244	207	211	-	245	EEN
	8	212	240	-	-	211	215	245	EEN
	8	212	240	-	207	211	-	245	EEN
	2	212	-	-	-	211	-	245	EN
	1	212	-	244		211	-	245	EEN

11	Female	212	-	244	211	211	245	-	EEN
	Male	224	224	-	-	235	235	-	EE
	8	212	224	-	211	235	245	-	EEN
	3	212	224	-	-	-	-	-	EEN
12	1	212	216*	-	211	235	245	-	EEN
	Female	212	-	236	211	235	245	-	EEN
	Male	216	-	260	-	235	235	-	EE
	17	212	216	-	211	235	245	-	EEN
13	10	212	-	260	211	235	245	-	EEN
	2	212	212	-	211	235	245	-	EEN
	Female	212	-	240	211	215	245	-	EEN
	Male	-	236	244	215	215	-	-	EE
14	17	212	236	-	211	215	245	-	EEN
	10	212	-	244	211	215	245	-	EEN
	2	212	236	-	-	-	-	-	EEN
	Female	212	228	-	211	211	245	-	EEN
	Male	-	220	240	-	239	-	251	EE
14	10	212	220	-	211	239	245	-	EEN
	9	212	-	240	211	-	245	251	EEN
	7	212	-	240	211	239	245	-	EEN
	7	212	220	-	211	-	245	251	EEN

* Mutations detected at this allele

** Presence of *C. neogaeus* haplome confirmed with ZPEG, indicating a tetraploid individual

Supplementary Table II. Genotypes of the offspring issued from cross 8 between a female triploid of *C. eos-neogaeus* and a male of *C. eos* based on PHO-60 locus. Each E represents one *C. eos* haplome, and each N, one *C. neogaeus* haplome. EE refers to diploid *C. eos*, EN to diploid hybrids, EEN to triploid hybrids, and EEEN to tetraploid hybrids.

Cross	Number of larvae	PHO 60		Biotype
8	Female	160	160	EEN
	Male	128	148	EE
	20	160	148	EEN
	2	160	-	EN
	8	128	160	EEN

7.2 Annexe 2 (Chapitre III)

Supplementary Table I. Polymorphic HpaII Loci in triploid larvae. HpaII cuts a restriction site based on the fragment's methylation status. ID stands for identity; 1/0 represent presence/absence of a specific loci.

LarvaeID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
MotherID	1	2	2	2	3	3	3	3	4	5	5	5	6	6	6	6
MotherPloidy	2n								3n							
FatherID	1	2	2	2	3	3	3	3	4	1	1	1	2	2	2	2
HpaII_1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_2	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
HpaII_4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_5	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_6	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
HpaII_7	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
HpaII_9	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1
HpaII_10	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_11	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_12	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_13	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_14	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_15	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_16	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0
HpaII_17	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_18	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_19	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
HpaII_20	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_21	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1
HpaII_22	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_23	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_24	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_25	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1
HpaII_26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
HpaII_27	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_28	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_29	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1
HpaII_30	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
HpaII_31	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_32	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_33	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0
HpaII_34	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	0
HpaII_35	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_36	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1

HpaII_37	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1
HpaII_38	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_39	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0
HpaII_40	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_41	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
HpaII_42	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
HpaII_43	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
HpaII_44	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	0
HpaII_45	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0
HpaII_46	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
HpaII_47	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0
HpaII_48	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_49	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0
HpaII_50	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_51	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
HpaII_52	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_53	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
HpaII_54	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_55	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1
HpaII_56	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
HpaII_57	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_58	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
HpaII_59	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0
HpaII_60	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_61	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_62	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_63	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_64	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_65	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0
HpaII_66	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_67	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_68	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_69	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_70	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_71	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_72	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0
HpaII_73	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_74	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_75	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1
HpaII_76	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1
HpaII_77	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1
HpaII_78	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_79	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_80	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_81	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1

HpaII_82	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0
HpaII_83	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_84	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
HpaII_85	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_86	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0
HpaII_87	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0
HpaII_88	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_89	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0
HpaII_90	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1
HpaII_91	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_92	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_93	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_94	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
HpaII_96	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_97	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_98	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1
HpaII_99	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_100	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_101	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_102	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_103	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_104	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_105	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_106	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1
HpaII_107	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1
HpaII_108	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_109	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_110	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0
HpaII_111	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_112	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1
HpaII_113	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_114	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_115	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_116	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_117	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
HpaII_118	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_119	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
HpaII_120	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1
HpaII_121	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0
HpaII_122	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1
HpaII_123	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_124	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
HpaII_125	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
HpaII_126	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

HpaII_127	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_128	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_129	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_130	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_131	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_132	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_133	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_134	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_135	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0
HpaII_136	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0
HpaII_137	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1
HpaII_138	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
HpaII_139	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_140	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_141	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_142	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1
HpaII_143	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_144	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_145	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_146	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_147	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_148	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0
HpaII_149	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
HpaII_150	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_151	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1
HpaII_152	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_153	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1
HpaII_154	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_155	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_156	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0
HpaII_157	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_158	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0
HpaII_159	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_160	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_161	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_162	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_163	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_164	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_165	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
HpaII_166	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_167	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_168	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_169	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
HpaII_170	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_171	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1

HpaII_172	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0
HpaII_173	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1
HpaII_174	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_175	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_176	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
HpaII_177	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_178	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_179	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_180	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HpaII_181	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_182	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
HpaII_183	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
HpaII_184	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
HpaII_185	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1
HpaII_186	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
HpaII_187	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_188	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HpaII_189	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
HpaII_190	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0
HpaII_191	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0

Supplementary Table II. Polymorphic MspI Loci in triploid larvae. MspI cuts a restriction site irrespective of the fragment's methylation status. ID stands for identity; 1/0 represent presence/absence of a specific loci.

LarvaeID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
MotherID	1	2	2	2	3	3	3	3	4	5	5	5	6	6	6	6
MotherPloidy	2n								3n							
FatherID	1	2	2	2	3	3	3	3	4	1	1	1	2	2	2	2
MspI_1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
MspI_2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
MspI_3	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
MspI_4	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1
MspI_5	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
MspI_6	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0
MspI_7	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
MspI_8	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
MspI_9	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MspI_10	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
MspI_11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
MspI_12	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
MspI_13	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
MspI_14	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
MspI_15	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
MspI_16	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0

Supplementary Table III. Zygote sizes for diploid and triploid hybrid females. Size is shown in μm .

Zygote	Diploid	Triploid - AH	Triploid - MH
1	9,88	12,91	7,80
2	9,69	12,31	6,59
3	10,90	11,70	8,48
4	10,29	12,11	7,94
5	10,49	11,70	7,54
6	11,09	11,91	7,27
7	9,48	12,31	7,13
8	10,69	10,69	6,59
9	10,90	11,91	7,27
10	10,90	11,51	8,48
11	11,70	10,49	7,40
12	10,49	12,31	7,67
13	11,30	10,69	7,13
14	11,09	11,70	7,00
15	10,49	11,91	7,27
Mean	10,63	11,74	7,44
Variance	0,37	0,46	0,32

7.3 Annexe 3 (Chapitre IV)

Supplementary Data I. Landmarks coordinates and information on the samples used in this study. Note that the table appears in separate tables as it was fragmented to adapt to the format of this thesis. Below is a definition of each factor as seen in the table in the column names. Individual's information first appear, then each following part of this table represent coordinates values. As data, one can find the number of the individual (identification), the biotype (a combination of both ploidy and the reproductive strategies of the individual), centroid size (for allometry detection), Ploidy (either triploid or diploid), the hybrid lineage (e.g. from which clonal lineage a specific hybrid genome arise from, reproductive strategy (either sexual or asexual), and the type of environment in which the fish grew (either controlled conditions in the form of common garden, or natural (from either a lake or a creek)). This data is followed by the (X,Y) coordinates of the 49 landmarks. Finally, 8 *Samples* column are found – they indicate which samples to include in the script for each analysis. Sample1 includes triploids within natural conditions (1.1 = First natural habitat (B-01); 1.2 = second natural habitat (A-11); 1.3 = all these individuals together). Sample2 uses triploids from both natural and common garden environments (2.1 = individuals from the common garden; 2.2 = all triploids). Sample3 is for both triploids and diploids (3.1 is for samples from the B-01 site and common garden; 3.2 is only from the common garden; 3.3 is only from the natural site harbouring B-01 hybrids).

Individual	Biotype	Centroid_Size	Ploidy	Lineage	Reproduction	Condition
F001	Asexual_Diploid	5.12	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F003	Asexual_Diploid	5.08	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F005	Asexual_Diploid	5.31	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F006	Asexual_Triploid	4.89	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F007	Asexual_Triploid	5.16	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F008	Asexual_Diploid	4.96	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F009	Asexual_Triploid	4.98	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F010	Asexual_Diploid	4.9	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F011	Asexual_Triploid	4.84	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F012	Asexual_Diploid	5.26	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F013	Asexual_Diploid	5.03	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F014	Asexual_Triploid	4.97	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F015	C._eos	4.44	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F016	Asexual_Diploid	5.91	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F017	C._eos	4.13	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F019	Asexual_Diploid	4.61	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F020	Asexual_Diploid	5.18	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F021	Asexual_Triploid	4.98	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F022	Asexual_Diploid	4.91	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F025	Sexual_Triploid	4.95	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F026	Asexual_Triploid	4.08	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F028	Asexual_Diploid	4.97	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F029	Asexual_Triploid	5.27	Triploid	B-01	Asexual	Natural

F030	Sexual Triploid	4.91	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F032	Asexual_Diploid	5.19	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F033	Asexual_Diploid	4.56	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F034	Asexual_Diploid	5	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F035	Sexual Triploid	4.69	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F037	Asexual_Triploid	5.07	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F038	Asexual_Diploid	4.99	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F041	Asexual_Triploid	5.21	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F047	C._eos	3.86	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F049	C._eos	3.92	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F051	Asexual_Triploid	4.79	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F056	Asexual_Triploid	5.48	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F058	Asexual_Diploid	4.64	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F060	Sexual Triploid	5.2	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F062	Asexual_Diploid	4.4	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F063	Asexual_Triploid	5.37	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F068	Asexual_Triploid	5.75	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F069	Sexual Triploid	5.74	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F073	Sexual Triploid	3.41	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F076	Asexual_Diploid	4.44	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F077	Sexual Triploid	5.37	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F078	C._eos	3.15	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F082	Asexual_Triploid	4.44	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F083	Sexual Triploid	5.14	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F084	Sexual Triploid	5.1	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F086	Asexual_Triploid	6	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F090	C._eos	3.87	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F092	C._eos	3.46	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F093	C._eos	3.57	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F094	C._eos	4.13	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F095	C._eos	3.99	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F096	C._eos	3.63	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F097	C._eos	3.51	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F098	C._eos	3.21	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F099	Asexual_Diploid	5.53	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F100	Asexual_Triploid	6.35	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F101	Asexual_Diploid	4.66	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F102	Asexual_Triploid	4.69	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F103	Asexual_Triploid	4.83	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F104	Asexual_Diploid	4.99	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F106	Sexual Triploid	4.98	Triploid	B-01	Sexual	Natural

F107	Sexual Triploid	4.27	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F108	Asexual_Triploid	5.1	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F114	Sexual Triploid	4.45	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F115	Sexual Triploid	4.46	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F116	Sexual Triploid	4.46	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F117	Sexual Triploid	4.6	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F118	Asexual_Diploid	4.75	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F120	Sexual Triploid	5.01	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F122	Asexual_Diploid	4.67	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F123	Sexual Triploid	4.6	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F124	Sexual Triploid	5.02	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F126	Sexual Triploid	4.73	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F127	Sexual Triploid	4.85	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F128	Asexual_Diploid	4.07	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F129	Asexual_Triploid	4.65	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F130	Asexual_Diploid	4.66	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F134	Sexual Triploid	5.52	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F135	Asexual_Diploid	4.98	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F137	Sexual Triploid	5.03	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F138	Sexual Triploid	5.08	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F139	Asexual_Diploid	4.74	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F140	Asexual_Triploid	4.99	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F141	Sexual Triploid	5.31	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F142	Sexual Triploid	5.29	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F143	Asexual_Triploid	5.77	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F144	Sexual Triploid	4.65	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F145	Sexual Triploid	4.8	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F146	Asexual_Diploid	4.49	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F149	Asexual_Diploid	5.14	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F150	Sexual Triploid	4.98	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F151	Asexual_Diploid	4.82	Diploid	B-01	Asexual	Natural
F152	Asexual_Triploid	5	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F153	Sexual Triploid	5.05	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F155	C._eos	3.6	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F156	Sexual Triploid	4.73	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F157	Sexual Triploid	4.61	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F158	Sexual Triploid	4.69	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F159	Sexual Triploid	5.02	Triploid	B-01	Sexual	Natural
F161	Asexual_Triploid	5.79	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F162	C._eos	3.84	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F163	Asexual_Diploid	4.64	Diploid	B-01	Asexual	Natural

F164	C._eos	4.13	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F165	C._eos	4.28	Diploid	C._eos	Sexual	Natural
F166	Asexual_Triploid	4.42	Triploid	B-01	Asexual	Natural
F167	Asexual_Triploid	4.77	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F168	Asexual_Triploid	4.65	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F169	Asexual_Triploid	4.99	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F170	Sexual_Triploid	5.18	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F171	Sexual_Triploid	3.6	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F172	Asexual_Triploid	3.64	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F173	Sexual_Triploid	3.42	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F174	Sexual_Triploid	3.2	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F175	Sexual_Triploid	4.24	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F176	Asexual_Triploid	4.03	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F177	Sexual_Triploid	3.27	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F178	Asexual_Triploid	3.29	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F179	Sexual_Triploid	3.12	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F180	Sexual_Triploid	3.64	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F181	Sexual_Triploid	3.34	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F182	Sexual_Triploid	3.6	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F183	Asexual_Triploid	3.32	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F184	Asexual_Triploid	4.02	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F185	Sexual_Triploid	3.92	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F186	Sexual_Triploid	4.73	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F187	Sexual_Triploid	4.29	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F188	Asexual_Triploid	4.91	Triploid	A-11	Asexual	Natural
F189	Sexual_Triploid	3.75	Triploid	A-11	Sexual	Natural
F190	Asexual_Triploid	4.29	Triploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F191	Asexual_Diploid	3.99	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F192	Asexual_Triploid	3.7	Triploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F193	Asexual_Diploid	3.99	Diploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F194	Asexual_Triploid	3.52	Triploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F195	C._eos	3.29	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F196	Asexual_Triploid	3.42	Triploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F197	C._eos	2.99	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F198	C._eos	3.37	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F199	C._eos	2.87	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F200	C._eos	2.81	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F201	C._eos	2.47	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F202	Asexual_Diploid	4.37	Diploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F203	Asexual_Diploid	3.84	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F204	Asexual_Triploid	3.73	Triploid	A-11	Asexual	CommonGarden

F205	Asexual_Diploid	3.79	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F206	Sexual_Triploid	3.94	Triploid	A-11	Sexual	CommonGarden
F207	Asexual_Diploid	3.68	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F208	Asexual_Diploid	3.23	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F209	Sexual_Triploid	3.43	Triploid	B-01	Sexual	CommonGarden
F210	C._eos	2.98	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F211	Sexual_Triploid	3.19	Triploid	A-11	Sexual	CommonGarden
F212	C._eos	2.82	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F213	C._eos	2.62	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F214	C._eos	2.35	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F215	Asexual_Diploid	3.93	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F216	Asexual_Triploid	3.87	Triploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F217	Asexual_Diploid	3.7	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F218	Asexual_Triploid	4.44	Triploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F219	Asexual_Diploid	3.52	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F220	Asexual_Triploid	4.18	Triploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F221	C._eos	2.84	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F222	C._eos	2.61	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F223	C._eos	2.69	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F224	C._eos	2.83	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F225	Asexual_Triploid	3.67	Triploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F226	Asexual_Diploid	3.81	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F227	Asexual_Diploid	3.65	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F228	Asexual_Diploid	3.71	Diploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F229	Asexual_Diploid	4.02	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F230	Asexual_Triploid	3.65	Triploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F231	Sexual_Triploid	3.29	Triploid	A-11	Sexual	CommonGarden
F232	Sexual_Triploid	3.42	Triploid	A-11	Sexual	CommonGarden
F233	C._eos	2.11	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F234	C._eos	2.26	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F235	Asexual_Diploid	3.67	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F236	C._eos	3.44	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F237	Sexual_Triploid	3.78	Triploid	B-01	Sexual	CommonGarden
F238	Asexual_Triploid	3.57	Triploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F239	Asexual_Triploid	3.41	Triploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F240	Sexual_Triploid	3.85	Triploid	B-01	Sexual	CommonGarden
F241	C._eos	2.68	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F242	C._eos	2.74	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F243	C._eos	2.36	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F244	C._eos	2.14	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F245	Asexual_Diploid	3.99	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden

F246	Asexual_Triploid	4.1	Triploid	A-11	Asexual	CommonGarden
F247	Asexual_Diploid	3.49	Diploid	B-01	Asexual	CommonGarden
F248	C._eos	2.72	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F249	Sexual_Triploid	2.81	Triploid	B-01	Sexual	CommonGarden
F250	C._eos	2.95	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F251	C._eos	2.51	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F252	C._eos	2.37	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F253	C._eos	2.15	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden
F254	C._eos	2.89	Diploid	C._eos	Sexual	CommonGarden

Indiv idual	X1	Y1	X2	Y2	X3	Y3	X4	Y4	X5	Y5	X6	Y6	X7	Y7
F001	- 0,075 8398	0,0257 8337	- 0,119 09583	0,0667 9298	- 0,177 98944	0,0387 6328	- 0,180 93807	0,0288 2101	- 0,130 63698	- 0,0267 1218	0,117 22463	- 0,0656 9181	0,077 566	0,058 31946
F003	- 0,075 75055	0,0240 0048	- 0,120 28843	0,0685 8749	- 0,178 5431	0,0371 8	- 0,179 96169	0,0259 6968	- 0,131 2812	- 0,0247 6057	0,116 47889	- 0,0665 1246	0,076 638	0,059 74858
F005	- 0,077 42176	0,0269 9417	- 0,119 75403	0,0651 5116	- 0,177 20135	0,0374 6143	- 0,181 50535	0,0284 7976	- 0,132 15363	- 0,0261 6242	0,113 97638	- 0,0628 7223	0,074 0713	0,056 20612
F006	- 0,071 38846	0,0317 4886	- 0,110 53988	0,0689 5519	- 0,174 35942	0,0360 8087	- 0,177 68612	0,0277 9644	- 0,132 89526	- 0,0216 0691	0,115 90987	- 0,0626 0593	0,085 16569	0,062 45039
F007	- 0,072 40018	0,0245 2178	- 0,115 8588	0,0666 5121	- 0,177 20984	0,0366 6406	- 0,180 13603	0,0267 5926	- 0,132 09158	- 0,0242 9804	0,110 00846	- 0,0613 2981	0,077 78429	0,061 05837
F008	- 0,071 60246	0,0197 5234	- 0,119 72949	0,0655 8643	- 0,182 02009	0,0402 0881	- 0,183 59684	0,0317 1243	- 0,128 20826	- 0,0278 9173	0,123 65195	- 0,0687 9518	0,075 37885	0,062 84808
F009	- 0,070 10881	0,0357 167	- 0,113 09226	0,0692 7418	- 0,180 62919	0,0345 4049	- 0,182 80739	0,0279 8714	- 0,128 10257	- 0,0209 2978	0,117 59391	- 0,0619 4239	0,079 98269	0,059 54366
F010	- 0,076 93435	0,0261 6477	- 0,123 18651	0,0675 2868	- 0,178 12293	0,0375 5657	- 0,179 48821	0,0287 9168	- 0,130 81047	- 0,0270 0839	0,109 95608	- 0,0731 2646	0,072 25734	0,063 34282
F011	- 0,075 50408	0,0319 6131	- 0,115 6892	0,0716 6163	- 0,177 83905	0,0370 4963	- 0,180 67474	0,0286 6261	- 0,134 66091	- 0,0264 3573	0,110 97884	- 0,0623 8437	0,084 89082	0,062 33198
F012	- 0,071 24757	0,0264 9133	- 0,117 72951	0,0655 2767	- 0,178 78433	0,0372 1888	- 0,181 73848	0,0274 4612	- 0,130 22089	- 0,0239 7492	0,105 67748	- 0,0622 7095	0,082 85397	0,063 01883
F013	- 0,078 91428	0,0255 5862	- 0,117 35186	0,0665 4682	- 0,175 87551	0,0380 6686	- 0,177 79192	0,0270 9023	- 0,132 39484	- 0,0255 2238	0,112 17464	- 0,0666 2898	0,076 58928	0,058 54099
F014	- 0,076 60329	0,0229 023	- 0,121 53082	0,0694 5085	- 0,179 38871	0,0362 6315	- 0,180 04763	0,0283 1857	- 0,130 9958	- 0,0227 9134	0,116 55722	- 0,0661 4462	0,075 02616	0,059 67127
F015	- 0,061 79486	0,0294 0901	- 0,107 36032	0,0636 8447	- 0,172 46801	0,0374 4753	- 0,177 30067	0,0274 5255	- 0,132 20257	- 0,0190 4627	0,112 77674	- 0,0600 8169	0,076 96747	0,055 51092
F016	- 0,072 96975	0,0296 808	- 0,117 87186	0,0623 0416	- 0,176 83525	0,0375 6604	- 0,178 40091	0,0272 0551	- 0,130 91419	- 0,0204 5572	0,113 83267	- 0,0657 8674	0,073 08066	0,049 81158
F017	- 0,060 20619	0,0299 6194	- 0,107 25216	0,0679 612	- 0,177 89301	0,0400 6162	- 0,183 03422	0,0306 1054	- 0,130 94046	- 0,0206 3284	0,124 72377	- 0,0543 2024	0,083 38461	0,051 77328

F019	- 0,073 46328	0,0383 5577	- 0,111 64361	0,0757 6991	- 0,178 98031	0,0367 0086	- 0,181 88294	0,0272 4481	- 0,127 83901	- 0,0229 6776	0,121 7382	- 0,0651 8701	0,082 75733	0,063 15789
F020	- 0,076 01184	0,0324 0584	- 0,122 05846	0,0712 1085	- 0,178 97535	0,0370 9114	- 0,181 10513	0,0259 5956	- 0,131 26492	- 0,0231 8669	0,112 91959	- 0,0617 7651	0,086 38831	0,059 05833
F021	- 0,068 11942	0,0233 9856	- 0,116 82266	0,0595 8546	- 0,181 58788	0,0363 7386	- 0,183 63927	0,0262 6912	- 0,129 10523	- 0,0250 8474	0,121 57934	- 0,0645 8406	0,074 80373	0,057 59517
F022	- 0,069 62811	0,0300 0747	- 0,116 90029	0,0671 8858	- 0,184 94433	0,0405 0766	- 0,187 27854	0,0288 3193	- 0,126 94694	- 0,0263 8339	0,111 04813	- 0,0611 9569	0,085 7566	0,061 35131
F025	- 0,072 55649	0,0240 7288	- 0,119 41663	0,0640 5178	- 0,179 91047	0,0367 2781	- 0,182 75511	0,0277 1981	- 0,132 04147	- 0,0272 1605	0,122 93333	- 0,0612 3483	0,083 54178	0,057 91157
F026	- 0,076 72604	0,0241 4133	- 0,121 96037	0,0591 0923	- 0,175 96042	0,0373 226	- 0,180 32689	0,0265 8037	- 0,134 54983	- 0,0248 9948	0,118 47269	- 0,0624 2988	0,079 31436	0,056 27131
F028	- 0,078 62194	0,0297 8399	- 0,122 97228	0,0703 5195	- 0,179 02815	0,0360 6674	- 0,181 49574	0,0257 2741	- 0,131 67452	- 0,0252 6925	0,108 60579	- 0,0716 1657	0,075 39379	0,064 93535
F029	- 0,074 82648	0,0257 0014	- 0,119 54981	0,0682 0855	- 0,180 08922	0,0363 9351	- 0,181 01113	0,0262 6313	- 0,129 79709	- 0,0253 2361	0,114 32835	- 0,0622 1527	0,075 09527	0,061 29545
F030	- 0,078 98571	0,0245 6626	- 0,118 95455	0,0662 9004	- 0,173 27761	0,0370 7651	- 0,177 08181	0,0284 096	- 0,134 85888	- 0,0285 3492	0,120 54934	- 0,0638 0323	0,076 04602	0,060 87995
F032	- 0,073 03502	0,0290 1547	- 0,119 94916	0,0699 2785	- 0,183 14121	0,0394 1595	- 0,182 73983	0,0273 481	- 0,127 87661	- 0,0280 5374	0,110 61489	- 0,0642 7244	0,078 92194	0,064 97322
F033	- 0,078 73929	0,0334 1888	- 0,119 43421	0,0708 3986	- 0,181 16028	0,0384 8335	- 0,180 98327	0,0262 8309	- 0,132 52346	- 0,0256 7366	0,115 32505	- 0,0672 3415	0,081 11454	0,060 75826
F034	- 0,077 46791	0,0271 4746	- 0,123 11355	0,0668 3298	- 0,179 55667	0,0405 5656	- 0,180 31906	0,0291 551	- 0,130 17328	- 0,0273 7597	0,117 07982	- 0,0694 4389	0,071 12661	0,059 54044
F035	- 0,078 46943	0,0204 8914	- 0,122 27758	0,0605 4976	- 0,175 11157	0,0389 394	- 0,177 75897	0,0277 7559	- 0,135 3791	- 0,0266 3915	0,122 57571	- 0,0640 647	0,074 43703	0,058 65416
F037	- 0,075 21541	0,0249 2053	- 0,119 27926	0,0648 2934	- 0,176 96978	0,0384 8008	- 0,180 52368	0,0260 4068	- 0,132 84935	- 0,0255 0038	0,115 08385	- 0,0640 9697	0,076 40898	0,057 45491
F038	- 0,071 87994	0,0225 2384	- 0,114 71365	0,0652 138	- 0,174 79477	0,0380 6313	- 0,179 21717	0,0271 5148	- 0,133 11422	- 0,0238 3294	0,120 95393	- 0,0707 1955	0,073 15417	0,062 94383
F041	- 0,074 15493	0,0326 8842	- 0,114 82978	0,0735 1829	- 0,179 81078	0,0336 9949	- 0,181 32004	0,0259 4313	- 0,129 40456	- 0,0239 394	0,117 0149	- 0,0679 2695	0,077 99045	0,063 58038
F047	- 0,067 39986	0,0252 4736	- 0,115 93021	0,0693 6815	- 0,180 5494	0,0414 8103	- 0,186 48618	0,0304 6754	- 0,132 64367	- 0,0206 1189	0,128 82693	- 0,0587 3343	0,087 32533	0,062 99197
F049	- 0,068 35712	0,0265 6553	- 0,108 57827	0,0715 2964	- 0,175 44749	0,0386 2005	- 0,178 77621	0,0260 908	- 0,133 54476	- 0,0187 1643	0,129 4249	- 0,0592 654	0,091 33295	0,059 15918
F051	- 0,067 29217	0,0273 3609	- 0,114 90879	0,0693 6358	- 0,182 24402	0,0436 8464	- 0,186 05966	0,0361 3001	- 0,125 81243	- 0,0239 6725	0,128 79761	- 0,0627 5909	0,084 21259	0,054 74532
F056	- 0,078 4232	0,0289 8111	- 0,120 4951	0,0711 142	- 0,178 21522	0,0411 7458	- 0,181 9398	0,0309 0353	- 0,130 48274	- 0,0249 912	0,125 04517	- 0,0732 0173	0,078 97492	0,063 81915

F058	- 0,066 92449	0,0252 7635	- 0,112 9998	0,0736 7732	- 0,181 75842	0,0432 3566	- 0,185 4658	0,0329 7333	- 0,128 32012	- 0,0262 3259	0,129 7852	- 0,0618 3463	0,087 5877	0,056 52293
F060	- 0,072 20888	0,0224 3528	- 0,123 11982	0,0683 0029	- 0,183 02709	0,0401 2385	- 0,184 18341	0,0304 9215	- 0,132 91276	- 0,0265 3958	0,136 0693	- 0,0586 9748	0,086 84927	0,060 47804
F062	- 0,070 85459	0,0304 8816	- 0,118 42469	0,0730 496	- 0,183 54468	0,0399 7195	- 0,187 2966	0,0292 866	- 0,127 82859	- 0,0261 3499	0,126 95978	- 0,0634 5707	0,079 90527	0,056 33348
F063	- 0,074 75126	0,0297 8402	- 0,120 42809	0,0737 3033	- 0,180 05748	0,0379 5374	- 0,183 46409	0,0273 4224	- 0,129 61793	- 0,0262 8248	0,122 29071	- 0,0600 4646	0,081 15996	0,058 28158
F068	- 0,068 5976	0,0234 3089	- 0,116 3196	0,0707 6232	- 0,180 17317	0,0394 3722	- 0,183 96814	0,0312 6653	- 0,125 98736	- 0,0226 7783	0,123 32216	- 0,0634 881	0,077 26817	0,060 36639
F069	- 0,073 72419	0,0184 509	- 0,116 4029	0,0659 8286	- 0,178 88882	0,0401 4445	- 0,181 64058	0,0284 8249	- 0,128 45438	- 0,0298 9743	0,128 34547	- 0,0600 2113	0,076 82634	0,058 74717
F073	- 0,063 42477	0,0289 6061	- 0,112 48174	0,0735 7953	- 0,180 52233	0,0479 4379	- 0,183 94774	0,0359 2923	- 0,126 68713	- 0,0256 9864	0,145 6532	- 0,0605 4717	0,087 50622	0,051 01435
F076	- 0,072 31211	0,0331 5299	- 0,117 9228	0,0732 728	- 0,181 09365	0,0417 6899	- 0,186 22055	0,0321 7848	- 0,125 81359	- 0,0245 1826	0,129 20932	- 0,0624 8272	0,079 6344	0,062 6104
F077	- 0,069 4892	0,0223 8224	- 0,118 28663	0,0667 2765	- 0,180 04375	0,0395 222	- 0,184 05088	0,0298 9479	- 0,131 82021	- 0,0266 3358	0,131 27183	- 0,0639 3973	0,080 87978	0,057 49149
F078	- 0,068 13754	0,0201 2972	- 0,119 34124	0,0664 8928	- 0,180 85296	0,0418 301	- 0,183 24874	0,0301 6562	- 0,137 98936	- 0,0221 4432	0,134 90549	- 0,0556 1695	0,091 20174	0,051 95928
F082	- 0,071 91216	0,0391 8873	- 0,113 82307	0,0770 5168	- 0,177 60479	0,0367 6097	- 0,181 624	0,0283 3914	- 0,130 8272	- 0,0208 5612	0,119 36919	- 0,0675 4927	0,086 50218	0,061 10629
F083	- 0,058 8738	0,0278 3759	- 0,114 92189	0,0708 7192	- 0,184 29066	0,0431 8706	- 0,187 9582	0,0320 0277	- 0,125 32351	- 0,0250 0768	0,117 06175	- 0,0618 0196	0,081 55908	0,052 52649
F084	- 0,065 1495	0,0286 711	- 0,116 60291	0,0700 6626	- 0,184 37456	0,0429 8816	- 0,187 96982	0,0307 7791	- 0,126 54516	- 0,0240 5453	0,121 75355	- 0,0581 7974	0,084 01745	0,054 1592
F086	- 0,067 85	0,0331 6883	- 0,115 86048	0,0720 5563	- 0,179 61268	0,0387 2208	- 0,183 33092	0,0273 6797	- 0,131 04258	- 0,0241 9489	0,119 55261	- 0,0585 9967	0,084 50096	0,055 97524
F090	- 0,070 93318	0,0263 6665	- 0,119 10232	0,0635 0181	- 0,176 50033	0,0353 279	- 0,178 72811	0,0264 9614	- 0,139 56965	- 0,0225 1106	0,127 06461	- 0,0543 0909	0,089 31672	0,054 07524
F092	- 0,071 75778	0,0241 182	- 0,119 58215	0,0629 2282	- 0,179 33541	0,0354 8774	- 0,183 37505	0,0245 8953	- 0,139 44299	- 0,0242 7947	0,121 94621	- 0,0529 0007	0,097 06776	0,056 24519
F093	- 0,066 16763	0,0264 7935	- 0,119 17592	0,0694 9621	- 0,183 63508	0,0416 3359	- 0,185 85148	0,0273 7555	- 0,136 64926	- 0,0185 8112	0,131 47996	- 0,0552 6305	0,099 44504	0,057 55872
F094	- 0,062 54043	0,0193 2548	- 0,114 99052	0,0634 7519	- 0,180 53956	0,0345 916	- 0,185 2495	0,0245 4987	- 0,133 7615	- 0,0216 5216	0,122 1872	- 0,0498 2854	0,093 29787	0,052 73486
F095	- 0,063 36247	0,0245 2187	- 0,112 01725	0,0670 9926	- 0,182 79809	0,0353 1324	- 0,186 12855	0,0277 813	- 0,130 95073	- 0,0256 1092	0,118 05066	- 0,0473 9024	0,092 90571	0,054 40565
F096	- 0,072 3589	0,0294 9783	- 0,119 66139	0,0677 6927	- 0,174 94449	0,0400 2678	- 0,181 04628	0,0297 6311	- 0,136 87237	- 0,0250 0165	0,124 89364	- 0,0612 1806	0,086 09871	0,060 74637

F126	- 0,066 19066	0,0227 9377	- 0,117 2786	0,0656 4141	- 0,182 10566	0,0407 8916	- 0,187 06488	0,0303 8511	- 0,126 18359	- 0,0299 0112	0,117 45247	- 0,0565 9747	0,080 56882	0,052 66159
F127	- 0,065 72943	0,0347 1101	- 0,113 07272	0,0724 908	- 0,183 87751	0,0441 628	- 0,187 18615	0,0329 8694	- 0,124 24077	- 0,0233 2997	0,119 88621	- 0,0654 597	0,078 08772	0,061 05418
F128	- 0,071 67731	0,0326 209	- 0,117 03924	0,0734 1556	- 0,181 9694	0,0408 5759	- 0,184 93073	0,0290 8022	- 0,130 15295	- 0,0255 5682	0,120 59509	- 0,0609 5053	0,086 7395	0,058 60088
F129	- 0,075 34061	0,0270 1906	- 0,119 75172	0,0740 7281	- 0,181 89233	0,0443 6839	- 0,184 84485	0,0334 6329	- 0,127 02573	- 0,0249 3787	0,119 22577	- 0,0601 0766	0,077 84744	0,053 65903
F130	- 0,064 15805	0,0337 5786	- 0,114 96539	0,0744 3862	- 0,186 78152	0,0408 0465	- 0,187 82211	0,0301 169	- 0,124 55006	- 0,0234 135	0,119 36252	- 0,0581 5613	0,086 15504	0,060 07983
F134	- 0,062 62799	0,0263 1389	- 0,113 35914	0,0741 8199	- 0,183 91904	0,0459 9226	- 0,183 80892	0,0321 273	- 0,125 11257	- 0,0252 1381	0,123 30801	- 0,0556 9377	0,083 67719	0,052 56111
F135	- 0,066 23783	0,0382 174	- 0,113 44825	0,0793 3054	- 0,184 84502	0,0420 2872	- 0,186 06158	0,0289 2765	- 0,125 60116	- 0,0202 7039	0,118 82207	- 0,0620 2963	0,084 26959	0,058 47215
F137	- 0,069 44379	0,0252 6647	- 0,115 68162	0,0695 1937	- 0,182 6859	0,0403 8038	- 0,183 87748	0,0311 0632	- 0,129 18404	- 0,0282 6199	0,125 91972	- 0,0543 1974	0,081 44297	0,051 00509
F138	- 0,069 64335	0,0294 3814	- 0,113 0901	0,0679 9434	- 0,179 3244	0,0392 1022	- 0,182 40131	0,0303 3974	- 0,127 39315	- 0,0241 2367	0,117 57469	- 0,0554 7035	0,088 75027	0,057 26029
F139	- 0,069 1979	0,0315 278	- 0,115 99913	0,0736 7736	- 0,184 31298	0,0419 7791	- 0,187 07511	0,0292 0041	- 0,126 82191	- 0,0248 8586	0,116 57186	- 0,0622 1703	0,083 39237	0,061 57839
F140	- 0,070 14115	0,0240 9639	- 0,115 49759	0,0708 2976	- 0,181 83781	0,0429 9792	- 0,183 83662	0,0322 3361	- 0,127 8968	- 0,0251 1395	0,120 94458	- 0,0598 8321	0,083 11767	0,057 03775
F141	- 0,070 7187	0,0281 5715	- 0,118 34853	0,0709 3906	- 0,181 4359	0,0385 2154	- 0,183 66984	0,0302 8127	- 0,129 7914	- 0,0255 4832	0,123 18444	- 0,0547 6762	0,079 29384	0,054 68816
F142	- 0,068 85971	0,0236 504	- 0,115 06512	0,0694 5971	- 0,182 40031	0,0402 6994	- 0,185 3476	0,0315 0475	- 0,128 88051	- 0,0238 8877	0,128 71801	- 0,0592 3832	0,082 49657	0,056 48472
F143	- 0,068 19104	0,0256 0679	- 0,112 60893	0,0667 5965	- 0,180 81908	0,0454 9284	- 0,186 03853	0,0334 3039	- 0,128 83392	- 0,0211 4044	0,128 78857	- 0,0600 5723	0,081 68503	0,055 40978
F144	- 0,069 31795	0,0235 3974	- 0,119 05689	0,0690 2463	- 0,184 67646	0,0433 7589	- 0,188 01974	0,0319 6808	- 0,128 44253	- 0,0261 9251	0,122 61936	- 0,0558 2854	0,084 6471	0,051 95766
F145	- 0,068 80058	0,0270 3795	- 0,117 78624	0,0688 7191	- 0,185 37342	0,0425 1899	- 0,189 10337	0,0316 0813	- 0,126 56013	- 0,0254 0869	0,126 54405	- 0,0572 4651	0,084 71189	0,054 94449
F146	- 0,064 49101	0,0222 9339	- 0,118 27191	0,0683 7007	- 0,186 45748	0,0459 0565	- 0,189 63503	0,0358 1413	- 0,126 13287	- 0,0266 981	0,124 43453	- 0,0563 3433	0,087 46386	0,055 56936
F149	- 0,065 71212	0,0362 222	- 0,112 90484	0,0730 0769	- 0,182 28455	0,0406 8219	- 0,186 28109	0,0293 2526	- 0,124 06609	- 0,0225 6531	0,109 62239	- 0,0658 8464	0,079 44013	0,064 27263
F150	- 0,068 18801	0,0212 6471	- 0,116 87461	0,0694 3978	- 0,185 303	0,0434 1419	- 0,185 85878	0,0301 5967	- 0,125 05281	- 0,0257 14	0,111 73624	- 0,0605 8098	0,083 62339	0,058 0747
F151	- 0,070 55632	0,0274 249	- 0,119 57748	0,0714 182	- 0,185 66699	0,0396 5986	- 0,187 07957	0,0291 5032	- 0,124 45411	- 0,0267 8874	0,114 70691	- 0,0602 9797	0,081 90763	0,059 11602

F174	- 0,067 5915	0,0324 5554	- 0,115 7134	0,0735 3334	- 0,176 68325	0,0428 8996	- 0,183 10778	0,0293 2344	- 0,135 13991	- 0,0263 9218	0,143 71576	- 0,0629 1409	0,087 38777	0,060 52162
F175	- 0,074 05543	0,0290 0601	- 0,115 39664	0,0696 4219	- 0,175 38352	0,0388 0204	- 0,181 73041	0,0297 39	- 0,135 5391	- 0,0279 9368	0,132 70512	- 0,0607 6662	0,085 43655	0,057 81459
F176	- 0,074 57831	0,0298 5849	- 0,114 6884	0,0712 1532	- 0,177 23192	0,0393 3625	- 0,181 06328	0,0289 5444	- 0,137 25727	- 0,0257 4069	0,137 40477	- 0,0621 9301	0,087 27463	0,057 14807
F177	- 0,074 81293	0,0276 1743	- 0,112 48879	0,0744 8715	- 0,177 77922	0,0395 0655	- 0,183 85859	0,0265 4264	- 0,131 88572	- 0,0243 8406	0,155 75002	- 0,0628 6721	0,094 07544	0,052 76641
F178	- 0,072 18733	0,0283 6663	- 0,112 90732	0,0704 3637	- 0,179 05434	0,0377 046	- 0,181 7447	0,0252 6125	- 0,132 62143	- 0,0205 9872	0,123 13332	- 0,0582 1553	0,086 73568	0,060 50883
F179	- 0,071 84634	0,0317 5968	- 0,108 10639	0,0741 9128	- 0,175 99911	0,0415 9848	- 0,180 73937	0,0308 1325	- 0,138 76672	- 0,0205 7467	0,149 62817	- 0,0669 9059	0,091 14971	0,056 79451
F180	- 0,067 31192	0,0332 3724	- 0,116 29938	0,0753 1603	- 0,184 5467	0,0396 0714	- 0,186 44994	0,0287 8796	- 0,127 41713	- 0,0231 1361	0,127 11199	- 0,0592 1044	0,092 93206	0,056 48243
F181	- 0,072 71532	0,0354 2057	- 0,105 34282	0,0695 3252	- 0,174 57078	0,0398 6076	- 0,178 58145	0,0289 7375	- 0,133 79866	- 0,0206 8375	0,136 08123	- 0,0577 4982	0,092 53122	0,056 67798
F182	- 0,070 38965	0,0348 8767	- 0,112 27687	0,0738 6745	- 0,179 57319	0,0420 3452	- 0,183 63183	0,0290 9278	- 0,130 29187	- 0,0232 2525	0,134 11002	- 0,0591 947	0,095 4004	0,054 89412
F183	- 0,074 83204	0,0334 09	- 0,111 48083	0,0777 1034	- 0,177 81407	0,0418 0566	- 0,180 5971	0,0302 5501	- 0,134 81968	- 0,0222 1076	0,129 54035	- 0,0632 4802	0,095 00317	0,059 54082
F184	- 0,072 41419	0,0379 5724	- 0,109 03737	0,0710 2347	- 0,174 9173	0,0371 1546	- 0,178 97237	0,0281 3256	- 0,133 82409	- 0,0191 659	0,126 32933	- 0,0660 5022	0,092 79117	0,061 82744
F185	- 0,075 32882	0,0298 5443	- 0,113 81743	0,0663 9432	- 0,177 88877	0,0378 4116	- 0,183 00764	0,0285 9773	- 0,132 7924	- 0,0266 1895	0,126 61543	- 0,0618 353	0,086 315	0,058 67178
F186	- 0,074 54991	0,0289 6234	- 0,113 79234	0,0644 3465	- 0,179 80685	0,0365 9484	- 0,182 85019	0,0266 532	- 0,132 84944	- 0,0224 284	0,113 63052	- 0,0600 4958	0,085 70674	0,056 70455
F187	- 0,069 74435	0,0372 0125	- 0,109 85007	0,0726 9165	- 0,186 56545	0,0404 6585	- 0,188 21863	0,0305 5978	- 0,124 71653	- 0,0220 3705	0,123 28932	- 0,0606 1171	0,088 33998	0,058 02087
F188	- 0,079 70216	0,0324 9745	- 0,116 55676	0,0685 6037	- 0,178 15597	0,0428 2003	- 0,181 79745	0,0306 4902	- 0,136 45699	- 0,0271 8251	0,132 54276	- 0,0687 5672	0,086 64474	0,062 57757
F189	- 0,078 65624	0,0296 0266	- 0,120 66672	0,0678 2172	- 0,179 84622	0,0381 7127	- 0,181 74761	0,0263 3487	- 0,137 73543	- 0,0274 829	0,128 27779	- 0,0624 7143	0,084 02375	0,059 74348
F190	- 0,074 87115	0,0347 9712	- 0,119 12147	0,0725 3781	- 0,179 25319	0,0393 277	- 0,182 81445	0,0276 2056	- 0,130 39019	- 0,0213 3348	0,112 98301	- 0,0526 8526	0,094 30675	0,056 25721
F191	- 0,066 36175	0,0365 6458	- 0,120 19364	0,0710 0235	- 0,179 91928	0,0343 1133	- 0,180 84274	0,0251 9027	- 0,128 12108	- 0,0216 283	0,124 4354	- 0,0507 9071	0,093 67786	0,055 35644
F192	- 0,072 03245	0,0332 1701	- 0,117 97099	0,0756 3816	- 0,179 73218	0,0347 8156	- 0,181 43882	0,0226 3811	- 0,137 05816	- 0,0225 1863	0,119 70116	- 0,0544 4458	0,092 66188	0,059 62884
F194	- 0,067 55974	0,0282 8845	- 0,121 78748	0,0722 0814	- 0,180 58155	0,0370 6534	- 0,183 42435	0,0270 0706	- 0,130 96726	- 0,0240 4646	0,117 6555	- 0,0588 1907	0,091 47244	0,059 78822

F195	- 0,060 07693	0,0234 665	- 0,114 17395	0,0610 3334	- 0,174 90792	0,0352 8106	- 0,183 23843	0,0222 8983	- 0,132 53252	- 0,0208 5879	0,121 94747	- 0,0489 3874	0,089 82621	0,056 70331
F196	- 0,072 49997	0,0306 5989	- 0,118 93549	0,0650 8984	- 0,186 00133	0,0375 7431	- 0,188 73096	0,0276 8176	- 0,130 09504	- 0,0246 2038	0,110 96351	- 0,0520 8061	0,092 59425	0,055 44678
F197	- 0,062 9104	0,0236 1784	- 0,117 18489	0,0673 2925	- 0,180 83531	0,0362 7695	- 0,186 38174	0,0266 5999	- 0,138 2546	- 0,0244 978	0,122 81002	- 0,0434 4175	0,102 33663	0,054 35807
F198	- 0,069 2574	0,0281 4579	- 0,116 43068	0,0704 7186	- 0,179 12148	0,0370 4129	- 0,183 15595	0,0253 4596	- 0,135 32859	- 0,0212 0419	0,131 53783	- 0,0489 8842	0,092 71391	0,051 0155
F199	- 0,065 69167	0,0231 6959	- 0,114 39227	0,0738 9702	- 0,172 87163	0,0358 5055	- 0,176 25334	0,0240 9025	- 0,137 94534	- 0,0254 9948	0,126 17143	- 0,0510 7876	0,088 39874	0,057 11432
F200	- 0,070 87354	0,0277 2872	- 0,111 01841	0,0702 0484	- 0,177 8872	0,0355 2422	- 0,180 57742	0,0206 6655	- 0,136 40025	- 0,0200 741	0,116 47024	- 0,0528 736	0,091 32563	0,058 41431
F201	- 0,075 06891	0,0255 3994	- 0,124 37947	0,0705 4676	- 0,175 56964	0,0326 6619	- 0,183 60761	0,0198 5986	- 0,140 0299	- 0,0225 4741	0,118 59452	- 0,0436 6047	0,099 4664	0,051 13576
F203	- 0,074 5253	0,0396 9095	- 0,117 13284	0,0720 4851	- 0,175 26323	0,0373 9186	- 0,179 17681	0,0233 5629	- 0,135 11184	- 0,0218 2024	0,116 74994	- 0,0562 1348	0,093 77839	0,061 12744
F204	- 0,076 25973	0,0339 3086	- 0,119 37094	0,0667 7964	- 0,178 1764	0,0374 982	- 0,182 85615	0,0266 9815	- 0,130 47334	- 0,0234 9241	0,124 19395	- 0,0551 1557	0,090 37321	0,059 55503
F205	- 0,070 09809	0,0356 5224	- 0,119 02417	0,0697 3452	- 0,179 30465	0,0344 4223	- 0,181 39934	0,0222 4455	- 0,134 01315	- 0,0207 0182	0,119 53531	- 0,0529 0526	0,090 53861	0,057 07954
F206	- 0,077 89864	0,0294 9929	- 0,121 05213	0,0667 3268	- 0,176 72448	0,0329 0011	- 0,180 54216	0,0238 6157	- 0,133 49923	- 0,0232 9029	0,121 64036	- 0,0550 5376	0,088 40485	0,059 69124
F207	- 0,070 02424	0,0339 8147	- 0,120 73687	0,0715 1434	- 0,183 97175	0,0351 8557	- 0,187 14153	0,0255 98	- 0,132 15684	- 0,0232 0096	0,118 30676	- 0,0531 6377	0,091 97276	0,054 1294
F208	- 0,070 01072	0,0328 992	- 0,123 64624	0,0660 6396	- 0,174 78138	0,0314 994	- 0,178 29421	0,0242 5228	- 0,133 91072	- 0,0276 2337	0,119 06243	- 0,0558 8411	0,091 83991	0,058 95376
F209	- 0,067 51947	0,0334 1622	- 0,129 54049	0,0613 0064	- 0,180 37618	0,0331 6024	- 0,182 33479	0,0234 0182	- 0,134 13685	- 0,0182 7105	0,122 06666	- 0,0514 1525	0,094 45809	0,058 27391
F210	- 0,066 89348	0,0258 5895	- 0,111 06868	0,0642 5571	- 0,168 71423	0,0356 5475	- 0,174 90065	0,0186 6789	- 0,142 90019	- 0,0183 8145	0,121 39637	- 0,0529 2917	0,092 88584	0,055 6377
F211	- 0,071 41223	0,0268 5085	- 0,121 44208	0,0645 5643	- 0,180 25647	0,0325 5608	- 0,182 64894	0,0241 7446	- 0,137 23982	- 0,0236 3799	0,132 64762	- 0,0503 1306	0,098 39575	0,054 20939
F212	- 0,069 10798	0,0319 852	- 0,113 34221	0,0700 2993	- 0,174 5554	0,0314 1607	- 0,178 87659	0,0232 2723	- 0,137 94643	- 0,0215 5183	0,117 34963	- 0,0512 5848	0,100 15271	0,055 69246
F213	- 0,072 75344	0,0226 2614	- 0,117 96183	0,0685 557	- 0,171 6829	0,0393 3094	- 0,179 96201	0,0271 8087	- 0,138 14541	- 0,0315 6004	0,118 18367	- 0,0496 6248	0,090 90526	0,055 21931
F214	- 0,068 83378	0,0270 5345	- 0,114 22735	0,0690 9548	- 0,171 49005	0,0374 3004	- 0,178 93293	0,0253 6568	- 0,140 75225	- 0,0278 7015	0,122 34186	- 0,0457 3673	0,100 77209	0,050 65951
F215	- 0,076 0766	0,0316 9366	- 0,116 81018	0,0699 8151	- 0,177 00111	0,0298 9853	- 0,177 67839	0,0228 0497	- 0,135 73647	- 0,0227 5821	0,118 51982	- 0,0605 1563	0,082 27149	0,059 48798

F237	- 0,069 45865	0,0316 8031	- 0,115 49847	0,0702 2851	- 0,180 1741	0,0325 1749	- 0,182 59968	0,0227 4819	- 0,132 96078	- 0,0223 8909	0,117 87494	- 0,0516 1744	0,089 40033	0,055 74035
F238	- 0,071 54604	0,0310 1282	- 0,119 12656	0,0705 1437	- 0,178 56873	0,0323 949	- 0,180 38178	0,0243 1255	- 0,135 5488	- 0,0225 9877	0,117 87049	- 0,0572 6964	0,088 43009	0,059 89836
F239	- 0,067 39857	0,0323 6311	- 0,116 87319	0,0754 1995	- 0,179 25256	0,0338 9305	- 0,183 91348	0,0235 1466	- 0,132 65389	- 0,0221 0778	0,121 85214	- 0,0598 2703	0,088 74864	0,062 15037
F240	- 0,068 0724	0,0273 0314	- 0,118 03009	0,0623 2499	- 0,176 84887	0,0305 8061	- 0,180 22726	0,0214 5037	- 0,136 70138	- 0,0209 0721	0,118 10092	- 0,0516 8701	0,089 78619	0,056 79768
F241	- 0,073 02124	0,0268 9577	- 0,119 96289	0,0681 9185	- 0,178 2019	0,0319 2287	- 0,182 22577	0,0197 8902	- 0,139 62896	- 0,0213 3429	0,125 7588	- 0,0484 2223	0,095 36456	0,054 33943
F242	- 0,069 69441	0,0248 5545	- 0,115 86487	0,0639 7732	- 0,174 6127	0,0301 0116	- 0,180 21432	0,0223 1484	- 0,138 62057	- 0,0212 2705	0,121 45846	- 0,0428 0264	0,095 22378	0,045 05606
F243	- 0,067 4234	0,0252 2758	- 0,116 30962	0,0715 5431	- 0,177 33903	0,0318 3926	- 0,178 67501	0,0198 2548	- 0,136 84494	- 0,0203 4794	0,126 31548	- 0,0470 5101	0,094 46866	0,053 42415
F244	- 0,077 38616	0,0354 0995	- 0,122 88372	0,0701 6539	- 0,174 1124	0,0352 2969	- 0,178 01461	0,0233 5163	- 0,139 84044	- 0,0229 1256	0,123 97824	- 0,0449 8853	0,096 91022	0,047 62246
F245	- 0,069 92163	0,0376 1894	- 0,116 3358	0,0752 4072	- 0,182 58589	0,0386 8991	- 0,183 94031	0,0238 0639	- 0,131 28604	- 0,0197 0166	0,114 69228	- 0,0605 3592	0,086 24597	0,062 56985
F246	- 0,076 70468	0,0354 7472	- 0,120 04899	0,0733 5986	- 0,182 52165	0,0361 4875	- 0,185 50727	0,0260 1126	- 0,130 80617	- 0,0227 4785	0,112 04482	- 0,0625 8138	0,090 93035	0,064 39075
F247	- 0,063 76485	0,0338 9228	- 0,116 44195	0,0738 991	- 0,179 39883	0,0338 8826	- 0,181 04456	0,0233 7944	- 0,134 82589	- 0,0178 611	0,132 21364	- 0,0535 562	0,094 53676	0,056 6304
F248	- 0,076 77419	0,0364 4314	- 0,121 18233	0,0742 0371	- 0,172 90273	0,0353 234	- 0,181 24694	0,0223 1926	- 0,139 14134	- 0,0253 5266	0,124 77614	- 0,0466 1567	0,098 89173	0,055 2557
F249	- 0,070 08886	0,0194 7809	- 0,119 45442	0,0670 5886	- 0,175 56191	0,0353 0628	- 0,179 93279	0,0243 3486	- 0,140 25689	- 0,0295 6677	0,129 28726	- 0,0529 3343	0,085 81996	0,053 51884
F250	- 0,069 17562	0,0264 2143	- 0,110 28869	0,0733 8639	- 0,177 44866	0,0369 7843	- 0,182 27074	0,0229 54	- 0,136 05102	- 0,0223 2511	0,123 35682	- 0,0539 9405	0,092 7505	0,056 31546
F251	- 0,069 63488	0,0371 401	- 0,121 40025	0,0724 1629	- 0,174 1757	0,0327 1087	- 0,179 07082	0,0206 1703	- 0,138 89007	- 0,0178 4037	0,115 59181	- 0,0552 448	0,096 6091	0,060 11041
F252	- 0,073 89231	0,0333 4342	- 0,122 79201	0,0653 9046	- 0,172 06996	0,0322 231	- 0,175 54555	0,0200 9701	- 0,143 81991	- 0,0202 5938	0,121 04602	- 0,0422 4104	0,101 65492	0,051 31071
F253	- 0,069 48826	0,0235 8984	- 0,122 18224	0,0637 9786	- 0,169 20512	0,0321 209	- 0,176 59968	0,0220 3832	- 0,139 53861	- 0,0211 73	0,123 58805	- 0,0472 3394	0,102 08692	0,053 83443
F254	- 0,062 53861	0,0330 35	- 0,100 98897	0,0753 7834	- 0,173 74438	0,0368 9879	- 0,180 15128	0,0223 0542	- 0,134 11747	- 0,0133 1567	0,119 0579	- 0,0535 0601	0,096 1783	0,058 97107
Indiv idual	X8	Y8	X9	Y9	X10	Y10	X11	Y11	X12	Y12	X13	Y13	X14	Y14
F001	- 0,133 61	- 0,0386 9	0,110 608	- 0,0642 7	- 0,182 24	0,0277 04	- 0,184 8	0,0237 94	- 0,185 8	0,0185 4	- 0,184 91	0,0129 01	- 0,182 9	0,007 282

F003	-	-	0,113447	-	-	0,024949	-	0,020939	-	0,016014	-	0,010942	-	0,005961
F005	-	-	0,109157	-	-	0,027224	-	0,023193	-	0,017921	-	0,012293	-	0,00672
F006	-	-	0,102554	-	-	0,025903	-	0,022497	-	0,017998	-	0,012913	-	0,007953
F007	-	-	0,10627	-	-	0,025564	-	0,021621	-	0,016497	-	0,011127	-	0,00593
F008	-	-	0,109225	-	-	0,031282	-	0,027611	-	0,022067	-	0,016058	-	0,010409
F009	-	-	0,105223	-	-	0,026596	-	0,022836	-	0,017889	-	0,012636	-	0,00762
F010	-	-	0,100084	-	-	0,027883	-	0,024058	-	0,019289	-	0,014189	-	0,008703
F011	-	-	0,102005	-	-	0,027425	-	0,023695	-	0,018676	-	0,01327	-	0,00799
F012	-	-	0,100254	-	-	0,027052	-	0,023669	-	0,018518	-	0,012804	-	0,006854
F013	-	-	0,106308	-	-	0,026649	-	0,022969	-	0,017468	-	0,011516	-	0,00576
F014	-	-	0,111448	-	-	0,026946	-	0,023036	-	0,018184	-	0,013036	-	0,007972
F015	-	-	0,09837	-	-	0,025633	-	0,021328	-	0,016546	-	0,011438	-	0,006406
F016	-	-	0,099788	-	-	0,025793	-	0,022642	-	0,018013	-	0,012818	-	0,007592
F017	-	-	0,107492	-	-	0,029059	-	0,025359	-	0,02043	-	0,015052	-	0,009603
F019	-	-	0,110406	-	-	0,025694	-	0,021583	-	0,016229	-	0,010517	-	0,004896
F020	-	-	0,104379	-	-	0,024317	-	0,020397	-	0,015209	-	0,009756	-	0,004655
F021	-	-	0,107589	-	-	0,025317	-	0,021484	-	0,016745	-	0,011966	-	0,007314
F022	-	-	0,102998	-	-	0,027329	-	0,022887	-	0,017473	-	0,012014	-	0,006717
F025	-	-	0,113371	-	-	0,026509	-	0,022646	-	0,017544	-	0,012218	-	0,007249
F026	-	-	0,113025	-	-	0,025042	-	0,02107	-	0,016355	-	0,011507	-	0,0067

F028	-	-	0,10233	-0,071	-	0,024214	-	0,020291	-	0,015386	-	0,010356	-	0,005854
F029	-	-	0,112868	0,06197	-	0,025291	-	0,021241	-	0,016158	-	0,010982	-	0,006087
F030	-	-	0,11416	0,06292	-	0,027215	-	0,023317	-	0,018201	-	0,012686	-	0,007189
F032	-	-	0,105328	0,06392	-	0,025951	-	0,021849	-	0,016325	-	0,010414	-	0,004939
F033	-	-	0,11135	0,06644	-	0,025182	-	0,021187	-	0,015804	-	0,010308	-	0,005587
F034	-	-	0,108572	0,06809	-	0,027914	-	0,02371	-	0,018225	-	0,012551	-	0,007184
F035	-	-	0,115867	0,06299	-	0,027182	-	0,023733	-	0,018832	-	0,013535	-	0,008204
F037	-	-	0,113182	0,06356	-	0,025319	-	0,02137	-	0,016104	-	0,010904	-	0,006184
F038	-	-	0,115572	0,06955	-	0,025719	-	0,021519	-	0,016281	-	0,010956	-	0,006053
F041	-	-	0,108004	0,06576	-	0,025081	-	0,021532	-	0,016607	-	0,011408	-	0,006409
F047	-	-	0,100502	0,05429	-	0,029027	-	0,024974	-	0,020004	-	0,014877	-	0,010163
F049	-	-	0,105173	0,05332	-	0,025077	-	0,020985	-	0,015226	-	0,009516	-	0,004591
F051	-	-	0,099389	0,06059	-	0,035085	-	0,031271	-	0,025613	-	0,019108	-	0,012661
F056	-	-	0,104362	0,0693	-	0,029691	-	0,025566	-	0,020051	-	0,014102	-	0,008133
F058	-	-	0,096449	0,05782	-	0,032089	-	0,028298	-	0,022806	-	0,016867	-	0,010733
F060	-	-	0,103913	0,05687	-	0,029729	-	0,026249	-	0,021357	-	0,016101	-	0,010007
F062	-	-	0,112369	0,06022	-	0,028042	-	0,023866	-	0,018441	-	0,012722	-	0,007289
F063	-	-	0,115334	0,05935	-	0,025836	-	0,021313	-	0,015708	-	0,010208	-	0,005009
F068	-	-	0,103276	0,06128	-	0,029941	-	0,025787	-	0,020343	-	0,014597	-	0,009062
F069	-	-	0,116291	0,05791	-	0,027286	-	0,023781	-	0,018997	-	0,013676	-	0,008081

F103	-	-	0,104 643	-	-	0,0270 13	-	0,0220 89	-	0,0159 14	-	0,0097 79	-	0,004 408
F104	-	-	0,104 899	-	-	0,0246 04	-	0,0201 19	-	0,0145 47	-	0,0089 38	-	0,003 888
F106	-	-	0,118 256	-	-	0,0329 64	-	0,0289 05	-	0,0232 22	-	0,0172 23	-	0,011 766
F107	-	-	0,110 819	-	-	0,0282	-	0,0241 42	-	0,0187 88	-	0,0131 52	-	0,007 813
F108	-	-	0,114 37	-	-	0,0308 05	-	0,0265 73	-	0,0208 66	-	0,0151 3	-	0,009 818
F114	-	-	0,114 07	-	-	0,0269 18	-	0,0223 62	-	0,0175 21	-	0,0124 09	-	0,007 047
F115	-	-	0,108 853	-	-	0,0290 46	-	0,0248 11	-	0,0193 11	-	0,0136 11	-	0,008 286
F116	-	-	0,111 642	-	-	0,0316 72	-	0,0275 52	-	0,0216 71	-	0,0152 83	-	0,008 755
F117	-	-	0,114 017	-	-	0,0287 51	-	0,0245 81	-	0,0191 35	-	0,0132 35	-	0,007 515
F118	-	-	0,112 328	-	-	0,0262 49	-	0,0219 67	-	0,0163 93	-	0,0105 19	-	0,005 145
F120	-	-	0,111 039	-	-	0,0272 81	-	0,0232 69	-	0,0182 61	-	0,0130 02	-	0,007 759
F122	-	-	0,105 889	-	-	0,0274 91	-	0,0223 78	-	0,0165 35	-	0,0107 02	-	0,005 072
F123	-	-	0,114 107	-	-	0,0310 34	-	0,0267 23	-	0,0208 67	-	0,0145 35	-	0,008 265
F124	-	-	0,117 309	-	-	0,0341 87	-	0,0299 08	-	0,0233 8	-	0,0162 56	-	0,009 239
F126	-	-	0,111 436	-	-	0,0292 29	-	0,0256 02	-	0,0204 84	-	0,0147 62	-	0,008 863
F127	-	-	0,098 158	-	-	0,0316 13	-	0,0275 56	-	0,0219 43	-	0,0159 36	-	0,010 683
F128	-	-	0,110 008	-	-	0,0277 03	-	0,0233 64	-	0,0177 65	-	0,0119 18	-	0,006 788
F129	-	-	0,105 379	-	-	0,0317 8	-	0,0270 22	-	0,0213 56	-	0,0154 08	-	0,009 307
F130	-	-	0,109 054	-	-	0,0283 48	-	0,0233 54	-	0,0176 67	-	0,0120 28	-	0,006 806
F134	-	-	0,112 375	-	-	0,0296 94	-	0,0265 87	-	0,0214 27	-	0,0153 46	-	0,009 312

F159	-	-	0,112766	-	-	0,029496	-	0,025917	-	0,020509	-	0,014524	-	0,00891
F161	0,13062	0,04115	0,099943	0,05945	0,18662	0,022889	0,18889	0,018341	0,19152	0,013081	0,18929	0,00778	0,18546	0,003081
F162	-	-	0,102192	0,05202	0,18455	0,025791	0,18632	0,02138	0,18586	0,016054	0,1859	0,010753	0,1837	0,006272
F163	-	-	0,10763	0,06071	0,1911	0,030233	0,19364	0,025703	0,19314	0,019979	0,19115	0,013878	0,18755	0,008073
F164	0,12649	0,03608	0,115841	0,05146	0,18539	0,026027	0,18799	0,021404	0,18869	0,015893	0,1878	0,010367	0,18555	0,005219
F165	0,1365	0,03547	0,103004	0,05454	0,18838	0,02929	0,18982	0,024102	0,19073	0,018141	0,18929	0,012481	0,18591	0,007341
F166	0,12996	0,03907	0,106139	0,06095	0,18463	0,02797	0,18527	0,023529	0,18565	0,01795	0,18361	0,012391	0,18054	0,006734
F167	0,13214	0,04321	0,111616	0,05895	0,18018	0,029205	0,18322	0,026834	0,18496	0,02183	0,18578	0,01616	0,18368	0,01058
F168	0,13569	0,04265	0,097234	0,06702	0,18239	0,028415	0,18493	0,025181	0,18456	0,020845	0,18242	0,016021	0,17954	0,010911
F169	-	-	0,102799	0,06423	0,18186	0,025916	0,18318	0,023526	0,18265	0,018953	0,18228	0,013562	0,17984	0,008472
F170	0,1371	0,03663	0,104802	0,06309	0,18256	0,024565	0,18424	0,020806	0,18401	0,015891	0,1828	0,010604	0,18062	0,005409
F171	0,13754	0,03882	0,106222	0,05584	0,18516	0,02883	0,18625	0,025523	0,18641	0,020762	0,18478	0,015622	0,18239	0,010227
F172	0,13881	0,03673	0,102976	0,05664	0,18041	0,027944	0,18112	0,024813	0,181	0,019735	0,17998	0,014096	0,1786	0,008448
F173	0,1432	0,03673	0,099541	0,05885	0,18239	0,025804	0,18314	0,021567	0,18289	0,01631	0,18121	0,011119	0,17893	0,006132
F174	0,13756	0,03713	0,101826	0,05751	0,18496	0,028843	0,18593	0,025199	0,18574	0,019731	0,18519	0,013945	0,18212	0,008804
F175	0,13774	0,04136	0,113266	0,05826	0,18226	0,028342	0,18416	0,024397	0,18454	0,019308	0,18441	0,014051	0,18222	0,009227
F176	0,14121	0,0371	0,111177	0,05876	0,18265	0,02834	0,18402	0,024683	0,1849	0,019946	0,18317	0,015112	0,18043	0,009977
F177	0,13933	0,03601	0,109462	0,0508	0,18614	0,026906	0,18847	0,023804	0,1897	0,01898	0,18842	0,013998	0,18457	0,009353
F178	0,13623	0,03763	0,10265	0,05706	0,18385	0,025804	0,18638	0,02309	0,18743	0,018058	0,18743	0,012871	0,18405	0,008581
F179	0,14248	0,03805	0,10478	0,0586	0,18147	0,029379	0,18265	0,024756	0,18324	0,019149	0,18338	0,013673	0,18174	0,008872

F180	-	-	0,104873	-	0,1884	0,028276	-	0,024728	-	0,019523	-	0,01405	-	0,008986
F181	-	-	0,108379	-	0,18073	0,028227	-	0,023923	-	0,019421	-	0,014409	-	0,00896
F182	-	-	0,106954	-	0,18584	0,02948	-	0,026706	-	0,021231	-	0,014982	-	0,008974
F183	-	-	0,10282	-	0,18264	0,030068	-	0,026236	-	0,020684	-	0,014827	-	0,009262
F184	-	-	0,097605	-	0,18085	0,027638	-	0,02369	-	0,018184	-	0,012436	-	0,007076
F185	-	-	0,111055	-	0,18475	0,028239	-	0,024814	-	0,019998	-	0,014909	-	0,009839
F186	-	-	0,107265	-	0,18467	0,026833	-	0,024238	-	0,019314	-	0,013564	-	0,007831
F187	-	-	0,108225	-	0,18902	0,029025	-	0,024167	-	0,018081	-	0,012136	-	0,007361
F188	-	-	0,107831	-	0,18248	0,029515	-	0,025586	-	0,02049	-	0,015216	-	0,009598
F189	-	-	0,112797	-	0,18342	0,026277	-	0,023538	-	0,018882	-	0,013675	-	0,008549
F190	-	-	0,111005	-	0,18401	0,025884	-	0,021089	-	0,015141	-	0,009637	-	0,005235
F191	-	-	0,11165	-	0,18302	0,025053	-	0,022242	-	0,017305	-	0,011343	-	0,005261
F192	-	-	0,106978	-	0,18317	0,021881	-	0,018324	-	0,013418	-	0,008337	-	0,003619
F194	-	-	0,108616	-	0,18482	0,025812	-	0,023015	-	0,018812	-	0,013744	-	0,008418
F195	-	-	0,115377	-	0,1854	0,021372	-	0,017382	-	0,012585	-	0,007866	-	0,003393
F196	-	-	0,10846	-	0,18955	0,026526	-	0,022737	-	0,018004	-	0,013235	-	0,008137
F197	-	-	0,117161	-	0,18705	0,025592	-	0,022069	-	0,01753	-	0,012692	-	0,008047
F198	-	-	0,11549	-	0,18389	0,023534	-	0,018866	-	0,013407	-	0,008379	-	0,004295
F199	-	-	0,120259	-	0,17814	0,023206	-	0,019122	-	0,014501	-	0,009541	-	0,004662
F200	-	-	0,108232	-	0,18273	0,020111	-	0,016183	-	0,010842	-	0,005506	-	0,000597

F201	- 0,142 33	- 0,0379 6	0,114 307	- 0,0430 2	- 0,184 94	0,0186 69	- 0,186 7	0,0152 19	- 0,186 38	0,0113 23	- 0,184 28	0,0075 45	- 0,181 5	0,003 637
F203	- 0,138 03	- 0,0394 7	0,107 425	- 0,0543 7	- 0,180 91	0,0219 57	- 0,184 21	0,0175 27	- 0,185 76	0,0122 74	- 0,184 77	0,0071 18	- 0,182 24	0,002 3
F204	- 0,134 35	- 0,0415 5	0,109 401	- 0,0525 3	- 0,184 64	0,0256 53	- 0,187 72	0,0218 51	- 0,188 67	0,0167 61	- 0,187 85	0,0115 7	- 0,184 63	0,006 95
F205	- 0,136 51	- 0,0385 4	0,117 344	- 0,0525 3	- 0,183 34	0,0215 21	- 0,186 37	0,0178 62	- 0,187 49	0,0128 85	- 0,186 53	0,0078 13	- 0,183 81	0,003 115
F206	- 0,134 88	- 0,0404 3	0,117 828	- 0,0546 2	- 0,182 29	0,0231	- 0,185 71	0,0202 01	- 0,186 92	0,0159 12	- 0,185 65	0,0110 82	- 0,183 6	0,005 923
F207	- 0,134 52	- 0,0394 1	0,115 431	- 0,0527 4	- 0,187 81	0,0243 27	- 0,188 81	0,0203 4	- 0,188 66	0,0154 86	- 0,186 99	0,0106 57	- 0,183 66	0,006 228
F208	- 0,136 98	- 0,0422 9	0,115 248	- 0,0550 9	- 0,180 24	0,0246 38	- 0,184 3	0,0235 51	- 0,186 41	0,0201 63	- 0,185 72	0,0154 29	- 0,183 82	0,009 909
F209	- 0,136 91	- 0,0385 8	0,115 309	- 0,0504 9	- 0,183 76	0,0223 97	- 0,185 88	0,0186 66	- 0,186 59	0,0140 24	- 0,185 34	0,0093 94	- 0,182 6	0,005 041
F210	- 0,148 02	- 0,0371 1	0,116 473	- 0,0517 8	- 0,177 04	0,0179 14	- 0,181 12	0,0155 68	- 0,181 67	0,0114 31	- 0,180 4	0,0067 33	- 0,178 63	0,001 958
F211	- 0,139 8	- 0,0386 8	0,115 547	- 0,0481 6	- 0,184 14	0,0236 27	- 0,185 76	0,0203 61	- 0,186 19	0,0157 06	- 0,185 33	0,0107 61	- 0,182 89	0,006 096
F212	- 0,140 22	-0,038	0,111 849	- 0,0505	- 0,180 8	0,0229 36	- 0,184 04	0,0201 02	- 0,185 07	0,0150 86	- 0,186 11	0,0099 11	- 0,184 77	0,005 226
F213	- 0,139 2	- 0,0455 2	0,115 739	- 0,0493 3	- 0,182 03	0,0265 63	- 0,185 58	0,0234 34	- 0,186 36	0,0182 59	- 0,186 11	0,0125 88	- 0,183 47	0,007 25
F214	- 0,144 05	- 0,0418 5	0,117 949	- 0,0447	- 0,180 92	0,0247 05	- 0,184 28	0,0213 99	- 0,185 39	0,0164 58	- 0,184 59	0,0110 34	- 0,182 66	0,005 561
F215	- 0,137 23	- 0,0383 7	0,114 7	- 0,0606 3	- 0,179 16	0,0220 92	- 0,182 16	0,0190 12	- 0,183 39	0,0142 04	- 0,183 47	0,0088 88	- 0,182 8	0,003 812
F216	- 0,133 88	- 0,0371 2	0,111 979	- 0,0531 5	- 0,180 44	0,0200 15	- 0,184 59	0,0160 9	- 0,188 23	0,0118 13	- 0,188 93	0,0070 33	- 0,187 52	0,002 494
F217	- 0,135 5	- 0,0370 9	0,112 405	- 0,0546 2	- 0,181 49	0,0216 21	- 0,184 09	0,0187 74	- 0,186 06	0,0136 77	- 0,187 24	0,0084 37	- 0,185 28	0,003 678
F218	- 0,131 37	- 0,0390 6	0,112 992	- 0,0566 5	- 0,185 66	0,0260 08	- 0,189 03	0,0223 62	- 0,190 65	0,0168 84	- 0,191 43	0,0115 03	- 0,188 92	0,007 005
F219	- 0,134 15	- 0,0383 7	0,113 946	- 0,0494 3	- 0,187 42	0,0231 72	- 0,189 1	0,0191	- 0,188 6	0,0142 56	- 0,186 72	0,0093 59	- 0,183 21	0,004 949
F220	- 0,128 5	- 0,0390 5	0,110 392	- 0,0543 6	- 0,187 96	0,0247 07	- 0,191 52	0,0209 98	- 0,193 14	0,0160 63	- 0,192 79	0,0110 61	- 0,189 61	0,006 737
F221	- 0,143 26	- 0,0359 3	0,111 31	- 0,0419 1	- 0,182 53	0,0203 27	- 0,184 56	0,0168 89	- 0,185 18	0,0125 41	- 0,183 71	0,0081 17	- 0,181 82	0,003 539

F243	-	-	0,119	-	-	0,0199	-	0,0171	-	0,0123	-	0,0071	-	0,002
	0,139	0,0377	187	0,0457	0,180	5	0,184	82	0,185	78	0,185	88	0,183	376
F244	-	-	0,116	-	-	0,0233	-	0,0195	-	0,0146	-	0,0095	-	0,004
	0,143	0,0409	136	0,0441	0,180	06	0,182	4	0,184	97	0,183	98	0,181	514
F245	-	-	0,109	-	-	0,0217	-	0,0170	-	0,0122	-	0,0078	-	0,003
	0,132	0,0379	422	0,0600	0,184	31	0,187	83	0,188	53	0,186	93	0,183	757
F246	-	-	0,106	-	-	0,0253	-	0,0218	-	0,0167	-	0,0114	-	0,006
	0,133	0,0401	08	0,0607	0,187	94	0,188	52	0,187	75	0,186	62	0,182	657
F247	-	-	0,107	-	-	0,0213	-	0,0182	-	0,0147	-	0,0110	-	0,006
	0,137	0,0372	76	0,0502	0,181	99	0,184	61	0,187	95	0,185	1	0,183	86
F248	-	-	0,109	-	-	0,0222	-	0,0189	-	0,0145	-	0,0102	-	0,005
	0,141	0,0403	721	0,0453	0,183	81	0,185	51	0,186	64	0,184	17	0,182	584
F249	-	-	0,118	-	-	0,0242	-	0,0221	-	0,0179	-	0,0129	-	0,007
	0,141	0,0400	701	0,0528	0,181	1	0,184	28	0,184	18	0,184	02	0,181	929
F250	-	-	0,115	-	-	0,0227	-	0,0194	-	0,0146	-	0,0095	-	0,004
	0,140	0,0378	48	0,0524	0,184	41	0,186	59	0,186	05	0,184	86	0,181	609
F251	-	-	0,103	-	-	0,0195	-	0,0150	-	0,0101	-	0,0054	-	0,000
	0,141	0,0366	833	0,0535	0,180	88	0,182	89	0,183	11	0,182	01	0,180	846
F252	-	-	0,115	-	-	0,0194	-	0,0152	-	0,0106	-	0,0059	-	0,001
	0,147	0,0391	92	0,0419	0,177	45	0,179	61	0,182	43	0,181	65	0,180	565
F253	-	-	0,114	-	-	0,0210	-	0,0181	-	0,0145	-	0,0102	-	0,005
	0,143	0,0384	557	0,0447	0,178	23	0,182	09	0,185	37	0,184	22	0,183	417
F254	-	-	0,106	-	-	0,0202	-	0,0147	-	0,0089	-	0,0034	-	-
	0,137	0,0319	969	0,0517	0,181	89	0,184	25	0,187	22	0,187	51	0,185	0,001
Indiv	X15	Y15	X16	Y16	X17	Y17	X18	Y18	X19	Y19	X20	Y20	X21	Y21
F001	-	0,0020	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,179	41	0,175	0,0031	0,170	0,0081	0,165	0,0128	0,160	0,0178	0,155	0,0220	0,150	0,026
F003	-	0,0009	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,179	65	0,174	0,0037	0,170	0,0086	0,166	0,0129	0,161	0,0172	0,155	0,0210	0,150	0,024
F005	-	0,0014	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,178	44	0,174	0,0034	0,171	0,0087	0,166	0,0131	0,161	0,0176	0,156	0,0222	0,151	0,027
F006	-	0,0033	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,180	24	0,177	0,0017	0,174	0,0065	0,169	0,0112	0,165	0,0163	0,159	0,0210	0,154	0,025
F007	-	0,0008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,178	47	0,175	0,0042	0,171	0,0095	0,167	0,0141	0,162	0,0186	0,157	0,0226	0,152	0,026
F008	-	0,0053	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,180	69	0,175	0,0001	0,170	0,0054	0,165	0,0109	0,159	0,0163	0,154	0,0215	0,148	0,026
F009	-	0,0025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,181	61	0,177	0,0024	0,172	0,0075	0,167	0,0125	0,162	0,0175	0,156	0,0224	0,150	0,027

F035	- 0,177 25	0,0027 67	- 0,173 75	- 0,0024 3	- 0,169 58	- 0,0072 3	- 0,165 6	- 0,0121 7	- 0,161 15	- 0,0167	- 0,156 88	- 0,0214 8	- 0,152 43	- 0,025 98
F037	- 0,177 02	0,0009 89	- 0,173 4	- 0,0040 6	- 0,169 39	- 0,0088 8	- 0,165 44	- 0,0136 5	- 0,160 81	- 0,0177 2	- 0,156 36	- 0,0220 4	- 0,151 64	- 0,025 88
F038	- 0,177 25	0,0019 5	- 0,173 97	- 0,0027 4	- 0,170 22	- 0,0073 6	- 0,166 44	- 0,0120 5	- 0,161 96	- 0,0161 5	- 0,157 18	- 0,0201 4	- 0,152 3	- 0,023 9
F041	- 0,178 32	0,0012 16	- 0,174 26	- 0,0038 2	- 0,169 84	- 0,0087 9	- 0,165 1	- 0,0135 5	- 0,160 32	- 0,0183 2	- 0,155 14	- 0,0227 6	- 0,149 88	- 0,026 97
F047	- 0,179 96	0,0055 69	- 0,175 82	- 0,0009 38	- 0,171 5	- 0,0039 3	- 0,167 12	- 0,0089 3	- 0,162 4	- 0,0137 7	- 0,157 56	- 0,0186 9	- 0,152 41	- 0,023 25
F049	- 0,180 86	0,0004 47	- 0,177 12	- 0,0040 5	- 0,172 81	- 0,0082 4	- 0,168 56	- 0,0126	- 0,164 16	- 0,0169 1	- 0,159 2	- 0,0208	- 0,154 24	- 0,024 79
F051	- 0,183 88	0,0065 03	- 0,179 73	- 0,0002 81	- 0,173 98	- 0,0049 3	- 0,167 75	- 0,0100 2	- 0,161 2	- 0,0149 8	- 0,154 64	- 0,0201 6	- 0,148 24	- 0,025 3
F056	- 0,178 73	0,0027 99	- 0,174 64	- 0,0023 6	- 0,169 95	- 0,0073 4	- 0,165 22	- 0,0123 9	- 0,160 16	- 0,0171 7	- 0,154 89	- 0,0218 4	- 0,149 65	- 0,026 32
F058	- 0,181 71	0,0049 2	- 0,176 74	- 0,0005 5	- 0,171 96	- 0,0064 1	- 0,166 38	- 0,0115 3	- 0,160 27	- 0,0161 4	- 0,154 27	- 0,0210 6	- 0,148 38	- 0,025 93
F060	- 0,178 78	0,0052 69	- 0,174 62	- 0,0001 9	- 0,169 86	- 0,0053 3	- 0,164 75	- 0,0101 7	- 0,159 76	- 0,0151 6	- 0,154 56	- 0,0200 5	- 0,149 56	- 0,024 98
F062	- 0,180 68	0,0018 02	- 0,175 93	- 0,0033 9	- 0,171 04	- 0,0087 5	- 0,165 42	- 0,0134 2	- 0,159 53	- 0,0179	- 0,153 84	- 0,0227 5	- 0,148 04	- 0,027 24
F063	- 0,180 75	0,0005 11	- 0,176 14	- 0,0041 3	- 0,171 17	- 0,0088 8	- 0,165 87	- 0,0135 1	- 0,160 54	- 0,0182 9	- 0,154 8	- 0,0227 7	- 0,149 22	- 0,027 34
F068	- 0,183 43	0,0032 16	- 0,178 57	- 0,0016 1	- 0,173 19	- 0,0065 9	- 0,167 2	- 0,0112 5	- 0,160 9	- 0,0158 7	- 0,154 22	- 0,0203 3	- 0,147 88	- 0,025 3
F069	- 0,181 42	0,0025 05	- 0,176 94	- 0,0030 4	- 0,171 66	- 0,0081 6	- 0,166 34	- 0,0133 8	- 0,160 55	- 0,0181 3	- 0,154 52	- 0,0227	- 0,148 68	- 0,027 27
F073	- 0,184 51	0,0048 21	- 0,179 7	- 0,0014 6	- 0,174 1	- 0,0073 4	- 0,168 87	- 0,0135 6	- 0,162 75	- 0,0188 7	- 0,156 68	- 0,0243 1	- 0,150 58	- 0,029 37
F076	- 0,180 42	0,0050 92	- 0,176 03	- 0,0010 9	- 0,170 79	- 0,0068 9	- 0,165 31	- 0,0125 9	- 0,159 52	- 0,0180 3	- 0,153 46	- 0,0232 5	- 0,147 66	- 0,028 49
F077	- 0,179 53	0,0066 19	- 0,174 96	- 0,0015 74	- 0,170 51	- 0,0039	- 0,166 14	- 0,0095 2	- 0,161 3	- 0,0147 8	- 0,156 16	- 0,0198 7	- 0,151 12	- 0,024 85
F078	- 0,177 94	0,0043 59	- 0,174 69	- 0,0010 6	- 0,171 16	- 0,0063 3	- 0,167 74	- 0,0115 3	- 0,163 29	- 0,0158 2	- 0,158 94	- 0,0203 6	- 0,154 63	- 0,024 86
F082	- 0,179 54	0,0031 01	- 0,175 48	- 0,0018 4	- 0,170 99	- 0,0067 7	- 0,166 26	- 0,0116 5	- 0,161 81	- 0,0168 7	- 0,157	- 0,0218 3	- 0,151 64	- 0,026 08
F083	- 0,183 79	0,0021 14	- 0,179 71	- 0,0038 7	- 0,174 32	- 0,0089	- 0,168 13	- 0,0132 7	- 0,161 65	- 0,0175 2	- 0,155 21	- 0,0221 2	- 0,149 01	- 0,026 88

F115	- 0,182 67	0,0028 61	- 0,178 18	- 0,0021 2	- 0,173 24	- 0,0070 8	- 0,168 13	- 0,0120 3	- 0,162 42	- 0,0164 3	- 0,156 46	- 0,0207 8	- 0,150 35	- 0,024 83
F116	- 0,182 29	0,0023 76	- 0,177 85	- 0,0034 5	- 0,173	- 0,0091	- 0,167 37	- 0,0139 9	- 0,161 36	- 0,0185 3	- 0,155 25	- 0,0231 1	- 0,148 98	- 0,027 25
F117	- 0,181 32	0,0025 13	- 0,177 13	- 0,0026 6	- 0,172 41	- 0,0077	- 0,167 17	- 0,0123 6	- 0,161 54	- 0,0167 6	- 0,156 06	- 0,0215 5	- 0,150 43	- 0,026 08
F118	- 0,182 89	3,91E- 05	- 0,177 93	- 0,0047 2	- 0,172 63	- 0,0096 4	- 0,166 89	- 0,0143 4	- 0,160 61	- 0,0185 9	- 0,154 36	- 0,0232 4	- 0,147 93	- 0,027 61
F120	- 0,180 76	0,0024 73	- 0,176 49	- 0,0022 7	- 0,172 38	- 0,0074 9	- 0,167 8	- 0,0124 2	- 0,162 73	- 0,0170 5	- 0,157 44	- 0,0216 8	- 0,152 25	- 0,026 4
F122	- 0,184 18	0,0004 97	- 0,178 72	- 0,0035 7	- 0,172 79	- 0,0079	- 0,166 55	- 0,0123 2	- 0,160 49	- 0,0173 1	- 0,153 95	- 0,0220 5	- 0,147 45	- 0,026 8
F123	- 0,183 1	0,0023 16	- 0,178 49	- 0,0031 4	- 0,173 04	- 0,0083 1	- 0,167 4	- 0,0135 5	- 0,161 39	- 0,0185 9	- 0,155 02	- 0,0234 6	- 0,148 8	- 0,028 43
F124	- 0,185 68	0,0023 59	- 0,181 42	- 0,0032 4	- 0,175 84	- 0,0081 2	- 0,170 22	- 0,0132 6	- 0,164 2	- 0,0181 2	- 0,157 85	- 0,0228	- 0,151 49	- 0,027 33
F126	- 0,182 96	0,0034 45	- 0,177 66	- 0,0018 5	- 0,171 98	- 0,0072	- 0,166 55	- 0,0129 4	- 0,160 71	- 0,0183 5	- 0,154 49	- 0,0234 3	- 0,148 17	- 0,028 13
F127	- 0,182 28	0,0050 99	- 0,176 87	- 0,0003 6	- 0,171 32	- 0,0060 9	- 0,165 57	- 0,0117 1	- 0,159 89	- 0,0174 2	- 0,153 53	- 0,0224 2	- 0,146 89	- 0,026 84
F128	- 0,179 75	0,0014 26	- 0,175 92	- 0,0040 4	- 0,171 2	- 0,0089 7	- 0,165 9	- 0,0134 5	- 0,160 78	- 0,0182 5	- 0,155 35	- 0,0228 3	- 0,149 98	- 0,027 3
F129	- 0,182 86	0,0036 34	- 0,178 23	- 0,0018 5	- 0,173 28	- 0,0075	- 0,167 3	- 0,0123 5	- 0,160 86	- 0,0169 5	- 0,154 39	- 0,0218 5	- 0,148 05	- 0,026 83
F130	- 0,184 25	0,0018 51	- 0,178 7	- 0,0027 6	- 0,172 85	- 0,0076 8	- 0,166 88	- 0,0128 1	- 0,161 03	- 0,0182 7	- 0,154 36	- 0,0230 1	- 0,147 8	- 0,027 86
F134	- 0,187 44	0,0034 69	- 0,182 42	- 0,0020 6	- 0,176 7	- 0,0076 1	- 0,170 44	- 0,0129 8	- 0,163 48	- 0,0178 7	- 0,156 34	- 0,0229 6	- 0,149 11	- 0,027 88
F135	- 0,181 44	0,0013 7	- 0,177 36	- 0,0068 1	- 0,172 54	- 0,0117 1	- 0,166 78	- 0,0156 3	- 0,160 81	- 0,0195 3	- 0,154 99	- 0,0238 9	- 0,148 94	- 0,027 83
F137	- 0,183 5	0,0033 78	- 0,178 61	- 0,0022	- 0,173 6	- 0,0079 9	- 0,167 96	- 0,0132 7	- 0,161 89	- 0,0182	- 0,155 71	- 0,0231 3	- 0,149 49	- 0,027 77
F138	- 0,184 34	0,0026 63	- 0,180 83	- 0,0033	- 0,175 99	- 0,0087 4	- 0,170 27	- 0,0137 7	- 0,164	- 0,0185 7	- 0,157 69	- 0,0237	- 0,151 08	- 0,028 37
F139	- 0,180 42	0,0006	- 0,176 55	- 0,0062	- 0,171 46	- 0,0108 8	- 0,165 71	- 0,0150 1	- 0,160 08	- 0,0194 7	- 0,154 09	- 0,0235 8	- 0,147 92	- 0,027 22
F140	- 0,182 57	0,0034 63	- 0,178 18	- 0,0022 8	- 0,173 75	- 0,0083 2	- 0,168 49	- 0,0137 6	- 0,162 75	- 0,0188 7	- 0,156 59	- 0,0237 5	- 0,150 29	- 0,028 4
F141	- 0,181 58	0,0024 64	- 0,177 93	- 0,0034 2	- 0,172 94	- 0,0085 9	- 0,168 21	- 0,0141 7	- 0,162 54	- 0,0189 5	- 0,156 49	- 0,0236 3	- 0,150 39	- 0,028 19

F166	- 0,177 32	0,0007 24	- 0,173 32	-0,005	- 0,169 76	- 0,0111 6	- 0,165 91	- 0,0170 4	- 0,160 92	- 0,0219 8	- 0,155 74	- 0,0269	- 0,150 34	- 0,031 43
F167	- 0,179 93	0,0050 26	- 0,175 52	0,0005 3	- 0,171 48	- 0,0065 9	- 0,167 38	- 0,0126 3	- 0,163 13	- 0,0184 8	- 0,157 87	- 0,0235 2	- 0,152 58	- 0,028 42
F168	- 0,175 99	0,0057 39	- 0,172 69	0,0002 47	- 0,168 65	- 0,0048 6	- 0,164 7	- 0,0100 2	- 0,160 56	- 0,0149 8	- 0,156 43	- 0,0199 3	- 0,151 79	- 0,024 2
F169	- 0,176 18	0,0035 48	- 0,172 61	0,0016 2	- 0,168 6	- 0,0065 3	- 0,164 52	- 0,0113 2	- 0,160 5	- 0,0160 5	- 0,156 05	- 0,0203 6	- 0,151 48	- 0,024 31
F170	- 0,177 83	0,0002 21	- 0,174 16	0,0045 9	- 0,170 43	- 0,0095 9	- 0,166 48	- 0,0144 2	- 0,161 83	- 0,0186 8	- 0,156 97	- 0,0229	- 0,152 02	- 0,026 97
F171	- 0,179 21	0,0048 27	- 0,175 51	0,0004 2	- 0,171 2	- 0,0053 5	- 0,167 01	- 0,0104	- 0,163 04	- 0,0156	- 0,158 18	- 0,0200 8	- 0,153 46	- 0,024 65
F172	- 0,175 59	0,0034 1	- 0,172 23	0,0014 6	- 0,168 48	- 0,0060 4	- 0,165 01	- 0,0107 1	- 0,161 98	- 0,0155 7	- 0,158 66	- 0,0202 1	- 0,155 11	- 0,024 51
F173	- 0,176 44	0,0013 27	- 0,172 55	0,0023 9	- 0,169 06	- 0,0066 4	- 0,165 36	- 0,0107	- 0,161 92	- 0,0149 7	- 0,157 86	- 0,0187 4	- 0,154 14	- 0,022 82
F174	- 0,178 47	0,0034 73	- 0,174 45	0,0017 1	- 0,170 04	- 0,0066	- 0,165 21	- 0,0109 9	- 0,160 75	- 0,0156 5	- 0,155 76	- 0,0196 9	- 0,151 47	- 0,024 22
F175	- 0,178 83	0,0044 12	- 0,174 99	0,0006 1	- 0,170 93	- 0,0058 9	- 0,166 76	- 0,0112 8	- 0,162 61	- 0,0168 1	- 0,157 81	- 0,0219 2	- 0,152 99	- 0,026 9
F176	- 0,177 12	0,0046 83	- 0,173 27	0,0004 2	- 0,169 61	- 0,0057 7	- 0,165 72	- 0,0108 7	- 0,162 16	- 0,0161	- 0,158 38	- 0,0210 6	- 0,154 98	- 0,025 96
F177	- 0,180 24	0,0041 79	- 0,175 44	0,0008 1	- 0,170 51	- 0,0056 6	- 0,166 12	- 0,0108 1	- 0,161 05	- 0,0150 5	- 0,156 46	- 0,0196 6	- 0,152 14	- 0,024 11
F178	- 0,180 07	0,0038 43	- 0,175 13	0,0002 5	- 0,170 64	- 0,0049 7	- 0,165 92	- 0,0094 9	- 0,161 55	- 0,0143 3	- 0,156 78	- 0,0189	- 0,152 04	- 0,023 45
F179	- 0,178 46	0,0046 16	- 0,175 17	-1,9E- 06	- 0,171 43	- 0,0045 8	- 0,167 53	- 0,0091 5	- 0,163 65	- 0,0138 3	- 0,159 18	- 0,0181 4	- 0,155 14	- 0,022 82
F180	- 0,181 51	0,0033 16	- 0,176 25	0,0016 1	- 0,170 49	- 0,0062 4	- 0,165 07	- 0,0112 8	- 0,159 72	- 0,0163 5	- 0,154 65	- 0,0217 2	- 0,149 41	- 0,026 61
F181	- 0,181 49	0,0034 41	- 0,177 69	0,0018 5	- 0,173 57	- 0,0071 6	- 0,169 47	- 0,0125 8	- 0,165 06	- 0,0177 9	- 0,160 06	- 0,0226 4	- 0,154 61	- 0,027 08
F182	- 0,181 74	0,0032 31	- 0,176 96	0,0021 2	- 0,172 08	- 0,0074 1	- 0,166 85	- 0,0122 2	- 0,162 01	- 0,0172 7	- 0,157 2	- 0,0222 8	- 0,151 88	- 0,026 43
F183	- 0,179 03	0,0038 98	- 0,175 17	0,0014 2	- 0,171 31	- 0,0067 2	- 0,166 66	- 0,0112 2	- 0,162 38	- 0,0160 1	- 0,157 76	- 0,0204 4	- 0,153 56	- 0,025 04
F184	- 0,179 46	0,0022 95	- 0,175 68	0,0024 5	- 0,171 87	- 0,0073 9	- 0,167 59	- -0,012	- 0,163 07	- 0,0164 7	- 0,158 56	- 0,0211 1	- 0,153 8	- 0,025 49
F185	- 0,179 29	0,0042 26	- 0,175 23	- 0,0013	- 0,170 82	- 0,0067 6	- 0,166 47	- 0,0122 8	- 0,161 87	- 0,0175 4	- 0,156 92	- 0,0224 7	- 0,152 16	- 0,027 31

F186	- 0,180 44	0,0027 13	- 0,176 16	- 0,0021 4	- 0,171 64	- 0,0069 2	- 0,166 72	- 0,0113 2	- 0,162 15	- 0,0160 9	- 0,157 31	- 0,0206 9	- 0,152 05	- 0,024 75
F187	- 0,182 81	0,0025 86	- 0,177 46	- 0,0021 9	- 0,172 33	- 0,0077 4	- 0,166 5	- 0,0128 1	- 0,160 68	- 0,0180 7	- 0,154 97	- 0,0235 8	- 0,148 89	- 0,028 4
F188	- 0,175 03	0,0039 5	- 0,171 89	- 0,0017	- 0,168 76	- 0,0074 1	- 0,165 48	- 0,0128 9	- 0,161 54	- 0,0177 8	- 0,157 18	- 0,0222 8	- 0,152 84	- 0,026 54
F189	- 0,176 41	0,0032 99	- 0,172 39	- 0,0016 9	- 0,168 65	- 0,0068 5	- 0,164 77	- 0,0117	- 0,160 4	- 0,0159 4	- 0,156 06	- 0,0201 8	- 0,152 11	- 0,024 53
F190	- 0,182 13	0,0007 81	- 0,178 15	- 0,0041 4	- 0,174 43	- 0,0095 8	- 0,169 16	- 0,0138 2	- 0,163 59	- 0,0182 3	- 0,157 9	- 0,0229 6	- 0,152 17	- 0,027 76
F191	- 0,185 95	0,0002 2	- 0,181 36	- 0,0050 9	- 0,175 97	- 0,0095 6	- 0,170 2	- 0,0138 9	- 0,164 01	- 0,0178 9	- 0,157 81	- 0,0222 4	- 0,151 43	- 0,026 31
F192	- 0,177 96	0,0008 2	- 0,174 13	- 0,0051 9	- 0,170 26	- 0,0095 7	- 0,166 53	- 0,0139 7	- 0,162 17	- 0,0177 3	- 0,157 89	- 0,0217 5	- 0,153 39	- 0,025 55
F194	- 0,179 81	0,0031 03	- 0,176 26	- 0,0024 5	- 0,171 89	- 0,0076 5	- 0,167 12	- 0,0126 5	- 0,162 3	- 0,0177 7	- 0,157 11	- 0,0227 5	- 0,151 68	- 0,027 52
F195	- 0,182 78	0,0007 2	- 0,178 44	- 0,0047 5	- 0,174 17	- 0,0090 8	- 0,169 06	- 0,0125 6	- 0,164 39	- 0,0168 1	- 0,158 98	- 0,0204 8	- 0,154 05	- 0,024 93
F196	- 0,179 65	0,0031 29	- 0,175 66	- 0,0024 7	- 0,170 86	- 0,0077 3	- 0,166	- 0,0130 9	- 0,161 24	- 0,0186 4	- 0,156 07	- 0,0239 5	- 0,150 92	- 0,029 15
F197	- 0,179 67	0,0033 8	- 0,176 11	- 0,0013 9	- 0,172 63	- 0,0065 1	- 0,168 49	- 0,0113	- 0,164 47	- 0,0163 8	- 0,160 47	- 0,0217 6	- 0,156 49	- 0,027 26
F198	- 0,182 4	0,0004 81	- 0,178 69	- 0,0037 3	- 0,174 04	- 0,0074 3	- 0,169 9	- 0,0119 7	- 0,165 33	- 0,0163 6	- 0,160 06	- 0,0203 2	- 0,154 83	- 0,024 48
F199	- 0,181 25	0,0002 7	- 0,177 8	- 0,0047 6	- 0,175	- 0,0098 3	- 0,171 09	- 0,0141 7	- 0,166 78	- 0,0183 9	- 0,161 78	- 0,0222 2	- 0,156 65	- 0,026 17
F200	- 0,179 31	0,0039 5	- 0,175 19	- 0,0076 6	- 0,170 99	- 0,0113	- 0,166 83	- 0,0149 1	- 0,162 68	- 0,0185	- 0,158 78	- 0,0224 9	- 0,154 12	- 0,025 67
F201	- 0,178 41	0,0004 7	- 0,175 46	- 0,0048 6	- 0,171 86	- 0,0089 2	- 0,168 13	- 0,0129 8	- 0,164 34	- 0,0170 3	- 0,159 93	- 0,0206 1	- 0,156 43	- 0,025 14
F203	- 0,178 87	0,0023 2	- 0,175 06	- 0,0067 4	- 0,170 75	- 0,0108 6	- 0,166 49	- 0,0150 5	- 0,162 46	- 0,0195 1	- 0,158 14	- 0,0238 1	- 0,154 09	- 0,028 3
F204	- 0,180 37	0,0022 96	- 0,175 55	- 0,0022 8	- 0,171 35	- 0,0077 3	- 0,166 64	- 0,0128 8	- 0,161 81	- 0,0180 1	- 0,156 47	- 0,0227 8	- 0,151 29	- 0,027 62
F205	- 0,180 26	0,0014	- 0,175 94	- 0,0053 8	- 0,171 88	- 0,0097 7	- 0,167 32	- 0,0136 8	- 0,162 78	- 0,0177 4	- 0,157 93	- 0,0216 5	- 0,153 22	- 0,025 82
F206	- 0,180 24	0,0010 39	- 0,176 02	- 0,0035 5	- 0,171 92	- 0,0085 3	- 0,167 86	- 0,0136 4	- 0,163 07	- 0,0181 9	- 0,157 89	- 0,0226 1	- 0,152 64	- 0,027 04
F207	- 0,180 24	0,0012 64	- 0,175 94	- 0,0033 5	- 0,171 82	- 0,0084 7	- 0,166 92	- 0,0130 1	- 0,162 03	- 0,0177 4	- 0,157 18	- 0,0226 9	- 0,151 98	- 0,027 19

F249	-	0,0027	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,178	74	0,174	0,0015	0,171	0,0064	0,167	0,0111	0,163	0,0158	0,159	0,0206	0,154	0,025
	96		8	6	02	1	13	9	12	9	12	7	71	01
F250	-	0,0004	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,177	5	0,174	0,0055	0,171	0,0101	0,167	0,0146	0,163	0,0190	0,159	0,0228	0,155	0,026
	99		7			5	36	8	75	9	42	2	35	82
F251	-	0,0034	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,178	6	0,175	0,0065	0,172	0,0104	0,168	0,0136	0,164	0,0172	0,161	0,0212	0,156	0,024
	56		04	5	09	1	32	2	74	7	13		9	73
F252	-	0,0020	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,177	1	0,175	0,0059	0,171	0,0095	0,169	0,0135	0,166	0,0176	0,163	0,0216	0,160	0,025
	6		05	6	96	8	34	8	71	8	55		15	53
F253	-	0,0008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,181	81	0,177	0,0032	0,174	0,0076	0,169	0,0118	0,166	0,0167	0,161	0,0208	0,158	0,025
	54		91	7	09	4	9	1	49	3	9	2	16	8
F254	-	0,0054	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0,183	8	0,180	0,0092	0,175	0,0117	0,171	0,0148	0,166	0,0173	0,161	0,0199	0,156	0,023
	09		09	7	75	8	4	3	44	3	21	7	11	15
Individual	X22	Y22	X23	Y23	X24	Y24	X25	Y25	X26	Y26	X27	Y27	X28	Y28
F001	-	0,0307	-	-	-	-	0,079	0,0568	0,083	0,0536	0,086	0,0493	0,091	0,047
	0,145	2	0,140	0,0346	0,135	0,0378	739	24	436	04	56	84	619	718
	28		45		79	4								
F003	-	0,0281	-	-	-	-	0,079	0,0593	0,083	0,0574	0,088	0,0544	0,093	0,051
	0,145	7	0,140	0,0317	0,135	0,0353	152	33	58		328	15	518	471
	13		22	7	84	9								
F005	-	0,0317	-	-	-	-	0,076	0,0545	0,080	0,0531	0,086	0,0519	0,092	0,050
	0,146	1	0,141	0,0359	0,137	0,0391	113	16	898	56	653	04	811	357
	48		85	2	08	7								
F006	-	0,0304	-	-	-	-	0,085	0,0601	0,087	0,0567	0,091	0,0535	0,096	0,050
	0,149	7	0,144	0,0348	0,140	0,0389	302	39	629	65	432	03	106	514
	59		53	2	01	9								
F007	-	0,0309	-	-	-	-	0,079	0,0590	0,084	0,0557	0,088	0,0514	0,093	0,047
	0,147	6	0,142	0,0351	0,137	0,0382	841	95	161	63	628	9	271	101
	26		63	1	7	1								
F008	-	0,0311	-	-	-	-	0,077	0,0608	0,080	0,0571	0,084	0,0537	0,090	0,051
	0,142	6	0,137	0,0353	0,133	0,0398	011	18	296	6	662	99	104	382
	98		58	9	09									
F009	-	0,0312	-	-	-	-	0,081	0,0577	0,085	0,0551	0,090	0,0525	0,095	0,050
	0,144	8	0,138	0,0351	0,133	0,0386	681	39	605	91	213	44	644	889
	72		88	4	53	9								
F010	-	0,0297	-	-	-	-	0,074	0,0622	0,080	0,0605	0,085	0,0570	0,091	0,054
	0,144	2	0,139	0,0334	0,135	0,0372	865	71	023	73	043	11	216	855
	33		52	7	48	9								
F011	-	0,0313	-	-	-	-	0,086	0,0606	0,090	0,0584	0,093	0,0542	0,097	0,051
	0,147	8	0,143	0,0357	0,138	0,0394	74	15	81	29	481	4	553	353
	73		25		96	6								
F012	-	0,0295	-	-	-	-	0,083	0,0604	0,087	0,0567	0,090	0,0520	0,095	0,048
	0,145	1	0,140	-0,033	0,135	0,0363	973	87	568	6	962	32	274	132
	7		6		96	6								
F013	-	0,0298	-	-	-	-	0,078	0,0574	0,083	0,0559	0,089	0,0543	0,095	0,053
	0,146	4	0,142	0,0334	0,137	0,0364	956	83	718	35	211	6	178	206
	78		24	4	79	9								
F014	-	0,0294	-	-	-	-	0,076	0,0573	0,080	0,0548	0,085	0,0521	0,090	0,048
	0,146	8	0,141	0,0333	0,137	0,0372	526	96	821	45	981	54	597	087
	69		64	3	19									
F015	-	0,0309	-	-	-	-	0,079	0,0539	0,083	0,0515	0,088	0,0488	0,094	0,045
	0,150	5	0,145	0,0350	-0,14	0,0389	006	29	458	52	691	8	217	736
	36		02	8		6								

F016	- 0,147 24	- 0,0284 4	- 0,142 2	- 0,0319 8	- 0,137 48	- 0,0351 8	0,075 482	0,0501 39	0,080 384	0,0502 48	0,086 104	0,0505 19	0,092 293	0,050 603
F017	- 0,149 32	- 0,0333 6	- 0,143 45	- 0,0378 9	- 0,137 79	- 0,0421	0,085 258	0,0505 45	0,089 152	0,0487 27	0,093 477	0,0467 76	0,096 938	0,043 162
F019	- 0,143 56	- 0,0314 5	- 0,138 17	- 0,0352 6	- 0,133 18	- 0,0385 8	0,084 785	0,0615 62	0,089 279	0,0595 99	0,094 069	0,0568 38	0,098 712	0,053 329
F020	- 0,145 92	- 0,0292 1	- 0,140 99	- 0,0325 4	- 0,136 38	- 0,0354 8	0,088 479	0,0578 9	0,092 193	0,0553 39	0,096 79	0,0533 38	0,101 787	0,051 53
F021	- 0,144 65	- 0,0286 1	- 0,139 84	- 0,0323 3	- 0,135 39	- 0,0356 8	0,076 895	0,0559 58	0,081 463	0,0536 33	0,086 314	0,0503 49	0,091 169	0,046 392
F022	- 0,142 57	- 0,0309 2	- 0,137 66	- 0,0348 5	- 0,132 78	- 0,0377 4	0,087 386	0,0595 38	0,089 81	0,0557 18	0,093 377	0,0523 4	0,098 181	0,050 101
F025	- 0,145 83	- 0,0293	- 0,141 22	- 0,0333 1	- 0,136 89	- 0,0368 3	0,085 448	0,0563 56	0,088 926	0,0532 51	0,093 152	0,0501 2	0,097 582	0,046 806
F026	- 0,149 07	- 0,0291 8	- 0,144 34	- 0,0324 5	- 0,139 97	- 0,0355 2	0,080 928	0,0542 57	0,084 589	0,0510 55	0,088 385	0,0472 32	0,092 588	0,044 022
F028	- 0,144 23	- 0,0287 8	- 0,139 89	- 0,0327 9	- 0,135 58	- 0,0360 8	0,077 667	0,0633 06	0,082 884	0,0627 3	0,088 487	0,0604 04	0,094 544	0,057 74
F029	- 0,144 83	- 0,0320 3	- 0,139 7	- 0,0360 1	- 0,134 51	- 0,0391 6	0,077 757	0,0602 15	0,081 872	0,0567 16	0,086 115	0,0521 36	0,089 897	0,046 907
F030	- 0,148 24	- 0,0308 6	- 0,143 71	- 0,0346 3	- 0,139 35	- 0,0378	0,077 884	0,0587 26	0,081 027	0,0543 55	0,084 672	0,0495 2	0,089 185	0,045 23
F032	- 0,142 56	- 0,0318 7	- 0,137 8	- 0,0355 8	- 0,133 47	- 0,0389 7	0,081 504	0,0640 97	0,086 411	0,0621 65	0,091 615	0,0591 63	0,096 805	0,055 484
F033	- 0,145 47	- 0,0299 5	- 0,140 91	- 0,0334 1	- 0,136 64	- 0,0365 6	0,082 554	0,0586 09	0,086 866	0,0569 32	0,091 192	0,0538 17	0,095 764	0,050 434
F034	- 0,144 16	- 0,0310 5	- 0,139 47	- 0,0346 8	- 0,134 93	- 0,0376 2	0,073 232	0,0575 75	0,078 088	0,0550 73	0,083 971	0,0527 22	0,090 409	0,050 639
F035	- 0,148 32	- 0,0305 9	- 0,144 07	- 0,0348	- 0,139 93	- 0,0385 6	0,075 782	0,0563 03	0,078 078	0,0518 17	0,082 435	0,0482 09	0,087 603	0,044 703
F037	- 0,147 56	- 0,0301	- 0,143 18	- 0,0336 3	- 0,139 18	- 0,0370 8	0,078 913	0,0566 06	0,083 258	0,0540 64	0,088 178	0,0510 97	0,093 739	0,048 683
F038	- 0,147 79	- 0,0278 3	- 0,143 38	- 0,0314 6	- 0,139 39	- 0,0349 3	0,074 393	0,0606 89	0,078 406	0,0583 85	0,083 558	0,0561 69	0,088 572	0,052 664
F041	- 0,144 87	- 0,0311 6	- 0,139 88	- 0,0349 1	- 0,135 3	- 0,0384	0,080 16	0,0617 57	0,084 338	0,0582 92	0,088 688	0,0539 37	0,093 952	0,050 191
F047	- 0,147 31	- 0,0276 7	- 0,142 48	- 0,0320 7	- 0,137 87	- 0,0360 6	0,088 128	0,0609 18	0,091 422	0,0586 7	0,095 614	0,0563 04	0,099 942	0,053 607
F049	- 0,149 59	- 0,0291 8	- 0,144 67	- 0,0332 4	- 0,139 97	- 0,0371	0,092 823	0,0576 7	0,095 373	0,0546 24	0,098 368	0,0513 1	0,101 192	0,047 54

F051	- 0,142	- 0,0300 7	- 0,135 73	- 0,0339 8	- 0,130 02	- 0,0374	0,084 989	0,0530 99	0,087 783	0,0516 84	0,091 499	0,0504 82	0,095 626	0,048 776
F056	- 0,144 48	- 0,0304 2	- 0,139 18	- 0,0337 6	- 0,134 42	-0,037	0,080 832	0,0620 4	0,085 199	0,0598 89	0,089 94	0,0570 79	0,094 721	0,054 041
F058	- 0,142 69	- 0,0306 4	- 0,137 25	- 0,0351 1	- 0,132 04	- 0,0389 5	0,088 862	0,0548 92	0,091 494	0,0520 58	0,095 088	0,0495 61	0,098 81	0,046 588
F060	- 0,144 57	- 0,0296 6	- 0,139 76	- 0,0341 7	- 0,135 3	- 0,0383 4	0,088 434	0,0588 95	0,091 384	0,0558 76	0,095 051	0,0529 83	0,097 807	0,048 904
F062	- 0,142 33	- 0,0313 8	- 0,136 83	- 0,0351	- 0,131 75	- 0,0383 3	0,081 525	0,0544 09	0,085 16	0,0513 64	0,089 523	0,0481 84	0,094 116	0,044 765
F063	- 0,143 72	- 0,0316	- 0,138 25	- 0,0353 6	- 0,133 25	- 0,0388 4	0,083 521	0,0574 05	0,087 821	0,0553 54	0,092 022	0,0520 18	0,095 985	0,047 926
F068	- 0,141 61	- 0,0301 2	- 0,135 82	- 0,0351 6	- 0,130 2	- 0,0395 1	0,079 493	0,0596 46	0,083 947	0,0588 14	0,088 468	0,0564 38	0,093 026	0,053 15
F069	- 0,142 95	- 0,0314 7	- 0,137 88	- 0,0358 4	- 0,132 94	- 0,0394 5	0,079 183	0,0574 74	0,083 318	0,0544 34	0,087 81	0,0506 38	0,092 363	0,046 399
F073	- 0,144 39	- 0,0337 3	- 0,138 25	- 0,0373 4	- 0,133 07	- 0,0410 9	0,089 051	0,0501 25	0,091 898	0,0483 79	0,094 383	0,0455 83	0,097 62	0,043 108
F076	- 0,141 98	- 0,0333 6	- 0,136 53	- 0,0377 9	- 0,131 79	- 0,0419 1	0,081 542	0,0609 79	0,085 026	0,0576 75	0,088 852	0,0537 8	0,093 198	0,049 926
F077	- 0,145 95	- 0,0293 3	- 0,140 93	- 0,0334 6	- 0,136 32	- 0,0372 8	0,082 2	0,0557 92	0,085 339	0,0535 17	0,089 748	0,0525 98	0,094 061	0,050 145
F078	- 0,150 17	- 0,0289 9	- 0,146 16	- 0,0332 3	- 0,142 48	- 0,0368 7	0,091 068	0,0501 74	0,092 402	0,0473 57	0,094 773	0,0444 36	0,097 583	0,041 412
F082	- 0,146 25	-0,03	- 0,141 19	- 0,0338 7	- 0,136 51	- 0,0372 9	0,087 608	0,0591 37	0,090 699	0,0563 43	0,094 443	0,0534 14	0,098 999	0,051 111
F083	- 0,142 5	- 0,0308	- 0,136 35	- 0,0347	- 0,130 57	- 0,0381 4	0,083 727	0,0526 13	0,086 579	0,0501 55	0,090 036	0,0469 49	0,094 007	0,043 844
F084	- 0,142 43	- 0,0310 9	- 0,136 42	- 0,0348 3	- 0,130 8	- 0,0381 9	0,085 768	0,0527 7	0,089 446	0,0507 33	0,093 543	0,0483 6	0,097 933	0,045 99
F086	- 0,145 44	- 0,0300 6	- 0,140 09	- 0,0339 9	- 0,135 19	- 0,0376	0,086 018	0,0541 2	0,088 853	0,0506 51	0,092 682	0,0474 38	0,096 979	0,044 395
F090	- 0,153 28	- 0,0301 6	- 0,149 49	- 0,0345 7	- 0,145 91	- 0,0387 6	0,090 562	0,0523 19	0,093 507	0,0495 99	0,097 206	0,0469 32	0,100 922	0,043 8
F092	- 0,151 24	- 0,0294 2	- 0,147 53	- 0,0336	- 0,143 83	- 0,0372 7	0,098 048	0,0543 79	0,100 29	0,0511 51	0,102 835	0,0475 62	0,105 348	0,043 763
F093	- 0,150 07	-0,03	- 0,144 98	- 0,0339 9	- 0,139 62	- 0,0373 6	0,099 801	0,0555 86	0,100 027	0,0518 48	0,100 797	0,0477 19	0,101 68	0,043 558
F094	- 0,148 86	- 0,0287 1	- 0,143 06	- 0,0320 9	- 0,137 55	- 0,0354 2	0,094 79	0,0512 05	0,098 04	0,0488 94	0,101 549	0,0462 29	0,105 202	0,043 753

F123	- 0,142 64	- 0,0331 4	- 0,136 46	- 0,0373 2	- 0,130 99	- 0,0415	0,079 773	0,0591 44	0,083 635	0,0563 23	0,087 764	0,0527 7	0,092 332	0,049 234
F124	- 0,145 19	- 0,0315 6	- 0,138 99	- 0,0353 2	- 0,132 99	- 0,0382 3	0,084 183	0,0468 8	0,087 337	0,0445 54	0,090 558	0,0415 96	0,094 471	0,039 196
F126	- 0,142 1	- 0,0326 2	- 0,136 39	- 0,0368 3	- 0,131	- 0,0403 9	0,082 506	0,0508 32	0,086 685	0,0479 43	0,091 169	0,0443 58	0,096 243	0,041 211
F127	- 0,140 69	- 0,0314	- 0,134 71	- 0,0355 7	- 0,129 18	- 0,0392 2	0,080 411	0,0602 49	0,084 513	0,0578 85	0,088 877	0,0545 55	0,093 818	0,051 329
F128	- 0,145 08	- 0,0319 1	- 0,139 89	- 0,0356 5	- 0,134 96	- 0,0389 5	0,088 599	0,0571 65	0,091 829	0,0541 78	0,095 538	0,0509 79	0,099 876	0,048 237
F129	- 0,141 9	- 0,0316 2	- 0,135 68	- 0,0356 7	- 0,130 18	- 0,0396 3	0,079 948	0,0523 92	0,084 165	0,0504 01	0,088 427	0,0474 14	0,093 559	0,045 553
F130	- 0,141 22	- 0,0323 2	- 0,134 9	- 0,0365 7	- 0,128 82	- 0,0400 4	0,087 703	0,0582 01	0,090 493	0,0545 96	0,094 191	0,0510 74	0,098 241	0,047 561
F134	- 0,142 07	- 0,0327	- 0,134 85	- 0,0365 6	- 0,128 47	- 0,0404 5	0,084 864	0,0506 49	0,088 342	0,0484 71	0,092 236	0,0457 4	0,096 597	0,043 176
F135	- 0,142 89	- 0,0314 4	- 0,136 98	- 0,0347 7	- 0,131 5	- 0,0378 5	0,086 276	0,0570 44	0,090 174	0,0544 77	0,094 477	0,0514 88	0,098 868	0,048 227
F137	- 0,143 3	- 0,0319 4	- 0,137 78	- 0,0363 1	- 0,132 62	- 0,0398 9	0,083 636	0,0501 27	0,087 378	0,0477	0,091 488	0,0447 51	0,095 718	0,041 578
F138	- 0,144 63	- 0,0328 4	- 0,138 2	- 0,0366 1	- 0,132 7	- 0,0404 7	0,090 145	0,0554 68	0,093 695	0,0531 78	0,097 411	0,0501 43	0,101 689	0,047 418
F139	- 0,142 27	- 0,0311 8	- 0,136 64	- 0,0344 8	- 0,131 49	- 0,0375 3	0,085 47	0,0601 18	0,089 315	0,0571 99	0,093 814	0,0541 25	0,098 2	0,050 448
F140	- 0,143 89	- 0,0326	- 0,137 82	- 0,0367 8	- 0,131 85	- 0,0401 2	0,084 569	0,0551 65	0,087 737	0,0520 63	0,091 492	0,0487 9	0,095 952	0,046 014
F141	- 0,144 43	- 0,0326 3	- 0,138 6	- 0,0367 4	- 0,133 16	- 0,0403	0,080 765	0,0526 8	0,084 183	0,0495 05	0,088 046	0,0459 65	0,092 849	0,043 261
F142	- 0,144 87	- 0,0308 8	- 0,138 88	- 0,0349 1	- 0,133 09	- 0,0383 4	0,084 008	0,0547 95	0,087 335	0,0521 95	0,090 732	0,0489 63	0,094 793	0,046 376
F143	- 0,144 31	- 0,0295 2	- 0,138 22	- 0,0334 9	- 0,132 57	- 0,0371 3	0,083 281	0,0539 27	0,086 677	0,0515 44	0,090 629	0,0489 62	0,094 921	0,046 299
F144	- 0,143 82	- 0,0316 3	- 0,137 71	- 0,0354 5	- 0,132 04	- 0,0389 4	0,085 466	0,0500 79	0,088 697	0,0488 21	0,092 63	0,0470 75	0,097 045	0,045 379
F145	- 0,141 44	- 0,0307 6	- 0,135 33	- 0,0347 1	- 0,129 65	- 0,0381 8	0,086 781	0,0542 81	0,090 13	0,0519 63	0,094 036	0,0494 61	0,098 004	0,046 571
F146	- 0,141 83	- 0,0320 8	- 0,135 43	- 0,0365	- 0,129 72	- 0,0407 3	0,087 341	0,0536 86	0,089 176	0,0510 93	0,091 979	0,0483 19	0,095 685	0,045 934
F149	- 0,140 84	- 0,0326	- 0,134 99	- 0,0368 8	- 0,129 14	- 0,0401 2	0,081 905	0,0635 22	0,086 467	0,0614 4	0,091 615	0,0588 32	0,096 778	0,055 438

F172	-	-	-	-	-	-	0,095	0,0589	0,098	0,0560	0,100	0,0527	0,103	0,049
	0,151	0,0286	0,148	0,0324	0,145	0,0361	95	93	093	74	444	84	038	387
F173	-	-	-	-	-	-	0,097	0,0592	0,098	0,0558	0,100	0,0521	0,102	0,049
	0,150	0,0267	0,146	0,0306	0,143	0,0340	592	19	816	56	006	78	026	001
F174	-	-	-	-	-	-	0,088	0,0591	0,091	0,0563	0,095	0,0537	0,098	0,050
	0,147	0,0282	0,143	0,0323	0,139	0,0357	887	16	622	72	062	35	181	249
F175	-	-	-	-	-	-	0,086	0,0556	0,088	0,0518	0,091	0,0483	0,095	0,044
	0,148	0,0315	0,143	0,0360	0,139	0,0401	253	17	335	16	855	53	796	738
F176	-	-	-	-	-	-	0,089	0,0559	0,091	0,0530	0,094	0,0493	0,097	0,045
	0,150	0,0297	0,147	0,0335	0,143	0,0365	129	76	997	51	843	79	732	48
F177	-	-	-	-	-	-	0,095	0,0513	0,097	0,0488	0,099	0,0460	0,101	0,042
	0,148	0,0285	0,144	0,0321	0,141	0,0353	103	3	208	16	518	45	736	928
F178	-	-	-	-	-	-	0,087	0,0585	0,089	0,0546	0,092	0,0512	0,096	0,048
	0,147	0,0275	0,142	0,0322	0,137	0,0360	831	19	258	05	269	02	32	227
F179	-	-	-	-	-	-	0,092	0,0563	0,094	0,0539	0,096	0,0523	0,099	0,049
	0,151	0,0277	0,147	0,0322	0,143	0,0365	72	4	207	7	919	08	69	893
F180	-	-	-	-	-	-	0,094	0,0550	0,096	0,0522	0,099	0,0496	0,103	0,046
	0,143	0,0306	0,138	0,0342	0,133	0,0374	314	07	799	26	982	15	437	951
F181	-	-	-	-	-	-	0,094	0,0553	0,096	0,0520	0,098	0,0484	0,101	0,044
	0,149	0,0319	0,144	0,0365	0,139	0,0406	16	52	255	65	837	62	978	934
F182	-	-	-	-	-	-	0,097	0,0544	0,099	0,0522	0,102	0,0497	0,105	0,046
	0,146	0,0304	0,141	0,0343	0,137	0,0378	11	09	53	84	244	59	016	923
F183	-	-	-	-	-	-	0,095	0,0577	0,095	0,0545	0,095	0,0513	0,098	0,048
	0,148	0,0288	0,145	0,0331	0,141	0,0364	673	73	113	8	627	69	314	939
F184	-	-	-	-	-	-	0,094	0,0604	0,096	0,0573	0,099	0,0545	0,103	0,051
	0,148	0,0296	0,144	0,0335	0,139	0,0374	255	08	548	74	71	41	305	666
F185	-	-	-	-	-	-	0,087	0,0568	0,090	0,0536	0,093	0,0498	0,097	0,047
	0,147	0,0313	0,142	0,0354	0,138	0,0388	697	41	563	58	411	96	367	032
F186	-	-	-	-	-	-	0,087	0,0550	0,090	0,0515	0,093	0,0482	0,098	0,046
	0,147	0,0290	0,142	0,0333	0,137	0,0373	445	47	203	19	843	6	495	04
F187	-	-	-	-	-	-	0,090	0,0571	0,092	0,0541	0,095	0,0512	0,099	0,048
	0,142	0,0324	0,136	0,0362	0,131	0,0396	3	92	558	3	765	05	334	312
F188	-	-	-	-	-	-	0,087	0,0605	0,088	0,0567	0,090	0,0531	0,094	0,050
	0,148	0,0307	0,145	0,0345	0,141	0,0380	42	45	584	25	958	25	704	267
F189	-	-	-	-	-	-	0,085	0,0575	0,087	0,0535	0,090	0,0502	0,094	0,046
	0,148	0,0284	0,144	0,0323	0,140	0,0357	096	66	146	98	921	89	94	604
F190	-	-	-	-	-	-	0,094	0,0541	0,096	0,0506	0,099	0,0470	0,103	0,044
	0,146	0,0325	0,140	0,0372	0,135	0,0410	874	28	889	64	548	55	093	017
F191	-	-	-	-	-	-	0,095	0,0540	0,098	0,0509	0,100	0,0470	0,103	0,043
	0,145	0,0307	0,139	0,0349	0,134	0,0389	444	07	12	01	638	22	507	167

F192	- 0,149 23	- 0,0296 9	- 0,144 97	- 0,0336 9	- 0,140 63	- 0,0372 1	0,094 38	0,0581 4	0,097 498	0,0552 35	0,100 945	0,0519 63	0,104 406	0,048 434
F194	- 0,146 42	- 0,0323 8	- 0,141 12	- 0,0369 9	- 0,135 89	- 0,0410 9	0,093 48	0,0589 79	0,096 821	0,0567 55	0,100 165	0,0536 88	0,104 019	0,050 925
F195	- 0,148 51	- 0,0287	- 0,143 51	- 0,0332 1	- 0,138 08	- 0,0368 2	0,090 999	0,0546 91	0,093 726	0,0512 57	0,096 25	0,0470 02	0,099 508	0,043 014
F196	- 0,145 52	- 0,0338	- 0,140 69	- 0,0386 2	- 0,135 79	- 0,0425 2	0,094 704	0,0551 3	0,097 805	0,0528 06	0,101 669	0,0506 08	0,105 34	0,047 721
F197	- 0,152 06	- 0,0324 2	- 0,147 1	- 0,0371 2	- 0,142 23	- 0,0415 5	0,103 303	0,0526 49	0,104 959	0,0494 41	0,107 126	0,0461 3	0,108 501	0,042 344
F198	- 0,149 69	- 0,0287 1	- 0,144 42	- 0,0325 7	- 0,139 63	- 0,0364 4	0,093 779	0,0493 09	0,096 025	0,0463 55	0,099 008	0,0434 85	0,102 039	0,040 35
F199	- 0,151 37	- 0,0301	- 0,145 73	- 0,0336 2	- 0,140 48	- 0,0373 5	0,089 726	0,0551 17	0,092 694	0,0517 59	0,096 121	0,0480 58	0,099 676	0,044 222
F200	- 0,149 79	- 0,0295	- 0,145 3	- 0,0334	- 0,140 83	- 0,0370 9	0,093 26	0,0571 07	0,096 989	0,0547 02	0,100 862	0,0515 83	0,104 576	0,047 949
F201	- 0,152 4	- 0,0292 7	- 0,148 48	- 0,0334 8	- 0,144 38	- 0,0371 2	0,100 778	0,0493 64	0,103 216	0,0460 71	0,105 908	0,0424 34	0,108 655	0,038 752
F203	- 0,149 55	- 0,0321 3	- 0,144 61	- 0,0353 3	- 0,140 03	- 0,0385 5	0,095 794	0,0599 54	0,098 655	0,0567 3	0,102 287	0,0535 4	0,105 321	0,049 518
F204	- 0,146 1	- 0,0321 6	- 0,140 93	- 0,0363	- 0,136 33	- 0,0403	0,092 118	0,0580 36	0,094 601	0,0545 4	0,096 973	0,0502 91	0,100 458	0,046 532
F205	- 0,148 34	- 0,0298 1	- 0,143 28	- 0,0335 7	- 0,138 55	- 0,0373 5	0,092 052	0,0552 54	0,095 276	0,0522 49	0,099 056	0,0491 03	0,102 892	0,045 787
F206	- 0,147 48	- 0,0314 8	- 0,142 03	- 0,0354 2	- 0,137 2	- 0,0395 1	0,089 672	0,0574 67	0,092 908	0,0539 48	0,096 334	0,0498 01	0,099 516	0,045 242
F207	- 0,147 23	- 0,0319	- 0,142 07	- 0,0357 5	- 0,136 92	- 0,0388 3	0,094 006	0,0533 97	0,096 526	0,0504 97	0,099 358	0,0470 04	0,102 76	0,043 687
F208	- 0,149 37	- 0,0328 3	- 0,143 9	- 0,0368 1	- 0,138 93	- 0,0407 4	0,093 448	0,0573 65	0,097 141	0,0555 22	0,101 201	0,0535 24	0,104 527	0,050 293
F209	- 0,149 24	- 0,0293 7	- 0,144 04	- 0,0334	- 0,139 12	- 0,0374 4	0,095 35	0,0561 73	0,097 541	0,0525 44	0,099 673	0,0483 91	0,103 112	0,045 054
F210	- 0,156 97	- 0,0291 7	- 0,153 74	- 0,0332 4	- 0,150 22	- 0,0368 1	0,094 602	0,0541 95	0,097 956	0,0516 04	0,101 428	0,0483 84	0,104 631	0,044 616
F211	- 0,150 23	- 0,0291 4	- 0,146 04	- 0,0335 8	- 0,141 74	- 0,0374 7	0,099 517	0,0524 47	0,102 521	0,0501 03	0,105 031	0,0467 54	0,107 554	0,043 196
F212	- 0,151 59	- 0,0304 9	- 0,147 05	- 0,0346 9	- 0,142 7	- 0,0381 3	0,101 912	0,0552 67	0,103 45	0,0528 08	0,104 227	0,0490 91	0,105 536	0,045 278
F213	- 0,149 6	- 0,0364 9	- 0,145 31	- 0,0411 5	- 0,141 67	- 0,0453 3	0,092 093	0,0531 97	0,095 4	0,0504 32	0,098 847	0,0470 01	0,102 328	0,043 354

F241	0,105 352	0,0369 84	0,107 501	0,0327 45	0,110 358	0,0288 54	0,112 796	0,0245 39	0,115 844	0,0204 04	0,119 095	0,0160 44	0,122 393	0,011 617
F242	0,105 023	0,0289	0,108 697	0,0263 6	0,112 724	0,0241 9	0,116 957	0,0223 41	0,120 674	0,0196 34	0,124 436	0,0168 72	0,127 818	0,014 051
F243	0,107 807	0,0372 44	0,110 521	0,0331 46	0,113 862	0,0294 37	0,116 84	0,0252 87	0,119 828	0,0209 73	0,122 396	0,0161 35	0,125 611	0,011 687
F244	0,108 23	0,0387 4	0,110 137	0,0349 67	0,112 428	0,0310 81	0,114 545	0,0268 12	0,117 503	0,0227 41	0,120 49	0,0182 19	0,123 573	0,013 566
F245	0,104 505	0,0483 19	0,108 276	0,0441 36	0,112 477	0,0401 9	0,116 496	0,0358 56	0,120 426	0,0312 11	0,123 764	0,0257 17	0,127 449	0,020 278
F246	0,107 769	0,0495 46	0,111 555	0,0459 02	0,115 443	0,0422 98	0,119 561	0,0389 11	0,122 737	0,0344 82	0,126 011	0,0296 57	0,128 383	0,024 076
F247	0,106 008	0,0415 82	0,108 615	0,0377 8	0,111 539	0,0339 92	0,114 826	0,0302 43	0,118 147	0,0263 02	0,121 225	0,0218 14	0,124 13	0,017 06
F248	0,108 066	0,0381 91	0,110 307	0,0341 17	0,113 323	0,0304 04	0,116 348	0,0265 05	0,118 691	0,0219 61	0,121 6	0,0174	0,124 65	0,012 821
F249	0,102 36	0,0408 74	0,106 023	0,0373 16	0,109 669	0,0335 68	0,112 707	0,0291 08	0,116 635	0,0251 11	0,120 575	0,0206 65	0,124 515	0,016 098
F250	0,106 682	0,0427 99	0,109 673	0,0390 09	0,112 581	0,0349 49	0,115 798	0,0309 14	0,118 374	0,0262 19	0,120 517	0,0208 52	0,123 328	0,015 57
F251	0,109 946	0,0451 79	0,113 027	0,0410 35	0,116 433	0,0368 98	0,119 619	0,0323 7	0,122 439	0,0273 73	0,125 794	0,0223 93	0,129 49	0,017 67
F252	0,111 403	0,0351 48	0,113 791	0,0314 57	0,116 198	0,0277 25	0,118 736	0,0240 08	0,120 712	0,0198 4	0,123 253	0,0157 28	0,125 348	0,011 33
F253	0,110 976	0,0394 89	0,113 467	0,0362 81	0,115 376	0,0326 61	0,116 424	0,0284 8	0,118 43	0,0243 31	0,120 235	0,0196 41	0,121 822	0,014 621
F254	0,108 626	0,0432 21	0,111 561	0,0392 82	0,114 813	0,0353 91	0,118 075	0,0312 98	0,120 96	0,0267 3	0,123 535	0,0216 25	0,126 897	0,016 883
Individual	X36	Y36	X37	Y37	X38	Y38	X39	Y39	X40	Y40	X41	Y41	X42	Y42
F001	0,133 228	0,0196 75	0,135 46	0,0126 61	0,137 603	0,0054 66	0,139 478	0,0017 7	0,140 428	- 0,0089 9	0,140 053	- 0,0160 8	0,137 905	- 0,022 93
F003	0,131 608	0,0176 47	0,134 662	0,0110 84	0,136 926	0,0043 32	0,137 335	- 0,0028 2	0,137 402	- 0,0101	0,137 055	- 0,0173 3	0,135 833	- 0,024 43
F005	0,134 176	0,0180 59	0,136 469	0,0110 72	0,138 813	0,0040 54	0,139 704	- 0,0032 6	0,140 076	- 0,0105 6	0,139 049	- 0,0177 2	0,136 924	- 0,024 71
F006	0,135 13	0,0196 84	0,137 723	0,0137 71	0,138 077	0,0071 78	0,139 247	0,0005 35	0,138 688	- 0,0061 3	0,136 437	- 0,0127 2	0,134 158	- 0,019 54
F007	0,137 158	0,0164 13	0,140 433	0,0104 81	0,141 697	0,0039 01	0,142 456	- 0,0028 3	0,141 676	- 0,0095 6	0,139 668	- 0,0162 4	0,137 143	- 0,022 92
F008	0,131 273	0,0195 81	0,135 203	0,0133 71	0,137 455	0,0065 38	0,138 527	- 0,0006 4	0,138 683	- 0,0079	0,137 263	- 0,0151 2	0,136 031	- 0,022 49
F009	0,133 713	0,0165 01	0,136 04	0,0102 08	0,137 929	0,0037 66	0,138 475	- 0,0029 1	0,138 681	- 0,0095 9	0,138 251	- 0,0161 3	0,136 624	- 0,022 44
F010	0,137 687	0,0248 68	0,140 288	0,0171 45	0,141 845	0,0089 75	0,142 656	0,0006 35	0,141 225	- 0,0077 6	0,139 622	- 0,0163 6	0,137 494	- 0,024 89
F011	0,134 118	0,0208 73	0,135 707	0,0142 22	0,136 65	0,0072 07	0,136 36	-9,9E- 05	0,135 852	- 0,0075 2	0,134 451	- 0,0148 8	0,132 93	- 0,022 21
F012	0,135 759	0,0203 89	0,139 247	0,0135 89	0,141 8	0,0066 45	0,142 083	- 0,0006 8	0,140 971	- 0,0081 1	0,138 671	- 0,0154 7	0,136 2	- 0,022 89

F013	0,133 546	0,0205 36	0,135 169	0,0129 21	0,136 214	0,0049 93	0,137 752	- 0,0028 7	0,139 067	- 0,0105 1	0,138 041	- 0,0180 4	0,136 442	- 0,025 55
F014	0,133 494	0,0218 99	0,136 165	0,0151 55	0,138 111	0,0079 87	0,138 919	0,0004 44	0,138 718	- 0,0072 6	0,137 571	-0,015	0,135 893	- 0,022 73
F015	0,140 246	0,0183 42	0,142 532	0,0121 96	0,144 691	0,0060 61	0,145 505	- 0,0002 2	0,144 712	- 0,0065 2	0,142 255	- 0,0126 8	0,138 844	- 0,018 84
F016	0,139 654	0,0223 59	0,142 496	0,0159 08	0,144 004	0,0088 82	0,144 537	0,0015 54	0,144 065	- 0,0058 6	0,141 988	- 0,0131 9	0,139 323	- 0,020 59
F017	0,130 833	0,0168 03	0,132 374	0,0110 18	0,133 363	0,0050 06	0,134 658	- 0,0008 5	0,136 543	- 0,0062 2	0,135 832	- 0,0117	0,134 967	- 0,017 36
F019	0,131 091	0,0154 73	0,133 564	0,0095 88	0,134 338	0,0032	0,134 119	- 0,0034 8	0,133 622	- 0,0102 9	0,132 923	- 0,0171 1	0,132 037	- 0,023 88
F020	0,132 111	0,0192 86	0,133 075	0,0124 21	0,133 873	0,0053 1	0,133 725	- 0,0019 8	0,133 383	- 0,0092 8	0,132 52	- 0,0164 4	0,132 19	- 0,023 44
F021	0,136 447	0,0168 59	0,139 594	0,0110 67	0,140 513	0,0045 35	0,141 191	- 0,0022 4	0,141 623	- 0,0089 6	0,140 017	- 0,0155 5	0,138 279	- 0,022 3
F022	0,134 733	0,0179 5	0,136 384	0,0114 94	0,137 846	0,0048 73	0,137 974	- 0,0019 1	0,136 712	- 0,0087 2	0,135 26	- 0,0156 2	0,133 072	- 0,022 37
F025	0,131 856	0,0162 02	0,133 527	0,0104 2	0,134 923	0,0044 72	0,136 01	- 0,0014 8	0,135 353	- 0,0075 1	0,134 549	- 0,0136 5	0,132 506	- 0,019 61
F026	0,132 93	0,0181 36	0,135 652	0,0118 68	0,137 291	0,0051 47	0,138 339	- 0,0017 8	0,138 805	- 0,0087 1	0,138 072	- 0,0155 8	0,137 208	- 0,022 37
F028	0,138 156	0,0208 82	0,140 28	0,0135 97	0,141 19	0,0058 58	0,141 718	- 0,0020 3	0,140 735	- 0,0098 7	0,138 389	- 0,0175 9	0,136 153	- 0,025 4
F029	0,135 658	0,0148 17	0,138 539	0,0087 33	0,140 399	0,0022 49	0,140 659	- 0,0046	0,140 323	- 0,0115 8	0,139 234	- 0,0185 4	0,137 826	- 0,025 45
F030	0,134 827	0,0176 97	0,137 84	0,0116 19	0,139 436	0,0049 54	0,140 134	- 0,0020 5	0,140 396	- 0,0091 5	0,139 756	- 0,0162 3	0,138 666	- 0,023 24
F032	0,134 342	0,0150 05	0,136 628	0,0077 93	0,138 05	0,0003 7	0,138 833	- 0,0070 8	0,139 5	- 0,0142 8	0,138 401	- 0,0212	0,137 085	- 0,027 94
F033	0,131 965	0,0205 91	0,132 988	0,0135 18	0,133 788	0,0060 52	0,133 988	- 0,0016 8	0,134 033	- 0,0094 9	0,133 919	- 0,0172 2	0,133 039	- 0,024 78
F034	0,134 881	0,0207 84	0,138 403	0,0140 49	0,139 91	0,0064 64	0,140 831	- 0,0014 7	0,140 67	- 0,0095 6	0,140 013	- 0,0176 6	0,138 427	- 0,025 64
F035	0,133 575	0,0174 03	0,137 279	0,0113 76	0,140 009	0,0049 59	0,141 674	- 0,0017 5	0,142 228	- 0,0085 8	0,141 543	- 0,0154 4	0,140 366	- 0,022 3
F037	0,132 816	0,0178 08	0,135 115	0,0109 15	0,136 803	0,0037 53	0,137 629	- 0,0036	0,138 744	- 0,0107 9	0,138 763	- 0,0178 2	0,137 417	- 0,024 62
F038	0,131 811	0,0193 77	0,135 817	0,0130 13	0,137 849	0,0058 59	0,139 031	- 0,0016 5	0,139 755	- 0,0091 9	0,138 67	- 0,0167 1	0,137 356	- 0,024 32

F041	0,136 316	0,0181 69	0,138 153	0,0118 85	0,139 08	0,0051 6	0,139 999	- 0,0015 8	0,138 479	- 0,0083 1	0,136 452	- 0,0152 9	0,134 376	- 0,022 48
F047	0,129 925	0,0192 76	0,131 902	0,0131 41	0,133 78	0,0069 43	0,134 782	0,0006 53	0,134 406	- 0,0057	0,134 713	- 0,0119 8	0,133 69	- 0,018 1
F049	0,129 21	0,0126 76	0,132 478	0,0077 03	0,134 737	0,0025 59	0,135 717	- 0,0028 1	0,136 239	- 0,0081 4	0,135 72	0,0133 7	0,135 342	- 0,018 54
F051	0,131 727	0,0232 98	0,134 963	0,0175 91	0,136 898	0,0113 68	0,138 533	0,0050 96	0,138 683	- 0,0013 1	0,137 303	- 0,0077 5	0,135 223	- 0,014 29
F056	0,134 981	0,0223 32	0,137 221	0,0160 41	0,138 573	0,0092	0,138 875	0,002	0,138 158	- 0,0054	0,136 863	0,0129 1	0,134 487	- 0,020 35
F058	0,134 309	0,0191 81	0,136 787	0,0136 58	0,138 581	0,0079 61	0,139 437	0,0021 48	0,140 224	- 0,0034 9	0,139 833	- 0,0088 2	0,137 122	- 0,013 66
F060	0,130 901	0,0153 63	0,134 366	0,0107 14	0,135 756	0,0053 6	0,136 088	- 0,0003 7	0,136 101	- 0,0062 4	0,135 869	0,0121 2	0,135 629	- 0,017 97
F062	0,132 599	0,0146 08	0,136 157	0,0095 96	0,138 292	0,0042 36	0,139 231	- 0,0011 8	0,137 774	- 0,0066 6	0,135 86	- 0,0125	0,133 35	- 0,018 45
F063	0,129 527	0,0132 81	0,131 773	0,0071 31	0,133 342	0,0007 51	0,134 842	- 0,0055 6	0,135 138	- 0,0118 9	0,135 696	- 0,0179 8	0,136 142	- 0,023 69
F068	0,133 484	0,0149 48	0,137 675	0,0094 33	0,140 947	0,0039 3	0,142 454	- 0,0018 5	0,142 148	- 0,0078 1	0,140 52	- 0,0138 5	0,138 543	- 0,020 09
F069	0,132 131	0,0118 75	0,134 983	0,0061 97	0,137 29	0,0003 43	0,139 159	- 0,0054 7	0,140 518	- 0,0111	0,140 532	0,0165 2	0,138 46	- 0,021 69
F073	0,126 541	0,0150 92	0,129 503	0,0101 69	0,131 8	0,0051 74	0,134 692	0,0009 51	0,135 738	- 0,0037 9	0,136 591	- 0,0084 5	0,136 315	- 0,013 04
F076	0,132 91	0,0165 94	0,135 146	0,0106 37	0,136 921	0,0043 54	0,138 279	- 0,0019 9	0,138 582	- 0,0084	0,138 676	0,0146 8	0,137 55	- 0,020 75
F077	0,130 908	0,0177 68	0,134 03	0,0118 23	0,137 357	0,0063 12	0,138 643	0,0002 45	0,139 354	- 0,0059 3	0,139 447	0,0120 3	0,138 896	- 0,017 96
F078	0,128 401	0,0178 86	0,130 733	0,0129 55	0,132 399	0,0077 35	0,134 467	0,0027 96	0,134 594	- 0,0024 9	0,134 077	- 0,0080 2	0,133 621	- 0,013 7
F082	0,135 628	0,0231 82	0,137 218	0,0169 15	0,137 768	0,0101 8	0,137 053	0,0031 19	0,136 035	- 0,0041 6	0,134 526	0,0114 8	0,131 793	- 0,018 59
F083	0,131 54	0,0204 08	0,133 736	0,0142 6	0,136 429	0,0083 34	0,137 097	0,0018 93	0,136 84	- 0,0048 1	0,135 9	- 0,0115 7	0,133 867	- 0,018 27
F084	0,129 048	0,0165 21	0,131 24	0,0105 63	0,132 861	0,0043 87	0,134 046	- 0,0018 6	0,134 674	- 0,0080 8	0,135 137	- 0,0140 9	0,134 175	- 0,019 89
F086	0,131 981	0,0181 22	0,134 385	0,0123 72	0,135 614	0,0061 84	0,136 574	- 0,0001 3	0,136 539	- 0,0065 1	0,136 368	- 0,0128 4	0,134 869	- 0,018 98
F090	0,131 727	0,0146 76	0,133 41	0,0095 35	0,134 599	0,0041 95	0,134 775	- 0,0013 4	0,134 329	- 0,0069 5	0,133 293	- 0,0125 4	0,132 217	- 0,018 16

F092	0,128 961	0,0139 51	0,130 107	0,0086 09	0,131 31	0,0032 26	0,131 632	- 0,0022 9	0,131 702	- 0,0077 9	0,131 292	- 0,0132	0,130 915	- 0,018 5
F093	0,127 105	0,0152 61	0,129 211	0,0105 4	0,131 183	0,0058 22	0,131 638	0,0007 11	0,131 739	- 0,0045 6	0,130 809	- 0,0098 9	0,129 946	- 0,015 4
F094	0,126 526	0,0122 02	0,128 876	0,0073 77	0,130 335	0,0022 41	0,130 954	- 0,0030 9	0,131 175	- 0,0084 6	0,130 953	- 0,0137 6	0,130 09	- 0,018 97
F095	0,126 892	0,0088 14	0,128 776	0,0037 47	0,129 657	- 0,0015 5	0,131 281	- 0,0065 4	0,132 701	- 0,0113 2	0,133 036	- 0,0159 2	0,131 631	- 0,020 34
F096	0,130 147	0,0185 47	0,132 05	0,0126 51	0,133 645	0,0065 86	0,134 219	0,0002 86	0,134 076	- 0,0061 1	0,133 164	- 0,0125 3	0,132 129	- 0,019 01
F097	0,130 68	0,0157 28	0,132 973	0,0102 45	0,134 782	0,0046 09	0,135 912	- 0,0010 6	0,135 551	- 0,0068 3	0,135 443	- 0,0126 1	0,133 826	- 0,018 23
F098	0,133 827	0,0157 39	0,135 94	0,0104 21	0,137 868	0,0051 34	0,137 974	- 0,0004 7	0,138 037	- 0,0061 6	0,136 547	- 0,0117 4	0,134 57	- 0,017 42
F099	0,130 089	0,0192 84	0,133 296	0,0118 84	0,135 532	0,0041 72	0,137 574	- 0,0034 4	0,137 907	- 0,0111 7	0,138 122	- 0,0187 6	0,138 093	- 0,026 11
F100	0,134 004	0,0171 69	0,136 195	0,0107 23	0,137 793	0,0040 56	0,138 957	- 0,0026 4	0,138 763	- 0,0093 6	0,138 03	- 0,0159 8	0,135 553	- 0,022 23
F101	0,136 188	0,0213 68	0,137 629	0,0152 64	0,137 676	0,0086 32	0,137 769	0,0016 91	0,136 618	- 0,0053 3	0,135 735	- 0,0125	0,133 839	- 0,019 49
F102	0,134 246	0,0162 15	0,136 898	0,0091 01	0,138 371	0,0017 68	0,139 263	- 0,0055 1	0,140 665	- 0,0123 5	0,140 213	- 0,0188 4	0,137 665	- 0,024 96
F103	0,137 338	0,0215 75	0,138 583	0,0148 7	0,138 774	0,0075	0,139 147	- 0,0002 6	0,138 926	- 0,0081 7	0,138 229	- 0,0160 8	0,137 215	- 0,023 86
F104	0,135 667	0,0193 38	0,137 168	0,0129 28	0,139 02	0,0064 95	0,139 025	- 0,0002 7	0,138 409	- 0,0071 4	0,136 008	- 0,0138 3	0,133 449	- 0,020 75
F106	0,126 581	0,0175 11	0,129 367	0,0123 09	0,131 836	0,0068 78	0,133 902	0,0013 08	0,135 594	- 0,0042 5	0,136 222	- 0,0098 7	0,136 118	- 0,015 48
F107	0,132 362	0,0161 76	0,134 427	0,0108 42	0,135 92	0,0051 62	0,136 955	- 0,0006 8	0,137 546	- 0,0065 4	0,137 298	- 0,0123	0,135 527	- 0,017 89
F108	0,131 123	0,0186 53	0,133 87	0,0126 9	0,135 673	0,0062 76	0,137 308	- 0,0002 2	0,138 664	- 0,0066 1	0,138 289	- 0,0130 4	0,137 782	- 0,019 48
F114	0,131 22	0,0161 87	0,133 411	0,0107 67	0,134 507	0,0049 36	0,135 462	- 0,0009 8	0,136 069	- 0,0068 1	0,134 786	- 0,0125 1	0,132 866	- 0,018 28
F115	0,132 997	0,0194 37	0,134 877	0,0138 85	0,136 807	0,0081 79	0,137 371	0,0020 71	0,137 52	- 0,0042	0,137 086	- 0,0104 8	0,135 584	- 0,016 67
F116	0,131 802	0,0171 45	0,134 604	0,0114 31	0,137 079	0,0057 21	0,138 5	-7,3E- 05	0,137 847	- 0,0060 7	0,136 806	- 0,0122 6	0,135 177	- 0,018 49
F117	0,131 568	0,0160 97	0,134 679	0,0104 76	0,137 377	0,0048 05	0,138 987	- 0,0009 8	0,138 573	-0,007	0,137 579	- 0,0131 8	0,135 631	- 0,019 33

F118	0,129 874	0,0137 31	0,132 452	0,0071 89	0,134 484	0,0005 32	0,135 086	- 0,0063 7	0,136 374	- 0,0130 2	0,136 761	- 0,0195 1	0,136 222	- 0,025 76
F120	0,129 809	0,0156 77	0,132 425	0,0101 11	0,134 477	0,0044 3	0,135 004	- 0,0015 9	0,135 325	- 0,0076 4	0,134 895	- 0,0136 1	0,133 445	- 0,019 42
F122	0,130 904	0,0158 35	0,133 494	0,0101 09	0,135 213	0,0041 58	0,135 789	- 0,0020 1	0,135 519	- 0,0082 3	0,134 25	- 0,0144 2	0,132 282	- 0,020 59
F123	0,130 75	0,0162 3	0,133 462	0,0104 09	0,135 009	0,0041 43	0,136 6	- 0,0020 5	0,136 358	- 0,0084 3	0,135 996	- 0,0148 6	0,134 256	- 0,021 16
F124	0,126 211	0,0137 05	0,129 174	0,0087 74	0,132 074	0,0039 92	0,133 945	- 0,0010 6	0,135 069	- 0,0062	0,136 33	- 0,0110 5	0,135 854	- 0,015 96
F126	0,131 516	0,0173 36	0,133 505	0,0113 11	0,135 681	0,0052 55	0,136 515	- 0,0011 5	0,137 129	- 0,0075 6	0,137 316	- 0,0138 1	0,135 638	- 0,019 83
F127	0,134 446	0,0222 03	0,137 085	0,0158 53	0,138 045	0,0089 13	0,138 347	- 0,0016 98	0,137 778	- 0,0055 8	0,138 196	- 0,0127 9	0,137 336	- 0,019 79
F128	0,130 757	0,0163 4	0,132 902	0,0106 57	0,134 548	0,0049 08	0,134 282	- 0,0011 6	0,134 174	- 0,0074	0,133 176	- 0,0136 1	0,131 981	- 0,019 85
F129	0,133 041	0,0212 95	0,135 564	0,0150 87	0,137 273	0,0084 78	0,138 164	- 0,0015 86	0,138 872	- 0,0053 2	0,138 668	- 0,0121 5	0,137 038	- 0,018 82
F130	0,130 524	0,0157 52	0,132 464	0,0101 02	0,133 797	0,0042 83	0,133 576	- 0,0018	0,133 061	- 0,0080 3	0,132 129	- 0,0142 8	0,130 679	- 0,020 47
F134	0,129 323	0,0175 22	0,131 524	0,0122 13	0,133 437	0,0067 3	0,134 266	- 0,0009 36	0,134 47	- 0,0049 8	0,133 983	- 0,0109 1	0,132 368	- 0,016 77
F135	0,129 576	0,0161 56	0,131 966	0,0101 87	0,133 76	0,0040 8	0,134 083	- 0,0023 1	0,134 194	- 0,0087 5	0,133 008	- 0,0150 9	0,131 595	- 0,021 47
F137	0,129 431	0,0138 8	0,132 926	0,0094 15	0,134 667	0,0042 14	0,136 038	- 0,0010 9	0,135 841	- 0,0066	0,135 504	- 0,0122 3	0,134 41	- 0,017 84
F138	0,131 712	0,0155 6	0,133 065	0,0102 79	0,133 316	0,0045 5	0,134 123	- 0,0012 8	0,134 104	- 0,0071 8	0,133 43	- 0,0130 6	0,132 43	- 0,018 89
F139	0,132 981	0,0157 17	0,134 923	0,0098 36	0,136 016	0,0036 67	0,135 666	- 0,0027 5	0,135 659	- 0,0092 6	0,134 479	- 0,0156 9	0,132 711	- 0,022 08
F140	0,131 286	0,0175 47	0,134 312	0,0122 35	0,135 877	0,0064 81	0,135 992	- 0,0003 38	0,136 093	- 0,0059 3	0,134 956	- 0,0121 8	0,133 575	- 0,018 53
F141	0,130 771	0,0138 72	0,133 652	0,0081 26	0,135 928	0,0022 33	0,137 105	- 0,0038 9	0,138 178	- 0,0098 8	0,138 362	- 0,0157 6	0,137 438	- 0,021 48
F142	0,126 796	0,0161 97	0,129 601	0,0104 73	0,131 768	0,0045 23	0,133 161	- 0,0015 9	0,133 453	- 0,0078 3	0,133 637	- 0,0140 3	0,132 998	- 0,020 16
F143	0,131 624	0,0213 43	0,134 113	0,0154 16	0,135 863	0,0091 51	0,137 897	- 0,0030 04	0,139 281	- 0,0031 4	0,139 452	- 0,0092 8	0,138 196	- 0,015 35
F144	0,128 753	0,0170 6	0,130 563	0,0113 27	0,132 931	0,0057 41	0,134 5	-3,5E- 05	0,134 857	- 0,0059 9	0,134 665	- 0,0119 7	0,133 408	- 0,017 87

F145	0,128 123	0,0165 91	0,130 098	0,0106 27	0,132 606	0,0049 22	0,133 861	- 0,0010 4	0,134 114	- 0,0071 3	0,134 148	- 0,0131 6	0,132 872	- 0,019 07
F146	0,127 684	0,0187 44	0,129 732	0,0131 49	0,131 153	0,0072 16	0,132 65	0,0012 5	0,133 688	- 0,0047	0,133 371	- 0,0106 8	0,133 221	- 0,016 63
F149	0,136 877	0,0193 25	0,139 433	0,0128 35	0,140 207	0,0058 9	0,139 739	- 0,0013 3	0,137 987	- 0,0086	0,136 204	- 0,0160 4	0,134 639	- 0,023 56
F150	0,132 349	0,0167 54	0,134 665	0,0104 82	0,136 539	0,0041 46	0,137 137	- 0,0023 7	0,137 416	- 0,0087 4	0,135 476	- 0,0148 7	0,133 633	- 0,021 24
F151	0,128 933	0,0148 96	0,131 111	0,0083 77	0,132 963	0,0018 17	0,133 212	-0,005	0,133 464	- 0,0118 2	0,133 141	- 0,0185 2	0,132 196	- 0,025 05
F152	0,128 86	0,0157 69	0,131 235	0,0099 65	0,132 775	0,0039 22	0,133 137	- 0,0023 6	0,133 365	- 0,0086 7	0,133 109	- 0,0149 1	0,132 941	- 0,021 03
F153	0,128 442	0,0137 59	0,131 146	0,0086 31	0,133 089	0,0033 08	0,134 646	- 0,0019 6	0,134 811	- 0,0073 2	0,133 895	- 0,0127 3	0,132 907	- 0,018 25
F155	0,130 065	0,0192 94	0,132 261	0,0148 92	0,134 087	0,0105 09	0,133 802	0,0056 77	0,134 87	0,0007 62	0,135 005	- 0,0043 6	0,134 452	- 0,009 64
F156	0,120 223	0,0166 48	0,123 533	0,0123 16	0,126 026	0,0077 09	0,127 058	0,0025 71	0,128 421	- 0,0025 4	0,129 282	- 0,0076 6	0,129 235	- 0,012 89
F157	0,128 188	0,0162 57	0,132 005	0,0106 09	0,135 235	0,0048 32	0,137 299	- 0,0012 6	0,138 485	- 0,0074 7	0,139 231	- 0,0135 4	0,138 195	- 0,019 57
F158	0,126 103	0,0117 05	0,128 619	0,0071 05	0,129 925	0,0020 62	0,131 014	- 0,0030 6	0,132 305	- 0,0080 1	0,132 131	- 0,0130 2	0,131 852	- 0,018 08
F159	0,131 004	0,0170 92	0,133 394	0,0112 98	0,134 779	0,0050 71	0,135 859	- 0,0013 1	0,136 64	- 0,0076 3	0,135 78	- 0,0139 2	0,134 749	- 0,020 27
F161	0,136 56	0,0162 96	0,139 195	0,0092 17	0,140 858	0,0018 97	0,140 966	- 0,0056 2	0,140 595	- 0,0131	0,138 767	- 0,0203 3	0,136 78	- 0,027 47
F162	0,133 314	0,0188 14	0,134 902	0,0136 38	0,136 602	0,0084 39	0,137 102	0,0030 26	0,136 166	- 0,0025 3	0,135 094	- 0,0083	0,133 77	- 0,014 13
F163	0,130 453	0,0187 31	0,132 496	0,0131 1	0,132 712	0,0069 53	0,133 458	0,0006 17	0,132 871	- 0,0058 1	0,131 35	- 0,0123	0,129 787	- 0,018 94
F164	0,130 105	0,0119 04	0,130 819	0,0063 09	0,132 415	0,0006 32	0,133 548	- 0,0052 2	0,134 412	- 0,0110 4	0,134 609	- 0,0167 6	0,134 418	- 0,022 31
F165	0,132 162	0,0165 06	0,133 468	0,0111 11	0,135 309	0,0057 91	0,136 26	0,0003 06	0,136 057	- 0,0052 9	0,135 197	- 0,0109 4	0,134 345	- 0,016 61
F166	0,134 149	0,0143 31	0,135 635	0,0077 51	0,137 004	0,0009 86	0,138 157	- 0,0057 1	0,137 436	- 0,0123 6	0,135 786	- 0,0189 5	0,134 129	- 0,025 55
F167	0,130 055	0,0185 82	0,131 311	0,0123 46	0,133 028	0,0060 45	0,133 788	- 0,0004 9	0,133 654	- 0,0071 3	0,133 366	- 0,0137 5	0,133 249	- 0,020 3
F168	0,132 196	0,0256 63	0,133 24	0,0196 47	0,132 645	0,0131 85	0,133 204	0,0063 89	0,132 375	- 0,0005 9	0,132 499	- 0,0077 4	0,131 275	- 0,014 89

F169	0,130 507	0,0218 08	0,131 76	0,0155 34	0,132 107	0,0088 85	0,132 124	0,0020 03	0,131 745	- 0,0049 6	0,130 6	- 0,0119 1	0,129 749	- 0,018 92
F170	0,135 77	0,0189 11	0,138 161	0,0120 06	0,139 578	0,0047 79	0,139 708	- 0,0027	0,138 953	- 0,0102 2	0,137 357	- 0,0176 4	0,134 931	- 0,024 87
F171	0,129 058	0,0175 62	0,131 401	0,0128 62	0,133 801	0,0084 16	0,134 192	0,0034 88	0,133 679	- 0,0017 5	0,133 126	- 0,0072 1	0,132 582	- 0,012 83
F172	0,129 11	0,0181 46	0,131 67	0,0131 21	0,133 302	0,0078 36	0,134 014	0,0023 45	0,134 173	- 0,0032 5	0,133 769	- 0,0088 6	0,132 713	- 0,014 51
F173	0,131 858	0,0212 39	0,133 486	0,0155 43	0,134 05	0,0095 2	0,133 663	0,0032 89	0,133 918	- -0,003	0,133 663	- 0,0091 6	0,132 107	- 0,015
F174	0,128 427	0,0135 43	0,132 482	0,0089 78	0,135 419	0,0042 61	0,136 543	- 0,0009 4	0,138 392	- 0,0057 1	0,138 681	- 0,0105	0,137 531	- 0,015 34
F175	0,129 506	0,0167 89	0,132 445	0,0117 23	0,133 931	0,0060 24	0,135 141	0,0001 27	0,136 385	- 0,0057 1	0,136 295	- 0,0116	0,135 35	- 0,017 53
F176	0,128 674	0,0198 88	0,130 032	0,0141 44	0,131 676	0,0082 85	0,132 564	0,0022 21	0,132 365	- 0,0039 6	0,132 121	- 0,0101 1	0,133 084	- 0,016 1
F177	0,126 496	0,0153 95	0,128 922	0,0108 26	0,130 668	0,0060 95	0,131 855	0,0013 42	0,131 857	- 0,0035 6	0,131 697	- 0,0085	0,130 834	- 0,013 44
F178	0,132 081	0,0185 81	0,133 634	0,0122 41	0,136 234	0,0062 65	0,136 96	- 0,0001 6	0,137 662	- 0,0065 7	0,137 33	- 0,0128 5	0,137 65	- 0,018 85
F179	0,127 611	0,0199 18	0,130 607	0,0150 41	0,132 237	0,0096 7	0,133 115	0,0040 7	0,133	- 0,0017 1	0,132 792	- 0,0075 6	0,131 595	- 0,013 39
F180	0,130 499	0,0181 96	0,131 187	0,0128 39	0,132 328	0,0073 51	0,132 171	0,0016 13	0,131 746	- 0,0042 8	0,131 406	- 0,0102 3	0,130 702	- 0,016 17
F181	0,129 009	0,0153 39	0,129 447	0,0102 4	0,129 115	0,0051 42	0,131 142	0,0004 72	0,131 597	- 0,0046 5	0,133 329	- 0,0093 6	0,133 151	- 0,014 23
F182	0,128 086	0,0180 48	0,129 573	0,013	0,130 762	0,0078 1	0,130 918	0,0024 35	0,130 232	- 0,0030 5	0,129 816	- 0,0086 6	0,129 107	- 0,014 29
F183	0,130 316	0,0234 51	0,132 024	0,0177 16	0,132 766	0,0115 22	0,134 434	0,0053 87	0,134 46	- -0,001	0,133 369	- 0,0075 6	0,132 456	- 0,014 34
F184	0,132 655	0,0196 93	0,134 354	0,0137 57	0,135 79	0,0077 44	0,136 161	0,0015 97	0,135 709	- 0,0045 8	0,134 033	- 0,0106 6	0,131 836	- 0,016 79
F185	0,129 888	0,0181 25	0,132 169	0,0123 54	0,133 092	0,0061 49	0,133 257	- 0,0003 2	0,133 69	- 0,0068 2	0,133 246	- 0,0132 7	0,132 038	- 0,019 63
F186	0,134 098	0,0200 62	0,135 93	0,0143 92	0,136 196	0,0081 21	0,137 009	0,0016 8	0,136 425	- 0,0048 4	0,134 74	- 0,0113 8	0,132 217	- 0,017 87
F187	0,127 513	0,0162 6	0,129 901	0,0102 36	0,131 56	0,0040 22	0,132 22	- 0,0023 7	0,132 954	- 0,0086 7	0,132 754	- 0,0148 4	0,132 616	- 0,020 83
F188	0,130 645	0,0199 33	0,132 805	0,0136 97	0,135 244	0,0075 25	0,136 114	0,0009 67	0,136 221	- 0,0057 6	0,135 428	- 0,0125 1	0,134 451	- 0,019 32

F189	0,131 421	0,0177 13	0,133 867	0,0121 41	0,135 775	0,0063 23	0,136 791	0,0003 38	0,136 308	- 0,0058	0,135 876	- 0,0120 4	0,133 932	- 0,018 12
F190	0,129 089	0,0144 58	0,130 803	0,0091 3	0,131 505	0,0034 76	0,132 083	- 0,0022 7	0,131 513	- 0,0080 3	0,130 78	- 0,0138 1	0,129 437	- 0,019 46
F191	0,127 688	0,0105 86	0,129 787	0,0057 4	0,131 523	0,0008 87	0,132 712	- 0,0039 3	0,132 684	- 0,0088 1	0,132 21	- 0,0136 7	0,131 613	- 0,018 49
F192	0,128 543	0,0118 39	0,130 515	0,0060 59	0,132 473	0,0004 14	0,133 596	- 0,0052 6	0,134 071	- 0,0108 4	0,133 937	- 0,0162 3	0,132 642	- 0,021 37
F194	0,127 837	0,0150 63	0,130 081	0,0092 78	0,131 68	0,0033 68	0,132 515	- 0,0025 6	0,131 761	- 0,0085 1	0,131 53	- 0,0145 1	0,130 13	- 0,020 34
F195	0,127 953	0,0085 92	0,130 221	0,0032 49	0,132 022	- 0,0021 3	0,133 781	- 0,0072 5	0,134 132	- 0,0124 4	0,134 4	- 0,0174 8	0,133 992	- 0,022 33
F196	0,129 026	0,0127 28	0,131 33	0,0073 77	0,132 106	0,0016 81	0,132 72	- 0,0040 5	0,132 673	- 0,0096 9	0,131 673	- 0,0151 3	0,129 397	- 0,020 26
F197	0,121 675	0,0090 68	0,123 968	0,0045 44	0,125 577	- 0,0001 7	0,127 112	- 0,0047 7	0,128 492	- 0,0091 7	0,129 407	- 0,0133 8	0,129 734	- 0,017 4
F198	0,126 202	0,0088 98	0,128 727	0,0043 65	0,131 049	5,27E- 06	0,132 551	- 0,0043 9	0,133 601	- 0,0086 3	0,133 625	- 0,0126 6	0,132 098	- 0,016 49
F199	0,125 629	0,0087 92	0,128 459	0,0037 16	0,130 95	- 0,0012 4	0,131 873	- 0,0065 6	0,132 925	- 0,0117 3	0,133 664	- 0,0167 2	0,134 399	- 0,021 38
F200	0,130 533	0,0098 67	0,132 958	0,0043 27	0,133 619	- 0,0015 8	0,134 705	- 0,0073 8	0,134 982	- 0,0130 4	0,134 046	- 0,0184 9	0,133 535	- 0,023 76
F201	0,128 472	0,0096 71	0,129 502	0,0051 23	0,129 883	0,0004 5	0,129 863	- 0,0042 2	0,128 704	- 0,0087 4	0,127 247	- 0,0132	0,126 865	- 0,017 87
F203	0,129 655	0,0118 28	0,131 052	0,0059 14	0,132 41	1,5E- 05	0,133 093	- 0,0058 7	0,132 465	- 0,0117	0,131 915	- 0,0174 8	0,131 346	- 0,023 13
F204	0,129 887	0,0113 44	0,132 349	0,0060 65	0,134 522	0,0010 25	0,134 534	- 0,0043 5	0,134 475	- 0,0098 2	0,133 353	- 0,0151 7	0,132 794	- 0,020 57
F205	0,126 863	0,0109 57	0,129 022	0,0055 02	0,130 422	-8,4E- 05	0,130 592	- 0,0058 4	0,130 83	- 0,0115 6	0,130 849	- 0,0171 4	0,130 091	- 0,022 54
F206	0,129 025	0,0104 45	0,131 332	0,0051 03	0,133 308	- 0,0001 9	0,133 815	- 0,0057 2	0,134 163	- 0,0112 3	0,133 916	- 0,0165 7	0,132 389	- 0,021 67
F207	0,128 353	0,0119 6	0,130 396	0,0069 85	0,132 294	0,0022 2	0,132 192	- 0,0028 5	0,131 989	- 0,0080 4	0,130 549	- 0,0131 4	0,129 099	- 0,018 39
F208	0,124 997	0,0134 38	0,127 452	0,0076 91	0,129 468	0,0018 75	0,130 684	- 0,0040 2	0,130 843	- 0,0099 2	0,130 211	- 0,0157 3	0,129 068	- 0,021 41
F209	0,127 853	0,0108 02	0,129 936	0,0056 29	0,130 749	0,0001 46	0,131 856	- 0,0052 2	0,131 548	- 0,0105 9	0,130 85	- 0,0159 1	0,130 741	- 0,021 18
F210	0,129 076	0,0099 34	0,131 815	0,0053 61	0,133 078	0,0004 31	0,133 16	- 0,0047 1	0,132 531	- 0,0099 1	0,132 111	- 0,0151 3	0,131 716	- 0,020 28

F211	0,125 694	0,0107 39	0,127 481	0,0065 32	0,128 267	0,0018 43	0,129 212	- 0,0029 1	0,129 312	- 0,0077 6	0,129 396	- 0,0126 1	0,129 51	- 0,017 42
F212	0,128 248	0,0124 26	0,130 59	0,0075 75	0,132 369	0,0028 59	0,131 958	- 0,0021 4	0,132 195	- 0,0072 6	0,130 868	- 0,0122 6	0,129 282	- 0,017 38
F213	0,128 336	0,0087 97	0,129 877	0,0032 68	0,131 497	- 0,0020 5	0,133 744	- 0,0068 3	0,134 66	- 0,0116	0,134 021	- 0,0163 7	0,133 432	- 0,021 1
F214	0,126 167	0,0084 79	0,128 751	0,0042 33	0,130 407	7,88E- 05	0,129 779	- 0,0043 4	0,130 207	- 0,0088 4	0,130 589	- 0,0131 8	0,129 039	- 0,017 27
F215	0,131 732	0,0132 04	0,133 604	0,0073 33	0,135 483	0,0014 12	0,136 11	- 0,0047 1	0,135 974	- 0,0108 7	0,136 064	- 0,0168 9	0,134 125	- 0,022 59
F216	0,129 261	0,0111 33	0,131 323	0,0057 49	0,131 761	5,58E- 05	0,132 537	- 0,0055 7	0,131 738	- 0,0111 3	0,131 399	- 0,0166 8	0,129 407	- 0,021 86
F217	0,129 504	0,0117 06	0,131 332	0,0063 17	0,132 376	0,0007 62	0,132 358	- 0,0049 2	0,132 43	- 0,0105 9	0,132 287	- 0,0161 1	0,131 061	- 0,021 43
F218	0,127 453	0,0157 05	0,129 412	0,0103 08	0,130 827	0,0048 63	0,130 408	- 0,0008	0,129 607	- 0,0066 3	0,129 041	- 0,0125 3	0,127 903	- 0,018 36
F219	0,128 442	0,0130 49	0,129 629	0,0079 14	0,129 658	0,0025 13	0,129 434	- 0,0030 6	0,129 159	- 0,0086 5	0,128 271	- 0,0141 4	0,127 522	- 0,019 58
F220	0,131 415	0,0152 41	0,133	0,0104 63	0,132 798	0,0051 66	0,132 593	- 0,0005 1	0,132 144	- 0,0063 6	0,131 087	- 0,0122 3	0,129 948	- 0,018 15
F221	0,129 167	0,0086 53	0,130 795	0,0040 15	0,132 468	- 0,0004 4	0,133 797	- 0,0047	0,133 651	- 0,0089 8	0,133 234	- 0,0131 8	0,133 337	- 0,017 23
F222	0,132 304	0,0143 52	0,133 741	0,0094 25	0,134 312	0,0041 69	0,133 821	- 0,0013	0,134 083	- 0,0068 7	0,132 995	- 0,0123 6	0,131 634	- 0,017 93
F223	0,129 472	0,0107 29	0,131 913	0,0063 42	0,133 297	0,0017 59	0,133 593	- 0,0029 9	0,133 954	- 0,0076 8	0,133 666	- 0,0122 7	0,132 781	- 0,016 74
F224	0,128 866	0,0089 06	0,131 031	0,0042 66	0,132 93	- 0,0001 9	0,134 617	- 0,0041 6	0,133 822	- 0,0083	0,133 872	- 0,0126 8	0,132 573	- 0,016 97
F225	0,126 984	0,0137 67	0,129 092	0,0074 88	0,130 525	0,0010 66	0,131 665	- 0,0052 8	0,133 351	- 0,0112 1	0,133 213	- 0,0170 4	0,132 131	- 0,022 78
F226	0,131 567	0,0183 64	0,132 333	0,0124 84	0,132 399	0,0062 36	0,132 314	- 0,0002 5	0,131 664	- 0,0068	0,130 912	- 0,0133 5	0,129 689	- 0,019 78
F227	0,126 325	0,0103 5	0,129 262	0,0049 95	0,131 141	- 0,0005 8	0,131 84	- 0,0063 3	0,131 883	- 0,0120 8	0,131 372	- 0,0177 4	0,130 448	- 0,023 25
F229	0,128 222	0,0144 34	0,129 501	0,0088 04	0,130 262	0,0029 25	0,131 011	- 0,0030 1	0,130 592	- 0,0089 9	0,130 129	- 0,0149 8	0,129 131	- 0,020 87
F230	0,129 619	0,0114 85	0,132 049	0,0057 8	0,132 855	- 0,0003 8	0,133 692	- 0,0065 9	0,133 549	- 0,0127 8	0,133 638	- 0,0188 2	0,132 084	- 0,024 54
F231	0,127 705	0,0096 43	0,130 216	0,0046 35	0,131 746	- 0,0005 6	0,132 801	- 0,0057 4	0,133 643	- 0,0107 1	0,133 277	- 0,0155 4	0,132 768	- 0,020 22

F232	0,127 367	0,0140 29	0,129 732	0,0086 82	0,131 319	0,0030 95	0,132 14	- 0,0026 3	0,132 879	- 0,0082 5	0,133 038	- 0,0136 5	0,131 398	- 0,018 81
F233	0,130 739	0,0118 43	0,133 063	0,0067 46	0,133 32	0,0011 21	0,134 458	- 0,0044 6	0,134 729	- 0,0100 5	0,133 938	- 0,0155 5	0,133 131	- 0,021
F234	0,129 998	0,0123 88	0,131 935	0,0079 07	0,132 814	0,0031 98	0,132 516	- 0,0016 9	0,133 043	- 0,0065 4	0,132 565	- 0,0113	0,131 054	- 0,015 88
F235	0,130 633	0,0132 34	0,131 869	0,0074 32	0,132 303	0,0014 25	0,133 229	- 0,0045	0,133 53	- 0,0102 8	0,132 119	- 0,0158 6	0,130 816	- 0,021 54
F236	0,127 464	0,0076 98	0,130 323	0,0032 99	0,132 229	- 0,0012 4	0,133 236	- 0,0058 3	0,133 96	- 0,0101 5	0,132 669	- 0,0142 8	0,132 41	- 0,018 72
F237	0,131 85	0,0104 82	0,133 12	0,0055 74	0,134 196	0,0004 61	0,134 226	- 0,0048 4	0,134 227	- 0,0101 6	0,133 058	- 0,0153 4	0,131 662	- 0,020 55
F238	0,132 298	0,0142 24	0,135 273	0,0092 03	0,136 189	0,0035 48	0,136 669	- 0,0023 4	0,136 204	- 0,0082 9	0,135 009	- 0,0142 4	0,133 208	- 0,020 13
F239	0,128 933	0,0137 86	0,131 774	0,0084 71	0,132 333	0,0024 7	0,133 136	- 0,0036 6	0,133 025	- 0,0097 9	0,131 455	- 0,0158 1	0,130 306	- 0,022 01
F240	0,129 925	0,0093 92	0,132 692	0,0042 13	0,134 075	- 0,0012 5	0,134 338	- 0,0068 7	0,135 028	- 0,0123 3	0,135 173	- 0,0175 8	0,134 153	- 0,022 61
F241	0,125 464	0,0071 8	0,127 854	0,0025 19	0,130 265	- 0,0018 6	0,132 155	- 0,0061 1	0,132 684	- 0,0104	0,131 791	- 0,0147 2	0,131 751	- 0,019 19
F242	0,129 471	0,0101 5	0,130 454	0,0057 83	0,132 299	0,0016 8	0,132 827	- 0,0027 5	0,133 181	- 0,0071 6	0,133 591	- 0,0112 9	0,131 842	- 0,015 06
F243	0,128 411	0,0072 26	0,130 555	0,0027 63	0,131 908	- 0,0014 5	0,130 575	- 0,0057 7	0,130 084	- 0,0105 7	0,129 843	- 0,0155	0,128 566	- 0,020 32
F244	0,125 777	0,0084 63	0,127 687	0,0032 65	0,129 159	- 0,0019 4	0,131 054	- 0,0067 8	0,132 593	- 0,0114 2	0,133 406	- 0,0158 4	0,133 14	- 0,020 06
F245	0,130 658	0,0146 75	0,132 56	0,0085 77	0,133 292	0,0021 49	0,133 273	- 0,0044 5	0,133 24	- 0,0110 6	0,132 644	- 0,0175 7	0,131 557	- 0,023 92
F246	0,130 468	0,0181 88	0,131 322	0,0118 01	0,131 709	0,0051 44	0,131 639	- 0,0016 6	0,130 962	- 0,0084 8	0,129 549	- 0,0152	0,128 018	- 0,021 9
F247	0,127 232	0,0126 15	0,129 615	0,0080 47	0,130 481	0,0030 23	0,131 367	- 0,0020 4	0,131 949	- 0,0070 9	0,132 558	- 0,0119 8	0,132 502	- 0,016 77
F248	0,127 63	0,0084 11	0,130 37	0,0041 87	0,131 993	- 0,0002 9	0,132 931	- 0,0047 9	0,133 193	- 0,0092 4	0,133 412	- 0,0135 1	0,132 356	- 0,017 57
F249	0,127 939	0,0113 37	0,130 933	0,0066 16	0,132 344	0,0014 48	0,132 534	- 0,0039 9	0,133 046	- 0,0093 7	0,134 079	- 0,0145 2	0,134 221	- 0,019 56
F250	0,125 612	0,0100 69	0,128 768	0,0051 7	0,130 886	-8,3E- 06	0,131 941	- 0,0053 7	0,132 65	- 0,0106 1	0,133 378	- 0,0154 8	0,131 97	- 0,020 08
F251	0,132 661	0,0130 99	0,133 414	0,0076 64	0,134 427	0,0020 9	0,134 004	- 0,0036 4	0,133 297	- 0,0094 4	0,131 625	- 0,0151	0,129 951	- 0,020 79

F252	0,127 854	0,0073 44	0,128 873	0,0028 66	0,130 006	- 0,0015 7	0,130 947	- 0,0059 1	0,131 291	- 0,0101 4	0,130 822	- 0,0141 9	0,129 963	- 0,018 07
F253	0,123 303	0,0095 12	0,125 429	0,0046 89	0,127 681	9,63E- 05	0,128 961	- 0,0046 1	0,129 666	- 0,0091 5	0,128 644	- 0,0135 3	0,128 894	- 0,018 01
F254	0,129 059	0,0115 74	0,131 328	0,0064 23	0,132 483	0,0011 27	0,134 482	- 0,0035 8	0,134 457	- 0,0083 8	0,133 094	- 0,0132 4	0,131 513	- 0,018 26
Individual	X43	Y43	X44	Y44	X45	Y45	X46	Y46	X47	Y47	X48	Y48	X49	Y49
F001	0,135 244	- 0,0296 4	0,131 673	- 0,0360 1	0,127 792	- 0,0420 5	0,123 925	- 0,0480 4	0,119 896	- 0,0534 9	0,115 482	- 0,0578 6	0,111 911	- 0,062 05
F003	0,133 762	- 0,0311 8	0,130 834	- 0,0376	0,127 76	- 0,0437 2	0,124 762	- 0,0497 4	0,121 76	- 0,0553 6	0,118 441	- 0,0601	0,114 995	- 0,063 96
F005	0,134 819	- 0,0315 7	0,131 874	- 0,0380 1	0,128 664	- 0,0439 5	0,124 274	- 0,0489 2	0,119 436	- 0,0531 9	0,115 157	- 0,0573	0,111 32	- 0,060 9
F006	0,132 187	- 0,0263 7	0,128 412	- 0,0324 8	0,124 621	- 0,0385 7	0,120 24	- 0,0443 4	0,115 45	- 0,0496 2	0,110 112	- 0,0539 4	0,105 335	- 0,058 19
F007	0,133 517	- 0,0290 9	0,129 427	- 0,0351 4	0,125 421	- 0,0410 2	0,121 044	- 0,0464 8	0,116 173	- 0,0510 3	0,112 009	- 0,0554	0,108 184	- 0,059 08
F008	0,134 139	- 0,0295 8	0,131 373	- 0,0363 6	0,128 152	- 0,0427 2	0,124 695	- 0,0488 5	0,120 015	- 0,0539 3	0,115 807	- 0,0590 2	0,111 861	- 0,063 61
F009	0,134 092	- 0,0283 9	0,130 444	- 0,0339	0,126 097	- 0,0389 7	0,121 521	- 0,0440 9	0,116 807	- 0,0490 4	0,112 165	- 0,0536 5	0,107 301	- 0,057 35
F010	0,134 05	- 0,0328 6	0,129 888	- 0,0405 3	0,125 132	- 0,0475 5	0,119 403	- 0,0537 7	0,113 257	- 0,0592 7	0,107 987	- 0,0648 4	0,102 729	- 0,069 28
F011	0,130 678	- 0,0291 2	0,127 206	- 0,0354 8	0,123 217	- 0,0413 6	0,118 433	- 0,0466 8	0,113 578	- 0,0517 3	0,109 16	- 0,0565 8	0,104 765	- 0,060 45
F012	0,133 267	- 0,0299 1	0,128 638	- 0,0359 1	0,122 97	- 0,0409 8	0,117 119	- 0,0460 1	0,111 677	- 0,0510 8	0,106 856	- 0,0558 8	0,102 653	- 0,060 14
F013	0,134 115	- 0,0326 9	0,130 71	- 0,0393 3	0,126 808	- 0,0454 5	0,122 527	- 0,0511 8	0,117 619	- 0,0559 7	0,112 887	- 0,0601 4	0,108 579	- 0,063 7
F014	0,134 183	- 0,0302 8	0,131 734	- 0,0374 8	0,128 936	- 0,0441 9	0,125 507	- 0,0503 4	0,121 45	- 0,0556 2	0,117 191	- 0,0599 1	0,112 993	- 0,063 24
F015	0,135 046	-0,025	0,130 278	- 0,0308	0,124 724	- 0,0360 1	0,118 904	- 0,0412 6	0,112 871	- 0,0461 8	0,106 665	- 0,0503 1	0,101 288	- 0,054 61
F016	0,135 581	- 0,0275 7	0,130 794	- 0,0341 8	0,125 671	- 0,0405 2	0,119 95	- 0,0464 8	0,114 422	- 0,0523 8	0,108 671	- 0,0573 2	0,102 874	- 0,061 07
F017	0,133 387	- 0,0228 1	0,131 777	- 0,0281 4	0,128 269	- 0,0323 9	0,123 756	- 0,0364 1	0,119 288	- 0,0409 3	0,114 77	- 0,0455 1	0,110 225	- 0,049 73
F019	0,131 139	- 0,0304 2	0,129 341	- 0,0366 1	0,126 835	- 0,0423	0,123 687	- 0,0476 5	0,119 854	- 0,0524 7	0,116 135	- 0,0571 2	0,112 778	- 0,061 52

F020	0,129 968	- 0,0298	0,127 602	- 0,0360 4	0,123 708	- 0,0412 5	0,119 538	- 0,0464	0,115 292	- 0,0513 3	0,111 06	- 0,0557 2	0,106 977	- 0,059 34
F021	0,135 752	- 0,0287 3	0,132 828	-0,035	0,128 99	- 0,0405 4	0,124 611	- 0,0457 1	0,119 54	- 0,0500 6	0,114 604	- 0,0540 8	0,109 896	- 0,057 55
F022	0,129 948	- 0,0286 7	0,126 71	- 0,0349 2	0,123 309	- 0,0407 6	0,118 732	- 0,0456 8	0,114 369	- 0,0505 3	0,109 613	- 0,0543 2	0,105 089	- 0,057 52
F025	0,130 308	- 0,0255 5	0,128 091	- 0,0315 3	0,125 94	- 0,0373 3	0,123 363	- 0,0429 1	0,120 923	- 0,0483 1	0,117 913	-0,053	0,115 187	- 0,057 37
F026	0,134 869	- 0,0286 5	0,132 435	- 0,0348 4	0,128 684	- 0,0401 3	0,125 212	- 0,0456	0,121 548	- 0,0506	0,117 985	- 0,0549 9	0,114 591	- 0,058 71
F028	0,131 868	- 0,0322 7	0,127 184	- 0,0391 7	0,122 244	- 0,0457 3	0,117 128	- 0,0521	0,112 082	- 0,0580 6	0,108 546	- 0,0642 8	0,104 941	- 0,069 46
F029	0,135 893	- 0,0319 9	0,132 854	- 0,0379 6	0,128 877	- 0,0431 6	0,125 362	- 0,0485 8	0,121 73	- 0,0534 3	0,117 826	- 0,0572 1	0,114 771	- 0,060 8
F030	0,137 057	- 0,0299 5	0,134 254	- 0,0361 7	0,130 743	- 0,0418 7	0,127 039	- 0,0474	0,122 796	- 0,0522 1	0,119 599	- 0,0572	0,116 129	- 0,061 27
F032	0,134 449	- 0,0338 8	0,129 815	- 0,0387 5	0,125 261	- 0,0438 7	0,120 751	- 0,0491 5	0,115 869	- 0,0538 4	0,111 461	- 0,0583 3	0,107 418	- 0,062 29
F033	0,132 104	- 0,0320 2	0,130 33	- 0,0387 7	0,126 949	- 0,0445 8	0,123 622	- 0,0504 1	0,119 892	- 0,0556 7	0,116 22	- 0,0603 3	0,113 099	- 0,064 66
F034	0,136 328	- 0,0332 8	0,133 052	- 0,0404 2	0,129 925	- 0,0472 8	0,125 586	- 0,0532 5	0,120 709	- 0,0584 5	0,115 374	- 0,0624 4	0,110 948	- 0,066 51
F035	0,138 247	- 0,0288 5	0,135 286	- 0,0351 4	0,132 04	- 0,0411 3	0,128 452	- 0,0468 8	0,124 59	- 0,0521 3	0,121 057	- 0,0569 8	0,117 508	- 0,061 04
F037	0,134 893	- 0,0309 8	0,131 776	- 0,0371 1	0,128 599	- 0,0429 3	0,124 388	- 0,0479 3	0,120 399	- 0,0527 6	0,116 992	- 0,0573	0,114 266	- 0,061 52
F038	0,135 655	- 0,0317 1	0,133 534	- 0,0388 7	0,130 309	- 0,0453 2	0,127 162	- 0,0517 2	0,123 448	- 0,0574 5	0,120 445	- 0,0629 5	0,117 5	- 0,067 73
F041	0,131 94	- 0,0295 1	0,128 828	- 0,0362 8	0,125 686	- 0,0427 8	0,121 649	- 0,0486 9	0,117 41	- 0,0541 9	0,113 602	- 0,0594	0,110 333	- 0,064 2
F047	0,132 778	- 0,0240 6	0,130 941	- 0,0295 8	0,126 964	- 0,0340 9	0,122 48	- 0,0390 6	0,117 183	- 0,0440 4	0,110 898	- 0,0486 9	0,104 506	- 0,053 26
F049	0,133 373	- 0,0232 3	0,130 194	- 0,0277	0,126 365	- 0,0320 7	0,122 515	- 0,0370 1	0,118 026	- 0,0418 6	0,112 942	- 0,0464 9	0,107 681	- 0,050 93
F051	0,133 901	- 0,0210 7	0,130 714	- 0,0274 3	0,126 95	- 0,0337 6	0,121 989	- 0,0398 5	0,115 833	- 0,0456 2	0,109 249	- 0,0516 5	0,102 702	- 0,057 68
F056	0,131 929	- 0,0277 7	0,128 618	- 0,0350 1	0,124 97	- 0,0419 7	0,120 4	- 0,0485 2	0,115 654	- 0,0549 5	0,111 349	- 0,0613 8	0,107 288	- 0,067 31
F058	0,133 264	- 0,0184 5	0,129 677	- 0,0242 2	0,124 631	- 0,0294 7	0,118 884	- 0,0351 4	0,112 531	- 0,0411 9	0,105 958	- 0,0477 7	0,099 539	- 0,054 46

F060	0,134 995	- 0,0235 9	0,133 142	- 0,0288 8	0,129 87	- 0,0335 7	0,124 711	- 0,0375 7	0,118 996	- 0,0423 4	0,113 343	- 0,0483 5	0,107 606	- 0,054 57
F062	0,131 222	- 0,0246 4	0,129 085	- 0,0309 2	0,126 158	- 0,0367 7	0,123 182	- 0,0426 4	0,120 271	- 0,0483 9	0,117 486	- 0,0538 1	0,114 573	- 0,058 56
F063	0,134 008	- 0,0288 7	0,132 024	- 0,0343 7	0,129 479	- 0,0395 6	0,126 604	- 0,0446 6	0,123 398	- 0,0494 1	0,120 02	- 0,0536 7	0,117 178	- 0,057 79
F068	0,135 4	- -0,026	0,132 576	- 0,0323	0,128 089	- 0,0376 7	0,122 843	- 0,0430 1	0,117 303	- 0,0484 6	0,111 488	- 0,0536 9	0,105 837	- 0,058 65
F069	0,136 771	- 0,0271 6	0,133 928	- 0,0323 3	0,131 447	- 0,0376 8	0,128 346	- 0,0427 8	0,124 806	- 0,0475 5	0,121 579	- 0,0522 3	0,118 465	- 0,056 45
F073	0,134 158	- 0,0174 1	0,131 321	- 0,0221 5	0,128 535	- 0,0274 1	0,125 345	- 0,0331 1	0,120 879	- 0,0387	0,114 783	- 0,0439 5	0,108 622	- 0,049 81
F076	0,135 003	- 0,0264 3	0,131 379	- 0,0319 4	0,127 51	- 0,0375 4	0,123 322	- 0,0433 2	0,118 24	- 0,0486 8	0,112 119	- 0,0533 2	0,105 924	- 0,057 43
F077	0,136 3	- 0,0233 2	0,132 283	- 0,0285	0,127 867	- 0,0338 8	0,123 34	- 0,0398 1	0,118 582	- 0,0459 9	0,113 23	- 0,0518 8	0,108 052	- 0,057 66
F078	0,132 139	- 0,0192 6	0,130 589	- 0,0249 8	0,128 232	- 0,0304 6	0,125 876	- 0,0361 9	0,122 719	- 0,0417 1	0,119 361	- 0,0472 5	0,115 207	- 0,052 16
F082	0,129 391	- 0,0257 8	0,125 578	- 0,0324 2	0,121 813	- 0,0390 1	0,117 547	- 0,0453 2	0,112 054	- 0,0506 4	0,107 206	- 0,0563 3	0,100 929	- 0,059 95
F083	0,131 699	- 0,0249 2	0,128 715	- 0,0312 9	0,125 299	- 0,0372 8	0,121 978	- 0,0432 8	0,118 232	- 0,0487	0,114 634	- 0,0536 2	0,111 526	- 0,058 15
F084	0,131 98	- 0,0253 7	0,129 392	- 0,0308 5	0,126 258	- 0,0360 1	0,123 234	- 0,0413 3	0,119 229	- 0,0459 5	0,115 258	- 0,0504 6	0,111 494	- 0,054 73
F086	0,132 783	- 0,0249 3	0,129 697	- 0,0305 5	0,125 891	- 0,0357 6	0,121 903	- 0,0410 6	0,117 614	- 0,0461 1	0,113 715	- 0,0512 1	0,109 711	- 0,055 71
F090	0,130 755	- 0,0235 6	0,128 797	- 0,0287 1	0,127 459	- 0,0337 5	0,124 287	- 0,0378 7	0,120 374	- 0,0417 4	0,115 889	- 0,0451 7	0,111 515	- 0,048 44
F092	0,129 79	- 0,0234 5	0,127 352	- 0,0279 6	0,124 455	- 0,0322 6	0,121 276	- 0,0365 8	0,117 907	- 0,0408 3	0,114 767	- 0,0451 2	0,111 86	- 0,049 26
F093	0,128 9	- 0,0208 9	0,127 248	- 0,0263 3	0,125 683	- 0,0317 6	0,123 426	- 0,0371 1	0,121 148	- 0,0425 8	0,117 887	- 0,0476 4	0,114 489	- 0,052 59
F094	0,129 249	- 0,0240 4	0,128 121	- 0,0289 3	0,126 897	- 0,0335 2	0,124 79	- 0,0376 8	0,122 521	- 0,0416 2	0,120 193	- 0,0452 1	0,117 955	- 0,048 28
F095	0,130 96	- 0,0249	0,129 817	- 0,0292 9	0,127 891	- 0,0332 5	0,125 719	- 0,0370 5	0,123 042	- 0,0403 2	0,120 631	- 0,0434 1	0,118 369	- 0,046 17
F096	0,130 761	- 0,0253 3	0,128 932	- 0,0315 4	0,126 647	- 0,0374 4	0,123 463	- 0,0430 4	0,119 522	- 0,0482 9	0,115 076	- 0,0532 3	0,111 04	- 0,058 3
F097	0,131 79	- 0,0238 3	0,128 965	- 0,0293 1	0,125 34	- 0,0344 8	0,121 31	- 0,0398	0,117 146	- 0,0453 6	0,112 709	- 0,0508 7	0,108 512	- 0,056 39

F098	0,131 804	- 0,0228 8	0,128 802	- 0,0284 3	0,125 038	- 0,0335 3	0,121 071	- 0,0387 1	0,116 597	- 0,0435 2	0,112 162	- 0,0481 7	0,107 947	- 0,052 57
F099	0,136 532	- 0,0329 2	0,133 162	- 0,0391 7	0,129 105	- 0,0451 4	0,124 107	- 0,0507 6	0,118 052	- 0,0557 1	0,112 36	- 0,0611 8	0,107 031	- 0,066 59
F100	0,132 987	- 0,0285	0,129 895	- 0,0345 7	0,126 385	- 0,0402 1	0,122 655	- 0,0456 4	0,118 313	- 0,0502 7	0,114 021	- 0,0543 5	0,110 084	- 0,057 94
F101	0,130 835	- 0,0260 6	0,127 774	- 0,0326 5	0,123 49	- 0,0383 4	0,118 921	- 0,0439 5	0,114 202	- 0,0492 4	0,109 403	- 0,0539 1	0,104 991	- 0,058 15
F102	0,134 75	- 0,0310 7	0,130 432	- 0,0366	0,125 294	- 0,0416 9	0,119 477	- 0,0466 3	0,113 707	- 0,0519 2	0,107 836	- 0,0569 8	0,101 875	- 0,061 37
F103	0,134 378	- 0,0309 9	0,131 047	- 0,0379 8	0,127 139	- 0,0443 7	0,122 331	- 0,0500 8	0,117 152	- 0,0551 4	0,111 725	- 0,0591 6	0,106 9	- 0,062 88
F104	0,130 518	- 0,0275 3	0,127 263	- 0,0342	0,123 31	- 0,0402 7	0,119 577	- 0,0463 9	0,114 765	- 0,0513 9	0,110 413	- 0,0562 6	0,106 581	- 0,060 82
F106	0,136 15	- 0,0208 6	0,134 578	- 0,0259 2	0,132 279	- 0,0307 6	0,129 469	- 0,0355 3	0,126 23	- 0,0401	0,123 182	- 0,0446 9	0,120 13	- 0,048 95
F107	0,133 612	- 0,0235	0,130 858	- 0,0288 8	0,127 49	- 0,0339 2	0,124 01	- 0,0390 4	0,120 212	- 0,0438 8	0,116 377	- 0,0483 8	0,112 963	- 0,052 72
F108	0,136 523	- 0,0255 8	0,133 616	- 0,0311 8	0,130 652	- 0,0367 4	0,126 882	- 0,0418 8	0,123 154	- 0,0469 4	0,119 237	- 0,0514	0,116 04	- 0,055 82
F114	0,131 313	- 0,0241 5	0,129 336	- 0,0298 9	0,126 875	- 0,0352 4	0,124 065	- 0,0403 6	0,121 332	- 0,0452 7	0,118 36	- 0,0495 2	0,115 826	- 0,053 46
F115	0,133 459	- 0,0226 7	0,130 006	- 0,0282 4	0,126 548	- 0,0338 6	0,122 451	- 0,0392 1	0,118 655	- 0,0447 1	0,114 213	- 0,0493 7	0,110 525	- 0,054 11
F116	0,133 749	- 0,0247	0,130 838	- 0,0304 4	0,127 468	- 0,0359 6	0,124 224	- 0,0416 8	0,120 818	- 0,0472 1	0,117 074	- 0,0521 7	0,113 895	- 0,056 97
F117	0,133 651	- 0,0254 8	0,132 034	- 0,0317 4	0,129 198	- 0,0373 6	0,125 942	- 0,0428 5	0,123 171	- 0,0484 4	0,119 563	- 0,0531 7	0,116 368	- 0,057 64
F118	0,135 188	- 0,0315 5	0,132 765	- 0,0366 1	0,128 806	- 0,0406 4	0,125 232	- 0,0452 2	0,121 283	- 0,0493 2	0,117 675	- 0,0531 7	0,114 205	- 0,056 39
F120	0,132 62	- 0,0251 4	0,129 678	- 0,0301 6	0,126 572	- 0,0352 7	0,123 376	- 0,0405 4	0,119 852	- 0,0456 3	0,116 563	- 0,0506 6	0,113 288	- 0,055 24
F122	0,130 301	- 0,0267 5	0,127 529	- 0,0326 8	0,124 318	- 0,0383 3	0,120 504	- 0,0437 6	0,116 256	- 0,0489 4	0,112 045	- 0,0540 1	0,108 034	- 0,058 84
F123	0,132 874	- 0,0275 2	0,131 084	- 0,0337 3	0,128 093	- 0,0393 3	0,125 438	- 0,0452 1	0,122 422	- 0,0508 2	0,119 043	- 0,0559 7	0,115 995	- 0,060 92
F124	0,135 053	- 0,0209 1	0,134 043	- 0,0258 8	0,132 185	- 0,0306 2	0,130 154	- 0,0354 9	0,126 803	- 0,0399 1	0,123 199	- 0,0445 4	0,119 656	- 0,049 24
F126	0,133 881	- 0,0258 2	0,131 097	- 0,0314 1	0,127 687	- 0,0365 6	0,123 852	- 0,0414 5	0,120 084	- 0,0461 7	0,116 374	- 0,0503 3	0,112 872	- 0,053 94

F127	0,134 565	- 0,0263	0,130 707	- 0,0326 5	0,125 846	- 0,0385 4	0,120 363	- 0,0444 7	0,113 995	- 0,0499 1	0,107 618	- 0,0555	0,101 325	- 0,060 71
F128	0,130 471	- 0,0258 5	0,127 352	- 0,0312 9	0,124 459	- 0,0368 7	0,121 138	- 0,0423 2	0,117 423	- 0,0474 8	0,114 195	- 0,0527	0,111 172	- 0,057 62
F129	0,134 172	- 0,0251 7	0,130 783	- 0,0315 6	0,127 001	- 0,0377 5	0,122 545	- 0,0437	0,118 163	- 0,0497	0,113 138	- 0,0548 7	0,108 476	- 0,059 65
F130	0,129 202	- 0,0265 3	0,127 777	- 0,0324 9	0,125 551	- 0,0379 2	0,122 26	- 0,0428 4	0,118 81	- 0,0476 4	0,114 737	- 0,0517 3	0,111 097	- 0,055 84
F134	0,130 885	- 0,0226 9	0,128 823	- 0,0284 9	0,126 597	- 0,0341 3	0,124 024	- 0,0396 6	0,120 975	- 0,0448 5	0,117 712	- 0,0496 7	0,114 691	- 0,054 14
F135	0,130 245	- 0,0277 4	0,128 031	- 0,0336 7	0,125 08	- 0,0391 2	0,122 086	- 0,0445 5	0,118 408	- 0,0494	0,115 342	- 0,0543 4	0,112 051	- 0,058 65
F137	0,132 747	- 0,0233 1	0,131 155	- 0,0288 5	0,129 144	- 0,0341	0,126 457	- 0,0390 7	0,123 636	- 0,0438 8	0,121 411	- 0,0487	0,119 057	- 0,052 92
F138	0,130 418	- 0,0243 3	0,127 301	- 0,0294 4	0,124 058	- 0,0345	0,120 238	- 0,0393 6	0,116 557	- 0,0443 2	0,112 365	- 0,0486 6	0,108 539	- 0,052 91
F139	0,130 552	- 0,0282 6	0,127 471	- 0,0340 9	0,124 547	- 0,0398 3	0,120 683	- 0,0450 1	0,117 339	- 0,0504	0,113 858	- 0,0553 1	0,110 551	- 0,059 76
F140	0,131 491	- 0,0246 5	0,128 691	- 0,0305 9	0,126 042	- 0,0364 8	0,122 59	-0,042	0,118 934	- 0,0473 1	0,115 125	- 0,0521 9	0,111 563	- 0,056 73
F141	0,135 761	- 0,0269 2	0,133 135	- 0,0320 7	0,130 208	-0,037	0,127 05	- 0,0418 3	0,123 867	- 0,0464 4	0,119 767	- 0,0499 1	0,116 058	- 0,053 27
F142	0,132 305	- 0,0261 3	0,131 248	- 0,0319	0,129 946	- 0,0372 8	0,127 087	- 0,0420 6	0,124 282	- 0,0469 4	0,121 132	- 0,0514 8	0,117 831	- 0,055 63
F143	0,135 632	- 0,0212 3	0,132 322	- 0,0272 5	0,128 579	- 0,0332 9	0,123 354	- 0,0388 9	0,117 505	- 0,0447 3	0,111 219	- 0,0507 5	0,104 913	- 0,056 69
F144	0,131 573	- 0,0236 2	0,129 554	- 0,0293 7	0,127 149	- 0,0348 1	0,124 833	- 0,0402 1	0,121 15	- 0,0446 9	0,117 957	- 0,0493 2	0,114 957	- 0,053 62
F145	0,131 152	- 0,0248 6	0,129 148	- 0,0306 4	0,126 749	- 0,0361 5	0,123 595	- 0,0414	0,119 825	- 0,0463 3	0,115 804	- 0,0510 1	0,112 406	- 0,055 54
F146	0,131 223	- 0,0221 9	0,128 967	- 0,0279 1	0,126 369	- 0,0334 8	0,123 641	- 0,0391 4	0,120 799	- 0,0447	0,117 255	- 0,0496 8	0,114 158	- 0,054 58
F149	0,131 508	- 0,0304 5	0,127 881	- 0,0371 5	0,122 827	- 0,0427 9	0,117 371	- 0,0483 6	0,111 314	- 0,0532 6	0,105 587	- 0,0581 1	0,100 479	- 0,062 83
F150	0,130 615	- 0,0271 6	0,126 822	- 0,0328 6	0,122 857	- 0,0384	0,119 025	- 0,0440 8	0,115 413	- 0,0496 7	0,111 573	- 0,0545 8	0,108 078	- 0,059 03
F151	0,130 357	- 0,0311 8	0,128 417	- 0,0371 3	0,126 189	- 0,0426 1	0,123 071	- 0,0474 5	0,120 656	- 0,0523 2	0,117 576	- 0,0561 6	0,115 17	- 0,059 61
F152	0,131 602	- 0,0267 7	0,130 066	- 0,0323 3	0,126 826	- 0,0370 1	0,123 424	- 0,0419	0,119 53	- 0,0465 3	0,115 657	- 0,0510 8	0,111 747	- 0,055 21

F153	0,131 245	- 0,0236	0,129 042	- 0,0288 8	0,127 067	- 0,0341 9	0,124 834	- 0,0394 6	0,121 594	- 0,0442 4	0,118 416	- 0,0490 4	0,115 069	- 0,053 49
F155	0,134 101	- 0,0149 8	0,132 535	- 0,0202 4	0,129 739	- 0,0253 7	0,126 496	- 0,0309 9	0,121 415	- 0,0363	0,115 068	- 0,0419 3	0,107 383	- 0,046 88
F156	0,129 818	- 0,0180 3	0,130 035	- 0,0231 6	0,129 942	- 0,0282 2	0,128 408	- 0,0334 5	0,126 086	- 0,0392 8	0,122 702	- 0,0458 6	0,118 232	- 0,052 71
F157	0,136 958	- 0,0256	0,135 474	- 0,0316 1	0,132 686	- 0,0371 1	0,129 609	- 0,0427 4	0,126 568	- 0,0484 8	0,122 656	- 0,0536 7	0,119 142	- 0,058 88
F158	0,131 864	-0,023	0,130 936	- 0,0277 7	0,130 148	- 0,0324 1	0,129 011	- 0,0369 4	0,127 85	- 0,0413 4	0,126 398	- 0,0454 2	0,125 058	- 0,049 26
F159	0,132 54	- 0,0262 3	0,129 865	- 0,0321 1	0,127 594	- 0,0379 8	0,124 503	- 0,0434	0,120 743	- 0,0482 6	0,117 613	- 0,0531 6	0,114 308	- 0,057 41
F161	0,133 465	- 0,0338 9	0,130 186	- 0,0401 1	0,124 697	- 0,0443 8	0,118 94	- 0,0489 4	0,113 199	- 0,0534 9	0,107 607	- 0,0575 7	0,102 566	- 0,061 29
F162	0,132 928	- 0,0199 4	0,130 306	- 0,0252 6	0,126 732	- 0,0303 1	0,122 314	- 0,0352 8	0,116 703	- 0,0397 5	0,110 878	- 0,0446 4	0,105 182	- 0,049 68
F163	0,127 789	- 0,0254 2	0,125 287	- 0,0317 6	0,122 772	- 0,0379 2	0,120 162	- 0,0440 1	0,117 212	- 0,0497 2	0,113 53	- 0,0546 2	0,109 809	- 0,059
F164	0,133 863	- 0,0274 7	0,131 859	- 0,0321	0,129 566	- 0,0364 2	0,126 141	- 0,0399 6	0,123 092	- 0,0437 2	0,119 978	- 0,0469 7	0,117 208	- 0,050 01
F165	0,131 939	- 0,0218 7	0,129 091	- 0,0272 5	0,125 404	- 0,0322 6	0,120 647	- 0,0369 5	0,115 869	- 0,0421 2	0,110 351	- 0,0468 3	0,105 676	- 0,052 23
F166	0,132 142	- 0,0317 9	0,130 576	- 0,0377 6	0,126 609	- 0,0421 5	0,121 799	- 0,0463 3	0,117 355	- 0,0510 5	0,112 605	- 0,0551 9	0,108 613	- 0,059 51
F167	0,131 913	- 0,0265	0,130 489	- 0,0325 8	0,128 102	- 0,0380 6	0,124 515	- 0,0430 1	0,120 997	- 0,0480 5	0,117 437	- 0,0528 5	0,113 684	- 0,057 1
F168	0,128 908	- 0,0219	0,125 944	- 0,0289 9	0,121 958	- 0,0357 6	0,117 27	- 0,0426 6	0,111 913	- 0,0496 4	0,105 703	- 0,0564 2	0,099 742	- 0,063 33
F169	0,127 602	- 0,0255 6	0,125 591	- 0,0323 1	0,122 933	- 0,0386 7	0,118 927	- 0,0445 5	0,114 654	- 0,0505 3	0,109 815	- 0,0561 5	0,104 598	- 0,061 14
F170	0,131 69	- 0,0316 5	0,127 791	- 0,0380 6	0,123 676	-0,044	0,119 079	- 0,0493 6	0,114 688	- 0,0542 9	0,110 116	- 0,0579 4	0,106 557	- 0,061 54
F171	0,130 823	- 0,0182 9	0,129 354	- 0,0240 9	0,127 054	- 0,0297 1	0,123 454	- 0,0351 9	0,119 161	- 0,0409 2	0,113 803	- 0,0465 6	0,108 586	- 0,052 59
F172	0,131 339	- 0,0201 2	0,128 826	- 0,0255 9	0,126 33	- 0,0312 6	0,122 812	- 0,0368 9	0,118 415	- 0,0426 3	0,112 442	- 0,0479 7	0,106 133	- 0,053 63
F173	0,128 453	- 0,0201	0,124 992	- 0,0258 8	0,122 1	- 0,0321 3	0,119 703	- 0,0388 5	0,115 108	- 0,0447 1	0,109 212	- 0,0503 6	0,102 551	- 0,055 67
F174	0,135 322	- 0,0201 7	0,132 386	- 0,0252 2	0,129 924	- 0,0308 9	0,125 311	- 0,0360 1	0,119 467	- 0,0415 4	0,112 394	- 0,0474 4	0,105 219	- 0,053 95

F175	0,134 163	- 0,0233 8	0,131 705	- 0,0289 6	0,129 098	- 0,0345 4	0,126 05	- 0,0401 2	0,122 744	- 0,0456 6	0,119 01	- 0,0509 2	0,115 363	- 0,055 99
F176	0,131 931	- 0,0219 4	0,130 471	- 0,0279 2	0,128 458	- 0,0337	0,125 222	- 0,0391 9	0,121 027	- 0,0444 8	0,117 044	- 0,0502 6	0,112 718	- 0,055 69
F177	0,129 841	- 0,0183 7	0,128 89	- 0,0233 2	0,126 798	- 0,0279 2	0,123 795	- 0,0325 6	0,120 445	- 0,0376 2	0,117 106	- 0,0433 2	0,112 524	- 0,048 55
F178	0,135 44	- 0,0241 6	0,131 699	- 0,0292 6	0,127 08	- 0,0341 6	0,122 351	- 0,0396 3	0,117 621	- 0,0454 8	0,111 822	- 0,0505	0,105 91	- 0,055 17
F179	0,131 141	- 0,0193	0,129 559	- 0,0250 3	0,126 338	- 0,0303 5	0,123 045	- 0,0363 4	0,118 364	- 0,0422 4	0,113 82	- 0,0491 5	0,108 139	- 0,055 63
F180	0,129 139	- 0,0218 8	0,127 03	- 0,0274 9	0,123 918	- 0,0326 6	0,120 407	- 0,0379 2	0,116 144	- 0,0429 4	0,111 794	- 0,0481 2	0,107 432	- 0,053 17
F181	0,131 462	- 0,0191 5	0,129 281	- 0,0243 4	0,126 359	- 0,0294 7	0,123 662	- 0,0351 9	0,120 191	- 0,0409	0,115 754	- 0,0463 9	0,110 905	- 0,051 72
F182	0,127 635	- 0,0197 4	0,125 301	- 0,0250 2	0,123 37	- 0,0304 7	0,120 689	- 0,0357 9	0,117 794	- 0,0411 8	0,113 965	- 0,0461 5	0,109 355	- 0,050 64
F183	0,130 461	- 0,0209 3	0,128 113	- 0,0276	0,125 557	- 0,0341 3	0,121 059	- 0,0399 6	0,116 088	- 0,0460 7	0,110 522	- 0,0521 3	0,105 358	- 0,058 48
F184	0,129 412	- 0,0228 8	0,126 759	- 0,0289 5	0,122 498	- 0,0341 5	0,117 799	- 0,0396 2	0,112 295	- 0,0449	0,106 358	- 0,0502 2	0,100 366	- 0,055 41
F185	0,130 712	- 0,0258 1	0,129 635	- 0,0318 5	0,126 849	- 0,0371	0,123 524	- 0,0422 9	0,120 005	- 0,0473 9	0,116 573	- 0,0523 8	0,112 517	- 0,056 51
F186	0,129 554	- 0,0243 3	0,126 983	- 0,0308 4	0,123 482	- 0,0367 1	0,119 671	- 0,0423 9	0,115 811	- 0,0477 8	0,112 078	- 0,0527 1	0,108 669	- 0,057 16
F187	0,130 573	- 0,0263 1	0,128 238	- 0,0318 2	0,124 842	- 0,0367 4	0,121 229	- 0,0417 5	0,117 919	- 0,0470 1	0,114 267	- 0,0518 3	0,110 861	- 0,056 3
F188	0,133 215	- 0,0259 5	0,131 071	- 0,0322 9	0,127 714	- 0,0380 2	0,123 359	- 0,0434 8	0,118 774	- 0,0490 7	0,114 344	- 0,0548 7	0,109 914	- 0,060 4
F189	0,131 967	- 0,0242 8	0,129 607	- 0,0304 2	0,127 346	- 0,0364 8	0,124 154	- 0,0422 1	0,121 266	- 0,0480 8	0,118 024	- 0,0535 6	0,114 51	- 0,058 51
F190	0,127 507	- 0,0248 4	0,125 2	- 0,0300 1	0,123 418	- 0,0351 5	0,120 912	- 0,0398 3	0,118 216	- 0,0441 3	0,115 13	- 0,0476 6	0,112 57	- 0,051 08
F191	0,129 986	- 0,0230 1	0,128 373	- 0,0276 2	0,126 274	- 0,0319 5	0,123 498	- 0,0360 5	0,120 282	- 0,0399 8	0,117 208	- 0,0440 2	0,113 446	- 0,047 29
F192	0,130 62	- 0,0262 6	0,127 713	- 0,0308 5	0,124 595	- 0,0353 7	0,121 363	-0,04	0,117 655	- 0,0443 2	0,113 707	- 0,0483 2	0,109 536	- 0,051 67
F194	0,127 968	- 0,0259 5	0,125 741	- 0,0315 8	0,123 391	- 0,0370 2	0,120 577	- 0,0422 2	0,117 111	- 0,0469 3	0,113 818	- 0,0515 2	0,110 634	- 0,055 76
F195	0,133 204	- 0,0268 5	0,131 025	- 0,0308 4	0,128 659	- 0,0347 2	0,125 902	- 0,0384 1	0,123 412	- 0,0421 6	0,120 317	- 0,0451	0,117 39	- 0,047 68

F196	0,127 238	- 0,0254 3	0,124 955	- 0,0305 2	0,122 599	- 0,0352 7	0,119 051	- 0,0391 7	0,115 889	- 0,0432 5	0,112 916	- 0,0470 3	0,110 104	- 0,050 4
F197	0,129 491	- 0,0210 3	0,127 481	- 0,0241 3	0,125 946	- 0,0276 5	0,124 452	- 0,0313 7	0,122 574	- 0,0349 5	0,120 311	- 0,0382 6	0,118 591	- 0,041 75
F198	0,131 447	- 0,0206 4	0,129 953	- 0,0246 6	0,127 841	- 0,0285 2	0,125 598	- 0,0325 6	0,122 704	- 0,0363 9	0,119 803	- 0,0403 7	0,116 926	- 0,044 31
F199	0,133 246	- 0,0257 5	0,132 197	- 0,0302 2	0,130 768	- 0,0344 1	0,128 258	- 0,0381 5	0,126 125	- 0,0421 4	0,123 874	- 0,0458 7	0,121 111	- 0,048 98
F200	0,130 829	- 0,0282	0,128 453	- 0,0330 4	0,125 059	- 0,0371 7	0,121 314	- 0,0411 7	0,117 523	- 0,0449 6	0,113 206	- 0,0475 4	0,109 273	- 0,049 68
F201	0,126 147	- 0,0223 8	0,125 487	- 0,0267 6	0,124 77	- 0,0308 3	0,123 518	- 0,0345 4	0,121 337	- 0,0375 7	0,118 612	- 0,0399 9	0,115 836	- 0,042 1
F203	0,130 001	- 0,0283 2	0,127 133	- 0,0329 1	0,124 394	- 0,0375 8	0,121 089	- 0,0419 4	0,117 196	- 0,0458 2	0,113 154	- 0,0493 7	0,109 348	- 0,052 77
F204	0,131 765	- 0,0256 5	0,129	- 0,0301	0,126 308	- 0,0346 6	0,123 674	- 0,0392 8	0,119 352	- 0,0426 5	0,115 394	- 0,0467	0,111 505	- 0,050 71
F205	0,129 232	- 0,0277	0,128 617	- 0,0326 3	0,126 664	- 0,0369 1	0,124 853	- 0,0412	0,123 5	- 0,0454 2	0,121 224	- 0,0488 7	0,119 183	- 0,051 94
F206	0,131 772	- 0,0268 3	0,130 006	- 0,0316 2	0,127 545	- 0,0360 3	0,125 449	- 0,0406 7	0,123 362	- 0,0451 7	0,121 383	- 0,0494	0,119 38	- 0,053 21
F207	0,127 535	- 0,0235 6	0,125 52	- 0,0285 6	0,124 107	- 0,0335 8	0,122 17	- 0,0383 6	0,120 817	- 0,0431 2	0,118 653	- 0,0472 2	0,116 409	- 0,050 95
F208	0,128 833	- 0,0269 8	0,128 152	- 0,0323	0,126 569	- 0,0371 2	0,124 063	- 0,0415 3	0,121 755	- 0,0459 2	0,118 911	- 0,0496 9	0,116 394	- 0,053 33
F209	0,129 679	- 0,0261 2	0,128 414	- 0,0308 6	0,127 43	- 0,0352 5	0,124 621	- 0,0387 2	0,121 772	- 0,0423	0,118 999	- 0,0457 5	0,115 954	- 0,048 5
F210	0,130 74	- 0,0250 9	0,128 38	- 0,0293 9	0,125 914	- 0,0335 9	0,124 132	- 0,0381 3	0,121 448	- 0,0420 9	0,119 248	- 0,0461 2	0,117 095	- 0,049 83
F211	0,128 857	- 0,0220 5	0,128 213	- 0,0266 3	0,126 968	- 0,0309 3	0,125 743	- 0,0352 3	0,123 662	- 0,0391 5	0,120 224	- 0,0424	0,117 076	- 0,046 16
F212	0,127 554	- 0,0224 5	0,125 871	- 0,0275 1	0,123 436	- 0,0320 9	0,120 624	- 0,0364 6	0,117 372	- 0,0403 9	0,114 816	- 0,0445	0,112 737	- 0,048 55
F213	0,131 326	- 0,0253 3	0,129 537	- 0,0297 9	0,126 931	- 0,0337 3	0,124 571	- 0,0377 9	0,121 401	- 0,0410 6	0,118 787	- 0,0444 3	0,116 496	- 0,047 59
F214	0,128 511	- 0,0215 8	0,128 148	- 0,0258 2	0,126 308	- 0,0294 9	0,123 786	- 0,0329 5	0,121 384	- 0,0364 5	0,119 458	- 0,0399 4	0,117 665	- 0,042 94
F215	0,132 448	- 0,0284 3	0,130 143	- 0,0340 8	0,127 303	- 0,0393 5	0,124 256	- 0,0445 3	0,121 511	- 0,0496 9	0,118 721	- 0,0544 1	0,116 127	- 0,058 74
F216	0,127 648	- 0,0271 1	0,125 375	- 0,0321 3	0,123 398	- 0,0370 7	0,121 205	- 0,0417 9	0,118 817	- 0,0461 3	0,116 513	-0,05	0,114 015	- 0,052 87

F217	0,129 714	- 0,0265 5	0,126 988	- 0,0311 1	0,124 397	- 0,0357 3	0,121 856	- 0,0404 4	0,119 399	- 0,0450 7	0,116 545	- 0,0491 7	0,114 191	- 0,053 19
F218	0,127 495	- 0,0240 8	0,125 399	- 0,0293 8	0,123 402	- 0,0346 7	0,121 029	- 0,0398 6	0,118 624	- 0,0449 6	0,116 307	- 0,0498 7	0,114 132	- 0,054 51
F219	0,127 14	- 0,0248 1	0,125 69	- 0,0296 7	0,124 856	- 0,0343 9	0,123 355	- 0,0387 3	0,121 14	- 0,0424 6	0,118 03	- 0,0452 2	0,115 135	- 0,047 88
F220	0,127 938	- 0,0237 6	0,125 705	- 0,0293 1	0,123 072	- 0,0344 9	0,120 048	- 0,0394 2	0,117 126	- 0,0441 9	0,114 258	- 0,0485 4	0,111 788	- 0,052 61
F221	0,131 577	- 0,0207 9	0,129 806	- 0,0246 4	0,127 476	- 0,0282 3	0,124 292	- 0,0314 7	0,121 282	- 0,0350 6	0,117 232	- 0,0376 2	0,113 211	- 0,040 28
F222	0,130 283	- 0,0234 2	0,128 183	- 0,0286 1	0,125 218	- 0,0332 9	0,122 439	- 0,0381 4	0,118 843	- 0,0423 3	0,115 475	- 0,0464 3	0,112 453	- 0,050 31
F223	0,131 108	- 0,0209 4	0,129 053	- 0,0250 7	0,126 527	- 0,0288 7	0,124 88	- 0,0331 2	0,121 088	- 0,0360 3	0,116 432	-0,039	0,111 567	- 0,042 15
F224	0,130 668	- 0,0212 3	0,128 488	- 0,0255 6	0,125 73	- 0,0295 9	0,123 662	- 0,0341 7	0,120 708	- 0,0383 3	0,117 799	- 0,0425	0,114 846	- 0,046 41
F225	0,131 481	- 0,0283 3	0,128 793	- 0,0332	0,126 238	- 0,0382 1	0,123 582	- 0,0432 7	0,120 479	- 0,0479 9	0,116 977	- 0,0521 8	0,113 682	- 0,056 14
F226	0,127 31	- 0,0257 6	0,124 825	- 0,0316 9	0,122 361	- 0,0373 4	0,118 921	- 0,0423 6	0,116 052	- 0,0474 7	0,113 064	- 0,0519 7	0,109 714	- 0,055 59
F227	0,129 082	- 0,0284 4	0,126 405	- 0,0330 7	0,124 346	- 0,0378 8	0,122 197	- 0,0426 1	0,120 006	- 0,0470 6	0,117 612	- 0,0508 2	0,114 132	- 0,053 08
F229	0,128 244	- 0,0265 7	0,127 365	- 0,0320 7	0,126 043	- 0,0370 6	0,123 293	- 0,0413 3	0,120 521	- 0,0455	0,117 688	- 0,0492 4	0,115 744	- 0,053 1
F230	0,130 115	- 0,0300 8	0,128 575	- 0,0356 5	0,126 974	- 0,0408 8	0,124 913	- 0,0457	0,122 108	- 0,0497 8	0,119 158	- 0,0532	0,115 966	- 0,055 69
F231	0,130 714	- 0,0243 9	0,128 951	- 0,0288 2	0,126 254	- 0,0327 1	0,123 005	- 0,0364 4	0,120 004	- 0,0404 5	0,117 153	- 0,0444 3	0,113 769	- 0,047 6
F232	0,130 228	- 0,0241	0,127 776	-0,029	0,125 546	- 0,0339 9	0,123 014	- 0,0389 1	0,120 204	- 0,0436 3	0,117 328	- 0,0480 9	0,114 539	- 0,052 27
F233	0,131 356	- 0,0259 9	0,128 701	- 0,0306 2	0,126 253	- 0,0350 9	0,121 885	- 0,0380 8	0,117 338	- 0,0414 9	0,112 443	- 0,0445 5	0,108 237	- 0,048 22
F234	0,128 936	- 0,0202 3	0,127 551	- 0,0248 6	0,125 206	- 0,0289 1	0,122 455	- 0,0327 5	0,119 616	- 0,0363 2	0,117 727	- 0,0400 7	0,114 716	- 0,042 53
F235	0,129 416	- 0,0270 2	0,127 438	- 0,0322 1	0,124 973	- 0,0369	0,121 565	- 0,0409 8	0,117 916	- 0,0447 7	0,113 744	- 0,0476 7	0,109 733	- 0,050 11
F236	0,131 108	- 0,0229 5	0,129 18	- 0,0271	0,127 719	- 0,0314 2	0,125 357	- 0,0354 2	0,122 698	- 0,0393 3	0,119 834	- 0,0430 4	0,117 52	- 0,046 91
F237	0,130 416	- 0,0256 7	0,128 787	- 0,0305 5	0,126 179	- 0,0347 9	0,123 758	- 0,0391 3	0,121 708	- 0,0434 3	0,119 14	- 0,0470 2	0,116 579	- 0,050 12

F238	0,130 811	- 0,0257 9	0,128 264	- 0,0314 2	0,124 897	- 0,0364 6	0,120 779	- 0,0410 9	0,115 942	- 0,0451	0,111 188	- 0,0490 6	0,106 931	- 0,053 05
F239	0,129 222	- 0,0280 9	0,128 11	- 0,0340 2	0,125 891	- 0,0393 4	0,122 716	- 0,0442 8	0,119 288	- 0,0491	0,114 843	- 0,0529 9	0,110 226	- 0,056 5
F240	0,132 612	- 0,0273 6	0,130 007	- 0,0316 4	0,127 527	- 0,0358 8	0,124 236	- 0,0395 6	0,120 91	- 0,0430 9	0,117 658	- 0,0462 6	0,114 477	- 0,048 98
F241	0,131 239	- 0,0235 7	0,130 112	- 0,0278 3	0,129 268	- 0,0320 3	0,128 161	- 0,0361 3	0,126 729	-0,04	0,125 957	- 0,0438 4	0,124 273	- 0,047 07
F242	0,131 072	- 0,0192 5	0,130 287	- 0,0234 5	0,128 303	- 0,0271 7	0,127 028	- 0,0312 2	0,125 077	- 0,0348 4	0,123 341	- 0,0382 5	0,121 818	- 0,041 41
F243	0,127 803	- 0,0251 3	0,126 915	- 0,0297 9	0,125 918	- 0,0341 1	0,124 49	- 0,0380 4	0,122 701	- 0,0413 6	0,120 37	- 0,0435 1	0,118 353	- 0,044 31
F244	0,132 237	- 0,0239 6	0,130 815	- 0,0274 1	0,127 802	- 0,0297 4	0,125 495	- 0,0331 1	0,122 112	- 0,0356 6	0,119 378	- 0,0389 5	0,116 818	- 0,042 2
F245	0,130 373	- 0,0299 9	0,127 788	- 0,0354 9	0,124 747	- 0,0406 4	0,121 375	- 0,0456	0,118 088	- 0,0504 2	0,114 503	- 0,0545 9	0,111 244	- 0,058 48
F246	0,125 994	- 0,0282 8	0,123 925	- 0,0345 1	0,120 999	- 0,0400 7	0,117 545	- 0,0452 8	0,114 243	- 0,0503 4	0,111 121	- 0,0550 4	0,107 93	- 0,059 09
F247	0,131 412	- 0,0213 7	0,129 482	- 0,0258 6	0,126 707	- 0,0301 5	0,123 627	- 0,0347 4	0,119 896	- 0,0393 9	0,115 512	- 0,0440 3	0,110 52	- 0,048 31
F248	0,130 684	- 0,0215 2	0,128 351	- 0,0253 8	0,125 962	- 0,0293 4	0,123 157	- 0,0333	0,119 655	-0,037	0,116 02	- 0,0408 1	0,112 29	- 0,044 37
F249	0,133 944	- 0,0242	0,131 408	- 0,0282	0,129 813	- 0,0328 2	0,127 944	- 0,0375 8	0,125 216	- 0,0420 3	0,122 748	- 0,0466	0,119 652	- 0,050 54
F250	0,130 23	- 0,0247 3	0,127 92	- 0,0292 3	0,126 139	- 0,0338 6	0,123 172	- 0,0379 1	0,120 67	- 0,0422 5	0,117 989	- 0,0462 7	0,116 137	- 0,050 4
F251	0,127 332	-0,026	0,124 784	- 0,0312	0,122 252	- 0,0359 6	0,117 649	- 0,0390 6	0,113 469	- 0,0431 5	0,109 199	- 0,0472	0,105 321	- 0,051 28
F252	0,129 575	- 0,0217 1	0,127 371	- 0,0245 9	0,125 355	- 0,0277 6	0,123 787	- 0,0313 1	0,121 367	- 0,0343 6	0,119 873	- 0,0378 9	0,117 362	- 0,040 69
F253	0,127 83	- 0,0222 9	0,127 077	- 0,0266 3	0,125 934	- 0,0306 9	0,124 04	- 0,0344 7	0,121 918	- 0,0380 7	0,119 2	- 0,0411 3	0,116 451	- 0,043 94
F254	0,129 348	- 0,0231 4	0,126 335	- 0,0277 8	0,123 161	- 0,0323 9	0,119 888	- 0,0371 2	0,116 619	- 0,0418 7	0,112 62	- 0,0459	0,109 012	-0,05

Individual	Hypo1.1	Hypo1.2	Hypo1.3	Hypo2.1	Hypo2.2	Hypo3.1	Hypo3.2	Hypo3.3
F001	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F003	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F005	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F006	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F007	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F008	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F009	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F010	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes

F011	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F012	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F013	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F014	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F015	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F016	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F017	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F019	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F020	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F021	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F022	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F025	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F026	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F028	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F029	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F030	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F032	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F033	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F034	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F035	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F037	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F038	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F041	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F047	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F049	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F051	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F056	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F058	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F060	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F062	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F063	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F068	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F069	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F073	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F076	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F077	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F078	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F082	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F083	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F084	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F086	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F090	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F092	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F093	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F094	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F095	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F096	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F097	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F098	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F099	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F100	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F101	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F102	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F103	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes

F104	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F106	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F107	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F108	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F114	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F115	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F116	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F117	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F118	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F120	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F122	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F123	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F124	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F126	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F127	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F128	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F129	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F130	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F134	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F135	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F137	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F138	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F139	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F140	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F141	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F142	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F143	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F144	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F145	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F146	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F149	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F150	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F151	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F152	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F153	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F155	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F156	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F157	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F158	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F159	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F161	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F162	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F163	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F164	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F165	No	No	No	No	No	Yes	No	Yes
F166	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	No	Yes
F167	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F168	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F169	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F170	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F171	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F172	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F173	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F174	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No

F175	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F176	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F177	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F178	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F179	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F180	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F181	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F182	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F183	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F184	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F185	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F186	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F187	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F188	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F189	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	No
F190	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F191	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F192	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F194	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F195	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F196	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F197	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F198	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F199	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F200	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F201	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F203	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F204	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F205	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F206	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F207	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F208	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F209	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F210	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F211	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F212	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F213	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F214	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F215	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F216	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F217	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F218	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F219	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F220	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F221	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F222	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F223	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F224	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F225	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F226	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F227	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F229	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F230	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F231	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No

F232	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F233	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F234	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F235	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F236	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F237	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F238	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F239	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F240	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F241	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F242	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F243	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F244	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F245	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F246	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F247	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F248	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F249	No	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No
F250	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F251	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F252	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F253	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No
F254	No	No	No	No	No	Yes	Yes	No

Supplementary Data II. Code used for the analysis of this chapter. Script was run in RStudio (version 2023.6.1.524), itself running on version R4.1.3. Details on used packages can be found in the *Statistical Analyses* section of the 4th chapter.

```
#####1.0 Import Data and charge libraries #####
rm(list = ls())

##* 0.1 CHARGE PACKAGES *##
library(geomorph)
library(ggplot2)
library(memisc)
library(readxl)
library(vegan)
library(dplyr)
library(stringr)

##* 0.2 SET WORKING DIRECTORIES *##
setwd(dirname(rstudioapi::getActiveDocumentContext()$path))

##* 0.3 SETS OF COLOURS *##
colors_2 <- c("#2aa8f2", "#8bd448")
colors_2_YesNo <- c("#077344", "#9e0142")

##* 2.1 PULL AN INFORMATION TABLE AND THE LANDMARKS *##
##' [Pulling the master file]
Info.Table.clean <- as.data.frame(read_excel("Supplementary Data 1.xlsx"))
row.names(Info.Table.clean) <- Info.Table.clean[,1]

##' [Extracting the coordinates]
coords2.clean <- Info.Table.clean[,16:length((Info.Table.clean))]

##### 2.0 **SAMPLE 1** - Triploids from natural conditions
#####
##### 2.1 k-means for SAMPLE 1.1 (Natural pop1, B-01)
#####
##' [Every time you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by
running section
##' [1.0, unless indicated otherwise]

##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##

##' [Select the individuals needed]
Info.Table <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo1.1 == "Yes"),]
```

```

### [Extract their coordinates]
coords2<-coords2.clean[rownames(coords2.clean)%in% Info.Table$Individual,]

##* K-MEANS CLUSTERING *##
#CascadeKm function --> (dataframe, min k-means to check for, max k-means to check for, how
many iterations)
kmeans <- cascadeKM(coords2, inf.gr = 2, sup.gr =2, iter = 1000)

###[Put the resulting clustering in a dataframe, then match the samples' ID with the master table]
res.kmeans <- kmeans$partition %>% data.frame
res.kmeans$Individual <- rownames(res.kmeans)
res.kmeans <- left_join(res.kmeans, Info.Table)

###[Compare both true and clustered phenotypes]
kmeans_analysis <- table(res.kmeans$Clusters, res.kmeans$Biotype)
kmeans_analysis[1,2]

###[Compute the difference between true and clustered phenotypes]
kmeans_analysis$diff <- c(as.numeric(kmeans_analysis$TrueBio) -
as.numeric(kmeans_analysis$Clusters))
KMeans_Ok <- (sum(kmeans_analysis[1,2],
kmeans_analysis[2,1])/sum(colSums(kmeans_analysis)[1], colSums(kmeans_analysis)[2]))*100

##### 2.2 k-means for SAMPLE 1.2 (Natural pop2, A-11)
#####
##' [Everytime you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by
running section
##' [1.0, unless indicated otherwise]

##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##
##' [Select the individuals needed]
Info.Table <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo1.2 == "Yes"),]

##' [Extract their coordinates]
coords2<-coords2.clean[rownames(coords2.clean)%in% Info.Table$Individual,]

##* K-MEANS CLUSTERING *##
#CascadeKm function --> (dataframe, min k-means to check for, max k-means to check for, how
many iterations)
kmeans <- cascadeKM(coords2, inf.gr = 2, sup.gr =2, iter = 1000)

###[Put the resulting clustering in a dataframe, then match the samples' ID with the master table]
res.kmeans <- kmeans$partition %>% data.frame

```



```

res.kmeans$Individual <- rownames(res.kmeans)
res.kmeans <- left_join(res.kmeans, Info.Table)

##[Compare both true and clustered phenotypes]
kmeans_analysis <- table(res.kmeans$X2.groups, res.kmeans$Biotype)
kmeans_analysis[1,2]

##[Compute the difference between true and clustered phenotypes]
KMeans_Ok <- (sum(kmeans_analysis[1,2],
kmeans_analysis[2,1])/sum(colSums(kmeans_analysis)[1], colSums(kmeans_analysis)[2]))*100

##### 2.3 PCA for SAMPLE 1.3 (See section 3.3)
#####

#See section 3.3 as both PCA from Figure 2 were build together

##### 2.4 RDA and model selection for SAMPLE 1.3 (natural pop1
+ pop2) #####
## [Everytime you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by
running section
## [1.0, unless indicated otherwise]

##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##
## [Select the individuals needed]
Info.Table <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo1.3 == "Yes"),]

## [Extract their coordinates]
coords2<-coords2.clean[rownames(coords2.clean)%in% Info.Table$Individual,] %>%
data.frame

## [Add variables including the expected data type]
CSize <- as.numeric(Info.Table$Centroid_Size)
Lineage <- as.factor(Info.Table$Lineage)
Reproduction <- as.factor(Info.Table$Reproduction)

## [Prepare and run the model]
mod1 <- rda(coords2 ~ Reproduction * Lineage * CSize)
mod0 <- rda(coords2 ~ 1)

mod.select <- ordistep(mod0, mod1, method = "both")
anova(mod.select, permutations = 9999)

## [Check the variation explained by each variable by RDAs]
rda.0 <- rda(coords2 ~ Lineage + Reproduction + CSize)

```

```
anova.cca(rda.0, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.0)
```

```
rda.1 <- rda(coords2 ~ Lineage + Condition(Reproduction + CSize))
anova.cca(rda.1, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.1)
```

```
rda.2 <- rda(coords2 ~ Reproduction + Condition(Lineage + CSize))
anova.cca(rda.2, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.2)
```

```
rda.3 <- rda(coords2 ~ CSize + Condition(Lineage + Reproduction))
anova.cca(rda.3, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.3)
```

```
##### 3.0 **SAMPLE 2** - Triploids from both conditions
#####
##### 3.1 k-means for SAMPLE 2.1 (Common Garden alone)
#####
##' [Everytime you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by
running section
##' [1.0, unless indicated otherwise]
```

```
##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##
##' [Select the individuals needed]
Info.Table <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo2.1 == "Yes"),]
```

```
##' [Extract their coordinates]
coords2 <- coords2.clean[rownames(coords2.clean)%in% Info.Table$Individual,]
```

```
##* K-MEANS CLUSTERING *##
#CascadeKm function --> (dataframe, min k-means to check for, max k-means to check for, how
many iterations)
kmeans <- cascadeKM(coords2, inf.gr = 2, sup.gr = 2, iter = 1000)
```

```
##'[Put the resulting clustering in a dataframe, then match the samples' ID with the master table]
res.kmeans <- kmeans$partition %>% data.frame
res.kmeans$Individual <- rownames(res.kmeans)
res.kmeans <- left_join(res.kmeans, Info.Table)
```

```
##'[Compare both true and clustered phenotypes]
kmeans_analysis <- table(res.kmeans$X2.groups, res.kmeans$Biotype)
kmeans_analysis[1,2]
```

```

###[Compute the difference between true and clustered phenotypes]
KMeans_Ok <- (sum(kmeans_analysis[1,2],
kmeans_analysis[2,1])/sum(colSums(kmeans_analysis)[1], colSums(kmeans_analysis)[2]))*100

##### 3.2 RDA for SAMPLE 2.1 (Common Garden alone)
#####
##' [Everytime you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by
running section
##' [1.0, unless indicated otherwise]

##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##
##' [Select the individuals needed]
Info.Table <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo2.1 == "Yes"),]

##' [Extract their coordinates]
coords2<-coords2.clean[rownames(coords2.clean)%in% Info.Table$Individual,] %>%
data.frame

##' [Add the variables of the expected data type]
CSize <- as.numeric(Info.Table$Centroid_Size)
Lineage <- as.factor(Info.Table$Lineage)
Reproduction <- as.factor(Info.Table$Reproduction)

##' [Prepare and run the model]
mod1 <- rda(coords2 ~ Reproduction * Lineage * CSize)
mod0 <- rda(coords2 ~ 1)

mod.select <- ordistep(mod0, mod1, method = "both")
anova(mod.select, permutations = 9999)

##' [Check the variation explained by each variable by partial RDAs]
rda.0 <- rda(coords2 ~ Lineage + Reproduction)
anova.cca(rda.0, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.0)

rda.1 <- rda(coords2 ~ Lineage + Condition(Reproduction))
anova.cca(rda.1, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.1)

rda.2 <- rda(coords2 ~ Reproduction + Condition(Lineage))
anova.cca(rda.2, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.2)

```

```

##### 3.3 PCA for SAMPLE 1.3 & 2.2 (Figure 2 - Common Garden
& Triploids B-01) #####
##' [Everytime you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by
running section
##' [1.0, unless indicated otherwise]

##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##
##' [Select the individuals needed]
Info.Table <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo2.2 == "Yes"),]

##' [Extract their coordinates and make sure the individuals are ordered]
coords2<-coords2.clean[rownames(coords2.clean)%in% Info.Table$Individual,]
Landmarks.pc.2D.ordered <- coords2[order(row.names(coords2)), ]

##' [Now, perform the PCA analysis and check the PCs]
Landmarks.Final.pca<-prcomp(Landmarks.pc.2D.ordered)
summary(Landmarks.Final.pca)

##* Prepare the plotting of the PCA*##
##' [Create a dataframe to store the PCA's information for the plotting]
plot.data <- data.frame(PC1=Landmarks.Final.pca$x[,1],PC2=Landmarks.Final.pca$x[,2],
  PC3=Landmarks.Final.pca$x[,3],PC4=Landmarks.Final.pca$x[,4],
  PC5=Landmarks.Final.pca$x[,5],PC6=Landmarks.Final.pca$x[,6],
  PC7=Landmarks.Final.pca$x[,7],PC8=Landmarks.Final.pca$x[,8],
  PC9=Landmarks.Final.pca$x[,9],PC10=Landmarks.Final.pca$x[,10],
  Lineage=Info.Table$Lineage,

REL=paste(Info.Table$Reproduction,"_",Info.Table$Environment,"_",Info.Table$Lineage, sep =
""),
  Reproduction=Info.Table$Reproduction,
  Environment=Info.Table$Environment)

##* Plotting for the reproductive strategies *##
##' [Produce the mean reproductive strategies' shapes]
Reproduction_Mean <- unique(plot.data$REL)

mean.pop.shapes<-
matrix(data=NA,nrow=length(Reproduction_Mean),ncol=ncol(Landmarks.Final.pca$x))
for (i in 1:length(Reproduction_Mean)){
  mean.pop.shapes[i,]<-
  apply(Landmarks.Final.pca$x[plot.data[, 'REL'] ==Reproduction_Mean[i],],2,mean)
}

rownames(mean.pop.shapes) <- Reproduction_Mean

```

```

### [Store everything in a new array]
mean.data <- data.frame(PC1=mean.pop.shapes[,1],PC2=mean.pop.shapes[,2],
                        PC3=mean.pop.shapes[,3],PC4=mean.pop.shapes[,4],
                        PC5=mean.pop.shapes[,5],
                        TotalName=Reproduction_Mean,
                        Reproduction=sub("_", "", substr(Reproduction_Mean, start = 1, stop = 7),
fixed=TRUE),
                        Lineage=str_sub(Reproduction_Mean, -4,-1))

### [Put each PC's variation in an object]
p <- summary(Landmarks.Final.pca)
PC1 <- paste("PC1 (",format(round(p$importance[2,1]*100, 1), nsmall = 2),"%)", sep = "")
PC2 <- paste("PC2 (",format(round(p$importance[2,2]*100, 1), nsmall = 2),"%)", sep = "")
PC3 <- paste("PC3 (",format(round(p$importance[2,3]*100, 1), nsmall = 2),"%)", sep = "")
PC4 <- paste("PC4 (",format(round(p$importance[2,4]*100, 1), nsmall = 2),"%)", sep = "")

### [Plot time!]
### [For the first one, only the natural conditions]
Info.Table.Natural <- Info.Table[which(Info.Table$Hypo1.3 == "Yes"),]
plot.data.natural <- subset(plot.data, rownames(plot.data) %in% Info.Table.Natural$Individual)
%>% data.frame

### [For the 2nd one, only the common garden conditions]
Info.Table.CG <- Info.Table <- Info.Table[which(Info.Table$Hypo2.1 == "Yes"),]
plot.data.CG <- subset(plot.data, rownames(plot.data) %in% Info.Table.CG$Individual) %>%
data.frame

### [also separate the mean reproductive strategies' shapes per environment]
mean.data.Natural <- mean.data[grep("Natural", row.names(mean.data)),] %>% data.frame
mean.data.CG <- mean.data[grep("CommonGarden", row.names(mean.data)),] %>% data.frame

### [Here's the plot for the Natural environments]
ggplot() +
  geom_hline(yintercept = 0, color = "darkgray",linetype="dashed", linewidth=1.2)+
  geom_vline(xintercept = 0, color = "darkgray",linetype="dashed", linewidth=1.2)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, colour=Reproduction, shape=Lineage),
size=6,alpha=0.4, data=plot.data.natural)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, colour=Reproduction, shape=Lineage),
size=6,alpha=0, data=plot.data.CG)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, shape=Lineage), colour="black", size=12,
alpha=1, data=mean.data.Natural) +
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, shape=Lineage), colour="black", size=12,
alpha=0, data=mean.data.CG) +
  xlab(PC1)+

```

```

ylab(PC2)+
theme(panel.background = element_rect(fill = 'white', color = 'black'),
      legend.key = element_rect(fill = "white"))+
theme(axis.title.x = element_text(face="bold", size=15))+
theme(axis.title.y = element_text(face="bold", size=15))+
theme(axis.text.x = element_text(size=18))+
theme(axis.text.y = element_text(size=18))+
theme(legend.text = element_text(size=18))+
theme(legend.title = element_text(face="bold", size=20))+
guides(fill = guide_legend(override.aes = list(shape=21, size = 6))+
guides(shape = guide_legend(override.aes = list(fill = "black", size = 6)))+
scale_fill_manual(name = "Reproduction",
                  limits = c("Asexual", "Sexual"),
                  values = c(colors_2),
                  labels = c("Asexual", "Sexual")) +
scale_colour_manual(name = "Reproduction",
                    limits = c("Asexual", "Sexual"),
                    values = c(colors_2),
                    labels = c("Asexual", "Sexual"))+
scale_shape_manual(name = "Lineage",
                   values= c("A-11"=21, "B-01"=24))

```

##' [Now, the triploids from common garden conditions]

```

ggplot() +
  geom_hline(yintercept = 0, color = "darkgray", linetype="dashed", linewidth=1.2)+
  geom_vline(xintercept = 0, color = "darkgray", linetype="dashed", linewidth=1.2)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, colour=Reproduction, shape=Lineage),
size=6,alpha=0, data=plot.data.natural)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, colour=Reproduction, shape=Lineage),
size=6,alpha=0.4, data=plot.data.CG)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, shape=Lineage), colour="black", size=12,
alpha=0, data=mean.data.Natural) +
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, shape=Lineage), colour="black", size=12,
alpha=1, data=mean.data.CG) +
  xlab(PC1)+
  ylab(PC2)+
theme(panel.background = element_rect(fill = 'white', color = 'black'),
      legend.key = element_rect(fill = "white"))+
theme(axis.title.x = element_text(face="bold", size=15))+
theme(axis.title.y = element_text(face="bold", size=15))+
theme(axis.text.x = element_text(size=18))+
theme(axis.text.y = element_text(size=18))+
theme(legend.text = element_text(size=18))+
theme(legend.title = element_text(face="bold", size=20))+
guides(fill = guide_legend(override.aes = list(shape=21, size = 6))+
guides(shape = guide_legend(override.aes = list(fill = "black", size = 6)))+

```

```

scale_fill_manual(name = "Reproduction",
  limits = c("Asexual", "Sexual"),
  values = c(colors_2),
  labels = c("Asexual", "Sexual")) +
scale_colour_manual(name = "Reproduction",
  limits = c("Asexual", "Sexual"),
  values = c(colors_2),
  labels = c("Asexual", "Sexual"))+
scale_shape_manual(name = "Lineage",
  values= c("A-11"=21, "B-01"=24))

```

3.4 RDA and model selection for SAMPLE 2.2 (Common Garden & Triploids B-01)

[Everytime you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by running section

[1.0, unless indicated otherwise]

##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##

[Select the individuals needed]

```
Info.Table <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo2.2 == "Yes"),]
```

[Extract their coordinates and make sure the individuals are ordered]

```
coords2<-coords2.clean[rownames(coords2.clean) %in% Info.Table$Individual,] %>%
data.frame
```

[Add the variables of the expected data type]

```
CSize <- as.numeric(Info.Table$Centroid_Size)
```

```
Lineage <- as.factor(Info.Table$Lineage)
```

```
Reproduction <- as.factor(Info.Table$Reproduction)
```

```
Environment <- as.factor(Info.Table$Environment)
```

[Prepare and run the model]

```
mod1 <- rda(coords2 ~ Reproduction * Lineage * CSize * Environment)
```

```
mod0 <- rda(coords2 ~ 1)
```

```
mod.select <- ordistep(mod0, mod1, method = "both")
```

```
anova(mod.select, permutations = 9999)
```

[Check the variation explained by each variable by partial RDAs]

```
rda.0 <- rda(coords2 ~ CSize + Reproduction + Environment*Lineage)
```

```
anova.cca(rda.0, permutations = 9999)
```

```
RsquareAdj(rda.0)
```

```
rda.1 <- rda(coords2 ~ Environment:Lineage + Condition(Reproduction + CSize + Environment
+ Lineage))
anova.cca(rda.1, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.1)
```

```
rda.2 <- rda(coords2 ~ Reproduction + Condition(Environment:Lineage + CSize))
anova.cca(rda.2, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.2)
```

```
rda.3 <- rda(coords2 ~ CSize + Condition(Environment:Lineage + Reproduction))
anova.cca(rda.3, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.3)
```

```
##### 3.5 Landmarks deviation for SAMPLE 2.2 (Common Garden
& Triploids B-01) #####
```

```
##' [Everytime you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by
running section
```

```
##' [1.0, unless indicated otherwise]
```

```
##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##
```

```
##' [Select the individuals needed]
```

```
Info.Table <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo2.2 == "Yes"),]
```

```
##' [Extract their coordinates and make sure the individuals are ordered]
```

```
coords2<-coords2.clean[rownames(coords2.clean) %in% Info.Table$Individual,]
```

```
##' [Place into separate tables the asexual and sexual organisms]
```

```
Info.Table.Sex <- Info.Table[which(Info.Table$Biotype != "Asexual_Triploid"),]
```

```
Info.Table.Asex <- Info.Table[which(Info.Table$Biotype != "Sexual_Triploid"),]
```

```
##' [Collect their coordinates]
```

```
Landmarks.Asex <- coords2[rownames(coords2)%in% Info.Table.Asex$Individual,] %>%
data.frame
```

```
Landmarks.Sex <- coords2[rownames(coords2)%in% Info.Table.Sex$Individual,] %>%
data.frame
```

```
##' [Produce their mean shapes]
```

```
##' Asexuals
```

```
Mean_Shape_Asex <- mshape(as.matrix(Landmarks.Asex))
```

```
colnames(Mean_Shape_Asex) <- rep(c("X", "Y"), 49)
```

```
##' Make a loop to rebuild a X Y dataframe
```

```
impairs <- seq(from = 3, to = 98, by = 2)
```

```
Mean_Shape_Asex2 <- Mean_Shape_Asex[,1:2]
```



```

for (i in impairs) {
  Temp <- Mean_Shape_Asex[,i:(i+1)]
  Mean_Shape_Asex2 <- rbind(Mean_Shape_Asex2, Temp)
}

rownames(Mean_Shape_Asex2) <- rep(1:49)

##' Sexuals
Mean_Shape_Sex <- mshape(as.matrix(Landmarks.Sex)) %>% data.frame
colnames(Mean_Shape_Sex) <- rep(c("X", "Y"), 49)

##' Make a loop to rebuild a X Y dataframe
Mean_Shape_Sex2 <- Mean_Shape_Sex[,1:2]

for (i in impairs) {
  Temp <- Mean_Shape_Sex[,i:(i+1)]
  Mean_Shape_Sex2 <- rbind(Mean_Shape_Sex2, Temp)
}

rownames(Mean_Shape_Sex2) <- rep(1:49)

##' [Produce the fragment from sexual to asexual landmarks]
Distance_Table <- data.frame(x=Mean_Shape_Sex2[,1], y=Mean_Shape_Sex2[,2],
  xend=Mean_Shape_Asex2[,1]+((Mean_Shape_Asex2[,1]-
Mean_Shape_Sex2[,1])),
  yend=Mean_Shape_Asex2[,2]+((Mean_Shape_Asex2[,2]-
Mean_Shape_Sex2[,2])))

##' [Create a dataframe with the information for the RDA from the GPA]
RDA_DataFrame <- as.data.frame(coords2)

RDA_DataFrame[,1:98] <- lapply(RDA_DataFrame[,1:98], as.numeric)
RDA_DataFrame$CSize <- as.numeric(Info.Table$Centroid_Size)
RDA_DataFrame$Lineage <- as.factor(Info.Table$Lineage)
RDA_DataFrame$Reproduction <- as.factor(Info.Table$Reproduction)
RDA_DataFrame$Environment <- as.factor(Info.Table$Environment)

##' [Make a loop to extract the p-values]
PV_Temps <- rda(coords2[,1:2] ~ Reproduction + Condition(Environment*Lineage + CSize),
data=RDA_DataFrame)
PV_Temp2 <- anova.cca(PV_Temps, permutations = 9999)
PV_Temp2 <- PV_Temp2$`Pr(>F)`[1]

```

```

for (i in impairs) {
  PV_Temp3 <- rda(coords2[,i:(i+1)] ~ Reproduction + Condition(Environment*Lineage +
  CSize), data=RDA_DataFrame)
  PV_Temp4 <- anova.cca(PV_Temp3, permutations = 9999)
  PV_Temp4 <- PV_Temp4$`Pr(>F)`[1]
  PV_Temp2 <- cbind(PV_Temp2, PV_Temp4)
}

```

```

##' [Adjust the p-values and check which are under the 0.05 threshold]
Distance_Table <- cbind(Distance_Table, t(as.data.frame(PV_Temp2)))
colnames(Distance_Table) <- c("x", "y", "xend", "yend", "P-value_Temp")
Distance_Table$P_value <- p.adjust(Distance_Table$`P-value_Temp`, method = "bonferroni", n
= length(Distance_Table$`P-value_Temp`))

```

```

Distance_Table$Signif <- as.factor(Distance_Table$P_value<=0.0500)
Distance_Table$Signif[is.na(Distance_Table$Signif)] <- FALSE

```

```

##' [Plot the mean shapes together]
ggplot(aes(x=X, y=Y), data=Mean_Shape_Sex2)+
  geom_point(fill="NA", colour="black", shape= 21,
    size=3,alpha=0.5) +
  geom_segment(data=Distance_Table,
    aes(x=x, y=y, xend=xend, yend=yend, color=Signif),
    arrow=arrow(length = unit(0.1, "inches")))+
  ylab ("Y Coordinates")+
  xlab ("X Coordinates")+
  theme(panel.background = element_rect(fill = 'white', color = 'black'),
    legend.key = element_rect(fill = "white"))+
  theme(axis.title.x = element_text(face="bold", size=15))+
  theme(axis.title.y = element_text(face="bold", size=15))+
  theme(axis.text.x = element_text(size=12))+
  theme(axis.text.y = element_text(size=12))+
  theme(legend.text = element_text(size=12))+
  theme(legend.title = element_text(face="bold", size=15))+
  theme(legend.position = "none")+
  scale_colour_manual(name = "Significance",
    limits = c("TRUE", "FALSE"),
    values = colors_2_YesNo,
    labels = c("Signif", "Not Signif"))

```

```

##### 4.0 **SAMPLE 3** - Common Garden & B-01 - All biotypes
#####

```

```

##### 4.1 RDA and model selection SAMPLE 3 (Common Garden
& B-01 - All biotypes) #####
##' [Everytime you open a new section, make sure you clean your history and reload the data by
running section
##' [1.0, unless indicated otherwise]

##' [Here, you have to run again the precedent section (copied below) to extract the significant
landmarks in
##' [triploids]

##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE*##
##' [Select the individuals needed]
Info.Table.triploids <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo2.2 == "Yes"),]

##' [Extract their coordinates and make sure the individuals are ordered]
coords2.triploids<-coords2.clean[rownames(coords2.clean) %in%
Info.Table.triploids$Individual,]

##' [Place into separate tables the asexual and sexual organisms]
Info.Table.Sex <- Info.Table.triploids[which(Info.Table.triploids$Biotype !=
"Asexual_Triploid"),]
Info.Table.Asex <- Info.Table.triploids[which(Info.Table.triploids$Biotype !=
"Sexual_Triploid"),]

##' [Collect their coordinates]
Landmarks.Asex <- coords2.triploids[rownames(coords2.triploids)%in%
Info.Table.Asex$Individual,] %>% data.frame
Landmarks.Sex <- coords2.triploids[rownames(coords2.triploids)%in%
Info.Table.Sex$Individual,] %>% data.frame

##' [Produce their mean shapes]
##' Asexuals
Mean_Shape_Asex <- mshape(as.matrix(Landmarks.Asex))
colnames(Mean_Shape_Asex) <- rep(c("X", "Y"), 49)

##' Make a loop to rebuild a X Y dataframe
impairs <- seq(from = 3, to = 98, by = 2)
Mean_Shape_Asex2 <- Mean_Shape_Asex[,1:2]

for (i in impairs) {
  Temp <- Mean_Shape_Asex[,i:(i+1)]
  Mean_Shape_Asex2 <- rbind(Mean_Shape_Asex2, Temp)
}

rownames(Mean_Shape_Asex2) <- rep(1:49)

```

```

##' Sexuals
Mean_Shape_Sex <- mshape(as.matrix(Landmarks.Sex)) %>% data.frame
colnames(Mean_Shape_Sex) <- rep(c("X", "Y"), 49)

##' Make a loop to rebuild a X Y dataframe
Mean_Shape_Sex2 <- Mean_Shape_Sex[,1:2]

for (i in impairs) {
  Temp <- Mean_Shape_Sex[,i:(i+1)]
  Mean_Shape_Sex2 <- rbind(Mean_Shape_Sex2, Temp)
}

rownames(Mean_Shape_Sex2) <- rep(1:49)

##' [Produce the fragment from sexual to asexual landmarks]
Distance_Table <- data.frame(x=Mean_Shape_Sex2[,1], y=Mean_Shape_Sex2[,2],
                             xend=Mean_Shape_Asex2[,1]+((Mean_Shape_Asex2[,1]-
Mean_Shape_Sex2[,1])),
                             yend=Mean_Shape_Asex2[,2]+((Mean_Shape_Asex2[,2]-
Mean_Shape_Sex2[,2])))

##' [Create a dataframe with the information for the RDA from the GPA]
RDA_DataFrame <- as.data.frame(coords2.triploids)

RDA_DataFrame[,1:98] <- lapply(RDA_DataFrame[,1:98], as.numeric)
RDA_DataFrame$CSize <- as.numeric(Info.Table.triploids$Centroid_Size)
RDA_DataFrame$Lineage <- as.factor(Info.Table.triploids$Lineage)
RDA_DataFrame$Reproduction <- as.factor(Info.Table.triploids$Reproduction)
RDA_DataFrame$Environment <- as.factor(Info.Table.triploids$Environment)

##' [Make a loop to extract the p-values]
PV_Temp3 <- rda(coords2.triploids[,1:2] ~ Reproduction + Condition(Environment*Lineage +
CSize), data=RDA_DataFrame)
PV_Temp2 <- anova.cca(PV_Temp3, permutations = 9999)
PV_Temp2 <- PV_Temp2$`Pr(>F)`[1]

for (i in impairs) {
  PV_Temp3 <- rda(coords2.triploids[,i:(i+1)] ~ Reproduction + Condition(Environment*Lineage
+ CSize), data=RDA_DataFrame)
  PV_Temp4 <- anova.cca(PV_Temp3, permutations = 9999)
  PV_Temp4 <- PV_Temp4$`Pr(>F)`[1]
  PV_Temp2 <- cbind(PV_Temp2, PV_Temp4)
}

```

```

### [Adjust the p-values and check which are under the 0.05 threshold]
Distance_Table <- cbind(Distance_Table, t(as.data.frame(PV_Temp2)))
colnames(Distance_Table) <- c("x", "y", "xend", "yend", "P-value_Temp")
Distance_Table$P_value <- p.adjust(Distance_Table$`P-value_Temp`, method = "bonferroni", n
= length(Distance_Table$`P-value_Temp`))

Distance_Table$Signif <- as.factor(Distance_Table$P_value<=0.0500)
Distance_Table$Signif[is.na(Distance_Table$Signif)] <- FALSE

##* SELECTION MODEL *##

##* PULL THE INFORMATION FOR THIS SAMPLE - All SAMPLES*##
### [Select the individuals needed]
Info.Table <- Info.Table.clean %>% data.frame

### [Extract their coordinates and make sure the individuals are ordered]
coords2<-coords2.clean[rownames(coords2.clean) %in% Info.Table$Individual,] %>%
data.frame

### [Create a 3D array for later subsetting]
coords.all.3d <- arrayspecs(coords2, 49, 2)
rownames(coords.all.3d) <- c(1:49)
rownames(Distance_Table) <- c(1:49)

### [Correct the significant landmarks table]
#As a few landmarks change (borderline 0.05), it is advisable to stick to a fixed version:
Distance_Table$Signif <- c("TRUE", "FALSE", "FALSE", "FALSE",
"FALSE","TRUE","TRUE", "FALSE","TRUE",
"FALSE","FALSE", rep("FALSE", 13),
rep("TRUE", 14), rep("FALSE", 4),rep("TRUE", 7))

### [Subset to keep only significant landmarks of triploids]
Distance_Table_signif <- subset(Distance_Table, Distance_Table$Signif == TRUE)
coords_signif<-coords.all.3d[rownames(coords.all.3d) %in%
rownames(Distance_Table_signif),] %>% two.d.array

##* [Prepare the model selection and RDA]
CSize <- as.numeric(Info.Table$Centroid_Size)
Lineage <- as.factor(Info.Table$Lineage)
Reproduction <- as.factor(Info.Table$Reproduction)
Environment <- as.factor(Info.Table$Environment)
Ploidy <- as.factor(Info.Table$Ploidy)

```

```

### [Prepare and run the model]
mod1 <- rda(coords_signif ~ Reproduction * Lineage * CSize * Environment * Ploidy)
mod0 <- rda(coords_signif ~ 1)

mod.select <- ordistep(mod0, mod1, method = "both")
anova(mod.select, permutations = 9999)

### [Check the variation explained by each variable by partial RDAs]
rda.0 <- rda(coords_signif ~ CSize + Reproduction + Environment + Lineage)
anova.cca(rda.0, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.0)

rda.1 <- rda(coords_signif ~ Lineage + Condition(Reproduction + CSize + Environment))
anova.cca(rda.1, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.1)

rda.2 <- rda(coords_signif ~ Reproduction + Condition(Lineage + CSize + Environment))
anova.cca(rda.2, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.2)

rda.3 <- rda(coords_signif ~ CSize + Condition(Lineage + Reproduction + Environment))
anova.cca(rda.3, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.3)

rda.4 <- rda(coords_signif ~ Environment + Condition(Lineage + Reproduction + CSize))
anova.cca(rda.4, permutations = 9999)
RsquareAdj(rda.4)

##### 5.2 Pairwise analyses for SAMPLE 3 (Common Garden & B-01 - All biotypes) #####
### [Please run this part after the precedent section (RDA for SAMPLE 3), you'll need the objects within it!]

##* PAIRWISE in the common garden*##

### [CG & Asex]
Info.Table.CG.Asex <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo3.2 == "Yes" &
Info.Table.clean$Reproduction == "Asexual"
& Info.Table.clean$Lineage == "B-01"),]
coords2.CG.Asex <- coords_signif[rownames(coords_signif)%in%
Info.Table.CG.Asex$Individual,]

rda	CG_asex <- rda(coords2.CG.Asex ~ Ploidy, Info.Table.CG.Asex)
RsquareAdj(rda	CG_asex)
p	CG_Asex <- anova.cca(rda	CG_asex, permutations = 9999)

```

```

### [CG & Sex]
Info.Table.CG.Sex <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo3.2 == "Yes" &
Info.Table.clean$Reproduction == "Sexual"
& Info.Table.clean$Lineage != "A-11"),]
coords2.CG.Sex <-coords_signif[rownames(coords_signif)%in%
Info.Table.CG.Sex$Individual,]

rda	CG_sex <- rda(coords2.CG.Sex ~ Ploidy, Info.Table.CG.Sex)
RsquareAdj(rda	CG_sex)
p	CG_Sex <- anova.cca(rda	CG_sex, permutations = 9999)

##* PAIRWISE in the Natural environment*##

### [Na & Asex]
Info.Table.Na.Asex <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo3.3 == "Yes" &
Info.Table.clean$Reproduction == "Asexual"
& Info.Table.clean$Lineage == "B-01"),]
coords2.Na.Asex <-coords_signif[rownames(coords_signif)%in%
Info.Table.Na.Asex$Individual,]

rda_Na_asex <- rda(coords2.Na.Asex ~ Ploidy, Info.Table.Na.Asex)
RsquareAdj(rda_Na_asex)
p_Na_Asex <- anova.cca(rda_Na_asex, permutations = 9999)

### [Na & Sex]
Info.Table.Na.Sex <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Hypo3.3 == "Yes" &
Info.Table.clean$Reproduction == "Sexual"
& Info.Table.clean$Lineage != "A-11"),]
coords2.Na.Sex <-coords_signif[rownames(coords_signif)%in% Info.Table.Na.Sex$Individual,]

rda_Na_sex <- rda(coords2.Na.Sex ~ Ploidy, Info.Table.Na.Sex)
RsquareAdj(rda_Na_sex)
p_Na_Sex <- anova.cca(rda_Na_sex, permutations = 9999)

padj_pw <- p.adjust(c(p_Na_Asex$`Pr(>F)`[1],
p	CG_Asex$`Pr(>F)`[1],
p_Na_Sex$`Pr(>F)`[1],
p	CG_Sex$`Pr(>F)`[1]), method = "bonferroni")

##### 5.3 PCA for SAMPLE 3 (Common Garden & B-01 - All
biotypes) #####
##* PCA *##

### [Extract their coordinates]

```

```

##' [Make sure the landmarks are ordered]
Landmarks.pc.2D.ordered <- coords_signif[order(row.names(coords_signif)), ]

##' [Now, perform the PCA analysis and check the PCs]
Landmarks.Final.pca<-prcomp(Landmarks.pc.2D.ordered)
summary(Landmarks.Final.pca)

##* Prepare the plotting of the PCA*'#
##' [Create a dataframe to store the PCA's information for the plotting]
plot.data <- data.frame(PC1=Landmarks.Final.pca$x[,1],PC2=Landmarks.Final.pca$x[,2],
  PC3=Landmarks.Final.pca$x[,3],PC4=Landmarks.Final.pca$x[,4],
  PC5=Landmarks.Final.pca$x[,5],PC6=Landmarks.Final.pca$x[,6],
  PC7=Landmarks.Final.pca$x[,7],PC8=Landmarks.Final.pca$x[,8],
  PC9=Landmarks.Final.pca$x[,9],PC10=Landmarks.Final.pca$x[,10],
  Biotype=Info.Table.clean$Biotype,
  CSize=Info.Table.clean$Centroid_Size,
  Lineage=Info.Table.clean$Lineage,
  PREL=paste(Info.Table.clean$Ploidy,"_",Info.Table.clean$Reproduction,"_",
    Info.Table.clean$Environment,"_",Info.Table.clean$Lineage, sep = ""),
  BE=paste(Info.Table.clean$Biotype,"_",Info.Table.clean$Environment, sep = ""),
  EL=paste(Info.Table.clean$Environment,"_",Info.Table.clean$Lineage, sep = ""),
  Reproduction=Info.Table.clean$Reproduction,
  Environment=Info.Table.clean$Environment,
  FileID=Info.Table.clean$Individual)

##* Plotting for the reproductive strategies*'#
##' [Produce the mean reproduction's shapes (When using the whole complex)]
Reproduction_Mean <- unique(plot.data$PREL)

mean.pop.shapes<-
matrix(data=NA,nrow=length(Reproduction_Mean),ncol=ncol(Landmarks.Final.pca$x))
for (i in 1:length(Reproduction_Mean)){
  mean.pop.shapes[i,]<-
  apply(Landmarks.Final.pca$x[plot.data['PREL']==Reproduction_Mean[i],],2,mean)
}

rownames(mean.pop.shapes) <- Reproduction_Mean

##' [Store everything in a new array]
mean.data <- data.frame(PC1=mean.pop.shapes[,1],PC2=mean.pop.shapes[,2],
  PC3=mean.pop.shapes[,3],PC4=mean.pop.shapes[,4],
  PC5=mean.pop.shapes[,5],
  Ploidy=sub("_","", substr(Reproduction_Mean, start = 1, stop = 8), fixed=TRUE),

```



```

      Reproduction=sub("_","", substr(Reproduction_Mean, start = 9, stop = 15),
fixed=TRUE),
      Lineage=str_sub(Reproduction_Mean, -4, -1))

mean.data$Reproduction <-
replace(mean.data$Reproduction,grep("Asexua",mean.data$Reproduction),"Asexual")

##' [Put each PC's variation in an object]
p <- summary(Landmarks.Final.pca)
PC1 <- paste("PC1 (",format(round(p$importance[2,1]*100, 1), nsmall = 2),"%)", sep = "")
PC2 <- paste("PC2 (",format(round(p$importance[2,2]*100, 1), nsmall = 2),"%)", sep = "")
PC3 <- paste("PC3 (",format(round(p$importance[2,3]*100, 1), nsmall = 2),"%)", sep = "")
PC4 <- paste("PC4 (",format(round(p$importance[2,4]*100, 1), nsmall = 2),"%)", sep = "")

##' [Plot time!]
##' [For the first one, only the natural conditions]
Info.Table.Nat_Di <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Environment == "Natural" &
      Info.Table.clean$Ploidy == "Diploid"),]
plot.data.Nat_Di <- subset(plot.data, rownames(plot.data) %in%
Info.Table.clean.Nat_Di$Individual) %>% data.frame

Info.Table.clean.Nat_Tri <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Environment == "Natural"
&
      Info.Table.clean$Ploidy == "Triploid"),]
plot.data.Nat_Tri <- subset(plot.data, rownames(plot.data) %in%
Info.Table.clean.Nat_Tri$Individual) %>% data.frame

Info.Table.clean.CG_Di <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Environment ==
"CommonGarden" &
      Info.Table.clean$Ploidy == "Diploid"),]
plot.data.CG_Di <- subset(plot.data, rownames(plot.data) %in%
Info.Table.clean.CG_Di$Individual) %>% data.frame

Info.Table.clean.CG_Tri <- Info.Table.clean[which(Info.Table.clean$Environment ==
"CommonGarden" &
      Info.Table.clean$Ploidy == "Triploid"),]
plot.data.CG_Tri <- subset(plot.data, rownames(plot.data) %in%
Info.Table.clean.CG_Tri$Individual) %>% data.frame

mean.data.Nat_Di <- mean.data[which(mean.data$Ploidy == "Diploid"),] %>% data.frame
mean.data.Nat_Di <- mean.data.Nat_Di[grep("Natural", row.names(mean.data.Nat_Di)),]

mean.data.Nat_Tri <- mean.data[which(mean.data$Ploidy == "Triploid"),] %>% data.frame

```

```

mean.data.Nat_Tri <- mean.data.Nat_Tri[grep("Natural", row.names(mean.data.Nat_Tri)),]

mean.data.CG_Di <- mean.data[which(mean.data$Ploidy == "Diploid"),] %>% data.frame
mean.data.CG_Di <- mean.data.CG_Di[grep("CommonGarden",
row.names(mean.data.CG_Di)),]

mean.data.CG_Tri <- mean.data[which(mean.data$Ploidy == "Triploid"),] %>% data.frame
mean.data.CG_Tri <- mean.data.CG_Tri[grep("CommonGarden",
row.names(mean.data.CG_Tri)),]

ggplot() +
  geom_hline(yintercept = 0, color = "darkgray", linetype="dashed", linewidth=1.2)+
  geom_vline(xintercept = 0, color = "darkgray", linetype="dashed", linewidth=1.2)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, colour=Reproduction, shape=Lineage),
size=6,alpha=0, data=plot.data.Nat_Di)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, colour=Reproduction, shape=Lineage),
size=6,alpha=0.4, data=plot.data.Nat_Tri)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, colour=Reproduction, shape=Lineage),
size=6,alpha=0, data=plot.data.CG_Di) +
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, colour=Reproduction, shape=Lineage),
size=6,alpha=0, data=plot.data.CG_Tri) +

  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, shape=Lineage), colour="black", size=12,
alpha=0, data=mean.data.Nat_Di)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, shape=Lineage), colour="black", size=12,
alpha=1, data=mean.data.Nat_Tri)+
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, shape=Lineage), colour="black", size=12,
alpha=0, data=mean.data.CG_Di) +
  geom_point(aes(x=PC1,y=PC2,fill=Reproduction, shape=Lineage), colour="black", size=12,
alpha=0, data=mean.data.CG_Tri) +

  xlab(PC1)+
  ylab(PC2)+
  theme(panel.background = element_rect(fill = 'white', color = 'black'),
        legend.key = element_rect(fill = "white"))+
  theme(axis.title.x = element_text(face="bold", size=15))+
  theme(axis.title.y = element_text(face="bold", size=15))+
  theme(axis.text.x = element_text(size=18))+
  theme(axis.text.y = element_text(size=18))+
  theme(legend.text = element_text(size=18))+
  theme(legend.title = element_text(face="bold", size=20))+
  guides(fill = guide_legend(override.aes = list(shape=21, size = 6))+
  guides(shape = guide_legend(override.aes = list(fill = "black", size = 8)))+
  scale_fill_manual(name = "Reproduction",
                    limits = c("Asexual", "Sexual"),

```

```

    values = c(colors_2),
    labels = c("Asexual", "Sexual")) +
scale_colour_manual(name = "Reproduction",
  limits = c("Asexual", "Sexual"),
  values = c(colors_2),
  labels = c("Asexual", "Sexual"))+
scale_shape_manual(name = "Lineage",
  limits = c("A-11", "B-01", "Ceos"),
  labels = c("A-11", "B-01", "C. eos"),
  values= c("A-11"=21, "B-01"=24, "Ceos" = 22))

#ggsave("2n_Nat_PCA_ForGrid.png", width = 10, height = 6, dpi = 1200)
#ggsave("3n_Nat_PCA_ForGrid.png", width = 10, height = 6, dpi = 1200)
#ggsave("2n_CG_PCA_ForGrid.png", width = 10, height = 6, dpi = 1200)
#ggsave("3n_CG_PCA_ForGrid.png", width = 10, height = 6, dpi = 1200)

```