Actes du 15e colloque sur les Orchidées de la Société Française d'Orchidophilie

du 30 mai au 1er juin 2009
Montpellier, Le Corum

Comité d'organisation :
Daniel Prat, Francis Dabonneville, Philippe Feldmann, Michel Nicole, Aline Raynal-Roques, Marc-Andre Selosse, Bertrand Schatz

Coordinateurs des Actes
Daniel Prat & Bertrand Schatz

Affiche du Colloque : Conception : Francis Dabonneville
Photographies de Francis Dabonneville & Bertrand Schatz

Cahiers de la Société Française d'Orchidophilie, N° 7, Actes du 15e Colloque sur les orchidées de la Société Française d'Orchidophilie.
ISSN 0750-0386
© SFO, Paris, 2010

Certificat d'inscription à la commission paritaire N° 55828

ISBN 978-2-905734-17-4
Actes du 15e colloque sur les Orchidées de la Société Française d'Orchidophilie, D. Prat et B. Schatz, Coordinateurs, SFO, Paris, 2010, 236 p.

Société Française d'Orchidophilie
17 Quai de la Seine, 75019 Paris

Préface

Ce 15e colloque marque le 40e anniversaire de notre société, celle-ci ayant vu le jour en 1969. Notre dernier colloque se tenait il y a 10 ans à Paris en 1999, 10 ans c'est long, 10 ans c'est très loin. Il fallait que la SFO renoue avec cette traditionnelle organisation de colloques, manifestation qui a contribué à lui accorder la place prépondérante qu'elle occupe au sein des orchidophiles français et de la communauté scientifique.
C'est chose faite aujourd'hui.
Nombreux sont les thèmes qui font l'objet de communications par des intervenants dont les compétences dans le domaine de l'orchidologie ne sont plus à prouver. Parmi les participants et intervenants à ce colloque, signalons la présence de représentants venant d'au-delà de nos frontières, de l'Algérie, de l'Angleterre, de l'Italie et de la Tunisie, témoignant de l'intérêt porté à ce 15e colloque.
Les travaux et recherches présentés ici nous aideront à mieux comprendre l'orchidée, cette plante splendide mais oh combien complexe.

Remercions les initiateurs et organisateurs :

- Daniel PRAT, président de la commission scientifique de la SFO,
- Francis DABONNEVILLE, président de la SFO-Languedoc,
- Bertrand SCHATZ, chercheur CNRS,

et le comité d'organisation :

- Philippe FELDMANN,
- Michel NICOLE,
- Aline RAYNAL-ROQUE,
- Marc-André SELOSSE,

sans oublier tous les bénévoles qui ont mis la main à la pâte pour transformer cette manifestation en succès.

J'exprime toute notre gratitude pour la participation financière que nous ont apportée la Région Languedoc Roussillon et le CEFE (CNRS). Sans elle il nous aurait été difficile de monter ce projet.

En conclusion, je souhaite que les deux journées de conférences, dont les textes des communications sont réunis ici, riches d'enseignements et d'échanges multiples et fructueux qui se sont poursuivis lors de l'excursion sur le plateau de Guilhaumard, aident l'ensemble de la communauté des orchidophiles et des chercheurs concernés à progresser sur la connaissance et la protection des orchidées.

Pierre Laurenchet
Président de la SFO

SOMMAIRE

Orchidées de Languedoc, Roussillon et Aveyron

Nicole M. - **Les habitats naturels en Languedoc Roussillon et Aveyron** ……. 3

Véla E. - **Les orchidées du Languedoc à la rencontre des influences biogéographiques ibérique et tyrrhénienne** …… 4

Anglade J.P. - **Situation d'*Ophrys aranifera* Hudson 1778 en Languedoc-Roussillon et en Aveyron** …… 5

Joseph G. - **Problématique d'*Ophrys aegirtica* P. Delforge 1996** …… 11

Feldmann P., Anglade J.P., Dabonneville F., Nicole M., Souche R., Soulié A. - **Les espèces d'orchidées en Languedoc et en Aveyron : statut de menaces et enjeux de conservation** …… 16

Arnassant S., Dabonneville F., Olivier G. - **Diversité, gestion et protection des orchidées en Camargue** …… 24

Thompson J., Gauthier P., Debussche M. - **La protection des espèces rares en France : l'importance d'établir et de hiérarchiser des priorités** …… 28

Dabonneville F., Marty V. - **Les orchidées du domaine de Solan (La Bastide d'Engras, 30)** …… 29

Conservation et Cartographie

Schatz B., Geniez P. - **Variation diachronique (1985-2006) de l'habitat et des populations d'orchidées méditerranéennes** …… 31

Dusak F. - **L'Atlas des orchidées** …… 39

Munoz F. - **Approcher l'écologie des orchidées à travers un atlas : enjeux de suivi et de conservation** …… 46

Feldmann P. - **Evaluation des risques d'extinction des orchidées de France : application de la méthode de la Liste Rouge de l'UICN au niveau national** …… 51

Scappaticci G., Till-Bottraud I. - ***Epipactis fibri* Scappaticci & Robatsch : une espèce atypique et mal connue** …… 59

El Mokni R., Mahmoudi M.R., Sebei H., El Aouni M.H. - **Aperçu sur la diversité taxinomique et la distribution écologique de l'orchidoflore des régions de Kroumirie-Mogods (Tunisie septentrionale)** …… 66

Tully T. - **Démographie et histoire de vie d'*Ophrys bertolonii* : premier bilan d'un suivi décennal d'une population dans la région de Nice** …… 73

Cambecèdes J., Garcia J., Mouney L., Joseph G., Celle J., Calas J.- **Un plan de conservation pour l'orchis lacté (*Neotinea lactea* (Poir) R.M. Bateman, A.M. Pridgeon & M.W Chase) en Haute-Garonne (Midi-Pyrénées)** …… 82

Pailler T., Humeau L., Jacquemyn H., Micheneau C., Fournel J., Gauvin-Bialecki A., Martos F., Rakotoarivelo F. - **Evolution et conservation des orchidées de la Réunion** …… 84

Table ronde « Conservation et cartographie après l'atlas » …… 85

Evolution et taxonomie

Bateman R.M., Devey D.S., Malmgren S., Bradshaw E., Rudall P.J. - **Conflicting species concepts underlie perennial taxonomic controversies in *Ophrys*** …… 87

Kjellberg F., M.A. Selosse, B. Schatz - **Darwin et l'évolution des orchidées** …… 102

Prat D. - **Evolution et classification des Orchidaceae** …… 103

Bartschi H., Prat D. - **Semis in vitro de quelques *Ophrys* tardifs du sud-est de la France** 116
Gévaudan A. - **La systématique du genre *Epipactis* : cas particulier du groupe de *E. phyllanthes* G.E. Smith et sa représentation en France** 118
Riboulet C., Gatien J.L., Guillaumin J.J. - ***Epipactis exilis* (Baumann et Baumann) Delforge, espèce nouvelle pour l'Auvergne et la France** 126

Biologie des orchidées
Mondragon-Palomino M., Thieβen G. - **Pourquoi les fleurs d'orchidées sont-elles si diverses ?** 128
Bory S., Brown S., Grisoni M., Duval M.F., Besse P. - **Diversité génétique et cytogénétique des vanilliers** 144
Melki F. - **Les orchidées terrestres d'Afrique subsaharienne : présentation et biogéographie des principaux genres** 154
Roguenant A., Raynal-Roques A. - **Attracteurs étranges des orchidées australiennes** 155
Raynal-Roques A., Roguenant A. - **Le feu et les orchidées australiennes** 158
Bonnet P., Barthélémy D., Grard P., Schuiteman A., Svengsuksa B. - **Un système d'identification graphique des orchidées du Laos** 161
Hervouet J.M. - **La Société Française d'Orchidophilie à Madagascar** 170

Interactions biotiques
Selosse M.A., Dubois M.P., Roy M., Martos F., Faccio A., Bonfante P., Girlanda M. - **Avancées récentes sur les mycorhizes d'orchidée** 171
Rodda M., Ercole E., Perotto S., Girlanda M. - **Compatibilité entre champignons symbiotiques et orchidées méditerranéennes** 172
Martos F., Pailler T., Fournel J., Selosse M.A. - **L'adaptation à la vie à l'ombre chez les orchidées : étude des orchidées non-chlorophylliennes dans les régions tropicales** 180
Roy M., Selosse M.A. - **De la graine à l'adulte, de l'individu à l'espèce : des orchidées plus hétérotrophes qu'il n'y paraît ?** 186
Micheneau C. - **Pollinisation des orchidées angraecoïdes : de Darwin à aujourd'hui** 196
Schatz B., Delle-Vedove R., Juillet N., Dormont L. - **Avancées récentes sur la pollinisation chez les orchidées méditerranéennes** 197
Delle-Vedove R., Juillet N., Bessiere J.M., Pailler T., Dormont L., Schatz B. - **Couleur, odeur et succès reproducteur chez une orchidée tropicale** 204
Juillet N., Dormont L., Schatz B. - **Facilitation de pollinisation chez les orchidées trompeuses** 213

Excursion
Nicole M., Dabonneville F. - **Sortie sur le terrain du 1er juin 2009 : le plateau de Guilhaumard, en Aveyron (12)** 220

Photographies du colloque 223

Programme du colloque : communications orales et posters 229

Liste des participants 233

Index des auteurs 235

Les habitats naturels en Languedoc Roussillon et Aveyron

Michel NICOLE
5 rue des trois Teyran, 34820 Teyran
mnicole@wanadoo.fr

Abstract – Natural habitats in Languedoc-Roussillon and in Aveyron. The Languedoc-Roussillon (LR) and Aveyron (A) have a unique situation because of their geographical location, offering terrestrial habitats located in different environments: beaches and lagoons, garrigue, high causse, mountain and alpine.
The coastline of LR has a lagoon system at the interface between marine and terrestrial environments with various landscapes: grass-covered saline areas, steppes, reed beds and salt meadows. The coastal plain is a juxtaposition of open and semi-open areas which shelter temporary pools with *Marsillea*. The garrigue area, between the coastal plain and the mountains, includes the wine production area. It consists of environments including woodlands, scrubs, dry-grass lawns very rich in annual species of high patrimonial value. The LRA region of the causse, a vast plateau cut by deep canyons, consists of woodlands and lawns, particularly rich environments that harbour many species threatened by the abandonment of pastoral practices. The LRA mountain ecosystems are characterized by their central position, between Mediterranean and Atlantic regions. They consist of mountains of the Pyrenees, the Cevennes, Upper Languedoc and Lozère. These mountains include hardwood forest and softwood forests, heaths and grasslands, high altitude peat bogs, rivers, meadows and cultures, rocky areas. Finally, the alpine environment restricted to the Pyrenees is remarkable for its endemic flora distributed between Canigou and Carlit mountains. Each of these habitats is characterized by an orchid flora more or less diverse and specific in which some species are emblematic of the LRA.

Résumé – Le Languedoc-Roussillon (LR) et l'Aveyron (A) jouissent d'une situation exceptionnelle de par leur localisation géographique, proposant des habitats naturels terrestres répartis en différents milieux : littoraux et lagunaires, garrigues, grands causses, montagnards et alpins.

Le littoral du LR présente un système lagunaire à l'interface entre les milieux marins et les milieux terrestres avec ses paysages de sansouires, de steppes, de roselières et de prés salés. La plaine littorale est une juxtaposition de milieux ouverts et semi-ouverts qui abrite les mares temporaires à *Marsilea*. La zone des garrigues, entre la plaine littorale et la montagne, recouvre en particulier la zone viticole. Elle est constituée de milieux comprenant des bois, des maquis, des pelouses sèches de graminées très riches en espèces annuelles à forte valeur patrimoniale. La région des causses en LRA, vaste plateau entaillé de gorges profondes, est constituée de zones boisées et de pelouses, milieux particulièrement riches qui accueillent de nombreuses espèces menacées par l'abandon du pastoralisme. Les écosystèmes montagnards du LRA se distinguent par leur position charnière méditerranéo-atlantique. Ils comprennent les massifs des Pyrénées, des Cévennes, du Haut-Languedoc et de Lozère. Ces massifs renferment des forêts de feuillus et de conifères, landes et pelouses, tourbières d'altitude, rivières, prairies et cultures, zones rocheuses. Enfin, le milieu alpin restreint aux Pyrénées est remarquable par sa flore endémique distribuée entre les massifs du Canigou et du Carlit. Chacun de ces habitats se caractérise par une flore orchidologique plus ou moins diversifiée et/ou spécifique dont certaines espèces sont emblématiques du LRA.

Les orchidées du Languedoc à la rencontre des influences biogéographiques ibérique et tyrrhénienne

Errol VÉLA
UM2 - UMR AMAP, Bd de la Lironde, TA A-51 / PS2, 34398 Montpellier cedex 5
errol.vela@free.fr

Abstract – **Orchids from Languedoc under Iberian and Thyrrenean influences**. Orchid family respects the general biogeographic scenario admitted for the French mediterranean region. Their strict endemism is quite low as for other vascular plants and for many animal groups (notably invertebrates). Taxonomic groups of orchids are dominated by influence mainly due to the Iberian tectonic plaque and to the tyrrhenien complex. Languedoc and Provence then correspond to contact zone and to limit of distribution area of these diverses elements, with some speciation events explaining some local endemism. Some contrasted exemples in orchids have been illustrated as the couple *Orchis (Neotinea) lactea / conica*, the complex of *Orchis mascula*, the complex of *Anacamptis (Orchis) morio*, the complex of *Ophrys bertolonii*, and diverse case of endemism and limit of distribution area in *Ophrys* genus, one case of unfrequent endemism in the *Dactylorhiza* genus, and one case of notable limit of distribution area in the *Epipacti*s genus. Discussion based on the interest of protection and conservation of taxa according their marginal or central character of their distribution area in the Languedoc-Roussillon region.

Résumé – La famille des Orchidées ne fait pas exception au schéma biogéographique général qui prévaut en région méditerranéenne française. Comme les autres plantes vasculaires et aussi beaucoup de groupes animaux (invertébrés notamment), l'endémisme strict y est assez faible et les groupes taxonomiques sont dominés par des influences principalement liées à la micro-plaque ibérique d'une part et au complexe tyrrhénien d'autre part. Le Languedoc et la Provence sont donc des zones de rencontre et de limite d'aire de répartition entre ces divers éléments, avec parfois des événements de spéciation ayant abouti à un endémisme local. Des exemples contrastés sont illustrés à partir d'orchidées telles que : le couple *Neotinea lactea / conica*, le complexe d'*Orchis mascula*, le complexe d'*Anacamptis morio*, le complexe d'*Ophrys bertolonii*, divers cas d'endémisme et de limite d'aire chez le genre *Ophrys*, un cas d'endémisme peu courant chez le genre *Dactylorhiza*, et un cas de limite d'aire remarquable chez le genre *Epipactis*. Une réflexion est abordée sur l'intérêt de protection et de conservation des taxons selon le caractère marginal ou central de leur aire de répartition en Languedoc-Roussillon.

Situation d'*Ophrys aranifera* HUDSON 1778 en Languedoc-Roussillon et en Aveyron

Jean-Philippe ANGLADE
279 Chemin du Pont des Iles, 30000 Nîmes
anglade@aol.com

Abstract – Update on *Ophrys aranifera* HUDSON 1778 in Languedoc-Roussillon and Aveyron. Albeit occasionally questioned, the presence of *Ophrys aranifera* in the hinterland of Languedoc, particularly in the Grands Causses area, is currently acknowledged and well-documented.
Ophrys massiliensis – which is regarded as a mere subspecies of *Ophrys aranifera* by one of those who described it – was identified closer to the coast and within a definitely Mediterranean area about 10 years ago.
At first this taxon was shown in a limited area north of Montpellier – since we are dealing with Languedoc – but numerous recent findings have opened up new prospects so as to understand both these close entities and what is widely known as the *aranifera* complex.

Résumé – Si elle fut parfois remise en cause, la présence d'*Ophrys aranifera* dans l'arrière-pays languedocien, notamment dans la région des Grands Causses, est aujourd'hui largement admise et bien documentée.
Plus proche du littoral et en zone franchement méditerranéenne cette fois, c'est il y a une dizaine d'années que fut identifié *Ophrys massiliensis*, aujourd'hui considéré par l'un de ses co-descripteurs comme une simple sous-espèce d'*O. aranifera*.
Ce taxon ne fut d'abord mis en évidence, s'agissant du Languedoc, que dans un périmètre restreint au nord de Montpellier, mais de nombreuses observations récentes ouvrent de nouvelles perspectives sur la compréhension de ces entités proches et sur ce que l'on coutume d'appeler le « complexe *aranifera* ».

INTRODUCTION

Les mentions concernant l'ophrys araignée, *Ophrys aranifera* HUDSON 1778, en France méditerranéenne restent encore très souvent sujettes à caution du fait de la cohabitation sur ce territoire de nombreuses entités apparentées et parfois mal différenciées : *O. exaltata*, *O. litigiosa*, *O. passionis* et *O. virescens* notamment.

Presque trente ans après la présentation de Christian Raynaud au 4ème colloque SFO sur cette même problématique (Raynaud 1981), il nous a paru intéressant de faire le point sur les ophrys araignées au sens large dans la région Languedoc-Roussillon et en Aveyron, à la lumière des acquis récents… et des doutes persistants.

REPARTITION

Ophrys aranifera est une espèce d'affinité médio-européenne atlantique, l'une des rares du genre dont l'aire de répartition s'étende aussi loin vers le nord (côtes méridionales de l'Angleterre).

Largement répandue en France, avec une abondance particulière dans le Centre-Ouest et le Sud-Ouest, elle évite les régions trop froides ou aux sols acides, comme la majeure partie du Massif Central, des landes d'Aquitaine et de la Bretagne.

Dans la dition, on la recense plutôt à l'étage supra-méditerranéen et les secteurs soumis aux influences atlantiques : le Lauragais, le Razès jusqu'aux abords de Carcassonne et les

puèges des Corbières occidentales dans l'Aude, les hauteurs du Fenouillèdes et de la vallée de l'Agly dans les Pyrénées-Orientales, les Grands Causses et leurs contreforts dans le Gard, la Lozère, l'Aveyron et l'Hérault. Dans ce dernier département, des stations importantes sont connues sur les marges du Larzac entre le massif volcanique de l'Escandorgue et les Monts d'Orb (Delforge & Van Looken 1999, Hervy & al. 2002).

Bien que longtemps signalée sur tout le pourtour méditerranéen français, il fut à peu près admis que cette plante y était absente à basse altitude quand des taxons avec lesquels elle était régulièrement confondue, comme *O. exaltata* « à périanthe vert » ou *O. passionis*, ont été mieux cernés (Bournérias 1998). Cependant, à la fin des années 1990, des populations d'un curieux « *Ophrys cf. aranifera* » à la floraison très précoce ont été répertoriées dans des milieux strictement méditerranéens, d'abord dans les Calanques et les collines littorales entre Marseille et Toulon dans le Var et les Bouches-du-Rhône, puis sur une bonne partie des Alpes-Maritimes, et enfin sur une zone assez limitée des environs de l'Hortus et du Pic Saint-Loup dans l'Hérault et le Gard (Véla 2007).

Figure 1. *Ophrys aranifera* s.l. et un olivier à Les Mages (30) le 29 mars 2008. (Photo J.P. Anglade)

Les similitudes avec l'*Ophrys aranifera* médio-européen s'avérant de plus en plus manifestes au fil des observations, il fut rapidement proposé de ramener ce taxon, décrit dans un premier temps au rang d'espèce sous le nom d'ophrys de Marseille, *Ophrys massiliensis* VIGLIONE & VELA 1999, en sous-espèce d'*O. aranifera*, combinaison validée par Véla en 2007.

Le statut d'*O. aranifera* subsp. *massiliensis* est légitimé par quelques divergences morphologiques mineures, une floraison plus hâtive et une aire de répartition globalement séparée, du moins dans l'Ouest provençal où ce dernier est cantonné sur le littoral tandis qu'*O. aranifera s. str.* n'est cité qu'à partir du Grand Luberon (Delforge & Viglione 2001, Véla 2007). En Languedoc, le hiatus géographique est apparu d'emblée bien moins important, et des observations récentes sont venues le réduire encore.

Nouvelles localisations dans le Gard et l'Hérault

Dès la découverte de l'ophrys de Marseille dans l'Hérault en 2000, un effort de prospection accru s'est exercé en direction des sites potentiellement favorables à la présence de ce taxon dans la région.

Il s'est avéré que les garrigues à romarin, installées à des altitudes comprises entre 150 et 300 mètres sous couvert de pins d'Alep et sur des reliefs marneux souvent profondément

érodés, constituaient ici son milieu de prédilection, la plante semblant trouver dans cet habitat particulier à la fois une certaine humidité, une protection contre les rigueurs de l'hiver, et une faible concurrence de la strate herbacée (Nicole & Anglade 2007). C'est ainsi que quelques stations de ce type, notamment dans la région de Sommières dans le Gard, ont révélé la présence de cet ophrys quelque peu à l'écart de son aire initialement circonscrite aux pinèdes claires du quadrilatère compris entre Saint-Mathieu-de-Tréviers, Lauret, Vacquières et Fontanès, au nord de Montpellier.

Dans des conditions stationnelles différentes, des plantes connues depuis plusieurs années près de Ganges, à la frontière du Gard et de l'Hérault (Francis Dabonneville, *comm. pers.*), ont également été rapprochées récemment d'*O. aranifera* subsp. *massiliensis*. Là encore, l'altitude est faible, mais nous sommes sur calcaire plus compact, au bas des gorges creusées par la Vis avant sa confluence avec le fleuve Hérault, biotope vertical rappelant certaines stations de la vallée du Var dans les Alpes-Maritimes (Véla 2007).

Par ailleurs, au printemps 2006, d'importantes populations d'*O. aranifera s. l.* ont été mises à jour sur un assez vaste territoire de l'arrondissement d'Alès dans le nord du Gard. Les plantes colonisent ici principalement des milieux ouverts et notamment d'anciennes oliveraies. Fait notable, leur floraison intervient plus tardivement que celles des *O. exaltata* subsp. *marzuola* et O. *litigiosa* avec lesquels elles cohabitent étroitement. Cette écologie et cette phénologie, assez inhabituelles en Languedoc à l'étage méso-méditerranéen, ont troublé les observateurs locaux et compliqué dans une certaine mesure le diagnostic précis de ces populations.

Sous-espèce *aranifera* ou sous-espèce *massiliensis* ?

La grande précocité d'*O. aranifera* subsp. *massiliensis* est l'un des aspects censés distinguer ce taxon de la sous-espèce nominale, et il est fait mention de quelques individus fleurissant effectivement au cœur de l'hiver, mi-janvier les années favorables sur certains sites héraultais (Feldmann 2007), plus tôt encore dans la région de Marseille ou de Nice (Véla 2007).

Il apparaît cependant que l'optimum de floraison est plutôt centré, en Languedoc, sur la première quinzaine de mars, les dernières fleurs s'attardant jusque vers mi-avril, ce qui en fait tout de même l'un des tout premiers ophrys à s'épanouir en zone de garrigue, avant ou en même temps qu'*O. exaltata* et *O. litigiosa*.

Compte tenu de leur écologie, les populations caussenardes attribuées à *O. aranifera s. str.* sont également très hâtives, comme ce fut d'ailleurs noté par Delforge & Van Looken (1999). A plus de 500 mètres d'altitude, sur d'anciens parcours à moutons envahis par le buis, elles peuvent en effet commencer à fleurir à la fin du mois de mars, avant même *Orchis mascula* et *Ophrys litigiosa*, s'exposant alors parfois aux gelées de printemps, et sont pour la plupart déjà fanées début mai.

Pourtant, *O. aranifera s. str.* n'est habituellement pas des plus précoces. Sur la façade atlantique, dans le Sud-Ouest par exemple, alors que la saison des orchidées commence presque aussi tôt que dans le Midi méditerranéen, il ne fleurit généralement pas avant début avril, devancé par les *O. exaltata* et *O. litigiosa* sympatriques, une situation donc comparable à celle rencontrée dans le secteur d'Alès, en zone méditerranéenne.

S'agissant de la morphologie, des mesures effectuées dans l'Hérault font état de fleurs plutôt grandes chez les plantes de la périphérie des Causses, avec des labelles mesurant en moyenne 5 mm de plus que chez les plantes attribuées à *O. aranifera* subsp. *massiliensis* (Hervy & al. 2002), valeurs conformes à celles relevées par Véla (2007).

Les autres caractères morphologiques paraissent toutefois relativement réguliers quel que soit le secteur géographique. Les différences sont donc peu perceptibles entre les deux sous-espèces d'*O. aranifera*, et les mêmes phénotypes se retrouvent indistinctement dans

toutes les populations de la zone d'étude. On remarque ainsi la fréquence d'un morphe s'illustrant par des fleurs au labelle triangulaire, les bords repliés au sommet et la base marquée de larges gibbosités.

Le champ basal n'est pas toujours nettement plus clair que le reste du labelle, critère pourtant considéré comme déterminant pour séparer l'ophrys araignée des autres taxons de la section *Araniferae* en France (Bournérias & Prat 2005). La ressemblance de tels individus avec *O. exaltata* subsp. *marzuola* peut laisser perplexe les observateurs les plus expérimentés, d'autant que les deux espèces forment des colonies mêlées, comme nous l'avons vu, sur certains sites languedociens de la zone de garrigue, une configuration rare, semble-t-il, en Provence, mais commune dans d'autres régions méridionales, la Gascogne ou le Quercy par exemple. Le critère de l'angle d'inclinaison du gynostème par rapport au labelle, fermé pour *O. aranifera*, ouvert pour *O. exaltata*, aussi pertinent soit-il habituellement dans l'aide à la détermination des ophrys araignées au sens large (Véla 2007), ne paraît pas non plus toujours discriminant pour certaines populations.

Les problèmes d'identification apparaissent également avec *O. litigiosa*, taxon avec lequel *O. aranifera* semble avoir des affinités fortes sur l'ensemble de son aire de répartition. Les plantes morphologiquement intermédiaires entre les deux entités sont en effet fréquentes à l'étage supra-méditerranéen, sur les Causses en particulier. Elles sont relayées, selon un continuum de variations, par des individus montrant des caractères apparemment empruntés à *O. passionis* et peut-être localement d'autres ophrys comme *O. aveyronensis*. Ces plantes, d'aspect fort variable et parfois très colorées, souvent nommées de manière discutable *O. virescens*, matérialisent probablement la permanence des flux géniques interconnectant tous ces taxons proches.

CONCLUSION

En dépit de ces difficultés, somme toute banales dans le genre *Ophrys* où les barrières isolant les différentes « espèces » semblent très peu étanches, l'ophrys araignée peut généralement être reconnu sans ambiguïté sur de nombreux sites de la région. Il s'avère donc assez répandu, y compris à l'étage méso-méditerranéen, en particulier dans les départements du Gard et de l'Hérault, et nul doute que de nombreuses nouvelles stations restent à découvrir.

Pour autant, les comparaisons des données morphologiques, phénologiques et chorologiques ne permettent pas d'établir ici une séparation nette entre *O. aranifera* subsp. *aranifera* et *O. aranifera* subsp. *massiliensis*, les « ponts » n'étant probablement pas rompus entre les populations d'affinités médio-européennes et les populations sub-littorales.

Cette situation est à rapprocher de celle des Alpes-Maritimes où, selon Véla, seul l'Ophrys de Marseille serait présent depuis le niveau de la mer jusqu'à 800 mètres d'altitude.

Remerciements

Merci à Errol Véla, Jean-Marc Lewin, Francis Dabonneville, André Soulié, Michel Nicole, Rémy Souche pour les compléments d'informations ; merci à Jérôme Casanova pour la traduction du résumé.

Bibliographie

Bournérias M. 1998. *Les orchidées de France, Belgique et Luxembourg*. 1ère édition. Editions Biotope, Collection Parthénope. 416 p.

Bournérias M. & Prat D. 2005. *Les orchidées de France, Belgique et Luxembourg*. 2ème édition. Editions Biotope, Collection Parthénope. 504 p.

Delforge P. 2005. *Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient.* 3ème édition. Editions Delachaux et Niestlé.

Delforge P. & Van Looken H. 1999. *Note sur la présence d'Ophrys sphegodes MILLER 1768 dans le département de l'Hérault (France).* Naturalistes Belges 80 : 113-119.

Delforge P. & Viglione J. 2001. *Note sur la répartition d'Ophrys sphegodes MILLER 1768 et d'Ophrys virescens PHILIPPE ex GRENIER 1859 en Provence.* Naturalistes Belges 82 : 119-129.

Devillers-Terschuren J. & Devillers P. 1988. *Les Ophrys « arachnitiformes » du bassin méditerranéen occidental*. Naturalistes Belges 69 : 98-112.

Feldmann P. 2007. *Une floraison précoce d'Ophrys dans l'Hérault : un effet du changement climatique* ? L'Orchidophile 173 : 111-116

Hervy J.-P., Nicole M. & Delvare G. 2002. *Données récentes sur les orchidées de l'Hérault (France).* L'Orchidophile 152 : 145-154.

Nicole M. & Anglade J.-P. 2007. *Ecologie d'Ophrys massiliensis dans l'Hérault*. Bull. Soc. Franç. Orchid. du Languedoc 4 : 16-17.

Raynaud C. 1981. *Problèmes et variabilité d'Ophrys sphegodes MILL. Dans une station remarquable des environs de Montpellier*. Coll. Soc. Franç. Orchidophilie 4 (1980) : 57-69.

Souche R. 2009. *Orchidées de Genova à Barcelona*. Editions Sococor. 228 p.

Véla E. 2007. *Révision taxonomique de l'Ophrys de Marseille (Orchidaceae), Ophrys aranifera subsp. massiliensis (VIGLIONE & VELA) comb. nova : un essai de systématique intégratrice*. Candollea 62 : 109-122.

Viglione J. & Véla E. 1999. *Un taxon précoce à petites fleurs du groupe d'Ophrys sphegodes (Orchidaceae) sur le littoral provençal (SE-France) : Ophrys masilliensis sp. nov*. L'Orchidophile 135 : 12-18.

Figure 2. *Ophrys aranifera*, le 29 mars 2008 à Les Mages (30) (à gauche) et le 10 avril 2008 à Joncels (34) (à droite). (Photos J.P. Anglade)

Figure 3. Hybride *Ophrys aranifera* x *O. litigiosa* (à gauche) et hybride *Ophrys litigiosa* x *O. passionis* (à droite) le 13 mai 2007 au Guilhaumard (12). (Photos J.P. Anglade)

Problématique de l'*Ophrys aegirtica* P. Delforge 1996

Gérard JOSEPH
3 rue Garcia Lorca, 31520 Ramonville
gerard.joseph@sfr.fr

Abstract – Questionnement on *Ophrys aegirtica* P. Delforge 1996. *Ophrys aegirtica* was initially described by Pierre Delforge in 1996, as an *Ophrys fuciflora* with a late flowering and with large flowers, endemic of the southwest of France (31, 32, and 65). Since its description in 1996, it was identified in numerous departments of the southeast of France and along the Rhone valley.
Due to these new observations, stations of *Ophrys aegirtica*, which were initially isolated geographically, are today close to those of *Ophrys fuciflora*. This seems responsible of identification problems for *Ophrys* in southeastern France.
To admit these new discoveries in southeast as *Ophrys aegirtica*, the initial description was even modified, and particularly the flower measurements considerably increased.
We can thus ask us the following questions:
- In what *Ophrys aegirtica*, already polymorphic and much more since the addition of plants found in southern France, does differ from *Ophrys fuciflora*?
- Why do we not consider *Ophrys aegirtica* as a single subspecies of *Ophrys fuciflora*?
Furthermore, species of the *Fuciflorae* series were recently described, and some others species will to be soon, still in southeastern France; this complicates much more problems of identification.
We can really wonder if this inflation of species number is very reasonable and does not harm indirectly Orchid protection.

Résumé – *Ophrys aegirtica* a initialement été décrit par Pierre Delforge en 1996, comme une forme tardive et de grande taille d'*Ophrys fuciflora*, endémique du sud-ouest de la France (31, 32, et 65). Depuis sa description en 1996, il a été identifié dans de nombreux départements du sud-est de la France et le long de la vallée du Rhône.

De ce fait, les stations d'*Ophrys aegirtica*, initialement isolées géographiquement, se retrouvent aujourd'hui en contact avec celles d'*Ophrys fuciflora*, ce qui semble poser des problèmes d'identification dans le sud-est de la France.

Pour faire entrer ces nouvelles découvertes du Sud-est sous le nom d'*Ophrys aegirtica*, la description initiale a même été modifiée, et en particulier les mensurations de la fleur ont été considérablement augmentées.

On peut donc se poser les questions suivantes :

- en quoi *Ophrys aegirtica*, déjà polymorphe et encore plus depuis l'adjonction des taxons trouvés dans le sud de la France, diffère-t-il d'*Ophrys fuciflora*.

- pourquoi ne pas faire d'*Ophrys aegirtica*, une simple sous-espèce d'*Ophrys fuciflora*.

De plus, d'autres espèces de la série *Fuciflorae* ont été décrites depuis, ou sont en passe de l'être, toujours dans le sud-est de la France, ce qui complique grandement les problèmes d'identification.

On peut réellement se demander si cette inflation d'espèces est bien raisonnable et ne nuit pas indirectement à la protection des Orchidées.

INTRODUCTION

Voilà plus de dix ans que l'***Ophrys aegirtica*** a été décrit par Delforge (1996). Et si à cette époque, j'avais du mal à différencier ce nouveau taxon d'*O. fuciflora*, cela pouvait se justifier du fait de l'isolement de ces populations du sud-ouest, du reste de celles d'*O. fuciflora* en 1996 (voir carte de répartition). Je connaissais d'ailleurs bien ce taxon que j'avais déjà observé en Haute-Garonne (photos A et B) et qui m'avait laissé perplexe lors de sa découverte en 1986, car loin de son aire de répartition habituelle.

Peu avant la parution de sa description d'***Ophrys aegirtica***, en 1996, P. Delforge m'avait contacté au sujet de mes observations d'*Ophrys fuciflora* (à l'époque) en Haute-Garonne pour compléter ses observations faites alors uniquement dans le Gers et les Hautes-Pyrénées. Mes observations de cette espèce à l'extrémité est de la Haute-Garonne (région de Revel), suscitaient des interrogations. Dans sa deuxième publication (Delforge & Gévaudan, 1998), ces populations de Revel ont finalement été rapportées à *Ophrys aegirtica*.

DISCUSSION

En 1998, la découverte de l'***Ophrys aegirtica*** dans le sud-est (Delforge & Gévaudan, 1998), dans la Drôme (26), le Var (83) et le Vaucluse (84), loin de son aire de répartition initiale, centrée sur le Gers, a conduit P. Delforge à modifier sa description**.** Cet ***Ophrys*** a curieusement vu ses mensurations augmentées de façon notoire entre ces deux descriptions :

- la taille de la plante augmentait en moyenne de 35% (passant de 28,5 à 35cm),
- la longueur du labelle augmentait en moyenne de 16% (passant de 11,2 à 13mm),
- la largeur du labelle augmentait en moyenne de 13% (passant de 13,3 à 15mm),

Alors que les autres mensurations de la plante ne variaient pas, ou très peu.

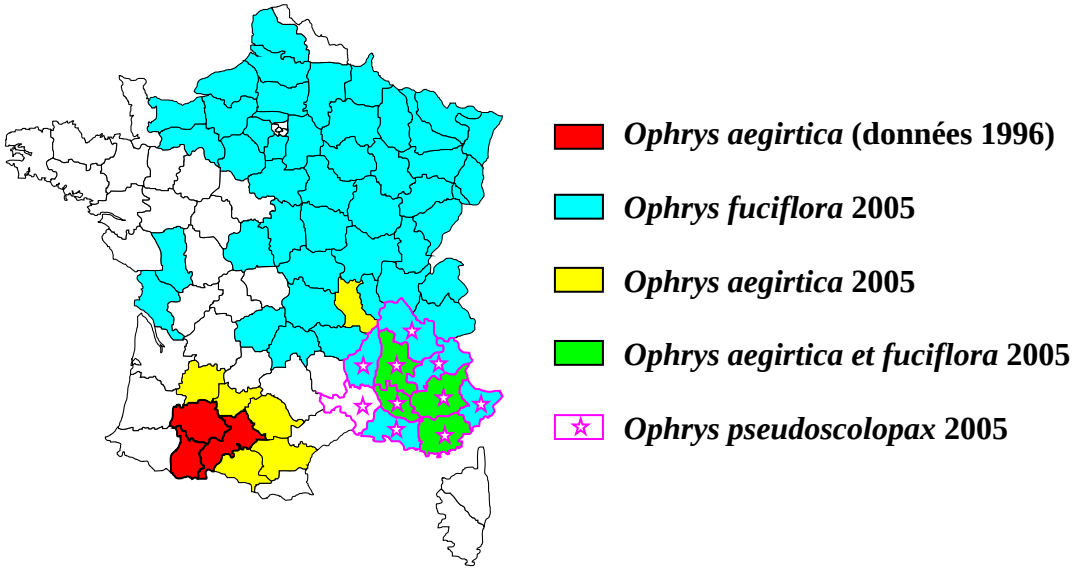
Ce qui m'avait alors étonné en 1996, c'était qu'un faible écart de mensurations du labelle, entre *O. aegirtica* et *O. fuciflora*, avait suffi, entre autres, à P. Delforge (1996) à créer deux espèces différentes, alors qu'en 1998, un écart plus important entre les nouveaux *O. aegirtica* du sud-est et ceux du sud-ouest, l'avait incité à les regrouper. Un des autres critères retenu en 1996 était l'écart de phénologie relative entre ces deux populations. Ces deux espèces qui fleurissaient quasiment à la même période, mais l'une au sud et l'autre plus au nord, l'avait conduit à dire que *O. aegirtica* (du sud) était plus précoce que *O. fuciflora* (du nord). Cette dernière observation, à mon avis, est très discutable car si les écarts de floraison sont importants pour les espèces précoces, entre le nord et le sud, par contre ils sont en général quasi-nul pour les espèces plus tardives (allant même jusqu'à s'inverser pour une espèce automnale, comme les *Spiranthes spiralis* fleurissant bien plus tôt dans le Nord que dans le Sud !). Donc, personnellement, je ne considère pas que la floraison d'*O. aegirtica* soit bien plus tardive que celle d'*O. fuciflora*. Il ne reste alors plus qu'un caractère encore bien distinctif pour différencier ces deux espèces : la coloration orangée du champ basal chez *O. aegirtica*.

Par la suite, *O. aegirtica* a été observée dans différents départements du sud-ouest comme, le Lot-et-Garonne (47) (Esnaut, 2000), le Tarn-et-Garonne (82) (Lemoine & Pessotto), le Tarn (81) (Durand, 1999), et plus récemment, j'ai aussi eu l'occasion de l'observer dans l'Aude (11) (photo C) en 2004 et dans l'Ariège (09) (photo D) en 2005.

Dans le sud-est de la France, un nouveau taxon a été découvert, *O. pseudoscolopax* (Moggridge) H.F. Paulus et Gack (De Martino & Centurione, 2002), synonyme d'*Ophrys linearis* Delforge, Devillers et Devillers-Terschuren 2000 (Delforge *et al.*, 2000), qui a pour caractéristique d'avoir, de longs pétales, un labelle légèrement plus petit que celui d'*O. fuciflora* et qui, de plus, d'après Bournérias & Prat (2005), pourrait correspondre à plusieurs taxons différents, ce que semble également montrer Souche (2004). On voit que, la situation est encore bien plus complexe dans le sud-est, du fait de l'existence, dans certains

départements, d'au moins trois taxons différents du «groupe *fuciflora* s.l.» à grandes fleurs comme on peut le voir sur la carte de répartition de ces différents taxons.

Cartes de répartition en 2005 de quelques *Ophrys* du«groupe *fuciflora* s.l.»
(Carte réalisée à partir des données de Bournérias & Prat, 2005)



Un des principaux arguments qui avait conduit entre-autre Delforge (1996) à séparer *O. aegirtica* d'*O. fuciflora*, aires disjointes entre les deux espèces, apparaît donc caduc en 2006. Alors, ne faudrait-il pas mieux considérer qu'*O. aegirtica* et *O. fuciflora* ne sont qu'une seule et même espèce, ou de faire d'*O. aegirtica* une sous-espèce d'*O. fuciflora*, ou bien adopter la démarche de Souche (2004), et réserver cette appellation uniquement aux *Ophrys* du sud-ouest ?

Cet auteur a d'ailleurs dénommé ce taxon *O. truncata*, ancien nom donné par Dulac (1867) dans la Flore du département des Hautes-Pyrénées en synonymie d'*O. arachnites* Reich., qui correspond à *O. fuciflora* dans la BDNFF v 4.02. De plus, R. Souche considère le nom d'*O. truncata* comme valide, tout comme la BDNFF, contrairement à Delforge (1996). Ceci l'a obligé à nommer différemment les taxons du sud-est de la France qui, de plus, pour lui correspondraient au moins à deux espèces différentes :

- *O. fuciflora* tardif du Vaucluse, nom provisoire affecté aux plantes du Vaucluse (Souche, 2004).
- et *O. fuciflora* subsp. *lorenae*, pour ceux de la côte méditerranéenne (13, 84 et 06), une espèce italienne décrite par De Martino & Centurione en 2002 (Souche, 2004).

Cette nouvelle espèce ne semble pas bien correspondre aux plantes d'*O. aegirtica* du Var qui m'ont été montrées en 2002 par un ami botaniste de la région d'Hyères (photos E et F) et qui sont caractérisées par un labelle assez différent, bien plus grand et plus trapézoïdal que celui d'O. aegirtica du sud-ouest (rappelant même par certains caractères du labelle, *Ophrys apulica* des Pouilles, en Italie). En effet, sur plus de deux cents pieds observés sur ces deux stations du Var, je n'ai jamais observé de labelle à gibbosités plus marquées et à tendance «scolopaxoïde» comme on l'observe très fréquemment dans le Sud-ouest.

Et pour compliquer tout cela, de nouvelles espèces «groupe *fuciflora* s.l.» ont été décrites par la suite par P. Delforge:

- en 2000, *O. linearis* (Delforge *et al.*, 2000)
- en 2006, dans la Drôme, *O. druentica* l'Ophrys de la Durance (Delforge & Viglione, 2006), floraison fin mai aussi !

Et P. Delforge dans son dernier ouvrage (Delforge, 2007, p 223 à 228) ne comptabilise pas moins de six espèces du «groupe *fuciflora* s.l.», dans le sud-est de la France : *O. aegirtica, O. druentica, O. linearis, O. brachyotes, O. gracilis* et même *O. fuciflora* (avec un point d'interrogation).

Pour illustrer toutes ces nouvelles espèces, voir leurs dates relatives de floraison et avoir toutes les références bibliographiques, vous pouvez aller sur internet voir le site de James Mast de Maeght.

CONCLUSION

En conclusion, si dans le sud-ouest la situation semble simple pour l'instant, du fait de l'existence d'un seul taxon du groupe *fuciflora*, *O. aegirtica* (que personnellement je préférerais considérer en tant que sous-espèce qui pourrait s'appeler par exemple, *O. fuciflora* subsp. *truncata*), par contre dans le sud-est, si je doute de l'existence d'*O. aegirtica* (d'après les stations que je connais du Var), je reste perplexe devant la prolifération des taxons du «groupe *fuciflora* s.l.», principalement basée sur des variations infimes de taille et de période de floraison.

A quand un regroupement de tous ces taxons, ou à la création de sous espèces d'*O. fuciflora* comme le font les orchidophiles allemands, anglais, espagnols, italiens … ?

Et personnellement, je pense aussi que la multiplication des espèces nuit gravement à la protection des orchidées, car une espèce protégée peut perdre son statut par son changement de nom.

Bibliographie

BDNFF v 4.02 - http://www.tela-botanica.org/

Bournérias M. & Prat D. 2005. *Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg*. Edition Biotope, collection Parthénope. 504 p.

De Martino E. & Centurione N. 2002.- *Pauca dicantur ut multum retinetur*: specie biologica, tassonomica, evoluzionistica o fenetista? *Ophrys fuciflora* subsp. *lorenae* De Martino & Centurione subsp. nov. *J. Eur. Orch.* 34: 583-594.

Delforge P. 1996. L'Ophrys du Gers, *Ophrys aegirtica*, une espèce méconnue de la flore française. *Natural. Belges* 77 (Orchid. 9) : 191-217.

Delforge P. et Gévaudan A. 1998. Nouvelles données sur la répartition d'*Ophrys aegirtica* P. Delforge en France. *Natural. Belges* 79 (Orchid. 11) : 81-98.

Delforge P., Devillers P. & Devillers-Terschuren J. 2000. *Ophrys linearis*, le nom correct au rang spécifique de l'*Ophrys "fuciflora* à longs pétales" du Sud-est de la France. *Natural. Belges* 81 (Orchid. 13) : 145-156.

Delforge P. & Viglione, J. 2006. L'Ophrys de la Durance, *Ophrys druentica* sp. nova. *Natural. Belges* 87 (Orchid. 19) : 121-140.

Delforge P. 2007. *Guide des orchidées de France, Suisse et Benelux***.** Edition Delachaux et Niestle, collection : Guides du Naturaliste, 288 p.

Dulac J. 1867. *Flore du département des Hautes-Pyrénées*.

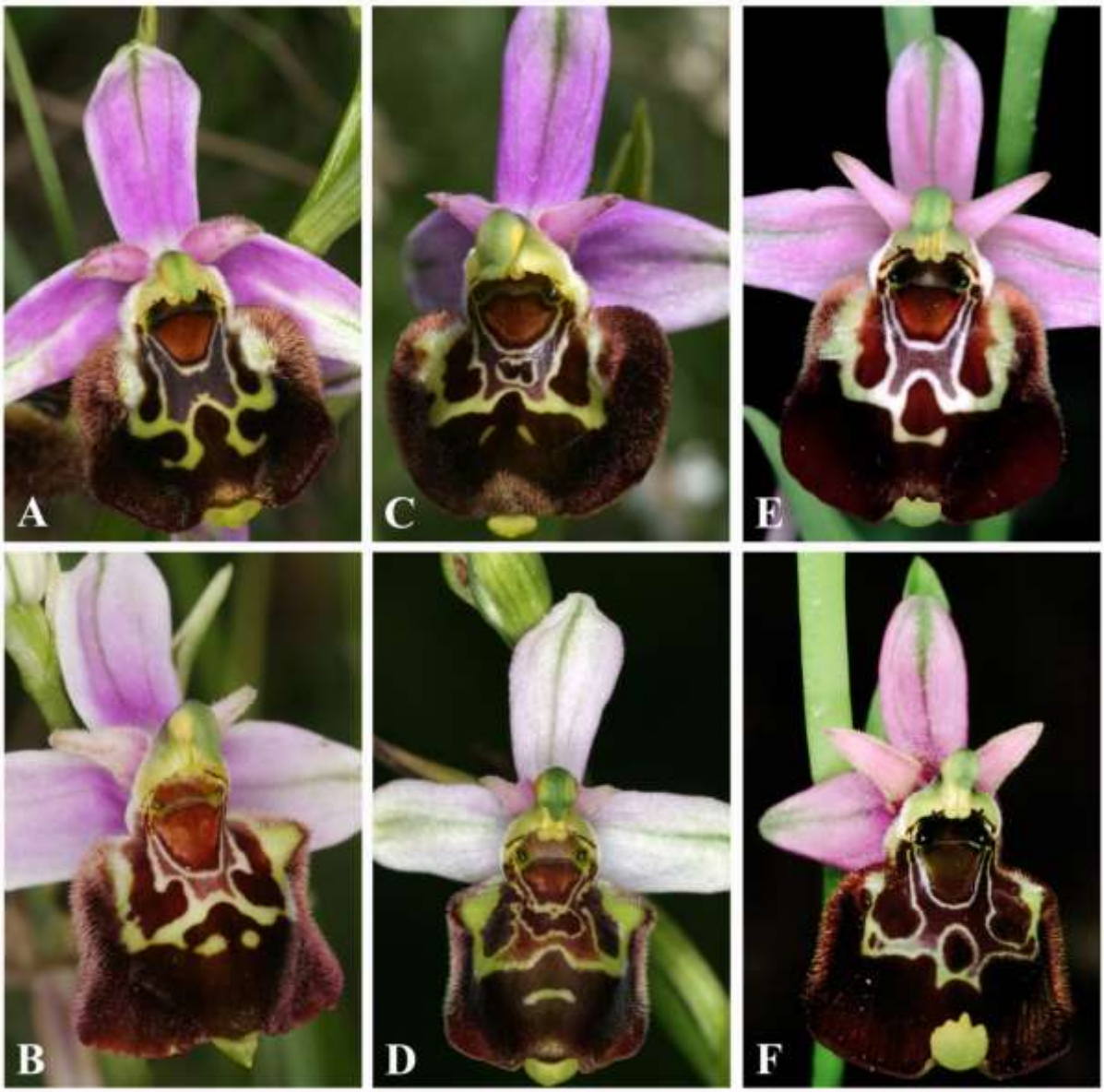
Durand P. 1999. *Ophrys aegirtica* P. Delforge 1996, dans le département du Tarn (81, France). *Natural. Belges* 80 (Orchid. 12) : 230-232.

Esnault S. 2000. Présence et protection de l'*Ophrys aegirtica* dans le Lot-et-Garonne. *L'Orchidophile* 141 : 74.

Lemoine B. & Pessotto L. - http://perso.orange.fr/liliane.pessotto/index-orchidees.html.

Mast de Maeght J. - www.ophrys.be/.

Souche R. 2004. *Les orchidées sauvages de France grandeur nature* - Les Editions du Pélican/Paris, 340 p.



Légende des Photos d'*Ophrys aegirtica.* A. St Félix-Lauragais (31) 05/06/2005; B. Montbernard (31) 11/06/2005; C. St Gaudéric (11) 18/06/2005; D. Malegoude (09) 02/07/2005; E. Hyères (83) 24/05/2002; F. Carqueiranne (83) 25/05/02. (Photos G. Joseph)

Les espèces d'orchidées en Languedoc et en Aveyron : statut de menaces et enjeux de conservation

Philippe FELDMANN, Jean-Philippe ANGLADE, Francis DABONNEVILLE, Michel NICOLE, Rémy SOUCHE & André SOULIE
Société Française d'Orchidophilie du Languedoc (SFOL), 903 Chemin du Pied du Bon Dieu, 30000 Nîmes
http://pagesperso-orange.fr/michel.nicole/
philippe.feldmann@sfr.fr

Abstract – Languedoc and Aveyron's orchid species: threats levels and conservation stakes. Languedoc and Aveyron regions are among the richest French areas for orchid species, with 92 recorded taxa. This is a consequence of the diversity of ecosystems and climatic conditions, ranging from sea-level and Mediterranean areas to the rainiest place of France located in the « Cevennes ». The threats level of the orchid species has been settled using the method of risks extinction assessment of the IUCN red list applied at the regional level, improved by taking into account the importance of these local orchids' populations for the whole species. Beside the IUCN red list categories, the following classes of responsibility are proposed:

- L+, the locally threatened species, with nationally important populations (10 taxa) ;
- L-, the locally threatened species, with nationally less important populations (21 taxa) ;
- N+, the locally non threatened species, with nationally important populations (8 taxa) ;
- N-, the locally non threatened species, with nationally less important populations (43 taxa) ;
- CC, The species locally considered as of minor importance (4 taxa) but for which the global warming could make the region become of significant importance for the species adaptation to changes.

The classes L+, L-, N+ and CC count therefore 42 taxa for which the region has a specific responsibility for their global future.

Résumé – Le Languedoc et l'Aveyron possèdent, avec 92 taxons répertoriés, une des flores d'orchidées les plus riches de France grâce à la diversité de leurs milieux et des climats liés, allant du niveau de la mer et des zones sèches méditerranéennes jusqu'au massif le plus arrosé de France dans les Cévennes. Le statut de menaces de ces taxons a été déterminé en utilisant la méthode de l'évaluation des risques d'extinction de la liste rouge de l'UICN appliquée au niveau régional complétée avec une caractérisation de l'importance des populations locales pour l'espèce.

A côté des catégories de la liste rouge de l'UICN, les classes de responsabilité suivantes ont été distinguées :

- L+, les taxons localement menacés avec des populations d'importance au moins nationale (10) ;
- L-, les taxons localement menacés avec des populations de moindre importance nationale (21) ;
- N+, les taxons localement non menacés avec des populations d'importance au moins nationale (8) ;
- N-, les taxons localement non menacés avec des populations de moindre importance nationale (43) ;

• CC, pour des espèces considérées comme localement marginales (4) mais où l'impact du réchauffement climatique pourrait conférer à la région une importance particulière pour leur permettre de s'adapter à ces changements.
Les classes L+, L-, N+ et CC regroupent donc 42 taxons pour lesquels la région porte une responsabilité particulière de conservation.

INTRODUCTION

Les orchidées du sud de la France présentent une forte diversité par rapport au reste du territoire national ce qui est en phase avec la richesse élevée de la flore de ces régions.

Cette diversité est néanmoins fragile et soumise à de nombreuses menaces locales mais aussi plus globales, toutes liées aux activités humaines. La question se pose alors d'identifier et de mettre en œuvre les actions assurant l'avenir des espaces et des espèces du Languedoc et de l'Aveyron. Cela suppose d'avoir une démarche efficace, c'est-à-dire allant au-delà de la nécessaire description des enjeux et de la situation, mais aussi pragmatique en optimisant les efforts et l'utilisation des moyens disponibles qui sont toujours limités. Pour cela les éléments de diagnostic et d'aides à la décision doivent pouvoir être fournis à tous les acteurs de la gestion des espaces et des espèces.

Risques d'extinction et classes de responsabilité

Afin d'évaluer le niveau de menaces et de contribuer à hiérarchiser les priorités de conservation, les listes rouges sont des outils reconnus de plus en plus utilisés. L'application au niveau régional de la liste rouge de l'UICN permet, moyennant certaines précautions, d'évaluer avec une méthode objective les risques d'extinction des espèces (UICN, 2001 ; IUCN, 2003). Cette évaluation n'implique cependant pas automatiquement un besoin de mesures de conservation et ne permet pas de définir à elle seule des priorités d'actions régionales. Il existe différentes stratégies, souvent assez proches, afin de pouvoir passer de l'évaluation des risques (listes rouges) à l'identification d'espèces de statut préoccupant et donc d'aide à la priorisation d'actions. Une intervention sur la protection des espèces végétales rares de France en présente une lors de ce colloque (Thompson *et al*., 2010). En ce qui concerne les orchidées de la zone étudiée, nous proposons d'effectuer une analyse en deux phases en s'inspirant d'une méthode développée initialement pour l'avifaune en Suisse (Keller & Bollmann, 2004). La première consiste à évaluer les risques d'extinction régionale des espèces. C'est l'établissement d'une liste rouge régionale. La deuxième est d'évaluer l'importance des populations régionales d'orchidées par rapport au reste des populations de l'espèce. Cela est effectué en définissant des classes de responsabilité régionales vis-à-vis de la conservation de ces espèces.

Les orchidees du Languedoc et de l'Aveyron

Pour des raisons de cohérence biologique, géographique et de disponibilité d'informations suffisantes, la zone d'étude qui comporte les 4 départements Aveyron, Gard, Hérault et Lozère, ne reprend pas les deux départements occidentaux de la région administrative Languedoc-Roussillon mais associe un département de la région Midi-Pyrénées (Aveyron).

Les 4 départements étudiés sont au sud du Massif central et vont jusqu'à la mer. Ils possèdent donc une grande diversité d'espaces et d'espèces de la région méditerranéenne au climat sec et chaud à la rudesse et l'humidité des zones de montagnes du Massif central. On peut donc trouver à quelques kilomètres de distance des orchidées poussant sur le Mont Aigoual, une des zones les plus arrosées de France et des Ophrys méditerranéennes thermophiles caractéristiques de la garrigue sèche.

Les taxons d'orchidées présents sont au nombre de 92 avec des fluctuations dues à des évolutions naturelles mais aussi aux nombreux changements de nomenclature qui concernent ce groupe depuis une trentaine d'années.

La région comporte des espèces emblématiques comme le fameux *Sabot de Vénus* ou le rare *Ophrys aveyronensis*, des espèces endémiques de la région (*Dactylorhiza occitanica, Ophrys aymoninii, ...*) ainsi que des raretés locales (*Hammarbya paludosa, Ophrys « bertolonii » catalaunica, Ophrys bombyliflora, Ophrys speculum,…)*.

Comme ailleurs mais aussi en raison de spécificités locales telles l'augmentation rapide de la population, une agriculture historiquement sur de grands espaces (vigne,…) et une fermeture rapide des milieux liée à la forte régression des activités agropastorales traditionnelles, les activités humaines sont à l'origine de pressions importantes sur les milieux et les espèces.

Ainsi, en particulier vers la côte mais aussi de manière croissante dans l'arrière pays, on peut lister les menaces suivantes :

- Urbanisation, aménagements.
- Fermeture des milieux, espèces exotiques envahissantes.
- Assèchement des zones humides.
- Recrudescence des prélèvements. L'espèce *Anacamptis longicornu* a ainsi disparu suite à la collecte du seul plant connu de France métropolitaine en 2008 (Nicole & Souche, 2008) et d'autres espèces font l'objet d'arrachage (*Dactylorhiza, Ophrys, Platanthera, etc.)* et parfois de commerce comme ces plants d'*Ophrys aveyronensis* proposé à l'achat sur Internet en 2008 alors que c'est une espèce protégée au niveau national.
- On observe aussi de manière croissante des zones à orchidées « labourées » par les sangliers dont les populations semblent désormais être hors de la capacité de contrôle des chasseurs locaux.
- Le développement de l'horticulture d'espèces d'orchidées tempérées est récent mais en croissance et présente une nouvelle menace potentielle pour les populations proches des jardins où elles sont plantées qu'il faudra évaluer (*Ophrys, Dactylorhiza, Cypripedium*…).

Les menaces liées aux changements climatiques en cours sont encore peu analysées même si une prise de conscience locale commence à être visible. Des modifications importantes de phénologie de la floraison sont déjà observées mais on a encore de grandes difficultés à appréhender les impacts à venir (Feldmann, 2007) et donc à pouvoir identifier qui seront les « gagnants » et qui seront les « perdants » face à ces grands changements.

RESULTATS

L'évaluation des catégories de la liste rouge régionale prend en compte les relations avec les populations voisines pour éviter des estimations inadaptées, par exemple qui pourraient être surestimées pour des populations en limite d'aire de répartition (Feldmann, 2008). Les résultats obtenus sont cohérents avec les connaissances acquises par les orchidophiles de la SFO-Languedoc.

La liste des catégories avec le nombre d'espèces concernées est la suivante :

- RE (Espèce éteinte régionalement) : *Anacamptis longicornu*
- ***CR*** (En danger critique d'extinction) ***:*** *Hammarbya paludosa*
- ***EN*** (En danger d'extinction) **:** 8 taxons *(*exemple : *Ophrys aveyronensis)*
- ***VU*** (Vulnérable) : 16 taxons (exemple : *Dactylorhiza occitanica*)
- *NT* (Quasi menacé) *:* 6 taxons (exemple : *Anacamptis laxiflora)*
- *LC* (Préoccupation mineure) *:* 51 taxons (exemple : *Orchis purpurea*)
- *DD* (Données insuffisantes) : 6 taxons (exemple : *Epipactis tremolsii*)

– *NA* (Non applicable) : 3 taxons non soumis à évaluation car en situation marginale (*Ophrys bombyliflora, Ophrys catalaunica, Ophrys speculum)*

25 espèces rentrent donc dans une catégorie de menaces de la liste rouge régionale, soit 30 % des 83 espèces pour lesquelles une catégorie peut être proposée. Ce taux monte à 37 % si l'on inclut les taxons quasi menacés.

Après ces propositions de catégories pour la liste rouge régionale, il a été identifié parmi les espèces celles ayant des populations locales importantes pour la survie globale de l'espèce au niveau national, soit en terme d'effectif (nombre de populations ou d'individus supérieur à 10 % de l'estimation nationale), soit en terme de dynamique (population stable ou en croissance alors qu'elle est en régression au niveau national). L'évaluation de cette responsabilité régionale donne alors les classes de catégories suivantes (Figure 1) :

- L+, les taxons localement menacés avec des populations d'importance au moins nationale (10) :

Taxon	**Catégorie Liste rouge Languedoc + Aveyron**	**Catégorie Liste rouge nationale**
Anacamptis palustris	**VU**	VU
Anacamptis papilionacea	**VU**	NT
Dactylorhiza occitanica	**VU**	VU
Epipactis exilis	**EN**	DD
Epipactis rhodanensis	**VU**	NT
Hammarbya paludosa	**CR**	EN
Ophrys aveyronensis (Figure 2)	**EN**	EN
Ophrys aymoninii	**VU**	VU
Ophrys corbariensis	**VU**	DD
Spiranthes aestivalis	**VU**	VU

- L-, les taxons localement menacés avec des populations de moindre importance nationale (21 espèces) :

Taxon	**Catégorie Liste rouge Languedoc + Aveyron**	**Catégorie Liste rouge nationale**
Anacamptis laxiflora	**NT**	VU
Anacamptis morio subsp. *picta*	**NT**	LC
Corallorrhiza trifida	**VU**	NT
Cypripedium calceolus	**VU**	VU
Dactylorhiza incarnata subsp. *incarnata*	**VU**	VU
Dactylorhiza majalis	**NT**	NT
Epipactis fageticola	**EN**	NT
Epipactis palustris	**NT**	NT
Epipactis purpurata	**VU**	LC
Epipogium aphyllum	**EN**	NT
Gymnadenia austriaca var. *iberica*	**VU**	LC
Gymnadenia odoratissima	**EN**	VU
Listera cordata	**NT**	LC
Neotinea lactea	**NT**	VU

Neotinea maculata	**VU**	LC
Neotinea tridentata	**EN**	NT
Ophrys bertolonii s.l.	**VU**	NT
Ophrys incubacea	**VU**	LC
Ophrys santonica	**VU**	DD
Pseudorchis albida	**EN**	LC
Serapias parviflora	**EN**	NT

- N+, les taxons localement non menacés avec des populations d'importance au moins nationale (8 espèces) :

Taxon	**Catégorie Liste rouge Languedoc + Aveyron**	**Catégorie Liste rouge nationale**
Anacamptis coriophora subsp. *fragrans*	**LC**	NT
Epipactis microphylla	**LC**	LC
Himantoglossum robertianum	**LC**	LC
Ophrys arachnitiformis s.l.	**LC**	LC
Ophrys marmorata / bilunulata	**LC**	DD
Ophrys massiliensis	**LC**	LC
Ophrys splendida	**LC**	NT
Spiranthes spiralis	**LC**	NT

- N-, les taxons localement non menacés avec des populations de moindre importance nationale (43) :

Taxon	**Catégorie Liste rouge Languedoc + Aveyron**	**Catégorie Liste rouge nationale**
Anacamptis coriophora subsp. *coriophora*	**LC**	VU
Anacamptis morio subsp. *morio*	**LC**	LC
Anacamptis pyramidalis	**LC**	LC
Cephalanthera damasonium	**LC**	LC
Cephalanthera longifolia	**LC**	LC
Cephalanthera rubra	**LC**	LC
Coeloglossum viride	**LC**	NT
Dactylorhiza elata	**LC**	VU
Dactylorhiza fuchsii	**LC**	LC
Dactylorhiza maculata	**LC**	LC
Dactylorhiza sambucina	**LC**	LC
Epipactis atrorubens	**LC**	LC
Epipactis distans	**LC**	LC
Epipactis helleborine	**LC**	LC
Epipactis muelleri	**LC**	LC
Goodyera repens	**LC**	LC
Gymnadenia conopsea	**LC**	LC
Himantoglossum hircinum	**LC**	LC
Limodorum abortivum	**LC**	LC
Listera ovata	**LC**	LC

Neotinea ustulata	**LC**	LC
Neottia nidus-avis	**LC**	LC
Ophrys apifera	**LC**	LC
Ophrys araneola	**LC**	LC
Ophrys aranifera / sphegodes	**LC**	LC
Ophrys insectifera	**LC**	LC
Ophrys lupercalis	**LC**	LC
Ophrys lutea	**LC**	LC
Ophrys passionis	**LC**	LC
Ophrys pseudoscolopax	**LC**	LC
Ophrys scolopax	**LC**	LC
Ophrys sulcata	**LC**	LC
Ophrys virescens	**LC**	DD
Orchis anthropophora	**LC**	LC
Orchis mascula	**LC**	LC
Orchis militaris	**LC**	LC
Orchis provincialis	**LC**	LC
Orchis purpurea	**LC**	LC
Orchis simia	**LC**	LC
Platanthera bifolia	**LC**	LC
Platanthera chlorantha	**LC**	LC
Serapias lingua	**LC**	NT
Serapias vomeracea	**LC**	LC

- CC, les 4 espèces considérées comme localement marginales mais où l'impact du réchauffement climatique pourrait conférer à la région une importance particulière pour leur permettre de s'adapter à ces changements.

Taxon	**Catégorie Liste rouge Languedoc + Aveyron**	**Catégorie Liste rouge nationale**
Anacamptis longicornu	**RE**	VU
Ophrys bombyliflora	**NA**	VU
Ophrys catalaunica	**NA**	VU
Ophrys speculum	**NA**	VU

- Six taxons ne permettent pas de proposer une catégorie régionale de menaces selon les critères de la liste rouge et donc un classement dans un niveau régional de responsabilité en raison de manque de données. Cela ne signifie pas qu'ils ne sont pas menacés ou d'intérêt spécifique mais au contraire qu'une attention particulière doit leur être portés pour mieux évaluer leur statut.

Taxon	**Catégorie Liste rouge Languedoc + Aveyron**	**Catégorie Liste rouge nationale**
Dactylorhiza alpestris	**DD**	DD
Epipactis leptochila	**DD**	LC
Epipactis tremolsii	**DD**	LC
Gymnadenia pyrenaica	**DD**	DD
Ophrys provincialis	**DD**	DD
Orchis olbiensis	**DD**	NT

CONCLUSION

Les classes L+, L-, N+ et CC regroupent donc 42 taxons pour lesquels la région porte une responsabilité particulière de conservation. Ces classes contribuent à définir des espèces (ou des habitats les hébergeant) prioritaires pour la mise en œuvre d'actions de conservation.
Ainsi, au-delà du patrimoine régional qu'il est important de préserver avec 31 espèces au statut défavorable sur la liste rouge de l'UICN, la région étudiée présente une responsabilité particulière au niveau national ou international pour 22 espèces dont 8 ne sont pas localement menacées.

Remerciements

Cette synthèse n'a été possible que grâce aux observations collectées par les orchidophiles du Languedoc et de l'Aveyron depuis plusieurs dizaines d'années, aux nombreuses sorties et discussions sur le terrain organisées par la SFO Languedoc et au travail de synthèse effectué par les cartographes successifs des 4 départements concernés.

Bibliographie

Feldmann P. 2007. *Une floraison précoce d'Ophrys dans l'Hérault : un effet du changement climatique ?* L'Orchidophile 38 (2) : 111-116.

Feldmann P. 2008. *Menaces et protection des orchidées dans le sud de la France : intérêt de l'application de la méthode de la liste rouge de l'UICN au niveau régional.* Actes de la Journée scientifique du 28 septembre 2007 : Enjeux de conservation pour les orchidées caussenardes. Janvier 2008, Millau, France, 36-43.

IUCN 2003. *Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional Levels* Version 3.0," IUCN, Gland, Switzerland & Cambridge, UK, 27 p.

UICN 2001. *Catégories et Critères de l'UICN pour la Liste Rouge*. Version 3.1., UICN, Gland, Suisse, 37p.

Keller V. & Bollmann K. 2004. *From Red Lists To Species of Conservation Concern*. Conserv. Biology 18 (6): 1636-1644.

Nicole M. & Souche R. 2008. Anacamptis longicornu *a-t-il disparu de France continentale ?* L'Orchidophile 39 (3) : 179-187.

Thompson J., Gauthier P. & Debussche M. 2010. La protection des espèces rares en France : l'importance d'établir et hiérarchiser des priorités. *15ème colloque de la Société Française d'Orchidophilie*, 29 mai – 1er juin 2009, Le Corum, Montpellier, France.

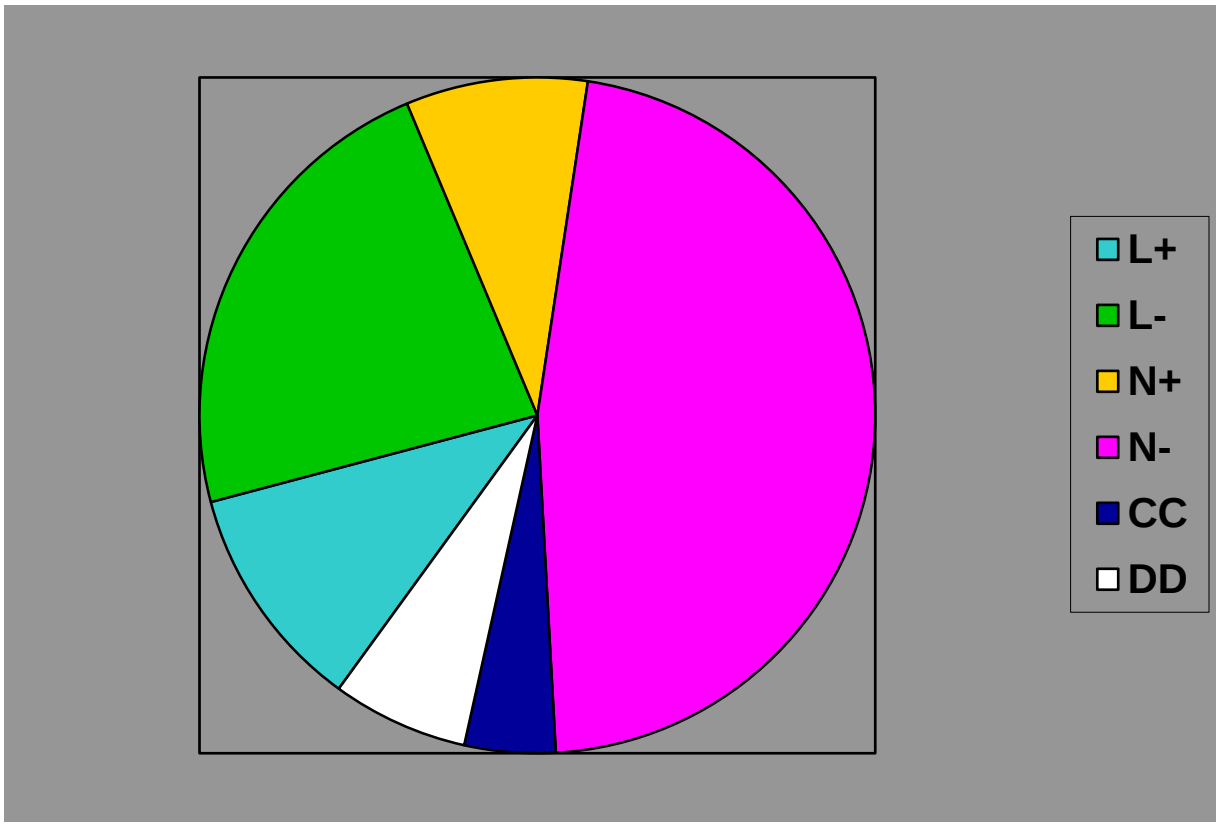


Figure 1. Répartition des espèces d'orchidées dans les différentes classes de responsabilité régionale. L+ : menacées et d'importance nationale. L- : menacées de moindre importance nationale. N+ : non menacées et d'importance nationale. N- : non menacées de moindre importance nationale. CC : à enjeux liés au réchauffement climatique. DD : manque de données.

Figure 2. *Ophrys aveyronensis* : espèce emblématique menacée dont toutes les populations françaises sont en Languedoc + Aveyron. (photographie P. Feldmann)

Diversité, gestion et protection des Orchidées en Camargue

Stéphan ARNASSANT[1], Francis DABONNEVILLE[2] & Olivier GILBERT[3]
1) Parc naturel régional de Camargue, Mas du Pont de Rousty, 13200 Arles
natura@parc-camargue.fr
2) SFO-Languedoc, 903 chemin du Pied du Bon Dieu, 30000 Nîmes
fran6dabonneville@free.fr
3) Association ZERYNTHIA, A.C.C.M, B.P. 6 30006 Nîmes cedex 04
gilbert.oliivier@neuf.fr

Abstract – Diversity, management and protection of orchids in Camargue. Camargue region is a major wetland area in France, mostly reputed for its birds and salty medium than for its plant biodiversity, although about 35 orchid species were determined within an area corresponding to the geomorphological Camargue, *lato sensu*. This wide wetland protected according to the RAMSAR and NATURA 2000 rules is more diversified than this extensive ecological system is supposed to be. Local orchids sometimes occurred in very localized stations (*Dactylorhiza occitanica, Epipactis palustris, Ophrys incubacea*), or sometimes in very dense stations (*Anacamptis coriophora ssp. fragrans, Spiranthes aestivalis*). The mixed presence of local administrative communities for the management of wetlands, survey of protected areas, and local traditional human activities related to wetlands, unfortunately are not enough to stop the regression of these most adapted areas for orchids. With extensions of tourist activities on the seaside, intensification of agriculture and increase in the Fos-sur-Mer harbour business, number of orchid stations in Carmargue is still very threatened.

Résumé – La Camargue est une zone humide majeure française plus réputée par ses oiseaux et ses milieux halophiles que pour sa biodiversité végétale et pourtant, près de 35 espèces d'orchidées ont été déterminées dans un périmètre correspondant à la Camargue géomorphologique au sens large. Ce vaste complexe de zones humides RAMSAR et NATURA 2000 est plus diversifié que ce que les vastes sansouires peuvent laisser croire. Des espèces d'orchidées patrimoniales sont parfois présentes en stations très localisées (Dactylorhize d'Occitanie, Epipactis des marais, Ophrys noirâtre), ou en stations parfois très denses (Orchis odorant, Spiranthe d'été. La présence combinée de plusieurs collectivités territoriales de gestion des zones humides et de protection de sites protégés et d'activités humaines traditionnelles très liées aux zones humides ne suffisent malheureusement pas à stopper la régression de ces dernières souvent les plus favorables aux orchidées. Des extensions touristiques littorales, à l'intensification agricole, en passant par l'agrandissement du complexe industrialo-portuaire de Fos-sur-Mer, de nombreuses stations d'orchidées sont encore menacées en Camargue.

La Camargue est une zone humide majeure française plus réputée par la faune aviaire et ses milieux halophiles ou lagunaires que pour sa biodiversité végétale et pourtant, près de 35 espèces d'orchidées ont été déterminées dans un périmètre correspondant à la **Camargue géomorphologique** au sens large des étangs montpelliérains jusqu'aux confins de la plaine de la Crau. Ce vaste complexe de zones humides RAMSAR, NATURA 2000 et partiellement Réserve MAB de l'UNESCO est plus diversifié que ce que les grandes étendues de lagunes, sansouires ou de steppes salées peuvent laisser croire…

En effet des milieux herbacés favorables aux orchidées caractérisent également l'espace camarguais :

- **prairies humides** de Petite Camargue essentiellement (bordure de l'étang de l'Or, prés du Cailar en basse vallée du Vistre ou résurgences de la nappe des Costières vers Gallician) ou de la Crau humide où l'on peut trouver des stations parfois très importantes d'Orchis à fleurs lâches *(Anacamptis laxiflora)* et d'Orchis des marais *(Anacamptis palustris)* s'hybridant fréquemment mais celles de Dactylorhize d'Occitanie *(Dactylorhiza occitanica)* sont rares.
- **jonchaies d'arrière-dunes** à Choin noirâtre et Plantain à feuilles grasses abritant des stations parfois exceptionnelles d'Orchis punaise odorant *(Anacamptis coriophora subsp. fragrans)*, de Spiranthe d'été *(Spiranthes aestivalis)*, d'Orchis des marais *(Anacamptis palustris)*, de Sérapias en soc *(Serapias vomeracea)* ou d'Epipactis des marais *(Epipactis palustris).*

Arrière-dunes au sud de Port-Camargue

D'autres milieux (notamment boisés) abritent également des orchidées :

- **pinèdes dunaires** de Pins parasols, caractéristiques de la Petite Camargue laguno-marine, avec des stations de Barlie de Robert *(Himantoglossum robertianum)*, d'Ophrys noirâtre *(Ophrys incubacea)*, de Céphalanthère rouge *(Cephalanthera rubra)* ou d'Epipactis à petites feuilles *(Epipactis microphylla)*,
- **ripisylves fluviatiles** avec une espèce caractéristique telle que l'Epipactis du Rhône *(Epipactis bugacensis subsp. rhodanensis)* mais aussi le Limodore à feuilles avortées *(Limodorum abortivum)*,
- **pelouses dunales ou pelouses liées aux digues et chemins** avec des espèces plus ubiquistes telles que l'Orchis bouc *(Himantoglossum hircinum)*, l'Ophrys abeille *(Ophrys apifera)*, l'Ophrys de la passion *(Ophrys passionis)*, l'Orchis pyramidal *(Anacamptis pyramidalis)* ou plus rarement le Spiranthe d'automne *(Spiranthes spiralis)*…

Si certaines espèces d'orchidées patrimoniales sont parfois présentes en stations très localisées (Dactylorhize d'Occitanie, Epipactis des marais, Ophrys noirâtre), d'autres sont caractérisées par la présence de stations parfois très denses (Orchis odorant, Spiranthe d'été) en Camargue laguno-marine ou en Camargue fluvio-lacustre.

Pinède près de l'étang du Ponant

Prairies à taureaux au Scamandre

Naturellement, le maintien de cette diversité floristique est étroitement lié à la conservation et à la gestion des zones humides camarguaises.

La présence de plusieurs collectivités territoriales de protection et de gestion des zones humides telles que le Parc naturel régional de Camargue, le Syndicat Mixte pour la protection et la gestion de la Camargue gardoise ou le Syndicat Mixte de gestion de l'étang de l'Or, concourt globalement à la conservation spatiale des zones humides. La présence de nombreux espaces protégés sur ce territoire peut garantir localement une gestion des milieux adaptés (Réserve nationale de Camargue, Réserves régionales du Vigueirat, de la Tour du Valat ou du Scamandre, terrains du Conservatoire du Littoral). Des destructions de zones humides sont cependant toujours programmées en bordures des zones urbaines ou touristiques (Grau-du-Roi), dans le cadre d'une intensification des pratiques agricoles ou dans le cadre de l'extension de la zone industrialo-portuaire de Fos-sur-Mer et de nombreuses stations d'orchidées (parfois protégées) sont encore menacées en Camargue.

Récolte de la sagne sur l'étang du Charnier

Culture du riz au nord de l'étang du Vaccarès

Si les zones humides sont globalement préservées quantitativement, le constat est malheureusement différent qualitativement… Les nombreux conflits d'usage autour de ces zones humides (pêche, chasse, élevage, exploitation du roseau, sel) dégradent souvent la qualité environnementale des marais méditerranéens et notamment des marais temporaires et des prairies humides. Il faut noter l'importance de l'élevage traditionnel des taureaux et des chevaux de Camargue essentiels pour la conservation de ces zones humides et le maintien de milieux ouverts favorables aux orchidées.

Construction d'un entrepôt sur prairies humides

Les risques majeurs pour les orchidées, et plus généralement la biodiversité végétale, en Camargue sont liés à :

- l'artificialisation des zones humides (endiguements modifiant la gestion hydraulique, enrochements et artificialisation des berges, stations de pompage permettant de s'affranchir d'une gestion gravitaire de l'eau plus proche d'un « idéal climatique », mises en culture de pelouses naturelles, labours et semis)
- l'importance des conflits d'usage (sur les zones humides communales notamment) et

l'uniformisation de la gestion hydraulique tendant à l'augmentation des niveaux d'eau dans les zones humides (gestion cynégétique notamment)

Remblaiement d'une sansouire pour créer une piste carrossable

- le comblement de zones humides en bordure de zones urbanisées ou touristiques
- le développement urbanistique (sur des zones humides temporaires ou littorales) dans un contexte de croissance forte de la population, la cabanisation, et l'extension de la zone industrialo-portuaire de Fos-sur-Mer
- la sur-fréquentation touristique des milieux littoraux (érosion dunaire, piétinement)
- l'envahissement des milieux herbacés par des espèces végétales introduites (Baccharis, Herbe de la Pampa….)
- en enfin, les conséquences de l'augmentation du niveau de la mer (et de la subsidence du delta du Rhône), difficiles à évaluer à ce jour, mais inquiétantes à moyen ou long terme avec un risque de disparition des milieux les plus favorables aux orchidées.

Si les efforts de conservation doivent être maintenus et développés, la gestion concertée des milieux doit être la priorité sur ce territoire camarguais afin de conserver des zones humides diversifiées et des niveaux d'eau équilibrés à l'échelle du delta et plus généralement de l'ensemble des zones humides littorales méditerranéennes.

Spiranthes aestivalis

Anacamptis palustris

Epipactis palustris

Une brochure a été éditée en 2006 sur ce thème avec l'appui du Parc naturel régional de Camargue :
Arnassant S. & Dabonneville F., 2006. Les Orchidées en Camargue, espèces fragiles dans des milieux sensibles. Association ZERYNTHIA. 20 pages.

La protection des espèces rares en France : l'importance d'établir et de hiérarchiser des priorités

John THOMPSON, Perrine GAUTHIER & Max DEBUSSCHE
Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier Cedex
john.thompson@cefe.cnrs.fr

Abstract – Rare species protection in France: the need for an objective method to form a hierarchy of priorities. The conservation of endangered species is a key issue in biodiversity policy. The conservation of biodiversity occurs via the implementation of policy with only limited resources, hence effective conservation requires the establishment of priorities in order to choose among what is often an extensive list of species those that are priority species. This requires criteria that go beyond simply estimating extinction risk, and which can be objectively quantified. Based on an analysis of the 22 regional lists and national list of protected species in France we present an examination of orchid conservation status in relation to their distribution and rarity in France. We then propose a method to form a hierarchy of priorities based on three criteria: regional responsibility, local rarity and habitat vulnerability. This method could be applied to orchid species across France to establish a list of conservation priorities in each region.

Résumé – La nécessité de protéger les espèces sauvages est un des piliers du droit de l'environnement. Face à l'érosion de la biodiversité et l'existence de ressources limitées pour sa conservation il est devenu urgent d'établir des priorités de protection, ce qui implique de faire des choix dans un sous-ensemble de toutes les espèces possibles pour un pays ou une région donnée. Quelles espèces faut-il inscrire sur les listes de protection, et lesquelles en priorité ? Quels critères pertinents, en plus ou à la place du risque d'extinction, doit on prendre en compte pour établir des priorités ? Pouvoir répondre à ces questions nécessite l'utilisation d'une méthodologie objective et générale, basée sur des critères de sélection simples et pour lesquels on peut obtenir des données. Après avoir analysé des listes de protection existantes pour l'ensemble des espèces végétales en France, nous allons présenter un bilan des statuts de protection des orchidées en France en fonction de leur distribution et rareté en France. Ensuite nous proposerons une méthode basée sur la combinaison de trois critères (la responsabilité patrimoniale, la rareté et la vulnérabilité) pour établir et hiérarchiser des priorités de protection pour une flore régionale. Cette méthode pourrait permettre de mener une réflexion et une analyse approfondie des statuts de protection pertinents pour les orchidées dans chaque région en France.

Les Orchidées du domaine de Solan (la Bastide d'Engras, 30)

Francis DABONNEVILLE & Vincent MARTY
SFO-Languedoc, 903 chemin du Pied du Bon Dieu, 30000 Nîmes
fr.dabonneville@free.fr

Abstract – Orchids of Solan estate (la Bastide d'Engras, 30). Localization of 21 orchid species has been recorded in this estate of about 100 ha. One if theses species is protected at the regional level. This noticeable stand by its orchid diversity is recorded as a Natura 2000 site. Further inventories will be regularly done.

Les plantes de la famille des orchidées ont été étudiées par des membres de l'association des Amis de Solan et de la SFO-Languedoc, sur le Domaine du Mas de Solan à la Bastide d'Engras (Uzège, GARD, 30). Ce domaine acheté par une communauté orthodoxe est devenu Monastère de Solan et a été inscrit comme site Natura 2000. Un inventaire des Orchidées a été fait sur deux printemps, 2004 et 2008 et une cartographie a été réalisée sur les 21 espèces rencontrées dont une est protégée en Languedoc-Roussillon. Cette diversité, remarquable pour un domaine de moins de 100 hectares, sera surveillée et préservée en dépit d'une reprise de l'exploitation des vergers et des vignes qui apporte des revenus au Monastère.

Serapias vomeracea dans la prairie humide

Le domaine agricole du Mas de Soulan, situé dans la vallée de la Tave au nord de la commune de la Bastide d'Engras, a été acquis en 1991 par une communauté orthodoxe du Patriarcat de Constantinople (métropole grecque) venant de la région Rhône-Alpes. Connu comme «Monastère de Solan» avec le nom original de «Monastère de la protection de la Mère de Dieu», il est une dépendance du monastère Simonos Petra du Mont Athos. Ce domaine de 60 hectares, dont 10 seulement sont cultivés en vignes et en vergers, possède une remarquable biodiversité faunistique et floristique. Le monastère a fait le choix de développer l'agroécologie pour ses productions agricoles et, dans un souci de gestion patrimoniale, de procéder à l'inventaire des ressources naturelles du domaine. Avec l'aide de l'association «les Amis de Solan», il s'est rapproché des associations locales de naturalistes pour réaliser des inventaires qui ont permis de mettre en évidence la valeur écologique du Domaine de Solan et de proposer ce dernier comme site d'importance communautaire du réseau « Natura 2000 ».

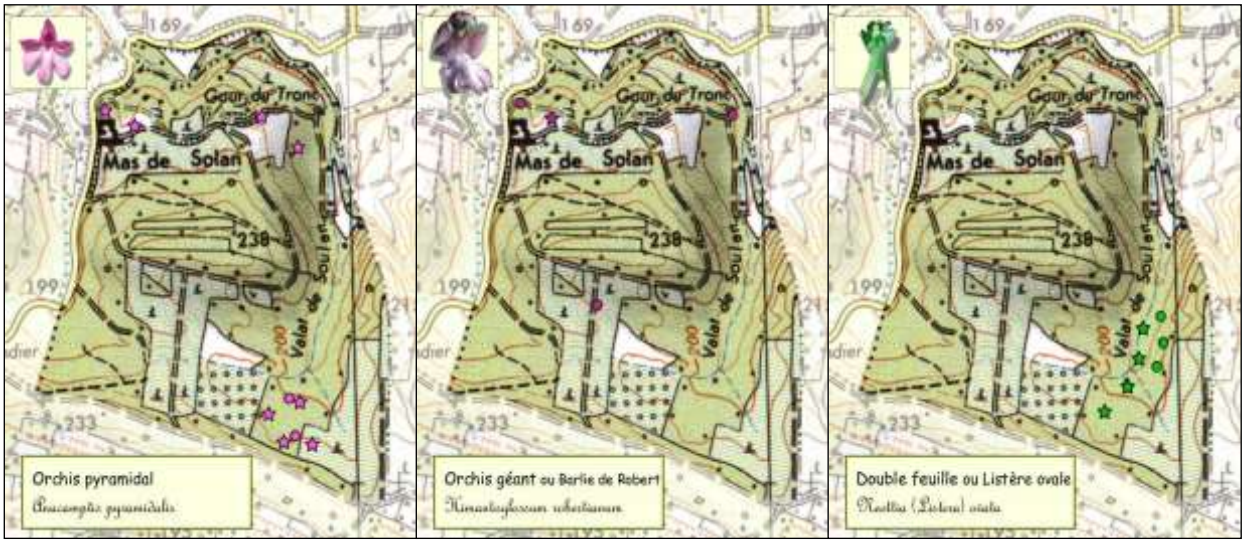
La « zone du quadrat » riche en *Anacamptis pyramidalis*

Concernant les Orchidées, une première étude, a été menée en 2004 par Benjamin Massardier et a été reprise en 2008 par Francis Dabonneville pour suivre l'évolution du nombre d'espèces et leur emplacement. Ont ainsi été recensées sur le Domaine du Mas de Solan au cours de ces deux printemps, 21 espèces d'Orchidées dont 20 ont été cartographiées ; l'Orchis militaire (*Orchis militaris*), vu en 2004 et non cartographié, n'a pas été retrouvé en 2008. C'est un des rares sites gardois où il est possible de trouver, séparés par quelques dizaines de mètres, l'Orchis géant (*Himantoglossum robertianum*), l'Orchis pyramidal (*Anacamptis pyramidalis*), la Serapias en soc (*Serapias vomeracea*), la Néottie nid-d'oiseau (*Neottia nidus-avis*), la Listère ovale (*Neottia ovata*), l'Ophrys abeille (*Ophrys apifera*) et l'Epipactis à petites feuilles (*Epipactis microphylla*).

Dactylorhiza occitanica

L'espèce la plus remarquable est l'Orchis occitan (*Dactylorhiza occitanica*). Espèce endémique méditerranéenne, protégée en Languedoc-Roussillon, elle se maintient ici sous la forme d'une petite population d'une douzaine de pieds située dans la zone humide, au sud du domaine, à la source du Valat de Soulan qui traverse la propriété. La prairie bordant cette zone est d'ailleurs la plus riche en espèces d'Orchidées. Pour cette raison, elle a fait l'objet d'un suivi plus approfondi par la méthode du dénombrement sur cadrat, avec une périodicité de deux ans (2004, 2006 et 2008), grâce aux bénévoles de l'association « Gard-Nature ».

Cette diversité ne se maintiendra, dans l'avenir, qu'en empêchant l'embroussaillement et la fermeture de ces prairies. En l'absence de troupeau et de pâturage, la solution pour conserver cette richesse serait de pratiquer un faucardage à la fin de l'été, tous les 3 ou 4 ans.



Répartition de 3 des 21 espèces d'Orchidées du Domaine du Mas de Solan (Etoile = année 2004, Rond = année 2008).

Société Française d'Orchidophilie – Languedoc (SFO-L), 903 chemin du Pied du Bon Dieu, 30000 Nîmes
http://pagesperso-orange.fr/michel.nicole/index.htm
Les Amis de Solan, Monastère de Solan 30330 LA BASTIDE D'ENGRAS
http://www.monasteredesolan.com/accueil.php

Variation diachronique (1985-2006) de l'habitat et des populations d'orchidées méditerranéennes

Bertrand SCHATZ[1, 2] & Philippe GENIEZ[1, 2]
1) Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier Cedex
bertrand.schatz@cefe.cnrs.fr, philippe.geniez@cefe.cnrs.fr
2) SFO-Languedoc (Société Française d'Orchidophilie, région Languedoc)

Abstract – Diachronic variation (1985-2006) of the habitat and Mediterranean populations of orchids. In the general context of global change, changes in land use has important effects on the presence of several plants. We reported here diachronic variations of presence in mediterranean orchids between the 1981-1990 period and the present period (2006, 2007 and 2008) on 47 sites in four French departments (Gard, Hérault, Lozère and Aveyron). These observations were also associated with informations about land use. The aim of this study is to quantify the variations observed 1) on species maintenance, 2) on population size and 3) on land use. We reported here only results with the comparison with observations perfomed in 2006. We demonstrated that most sites (40 on the 47) are more covered with bushes and shrubs (increase of 30% of the vegetal covering), and that the total number of species decreased of 45%, and that of individuals decreased of 57%. Rare or protected species decreased faster than common ones. Diachronic variations of presence among genus were explained by their ecological preferences. Thus, during the last 20 years (roughly), the orchid presence has been reduced by half and the land use in their site of presence has been strongly modified in the studied zone.

Résumé – Dans le contexte actuel des changements globaux, le changement d'utilisation des terres a des impacts importants sur la présence de nombreuses espèces végétales. Des relevés de présence en orchidées méditerranéennes ont été effectués entre 1981 et 1990 sur 47 stations dans 4 départements (Gard, Hérault, Lozère et Aveyron). Les relevés comportaient également des indications sur la taille des populations observées ainsi que sur le type d'utilisation des zones concernées. L'objectif est de revisiter sur trois ans (2006, 2007 et 2008) les 47 stations afin de déterminer : 1) les espèces présentes, 2) la taille des populations et 3) l'utilisation actuelle de ces zones ; nous présentons ici les premiers résultats obtenus sur l'année 2006. Nous montrons ici que la plupart des stations (40 sur 47) sont plus embroussaillées (augmentation de 30% de la couverture végétale), et que le nombre total d'espèces observées a diminué 45%, et celui des individus de 57%. Les variations de présence entre genres s'expliquent par leurs préférences écologiques, et les espèces rares ou protégées sont nettement moins présentes. Après un délai de 20 ans (environ), la situation des orchidées a donc fortement changé sur la zone d'étude : le milieu des stations s'est fortement embroussaillé et la présence des orchidées s'est réduite de moitié.

INTRODUCTION

Dans le contexte actuel des changements globaux, le changement d'utilisation des terres a des impacts importants sur la présence de nombreuses espèces végétales. Cette étude a fait partie d'un programme de recherche (ABIME) dont l'objectif a été « de comprendre les causes et de prédire les conséquences des changements d'utilisation des terres, à l'aide de l'analyse de la dynamique et la viabilité de populations et des communautés ». Elle s'inscrit dans le contexte des changements globaux (c'est-à-dire à l'échelle du globe), dont voici

plusieurs composantes à l'échelle de la région du Languedoc-Roussillon (aussi en partie pour l'Aveyron) :

- 1) Les changements climatiques attendus à l'horizon 2070-2100 selon le modèle Arpège Météo-France pour un grand quart sud-est sont une augmentation de 2 à 4°C et une diminution de 50 à 100mm de précipitations annuelles.
- 2) Le changement d'utilisation des sols se traduit par un changement des pratiques agricoles (mécanisation, utilisation d'engrais, abandon du pastoralisme…etc) et par une fermeture du milieu à la fois en garrigue et dans la région des Grands Causses (embroussaillement, reforestation). Dans ce dernier secteur, le déclin de l'activité pastorale s'est traduit par une fermeture progressive des paysages, en particulier des pelouses sèches, et engendre une menace réelle sur l'écosystème steppique (Bernard, 1997 ; Rousset, 1999).
- 3) L'urbanisation est principalement due à l'attrait de la région Languedoc-Roussillon, avec notamment l'arrivée annuelle d'environ 15 000 personnes rien que dans le département de l'Hérault (en plus de l'afflux touristique estival). Cette urbanisation s'accompagne également d'un développement important des infrastructures routières, qui correspond en termes écologiques à une fragmentation du milieu.
- 4) L'arrivée d'espèces envahissantes s'illustre dans la région des Grands Causses par exemple par la présence de plantations de pins noirs d'Autriche (*Pinus nigra nigra*). Après la seconde guerre mondiale, l'homme a en effet planté cette espèce exotique (non présente précédemment) pour la région, mais qui se développe rapidement et favorise également l'apparition d'une entomofaune particulière (ex : chenilles processionnaires).

Il est également important de préciser que 90% des espèces d'orchidées européennes sont présentes dans la région méditerranéenne (Polunin & Walters, 1985). Pourtant, la plupart des espèces de cette région ont leur aire de distribution qui correspond à des zones d'activités humaines importantes, ce qui présente un intérêt important en termes d'établissement de stratégies de conservation (Whigham & Willems, 2003 ; Bournérias & Prat, 2005). L'impact de l'activité humaine pourrait par exemple expliquer les nombres d'espèces relativement plus faibles autour des deux villes héraultaises que sont Montpellier et Béziers (Fig. 1).

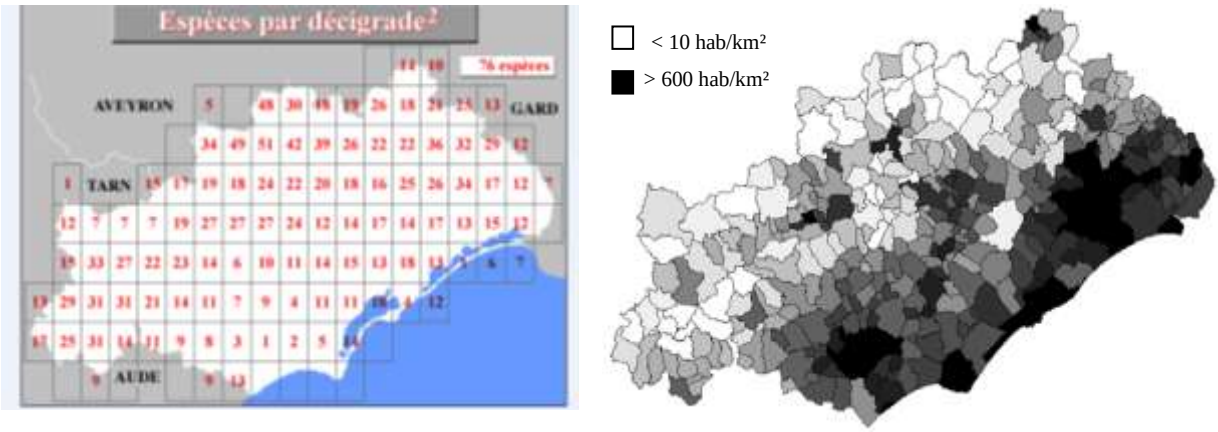


Figure 1. Mise en parallèle pour le département de l'Hérault entre la carte de présence en espèce d'orchidées par décigrade (M. Nicole, cartographe de l'Hérault pour la SFO-Languedoc) (à gauche), et la carte de densité en habitants par commune (à droite).

Les changements globaux constituent une menace évidente pour les espèces qui dépendent d'une interaction (Kearns *et al*., 1998). Biesmejijer *et al*. (2006) ont ainsi démontré

un déclin parallèle des pollinisateurs et des plantes pollinisées par les insectes en Grande-Bretagne et en Hollande. C'est le cas des orchidées qui dépendent de leurs champignons symbiotiques pour leur germination et leur alimentation (Zettler *et al.*, 2004), ainsi que des insectes pour leur pollinisation (pour les espèces non-autogames) (Roberts, 2003). De par ces interactions avec d'autres espèces (dépendant à leur tour des types de milieu), les orchidées occupent une place particulière dans leur écosystème. Il est important de rappeler que les orchidées sont considérées comme des espèces :

- *Indicatrices de biodiversité*. En effet, la présence d'une population viable d'orchidées dans un site donné indique indirectement la présence de 1) pollinisateurs variés (hyménoptères, lépidoptères, coléoptères …), 2) de champignons associés (*Rhizoctonia, Sebacina, Tulasnella* …), et 3) d'habitats différents (pelouses, forêts, tourbières, dunes…).
- *Clés de voûte*. Cela signifie que la présence d'orchidées permet la présence d'autres espèces, comme par exemple des champignons spécifiques.
- *Parapluie*. La protection d'une espèce d'orchidée correspond à la protection de beaucoup d'autres espèces (insectes, champignons, plantes…), et indirectement des milieux associés. C'est pourquoi la commission européenne a choisi de ne pas protéger des espèces d'orchidées, mais plutôt des milieux associés à la présence d'orchidées.
- *Porte-drapeau*. Ce terme indique que la protection d'une telle espèce permet de sensibiliser la population locale plus généralement à la préservation de l'environnement. C'est le cas par exemple du célèbre Sabot de Vénus, qui est devenue une espèce emblématique et qui est d'ailleurs l'espèce utilisée dans le logo de la SFO.

C'est dans ce contexte de changements rapides de l'environnement local que nous avons réalisé cette étude de variation diachronique focalisée sur les orchidées et leur milieu. Des relevés de présence en orchidées ont été effectués entre 1981 et 1990 sur 47 stations dans 4 départements (Gard, Hérault, Lozère et Aveyron). Les relevés comportaient également des indications sur la taille des populations observées ainsi que sur le type d'utilisation des zones concernées. L'objectif est de revisiter sur trois ans (2006, 2007 et 2008) les 47 stations afin de déterminer : 1) les espèces présentes, 2) la taille des populations et 3) l'utilisation actuelle de ces zones. Nous ne présentons ici que les premiers résultats obtenus pour l'année 2006.

MATERIELS ET METHODES

L'ensemble de cette étude repose sur le travail précurseur de P. Geniez qui a accumulé des informations sur les orchidées méditerranéennes entre 1980 et 1990 (nous utiliserons l'année 1985 comme moyenne de l'intervalle des prospections effectuées dans les années 1980-1990 dans le reste du texte). Ces informations correspondent à 1) une localisation précise de la station d'orchidées, 2) l'identification du type d'habitat, 3) l'identification des espèces présentes, 4) le comptage des individus de chaque espèce par station, et 5) la ou les date(s) de visite de cette station. Nous nous sommes aperçus que même si plusieurs orchidophiles ont visité ces stations à cette époque, très peu d'entre eux ont noté ces informations, qui se révèlent à présent précieuses pour réaliser cette étude.

Voici par exemple les informations disponibles pour la station n°21. En plus de sa localisation précise, nous savons qu'il faut revisiter cette station à quatre dates de l'année (2mai/ 15mai/ 26mai/ 3juillet), et que l'habitat en 1985 correspondait à un causse calcaire dolomitique avec pelouses, hêtraies et bocage. Au niveau des orchidées de cette station 21, l'effectif cumulé des observations est de 29 espèces et 540 orchidées. Au total, 17 espèces y ont été observées (aucun hybride), et les informations connues les plus anciennes datent de 1983 (24 ans d'intervalle).

C'est dans le cadre de l'étude de l'impact des activités humaines sur la biodiversité du programme ABIME (ANR) que nous avons décidé de valoriser ces informations en les comparant avec la situation actuelle. Nous revisitons les mêmes stations aux mêmes dates (à une semaine près) en notant précisément les informations sur 1) le type d'habitat, 2) les espèces présentes, et 3) le nombre d'individus de chaque espèce. Nous nous sommes focalisés sur la même zone que celle du programme ABIME, c'est-à-dire selon un axe géographique allant des côtes méditerranéennes (Gard-Hérault) jusqu'à la région des Grands Causses en passant par la garrigue montpelliéraine. Dans cette zone géographique, nous avons choisi 47 stations (Fig. 2), pour lesquelles nous sommes surs d'avoir une information complète sur les orchidées présentes. Les variations de présence observées entre 1985 et 2006 vont également nous permettre de tester si ces variations sont liées à certaines caractéristiques des espèces considérées (biotope particulier, mode de pollinisation, niveau de rareté…).

L'ensemble des données recueillies en 1985 sur les 47 stations correspondent à 543 espèces-stations, c'est-à-dire à 543 fois la possibilité de vérifier si une espèce s'est maintenue dans son habitat. L'ensemble de ces données porte sur 62 espèces et 13 hybrides. Sachant que 75 espèces sont actuellement connues pour les départements du Gard ou de l'Hérault, cette étude concerne plus de 83% des espèces de ces deux départements, et correspond donc à une bonne représentativité des orchidées dans la région d'étude.

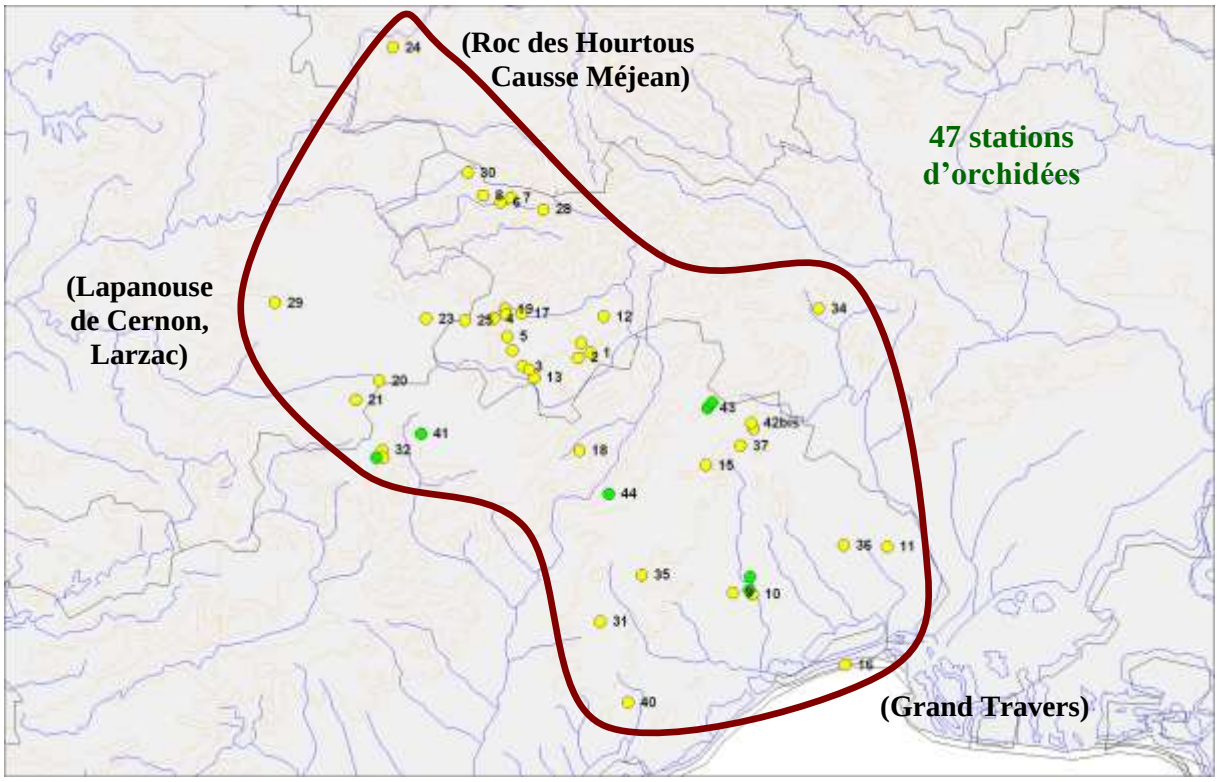


Figure 2. Localisation géographique des 47 stations étudiées (points en jaune : données initiales de P. Geniez, et points en vert : données Hérault de M. Nicole et G. Delvare de la SFO-Languedoc).

RESULTATS

Comparaison des habitats

Au niveau des habitats, les premières comparaisons réalisées entre 1985 et 2006 révèlent que, sur les 47 stations étudiées, 40 étaient plus embroussaillées (par du buis, des ronces, des genévriers, des pins, ainsi que par des herbes hautes), 5 étaient inchangées (même si 2 stations sont marquées par une activité humaine), et 2 étaient moins embroussaillées, tout

simplement parce qu'elles ont été transformées par l'activité humaine (construction de hangars agricoles dans les deux cas). Globalement, les stations sont donc nettement plus embroussaillées, ce qui n'est pas favorable aux espèces de milieux ouverts.

Cette étude a également permis de montrer que la couverture végétale a augmenté de 30% sur l'ensemble des sites (niveau similaire entre garrigue, milieu caussenard, cévenol et péri-urbain) pendant ce délai 1985-2006. Cette fermeture du paysage est surtout due au développement d'arbustes (buis, ronces, genévriers) du fait de la déprise agricole et de la plantation d'arbres exotiques comme le Pin noir d'Autriche.

Comparaison des espèces d'orchidées

Au niveau des orchidées, le nombre cumulé d'espèces a varié d'une valeur de 462 à 255 entre 1985 et 2006, ce qui représente une diminution de 45% (Fig. 3 à gauche). 38 stations ont un nombre d'espèces en diminution (80,9% des stations), 3 stations ont la même valeur et 6 stations ont un nombre d'espèces en augmentation. Ces dernières correspondent à des sites relativement stables qui voient l'apparition de quelques espèces, ou à des sites en transformation rapide avec à la fois un maintien des espèces de milieux ouverts (Orchis, Anacamptis…etc.) et une apparition d'espèces de milieu fermé (Céphalanthères, Listères…).

Au niveau des individus (toutes espèces confondues), la situation est pire puisque le nombre cumulé d'individus est passé de 18 104 à 7 789 entre 1985 et 2006, ce qui représente une diminution de 57% (Fig. 3 à droite). 40 stations ont un nombre d'individus en diminution (85,1% des stations), et 7 stations ont un nombre d'individus en augmentation.

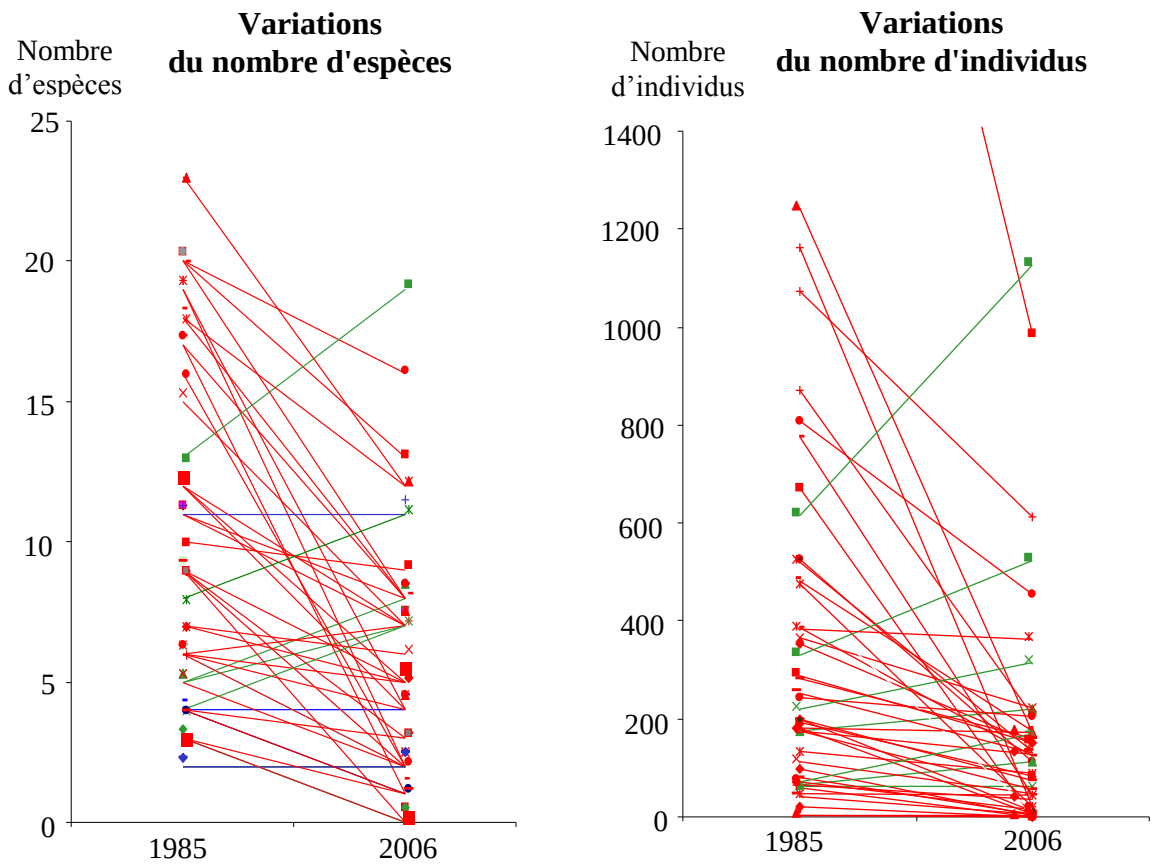


Figure 3. Variation du nombre d'espèces (à gauche) et du nombre d'individus (à droite) entre 1985 et 2006 sur les 47 stations étudiées (en rouge, les stations dont les valeurs diminuent, en bleu les stations aux valeurs stables et en vert les stations aux valeurs en augmentation).

Dans les deux cas, certaines stations sont en très forte modification, et s'illustrent notamment par des diminutions parfois très importantes entre les deux périodes d'observation. Il existe une importante disparité entre stations en nombre d'espèces et d'individus. Ainsi, douze espèces observées en 1985 ne l'ont pas été en 2006. Il n'y a cependant pas de corrélation entre l'intensité de la variation et le nombre initial d'espèce ou d'individus.

Comparaison au niveau des genres d'orchidées

Il s'agit ici de comparer les variations entre 1985 et 2006 de la présence des différents genres observés d'orchidées (sur la base du cumul des valeurs obtenues pour toutes les espèces de chaque genre).

Les genres qui ont le mieux 'résisté' correspondent à ceux dont la variation de présence est inférieure à la valeur moyenne. Ce sont les genres *Limodorum* (une espèce), *Anacamptis*, *Himantoglossum* et *Orchis* ; ils sont présents dans des habitats assez variés plutôt calcaires allant de la pleine lumière à la mi-ombre. Le fait d'être plutôt généraliste dans ces préférences écologiques pourrait ainsi expliquer leur meilleure résistance.

Les genres qui ont moins bien résisté présentent des préférences d'habitat un peu plus marquées (milieux ouverts pour les *Ophrys*, ou plutôt forestiers pour les *Cephalanthera* et les *Listera*, ou encore plutôt frais pour *Neotinea*), ou des périodes de floraison un peu tardives (mai à aout pour les *Platanthera*). La catégorie des hybrides (créée pour cette analyse) est assez hétérogène et plus difficile à interpréter.

Ces deux paramètres écologiques se retrouvent d'ailleurs chez les genres qui ont les moins bien résistés. Il s'agit généralement de genres qui ont des périodes de floraison relativement tardives (début d'été) avec une préférence plus marquée pour des milieux forestiers et frais comme pour les *Epipactis*, les *Neottia* et les *Goodyera*.

Il faut préciser ici que l'année d'observation (ici 2006) a présenté des températures particulièrement élevées en début d'été, qui peuvent expliquer l'important effet sur ces derniers genres.

Comparaison selon quelques paramètres écologiques

La présence des espèces rares ou protégées (20 espèces considérées) a diminué plus fortement (-77,1%) que celle des espèces communes (-49,2%) entre 1985 et 2006 pour les 47 stations observées ($P < 0.02$; Test du $\chi 2$ réalisé sans les hybrides).

La présence des espèces produisant du nectar (15 espèces considérées) a diminué de façon similaire (-57,0%) à celle des espèces n'en produisant pas (-49,9%) entre 1985 et 2006 pour les 47 stations observées (NS ; Test du $\chi 2$ réalisé sans les hybrides).

DISCUSSION

Cette étude de variation diachronique entre 1985 et 2006 sur la base du suivi des 47 stations à orchidées nous a permis de mettre évidence plusieurs modifications. 1) La fermeture du paysage (par embroussaillement et reforestation) semble être généralisée sur toute notre zone d'étude. Elle est surtout le fait du développement d'arbustes (buis, ronces, genévriers) et d'arbres exotiques comme le pin noir d'Autriche, comme cela a déjà été mis en évidence lors de nombreuses autres études (Bernard 1997 ; Rousset 1999 ; Caplat 2006). Cet embroussaillement est une étape de la dynamique d'évolution des pelouses vers le stade bois. Les arbustes impliqués dans cet embroussaillement sont assez denses et peu favorables aux orchidées, à la fois celle de milieux ouverts comme celle de milieux fermés.

L'étude de la variation de présence en orchidées entre 1985 et 2006 sur 47 stations traduit d'ailleurs cet effet par une diminution forte du nombre d'espèces (-45%) et du nombre d'individus (-57%). Il s'agit là d'une variation importante qui n'a pas le même impact sur les différentes espèces ou genres. Nous avons pu montrer que les genres qui résistent le moins

bien correspondaient à des genres aux préférences d'habitat les plus marquées ou aux périodes de floraison relativement tardives. L'année 2006 ayant été particulièrement chaude et sèche en début d'été a certainement augmenté ces effets.

L'analyse d'autres paramètres écologiques s'est également révélée pertinente. Aucun effet de la production de nectar et de l'occurrence des espèces n'a pu être mis en évidence ici. Par contre, nous avons pu mettre en évidence l'existence d'un effet significatif de la rareté des espèces. Les espèces rares ou protégées ont en effet présenté une diminution plus importante par rapport à celles plus communes. C'est ainsi que 12 espèces présentes en 1985 n'ont pas été retrouvées en 2006. Cette plus forte sensibilité des espèces rares au risque d'extinction a d'ailleurs été mise en évidence dans d'autres milieux ou pour d'autres familles végétales (Whigham & Willems, 2003). Les espèces les plus sensibles correspondent le plus souvent aux espèces rares, qui sont fréquemment celles à forte valeur patrimoniale (Whigham & Willems, 2003).

Sur les 300 espèces présentes en Europe de l'ouest, environ 200 d'entre-elles sont en en déclin à la fois en nombre de sites recensés et en taille de population (Whigham & Willems, 2003). Cette étude permet d'aboutir à des résultats importants : embroussaillement des habitats, et diminution de moitié environ du nombre cumulé d'espèces et d'individus. Il faut noter que ces résultats sont les premiers pour la région méditerranéenne (prévus sur trois années), les précédentes études ayant été réalisées en Belgique et en Hollande (Jacquemyn *et al*., 2005), ainsi qu'en Angleterre et en Estonie (Kull & Hutchings, 2006) sur une seule année de comparaison.

Les principales menaces pesant sur ces espèces sont indirectement liées aux activités humaines : réduction des milieux favorables (zones humides, pelouses calcaires), activités agricoles, urbanisation et changements climatiques ; ces facteurs étant également tous associés à une réduction de la population de pollinisateurs (Kearns *et al*., 1998 ; Roberts, 2003). La région méditerranéenne est une des zones à forte biodiversité (hot spot) (Myers *et al*., 2000), et représente le principal centre de spéciation pour les orchidées européennes, où existent de nombreuses espèces endémiques. Il est donc urgent d'analyser les processus de déclin de ces espèces et d'identifier quelles sont les caractéristiques écologiques associées.

Devant cette urgence d'actions de conservation, il nous semble également important de prendre deux types de précautions dans l'interprétation de nos résultats. La première concerne la nécessité de répéter l'expérience sur plusieurs années consécutives afin de compenser les variations interannuelles de floraison orchidées. En effet, les populations d'orchidées peuvent connaître des variations interannuelles importantes sans pour autant que la viabilité de la population soit menacée. C'est pourquoi cette étude s'effectuera sur deux autres années, à savoir 2007 et 2008. Les données obtenues pour l'année 2007 (qui a été moins contraignante que 2006 au niveau des températures et des précipitations printanières) semblent d'ailleurs indiquer une diminution moins importante (surtout en nombre d'individus), notamment pour les espèces à floraison tardive. La seconde précaution à prendre sera de considérer la représentativité des 47 stations étudiées par rapport aux différents types d'habitats rencontrés dans notre région d'étude.

Cribb *et al*. (2003) ont insisté sur la nécessité d'avoir des données actualisées sur la distribution des différentes espèces afin de mieux cibler les actions de conservation. La famille des Orchidacées présente plusieurs traits d'histoire de vie qui peuvent constituer des contraintes importantes pour leur conservation : elles sont dépendantes de champignons mycorrhiziens pour la germination de leurs graines (Zettler *et al*., 2004), elles sont généralement dépendantes des insectes pour leur pollinisation (Roberts, 2003), et présentent généralement une grande variété de cycles de vie (souvent mal connus) ainsi que de fortes préférences pour un biotope particulier (Whigham & Willems, 2003).

Remerciements

Merci aux membres de la SFO Languedoc (Francis Dabonneville, Michel Nicole, Jean-Paul Hervy † et Gérard Delvare) ainsi qu'à Pascal Escudié, Jean-Yves Guillosson, Frédéric Melki et Jacky Pommet, au programme ANR Abime (J. Thompson) ainsi qu'aux membres de l'équipe « Interactions biotiques » du CEFE.

Bibliographie

Bernard C. 1997. *Fleurs et paysages des Causses*. Editions du Rouergue. 301p.

Biesmejijer J.C., Roberts S.P.M., Reemer M., Ohlemüller R., Edwards M., Peeteres T., Schaffers A.P., Potts S.G., Kleukers R., Thomas C.D., Settle J. & Kunin W.E. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and in the Netherlands. Science 313 : 351-354.

Bournérias M. & Prat D. 2005. *Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg*. Edition Biotope, collection Parthénope. 504 p.

Caplat P. 2006. L'importance de l'agriculture dans la dynamique spatio-temporelle du paysage : l'exemple du Causse Méjean. Thèse Ensam, Montpellier, 328 p.

Cribb P.J., Kell S.P., K.W. Dixon, R.L. & Barrett R.L. 2003. Orchid conservation: a global perspective. In: K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barrett & P.J. Cribb (eds). *Orchid Conservation*. pp. 113-136. Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabalu, Sabah.

Jacquemyn H., Brys R., Hermy M. & Willems J. 2005. Does nectar reward affect rarity and extinction probabilities of orchid species? An assessment using historical records from Belgium and the Netherlands. Biological Conservation 121: 257-263.

Kearns C.A., Inouye D.W. & Waser N.M. 1998. Endandereg mutualism: the conservation of plant-pollinator interactions. Annual Review of Ecology and Systematics 29: 83-112.

Kull T. & Hutchings M.J. 2006. A comparative analysis of decline in the distribution ranges of orchid species in Estonia and the United Kingdom. Biological Conservation 129: 31-39.

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403: 853-58.

Polunin O. & Walters M. 1985. *A guide to the vegetation of Britain and Europe*. Oxford University Press, New York.

Roberts D. 2003. Pollination biology: the role of sexual reproduction in orchid conservation In: Dixon K., Cribb P., Kell S. & Barrett R. (Eds.) *Orchid Conservation*. Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia: Natural History Publications, pp 113-136.

Rousset O. 1999. Dynamique de régénération et interaction positives dans les successions végétales, Installation de *Buxus sempervirens* et *Quercus humilis* sur les pelouses des Grands Causses gérée par le pâturage, Thèse, Université Montpellier II, Montpellier, France.

Whigham D.F. & Willems J.H. 2003. Demographic studies and life-history strategies of temperate terrestrial orchids as a basis for conservation. In: Dixon K., Cribb P., Kell S. & Barrett R. (Eds.) *Orchid Conservation*. Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia: Natural History Publications, pp 137-158.

Zettler L.W., Sharma J., Rasmussen F. 2004. Mycorrhizal diversity. In: Dixon K., Cribb P., Kell S. & Barrett R. (Eds.) *Orchid Conservation*. Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia: Natural History Publications, pp 185-203.

L'Atlas des orchidées

François DUSAK
Société Française d'Orchidophilie, 17 Quai de la Seine 75019 Paris

Abstract – Atlas of French orchids. The French Orchid Society (SFO), in 1972, with Pierre Jacquet, studied the distribution of French. In order to take into account the unequal distribution, reflects of the ecological requirements of each species, a mapping network was needed and in 1982 at the initiative of Janine Bournerias, were put in place all department cartographers. In 1987, the importance of this work was recognized by the Ministry of Environment which ordered the inventory of orchid stands in France. SFO has developed its own database, forwarded to the Museum (SPN) in 2008 (420 000 data for 116 000 stands). The Atlas, tentative conclusion, presents 154 taxa (26 genera). After the history and the Realization of the inventory, 4 chapters: "The Atlas as a management tool", "Analysis of boundary areas", "Bioclimate, habitat and distribution" and "Threats and protection" complement monographs. An Atlas consists also of a series of maps. As a unique feature, it was decided to apply the referential system RGF 93 also called "Lambert 93". Monographs extend over two pages for most taxa or on a single page, because of a map reduced to Corsica, for about fifteen taxa. After the Atlas, the SFO will maintain an active network of cartographers. Recent regional initiatives show that there is a desire to establish a new phase in the mapping. The significant advances in computer technology must be used to improve the accuracy of location and size of the populations studied.

Résumé – La SFO, dès 1972, avec Pierre Jacquet, étudia la répartition des orchidées de France. Pour prendre en compte l'inégale répartition, reflet des exigences écologiques de chaque espèce, une cartographie en réseau s'imposa et en 1982, à l'initiative de Janine Bournérias, on mit en place l'ensemble des cartographes départementaux. En 1987, l'intérêt de ce travail fut consacré par la commande du Ministère de l'Environnement de réaliser l'inventaire des stations d'orchidées de France. La SFO a élaboré sa propre base informatique, transmise au Muséum (SPN) en 2008 (420000 données pour 116000 stations). L'Atlas, conclusion provisoire, présentera 154 taxons (26 genres). Après l'Historique et la Réalisation de l'inventaire, 4 chapitres : « L'Atlas un outil de gestion », « L'analyse des limites d'aires », « Bioclimat, habitat et répartition », « Menaces et protection » complèteront les monographies. Un Atlas c'est aussi un ensemble de cartes ; pour celui-ci, c'est une première, il a été décidé d'adopter le système RGF 93 ou « Lambert 93 ». Pour les monographies, deux pages pour la plupart des taxons et une seule page, car la carte sera à la Corse, pour une quinzaine de fiches. Après l'Atlas**,** la SFO entend maintenir actif le réseau des cartographes. Des initiatives régionales récentes montrent qu'il existe une volonté de mettre en place une nouvelle phase dans la cartographie. Les importants progrès techniques disponibles en informatique, doivent servir à améliorer la précision des localisations et des effectifs des populations étudiées.

LA MISE EN ŒUVRE DE L'INVENTAIRE

La SFO, dès 1972, sous l'impulsion de Pierre Jacquet, se proposait de connaître la répartition des orchidées de France. En 1983, ce dernier publie, avec la SFO, la « Répartition des orchidées indigènes de France ». C'est une première étape importante. Pour chaque taxon, on signale la présence / absence dans les départements ainsi que le degré de rareté, à l'échelle du pays. Pour prendre en compte l'inégale répartition, reflet des exigences

écologiques de chaque espèce, une cartographie en réseau s'imposa et en 1982, à l'initiative de Janine Bournérias, la commission de cartographie mit en place l'ensemble des cartographes départementaux.

En 1987, l'intérêt de ce travail fut consacré par la commande passée par le Ministère de l'Environnement à la SFO, de réaliser l'inventaire des stations d'orchidées de France, le Service du Patrimoine Naturel du Muséum étant désigné comme partenaire technique. Ce ministère a aussi pour mission la connaissance et la préservation du Patrimoine Naturel et pour cela, il faut faire des inventaires. Par des lettres puis bons de commande successifs, le dernier date de 2005, l'ensemble du territoire fut inventorié.

Apparue aussi la nécessité de mettre en place une nomenclature adaptée à la réalité des observations. Une liste codée des taxons fut transmise aux cartographes. Elle s'enrichit d'années en années, créant aussi des difficultés de classement de données plus anciennes. L'analyse fine de la variabilité des espèces d'orchidées montra la nécessité d'enrichir la liste. Fallait-il décrire de nouvelles espèces, se contenter de sous-espèces ou de variétés ?

Le débat existe toujours. Malgré cela, on connaît de mieux en mieux les populations présentes, même si l'attribution d'un nom reste un problème difficile où les avis divers sont à écouter. En 2008, la SFO déposait au Muséum la base nationale informatisée. Il était prévu que cet inventaire se terminerait par la publication d'un Atlas. Nous y sommes enfin et cet ouvrage va paraître en coédition Biotope-MNHN.

RESULTATS

La SFO publia en 1985 les deux premiers Atlas départementaux (les « Fascicules verts » de cartographie), manifestation du travail accompli dans les départements. Henri Castel pour l'Aude et Jean Dauge pour le Cantal, donnaient avec précision les répartitions des taxons dans leurs départements, ainsi que des informations sur le degré de rareté, l'altitude... Par comparaison avec les cartes géologiques et topographiques, on approchait les corrélations avec le substrat.

Ces deux ouvrages posaient les problèmes inévitables de la difficulté des localisations précises, du choix des coordonnées, du maillage à utiliser pour les cartes de répartition. En même temps que les travaux d'inventaire, la SFO poursuivit la publication des fascicules verts départementaux, avec des maillages divers (UTM, cartes au 1/50000, grades...), à ce jour, 21 ont été publiés.

Dans un premier temps, on utilisa des fiches à lecture optique, de traitement assez complexe. Par manque de moyens et de personnel, le SPN ne put consacrer à cet inventaire tout le soin attendu et les résultats furent modestes au début.

La SFO décida alors, en accord avec lui, de réaliser sa propre base informatique, qu'elle fournirait au SPN une fois achevée. L'utilisation de plus en plus fréquente des ordinateurs personnels permit de disposer rapidement de nombreuses données validées. Une importante démarche vers les possesseurs d'observations conduisit à transmettre à Robert Bordes des éléments, souvent disparates, qu'il organisa grâce à sa grande connaissance d'outils performants.

On put ainsi en 2008, fournir au Muséum une base informatisée de 420000 données pour 116 000 stations (Figure 1). Une donnée contient les informations habituelles : espèce, lieu, date, observateur, complétées par la commune, une indication de l'abondance et l'altitude. Si les cartographes SFO avec leurs équipes départementales sont à l'origine de la plupart des informations, n'oublions pas des botanistes, quelquefois extérieurs à la SFO, des organismes, qui complétèrent les résultats et des CBN qui très tôt, acceptèrent de collaborer avec nous pour échange de données. Dans les remerciements cités dans l'Atlas, plus de 3000 noms de personnes ou d'organismes, témoignent de l'ampleur du mouvement créé par cet inventaire.

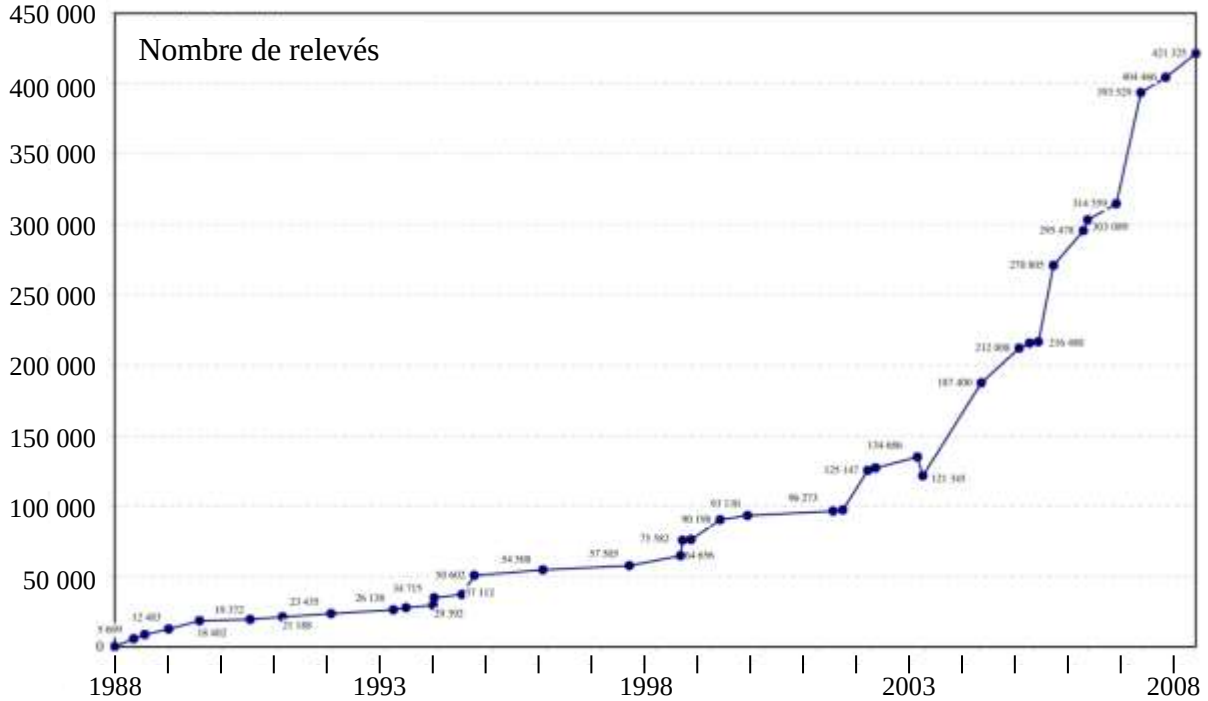


Figure 1. Progression des données validées et enregistrées de 1988, début de la commande du ministère, à 2008.

L'Atlas, conclusion provisoire

L'Atlas, conclusion de l'inventaire

L'atlas présentera les monographies et les cartes de répartition de 154 taxons. La liste des genres contient 26 noms. *Listera* a été inclus dans *Neottia* (proposition de Bateman *et al*., 2005) et *Coeloglossum* maintenu.Tous ces taxons présents en France ont été décrits dans différents ouvrages, en particulier « Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg (Bournérias & Prat, 2005) ». La nomenclature utilisée dans ce dernier livre a été retenue pour l'Atlas. Quelques rares changements cependant : *Ophrys sphegodes*, validé lors du dernier congrès botanique mondial en 2005, remplace *Ophrys aranifera* conservé en synonymie.A ce même congrès, il a été décidé de conserver *Ophrys speculum* à la place d'*Ophrys ciliata*.

Pour compléter cet ensemble, après l'Historique et la Réalisation de l'inventaire, 4 chapitres apporteront des éclairages sur les monographies :

- « L'Atlas un outil de gestion » dans lequel on remarque que le développement des systèmes d'information géographique et des bases de données géoréférencées ouvre la porte à des études qu'il était difficile de faire il y a seulement quelques années. En consultant cet ouvrage, tout cabinet d'expertise de la biodiversité pourra nuancer son avis sur l'opportunité de certains travaux.
- « L'analyse des limites d'aires » où les distributions des espèces sont commentées avec l'apport de la géographie du pays et en particulier sa géologie.
- « Bioclimat, habitat et répartition » où l'utilisation d'un Système d'Information Géographique a donné une base de travail importante pour développer l'investigation écologique des données de l'Atlas.
- « Menaces et protection » L'importance des données contenues dans la base (c'est la première fois en France qu'une famille végétale est inventoriée avec autant de précision) a permis d'entreprendre un classement des taxons selon les critères de l'UICN. La réunion organisée à Montpellier le vendredi 29 mai 09 (avant le colloque SFO), a validé les propositions Liste Rouge (UICN) des orchidées de France, présentées par la SFO.

Un Atlas c'est aussi un ensemble de cartes.

Les problèmes de localisation des stations ont toujours gêné les prospecteurs. L'utilisation des différents systèmes de coordonnées (degré, grade Paris, UTM,...) compliqua le traitement des données. Le développement de l'informatique a heureusement simplifié cette partie. Les systèmes divers de projections utilisés pour les cartes ont rendu plus difficile la synthèse des résultats.

Pour cet Atlas, c'est une première, il a été décidé d'adopter le système RGF 93 ou « Lambert 93 », (projection conique Lambert sécante suivant les parallèles 44° N et 49° N), qui utilise l'ellipsoïde WGS 84 en usage dans les GPS. Contrairement aux cartes précédentes (Lambert 2 ou 3), on a maintenant une très bonne représentation de toute la France. Il a fallu choisir un maillage : les mailles 10 km x 10 km, restent bien visibles sur un format A4 qui sera utilisé pour le livre. On a ainsi environ 6200 mailles pour tout le territoire. Pour chacune des 154 cartes, on indique, dans les mailles, la présence du taxon par un point.

Les données utilisées pour les cartes, sont celles postérieures à 1980. Les données anciennes, antérieures à 1980, non utilisées ici, serviront ultérieurement pour le suivi des stations dans la nouvelle phase de cartographie. Le découpage départemental a été maintenu car c'est ainsi que le réseau des cartographes fut construit.

Il a semblé judicieux d'enrichir les cartes de répartition par un fond apportant de l'information. Parmi les nombreuses possibilités, l'indication du relief, avec seulement quelques zones, et les vallées importantes, aideront à mieux situer les zones de présence. Le Rhône et la Saône, la Garonne et la Dordogne, la Loire et l'Allier, la Seine et l'Oise, le Rhin, ainsi que la Meuse apparaîtront sur les cartes. Les zones altitudinales, en dessous de 1000 m, ont semblé bien rendre compte des répartitions observées sur le terrain.

Deux présentations des monographies seront utilisées dans ce livre. Deux pages pour la plupart des taxons, la page de gauche, contient les informations essentielles (un Atlas n'est pas une flore et la partie descriptive de la plante n'y figure pas) : nom, nom français, synonymes, codification UICN, répartition, menaces et protection et deux photos et la page de droite, présente la carte de répartition accompagnée d'histogrammes. Pour une quinzaine de taxons, présents uniquement en Corse, les monographies ne comporteront qu'une seule page car la carte sera réduite à la Corse.

Après ces choix cartographiques, que donnent les résultats d'ensemble !

- Zones riches en orchidées (en foncé sur la carte, Figure 2) : à l'est du Rhône, le massif alpin et son prolongement jurassien et le domaine méditerranéen (basse Provence surtout), sont très riches ; on y observe la plus grande diversité d'espèces. Le massif pyrénéen, très fourni à l'est et beaucoup moins à l'ouest, renferme de nombreuses espèces. Le couloir correspondant à la bordure sud et sud-ouest du Massif central jusqu'au Périgord et au Quercy, est une zone abondante en orchidées. Enfin, au nord, un arc bien fourni, allant de la Meurthe et de la Moselle vers la Haute-Marne et jusqu'à l'Indre, suit à peu près l'Arc jurassique bien visible sur les cartes géologiques. La Corse renferme de nombreuses espèces réparties sur presque toute l'île (la plaine orientale est plus pauvre) mais la région de Bonifacio est la plus fournie.

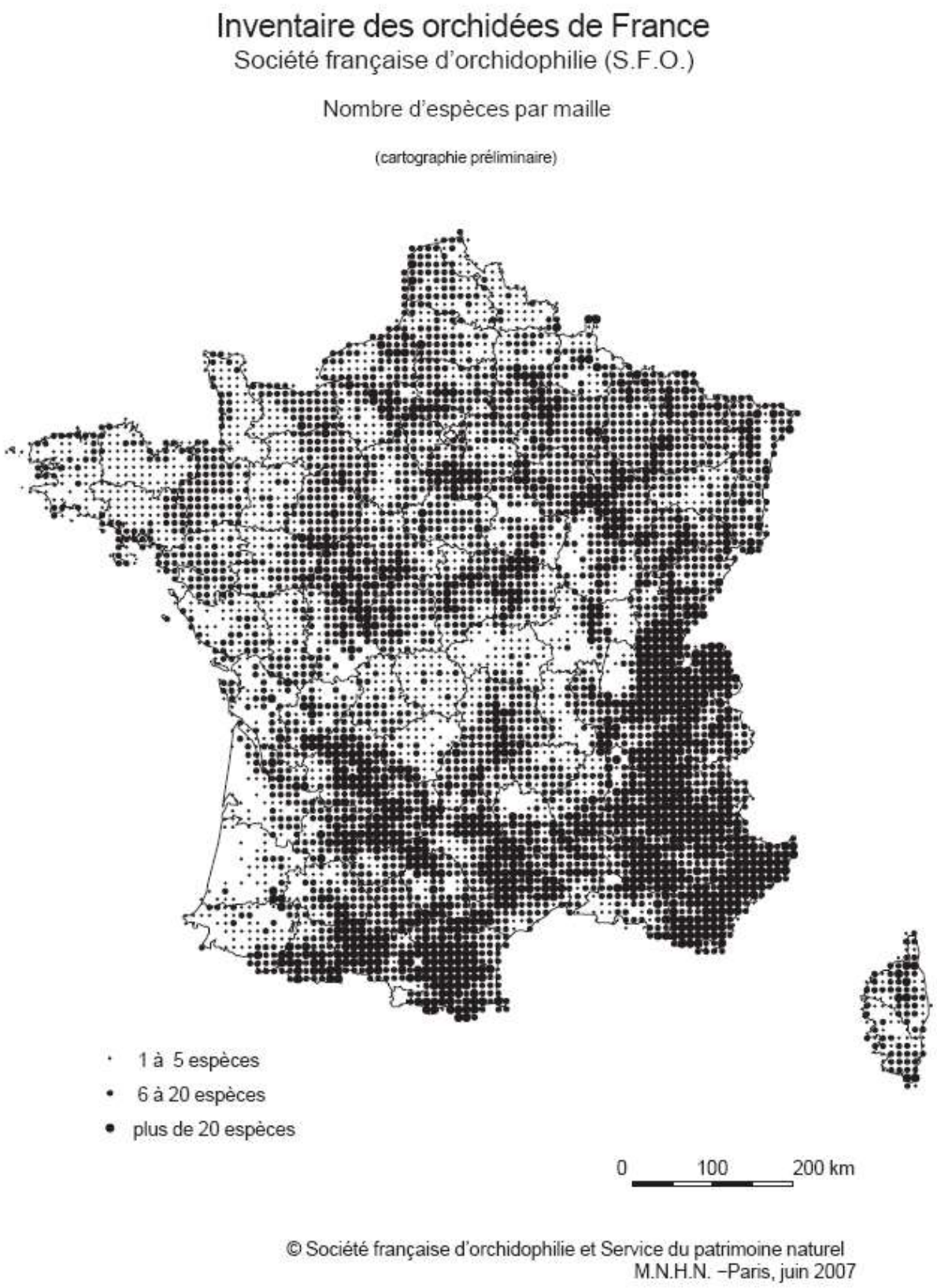


Figure 2. Carte du nombre d'espèces par maille. On a utilisé 3 tailles de points : 1 à 5 espèces, 6 à 20 et plus de 20 pour le plus gros.

- Zones pauvres en orchidées (en clair sur la carte, Figure 2) : le couloir de la Saône, Bresse et Dombes surtout, est pratiquement vide d'orchidées jusqu'à la latitude de Dijon et la basse vallée du Doubs. Au sud-ouest de la Garonne, les Grandes Landes, le Bas Armagnac, la Lomagne, sont aussi pauvres en espèces. L'intérieur du Massif armoricain ne renferme que quelques espèces mais la zone côtière est nettement plus riche et abrite des espèces variées même méditerranéennes-atlantiques. Dans le Massif central (terrains cristallins et volcaniques) le Limousin, le Bourbonnais, le Beaujolais et le Morvan sont aussi des régions peu fournies.

APRES L'ATLAS

Après l'Atlas, La SFO entend maintenir actif le réseau des cartographes et continuer la prospection et le suivi des stations. Les deux impératifs de connaissance et de protection sont incontournables.

En complétant les observations, on pourra préciser la dynamique des espèces et mieux situer les menaces auxquelles elles sont exposées. Des initiatives régionales récentes (Rhône-Alpes, PACA, Centre, ailleurs peut-être...) montrent qu'il existe une volonté de mettre en place une nouvelle phase dans la cartographie, suite du processus ayant abouti à l'Atlas. Par exemple, dans la région PACA, l'idée est de rassembler les informations dans une base qui alimentée et contrôlée par les orchidophiles locaux, servira à la constitution d'un grand ensemble national.

Les importants progrès techniques disponibles en informatique, doivent servir à installer une nouvelle phase dans le travail de cartographie. Il est maintenant indispensable de disposer de relevés plus précis sur la position des populations et aussi sur leurs effectifs. Des dispositifs devront être mis en place pour permettre au plus grand nombre d'observateurs de contribuer à la poursuite de l'inventaire.

Bibliographie

Ouvrages généraux

Bournérias M. & Prat D. 2005. *Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg*, deuxième édition, Biotope, Collection Parthénope. 504 p.

Delforge P. 2005. *Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche Orient.* Delachaux et Niestlé, Paris, 640 p.

Delforge P. 2007. *Guide des Orchidées de France, de Suisse et du Bénélux*, Delachaux et Niestlé, Paris, 288 p.

Souche R. 2004. *Les orchidées sauvages de France*, Les Créations du Pélican/ VILO, 340 p.

Atlas départementaux publiés par la SFO

Braud S. & Corillion R. 1994. Cartographie des orchidées du Maine-et-Loire. *L'Orchidophile. Supplément* 111. 35 p.

Castel H. 1985. Cartographie des orchidées de l'Aude. *L'Orchidophile. Supplément* 67. 22 p.

Corcelle J. 1989. Cartographie des orchidées de l'Ain. *L'Orchidophile. Supplément* 88. 40 p.

Chas E. 1989. Cartographie des orchidées des Hautes-Alpes. *L'Orchidophile. Supplément* 90. 48 p

Coulon F. & Duvigneaud J. 1991. Cartographie des orchidées des Ardennes. *L'Orchidophile. Supplément* 96. 35 p.

Dauge J. 1985. Cartographie des orchidées du Cantal. *L'Orchidophile. Supplément* 67. 20 p.

Delnott G. 2004. *Cartographie des Orchidées de la Vendée,* Société Française d'Orchidophilie, Paris. 32 p

Dupuy D. 1988. Cartographie des orchidées de la Nièvre. *L'Orchidophile. Supplément* 84. 32p.

Engel R. 1986. Cartographie des orchidées du Bas-Rhin et Haut-Rhin. *L'Orchidophile. Supplément* 73. 36 p.

Escat M. 1994. Cartographie des orchidées de Dordogne. *L'Orchidophile. Supplément* 112. 34p.

Groupe orchidophile de la SSNAHM 1992. Cartographie des orchidées de la Haute-Marne. *L'Orchidophile. Supplément* 99. 40 p.

Guichard P. & Rabatel J. 1992. Cartographie des orchidées de la Marne. *L'Orchidophile. Supplément* 101. 39 p.

Jacquet P. 1995. Cartographie des orchidées du Rhône. *L'Orchidophile. Supplément* 116. 56 p.

Joseph G. 2002. Cartographie des Orchidées de la Haute-Garonne. *L'Orchidophile. Supplément* 152. 64 p.

Lanfant P. 1997. Cartographie des orchidées de l'Aube. *L'Orchidophile. Supplément* 128. 48 p.

Lemoine B. 1997. Cartographie des orchidées du Tarn-et-Garonne. *L'Orchidophile. Supplément* 133. 48 p.

Lemouzy C. & Segonds J. 2007. *Cartographie des Orchidées du Gers*. Société Française d'Orchidophilie, Paris. 56 p.

Mahé G. 1998. Cartographie des orchidées de Loire-Atlantique. *L'Orchidophile. Supplément* 133. 48 p.

Menos J.-L. 1999. Cartographie des orchidées de l'Aveyron. *L'Orchidophile. Supplément*135. 48 p.

Millarakis *et al.* 2002. Cartographie des Orchidées de la Meuse, *L'Orchidophile. Supplément* 151, 55 p.

Gatien J.-L., Guillaumin J.-J. & Koenig J. 2002. *Cartographie des Orchidées du Puy-de-Dôme*, Société Française d'Orchidophilie, Paris. 79 p.

Publications départementales ou régionales

Amardeilh J.-P. 2008. *Atlas des orchidées d'Indre-et-Loire*, Edition Société Française d'Orchidophilie, Paris. 102 p.

Demares M. 1999. *Atlas des orchidées sauvages de Haute-Normandie*, Edition Société Française d'Orchidophilie-Groupement Normandie. 213 p.

Dusak F. & Pernot P. 2002. *Les Orchidées sauvages d'Île-de-France*, Collection Parthénope, Biotope, Mèze. 208 p.

Engel R. & Mathé H. 2002. *Orchidées sauvages d'Alsace et des Vosges*, Edition du Griffon, Saverne. 217 p.

Guérin J.-C., Mathé J.-M. & Merlet A. 2007. *Les Orchidées de Poitou-Charentes et de Vendée*, Collection Parthénope, Edition Biotope, Mèze. 288p.

Guerold F. & Pernet B. 1998. *A la découverte des orchidées de Lorraine*, Edition Serpenoise, Metz. 247 p.

Jacquet P. 1995. *Une répartition des orchidées sauvages de France*, 3ème édition, SFO, 100p.

Jacquet P. & Scappaticci G. 2003. *Mise à jour de la répartition des orchidées sauvages de France*, 3ème édition, supplément au n° 155 de l'Orchidophile, SFO.

Jouandoudet F. 2004. *A la découverte des orchidées sauvages d'Aquitaine*, Collection Parthénope, Edition Biotope, Mèze. 240 p.

Martin R. 2005. *Orchidées sauvages du Lubéron*, Edisud, Aix-en-Provence. 195 p.

Roberdeau J.-C., Berger A., Surand C. & Vaslet D. 2002. *Les orchidées sauvages de la région Centre*, Société d'Orchidophilie Centre Loire. 190 p.

Servier J.F. & Henniker C. J. 1994. *Atlas des orchidées du département de l'Isère*, Muséum d'Histoire Naturelle de Grenoble. 238 p.

Tilly B. & Tilly J-P, Tilly J-J 1997. *Cartographie des orchidées de la Sarthe*, Ed. Conservatoire du Patrimoine Naturel Sarthois, Le-Mans. 64 p.

Approcher l'écologie des orchidées à travers un atlas : enjeux de suivi et de conservation

François MUNOZ
UM2 - UMR AMAP, Bd de la Lironde, TA A-51 / PS2, 34398 Montpellier cedex 5

Abstract – Understand the orchid ecology thanks to an atlas: importance of survey and of protection. The French Society of Orchidophily has produced a national Atlas of the native orchid species, thanks to a large and efficient network of local members. Geographic information on the environment is furthermore available at the national scale, especially regarding the climate, and we have conducted a survey on the relationships between orchid spatial distributions and the local environmental information, in order to grasp the ecological preferences of the species. We used the Maxent (Maximum of entropy) method, which allows assessing the current most likely suitable area, along with predicting the potential switches in orchid distributions due to changing climate conditions. The present paper is not a technical report of this research, but rather a demonstration of the interest of linking naturalistic knowledge and quantitative analysis for the purpose of orchid conservation and management.

Résumé – En s'appuyant sur un important réseau de correspondants et de spécialistes, la Société Française d'Orchidophilie a constitué un Atlas national des orchidées. Nous avons par ailleurs réuni des informations cartographiques sur l'environnement, en particulier en ce qui concerne le climat. Un modèle statistique reliant les localisations des espèces aux données environnementales est proposé (Maximum d'entropie, Maxent). Il permet d'évaluer certaines préférences écologiques des espèces et d'étudier l'évolution possible de leur répartition dans un contexte de changement climatique.
La présentation de ce travail ne se veut pas technique mais propose d'associer, pour le suivi et la conservation des orchidées, observation naturaliste de terrain et analyse écologique quantitative.

INTRODUCTION

La niche d'une espèce est un ensemble de conditions environnementales permettant l'existence et le maintien de populations viables (Hutchinson, 1957). Sa description est fondamentale dans l'étude de l'écologie de l'espèce (Barbault, 2000). Expérimentalement il est possible d'évaluer la survie et la démographie d'une espèce dans une variété de contextes afin de délimiter sa niche (étude directe). Mais à large échelle d'espace et de temps, l'expérimentation peut être difficile et coûteuse. Cependant une approche indirecte est également concevable. Il est possible en effet d'analyser à un moment donné la distribution spatiale d'une espèce comme un instantané de sa réponse aux conditions environnementales. Une étude statistique des données d'Atlas, en recoupant les localisations avec des informations environnementales indépendantes, apporte alors des informations sur la niche des espèces, permet de mieux connaître leur écologie, et éventuellement de mieux prédire leur devenir dans un contexte de changements environnementaux (Guisan & Zimmermann, 2000).

Cette étude statistique indirecte est appelée modélisation de l'habitat potentiel des espèces. Le terme « potentiel » rappelle que l'approche est partielle à différents égards : (i) il est difficile voire illusoire de prendre en compte l'ensemble des conditions environnementales permettant de décrire la niche, (ii) le modèle statistique associe des données de répartition des espèces et des données environnementales sans représenter précisément le détail des processus qui les lient, ce qui engendre un certain niveau d'imprécision. Il n'y a donc pas de

prétention à une mesure précise et exhaustive de la niche, mais l'approche permet de mettre en évidence certains aspects écologiques importants qui conditionnent la distribution des espèces.

MATERIEL ET METHODES

Les données de l'Atlas des orchidées de France, produites par un large réseau d'observateurs sur l'ensemble du territoire, sont des observations localisées dans l'espace avec une précision variable. Par ailleurs nous disposons de données environnementales de différentes natures : des cartes de données météorologiques obtenues par extrapolation des observations effectuées entre 1950 et 2000 (Worlclim ; Hijmans *et al*., 2005), des cartes d'occupation des sols fournies par le programme européen Corine Land Cover (polygones de surface minimale de 25ha, nomenclature standardisée; Collectif, 1993), des données géologiques représentant les formations géologiques superficielles, et un modèle numérique de terrain figurant les reliefs et diverses données topographiques associées (altitudes, pentes, expositions). Ces données sont utilisables pour l'étude de l'habitat potentiel des espèces, dans la mesure où elles représentent des déterminants environnementaux importants. La communauté scientifique a par ailleurs identifié une sélection de grandeurs synthétiques reliées au climat, appelées bioclimatiques, comme pertinentes pour la description des habitats potentiels (Huntley *et al.* 1995). Au nombre de 20 dans notre étude, elles incluent les niveaux moyens de températures et de précipitations, les gammes de variation saisonnières, et les valeurs extrêmes.

Cependant une difficulté importante est le recoupement des localisations des espèces avec ces données environnementales. Une fraction importante des localisations présente une précision supérieure au kilomètre. Cela ne permet pas de déduire précisément les conditions topographiques, les usages des sols et la géologie d'après le positionnement des localisations. En revanche, la variation des principales données bioclimatiques (issues des données de températures et de précipitations) est suffisamment « douce » pour être entachée de moins d'erreur en cas d'imprécision de localisation, sauf dans les zones élevées. Nous avons donc effectué un tri préalable des données afin de ne conserver que celles qui ont une précision de localisation inférieure à 2 km en latitude et longitude, avons contrôlé la qualité des données d'altitude quand les observateurs ont rapporté l'altitude effective des localités, et avons exclu certaines données anormales. Grâce à ce tri préalable, nous avons pu conserver une fraction de 64000 stations qualifiées de fiables pour l'étude écologique. En définitive un tableau récapitulatif inclut les localités, l'identité des espèces et les données bioclimatiques associées.

L'étape suivante, également cruciale, est la modélisation statistique du lien entre localisations des espèces et données environnementales, de nature à décrire de manière pertinente l'écologie des espèces (Guisan & Zimmermann, 2000). De nombreuses méthodes existent et sont largement discutées par la communauté scientifique. Il faut savoir qu'il n'y a pas de solution « miracle » et que toute approche présente des avantages et des inconvénients. Celle que nous avons adoptée, baptisée « Maximum d'Entropie » (Maxent ; Phillips *et al.* 2006), évalue à partir d'une fraction des localités, dites de calibration, une distribution de probabilités des espèces en fonction des données environnementales, et en déduit une carte de distribution probable (là où on a des chances de rencontrer l'espèce d'après les conditions environnementales locales). La validité de cette carte peut être vérifiée au moyen d'une autre fraction des localités, dites de validation, et fournir un indicateur de valeur prédictive, appelé AUC. L'AUC se situe sur une échelle de 0.5 (aucune valeur prédictive) à 1 (présences et absences parfaitement bien prédites). Nous appliquons la méthode Maxent aux données de l'Atlas des orchidées sur la base des conditions bioclimatiques. En fonction de la valeur de l'AUC, nous pouvons identifier les espèces pour lesquelles le bioclimat est un déterminant environnemental important et celles pour lesquelles d'autres aspects écologiques semblent

prédominer. Par ailleurs, l'examen de la carte de l'habitat potentiel permet de discuter les influences climatiques et biogéographiques à large échelle influençant les distributions des espèces.

RESULTATS

Dans le cas de *Cephalanthera damasonium* (Figure 1), les données de l'Atlas (Fig.1a) sont confrontées aux données bioclimatiques, ce qui permet de définir une carte de l'habitat potentiel de l'espèce (Fig.1b). Bien que le modèle traduit bien la limite écologique de l'espèce dans les zones atlantiques et en altitude, la valeur prédictive globale demeure moyenne (AUC = 0.74), et il y a des erreurs visibles dans la prédiction du modèle (zones marquées de pointillés, Fig.1b). Il est possible que le modèle n'inclue pas certains facteurs écologiques importants, d'où l'erreur visible aux marges de la distribution, là où des compensations écologiques peuvent être en exergue. Une compensation écologique est le fait qu'une espèce puisse subsister dans un contexte défavorable à certains égards, quand ce handicap est compensé par d'autres conditions favorables. Cela est généralement délicat à modéliser et implique souvent des grandeurs écologiques non prises en compte ici (qualité du substrat, usages des sols…).

(a) (b)

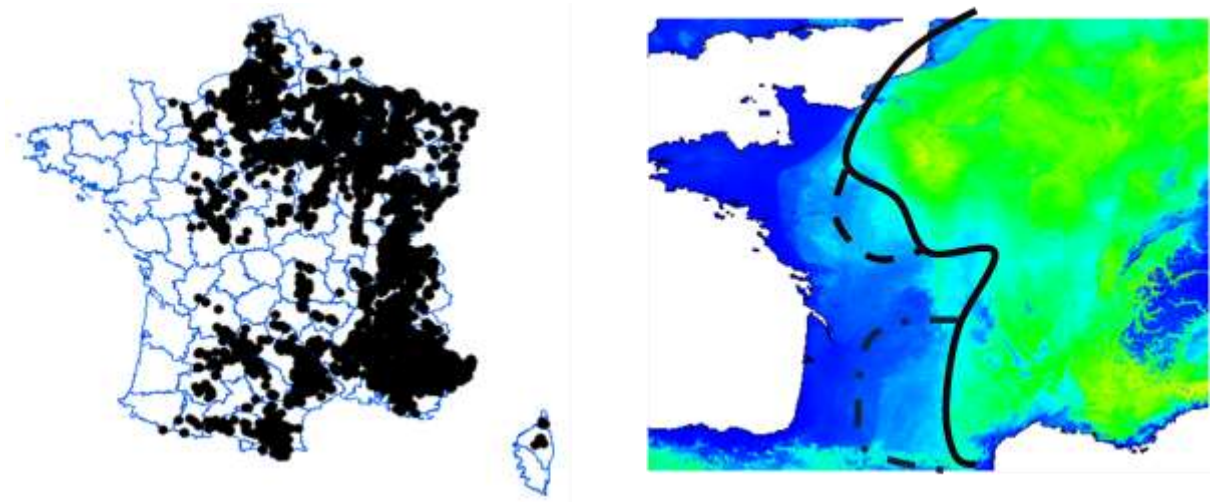


Figure 1. Représentation de (a) la répartition de *Cephalanthera damasonium*, (b) son habitat potentiel bioclimatique obtenu au moyen de la méthode Maxent. La carte d'habitat potentiel représente une plus forte probabilité de présence par des couleurs plus chaudes (gradient du bleu au rouge). Une limite potentielle occidentale de la distribution est figurée en (b) par une courbe continue tandis que les courbes pointillées soulignent des zones où l'espèce a moins de chances de figurer d'après le modèle mais où de nombreuses localités sont recensées dans les faits.

Dans le cas d'*Ophrys aveyronensis* (Figure 2), espèce des grands Causses, l'analyse de l'habitat potentiel bioclimatique met en exergue une région de présence probable hors de nos frontières au nord-ouest de l'Espagne, ce qui est cohérent avec la présence effective d'un taxon similaire, probablement de la même espèce. Cette zone hors de la zone d'étude de l'Atlas reste cependant imprécisément délimitée. Quoi qu'il en soit, l'AUC extrêmement bon (0.99) suggère que cette plante à écologie bien typée présente une distribution fragmentée contrainte par le bioclimat. En modulant les conditions climatiques, on constate que des zones de piémonts pyrénéens auraient pu être favorables dans un contexte légèrement différent et, dans ces conditions, les populations caussenardes seraient récemment isolées et relictuelles.

Un résultat similaire est observé pour un autre Ophrys caussenard fameux, *Ophrys aymoninii*, dont la zone d'habitat potentiel s'étend également au nord-ouest de l'Espagne où se trouve *Ophrys subinsectifera*, taxon très voisin.

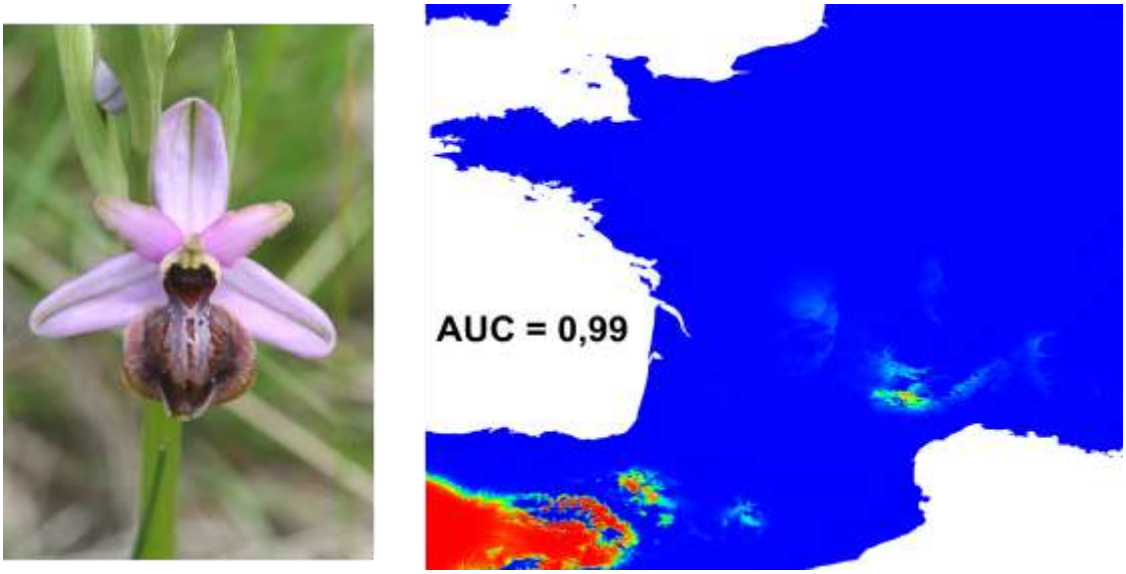


Figure 2. Habitat potentiel bioclimatique de *Ophrys aveyronensis*, focalisé sur la zone caussenarde et suggérant une forte similarité avec le nord-ouest de l'Espagne où la présence d'un taxon très similaire est discutée. (Photo F. Munoz)

Une fois que le modèle d'habitat potentiel est défini pour une espèce, nous pouvons le cartographier dans le contexte climatique actuel ou dans un contexte climatique changeant. La Figure 3 représente la cartographie de l'habitat potentiel de *Himantoglossum robertianum* dans les conditions actuelles (Figure 3a). L'AUC de 0.97 montre que le modèle a un pouvoir prédictif excellent et donc que le climat est un élément écologique important pour cette espèce. Il est alors pertinent d'évaluer l'évolution potentielle de la répartition de l'espèce dans des conditions de changement climatique (Figure 3b). Nous avons considéré un scénario de changement climatique correspondant à un doublement du taux de CO2 atmosphérique, affectant ici les conditions de températures. Le modèle révèle la possibilité d'une extension atlantique préférentielle de l'espèce.

DISCUSSION

Un Atlas fournit des données de localisation des populations d'une espèce qu'il est possible de recouper avec des données environnementales afin de définir l'habitat potentiel de l'espèce. Nous avons ainsi évalué et cartographié l'habitat potentiel bioclimatique des orchidées de France. La qualité du modèle reflète la plus ou moins forte dépendance de l'espèce aux conditions bioclimatiques, tandis qu'une projection de l'habitat potentiel dans des scénarios de changement climatique peut permettre d'évaluer son devenir et sa vulnérabilité.

C'est une approche indicative dans la mesure où une partie des facteurs environnementaux seulement peut être prise en compte. En l'occurrence, nous avons du exclure l'analyse des données d'occupation des sols et de la géologie, pourtant probablement très pertinentes pour l'écologie de nombreuses orchidées, parce que la précision de localisation des observations n'était pas suffisante pour permettre cette analyse. Ainsi l'analyse de l'habitat potentiel bioclimatique est une vision partielle de la niche, qui peut être améliorée avec des données plus précises notamment, mais elle a le mérite de fournir des

indications à large échelle spatiale sur une composante importante de l'écologie des orchidées.

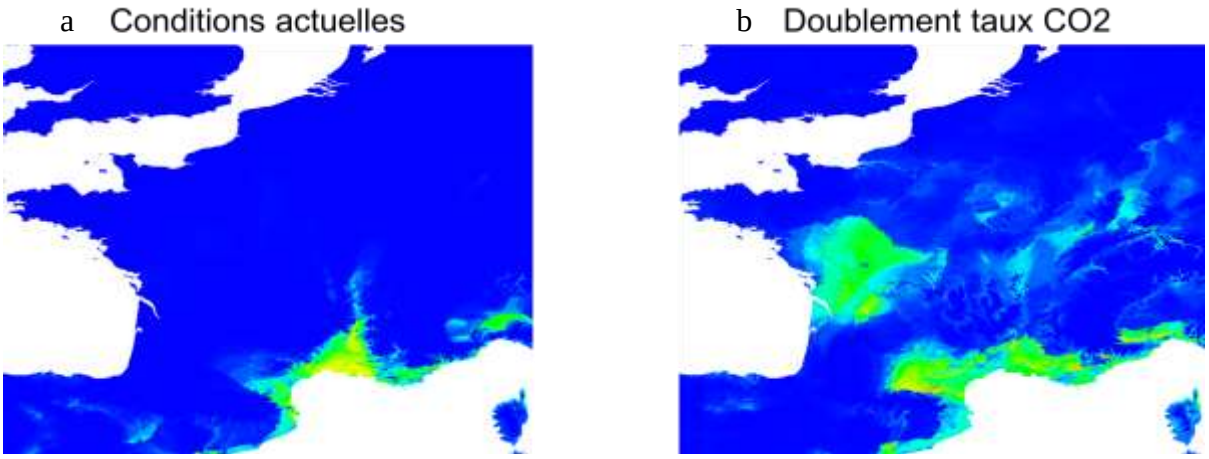


Figure 3. Habitat potentiel bioclimatique de *Himantoglossum robertianum* représenté dans les conditions climatiques actuelles (a) et sous un scénario de doublement du CO2 atmosphérique.

Cela illustre l'intérêt des données d'Atlas pour des études écologiques quantitatives, en particulier aux larges échelles spatiales inaccessibles aux expérimentations directes. Dans un contexte de changements climatiques susceptibles d'affecter les répartitions d'espèces à une très large échelle, ces approches sont donc essentielles pour évaluer la vulnérabilité des espèces et cibler des actions éventuelles de conservation.

Bibliographie

Barbault R. 2000. Écologie générale - Structure et fonctionnement de la biosphère Dunod.

Collectif. 1993. CORINE land cover technical guide. Office for Official Publications of the European Communities, Luxemburg.

Guisan A. & Zimmermann N.E. 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. Ecological Modelling 135: 147-186.

Hijmans R.J., Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G. & Jarvis A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. International Journal of Climatology 25: 1965-1978.

Huntley B., Berry P.M., Cramer W., & McDonald A.P. 1995. Modelling Present and Potential Future Ranges of Some European Higher Plants Using Climate Response Surfaces. Journal of Biogeography 22: 967-1001.

Hutchinson G.E. 1957. Concluding remarks- Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. Pages 193-213 *in* Reprinted in 1991: Classics in Theoretical Biology. Bull. of Math. Biol.

Phillips S.J., Anderson R.P. & Schapire R.E. 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. Ecological Modelling 190: 231-259.

Evaluation des risques d'extinction des orchidées de France : application de la méthode de la Liste Rouge de l'UICN au niveau national

Philippe FELDMANN
Commission scientifique de la Société Française d'Orchidophilie
philippe.feldmann@sfr.fr

Abstract – Evaluation of the risks of extinction of the Orchids from France: IUCN Redlist implementation at the national level. The French orchid flora is rich with more than 160 taxa. Due to the many threats, some species have become rare. To get a better knowledge of the status of the French orchids, SFO scientific advisory board used the IUCN (International Union for Conservation of Nature) Redlist method applied at the national level to analyse their extinction risks. The national Atlas of orchids gave mapping data allowing estimating the areas of occurrence and a questionnaire sent to the regional mapping coordinators gave the necessary information about the evolution of populations and the threats. IUCN threat categories could be proposed for 129 of the 164 analyzed taxa and gave the following results:

- One regionally extinct taxon (RE): *Anacamptis collina*
- 4 endangered species (EN)
- 23 vulnerable species (VU)
- 37 near-threatened species (NT)
- 64 least-concerned species (LC)

More than 20 % are therefore classified as threatened, a proportion going as high as near 50 % if NT species are included. IUCN criteria and categories of risks give useful information helping to identify the priorities of conservation and to develop the adequate management policies for the preservation of the species and their habitats.

Résumé – La flore des orchidées de France est diversifiée avec plus de 160 taxons répertoriés. De nombreuses menaces ont été identifiées et certaines espèces sont devenues rares. Afin de mieux connaître le statut des orchidées françaises, une évaluation des risques d'extinction a été faite sous la coordination de la Commission scientifique de la SFO en appliquant au niveau national la méthode de la liste rouge de l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature). L'Atlas national des orchidées a fourni les données cartographiques permettant d'estimer les aires de répartition et une enquête auprès des cartographes départementaux a permis de synthétiser les évolutions et les menaces connues pesant sur les populations d'orchidées. Sur les 164 taxons analysés, une proposition de catégorie de menaces a pu être proposée pour 129 d'entre eux. L'évaluation donne les résultats suivants :

- Un taxon éteint régionalement (RE) : *Anacamptis collina*
- 4 espèces en danger (EN)
- 23 espèces vulnérables (VU)
- 37 espèces proches de menacées (NT)
- 64 espèces de préoccupation mineure (LC)

Ainsi plus de 20 % des 129 espèces d'orchidées évaluées sont menacées d'extinction, ce chiffre montant à un niveau élevé de près de 50 % si l'on inclut les espèces proches de menacées. Pour chaque espèce, la caractérisation des risques selon les critères développés par l'UICN fournit des informations utiles pour contribuer à hiérarchiser les priorités de

conservation et à développer les politiques de gestion adaptées des espèces et des espaces qu'elles occupent.

INTRODUCTION

La flore des orchidées française est diversifiée avec des espèces occupant de nombreux milieux sous réserve qu'ils ne soient pas trop transformés par les activités humaines qui sont à l'origine de nombreuses menaces.

L'Atlas des orchidées de France qui sera bientôt publié répertorie plus de 160 taxons, nombre en forte croissance depuis plusieurs dizaines d'années. En effet, l'amélioration des connaissances des orchidées a conduit certains auteurs à séparer des taxons en plusieurs espèces et les débats qui s'en suivent font que la situation reste loin d'être stabilisée. Ces discussions taxonomiques, pour intéressantes qu'elles soient, peuvent cependant avoir des conséquences négatives en terme de conservation.

L'inflation du nombre d'espèces et en particulier l'identification de taxons à micro populations, et donc à « micro » enjeux brouille les messages de conservation. C'est le cas par exemple des *Ophrys* tardifs du groupe « fuciflora » du sud-est de la France.

L'autre approche développée par certains taxonomistes consiste à fusionner les taxons présentant une forte variabilité et de nombreuses populations intermédiaires. Cette approche conduit à ignorer les menaces et les risques d'extinction de certaines populations ou taxons originaux. Le genre *Ophrys* résume bien ces positions extrêmes avec une estimation allant selon les auteurs d'une vingtaine à plusieurs centaines d'espèces. C'est ainsi que la proposition d'inscription sur la liste rouge mondiale de l'UICN du taxon très menacé *Ophrys aveyronensis* est bloquée par l'autorité liste rouge pour les orchidées qui a pris la position extrême décrite par Pedersen & Faurholdt (2008) qu'il ne s'agirait qu'une forme d'un nouveau concept qu'ils appellent « complexe hybridogène non stabilisé ».

La Flore des orchidées de France présente des taxons devenus rares au cours du XXème siècle et pour lesquels l'évaluation des risques d'extinction présente un certain caractère d'urgence afin de pouvoir proposer et mettre en œuvre les mesures de conservation et de gestion éventuellement nécessaires.

De nombreuses menaces ont été identifiées, dont les principales sont listées ci-dessous :

- Destruction de l'habitat (urbanisation, tourisme, agriculture, plantations)
- Changement d'usage des territoires :
  - ► Intensification (engrais et herbicides, homogénéisation des paysages)
  - ► Abandon (pâturages, fermeture des milieux)
  - ► « Assainissement » des zones humides
  - ► Gestion de la faune sauvage (sangliers)
- Collectes et commercialisation
  - ► Collectionneurs mais aussi « orchidophiles » et « chercheurs »
  - ► On observe une recrudescence récente :
    - Horticulture, pharmacologie (*Spiranthes spiralis*)
    - Commerce sur Internet (*Ophrys aveyronensis*)
- Impact des changements globaux
  - ► Ils sont encore sous-estimés de manière intuitive en raison de la difficulté à anticiper des modifications dont on ne connaît pas l'ampleur car elles n'ont jamais été observées directement auparavant et parce que les travaux scientifiques récents sont parfois méconnus.
  - ► Les conséquences complexes sont difficiles à modéliser. On arrive à développer des simulations théoriques d'évolution de l'aire de répartition à partir de modèles

bioclimatiques mais il est beaucoup plus délicat d'estimer les évolutions des interactions biologiques dont on sait qu'elles seront probablement celles ayant les conséquences les plus importantes :

- directes (températures, précipitations, événements extrêmes)
- indirectes (rupture d'associations, parasites et maladies)
- certains milieux sont plus exposés :
  - ► Les zones humides (en particulier de basse altitude, deltas)
  - ► Les zones de montagne où le réchauffement observé est plus rapide et où la diminution de la surface des écosystèmes est très importante lorsque l'on monte en altitude ne serait-ce que pour des raisons strictement géométriques. Ainsi dans les Alpes européennes, la surface au sol existante diminue de 83 % entre 2500 et 3000 m d'altitude (Körner, 2007).

Afin de pouvoir identifier les conséquences des menaces pesant sur la survie des espèces d'orchidées, différentes méthodes peuvent être utilisées. Nous avons retenu la méthode d'évaluation des risques d'extinction de la liste rouge mondiale de l'UICN telle qu'elle a été proposée en 2001 (UICN, 2001) appliquée au niveau de la seule France métropolitaine selon les lignes directrices préconisées (IUCN, 2003). Cette méthode présente désormais une robustesse avérée et c'est aussi un outil reconnu au niveau des gestionnaires et des décideurs de nombreux pays dont la France.

EVALUATION DES STATUTS DE MENACES

L'analyse des risques d'extinction des orchidées a valorisé les travaux des orchidophiles coordonnés par la SFO pour l'édition de l'Atlas des orchidées de France qui devrait paraître en 2010. L'Atlas comporte plus de 400 000 données fournies par plus de 3 000 personnes différentes sur un pas de temps d'une vingtaine d'années.

La Commission scientifique de la SFO a décidé dès 2005 d'utiliser la méthode de la liste rouge pour la rédaction du chapitre menaces de l'Atlas puis a proposé de s'associer à la démarche nationale d'établissement de listes rouges coordonnée par le Comité français de l'UICN et le Muséum National d'Histoire Naturelle qui, pour la flore associe également la Fédération des Conservatoires Botaniques Nationaux (CBN).

Si les données d'aires de répartition étaient déjà exploitables grâce aux travaux de l'Atlas (Figure 1) et des informations utiles disponibles dans l'ouvrage collectif sur les orchidées de France, Belgique et Luxembourg de la SFO (Bournérias & Prat, 2005), ce n'était pas le cas pour les informations nécessaires pour estimer l'évolution des populations. Un questionnaire a donc été établi et diffusé auprès des cartographes de tous les départements afin de collecter ces informations. Le taux de retour a été de 87 % pour les cartographes de la SFO, ce qui est très satisfaisant pour ce type d'enquête. L'analyse des résultats a ensuite été faite en suivant les préconisations de l'UICN et a permis de proposer des critères et des catégories de menaces. Pour ces étapes, plus de 90 personnes ont été mobilisées. Enfin une réunion de synthèse associant SFO, UICN, CBN Méditerranéen et de Corse a eu lieu le 29 mai 2009 pour valider les propositions de catégories qui avaient été faites.

RESULTATS ET DISCUSSION

Sur les 164 taxons analysés, une proposition de catégorie de menaces a pu être faite pour 129 d'entre eux. L'évaluation donne les résultats suivants (Figure 2) :

- 2 taxons **Non applicables** (NA)
- Un taxon **Eteint régionalement** (RE) : *Anacamptis collina*
- 4 taxons **En danger** (EN)

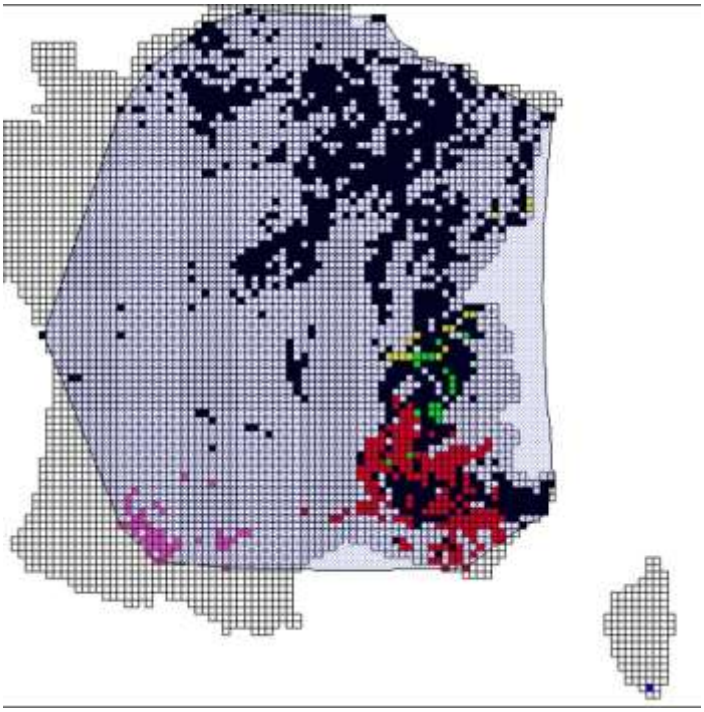


Figure 1. Aire d'occurrence des taxons du groupe d'*Ophrys fuciflora* en France.

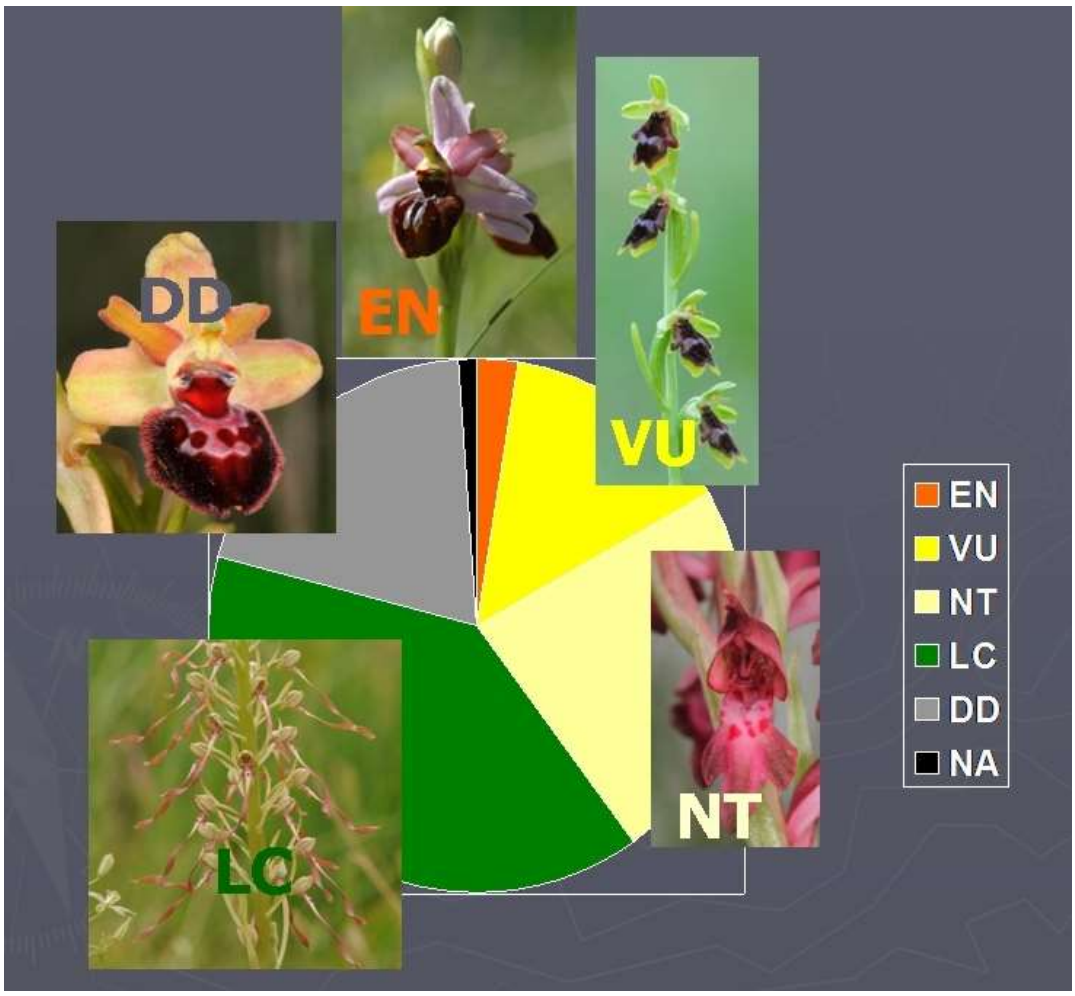


Figure 2. Importance relative des catégories de la liste rouge nationale des orchidées.

- 23 taxons **Vulnérables** (VU)
- 37 taxons **Quasi menacés** (NT)
- 64 taxons **de Préoccupation mineure** (LC)
- 33 taxons à **Déficit d'information** (CC)

Les espèces DD correspondent à celles pour lesquelles les données disponibles étaient insuffisantes pour proposer une catégorie de menaces en raison généralement d'évolution taxonomique récente ou non stabilisée. En effet, leur distinction et/ou reconnaissance trop récente ne permet pas d'estimer l'évolution de leur population au cours des 30 dernières années. Cette catégorie doit être considérée comme comportant des espèces pouvant être menacées. Cependant, la plupart de ces espèces ont aussi été évaluées globalement sous le nom de l'espèce « chapeau » dont elles ont été séparées. On peut donc considérer que l'évaluation liste rouge couvre bien l'ensemble de la flore des orchidées françaises Les deux espèces NA sont des taxons qui ne peuvent être considérés comme étant une population reproductrice installée et donc ne doivent pas être évalués selon les lignes directrices de l'UICN.

Aucune espèce d'orchidée n'est en danger critique d'extinction en France mais une espèce est déjà éteinte sur le territoire métropolitain. Les 4 espèces les plus menacées sont dans la catégorie **En danger** d'extinction **(EN)** au niveau national. :

Taxons	**% de la population mondiale (estimation)**
Hammarbya paludosa	< 1
Ophrys aveyronensis (proposée depuis 2008 comme VU au niveau mondial)	> 50
Ophrys eleonorae (Corse)	< 1
Ophrys philippi	100

Les 23 espèces classées **Vulnérables (VU)** sont les suivantes :

Taxons	**% de la population mondiale (estimation)**
Anacamptis coriophora ssp. *coriophora*	< 10
Anacamptis laxiflora	> 10
Anacamptis longicornu	< 10
Anacamptis palustris	< 5
Chamorchis alpina	< 1
Cypripedium calceolus	< 1
Dactylorhiza elata	< 10
Dactylorhiza incarnata	< 10
Dactylorhiza occitanica	100
Dactylorhiza ochroleuca	<< 1
Gymnadenia odoratissima	< 10
Herminium monorchis	< 1
Liparis loeselii	< 1
Neotinea conica	< 2
Neotinea lactea	< 2
Ophrys aymoninii	100

Ophrys speculum	<< 1
Ophrys tenthredinifera	<< 1
Orchis pauciflora	< 1
Platanthera algeriensis	< 1
Serapias cordigera	< 2
Serapias nurrica	> 20
Spiranthes aestivalis	< 10

Les 37 taxons **Quasi menacés (NT)** pourraient entrer prochainement dans une catégorie de menaces de la liste rouge :

Taxons	**% de la population mondiale (estimation)**
Anacamptis champagneuxii	< 5
Anacamptis coriophora ssp. *fragrans*	< 5
Anacamptis papilionacea	< 1
Coeloglossum viride	< 1
Corallorrhiza trifida	< 1
Dactylorhiza insularis	< 10
Dactylorhiza majalis	< 10
Dactylorhiza praetermissa	< 10
Dactylorhiza traunsteineri	?
Epipactis fageticola	< 30
Epipactis fibri	100
Epipactis kleinii	< 2
Epipactis neerlandica	< 1
Epipactis palustris	< 2
Epipactis phyllanthes	< 5
Epipactis placentina	< 5
Epipactis provincialis	100
Epipactis rhodanensis	> 10
Epipogium aphyllum	< 1
Gennaria diphylla	< 1
Neotinea tridentata	< 2
Ophrys aurelia	~50
[1]*Ophrys bertolonii* s. l.	> 30
Ophrys bombyliflora (Corse)	< 1
Ophrys catalaunica	~50
Ophrys drumana	100
Ophrys elatior	< 10
Ophrys magniflora	100
Ophrys morisii	?
Ophrys splendida	100
Orchis langei	< 1
Orchis olbiensis	< 5
Serapias lingua	< 10

[1] *O. bertolonii* sensu lato regroupe les 4 taxons présents en France *O. aurelia*, *O. catalaunica*, *O. drumana* et *O. magniflora* tous NT

Serapias neglecta	> 10
Serapias olbia	> 10
Serapias parviflora	< 5
Spiranthes spiralis	< 5

Plus de 20 % des espèces d'orchidées ayant pu être évaluées sont donc menacées d'extinction, ce chiffre montant à un niveau élevé de près de 50 % (DD exclues) si l'on inclut les espèces quasi menacées.

Pour chaque espèce, la caractérisation des risques selon les critères développés par l'UICN fournit des informations utiles pour contribuer à hiérarchiser les priorités de conservation et à développer les politiques de gestion adaptées des espèces et des espaces qu'elles occupent.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Une espèce d'orchidée présente en France métropolitaine sur cinq espèces évaluées est menacée de disparition, cette proportion montant à une sur deux si l'on inclut les espèces quasi menacées selon les critères de la liste rouge nationale.

Une liste rouge n'est cependant pas une fin en soi et restera sans effet si on n'en prévoit aucun usage. Elle a déjà permis d'identifier des manques de connaissances et donc d'orienter les futures prospections et les recherches éventuellement nécessaires mais aussi des menaces spécifiques et des besoins de mesures de protection adaptées. La liste rouge donne des éléments de priorisation des actions de gestion de l'environnement C'est donc un outil d'appui utile aux décideurs et aux gestionnaires qui auront toutefois besoin d'autres éléments scientifiques et techniques, telles que l'évaluation de « l'irremplaçabilité » de l'espèce (cas des endémiques) ou des écosystèmes, mais aussi d'ordre économique, sociologique, culturel et politique pour décider des actions à mener et pouvoir mobiliser les moyens nécessaires. Ainsi, une analyse des espèces les plus menacées pourrait conduire par exemple à des plans d'actions nationaux pour les préserver, répondant ainsi aux engagements du Grenelle de l'Environnement. Pour des raisons techniques, ces plans d'actions ont été dans un premier temps réservé aux espèces classées, souvent anciennement, en danger critique d'extinction (CR) sur la liste rouge mondiale de l'UICN. Ceci exclut de fait la majeure partie de la flore française qui comme la famille des Orchidées n'a jamais fait l'objet d'évaluation ! En corrigeant cette situation anachronique liée à l'historique de l'application de la méthode de la liste rouge mais peu cohérente avec la situation des menaces réelles, et à condition de l'étendre au-delà des espèces CR pour lesquelles il est peut-être parfois déjà trop tard, la liste rouge nationale des orchidées fournit ainsi des éléments clés pour évaluer de manière actualisée et réaliste leur faisabilité.

La situation des espèces d'orchidées de métropole telle qu'évaluée par la liste rouge reste difficile mais l'enquête effectué a aussi montré que certaines espèces étaient en extension en France. On peut à titre d'exemple citer *Himantoglossum robertianum* qui était encore il y a quelques dizaines d'années une espèce rare et protégée du sud de la France, ou bien *Goodyera repens* qui a profité de l'extension des plantations de résineux ou encore plus récemment certains Ophrys méditerranéens dont l'extension vers le nord semble être un des premiers signes du réchauffement climatique (Feldmann, 2007). Les orchidées sont la famille de plantes faisant l'objet de plus d'intérêt du grand public avec des milliers d'amateurs orchidophiles souvent devenus de réels spécialistes. Cette famille présente toutes les caractéristiques pour jouer le rôle de bioindicateur de premier choix pour suivre les changements globaux et locaux qui nous attendent. L'évolution de leurs populations et de leur statut évaluée par la liste rouge et par d'autres méthodes nous fournit grâce à ces sentinelles

de l'environnement pertinentes et médiatiques les données qu'il ne tient plus qu'à nous d'utiliser de la manière la plus utile pour notre environnement.

Remerciements

L'évaluation de la liste rouge n'a été possible que grâce aux informations collectées par les plus de 3000 orchidophiles de France et d'Europe qui ont participé aux prospections ayant permis, sous l'égide de la SFO, la cartographie nationale des orchidées. Pour la phase finale de l'évaluation, 92 personnes ont bien voulu répondre au questionnaire « liste rouge » ou réagir aux diverses sollicitations. La place ne permet de les citer ici mais leur contribution est rappelée dans les documents de la liste rouge et dans la publication de l'Atlas des orchidées de France (voir les sites de lUICN et de la SFO : http://www.uicn.fr ; http://www.sfo-asso.com/index.htm). La Société Française d'Orchidophilie et ses associations régionales, le Comité français de l'UICN, le Muséum National d'Histoire Naturelle, plusieurs Conservatoires Botaniques Nationaux et leur Fédération ont contribué à l'établissement de la liste rouge nationale des orchidées de France.

Bibliographie

Bournérias M. & Prat D. 2005. *Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg*. Edition Biotope, collection Parthénope. 504 p.

Feldmann P. 2007. *Une floraison précoce d'Ophrys dans l'Hérault : un effet du changement climatique ?* L'Orchidophile 38 (2) : 111-116.

Körner C. 2007. *The use of 'altitude' in ecological research.* Trends in Ecology and Evolution 22 (11): 569-574.

IUCN 2003. *Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional Levels* Version 3.0," IUCN, Gland, Switzerland & Cambridge, UK, 27 p.

UICN 2001. *Catégories et Critères de l'UICN pour la Liste Rouge*, Version 3.1. Gland, Suisse, 37 p.

Pedersen H.A. & Faurholdt N. 2007. *Ophrys, The Bee Orchids of Europe*. Kew Publishing, 297 p.

Epipactis fibri Scappaticci & Robatsch : une espèce atypique et mal connue

Gil SCAPPATICCI[1] & Irène TILL-BOTTRAUD[2]
1) 1674 Les Rouvières, 26220 Dieulefit
gil.scappaticci@wanadoo.fr
2) Laboratoire d'Ecologie Alpine, CNRS – Université Joseph Fourier, UMR 5553, BP 53, 38041 Grenoble Cedex
irene.till@ujf-grenoble.fr

Abstract – ***Epipactis fibri* Scappaticci & Robatsch: an original and badly known species**
A new Orchid species belonging to the genus *Epipactis*, was discovered in 1993 on the island of île du Beurre on the Rhone river in Tupin-et-Semons. It appears to be and endemic species restricted to a very specific habitat, representative of the types of habitats found along the Rhone river before dams and dykes were built. The species has a strong patrimonial value, although a regression has been noted at the margins of the distribution area for several years. An individual-based survey of the species indicated a very high but variable dormancy rate (80-90% of the plants are not found from one year to the other) depending on the sites. This dormancy is probably related to the presence of subterranean buds on the rhizomes. The survey also confirmed that the phenology of the species spreads largely over the vegetative season.

Résumé – Une Orchidée nouvelle appartenant au genre *Epipactis*, trouvée en 1993 sur le site de l'île du Beurre, à Tupin-et-Semons (Rhône), s'est avérée être une espèce endémique confinée à un milieu particulier, représentatif de l'environnement du Rhône avant la construction des ouvrages. Elle présente une valeur patrimoniale certaine, mais une régression aux marges de l'aire est constatée depuis plusieurs années. Un suivi fin des individus a montré un très fort taux de dormance (80-90% des individus ne sont pas retrouvés d'une année sur l'autre) mais variable selon les sites. Cette dormance est à relier à la présence de bourgeons observés sur les rhizomes. Le suivi a par ailleurs confirmé la phénologie très étalée de l'espèce au cours de la saison.

LES *EPIPACTIS*, GENERALITES

Le genre *Epipactis* est classé par les botanistes dans la famille des *Orchidaceae*, sous-famille des *Neottioideae*, tribu des *Neottieae*, sous-tribu des *Limodorinae* (labelle divisé en hypochile et épichile) qui comprend 4 genres : *Cephalanthera, Limodorum, Epipogium et Epipactis*. Des études récentes portant sur l'analyse génétique aboutissent à une classification un peu différente, les genres *Listera* et

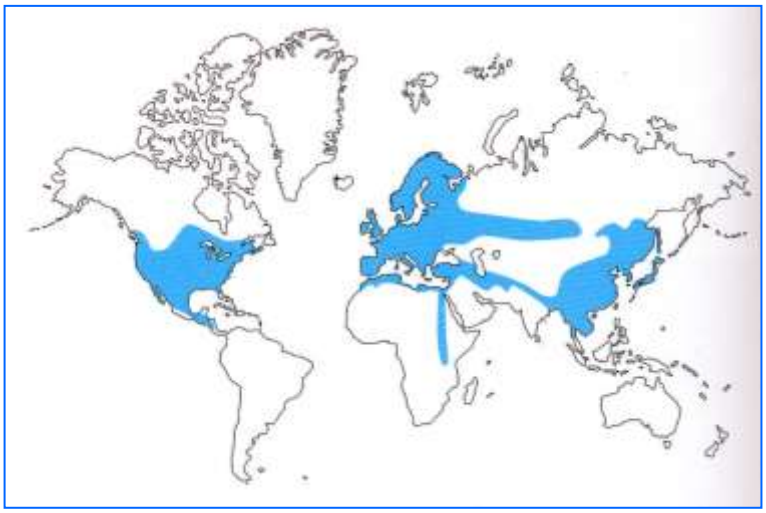


Figure 1. Répartition du genre *Epipactis*. Bournérias, Prat *et al*,, 2005.

Neottia, par ailleurs réunis maintenant dans *Neottia*, étant les plus proches d'*Epipactis*. Pour les scientifiques, le genre est divisé en trois clades, dont celui d'*E. helleborine*, le plus important, qui renferme la totalité des espèces européennes, sauf *E. palustris*.

Répartition mondiale

Le genre est représenté surtout dans l'hémisphère nord. De nombreuses espèces sont présentes en Extrême-Orient (Chine surtout), une soixantaine d'espèces en Europe et Afrique du Nord, deux espèces en Afrique tropicale et trois espèces en Amérique du Nord, dont deux espèces européennes qui semblent s'être implantées récemment.

Le genre *Epipactis* en Europe

Le nombre d'espèces a beaucoup augmenté en Europe en quelques décennies avec la découverte de nombreuses populations autogames isolées. Au début XXème siècle, Bonnier distingue 4 espèces et 2 sous-espèces. En 1962, Young en compte 15. Dans son premier guide, en 1994, Delforge en dénombre 36 ; ce nombre passe à 59 dans sa troisième édition, en 2005. En 2009, il y a plus de 60 espèces d'*Epipactis* décrites en Europe, dont 7 seulement de large distribution : *E. palustris*, *E. helleborine*, *E. muelleri*, *E. atrorubens*, *E. microphylla*, *E. purpurata* et *E. leptochilla*. Toutes les autres ont une aire restreinte à quelques pays, à une région, voire un massif ou une vallée.

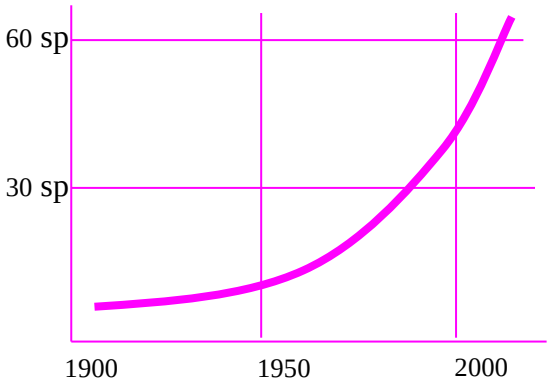


Figure 2. Evolution du nombre d'espèces d'*Epipactis* en Europe depuis le début du 20ème siècle.

Milieux occupés par les *Epipactis*

Ces plantes croissent principalement dans les forêts et surtout à leurs lisières. Ce sont donc en majorité des espèces sciaphiles ; quelques rares espèces sont héliophiles (situation ensoleillée), et deux espèces colonisent des milieux humides. Elles peuvent apparaître dans des milieux fortement anthropisés, comme les parcs des villes, parfois même sur des sites pollués (haldes de mines de plomb !)

Mode de reproduction

Un certain nombre d'espèces sont allogames (dont la reproduction est inféodées aux insectes pollinisateurs), d'autres sont autogames, se reproduisant sans les insectes, parfois même cléistogames pour certaines (pollinisation à l'intérieur du bouton floral, sans ouverture de la fleur). On observe que certaines espèces allogames peuvent, en fonction d'une météo défavorable (sécheresse prolongée, absence de pollinisateurs…), adopter facultativement un comportement autogame.

Figure 3. Fleur d'*Epipactis fibri*.

Phénologie des *Epipactis* et particularité d'*E. fibri*

Les *Epipactis* ont une phénologie largement décalée vis-à-vis des autres orchidées européennes. Seul *E. microphylla* est relativement précoce (mai-juin). *E. purpurata* est un peu plus tardif que les autres espèces (Fig. 4a). Quant à *E. fibri*, il se démarque par sa floraison tardive et prolongée. Après un pic de floraison situé vers début août, un certain nombre de plantes continue de sortir de terre et de fleurir jusqu'aux premières gelées (Fig. 4b).

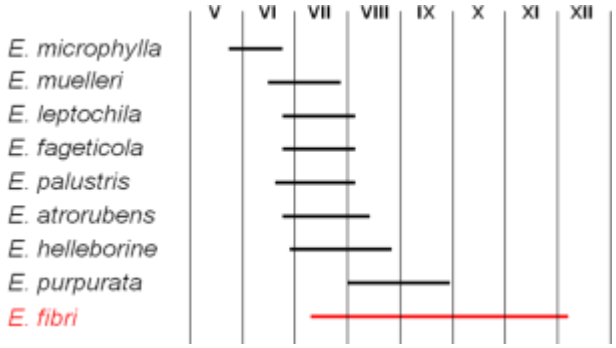


Figure 4a : Phénologie de quelques *Epipactis* de France.

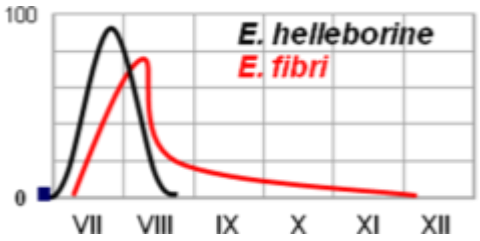


Figure 4b : Comparaison du nombre de plantes en fleurs chez un *Epipactis* type (*E. helleborine*) et *E. fibri*.

HISTORIQUE

1993 : découverte d'un *Epipactis* inconnu

Lors du début de la décennie 1990, une Cartographie des orchidées du département du Rhône, coordonnée par Pierre JACQUET, était dans sa phase terminale. Tous les milieux, même réputés défavorables à l'implantation d'orchidées étaient prospectés intensément. Sur une indication d'Isabelle Chabassière, alors membre de la FRAPNA Rhône, un des auteurs de ce texte (G.S.) se rend début novembre sur le site de l'île de la Chèvre (Tupin-et-Semons, Rhône) avec le mince espoir d'observer ce qu'il suppose être *E. helleborine*, généralement sous forme d'exciccata à cette date. Au lieu de grandes plantes sèches, il trouve de petites plantes encore bien vertes et munies de leurs fruits pleins de graines. Après les quelques errements habituels de détermination consécutifs à la découverte d'une espèce nouvelle, le rapprochement est vite établi, grâce à Alain Gévaudan, avec une plante d'Europe centrale, petite et très tardive pour le genre, *E. albensis*. Malheureusement, l'espèce n'est connue en Europe de l'ouest que par un article traduit deux fois, comportant plusieurs erreurs et une iconographie correspondant à une autre espèce. Il faudra attendre huit mois pour observer les premières fleurs, et encore quelques temps pour obtenir le verdict de Karl Robatsch † spécialiste européen du genre : l'espèce est effectivement proche d'*E. albensis*, mais néanmoins différente. La morphologie est proche (taille des plantes et des fleurs, teinte des fleurs), l'écologie est comparable (ripisylve inondable), bien que les plantes compagnes soient en partie différentes en Europe centrale, la biologie est similaire, les deux taxons étant autogames, mais notre *Epipactis* présente un isolement géographique de plus de 800 km vis à vis d'*E. albensis*.

1994-95 : Recherche de l'aire

Afin de progresser dans l'étude de la nouvelle espèce, notamment d'établir une aire de répartition, des prospections systématiques sont conduites dans les milieux que nous pensons favorables, en vallée du Rhône et affluents, et dans le bassin de la Loire. Au final, toutes les stations trouvées sont comprises au nord, entre Sérézin (Rhône), situé au sud de Lyon et au sud, Châteauneuf-du-Rhône, dans la Drôme (Fig. 5).

Toutes sont dans le même milieu : ripisylve sombre à Peuplier noir ou Peuplier hybride de culture, parfois en clairière artificielle.

1995 : Description de l'espèce nouvelle

Karl ROBATSCH confirme donc la proximité avec *E. albensis*, mais pour lui, les différences morphologiques et l'éloignement des aires justifient le statut d'espèce nouvelle. Il faut lui trouver un nom : le fait que toutes les stations sont situées dans le domaine du Castor (Fig. 6) impose rapidement un nom : l'Epipactis du Castor, *Epipactis fibri* (castor = *fiber* en latin).

Figure 6 : L'Epipactis du Castor « dans son milieu » !

Figure 5 : Carte établie en 2007 pour l'Atlas des orchidées de France, à paraître en 2009, montrant la répartition restreinte d'*Epipactis fibri*, toutes observations comprises, depuis 1993.

2009 : Evolution de la répartition

Des prospections suivies, surtout depuis 2002, montrent que l'aire de répartition de l'espèce se restreint. Au nord, sur deux stations, on ne retrouve plus de plantes depuis plusieurs années, sans qu'il y ait modification apparente du milieu. Au sud de Montélimar, toutes les stations connues ont disparu, bien qu'une mention imprécise signale une plante sur une station (!) nouvelle. Au final, l'aire de répartition de cette plante reste très réduite. Elle peut être comparée à celles de certains *Epipactis* autogames du même groupe en Europe, qui semblent s'être adaptés à un milieu ou une région, occupant ainsi des aires discontinues ou particulièrement réduites (espèces micro-endémiques).

Raisons probables de ces régressions locales

Il est possible qu'on soit en présence, dans la zone la plus riche, d'un noyau permanent de dissémination centré sur l'île du Beurre, au nord de l'aire (îles du Beurre et de la Chèvre à Tupin-et-Semons - Rhône, Plaine de Gerbay à Chonas-l'Amballan - Isère) correspondant à un secteur relique et bénéficiant des conditions optimales pour l'espèce. De ce noyau de dissémination, des implantations auraient été tentées dans des zones périphériques, surtout

vers le sud, grâce aux inondations, avec ou sans succès, mais probablement sans pérennité assurée, ce qui expliquerait les apparitions sporadiques.

Autre hypothèse à la disparition de certaines stations, on a constaté une évolution qui a peut-être conduit à un recouvrement trop important par la strate arbustive, surtout sur les stations du sud de la vallée. Cette hypothèse est corroborée par la disparition de certaines stations très sombres dans le secteur de l'île du Beurre, au profit d'extensions en pelouse artificielle.

Enfin, cette régression et/ou disparition de l'espèce dans les stations du sud pourrait être due au réchauffement, phénomène à mettre en parallèle avec la remontée d'espèces méridionales en vallée du Rhône, largement observée ces dernières années.

Figure 8 : Individu à trois tiges fleuries. Les rhizomes sont complètement enchevêtrés mais sans connexion physique.

Figure 7 : Bourgeons à la base d'un rhizome d'*Epipactis fibri*.

ETUDE DE LA BIOLOGIE DE L'ESPECE

Description des individus

Des travaux d'aménagement à l'Ile du Beurre fin 2007 sur des zones à *E. fibri*, nous ont donné l'occasion de déterrer 7 individus afin d'étudier le rhizome. La profondeur d'enracinement varie de 10 à 40 cm et nous avons observé jusqu'à 4 bourgeons de tailles différentes à la base du rhizome (Fig. 7). La différence de taille de ces bourgeons laisse supposer que certains doivent être dormants et/ou qu'ils se développent sur plusieurs années avant d'émerger en surface.

Un « individu » avec 3 tiges fleuries a été déterré. Les rhizomes correspondant à ces trois tiges étaient complètement enchevêtrés (Fig. 8), mais un examen délicat a montré qu'ils n'étaient pas connectés physiquement. Il est cependant possible que cette séparation soit relativement récente et due à la sénescence des tissus.

Dynamique des populations et dormance

Depuis 2006, nous mettons en place un suivi individu-centré de l'espèce afin d'étudier sa dynamique de population dans la zone centrale de son aire de répartition. Au total 31 quadrats ont été installés (5 en 2006, 20 en 2007 et 6 en 2008 ; voir tableau 1). Ces quadrats ont été installés de manière à inclure tous les habitats d'*E. fibri*. Dans ces quadrats, tous les individus d'*E. fibri* ont été repérés par triangulation et marqués sur le terrain avec une étiquette métallique. Ils ont ensuite été recherchés les années suivantes et les nouveaux individus ont été identifiés et marqués de la même manière.

La première constatation est que très peu d'individus sont retrouvés d'une année sur l'autre indiquant un taux dormance très important (80 – 90%). Cette constatation a déjà été faite sur *E. helleborine* (Light & MacConaill 2006), cependant les taux observés sur *E. fibri* semblent encore plus élevés mais ceci sera à confirmer sur des suivis plus longs. Cette dormance est par ailleurs variable entre sites : elle est par exemple relativement faible sur la prairie de l'Ile de la Chèvre et très importante à l'île de la Platière (Le Péage-de-Roussillon, Isère). Cette dormance est à mettre en relation d'une part avec la présence de bourgeons à la base des rhizomes et d'autre part avec le fait que les *Epipactis* du groupe *helleborine* sont en général associés à des truffes et autres ascomycètes (Selosse *et al*. 2004), qui restent à étudier chez *E. fibri*, ce qui pourrait permettre cette dormance.

Les effectifs sont très variables d'un site à l'autre, les plus gros effectifs étant sur les sites de l'Ile de la Chèvre. Ces effectifs sont aussi très variables d'une année sur l'autre à cause de la dormance. Enfin, en 2008, nous avons effectué deux suivis, un fin juillet et l'autre en octobre. Fin juillet, nous avons pu observer quelques individus chétifs (5-6 cm de haut) et sans tige fleurie. Sur ces individus, le méristème terminal semblait avorté. L'absence de floraison est donc peut-être accidentelle. Lors du suivi d'octobre, quelques individus nouveaux étaient apparus par rapport au suivi de juillet. La phénologie globale de l'espèce est donc très étalée.

CONCLUSION

Epipactis fibri est une espèce très rare, endémique de la moyenne vallée du Rhône, occupant un milieu rélictuel qui a presque disparu par suite des remaniements considérables du lit du fleuve depuis plus de cent ans. Ses effectifs ne dépassent guère 2000 individus visibles lors des meilleures années, à peine quelques centaines en année défavorable.

A ce titre, les études engagées récemment par le CONIB (Centre d'Observation de l'Île du Beurre) et ses partenaires sur sa biologie, en particulier son association mycorrhisienne éventuelle et sur les possibilités de préservation sont bienvenues. De même, malgré des recherches intensives depuis sa découverte, il n'est pas inutile de continuer les prospections dans les milieux favorables à l'espèce ; l'expérience a montré d'une part, que l'apparition des plantes est extrêmement variable à cause d'un très fort taux de dormance et leur implantation instable, d'autre part que leur discrétion et la floraison très tardive rendent les découvertes difficiles.

Bibliographie

Prat D. & Dusak F. 2009. *Atlas des orchidées de France*, à paraître.

Bournérias M. & Prat D. *et al* (collectif de la Société Française d'Orchidophilie), 2005 - *Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg*, deuxième édition, Biotope, Mèze, 504 p.

Delforge P. 2005. *Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient* : 3ème éd., Delachaux et Nieslé, Paris. 640 p.

Jacquet P. 1995. *Cartographie des Orchidées du Rhône*. Suppl. à L'Orchidophile 113, SFO, Paris.

Light M.H.S. & MacConaill M. 2006. Appearance and disappearance of a weedy orchid, *Epipactis helleborine*. *Folia geobotanica* 41 : 77-93.

Scappaticci G. & Démares M., 2003. Le genre *Epipactis* Zinn (Orchidales, Orchidaceae) en France et dans la région Lyonnaise. *Bull. mens. Soc. linn. Lyon* 72 (3) : 90.

Scappaticci G., Gévaudan A. & Robatsch K. 1995. *Epipactis fibri* sp. nov. G. Scappaticci & K. Robatsch. *L'Orchidophile* 116 : 83-88, 117 : 123-131.

Selosse M.A., Scappaticci G., Faccio A. & Bonfante P. 2004. Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla* (Neottieae, *Orchidaceae*) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including truffles. *Microbial Ecology* 47 : 416-426.

Tableau 1. Suivi de quadrats d'*Epipactis fibri*. Ce suivi est effectué dans différents sites et dans les différents milieux (modalités) occupés par l'espèce. Plusieurs quadrats (Q) ont été implantés sur une même modalité. Les individus ont été dénombrés chaque année à partir de la mise en place (Nb pieds 2006, 2007 et 2008) et parmi ceux-là, nous avons noté les individus qui avaient été présents les années précédentes (dont 2006 ou 2007). En 2008, deux suivis ont été effectuées, un en été, l'autre à l'automne. Pour le dénombrement d'automne, les nouveaux individus sont notés entre parenthèses.

Site	Modalité	N° Q	Mise en place	Nb pieds 2006	Nb pieds 2007	dont 2006	Nb pieds 2008		
							été	dont 2007	automne
Ile Barlet		Q1	2007	-	2		2	0	0
		Q2	2007	-	2		1	0	1
Ile de la Chèvre	P. privée	Q3	2007	-	8		1	1	1
	Chenal Nord	Q4	2007	-	25		inexploitable en 2008		
		Q5	2007	-	12		9	1	4
		Q6	2007	-	17		12	2	5
		Q7	2007	-	9		2	0	0
	Vergers	Q8	2007	-	17		21	3	3 (1)
		Q9	2007	-	4		2	0	0
		Q10	2007	-	10		9	2	6 (1)
		Q11	2007	-	4		5	2	0
	Etang NO	Q12	2007	-	12		41	3	16 (1 et 1)
		Q13	2007	-	11		4	1	2
		Q14	2007	-	3		4	0	2
		Q15	2007	-	9		16	0	3
	Chemin creux	Q16	2008				17		4
	Prairie ss p.	Q17	2006	58	27	10	41	6	-
	Mare	Q18	2006	21	1	0	0		-
		Q19	2007	-	7		1	0	-
		Q20	2007	-	4		0		0
	Etang sud-est	Q27	2008				25		6
		Q28	2008				6		0
		Q29	2008				4		1
Ile du Beurre	Mare	Q21	2006	16	0	0	13	0	0
Gerbey	Chenal N	Q22	2007	-	3		0		0
	Chenal	Q23	2007	-	4		0		0
	Chenal S	Q24	2007	-	5		0		0
Ile de la Platière	Chenal	Q25	2006	22	0	0	3	0	-
		Q26	2006	22	1	0	5	0	-
	Bout du chenal	Q30	2008				3		-
	Peupleraie	Q31	2008				5		-
Total plantes				139	97	10	105	15	
% retrouvées						**7%**		**16%**	

Aperçu sur la diversité taxinomique et la distribution écologique de l'orchidoflore des régions de Kroumirie-Mogods (Tunisie septentrionale)

Ridha EL MOKNI[1], Mohamed Riadh MAHMOUDI[1], Houcine SEBEI[2] & Mahomed Hédi EL AOUNI[1]

1) Université du 7 novembre à Carthage, Faculté des Sciences de Bizerte, Département des Sciences de la Vie, Laboratoire d'Écologie Végétale, Jarzouna 7021, Bizerte, Tunisie riridah@yahoo.fr
2) Université du 7 novembre à Carthage, École Supérieure d'Agriculture de Mograne, Laboratoire Sol et Environnement, 1121 Mograne, Tunisie

Abstract – Taxonomic diversity and ecological distribution of orchid flora in the Kroumirie-Mogods region (Tunisia). The orchids; unique, extravagant, and so capricious plants at the appointment of beautiful seasons, were far ahead of all other botanical families, as much by the beauty and fantasy of their flowers as by the profusion of their forms. With the occasion of a botanical exploration company undertaken since 2001 in the Kroumiria-Mogods Mountains, north-west of Tunisia, 40 taxa of wild orchids were recognized. These identified taxa are divided into 12 genera, 22 species, 3 subspecies, and 3 varieties.
If some of these reported taxa have been reported or described on the Tunisian territory or elsewhere not far from our area of exploration, other (one genus, one species, one subspecies and one variety) were up This published or reported. This study is a contribution to the knowledge of Tunisian orchids and reflects the potential of the prospected region in terms of flora orchids. **Keywords**: Kroumiria-Mogods, orchids, diversity, Neotti bird's nest.

Résumé – Les orchidées; plantes singulières, extravagantes, si capricieuses, au rendez-vous des belles saisons, se détachent nettement de l'ensemble des autres familles botaniques, tant par la beauté et la fantasmagorie de leurs fleurs que par la profusion de leurs formes. A l'occasion d'une prospection botanique entreprise depuis 2001 dans les monts de Kroumirie-Mogods, nord-ouest de la Tunisie, nous avons pu inventorier 40 taxa d'orchidées spontanées. Ces taxons recensés se répartissent en 12 genres, 22 espèces, 3 sous-espèces et 3 variétés. Si certains de ces taxons inventoriés ont été signalés ou décrits sur le territoire tunisien, ailleurs ou pas loin de notre zone de prospection, d'autres (un genre, une espèce, une sous espèce et une variété) n'ont été jusqu'à présent ni publiés ni signalés. La présente étude constitue une contribution à la connaissance des orchidées tunisiennes et reflète le potentiel de la région prospectée en termes d'orchidoflore. **Mots clés** : Kroumirie-Mogods, orchidées, diversité, néottie nid d'oiseau.

INTRODUCTION

Les orchidées, représentant environ le douzième des plantes à fleurs, constituent une des dernières familles végétales à être apparues. Nombre de leurs traits sont ainsi remarquables et témoignent des stratégies particulières adoptées par les différentes espèces de cette famille pour pouvoir s'implanter dans des niches déjà occupées (Delforge, 1994). En effet, malgré leur répartition cosmopolite et même si elles sont présentes dans la plupart des écosystèmes, on les retrouve pour la plupart dans des niches assez pauvres, auxquelles elles sont extrêmement adaptées. On les trouvera ainsi en milieu aérien (orchidées épiphytes tropicales), en milieu sombre (orchidées non chlorophylliennes), ou en milieu oligotrophe pour la majorité des orchidées européennes (Bournérias *et al*., 1998).

En Tunisie, on trouve des orchidées depuis les rivages de la mer méditerranée jusqu'aux sommets des montagnes de la Dorsale (Cuénod *et al*., 1954). La plupart de ces plantes à fleurs prestigieuses se rencontrent sur des sols calcaires (entre autres dans les Mogods) mais leur présence sur les sols acides des monts altitudinaux, résistant au gel hivernal (entre autres la Kroumirie), n'est pas du tout négligeable.

SITE ET MÉTHODES

La zone de prospection appartient aux subéraies-zênaies de la Kroumirie –Mogods (8°-9°45' Est et 36°15'-37°30' Nord, Fig.1) formée de chaînes de montagnes. L'altitude moyenne varie entre 400 et 800 m, culminant à 1,202 m à Djebel El Ghorra. Le climat est de type méditerranéen dépassant les 600 mm de pluie par an avec un maximum de 1500 mm à Aîn Draham. La période sèche varie de 3 à 5 mois. Cette zone est classée dans les étages méditerranéens subhumide à variante hivernale chaude (Mogods) à humide à variante hivernale tempérée (Kroumirie).

En Kroumirie (K); l'un des plus grands complexes de forêts caducifoliées de la Tunisie, le chêne liège (*Quercus suber* L.) et le chêne zéen (*Quercus canariensis* Willd.) constituent les espèces climaciques (Debazac *et al*., 1952). Le plus souvent, les forêts de chêne liège sont à exposition chaude alors que les forêts de chêne zéen préfèrent les expositions et les stations fraîches. Le pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.), occupe de faibles superficies entre Tabarka et la frontière algérienne. Les espèces du sous-bois dense de ces forêts sont *Cytisus villosus* Pourret., *Agrimonia eupatoria* L., *Prunella laciniata* L., *P. vulgaris* L. et *Brachypodium silvaticum* pour les forêts de chêne zéen, alors que pour les forêts de chêne liège, on trouve : *Erica arborea* L., *Arbutus unedo* L., *Myrtus communis* L. et *Phillyrea angustifolia* L. subsp. *media* (L.) Rouy.

Dans les Mogods (M), la pluviométrie est moins abondante. Le chêne liège peut être rencontré à l'état isolé, sous forme d'îlots avec un maquis à *Ericaceae*. Le chêne kermès (*Quercus coccifera* L.var. *pseudococcifera* D.C.) apparait le plus souvent sous forme de maquis climacique dans les zones dunaires littorales.

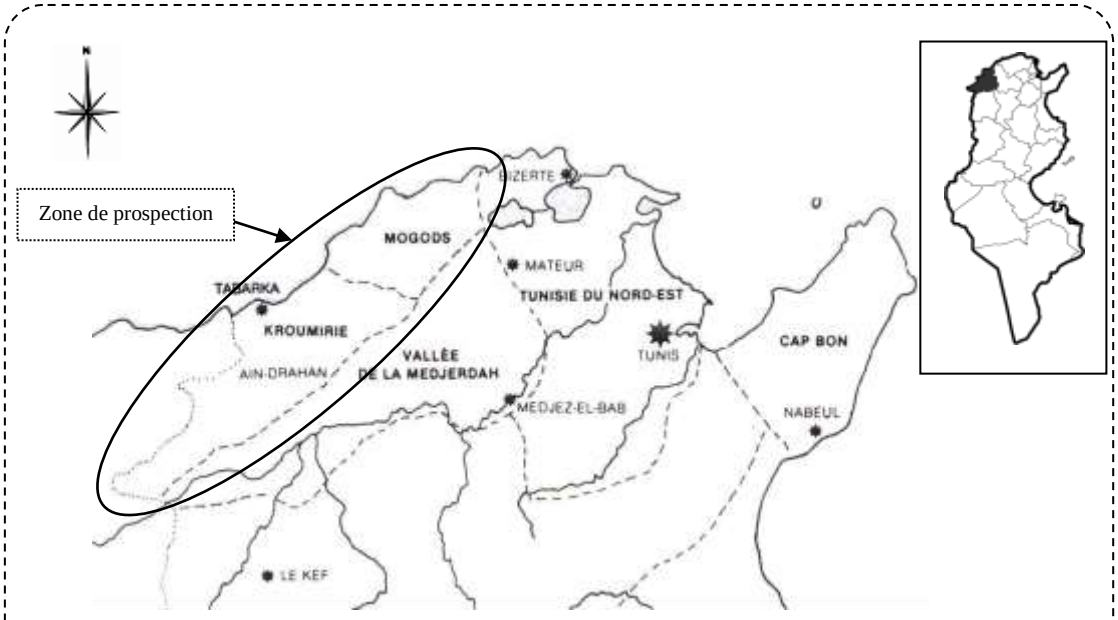


Figure 1. Carte de localisation de la zone de prospection.

Sur le plan géologique, elle est dominée par le *flysch* "numidien", d'âge Oligo-éocène, formé d'une suite stratifiée d'argiles et de grès très variés (K) et des calcaires stratifiés à intercalations argileuses (M) (Rouvier, 1977). Les sols des subéraies-zênaies sont des sols acides à mull plus ou moins lessivés selon le substrat (argile, argile-sableuse, colluvions argilo-gréseuses ou gréseuses). Ceux des Mogods calcaires sous pinèdes et chêne kermès sont de type calcimorphe appartenant aux classes des vertisols lourds et hydromorphes et des sols bruns calcaires (Selmi, 1985).

L'identification des spécimens récoltés a été effectuée sur des échantillons frais et ceci en se référant à diverses clés dichotomiques (Cuénod *et al*., 1954 ; Maire, 1959 ; Fournier, 1961 ; Quézel & Santa, 1962 ; Bonnier & De Layens, 1986 ; Souche, 2004) tout en se basant, entre autres, sur des caractères botaniques morphométriques.

RÉSULTATS

Diversité taxinomique

Les prospections botaniques menées dans toute la zone depuis 2002 nous ont permis de chiffrer 39 taxons se répartissant en 12 genres, 22 espèces (tableau 1), 3 sous-espèces et 3 variétés. Hormis ces taxons figurent des nouvelles découvertes (1 genre, 1 espèce, 1 sous espèce et 1 variété) matérialisées par le caractère gras.

Tableau 1. Répartition des orchidées recensées dans la région des Kroumirie-Mogods, nord-ouest de la Tunisie, en genres et espèces.

Genre botanique	**Nombre d'espèces en Tunisie** (Cuénod A., 1954)	**Nombre recensé en 2002-2003** (El Mokni R., 2004)	**Nombre recensé en 2007-2009** (présent travail)
Orchis L.	12	6	2
Ophrys L.	9	7	8
Himantoglossum Spreng.	2	0	1
Serapias L.	3	1	1
Anacamptis Rich.			1
Dactylorhiza Neck. ex Nevski			1
Limodorum Rich.	1	1	2
Cephalanthera Rich.	1	1	1
Neotinea Rchb.	1	1	2
Spiranthes Rich.	1	1	1
Platanthera Rich.	1	1	1
***Neottia* Sw.**	0	0	**1**

Les changements systématiques conduisant à répartir des espèces du genre *Orchis* au sein des genres *Anacamptis*, *Dactylorhiza* et *Neotinea* n'ont été appliqués que pour le travail présenté ici.

- Le genre *Orchis* L. est représenté par 2 espèces ; *O. patens* Desf., *O. provincialis* Balb. var. *laeta* (Steinh.) M. et W.
- Le genre *Ophrys* L. est représenté par 8 espèces : *O. apifera* Huds., *O. bombyliflora* Link., *O. lutea* Cav., *O. tenthredinifera* Willd., *O. scolopax* Cav. subsp. *apiformis* (Desf) Maire et Weill., *O. numida* J. Devillers - Terschuren & P. Devillers *O. speculum* Link., *O. subfusca* (Rchb.f.) Batt.

- Le genre *Himantoglossum* Spreng. est représenté par une seule espèce ; *H. hircinum* (L.) Spreng.
- Le genre *Serapias* L. est représenté par une seule espèce ; *S. lingua* L. avec une seule sous-espèce ; *eu-lingua* Maire.
- Le genre *Anacamptis* Rich. est représenté par une seule espèce ; *Anacamptis papilionacea* (L.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase.
- Le genre *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski est représenté par une seule espèce ; *Dactylorhiza elata* (Poir.) Soó avec une seule variété ; *algerica* Maire et Weill.
- Le genre *Limodorum* Rich. est représenté par deux espèces ; *L. abortivum* (L.) Sw. avec la sous-espèce ; *eu-abortivum* M. et W. et ***L. trabutianum* Batt.**
- Le genre *Cephalanthera* Rich. est représenté par une seule espèce ; *C. longifolia* (L.) Fritsch.
- Le genre *Neotinea* Rchb. est représenté par deux espèces ; *N. intacta* (Link.) Rchb., *Neotinea lactea* (Poir.) R.M. Bateman, Pridgeon et M.W. Chase.
- Le genre *Spiranthes* Rich. est représenté par une seule espèce ; *S. spiralis* (L.) Chev.
- Le genre *Platanthera* Rich. est représenté par une seule espèce ; *P. bifolia*. (L.) LCM Rich.
- Le genre ***Neottia* Sw.**, est représenté par une seule espèce ; ***N. nidus-avis* (L.) LCM Rich.** et une seule variété ***glandulosa* Beck.**

Distribution écologique

Le tableau 2 donne une idée sur l'habitat propice et l'écologie des taxons recensés dans la zone prospectée.

Tableau 2. Habitat et caractérisation écologique des orchidées de la région des Kroumirie-Mogods, nord-ouest de la Tunisie.

Taxon	Période de floraison	Habitat
Anacamptis papilionacea (L.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase (Orchis papillon)	Mi mars-fin avril	Sol argileux, marneux ou calcaire, broussailles et collines herbeuses sur pentes bien exposées
Cephalanthera longifolia (L.) Fritsch. (Céphalanthère à longues feuilles)	Fin mars-début mai	Sol siliceux ou calcaire, broussailles des forêts
Dactylorhiza elata (Poir.) Soó (Orchis élevé)	Début mai-mi juin	Sol à gley ou à pseudo-gley, Bords des ruisseaux en forêts des chênes
Himantoglossum hircinum (L.) Spreng. (Orchis bouc)	Début juin-mi juillet	Sol argileux, pelouses et broussailles bien exposées
Limodorum abortivum (L.) Sw. (Limodore à feuilles avortées)	Début avril-mi juin	Sol siliceux acide à légèrement acide, broussailles des forêts
Limodorum trabutianum Batt. (Limodore de Trabut)	Début avril-mi juin ???	Sol siliceux acide à légèrement acide, broussailles des forêts
Neotinea intacta (LK.) Rchb. (Néotine intacte)	Mi mars-début mai	Sol siliceux ou calcaire, broussailles des forêts en montagnes
Neotinea lactea (Poir.) R.M. Bateman, Pridgeon et M.W. Chase (Orchis à trois dents)	Mi mars-fin mai	Sol acide ou légèrement basique, couteaux herbeux et broussailles
***Neottia nidus-avis* (L.) LCM Rich.** (Néottie nid d'oiseau)	Mi juin-mi juillet	Sol légèrement acide à neutre, forêts de feuillus bien exposées.

Ophrys apifera Huds. (Ophrys abeille)	Fin mai-fin juin	Sol siliceux ou calcaire, couteaux broussailleux des forêts
Ophrys bombyliflora Link. (Ophrys bombyx)	Début mars-fin mai	Sol généralement basique, broussailles et lieux herbeux humides exposés
Ophrys lutea (Gouan.) Cav. (Ophrys jaune)	Mi avril-début juin	Sol acide à légèrement acide, pelouses sèches et maquis dégradés
Ophrys tenthredinifera Willd. (Ophrys tenthrède)	Fin mars-début mai	Sol siliceux ou calcaire, lieux herbeux sous pinèdes ou subéraies
Ophrys scolopax Cav. (Ophrys bécasse)	Fin mars-mi mai	Sol siliceux ou calcaire, lieux herbeux, pâturages ou broussailles des forêts
Ophrys numida J. Devillers - Terschuren & P. Devillers (Ophrys de Numidie)	Mi mars-début mai	Sol calcimorphe, lieux herbeux et broussailles des forêts de pin
Ophrys speculum Link. (Ophrys miroir)	Début mars-début mai	Sol argileux, marneux ou calcaire, broussailles et couteaux montueux sur pentes bien exposées
Ophrys subfusca (Rchb.) Batt. (Ophrys funéraire)	Mi mars-début mai	Sol calcaire ou gréseux, lieux herbeux et broussailles des forêts
Orchis patens Desf. (Orchis étalé)	Mi avril-fin mai	Sol argileux, marneux ou calcaire, pâturages montueux et broussailles des forêts
Orchis provincialis Balb. (Orchis de Provence)	Mi avril-fin mai	Sol acide ou légèrement basique, forêts de feuillus à pentes bien exposées
Platanthera bifolia. Rich. (Platanthère bifoliée)	Fin mars-fin mai	Sol acide à légèrement acide dans les forêts des chênes en montagnes siliceuses
Serapias lingua L. (sérapias linguiforme)	Mi mars-début mai	Sol acide, broussailles des forêts des feuillus
Spiranthes spiralis (L.) Chev. (Spiranthe d'automne)	Mi septembre-début novembre	Sol acide ou basique, près humides et broussailles des forêts

DISCUSSION

Les travaux de Cuénod *et al.* (1954) ainsi que de ceux Maire (1959) effectués au cours des années 50 du siècle dernier ont montrés que les orchidées de la Tunisie avaient un nombre d'espèces qui ne dépasse pas les 34, réparties en 11 genres (Cuénod *et al*., 1954 ; Maire, 1959), sur les 2136 espèces végétales spontanées mentionnées (Cuénod *et al*., 1954 ; Pottier-Alapetite, 1979, 1981). Dès lors, plusieurs prospections orchidophiles ont été focalisées sur le secteur est du territoire (Valles & Valles Lombard, 1988 ; Devillers & Devillers-Terschuren, 1994, 2000 ; Gundel & Wolfram Foelsche, 2001 ; Martin, 2008, 2009) ou sur le secteur ouest essentiellement nord (Martin, 2008, 2009). Ces prospections bien qu'elles aient laissé plusieurs points d'interrogation, elles ont montré que le nombre réel des orchidées est supérieur à celui décrit dans la flore de Cuénod. Toutefois, il est important de souligner, la grande diversité floristique observée dans le dernier secteur (région de la Kroumirie-Mogods), qui en compte plus de 800 espèces, 95 sous-espèces, 85 variétés, 2 sous variétés et 4 formes (El Mokni *et al*., 2007) dont 39 taxons d'orchidées.

Nous n'avons pas eu la chance de rencontrer *Serapias stenopetala* Maire & Stephenson (1930) décrite par Martin (2008) dans la région de B'ni M'tir (Aîn Draham). Ce même auteur, en 2008, indique la présence de la une sous-espèce *ficalhoana* (Guimarães) (Low & Tyteca, 2000) chez l'ophrys tenthrède.

Cette orchidoflore relativement riche, de la région de Kroumirie-Mogods, est associée à une large répartition avec des populations importantes pour certains taxons : *Ophrys apifera* Huds., *O. bombyliflora* Link., *O. subfusca* (Rchb.) Batt., *O. speculum* Link., *O. tenthredinifera* Willd., *Anacamptis papilionacea* (L.) R.M. Bateman, Pridgeon & M.W. Chase, *Spiranthes spiralis* (L.) Chev. ; et avec un degré moindre : *Limodorum abortivum* (L.) Sw., *Neotinea intacta* (Link.) Rchb. et *Ophrys lutea* Cav. Ceci témoigne de la grande valeur écologique attribuée à cette région sans cacher la vulnérabilité d'autres orchidées dont la répartition est limitée parfois à certains escarpements rocheux inaccessibles, à certains sites maraboutiques ou aux parcs nationaux et réserves naturelles intégrales. Il s'agit de ***Neottia nidus-avis* (L.) LCM Rich.**, *Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch., *Ophrys numida* J. Devillers - Terschuren & P. Devillers, *O. scolopax* Cav., *Dactylorhiza elata* (Poiret) Soó., *O. provincialis* Balb. et *Platanthera bifolia*. Rich. Ceci implique des mesures plus sérieuses de protection et de bonne gestion.

Remerciements

Je tiens à remercier vivement Roland MARTIN, Errol VÉLA et Khellaf REBBAS pour les discussions très fructueuses que j'ai eues avec eux sur les orchidées de l'Afrique du Nord, au cours du colloque international de la société Française d'Orchidophilie (Montpellier, 30 mai-1er juin 2009). Errol a accepté avec beaucoup de gentillesse de relire et remanier le contenu de ce papier.

Bibliographie

Bonnier G. & De Layens G. 1999. *Flore complète portative de la France, de la Suisse et de la Belgique*, 1000-12, Edit. BELIN.425 p.

Bournérias M. 1998. *Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg*. Ouvrage collectif sous l'égide de la Société Française d'Orchidophilie. Biotope, Paris.

Cuénod A., Pottier-Alapetite G. & Labbé A. 1954. *Flore analytique et synoptique de la Tunisie*. Office de l'expérimentation et de vulgarisation agricole de Tunisie, 287 p.

Debazac E.F., Guinochet M. & Molinier R. 1952. Note sur les groupements climaciques de la Kroumirie orientale. Société Botanique de France, Bull. Soc. Bot. Fr., Session extraordinaire : 28-32.

Delforge P. 1994. *Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du nord et du Proche- Orient*. Éd. Delachaux et Niestlé, Paris.

Devillers P. & Devillers-Terschuren J. 1994. Essai d'analyse systématique du genre *Ophrys*. *Natural. Belges* 75 (Orchid. 7 suppl.): 302-303.

Devillers P. & Devillers-Terschuren J. 2000. Observations sur les *Ophrys* du groupe d'*Ophrys subfusca* en Tunisie. *Natural. Belges* 81(3) (Orchid. 13): 283-297+ 8 figrs.

El Mokni R. 2004. Étude Floristique et Ethnobotanique du Parc National d'El Feîdja (Kroumirie) : proposition d'une extension de l'aire protégée. Master Sciences de l'Environnement, Fac. Sci. Bizerte, 262 p.

El Mokni R., Mahmoudi M.R. & El Aouni M.H. 2007. La subéraie-zênaie de la région d'El Feîdja (Kroumirie-Tunisie): Richesse botanique, écologie et endémisme. XVIIème Journées Nationales de Biologie de la SSNT "Bio-Géo-Ressources & Environnement", Hammamet, Tunisie.

Fournier P. 1961. *Les quatre Flores de France*, Édit. Le Chevalier

Foelsche G. & Foelsche W. 2001. *Ophrys africana* sp. nov., ein früh blühendes Taxon der *Ophrys fusca* - Gruppe in Tunisien. *Jour. Eur. Orch.* 33(2): 637-672.

Maire R. 1959. *Flore d'Afrique du Nord*. Vol.6:Lechevalier, Paris, 397 p.

Martin R. 2008. Des nouvelles de la Tunisie. Bull.Soc.Fra.Orch. Rhône-Alpes 18:26-31.

Martin R. 2009. Des nouvelles de la Tunisie (suite) : Nouveaux hybrides naturels d'orchidées de la flore de Tunisie. Bull.Soc.Fra.Orch. Rhône-Alpes 19:26-31

Quézel P. & Santa S. 1962. *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*, I, Edit. CNRS.

Rouvier H. 1977. Géologie de l'extrême Nord Tunisien : tectoniques et paléogéographies superposées à l'extrémité orientale de la chaine Nord-Maghrébine.

Selmi M. 1985. Différenciation des sols et fonctionnement des écosystèmes forestiers sur grés Numidien de Kroumirie (Tunisie) : Écologie de la subéraie–zênaie, thèse Université. Nancy I.

Souche R. 2004. *Flore des orchidées sauvages de France*, Édition Pélican, 340 p.

Vallès V. & Vallès-Lombard A.M. 1988. *Orchidées de Tunisie*: Librairie de la Renaissance, Toulouse, 106 p.

Démographie et histoire de vie d'*Ophrys bertolonii* : premier bilan d'un suivi décennal d'une population dans la région de Nice

Thomas Tully
Laboratoire d'écologie et d'évolution, CNRS-UMR 7625, École Normale Supérieure,
46 rue d'Ulm, 75005 Paris
tully@biologie.ens.fr

Abstract – Demography and life history of *Ophrys bertoloni*: first results after a 10 year survey of a population near Nice. Since 2000, we have done a demographic follow-up of a population *Ophrys bertolonii*, Moretti, located on the summit of the Mont-Gros, a hill nearby the town of Nice on the French Riviera. Since then, more that 300 plants have been marked and studied. Each spring a complete census of the population is done, the size, reproductive status, number of leaves of each individual being measured. These data are used to know more on the life cyle of this species, the growth rate of the individuals, their longevity, their reproductive strategies and also to follow the population structure and dynamic. We present here the context and methods of this long term follow-up together with some preliminary results.

Résumé – Le site du Mont Gros de l'Observatoire de la Cote d'Azur à Nice comporte une population du groupe d'*Ophrys bertolonii*, Moretti. Nous avons mené un suivi démographique de cette population en l'étudiant chaque année depuis 2000 les individus présents sur le site. Plus de 300 individus ont été marqués et suivis individuellement. Chaque printemps, un recensement des individus est effectué et des caractéristiques de l'appareil végétatif et reproducteur de chaque individu sont mesurées. Ces données permettent de mieux connaître le cycle de vie de cette espèce, la croissance, la longévité, les stratégies de reproduction mais aussi la dynamique de la population. Nous présentons le contexte de cette étude ainsi que quelques premiers résultats de ce suivi à long terme.

INTRODUCTION

Les *Ophrys* du groupe *bertolonii* sont présents dans la partie ouest du bassin méditerranéen. Ce groupe comporte plusieurs espèces ou sous-espèces qui coexistent dans la zone d'étude et dont la distinction n'est pas toujours aisée. La taxonomie du genre et les limites de la notion d'espèce dans ce genre ont fait l'objet de nombreux travaux (Soliva & Widmer, 2003; Grunanger *et al*., 1998, Devey *et al*., 2008) mais peu de choses sont connues sur les traits d'histoire de vie, les cycles de vie, la démographie, et la dynamique des populations des *Ophrys* en général et de cette espèce en particulier. A ma connaissance, seule une population d'*Ophrys sphegodes* dans le sud de l'angleterre a fait l'objet d'un suivi démographique précis à long terme (Hutchings, 1987a, 1987b). Pourtant, le suivi d'individus et de population dans la nature permettent de recueillir des informations cruciales pour comprendre le fonctionnement particulier de ces populations, analyser les stades de vies critiques les plus sensibles, et prédire leur devenir (Kull *et al*., 2006).

Si le cycle de vie annuel des *Ophrys bertolonii* est connu, leur cycle de vie l'est beaucoup moins. La durée de la phase protocorme reste mal connue. On ne connait pas non plus l'âge à maturité, c'est-à-dire l'âge des individus lors de leur première floraison (même en oubliant la phase protocorme et en considérant la première émergence de feuilles comme l'âge d'un an). Quelle est la durée de vie des individus ? Leur taux de survie ? A quelle fréquence se reproduisent-ils ? Existe-il des périodes de dormance comme on a pu le montrer chez d'autres

espèces (Hutchings, 1987b; Shefferson & Simms, 2007; Shefferson & Tali, 2007; Shefferson *et al.*, 2005) ? Enfin les populations sont-elle stables ? Comment sont-elles régulées ? Comment à la fois l'effectif et leur structure changent-ils au cours des années ?

Pour apporter des éléments de réponse à toutes ces questions, mieux comprendre la biologie de cette espèce emblématique, les causes de sa rareté mais aussi mieux anticiper les menaces qui peuvent planer sur sa conservation, il est indispensable d'effectuer des suivis longitudinaux d'individus sur le terrain. Ceci nécessite de marquer les individus et de pouvoir mesurer leur état plusieurs années de suite. C'est le but précisément de cette étude initiée il y a 10 ans. Les données récoltées sont actuellement en cours d'analyse et feront l'objet de publications scientifiques. Nous allons détailler ici le contexte de cette étude, le protocole utilisé, quelques résultats généraux et quelques observations naturalistes ponctuelles qui ont pu être réalisées.

CONTEXTE DE L'ETUDE, PROTOCOLE DE SUIVI ET METHODES UTILISEES

L'espèce

Les *Ophrys* du groupe *bertolonii* poussent sur sol calcaires, dans des prairies ou des zones relativement ouvertes et parfois plus ou moins anciennement perturbées (anciennes terrasses, anciennes carrières, oliveraies, bords de routes). C'est une espèce globalement très rare et les effectifs des populations observées sur le terrain sont très variables : quelques individus isolés à des densités parfois très élevées telles que plusieurs dizaines d'individus par m^2 formant un tapis quasi continu dans des populations de plusieurs milliers d'individus (Tully, obs. personnelles).

Figure 1. En haut à gauche, individus végétatif: trois rosettes sont marquées à partir du clou B1. Chacune d'entre elle est identifiée grâce à la distance du centre de la rosette avec le clou et à l'angle rosette-clou par rapport au nord. En haut à droite, inflorescence avortée. En bas à gauche, groupe d'individus reproducteurs probablement issus de multiplication végétative. En bas à droite, fruit mature fin mai. (Photos T. Tully)

Les plantes d'*O. bertolonii* produisent typiquement une rosette à l'automne qui va subsister l'hiver (Figure 1). Au printemps, à la fin du mois d'avril une inflorescence se met en place et s'épanouit début mai, les feuilles de la rosette dépérissant alors rapidement. La pollinisation peut être effectuée par des abeilles mâles du genre *Chalicotoma* (Vereecken & Patiny, 2005). Les fruits mûrissent en mai et les capsules libèrent leurs graines fin mai début juin (Figure 1). Les rosettes disparaissent ensuite complètement pendant tout l'été. On peut noter qu'en plus d'une reproduction sexuée, les *Ophrys*, comme de nombreuses orchidées, effectuent de la reproduction asexuée et il n'est pas rare de trouver des agrégats très serrés d'individus issus de la multiplication d'un même individu (Figure 1). Rare et menacée en partie par l'urbanisation du littoral, cette espèce est inscrite à l'Arrêté du 20 janvier 1982 fixant la liste des espèces végétales protégées par la loi dont la destruction, la coupe, l'arrachage, la cueillette, le commerce sont interdits sur le territoire national.

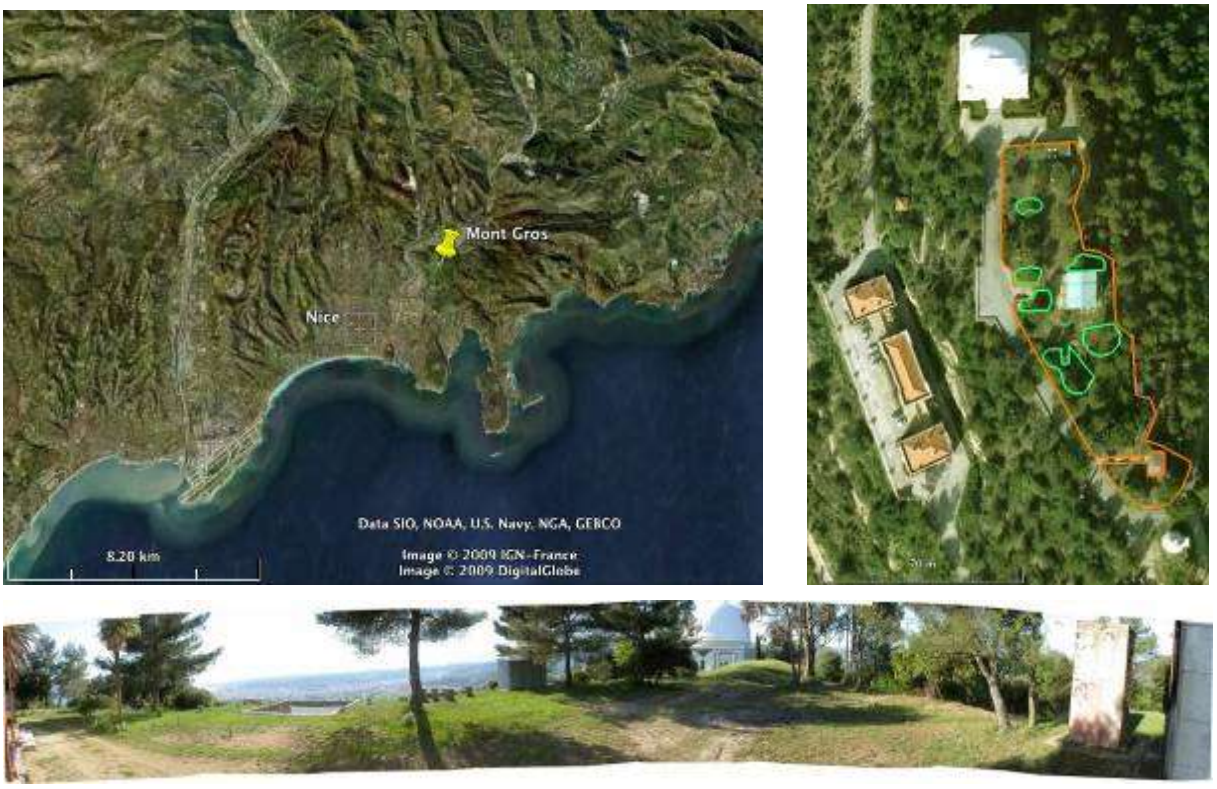


Figure 2. Localisation du site d'étude. La colline du Mont Gros se situe à l'Est de la ville de Nice. La zone d'étude est située au cœur du site de l'Observatoire de la Côte d'Azur. Elle est plus précisément localisée sur la crête et entourée en traits orangés, les zones denses en *O. bertolonii* sont soulignées en vert. En bas, vue panoramique de la pelouse sommitale début mai. (Photos : IGN, Google earth & T. Tully)

Zone d'étude

La population étudiée sur trouve sur la crête sommitale du Mont Gros, une colline à l'Est de Nice (06) sur laquelle se trouve un des sites de l'Observatoire de la Côte d'Azur (Figure 2). Le site de 35 hectares est réservé aux chercheurs astronomes et à quelques visiteurs et de ce fait, les habitats présents sont relativement bien protégés de la surfréquentation et ont été épargnés par l'urbanisation. A la fin des années 1990, nous avons trouvé sur la crête sommitale du site (43°43'35.74"N, 7°17'58.12"E, Figure 2) à environ 375m d'altitude, une population d'*Ophrys bertolonii* se développant sur une pelouse calcaire en

association avec *Ophrys scolopax*, *Ophrys sphegodes*, *Ophrys apifera*, *Cephalantera longifolia*, *Himanthoglossum Robertianum*. Cette pelouse est parsemée de quelques pins sylvestres, caroubiers, eucalyptus, palmiers *Pheonix*, chênes verts, dont certains pieds proviennent de l'aménagement paysager résiduel accompagnant les bâtiments astronomiques construits au début des années 1880. La pelouse est fauchée chaque année par les services de l'observatoire et est maintenue en état depuis environ 120 années.

En 2000, un partenariat avec l'Observatoire de la Côte d'Azur (OCA) et le Conservatoire Étude des Écosystèmes de Provence (CEEP), gestionnaire du site, a été établi afin de démarrer un suivi démographique à long terme de cette population. Tous les individus fleuris ont été marqués et localisés puis au cours des années suivantes, des individus non reproducteurs ont été localisés et marqués. Nous avons concentré le suivi sur la crête sommitale du site qui s'étend sur environ 3500 m^2. Les orchidées sont principalement localisées dans 6 zones de 60 à 180 m^2 chacune et totalisant moins de 500 m^2 sur les 3500 m^2. Les individus repérés à proximité de la zone d'étude (bords de routes) sont aussi marqués et suivis mais seule la zone principale fait l'objet d'un suivi intensif et quasi complet.

Identification et localisation des individus

Chaque printemps, nous nous rendons sur le site dans la première quinzaine du mois de mai lors de la floraison. Les individus reproducteurs ou non reproducteurs sont repérés, identifiés ou marqués individuellement s'ils ne l'ont pas déjà été. Le marquage et l'identification sont effectués au moyen d'un clou métallique d'une dizaine de cm de long enfoncé dans le sol à ~5-10 cm du centre de la rosette. Le clou maintien une petite plaque en aluminium sur laquelle un numéro unique est frappé (Figure 1). Chaque clou est repéré par rapport à des points fixes dans l'habitat (coins des bâtiments, grosses souches etc.) en effectuant de la triangulation. Grâce à ce double système de triangulation, il est possible de retrouver des clous ou des individus non visibles mais aussi de replacer des clous arrachés par des sangliers par exemple. Chaque pied d'orchidées est localisé précisément par rapport à un clou numéroté en notant la distance entre le clou et le centre de la rosette et en indiquant l'angle fait par la direction clou rosette. Ce système est suffisamment précis pour identifier d'une année sur l'autre les différentes rosettes relativement proches pouvant êtres issues de multiplication végétative (Figure 1). Ce système nous permet de vérifier précisément chaque année la présence ou l'absence de chaque individu. La localisation des rosettes varie peu d'une année à l'autre (moins de 1 cm) et la plupart des identifications se font sans ambiguïté, les seuls problèmes venant des petits individus provenant de multiplication végétative. Depuis 2009, la localisation des clous est effectuée à l'aide d'un détecteur de métaux. Au cours des dix années d'expérience, ce système s'est avéré très efficace et robuste, relativement peu de clous ont été arrachés ou perdus.

Mesures

A chaque session, pour chaque individu marqué précédemment, nous vérifions tout d'abord s'il est présent (observé/non observé). Grâce aux mesures de triangulations nous pouvons localiser précisément les individus non observés pour vérifier qu'il n'y a effectivement pas production d'organe cette année là (individu mort ou en dormance). Les individus observés sont alors classés en trois catégories : **non-reproducteurs** lorsqu'ils ne produisent que des feuilles; **reproducteurs** lorsqu'ils produisent une inflorescence épanouie et **avortés** lorsqu'il y a production d'un début d'inflorescence mais que celle-ci n'est pas montée et a avorté (inflorescence de moins de 5cm dont les boutons sont rabougris, secs ou pourris, cf. Figure 1). Pour chaque individu le nombre de feuilles de la rosette est compté en les classant dans quatre catégories de taille en fonction de la largeur maximale de la feuille (moins de 5 mm, entre 5 et 10 mm, 10 et 15 mm et plus de 15 mm). Pour les individus en fleurs, nous mesurons la hauteur de l'inflorescence, le nombre de fleurs, ainsi que la hauteur et

l'état de chaque fleur (bouton, épanouie, fanée, fruit en formation). Malheureusement nous n'avons pas pu revenir systématiquement sur le site fin mai-début juin pour mesurer le succès reproducteur des individus (nombre de fruits).

QUELQUES RESULTATS, OBSERVATIONS & ELEMENTS DE DISCUSSION

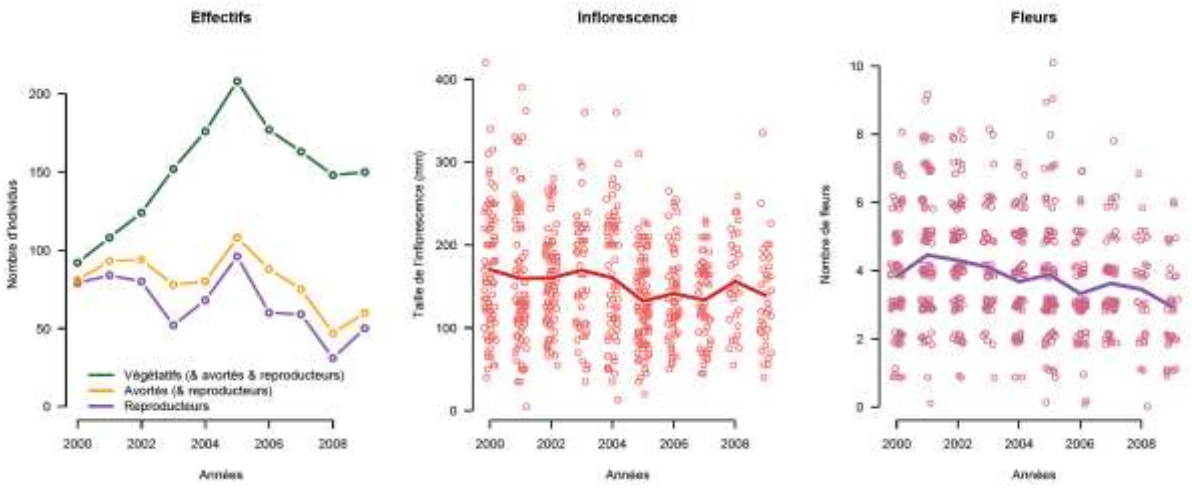


Figure 3. Effectifs au cours des 10 années de suivis. En vert, le nombre total de pieds marqués qui comprend les pieds fleuris (violet) plus les inflorescences avortées (jaunes) et les individus qui restent végétatifs. A droite, changement des tailles des inflorescences et du nombre de fleurs au cours de l'étude.

Effectifs

Depuis 2000, 365 pieds ont été marqués dont 221 ont fleuri au cours de l'étude. Le nombre d'individus observés chaque année a cru au cours de 2000 à 2005 principalement du fait que nous avons marqué de plus en plus d'individus non reproducteurs. Le nombre d'individus reproducteurs étant quant à lui relativement stable au cours de l'étude. Si on exclut les premières années de l'étude, on peut noter qu'environ 31% des individus sont reproducteurs, 11% avortés et 58% végétatifs (Figure 3). Le nombre d'inflorescences est assez stable jusqu'en 2005 et un déclin relativement régulier depuis 2005 peut être observé (Figure 3). Ce déclin se manifeste aussi bien par une diminution de la taille des inflorescences que du nombre de fleurs portées par chacune d'elles (Figure 3). On peut remarquer qu'il existe une très grande variabilité interindividuelle au sein de chaque année pour ces deux traits, variabilité dont l'amplitude dépasse largement l'amplitude du déclin observé. Les raisons de ce déclin s'il se confirme à l'avenir restent à élucider.

Suivis individuels

A titre d'illustration, quelques suivis individuels sont représentés sur la Figure 4. Les individus rentrent dans le suivi à l'état végétatif, avorté ou reproducteur. On a pu observer une très grande variabilité dans les trajectoires de vie. Certains individus matures n'ont fleuri qu'une fois, tandis que d'autres (deux en l'occurrence) ont fleuris tous les ans entre 2000 et 2009. Quelques individus peuvent rester à l'état végétatif 7 ans et probablement plus. On peut remarquer que certains pieds peuvent rester dormants une année, plus rarement deux et repartir l'année suivante, un phénomène décrits chez d'autres espèces (Shefferson & Simms, 2007; Shefferson *et al*., 2003, 2005). Les reproductions avortées peuvent être ponctuelles au milieu d'une série de reproductions ou se suivre plusieurs années pour certains pieds. Une analyse de ces séries est en cours et permettra de quantifier les probabilités de transitions entre états et de tenter de préciser les significations de ces changements.

Figure 4. Trajectoires individuelles. Chaque ligne représente une trajectoire individuelle. Les pieds reproducteurs sont figurés en violet, en vert ce sont les pieds végétatifs et en orange les inflorescences avortées. Les non-observations sont représentées en blanc. Les données présentées ne concernent que les individus marqués entre 2000 et 2002.

Individus reproducteurs

Dans notre population, une inflorescence moyenne fait 15,2 cm de haut (jusqu'à 42cm) et possède entre 3 et 4 fleurs (1 à 10 avec une moyenne de 3,8 fleurs). Plus les inflorescences sont hautes, plus elles portent de fleurs bien sûr mais il convient de noter une grande variabilité dans cette relation, les inflorescences les plus hautes n'étant pas celles qui portent le plus de fleurs (Figure 5).

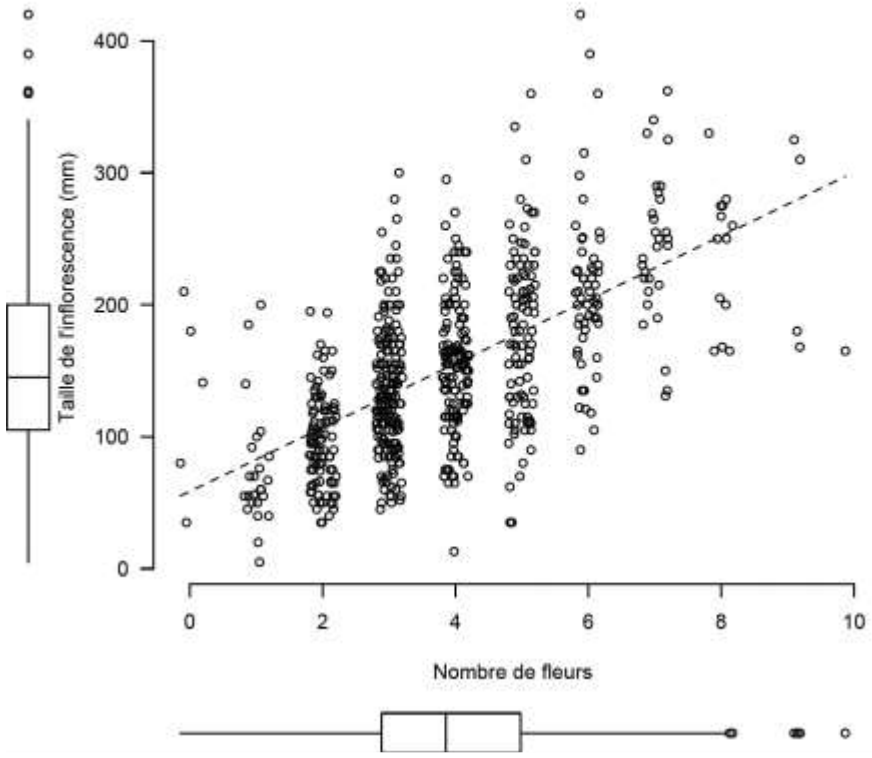


Figure 5. Hauteur de l'inflorescence et nombre de fleurs. Le nombre de fleurs a été un peu « bruité » afin de visualiser toutes les mesures.

Diversité morphologique florale

Au cours de notre étude nous avons pu observer une grande unité quant à la morphologie florale à la fois entre les fleurs d'une même inflorescence et entre les fleurs d'un même individu fleurissant au cours de différentes années. Certaines particularités telles qu'une tache centrale au cœur de la macule ou des bordures blanches épaisses se retrouvent ainsi sur un même pied d'une année sur l'autre. Nous avons aussi observé une diversité interindividuelle marquée. La population étudiée comprend un grand nombre de morphotypes floraux (Figure 6). Ces observations semblent concorder avec la grande diversité génétique intra-population observée chez cette espèce (Grunanger *et al*., 1998). Cette population semble être constituée essentiellement d'*Ophrys drumana* et de quelques pieds d'*Ophrys aurelia*.

Particularités florales : mutations homéotiques

Plusieurs individus remarquables ont été observés dans cette population. Ils expriment des phénotypes de mutation homéotique : les pétales sont transformés en gynostèmes et les bords du labelle sont modifiés et semblent porter des sortes de protopollinies (Figure 7). Ces phénotypes proviennent probablement de mutations somatiques puisqu'ils sont exprimés chaque année sur toutes les fleurs de chaque pied qui les portent. Il existe deux agrégats d'individus issus de multiplication végétative exprimant tous ce phénotype. Ces deux agrégats sont distants d'une dizaine de mètres ce qui laisse penser qu'ils proviennent d'une même plante mère ayant elle même acquis cette mutation et l'ayant transmise à sa descendance par graines.

Figure 6. Diversité morphologique florale observée. La plupart des individus appartiennent probablement au type *drumana* sauf quelques individus (photo en haut à droite) qui semblent se rapprocher du type *aurelia*. (Photos T. Tully)

Pollinisateurs

Au cours des 10 années de suivis (le suivi prenant environ trois jours pleins par an) je n'ai eu l'occasion d'observer qu'une seule fois un pollinisateur. Cependant les capsules mûres ne semblent pas particulièrement rares.

CONCLUSION

Ce travail va continuer dans les années à venir et nous espérons pouvoir exploiter à fond les données recueillies afin de paramétrer un cycle de vie complet pour cette espèce à partir des probabilités estimées de transitions entre états. Nous espérons aussi pouvoir mieux interpréter la variabilité observée dans les trajectoires de vies individuelles en étudiant par exemple s'il existe diverses stratégies de reproduction liées à différentes gestions d'éventuels coûts en reproduction. Mais les paramètres mesurés sont probablement spécifiques à cette population. Il serait intéressant de pouvoir comparer les résultats d'études similaires dans différentes populations pour voir par exemple si l'extrême variabilité interindividuelle sur les histoires de vie est un paramètre intrinsèque de cette espèce ou s'il résulte de conditions écologiques ou génétiques locales.

On peut souhaiter que des suivis de même type soient lancés sur d'autres populations d'orchidées. Ces suivis sont peu coûteux, ils nécessitent peu de matériel et ne prennent que quelques jours de travail de terrain par an. Ils permettent de collecter des données qui sont les seules à pouvoir nous éclairer sur les détails de la vie des individus, et le devenir des populations en apportant deux dimensions rarement étudiées en commun : l'individu et le temps.

Figure 7. Fleurs d'individus montrant des phénotypes de mutation homéotique: « triple gynostème », zones à pollinies sur les bords du labelle. (Photos T. Tully)

Remerciements

Je remercie les directeurs successifs de l'Observatoire de la Cote d'Azur, M. Colin & M. Farrokhbakili qui m'ont permis de travailler sur le site du Mont Gros. Je remercie Muriel Cary du CEEP & Etienne Markt de l'OCA pour leur aide sur le terrain. Je remercie collectivement le CEEP et l'OCA pour avoir pris en compte cette espèce et cette étude dans les plans d'aménagement du site visant à l'ouverture de la zone au public. Je remercie également Jean-

François Le Galliard qui m'a aidé à démarrer ce suivi, Régis Ferrière & Sébastien Maugenest pour leur aide régulière sur le terrain.

Bibliographie

Devey D.S., Bateman R.M., Fay M.F. & Hawkins J.A. 2008. *Friends or relatives? Phylogenetics and species delimitation in the controversial European orchid genus Ophrys.*

Grunanger P., Caporali E., Marziani G., Menguzzato E. & Servettaz O. 1998. Molecular (RAPD) analysis on Italian taxa of the Ophrys bertolonii aggregate (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 212: 177-184.

Hutchings M.J. 1987a. The population biology of the early spider orchid, *Ophrys sphegodes* Mill. 1. A demographic study from 1975 to 1984. *Journal of Ecology*, 75: 711-727.

Hutchings M.J. 1987b. The population biology of the early spider orchid, *Ophrys sphegodes* Mill. 2. Temporal patterns in behaviour. *Journal of Ecology*, 75: 729-742.

Kull T., Kindlmann P., Hutchings M. & Primack R. 2006. Conservation biology of orchids: Introduction to the special issue. *Biological Conservation*, 129: 1-3.

Shefferson R.P. & Simms E.L. 2007. Costs and benefits of fruiting to future reproduction in two dormancy-prone orchids. *Journal of Ecology*, 95: 865-875.

Shefferson R.P. & Tali, K. 2007. Dormancy is associated with decreased adult survival in the burnt orchid, Neotinea ustulata. *Journal of Ecology*, 95: 217-225.

Shefferson R.P., Kull T. & Tali K. 2005. Adult Whole-Plant Dormancy Induced By Stress in Long-Lived Orchids. *Ecology*, 86: 3099-3104.

Shefferson R.P., Proper J., Beissinger S.R. & Simms E.L. 2003. Life History Trade-Offs in a Rare Orchid: the Costs of Flowering, Dormancy, and Sprouting. *Ecology*, 84: 1199-1206.

Soliva M. & Widmer A. 2003. Gene flow across species boundaries in sympatric, sexually deceptive Ophrys (Orchidaceae) species. *Evolution*, 57: 2252-61.

Vereecken N.J. & Patiny S. 2005. On the pollination of *Ophrys catalaunica* O. Danesch & E. Danesch by pseudocopulating males of Chalicodoma pyrenaica (Lepeltier) (Hymenoptera, Megachilidae). *Naturalistes Belges*, 86: 57-64.

Un plan de conservation pour l'Orchis lacté (*Neotinea lactea* (Poir.) R.M. Bateman, A.M. Pridgeon & M.W. Chase) en Haute-Garonne (Midi-Pyrénées).

Jocelyne CAMBECEDES[1], Jérôme GARCIA[1], Laurie MOUNEY[1], Gérard JOSEPH[2], Jaoua CELLE[3] & Jérôme CALAS[3]

1) Conservatoire botanique national des Pyrénées et de Midi-Pyrénées, vallon de Salut, BP 315, 65203 Bagnères de Bigorre Cedex
2) Société française d'orchidophilie, 3 rue G Lorca, 31520 Ramonville
3) Nature Midi-Pyrénées, 14 rue de Tivoli, 31068 Toulouse Cedex 7

Abstract – Conservation plan for *Neotinea lactea* (Poir.) R.M. Bateman, A.M. Pridgeon & M.W. Chase in Haute-Garonne (Midi-Pyrénées). This Mediterranean orchid is quite rare in France and its range extent to Midi-Pyrénées region where it is protected. In the last 25 years, 54 populations have been recorded, most of them being close to the main city of Toulouse and are thus threatened. A plan has been developed to protect this species with a specific management adapted to stand conditions.

L'Orchis lacté (*Neotinea lactea*) est une petite orchidée à fleurs blanches ou rosées mouchetées de pourpre, disposées en épi dense et court. Elle fleurit de fin mars à fin avril. Espèce typiquement méditerranéenne, elle est rare et très localisée en France. Son aire de répartition s'étend jusqu'en Midi-Pyrénées, où elle est principalement présente dans le département de la Haute-Garonne. Elle a été très récemment découverte dans le Gers (Leblond *et al*., 2009). L'espèce bénéficie d'une protection régionale en Midi-Pyrénées par arrêté ministériel du 30 décembre 2004.

Les populations actuellement connues (Joseph, 2002 ; base de données Flora du CBN des Pyrénées et de Midi-Pyrénées) sont principalement regroupées aux abords de Toulouse, dans des secteurs où l'urbanisation est en forte croissance et l'agriculture en mutation. Seules quelques populations persistent dans des prairies de fauche et en limite de friches, et la plante est plus souvent localisée en bord de route ou dans des espaces devenus pelouses de jardins.

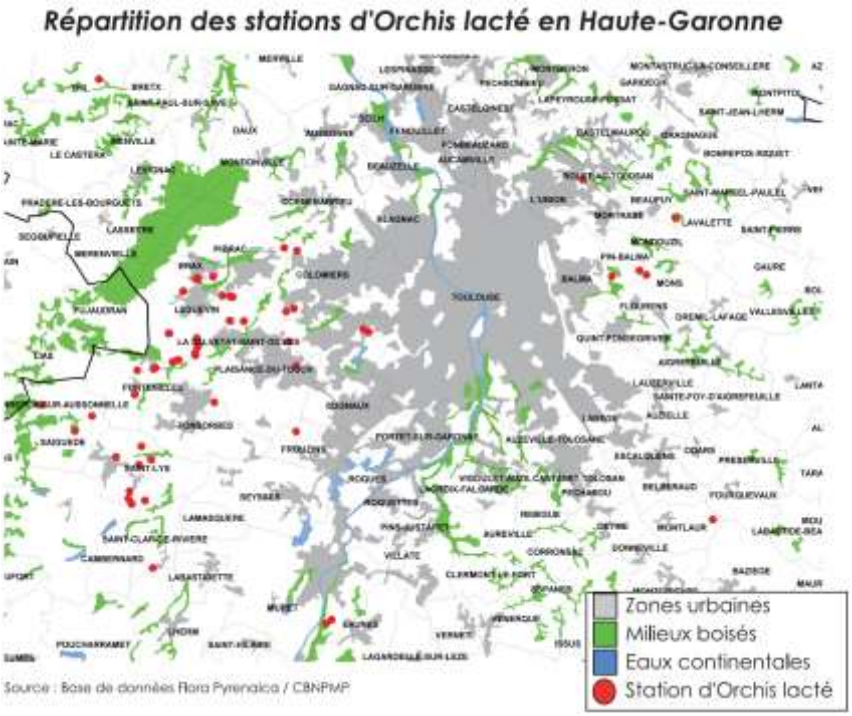
Depuis 25 ans, 54 populations ont été recensées en Haute-Garonne. Ces populations sont fortement menacées :

- par la destruction de leur habitat : urbanisation, développement d'infrastructures routières, labours et mise en culture des prairies ;
- par la fermeture des milieux et l'enfrichement ;
- par l'utilisation d'herbicides ;
- par la fauche précoce interrompant le cycle de reproduction sexuée et induisant ainsi une baisse de la diversité au sein de la population.

A diverses reprises, le Conservatoire botanique est intervenu avec l'association Nature Midi-Pyrénées et la SFO pour mener des actions ponctuelles de conservation.

En 2006, un partenariat établi avec le Conseil général de la Haute-Garonne a permis de mettre en place des pratiques de gestion favorables en bords de routes départementales (Laborde, 2006 ; Cambecèdes *et al.*, 2008).

En 2007, grâce à la vigilance des associations, à l'information diffusée par le Conservatoire botanique et à son appui technique, et à l'intervention de la Direction régionale de l'environnement, de l'aménagement et du logement (DREAL), deux populations ont échappé à une destruction programmée dans le cadre de projets d'urbanisation. Une réduction d'impact a été obtenue pour l'une des populations. La seconde sera au final entièrement épargnée par le projet.



En 2009, le Conservatoire botanique a mis en place, sous l'égide de la DREAL, un plan de conservation en partenariat avec les structures naturalistes et en relation avec les collectivités locales et la Direction départementale de l'équipement et de l'agriculture (DDEA).

Ce plan inclut une actualisation des connaissances avec description et cartographie de chaque population, des actions d'information et de sensibilisation auprès des propriétaires, exploitants et collectivités, l'élaboration de préconisations de gestion générales et de conseils adaptés à chaque situation. Enfin, il s'agit d'impulser une dynamique de conservation de l'espèce à long terme et d'évaluer pour chaque station des modalités de préservation les plus adaptées : les possibilités de maîtrise foncière, de convention de gestion, d'appui aux agriculteurs, voire de mise en place d'arrêté préfectoral de protection de biotope sont envisagées en lien avec les collectivités territoriales (Conseil général, communes), le Conservatoire régional des espaces naturels (CREN), les gestionnaires d'espaces et les services de l'Etat.

Remerciements

Merci à L. Gire (CBNPMP) et P.-E. Rech (CREN) pour leur appui sur ce programme.

Bibliographie

Cambecèdes J., Garcia J., Laborde N. & Lattaignant A. 2008. Actions pour la préservation des populations de plantes protégées en bord de route en Haute-Garonne. *Isatis* 8 : 44-54.

Joseph G., 2002. Cartographie des Orchidées de la Haute-Garonne - *L'Orchidophile, Supplément* 152.

Laborde N. 2006. Programme de préservation des plantes protégées en bord de route et de chemin, département de la Haute-Garonne. Mémoire de master 2 Gestion de la Biodiversité, Conservatoire botanique national des Pyrénées et de Midi-Pyrénées – Université Paul Sabatier Toulouse III. 38p + annexes.

Leblond N., Bergès C., Corriol G., Garcia J., Gire L., Laigneau F. & Prud'homme F. 2009. Contribution à la connaissance de la flore du département du Gers. *Le Monde des plantes (sous presse).*

Evolution et conservation des orchidées de La Réunion

Thierry PAILLER Laurence HUMEAU, Hans JACQUEMYN, Claire MICHENEAU, Jacques FOURNEL, Anne GAUVIN-BIALECKI, Florent MARTOS & Fanny RAKOTOARIVELO
UMR53, Laboratoire des Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical, 15 Avenue René Cassin, BP 7151, 97715 St Denis de la Réunion messag Cedex 9

Abstract – Evolution and conservation of orchids in Reunion Island. More than 1500 orchid species are reported in the hot-spot of biodiversity in Madagascar and in neighbouring islands (Comores, Mascareignes, Seychelles). Reunion island is an oceanic island which is young (3 MYR) and high in altitude (3069 m). 10% of the orchid flora of this zone is present in this island because of its diversity of habitat. Two subfamilies are well present (Epidendroideae and Orchidoidae) notably the tribes of Vandeae and Orchidoideae. The genus *Angraecum* and C*ynorkis* are the most present with 31 and 26 species, respectively. More than 90% of the orchid flora from the Reunion isaland is originated from Madagascar. Rate of endemism reached 66% in the group of Mascareignes islands and 33 % for the Reunion Island, where altitude is an important factor of community structuration. The species richness in orchids and the rate of epiphytisme decreased with altitude, whereas the rate of autogamous species increased with altitude. Interactions between orchids and pollinators or mycorhyzal fungi showed evolutionnary processes unfrequent in an insular context. For example, changes of mutualistic partners associated with the colonisation phase of this island or with changes in preferential habitats. Situated in a high biodiversity hot-spot, the Reunion Island is inhabited by an high orchid diversity and correspond to an high-level of research; that provide an ideal site for (1) investigations of the ecological and evolutionnary processes in orchids and (2) tests the plans for orchid conservation.

Résumé – Le Hot-spot de Biodiversité de Madagascar et des îles environnantes (Comores, Mascareignes, Seychelles) comprend plus de 1500 espèces d'orchidées. L'île océanique de La Réunion est jeune (3 MYR) et haute (3069 m). Du fait de sa grande diversité d'habitats, elle héberge 10 % de la flore orchidéenne de la zone. Deux grandes sous familles sont particulièrement bien représentées (Epidendroideae et Orchidoidae), avec notamment les tribus des Vandeae et des Orchidoideae. Les genres *Angraecum* et C*ynorkis* sont les plus importants avec 31 et 26 espèces respectivement. Plus de 90 % de la flore des orchidées de La Réunion est d'origine malgache et le taux d'endémisme atteint 33 % pour La Réunion et 66 % pour les Mascareignes. A La Réunion, le gradient altitudinal a un fort effet sur la structuration des communautés d'orchidées. On observe une baisse de la richesse spécifique avec l'altitude ainsi qu'une baisse de l'épiphytisme et une augmentation de l'autogamie. Les interactions orchidées x pollinisateurs et orchidées x mycorhyziens montrent des processus évolutifs originaux dans le contexte insulaire avec des changements de partenaires mutualistes liés à la colonisation de l'île ou aux changements d'habitats. Enfin, La Réunion, située au sein d'un hot-spot de biodiversité, hébergeant une forte diversité en orchidées et dotée d'un environnement scientifique de pointe, constitue un terrain idéal pour : (1) l'étude des processus écologiques et évolutifs chez les Orchidées, (2) aborder les problématiques liées à la conservation des Orchidées.

Table ronde

« Conservation et cartographie après l'atlas »

Alain DELAGE, CBN Corse
Patrick HAFFNER, SPN - Museum National d'Histoire Naturelle
Mario KLESCZEWSKI, Conservatoire des Espaces Naturels Languedoc-Roussillon
Daniel MATHIEU, Tela Botanica
François MUNOZ, Université Montpellier II

François DUSAK, SFO - Commission de Cartographie
Philippe FELDMANN, SFO - Commission Scientifique
Daniel PRAT, SFO - Commission Scientifique
Gil SCAPPATICCI, SFO - Commission Scientifique

Discussion avec les participants du colloque

Abstract – Objectives of the roundtable dedicated to the atlas of French orchids were to assess new objectives and perspectives in orchid mapping in order to maintain and stimulate it. The mass of data collected and their subsequent analyses (atlas, ecological study, national red list) are recognized as being quite exceptional. The question is to define the actions within the objectives of knowledge and protection under the responsibility of SFO and then to discuss on ways to continue to mobilize orchidologists.
Discussions have been thoughtful, and have identified the following major points:
• continuation of the atlas is highly desired; objectives and guidelines should be precised by SFO, utilization and valorization of the data basis should be an objective for SFO, technical considerations have been discussed;
• SFO is strongly involved in orchid protection and orchid mapping represents a significant knowledge. Society has to precise objectives and interactions with possible partners.
The scientific committee of the SFO is responsible for proposing a work plan concerning orchid mapping activity, considering discussions and suggestions provided during this roundtable.

L'objectif de la table ronde était de faire le point au moment de l'édition de l'atlas, bilan de plusieurs dizaines d'années d'effort de cartographie effectuée par plus de 3000 orchidophiles. La masse d'informations collectées et l'effort considérable d'analyse (atlas, étude écologique, liste rouge nationale) sont reconnus comme étant tout à fait exceptionnels et méritant d'être

pleinement exploités. Il faut ensuite pouvoir continuer à développer les connaissances sur les orchidées en bâtissant un futur opérationnel répondant aux souhaits de tous.
La question est de définir des actions correspondant aux objectifs de connaissance et de protection de la SFO et donc de débattre sur les moyens permettant de continuer à mobiliser sans épuiser les participants en priorisant les actions et en les soutenant en matière d'organisation et de logistique.
La table-ronde a donc réuni des participants d'origine diverses, intéressés par la conservation de la biodiversité des plantes en particulier des orchidées.

Les débats ont été riches, parfois très impliqués et directs et ont permis d'identifier les points principaux suivants :

- Une suite à l'édition de l'atlas est vivement souhaitée en continuant les efforts méritoires de collectes des données :
    - Un besoin d'objectifs et de directives venant de la SFO est souhaité, accompagné de l'organisation d'un retour d'informations vers les fournisseurs de données.
    - L'utilisation et la valorisation pour la conservation de la base de données doit être un objectif pour la SFO.
    - De nombreux points techniques sont abordés afin d'aider à la collecte, à l'exploitation et à la diffusion des données. On peut citer :
        - le protocole de collecte des données doit être adapté aux possibilités des orchidophiles et aux utilisations que l'on veut en faire ;
        - le format des informations afin qu'elles soient utilisables au niveau local ;
        - la nécessité de validation des données ;
        - le besoin de développement des outils adaptés et utilisables (SIG, GPS, outils participatifs en ligne…).

- La SFO a une politique de conservation qui doit être déclinée de manière opérationnelle :
    - réaffirmer les objectifs de conservation et se donner les moyens d'y parvenir
    - favoriser les interactions entre naturalistes, scientifiques et gestionnaires mais aussi avec d'autres associations en mutualisant les moyens et en exploitant la complémentarité des compétences (Tela Botanica)

La commission scientifique de la SFO est chargée de proposer un plan de travail pour la suite de la cartographie en précisant les objectifs par rapport aux questions soulevées par la table-ronde et en proposant une organisation permettant d'y répondre.

Conflicting species concepts underlie perennial taxonomic controversies in *Ophrys*

Richard M. BATEMAN[1], Dion S. DEVEY[1], Svante MALMGREN[2], Elizabeth BRADSHAW[1,3] & Paula J. RUDALL[1]

1) Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens Kew, Richmond, Surrey, TW9 3AB, Royaume-Uni
(corresponding author: r.bateman@kew.org)
2) Radagatan 8, SE 531-52, Lidkoping, Suède
3) John Innes Centre, Norwich Research Park, Colney Lane, Norwich, NR4 7UH, Royaume-Uni

Abstract – Radically conflicting estimates of the number of species encompassed by a single genus often reflect paucity of taxonomic knowledge. However, intensive studies of the European terrestrial orchid genus *Ophrys* have led to contrasting monographs that recognise few species (19 species plus 65 subspecies: Pedersen & Faurholdt, 2007) or many species (251 species forming 32 complexes: Delforge, 2006), a contrast that understandably perplexes conservation bodies. The striking yet largely continuous variation in floral morphology of the flowers may have tempted some systematists to partition variation unusually finely. However, the main driver encouraging recognition of new species (the species 'discovery' rate is currently approximately ten per annum) is the assumption that each subtly distinct morphological variant in each geographically definable region has its own specific pollinating insect; a consequence of the pseudo-copulatory pollination mechanism that explains the three-dimensionality, heterogeneous colours and textures, and complex pseudo-pheromones of the remarkable *Ophrys* labellum. Our thoroughly sampled molecular phylogeny resolves only ten groups within the genus, five of which contain only one widespread species. The inferred relationships have prompted further research, including a comparative micromorphological study of the labellar epidermis. Although low sequence divergence would be expected in a recent phenotypic radiation, the maintenance within many individuals of multiple plastid haplotypes and multiple ITS alleles suggests much recent introgression among these supposedly reproductively isolated species. Together with breeding experiments that recover multiple 'species' from a single artificially self-pollinated flower, these data refute the popular species concept based on the hypothesis of one pollinator per trivial variant, which is, we believe, too constrained a system to allow further diversification. Frequent phenotypic convergence is evident, especially between genetically distinct western and eastern Mediterranean provinces separated by contrasting prevailing winds. Given this new evidence, we view most named phenotypes ('microspecies') as either infraspecific taxa or hybrid swarms.

Résumé – Les concepts taxonomiques d'espèces chez les *Ophrys* révélateurs de controverses conflictuelles récurrentes. La faiblesse de la connaissance taxonomique de certains genres est à l'origine d'estimations contrastées du nombre de leurs espèces. Ainsi, des études approfondies du genre *Ophrys,* un genre d'orchidées terrestres d'Europe ont abouti à la publication de travaux allant de la reconnaissance d'un nombre réduit d'espèces, 19 avec 65 sous-espèces par Pedersen et Faurholdt (2007), jusqu'à un nombre élevé, 251 espèces formant 32 complexes (Delforge, 2006), rendant perplexe les organismes de protection. L'impressionnante quoique largement continue variabilité de la morphologie florale a tenté certains systématiciens de distinguer des espèces de manière inhabituellement fine. Toutefois, la raison principale de la description de nouvelles espèces, au rythme d'une dizaine par an, est

basée sur l'hypothèse que chaque population liée à une région donnée identifiée par toute subtile modification morphologique avait son propre insecte pollinisateur. Ce mécanisme de pollinisation par pseudocopulation serait à l'origine de la complexité du remarquable labelle par son relief, ses couleurs et ses textures hétérogènes et les phéromones qu'il produit. Notre analyse du genre par phylogénie moléculaire, avec un échantillonnage rigoureux, révèle 10 groupes dont 5 ne comportent qu'une seule espèce de large répartition. Leur relation supposée a été à l'origine d'études supplémentaires dont celle présentée sur la micromorphologie de l'épiderme du labelle. Alors qu'une faible divergence de séquence était attendue dans un contexte de radiation rapide, la présence dans beaucoup d'individus de plusieurs haplotypes plastidiques ainsi que de multiples allèles ITS suggère la présence d'introgression entre ces espèces supposées isolées du point de vue reproductif. Ceci, allié avec les expérimentations de croisements qui ont permis de produire plusieurs « espèces » à partir d'une fleur autofécondée, réfute le concept populaire d'espèce basé sur l'hypothèse d'un pollinisateur spécifique par variant qui serait d'ailleurs aussi trop contraignant pour permettre une nouvelle diversification. Il y a évidence de convergences phénotypes fréquentes, particulièrement entre les régions « génétiquement » différentes de l'Est et de l'Ouest de la Méditerranée qui sont isolées par des vents dominants. En raison de ces nouvelles évidences, nous considérons que la plupart des phénotypes décrits ne sont que des taxons intraspécifiques ou des nébuleuses hybrides.

INTRODUCTION

Bee orchids of the charismatic genus *Ophrys* have been the subject of several taxonomic treatments, each based primarily on classical techniques that focus on the appearance of the species (e.g. Devillers & Devillers-Terschuren, 1994) or, more recently, their chromosomal patterns (D'Emerico *et al*., 2005). These studies have differed substantially in the number of species recognised. The most influential of the recent European orchid floras (Delforge, 2006) recognised 251 species but, a year later, a monographic study of the genus by Pedersen & Faurholdt (2007), essentially based on the same body of morphological data, recognised only 19 species, 65 subspecies and five stabilised hybrid aggregates. To add insult to injury, subsequent DNA-based studies of the bee orchids (Devey *et al*., 2008, 2009) could detect at best only ten groups that merit recognition as genetically defined rather than morphologically defined species. How on Earth can such wide disparity of perceived species numbers occur in such a well-studied orchid genus?

This disagreement regarding bee orchid diversity represents a particularly extreme example of a phenomenon that frequently afflicts taxonomy – a dichotomy between researchers who divide natural variation into as many units as possible (splitters) and others who aggregate those subtly different units into entities that they consider to be either more easily recognised or more biologically meaningful (lumpers). However, it is our contention the genus *Ophrys* has generated a third category of co-evolutionary taxonomists, the 'ultrasplitters'.

Arguably the most characteristic and iconic of all Mediterranean orchids (Figure 1), *Ophrys* is readily distinguished from all other genera using either the appearance of its flowers or the sequence of bases in its DNA; both are unique and instantly recognisable. Its remarkable and much-discussed flowers are fine-tuned to deceive naïve male insects into attempting to mate with its flowers, a process termed pseudo-copulation (Figure 2) (e.g. Paulus & Gack, 1990; Paulus, 2006). Not surprisingly, the bee orchids have become enshrined in the botanical literature as an archetypal example of adaptation in flowers to best fit specific pollinating insects (e.g. Cozzolino & Scopece, 2008; Schlüter & Schiestl, 2008). But although the genus is easily identifiable, many of its constituent species are not; attempting to separate putative

species within this genus can provoke at best frustration and at worst temporary insanity in even the most experienced field orchidologist.

Figure 1. *Ophrys speculum*, featuring a remarkable mirror-like labellum. (Photo: Richard Bateman)
Figure 1. *Ophrys speculum*, au remarquable "miroir" du labelle.

Figure 2. Male *Argogorytes* digger-wasp attempting to mate with the Fly Orchid, *Ophrys insectifera*. (Photo: Barry Tattersall)
Figure 2. Mâle de guêpe-fouisseuse d'*Argogorytes* tentant de s'accoupler avec une fleur d'Ophrys mouche, *Ophrys insectifera.*

Species are fundamental units

The species is the most fundamental taxonomic rank. All users of biological information and assessors of biodiversity employ the species as their basic unit of currency. But just as in finance there are many international currencies whose perceived relative values vary through time, so the various species concepts that have been proposed over the centuries (at least 26 were recognised in a frequently cited review by Mayden, 1997) fluctuate in their relative popularity. And just as attempts have been made to simplify the world economy by reducing the total number of currencies (witness the many consequences of the advent of the Euro), all biologists would agree that maintaining two dozen species concepts is counter-productive. Many would say that an ideal world would support only one category of species – a concept so powerful and predictive, yet so flexible and functional, that it would be accepted and used routinely by all biologists. In contrast, we would argue that achieving such a state of taxonomic nirvana is not only impossible in the present circumstances but is also undesirable, as the conflicts over species circumscription reflect a deeper set of important but inadequately resolved issues – issues that can make exploring the evolutionary relationships among orchids especially exciting.

Three key criteria

We believe that Mayden's two dozen species concepts can legitimately be reduced to just three primary criteria for circumscribing species. The first, and most traditional, concept is simply similarity of appearance – morphology. This rather nebulous concept has underpinned orchid taxonomy for the last three centuries, and continues to do so. Basically, we expect every

individual within a species to possess one or more characters (or combinations of characters) that reliably separate it from individuals of all other species – such characters are said to be diagnostic and fixed (for example, the reflective speculum in the centre of the labellum that characterises the genus *Ophrys*: e.g. Figure 1). Of course, we have to sort through a lot of characters – and preferably a lot of individual plants from a lot of populations – before we can be confident that we have identified the most reliable diagnostic characters.

The second criterion, which was presaged by Darwin but took firm hold only in the middle of the 20th Century, is reproductive isolation. The foundation of what soon became known, rather arrogantly, as **the** biological species concept, this principle attempted to encompass the evolutionary process that was considered most likely to have given rise to the resulting species. Population geneticists and reproductive biologists took Darwin and Wallace's concept of natural selection – competition for resources within populations leading to a set of individuals that are on average better adapted to their immediate environment – and couched it in terms of ecological interactions within populations. If the individuals were capable of interbreeding within natural populations without incurring serious damage to their fitness (i.e. their ability to both survive and reproduce in that environment) they were considered to belong to the same species. The evidence of their interbreeding could be ecological – for example, observing animals transferring pollinia between orchids – or it could be genetic – for example, using genetic fingerprints to infer the relationships between individuals and to determine whether, and how often, those individuals exchanged genes (a process termed gene flow). In an ideal world, the absence of gene flow would be sufficient to circumscribe an orchid species, just as it helps to distinguish humans from chimpanzees and gorillas.

The third and most recently devised criterion, perhaps the most difficult to explain, is termed monophyly. A monophyletic group can be defined (somewhat simplistically) as encompassing all of the descendants of a single presumed ancestor. The relationships among the organisms analysed are inferred by constructing evolutionary trees, using morphological or genetic information, and partitioning the tree into monophyletic taxa by cutting particular branches. This approach has the huge advantage of ensuring that the circumscribed group is 'natural' – both self-defining and the product of evolutionary change (e.g. Bateman, 2007, 2009b). However, there remains a crucial ambiguity; is the basic unit of comparison – the ancestor and descendant(s) – the gene, the individual organism, the local populations, the meta-populations or the species? In practice, the principle of monophyly has justly become fundamental to rearranging all species in order to circumscribe only natural genera, but it is far less clear whether monophyly is useful at a lower level, for aggregating individuals and/or populations into species. The main problem is that it relies on repeated events that separate and thus isolate populations, but it cannot readily accommodate circumstances in which these daughter populations recombine to once again form a single interbreeding population, a process that occurs commonly in the real world.

Returning to Mayden's (1997) two dozen species concepts, most are in practice generated by combining one, two or even all three of the above principles into a single definition; for example, Scopece *et al*. (subm.) have attempted to combine monophyly and reproductive isolation in order to test the validity of competing classifications of subtribe Orchidinae. For the rest of this article, we have chosen to focus on the relationship between similarity of morphological appearance and reliability of reproductive isolation, because we believe that it is this uneasy relationship between radically different ways of studying species that lies at the crux of the great *Ophrys* controversy. It also helps to explain why everyone, from the casual novice to the specialist researcher, experiences serious difficulties when attempting to identify bee orchid species in the field.

Identification requires circumscription

We can all assign an unknown plant to the genus *Ophrys* on overall appearance (jizz) alone, without needing to memorise a range of reputedly diagnostic characters. If we dissect the bee orchids' insect-mimicking jizz into particular characters, we might begin by noting the unusually large size difference between the three sepals and the two much smaller lateral petals. However, it is more likely that we would be drawn immediately and inexorably to the spectacular and complex labellum (Figure 1). The facts that it is (a) three-lobed with a notched central lobe and (b) folded three-dimensionally fail to distinguish it from many other orchid genera. However, more remarkable is the fact that its folding is convex rather than concave (thus preventing the labellum from forming a nectar-secreting spur – spurs are the ultimate expression of concavity), bears at least some well-developed hairs (trichomes) along the margin (Figure 3), and has at its centre a smooth, lobed, differently coloured, more reflective

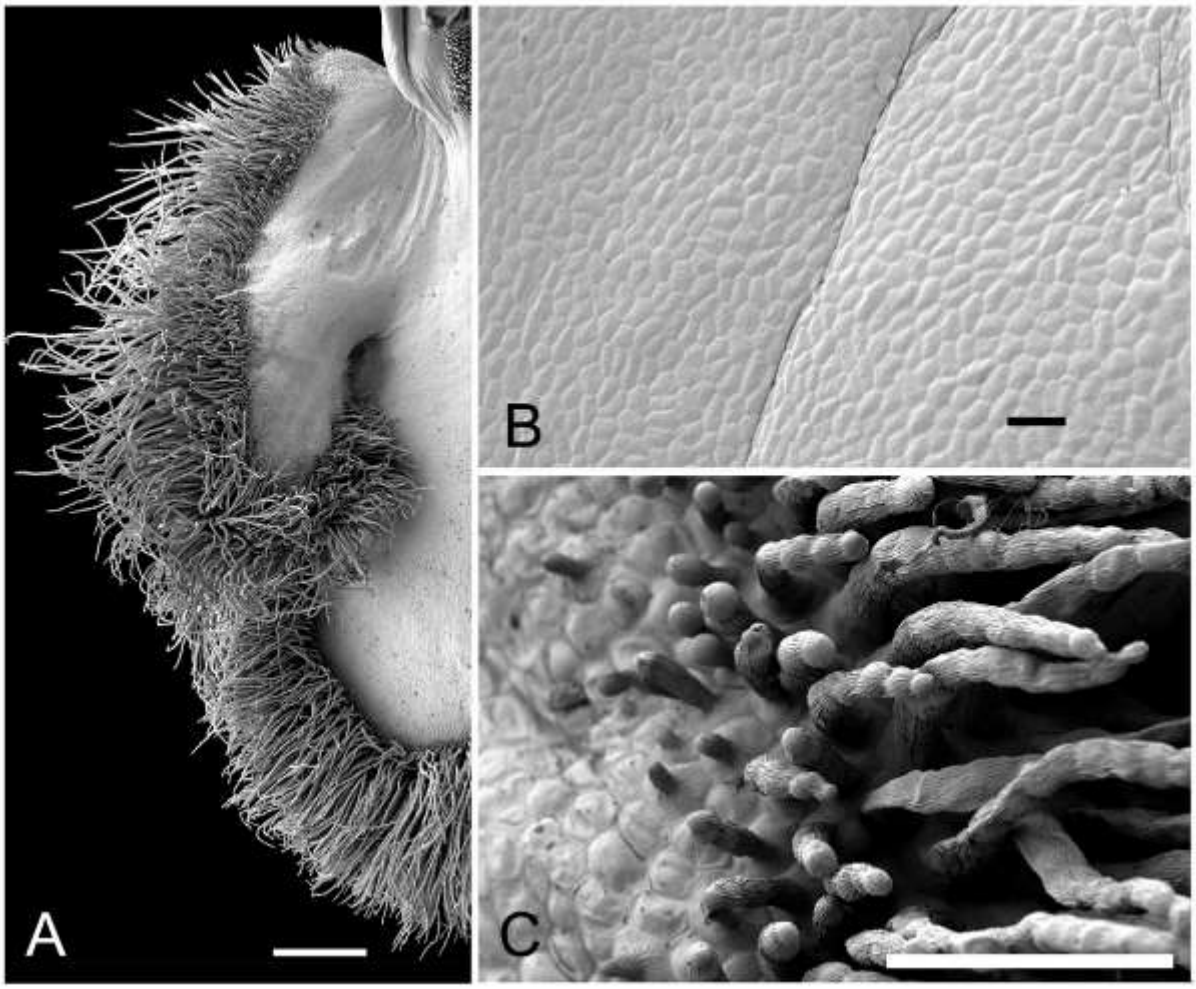


Figure 3. Scanning electron microscope plate of the labellum of *Ophrys speculum*, showing the remarkable variety of surface features that serve to attract pollinating insects. A, left half of labellum; B, enlargement of speculum; C, enlargement of marginal hairs. Scales: A = 1 mm, B and C = 0.1 mm. (Photos: Beth Bradshaw)

Figure 3. Images en microscopie électronique à balayage du labelle d'*Ophrys speculum*, montrant la remarquable diversité des caractères de surface servant à attirer les insectes pollinisateurs. A. moitié gauche du labelle ; B. agrandissement du speculum ; C. agrandissement des poils des marges. Echelle : A = 1 mm, B et C = 0.1 mm

and in some cases iridescent feature termed the speculum (e.g. Figure 1). It is this basic knowledge, understood either explicitly or more often implicitly, that allows us to readily assign a particular plant to the genus *Ophrys*.

But we are not concerned here with merely identifying a plant as an *Ophrys* – anyone can do that. We are far more ambitious – we wish to know which of Delforge's (2006) 251 finely divided *Ophrys* species – perhaps better henceforth described as microspecies – lies at our feet (potentially a serious challenge, bearing in mind that an unusually rich Mediterranean site could offer as many as a dozen Delforgean *Ophrys* species). Pinning down a population to a Delforgean microspecies can become a serious plant-by-plant challenge – a challenge that often results in the tentative conclusion that two or more morphologically similar species are somehow co-existing at the locality in question. The descriptions and identification keys in monographs and floras are often insufficiently precise and detailed (or, conversely, insufficiently understandable) to distinguish among such closely similar species. We should consider the possibility that these failures of identification are not the fault of the technical guides or ourselves, but rather that we are attempting to identify species that do not actually exist.

Morphology *versus* morphology

Having established the background to the bee orchid debate, we can now return to the conflicting results of the three studies that began this article. The monographs of Delforge (2006) and Pedersen & Faurholdt (2007) have much in common. Both books are the work of highly experienced orchidologists who have accumulated a tremendous amount of field experience; these authors know bee orchids not as desiccated grey-brown cadavers on herbarium sheets but as living, breathing plants carpeting Mediterranean hillsides. Both studies are traditional, in the sense of being based primarily on morphological data reflecting a wide geographical spread of observations (though Pedersen & Faurholdt surprisingly chose to ignore the bee orchids of Asia Minor and North Africa). Given the same basic information, how can Delforge possibly conclude that there are 251 species of *Ophrys* while Pedersen & Faurholdt opt for a mere 19 species? Part of the answer lies in contrasting treatments below the species level. Pedersen & Faurholdt formally recognise 65 subspecies and five taxonomically broad hybrid aggregates, whereas Delforge deliberately mimimises use of these lower ranks in his exceptionally egalitarian classification. Clearly, most of the names recognised as species by 'splitter' Delforge have either been treated as subspecies or hybrids or have been completely ignored by 'lumpers' Pedersen & Faurholdt. Perhaps these conflicted authors are using different definitions of a species?

For Pedersen & Faurholdt (2007), "a species consists of all individuals that in natural conditions (in reality or potentially) can interbreed to produce consistently viable and fully fertile offspring; … individuals of one species are distinguished from those of other species by morphological features." Delforge (2006) elected to list the defects inherent in the various species concepts available to him but refused to offer a formal definition of a species other than to state that his approach is fundamentally phylogenetic (i.e. is intended to emphasise 'natural' monophyletic groups). He did, however, make two especially relevant observations. Firstly, "the number of defined species depends on the level of [morphological] differentiation used by the taxonomist. The level is arbitrary. If a high threshold of differentiation is applied there will be few species with large interspecific variation [=lumping]; using a low threshold there will be many species, with all visibly different taxa becoming species [=splitting]." Is this distinction sufficient to explain these radically different treatments offered by Delforge and Pedersen & Faurholdt? And is it truly arbitrary?

We should also consider the second pertinent statement made by Delforge. "Another pitfall awaiting the taxonomist is the application of tools [including DNA-based analyses] that

allow analyses and taxonomic decision-making … Each specialist has a tendency to give weight to the results of his own technique, sometimes to the point where they discredit the study of morphological characters, and arrive at a classification based on a single technique; this is best avoided." At first glance, this statement appears to be an effective defence of traditional morphology. But what is traditional morphology if not a "single technique"? And just what **do** we learn when other kinds of information, such as DNA sequences, are considered?

Morphology *versus* molecules

The answer to the last question came when, building on more taxonomically and genetically restricted molecular analyses (Bateman *et al*. 2003; Soliva & Widmer 2003; Schlüter *et al*. 2007), Devey *et al*. (2008) sampled all of the major groups of bee orchids species recognised on traditional morphological grounds by Delforge (2006) and Pedersen & Faurholdt (2007) and gathered no less than four kinds of data. They approached morphology by measuring 45 different features of plants sampled widely from populations distributed across Europe. They then accumulated data on the sequence of nucleotides (a language of only four letters: A, G, C and T) from two discrete DNA-based genomes: the chromosomes of the nucleus, which are inherited equally from the mother and father, and the plastids (green, chlorophyll-rich bodies within cells, termed organelles), which are inherited only from the mother. Because these methods analyse only a tiny portion of the total DNA, Devey *et al*. (2008) also used a more inclusive technique termed AFLP, which cuts all of the chromosomes into fragments and then measures the length of each resulting fragment.

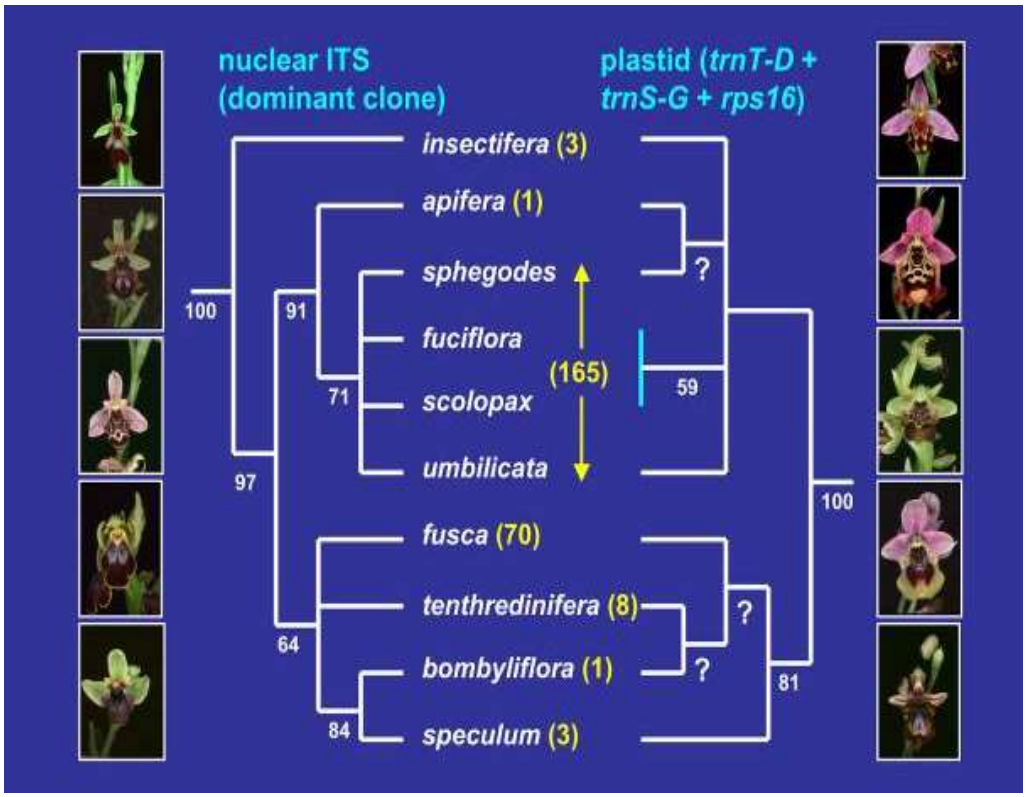


Figure 4. Simplified evolutionary trees of major groups of *Ophrys* based on chromosomal (left) and plastid (right) DNA, surrounded by representatives of the ten major groups thus circumscribed. (Image: Richard Bateman)

Figure 4. Arbres évolutifs simplifies des principaux groupes d'*Ophrys* bases sur l'ADN chromosomique (à gauche) et des plastides (à droite), liés à des représentants des 10 groupes majeurs ainsi identifiés.

The plastid analyses yielded the same number of distinct groups of supposed species, namely nine, epitomised by the following familiar species: *O. insectifera*, *O. tenthredinifera*, *O. bombyliflora*, *O. speculum*, *O. fusca*, *O. apifera*, *O. umbilicata*, *O. fuciflora* and *O. sphegodes* (Figure 4). AFLP gave similar results but failed to discriminate clearly among *O. speculum*, *O. tenthredinifera* and *O. bombyliflora*. Chromosomal DNA (ITS sequences) were slightly more discriminatory, tentatively further dividing the *O. fuciflora* group into two subgroups based on *O. fuciflora s.s.* and *O. scolopax s.s.* and thus delimiting ten groups of *Ophrys* altogether. So three radically different kinds of genetic analysis are telling essentially the same story; the genus contains only nine or, at most, ten units that are demonstrably genetically distinct and so are unequivocally reproductively isolated. These techniques also simultaneously allow us to determine whether these groups are monophyletic (inclusive, self-defining groups with a single evolutionary origin). If, as some theorists have argued, reproductive isolation and/or genetically determined monophyly should be used to delimit species, there are clearly nine or ten species of *Ophrys* – not even the 19 species recognised by Pedersen & Faurholdt, and certainly not the 251 species recognised by Delforge.

Encouragingly, when found in the field, these ten 'macrospecies' can readily be distinguished from each other by any competent botanist. Rather, it is when attempts are made to further fragment these species into much more subtly distinct 'microspecies' that even experts experience great difficulty in distinguishing among them. Indeed, the DNA data tell us that very similar floral morphologies can be found in different genetic groups; for example, prominent lateral 'horns' on the labellum have evolved independently in the *scolopax* (Figure 5) and *fuciflora* (Figure 6) groups, and similar labellum shapes and markings have evolved independently in the *umbilicata* (Figure 7) and *sphegodes* (Figure 8) groups (Devey *et al.*, 2008, 2009), undermining some relationships previously inferred from morphological phylogenetic analysis (cf. Devillers & Devillers-Terschuren, 1994). In contrast, comparative micromorphological studies of the exceptionally diverse epidermal cells of the labellum (the

Figures 5, 6. Two microspecies that have independently evolved labellar horns: *Ophrys scolopax s.s.* (*scolopax*) from S France (left) and *O. lapethica* (*umbilicata*) from Chios (right). (Photos: Richard Bateman)

Figures 5, 6. Deux micro-espèces dont les cornes du labelle ont évolué indépendamment : *Ophrys scolopax s.s.* (*scolopax* du sud de la France) (à gauche) et *O. lapethica* (*umbilicata*) de Chios (droite).

Figures 7, 8. Two microspecies that have independently evolved similar labellum shapes and markings: *Ophrys kotschyi* (*umbilicata*) from Cyprus (left) and *O. cretica* (*sphegodes*) from Crete (right). (Photos: Richard Bateman)
Figures 7, 8. Deux micro-espèces dont la forme et les marques du labelle ont évolué de manière : *Ophrys kotschyi* (*umbilicata*) de Chypre (à gauche) et *O. cretica* (*sphegodes*) de Crète (à droite).

most critical portion of the flower for inducing pseudo-copulation) have supported the novel relationships, for example providing evidence of a close relationship between the *tenthredinifera*, *bombyliflora* and *speculum* groups (Bradshaw *et al*., 2010). And we have shown that, even if those fieldworkers had in their pockets an automated DNA analyser (technology that should become widely available within the next few years), they would still be unable to differentiate among the highly divided microspecies. More broadly, if all three of our species criteria – morphological similarity, monophyly and reproductive isolation – are telling us the same story, why is there any remaining controversy? How can one arch-splitter still write that "genetic analyses have brought no insight to speciation studies"? Surely the lumper's case that genetically delimited macrospecies are preferable to co-evolutionarily delimited microspecies is proven beyond all reasonable doubt?

The elephant in the room?

In fact, there is one valid counter-argument that the splitters could have chosen to deploy in defence of their position. By definition, the genetic techniques employed by Devey *et al*. (2008) and others circumscribe groups that have very little if any gene flow between them; the groups of orchids that are recognised undoubtedly pass the reproductive isolation test. But there would have been a period (probably only a brief period) when these species were reproductively isolated but would have been unlikely to be detected by the genetic methods employed by Devey *et al*. (2008). Reproductive isolation develops when one or at most very few genetic changes occur, spread through the population in question and eventually characterise every plant in the population – they are then said to be fixed (Figure 9). And yet more generations must pass before enough additional genetic differences accrue to readily differentiate this new species from all other species – not least from its ancestral species. In other words, if reproductive isolation precedes substantial genetic divergence of

species by many generations (a period termed the 'genetic divergence lag' by Bateman, 2009b), a larger number of reproductively isolated species is likely to exist at any one moment in time than can be detected by standard genetic analyses. Here, perhaps, is the elephant in the room …?

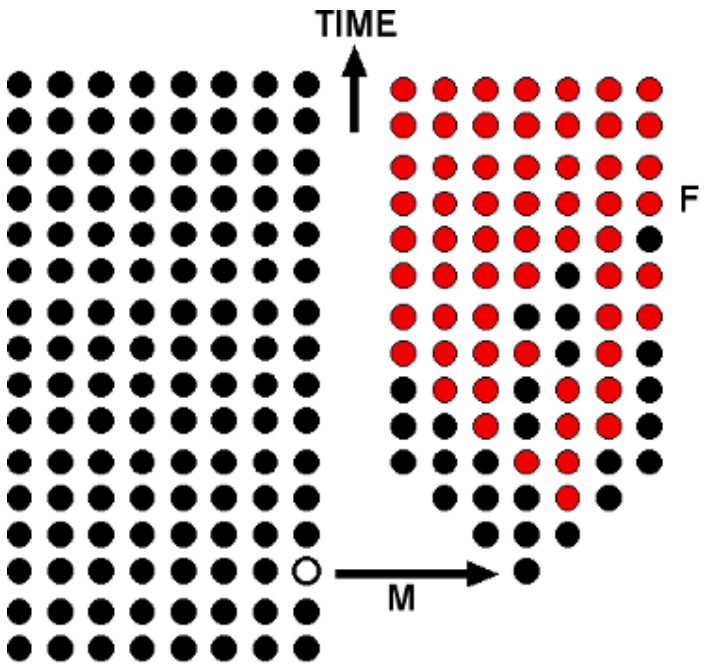


Figure 9. Diagram showing the hypothetical fates of an ancestral and daughter population which first become physically isolated due to migration (M) of the daughter population (e.g. from the mainland to an island) and several generations later become reproductively isolated due to the fixation (F) of a novel feature that arose within the daughter population.

Figure 9. Diagramme montrant la situation hypothétique de populations mères et filles devenues physiquement isolées suite à une migration (M) de la population fille (par exemple d'un continent vers une île) et qui est devenue génétiquement isolée au bout de quelques générations en raison de la fixation (F) d'un caractère nouveau apparu dans la population fille.

Actually, it may be more accurate to refer to 'the fly in the ointment' than 'the elephant in the room', because other biologists have explored reproductive isolation in *Ophrys* not through indirect genetic assessment of gene flow but rather through direct observation of their pollination mechanisms. And what magnificent pollination mechanisms they are! The bee orchid flower is beautifully adapted for an uncommon pollination strategy termed pseudo-copulation. Specifically, inexperienced male insects, mostly bees and wasps, are sufficiently attracted to the *Ophrys* flower – first by smell (a sophisticated cocktail of chemicals that mimic the sexually attractive pheromone chemistry of the female bee or wasp), then by appearance (the kaleidoscopic colours and iridescent speculum of the labellum) and finally by touch (the contrasting hairs on different regions of the labellum) – into attempting to mate with the flowers. In doing so they accumulate pollen masses and, having failed to learn their lesson, they then transfer the pollen masses to another flower when they make a further abortive attempt to mate with an orchid (e.g. Paulus & Gack, 2000; Paulus, 2006; Schiestl & Cozzolino, 2008; Schlüter & Schiestl, 2008). The insect gains little from this co-evolutionary relationship, unless the naïve male's interaction with the flower is useful practice for the time when he finally meets a female of his own kind! Not surprisingly, the bee orchids have become a much publicised cause célèbre – a model system in the realm of adaptive evolution.

The problems really begin when we retool this incontrovertible evolutionary mechanism for use (or abuse?) as a key taxonomic character. Evolutionary theory tells us that *Ophrys* flowers have become co-adapted to dupe the sexually frustrated males of one particular species of insect. So if a particular species of insect is observed to pollinate a particular species of *Ophrys*, it is tempting to assume that evolution has operated with such precision that each pollinating insect has acquired a faithful co-evolutionary relationship with a

different *Ophrys* species. In effect, the identity of the pollinator becomes the diagnostic character of the *Ophrys* plant. This in turn means that observing new pollinators *in flagrante delicto* leads to a proliferation of new orchid species descriptions (e.g. Paulus & Gack, 1990; Paulus, 2006; Schlüter *et al*., 2007).

Of course, these authors also seek morphological characters that might separate the new (and typically very localised) orchid from the more widespread species to which it was previously attributed, but any prospective diagnostic characters found are inevitably few and disconcertingly subtle, and are usually derived from studying few if any populations in detail. And as we have already clearly seen, DNA characters are unlikely to come to our rescue when we attempt to identify this novel species. Thus, pollinator observations are in practice being prioritised over genetic information when trying to infer whether reproductive isolation has been achieved by a particular group of orchids. This assumption has been further challenged by Bateman (2009a, b; also Bateman *et al*., in prep.), who argued from first principles that the inferred perfection of the one-to-one relationship between pollinator and orchid 'species' would strongly constrain any further diversification. A species possessing multiple pollinators – differing in importance from site to site, time of day to time of day, day to day and year to year – provides much greater opportunities for generating further recognisable local variants.

Insights from horticulture

Fortunately, there is a third approach available to study reproductive isolation. Instead of observing the interactions of orchids with pollinating insects in the wild, we can bring the orchids into cultivation, substitute a paintbrush for the insect when transferring pollen between flowers, and examine the appearance and fertility of the progeny of these controlled crosses. The results have been most illuminating.

Firstly, almost all crosses between species generate highly fertile offspring, but surprisingly, there was no correlation between degrees of genetic differentiation and degree of loss of fertility in hybrids (Scopece *et al*., 2007; Cozzolino & Scopece, 2008). Unfortunately, these studies only performed crosses between members of the ten *Ophrys* species recognised by Devey *et al*. (2008). Had the authors crossed microspecies within each of these ten groups, we would have predicted little or no substantial decrease in fertility. It has even been possible to combine the genes of as many as seven genetically contrasting species into a single artificial hybrid (Malmgren, 2008). Secondly, it has proven easy to cross two genetically distinct species that co-exist in the wild in order to (re)create other co-existing species that are recognised by splitters but are not actually genetically distinct (Malmgren, 2008). In other words, as correctly inferred by Pedersen & Faurholdt (2007), many of the *Ophrys* microspecies recognised by splitters such as Delforge (2006) are almost certainly recently formed hybrid populations rather than bona fide species. Provided that the parents are genetically distinct from each other, they can be reliably identified. Indeed, if genetic data are gathered from both the chromosomes (inherited from both parents) and the plastids (inherited from the mother only), we can even determine which species was mother and which was father (e.g. Soliva & Widmer, 2003; Bateman *et al*., 2008; Cortis *et al*., 2009).

Thirdly, and most strikingly, a single self-pollinated *Ophrys* capsule can generate a set of seeds that, when grown to maturity, shows a range of morphological diversity equal to three or more supposed microspecies (Malmgren, 2008). This constitutes an especially graphic illustration of why subtle morphological differences should not be viewed as marking species boundaries without independent genetic evidence that they have become reproductively isolated. Nor has morphological diversity been treated evenly across the genus by morphologists. For example, populations attributed to *Ophrys sphegodes sensu stricto* and *O. fuciflora sensu stricto* in southern England each contain as much morphological variation as

Mediterranean populations of *O. sphegodes sensu lato* and *O. fuciflora sensu lato* that each supposedly contain several microspecies.

CONCLUSIONS AND BROADER IMPLICATIONS

At best, the splitters' microspecies of *Ophrys* are not reliably identifiable by any known method. The morphological characters are too subtle, the molecular characters non-existent, and pollinator visits too rare, to assist identification. At worst, the entire ledger of bee orchid microspecies is an artifice of man, which has spawned a popular mythology of recent and rampant speciation. Because considerable variation through space and time is highly likely, an adequate test of the pollinator-centred view of species circumscription would require observations of pollination of any putative *Ophrys* species to be made across its entire geographical range, in all its habitats, throughout its flowering period, through many years. This is where the indirect nature of genetic analyses becomes a strength rather than a weakness, because the genetic markers reflect the reproductive behaviour of the species over a substantial period of time, rather than being subject to the vagaries of a particular ecological interaction in a particular place at a particular point in time (Scopece *et al*., subm.).

More pragmatically, most of the many assertions of pollinator fidelity that argue in favour of a one-to-one relationship between orchid and pollinator are discredited when sufficient observations are made; most orchids have more than one pollinator, and most pollinators service more than one orchid (Bateman *et al*., in prep.). To use supposed pollinator specificity as a taxonomic tool, in the absence of corresponding genetic data, is to allow the ecological tail to wag the genetic dog. We therefore hereby mischievously withdraw the lifeline that we offered to the splitters nine paragraphs previously. A few *Ophrys* species might currently reside in the brief interlude between achieving reproductive isolation and genetic distinction – perhaps enough to stretch from the 10 species of Devey *et al*. (2008) to the 19 species of Pedersen & Faurholdt (2007). For example, given their contrasting appearances, it is tempting to hypothesise that *O. bertolonii* (Figure 10) should be at least potentially reproductively isolated from *O. sphegodes* (Figure 11), despite the similarity of their DNAs.

Figures 10, 11. Two microspecies that are genetically similar but might be supposed on morphological grounds to have achieved reproductive isolation: *Ophrys drumana* in the *bertolonii* group (*sphegodes*, SE France, left) and *O. sphegodes s.s.* (UK, right). (Photos: Richard Bateman)

Figures 10, 11. Deux micro-espèces qui sont génétiquement similaires mis qui sont supposes être isolées reproductivement : *Ophrys drumana* du groupe *bertolonii* (*sphegodes*, SE France, à gauche) et *O. sphegodes s.s.* (UK, à droite).

However, to argue that 241 of Delforge's (2006) 251 *Ophrys* species simultaneously reside in this transient evolutionary nomansland stretches credulity well beyond breaking point. The great majority of the microspecies are, in short, 'Emperor's New Clothes' species, visible only to their human creators.

We might end by asking whether victory in this taxonomic debate could be anything other than pyrrhic. Isn't determining the number of *Ophrys* species in the Mediterranean worryingly similar to counting angels on the head of a pin – an unwelcome diversion from more pressing matters such as conserving these charismatic and greatly valued orchids? We think not. This is a debate of more than academic interest, as conservation priorities are likely to be strongly influenced by whether *Ophrys* is considered to exhibit rampant hybridisation and constitute between 2% (Devey *et al*., 2008) and 4% (Pedersen & Faurholdt, 2007) of the Mediterranean orchid flora, or to exhibit negligible, mostly anthropogenic hybridisation and to constitute about 50% (Delforge, 2006; Paulus, 2006) of the Mediterranean orchid flora. And when deciding conservation priorities, how does one balance the needs of a total of a few hundred individuals of a supposed endemic such as *O. homeri* on the Aegean island of Chios (Figure 12: most likely representing recently formed hybrid swarms between members of the *fuciflora s.l.* and *sphegodes s.l.* groups) against a less taxonomically equivocal and equally charismatic species residing in another genus? Surely they should not be weighted equally in conservation programmes?

Figure 12. *Ophrys homeri* (*fuciflora*), a rare putatively endemic microspecies from the Aegean island of Chios that is suspected to be of hybrid origin. (Photo: Richard Bateman)
Figure 12. *Ophrys homeri* (*fuciflora*), une espèce rare endémique putative de l'île de Chios, Mer Egée, qui est supposée d'origine hybride.

At this point, the arguments for and against recognising subspecies tend to become more political than scientific, reflecting innate prejudice against the rank of subspecies (Bateman, 2009a). For example, we learn that "infraspecific taxa rarely represent evolutionarily significant units that could be useful in conservation" (Pillon & Chase, 2007, p. 265). From our own perspective, potentially the main benefit of Delforge-style splitting is that lumpers such as ourselves can subsequently lump the contents of any splitter's inventory lists, whereas when faced with a lumper's inventory list, a splitter cannot by definition achieve the level of precision that he or she desires. The real problems begin when a splitter actually believes that his or her inventory is wholly biologically meaningful, and that the microspecies recorded are the equal in significance to any other plant species. The decision of Pedersen & Faurholdt to recognise many of Delforge's microspecies as either subspecies or hybrids has much to commend it, as we can still employ Delforgean microspecies names but at a lower and more appropriate taxonomic level, thereby acknowledging their weaker claim to conservation resources compared with other, bona fide species. As noted by Delforge, usage of subspecies rank has declined in recent years, but we would argue that this reflects more of a taxonomic fashion statement than the outcome of an informed scientific debate among the many interested parties.

Lastly, some more general lessons about science can usefully be taken from the *Ophrys* debate. It is best to avoid exaggerating the effectiveness of any one kind of data, but rather to seek to understand the constraints operating on each kind. Once this has been done, gather the

kinds of data that are most suitable for addressing the questions that you originally set out to answer, and analyse the data in a rigorous way that includes relevant and precise definitions of taxonomic ranks (Bateman, 2009b). Study the organisms in the field, as frequently and widely as is feasible. And above all, remain sceptical; we do not yet possess conclusive answers to any of the key questions concerning the evolution and classification of *Ophrys*, that most charismatic of European orchid genera.

Acknowledgements

We thank Barry Tattersall for providing much useful experimental material and for providing Figure 2.

References

Bateman R.M. 2007. Whatever happened to the genus *Orchis*? *Orchid Review* 115: 322–329.

Bateman R.M. 2009a. What's in a name? *Journal of the Hardy Orchid Society* 6: 53–63, 88–99.

Bateman R.M. 2009b. Evolutionary classification of European orchids: the crucial importance of maximising explicit evidence and minimising authoritarian speculation. *Journal Europäischer Orchideen* 41: 243–318.

Bateman R.M., Hollingsworth P.M., Preston J., Luo Y.-B., Pridgeon A.M. & Chase M.W. 2003. Molecular phylogenetics and evolution of Orchidinae and selected Habenariinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 142: 1–40.

Bateman R.M., James K.E., Rudall P.J. & Cozzolino S. In prep. Contrast in levels of morphological versus molecular divergence between two closely related Eurasian species of *Platanthera* (Orchidaceae) suggests recent evolution with a strong allometric component. *Biological Journal of the Linnean Society.*

Bateman R.M., Smith R.J. & Fay M.F. 2008. Morphometric and population-genetic analyses elucidate the origin, evolutionary significance and conservation implications of *Orchis ×angusticruris* (*O. purpurea* × *O. simia*), a hybrid orchid new to Britain. *Botanical Journal of the Linnean Society* 157: 687–711.

Bradshaw E., Rudall P.J., Devey D.S., Thomas M.M., Glover B.J. & Bateman R.M. 2010. Comparative labellum micromorphology in the sexually deceptive temperate orchid genus Ophrys: diverse epidermal cell types and multiple origins of structural colour. *Botanical Journal of the Linnean Society* 162: 502–540.

Cortis P., Vereecken N.J., Schiestl F.P., Barone Lumaga M.R., Scrugli A. & Cozzolino S. 2009. Pollinator convergence and the nature of species boundaries in sympatric Sardinian *Ophrys* (Orchidaceae). *Annals of Botany* 41: 497–506.

Cozzolino S. & Scopece G. 2008. Specificity in pollination and consequences for postmating reproductive isolation in deceptive Mediterranean orchids. *Transactions of the Royal Society of London B* 363: 3037–3046.

Delforge P. 2006. *Orchids of Europe, North Africa and the Middle East* (3rd edn). A & C Black, London. 640 pp.

D'Emerico S., Pignone D., Bartolo G., Pulvirenti S., Terrasi C., Stuto S. & Scrugli A. 2005. Karyomorphology, heterochromatin patterns and evolution in the genus *Ophrys* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 148: 87–99.

Devey D.S., Bateman R.M., Fay M.F. & Hawkins J.A. 2008. Friends or relatives? Phylogenetics and species delimitation in the controversial European orchid genus *Ophrys. Annals of Botany* 101: 385–402.

Devey D.S., Bateman R.M., Fay M.F. & Hawkins J.A. 2009. Genetic structure and systematic relationships within the *Ophrys fuciflora* aggregate (Orchidinae: Orchidaceae): high

diversity in Kent and a wind-induced discontinuity bisecting the Adriatic. *Annals of Botany* 41: 483–495.

Devillers P. & Devillers-Terschuren J. 1994. Essai d'analyse systématique du genre *Ophrys*. *Naturalistes Belges* 75: 273–400.

Malmgren S. 2008. Are there 25 or 250 *Ophrys* species? *Journal of the Hardy Orchid Society* 5: 95–100.

Mayden R.L. 1997. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. In: MF Claridge, HA Dawah & MR Wilson (eds), *Species: the Units of Biodiversity*, pp. 381–421. Chapman & Hall, London.

Paulus H.F. 2006. Deceived males – pollination biology of the Mediterranean orchid genus *Ophrys. Journal Europäischer Orchideen* 38: 303–353.

Paulus H.F. & Gack C 1990. Pollinators as prepollinating isolating factors: evolution and speciation in *Ophrys* (Orchidaceae). *Israel Journal of Botany* 39: 43–97.

Pedersen H. & Faurholdt N. 2007. *Ophrys: the Bee Orchids of Europe*. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens Kew. 295 pp.

Pillon Y. & Chase M.W. 2007. Taxonomic exaggeration and its effects on orchid conservation. *Conservation Biology* 21: 263–265.

Schiestl F. & Cozzolino S. 2008. Evolution of sexual mimicry in the orchid subtribe Orchidinae: the role of preadaptations in the attraction of male bees as pollinators. *BMC Evolutionary Biology* 8: 27.

Schlüter P.M., Kohl G., Steussy T.F. & Paulus H.F. 2007. A screen of low-copy nuclear genes reveals the *LFY* gene as phylogenetically informative in closely related species of orchids (*Ophrys*). *Taxon* 56: 493–504.

Schlüter P.M. & Schiestl F.P. 2008. Molecular mechanisms of floral mimicry in orchids. *Trends in Plant Science* 13: 228–235.

Scopece G., Cozzolino S. & Bateman R.M. Subm. Just what is a genus? Comparing levels of postzygotic isolation to test alternative taxonomic hypotheses in Orchidaceae subtribe Orchidinae. *Taxon*.

Scopece G., Musacchio A., Widmer A. & Cozzolino S. 2007. Patterns of reproductive isolation in Mediterranean deceptive orchids. *Evolution* 61: 2623–2642.

Soliva M. & Widmer A. 2003. Gene flow across species boundaries in sympatric, sexually deceptive *Ophrys* (Orchidaceae) species. *Evolution* 57: 2252–2261.

Darwin et l'évolution des orchidées

Finn KJELLBERG, Marc-André SELOSSE & Bertrand SCHATZ
Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, UMR 5175,
1919 Route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5
finn.kjellberg@cefe.cnrs.fr

Abstract – Darwin and the evolution of orchids. In 1859, Darwin published ***"On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life"***. The first book to follow was, in 1862, his book on orchid pollination « ***On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects"***. Why did Darwin, just after exposing his theory that would shake the world, prioritize writing over 300 pages on orchid pollination?

Darwin provides a simple answer. "In my volume 'On the Origin of Species' I have given only general reasons for my belief that it is apparently a universal law of nature that organic beings require an occasional cross with another individual […]. Having been blamed for propounding this doctrine without giving ample facts, for which I had not, in that work, sufficient space, I wish to show that I have not spoken without having gone into details." The way Darwin interpreted orchid biology was doctrinarian and his aim was pedagogic. By accounting for the most exceptional situation in plants, by dealing of what could be seen as the most striking counter example to his perspective, he will try to demonstrate, sometimes mistakenly, how this group of plants fits the global pattern.

This presentation concerned what is the orchid syndrome, as Darwin had largely perceived it, adding our modern vision of the group; after that, it illustrated how Darwin read the biology of orchids and what this tells us about his way of thinking and about orchids.

Résumé – En 1859, Darwin publie son ouvrage sur l'origine des espèces ***"On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life"***. Le premier ouvrage qui suivra sera, en 1862, son livre sur la pollinisation des orchidées « ***On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects"***. Pourquoi Darwin a-t-il cru bon, après avoir exposé sa théorie qui allait secouer le monde, de consacrer en priorité plus de 300 pages à la pollinisation des orchidées ?

Darwin donne une explication simple. « Dans mon volume 'De l'origine des espèces' j'ai seulement donné des raisons générales de pourquoi je pense que c'est une loi apparemment universelle de la nature que les organismes vivant requièrent des croisements avec d'autres individus. […] Ayant été blâmé pour avoir soutenu cette doctrine sans donner suffisamment de fait […] je souhaite montrer maintenant que je n'ai pas parlé sans rentrer largement dans les détails. » La lecture que va faire Darwin de la biologie des orchidées est doctrinaire à vertu pédagogique. En prenant une situation des plus exceptionnelles chez les plantes, ce qui aurait pu ressembler au meilleur contre exemple de sa vision, il va chercher à montrer, parfois à tort, comment ce groupe de plantes rentre dans la norme.

La présentation porte sur ce qu'est le syndrome orchidée, tel que Darwin l'avait largement perçu, en rajoutant notre vision moderne de ce groupe, et ensuite sur la façon dont Darwin a lu la biologie des orchidées et ce que cette lecture nous enseigne sur sa pensée et sur les orchidées.

Evolution et classification des *Orchidaceae*

Daniel PRAT
SFO, Commission scientifique
UMR 5023, Département de Biologie, Université Lyon 1, 6 rue Raphaël Dubois,
69622 Villeurbanne Cedex
prat@biomserv.univ-lyon1.fr

Abstract – Evolution and systematics of *Orchidaceae.* The orchid family is one of the richest plant one by the number of described species. Moreover, this family characterized by an original floral morphology has fascinated many taxonomists who have succeeded in the difficult task of classification. The Orchidaceae were not immune to investigations by phylogeneticists who brought new visions of the classification. Some clusters recognized since a long time have been maintained, sometimes with a different rank of the one they had before. These new classifications, in principle, more objective because not influenced by selection pressures are now the basis for thinking about the evolution of morphological characters of orchids and for learning how apparently similar changes may have occurred repeatedly. Classifications established on morphological characters alone then lead to groups without any evolutionary meaning. In orchids, floral morphology is one of the major criteria of classifications while this morphology is exposed to selection pressures exerted by pollinators. Therefore, the floral morphology can not be considered neutral and reflecting the evolution of plants. Phylogenetic reconstructions provide new perspectives for understanding the evolution of these groups of plants.

Résumé – Les orchidées constituent une des familles de plantes les plus riches par le nombre d'espèces décrites. De plus, cette famille caractérisée par une morphologie florale originale a fasciné de nombreux systématiciens qui se sont succédés dans la tâche difficile de sa classification. Les *Orchidaceae* n'ont pas échappé aux investigations des phylogénéticiens qui ont apporté de nouvelles visions sur la classification. Certains groupes reconnus depuis longtemps sont maintenus, parfois à des rangs différents de celui qu'ils occupaient auparavant. Ces nouvelles classifications, en principe plus objectives car non influencées par les pressions de sélection servent maintenant de base pour réfléchir à l'évolution des caractères morphologiques des orchidées et découvrir comment des modifications apparemment similaires ont pu survenir à plusieurs reprises. Les classifications établies sur des caractères morphologiques conduisent alors à des rapprochements qui sont dépourvus de sens évolutif. Chez les orchidées, la morphologie florale constitue l'un des critères majeurs des classifications alors que cette morphologie est exposée à des pressions de sélection importantes exercées par les pollinisateurs. Par conséquent, la morphologie florale ne peut pas être considérée comme neutre et refléter l'évolution des plantes. Les reconstructions phylogénétiques apportent de nouvelles perspectives pour comprendre l'évolution de ce groupe de plantes.

INTRODUCTION

Les orchidées sont des plantes caractérisées par leur structure florale originale et qui occupent la plupart des milieux terrestres, du niveau de la mer à la limite de la végétation en altitude, l'équateur aux régions boréales. Ces plantes constituent une famille unique, celle des *Orchidaceae.* Elles sont vivaces, épiphytes ou terrestres, possèdent des tiges transformées en organes de réserve (rhizome, tubercule), des feuilles simples, alternes, plus ou moins

charnues, engainantes, des fleurs trimères (une caractéristique des Monocotylédones auxquelles elles appartiennent), épigynes, zygomorphes, avec un grand pétale, une, deux voire trois étamines fertiles et des staminodes, le filet des étamines est soudé au style et au stigmate en formant le gynostème, les graines sont minuscules constituées d'un nombre réduit de cellules et dépourvues de réserves. Même les espèces les moins caractéristiques comme celles du genre *Apostasia*, se reconnaissent dans la nature comme des orchidées, tant cette famille présente des traits spécifiques.

Avec environ 25 000 espèces (Cribb & Govaerts, 2005), les *Orchidaceae* sont l'une des familles les plus riches par le nombre d'espèces parmi les plantes à fleurs, qui en totalisent plus de 250 000, réparties en approximativement 450 familles (APGII, 2003). La position des *Orchidaceae* au sein des Asparagales est confirmée par APG III (2009). Près d'une espèce de plantes à fleurs sur 10 est une orchidée, mais beaucoup moins d'une plante sur 10 rencontrée dans la nature en est une. Beaucoup d'espèces sont représentées par des nombres d'individus réduits ce qui les expose à de forts risques de disparition (ce qui justifie les mesures de protection dont beaucoup d'orchidées font l'objet à travers le monde).

La systématique d'une famille comportant autant d'espèces et pour laquelle sont régulièrement décrites quelques centaines d'espèces par an (Cribb & Govaerts, 2005) change régulièrement. Ainsi Swartz en 1800 reconnaissait les espèces diandres d'un côté et les monandres d'un autre, ces dernières étant classées selon la position des anthères. Lindley (1830-1840) reconnaissait 7 tribus d'orchidées (*Cypripedieae*, *Ophreae*, *Neottieae*, *Arethuseae*, *Malaxeae*, *Epidendreae* et *Vandeae*), toutes caractérisées par les masses polliniques, les caudicules, la glande stigmatique, et la position des anthères. Les structures mâles de la fleur sont ici à la base de la systématique. Pfitzer (1887) et ensuite Schlechter (1926) ont intégré des caractères végétatifs (architecture sympodiale ou monopodiale, nombre d'entrenoeuds des pseudobulbes). Certains groupes sont reconnus comme importants par plusieurs auteurs (Dressler & Dodson, 1960 ; Garay, 1960 ; Vermeulen, 1966), ce sont les *Cypripedioideae* (considérées comme sous-famille, voire même famille à part), les *Orchidoideae* (considérées au rang de sous-famille ou de tribu), les *Neottioideae* (considérées au rang de sous-famille ou de tribu), et les *Epidendroideae* (considérées au rang de sous-famille ou de tribu). Les genres *Apostasia* et *Neuwiedia* ont été longtemps ignorés ou classés dans une famille à part. La systématique des orchidées a particulièrement progressé grâce à R.L. Dressler qui en a publié plusieurs versions, (1960 associé à Dodson, 1981 et 1993). Il a défendu l'intégrité de la famille constituée de plusieurs sous-familles, chacune caractérisée par les structures mâles, au contraire de Szlachetko (1995) qui isolait les *Apostasiaceae* et *Cypripediaceae* dans des familles distinctes (Rasmussen, 1999). Ces changements dans la systématique des orchidées traduisent des perceptions et des points de vue différents sur l'appréhension de la diversité des espèces et leur évolution. Les caractères fondamentaux servant à délimiter les sous-familles, tribus, sous-tribus changent également. Les caractères des organes reproducteurs (surtout les éléments mâles) sont essentiels et parfois associés à des caractères de l'appareil végétatif (Tableau 1).

Chez les orchidées, les pressions de sélection exercées par les pollinisateurs peuvent conduire à une organisation de l'appareil reproducteur dont les variations reflètent alors mal les relations de parenté en raison des phénomènes de convergence, des vitesses d'évolution variables selon les groupes. Ceci amène les botanistes à intégrer d'autres caractères moins exposés à des effets de sélection. La limitation du nombre de caractères morphologiques constitue un frein à leur utilisation. Toutefois, Freudenstein & Rasmussen (1999) ont étudié plus de 100 caractères morpho-anatomiques différents. Le développement des outils de biologie moléculaire au cours des 20 dernières années a ouvert la voie à d'autres approches : la reconstruction phylogénétique à partir de séquences d'ADN (Nei & Kumar, 2000). A notre époque, ces méthodes de reconstruction phylogénétique deviennent indispensables pour

déterminer les relations évolutives des taxons. Le nombre de caractères disponibles et indépendants devient très élevé. Mais l'utilisation des caractères morpho-anatomiques reste nécessaire pour comprendre les différentes étapes évolutives. La connaissance des relations évolutives entre taxons permet de les regrouper en clades monophéliques, constitués de toutes les formes descendantes d'un même ancêtre.

Reconstruction phylogénétique

Dans les études phylogénétiques, un seul individu est généralement utilisé pour représenter l'espèce, considérant que les différences entres espèces sont largement supérieures à la diversité observée à l'intérieur de l'espèce. Chez les orchidées, la notion d'espèce est appliquée de façon variable selon les taxons et les auteurs (voir la communication de Bateman *et al*., dans ces actes). De plus les nombreux hybrides interspécifiques modifient la structure génétique des populations. Il est alors préférable de représenter les taxons par un échantillonnage plus large.

Les caractères utilisés pour reconstruire des phylogénies sont observés chez les différents taxons pour en déterminer l'état. Ces caractères doivent être parfaitement équivalents, c'est à dire homologues, pour réaliser des comparaisons valables. Ces caractères ne doivent pas être soumis aux effets de la sélection pour refléter les relations entre espèces. Peu de caractères possédant ces propriétés sont observables sur l'appareil reproducteur et sur l'appareil végétatif des plantes. Les phylogénies obtenues peuvent être fortement biaisées si ces conditions ne sont pas satisfaites. Les séquences d'ADN des individus procurent de très nombreux caractères : chaque base (il y en a des millions) peut constituer un caractère dès qu'elle est variable. Les mutations produisent de nombreux sites polymorphes. Peu de mutations procurent un avantage sélectif évident, elles peuvent donc pour la plupart être considérées comme évolutivement neutres. En raison de la dégénérescence du code génétique (la troisième base du codon déterminant l'acide aminé inséré dans une protéine peut changer sans modification de l'acide aminé spécifié), les éventuelles incidences de la sélection sont considérablement réduites en n'exploitant que la troisième base des codons des gènes codant une protéine.

Les prélèvements d'ADN ont lieu sur les différentes espèces constituant le groupe taxonomique étudié. Tous les organes possèdent de l'ADN, il est toutefois préférable d'utiliser des portions saines de la plante pour éviter d'éventuelles contaminations par d'autres organismes (lorsque des séquences spécifiquement végétales sont étudiées, ces contaminations n'affectent pas les résultats). L'ADN est ensuite extrait et analysé. Des régions cibles des génomes végétaux sont spécifiquement séquencées. Chez les plantes, trois génomes ayant des propriétés différentes (Tableau 2) peuvent fournir des séquences d'ADN. Techniquement, le génome mitochondrial est le plus difficile à analyser, il est très peu pris en compte de ce fait. Le génome chloroplastique présente un mode d'évolution par accumulation de mutations, sans recombinaison, correspondant parfaitement aux conditions types pour la reconstruction phylogénétique. De plus il est facile à analyser chez de nombreuses espèces en raison de la grande stabilité de son organisation. La plupart des phylogénies moléculaires sont reconstruites à partir de ce génome.

Tableau 1. Principales caractéristiques des sous-familles (critères des clés d'identification en italique).

Sous-famille	Caractères majeurs (Dressler, 1993)	Sous-famille	Caractères majeurs (Pridgeon et al, 2003)
Apostasioideae	*Anthères latérales fertiles, filets partiellement associés au gynostème, labelle semblable aux pétales, étamine médiane fertile ou absente.*	*Apostasioideae*	*Pollen pulvérulent ou pâteux, 2 ou 3 anthères fertiles, feuille engainante à la base, labelle semblable aux pétales ;* Herbacées terrestres, phyllotaxie spiralée inflorescence terminale, fleur faiblement zygomorphe, non résupinée, placentation axile.
Cypripedioideae	*Anthères latérales fertiles, filets partiellement associés au gynostème, labelle en sabot, staminode médian souvent en écusson.*	*Cypripedioideae*	*Pollen pulvérulent ou pâteux, 2 ou 3 étamines, feuille engainante à la base, labelle en sabot ;* Inflorescence terminale, zygomorphie très marquée, sépales latéraux fusionnés.
Spiranthoideae	*Etamines latérales stériles, anthère érigée ; viscidium apical.*	*Vanilloideae*	*Pollen pulvérulent ou pâteux, 1 anthère fertile incombante, feuille non engainante ;* Lianes ou herbacées terrestres, feuille alterne ou verticillées, fleur résupinée, périanthe caduc, labelle libre tubulaire, anthère mobile, ovaire uniloculaire ou triloculaire.
Orchidoideae	*Etamines latérales stériles,* anthère érigée, *feuille herbacée, pollinie sécable ou pulvérulente, viscidium généralement basal ou médian, tubercule ou racine tubérisée.*	*Orchidoideae*	*Pollen adhérent en pollinie, anthère dressée ou courbée en arrière, feuille convolutée pas fortement plissée ;* Plantes généralement terrestres, sympodiale tubercule ou racine tubérisée fréquents, phyllotaxie spiralée, fleurs souvent résupinées, anthère biloculaire, généralement 2 staminodes.
Epidendroideae	*Etamines latérales stériles, anthère généralement incombante et pollinies fermes, ou anthère dressée, pseudobulbes ;* feuilles distiques, caduques, condupliquées, succulentes, inflorescences latérales, anthères caduques.	*Epidendroideae*	*Pollen adhérent en pollinie, anthère dressée ou courbée en arrière, ou nettement incombante ;* Plante terrestre, lithophyte ou épiphyte, feuille généralement distiques et caduque, anthère incombante, inflorescence souvent latérale.

Tableau 2. Caractéristiques des génomes végétaux.

Propriétés	**Génome nucléaire**	**Génome chloroplastique**	**Génome mitochondrial**
Structure	Linéaire (chromosomes)	Circulaire	Circulaire
Taille (paires de bases par copie)	80 Mpb – 120.10^3 Mpb [a]	120 – 220 kpb	180 – 2400 kpb
Taux (par an) de mutation ponctuelle	Faible (10^{-8} - 10^{-9}) (séquence codante)	Très faible	Extrêmement faible
Nombre de gènes (de protéines)	20 - 40 000	50 - 100	20 – 60
Séquences utilisées en phylogénie	séquences ribosomiques (18S, ITS : espaceur interne transcrit)	*mat*K, *psa*B, *rbc*L, *ycf*6	*cox*I, *nad*

a : 600 Mpb – 40.10^3 Mpb chez les orchidées (Mpb : 10^6 paires de bases d'ADN)

Chez les orchidées, en raison des hybridations interspécifiques fréquentes, les séquences uniques du génome nucléaire présentent un grand intérêt afin de retracer l'évolution par les voies mâle et femelle et pas seulement femelle (Sang, 2002). Les séquences habituellement analysées du génome nucléaire sont les séquences ribosomiques qui sont très largement dupliquées et présentent une évolution particulière, dite concertée, conduisant à leur homogénéisation rapide, même après hybridation interspécifique (Volkov *et al.*, 1999 ; Franzke & Mummenhoff, 1999). Les séquences d'ADN des taxons actuels sont utilisées pour établir leurs proximités génétiques et les reconstructions phylogénétiques retraçant leur histoire évolutive.

Beaucoup d'espèces végétales résultent d'hybridations interspécifiques, évènement pouvant être unique et conduisant instantanément à un nouveau taxon, potentiellement isolé des taxons parentaux. Les hybrides viables sont très souvent des polyploïdes, associant les génomes diploïdes de chacun des parents. Il s'agit d'une évolution qualifiée de polyploïde. Une autre modalité, rarement mise en évidence est l'évolution homoploïde, dans laquelle l'hybride comporte un génome haploïde de chacun des parents. Son niveau de ploïdie est ainsi le même que celui des parents. Le génome de ces espèces évolue progressivement pour se différencier (Rieseberg, 1997 ; Otto & Whitton, 2000). L'évolution réticulée observée dans de nombreux groupes de plantes implique des méthodologies adaptées encore peu utilisées (Hegarty & Hiscock, 2005 ; McBreen & Lockhart, 2006).

Evolution des taxons

Une tendance récente a été de retracer l'évolution des taxons en analysant seulement les arbres phylogénétiques établis à partir de séquences d'ADN. Cette approche restrictive a divisé et opposé les communautés de botanistes. Les caractères morpho-anatomiques, que nous pouvons percevoir, sont effectivement importants à considérer pour connaître le sens de l'évolution et comprendre quelles innovations ont été fondamentales dans l'expansion d'un groupe végétal. La neutralité des caractères utilisés (l'état du caractère n'influence pas le succès reproducteur des individus ni la survie et la fertilité de leur descendance) pour la reconstruction phylogénétique est nécessaire et milite fortement en faveur des séquences

d'ADN. Il est plus difficile de supposer une parfaite neutralité des caractères morpho-anatomiques. Les données de séquences peuvent être associées aux données morphologiques pour établir les arbres de l'évolution des espèces. Une autre méthode est, lorsque les arbres phylogénétiques sont fiables et admis, de positionner les différents états de caractères sur ces arbres afin de savoir s'ils supportent l'arbre établi et surtout de déterminer les successions des changements de caractères.

RESULTATS

Classification des *Orchidaceae*

La classification des *Orchidaceae* a considérablement changé au cours de l'évolution de nos connaissances. Ne sont comparées ici que deux classifications : l'une des dernières grandes classifications établies sur des observations morphologiques, celle de Dressler (1993) présentant quelques changements par rapport à celle du même auteur publiée en 1981 et celle proposée par Cameron (2004) établie strictement à partir de données de séquences, complétant des résultats antérieurs repris par Pridgeon *et al.* (1999, 2001, 2005) dans Genera Orchidacearum. Chacun de ces auteurs propose 5 sous-familles, mais pas exactement les mêmes. Deux sous-familles sont reconnues avec le même contour par les auteurs : les *Apostasioideae* et les *Cypripedioideae* alors que les *Orchidoideae* et *Epidendroideae* figurant dans les deux classifications ne comportent pas les mêmes taxons (Tableau 3). Les *Epipendroideae* et *Vandeae* précedemment décrits par Dressler (1981) étaient réunis dans une même sous–famille, les *Epidendroideae* dans la révision de la systématique du même auteur (Dressler, 1993). Cette sous-famille comporte l'essentiel des espèces des *Orchidaceae*. Les *Spiranthoideae* décrits par Dressler (1993) et *Vanilloideae* présentés par Cameron (2004) sont très différentes. Les *Spiranthoideae* comportent des tribus réparties dans les *Orchidoideae* et les *Epidendroideae sensu* Cameron. Les *Vanilleae* et *Pogonieae* sont intégrés par Dressler (1993) avec d'autres taxons dans les *Epidendroideae* primitifs sans former un groupe.

Les *Spiranthoideae* étaient caractérisés par des caractères partagés avec les *Orchidoideae* et *Epidendroideae* (incluant les *Vanilloideae*) : étamines latérales stériles et étamine fertile érigée. Leur caractère majeur portait sur la position apicale du viscidium qui n'est pas non plus un caractère propre à cette sous-famille. Les clés d'identification des sous-familles comportaient plusieurs chemins pour atteindre les *Spiranthoideae*, *Orchidoideae* et *Epidendroideae*, montrant ainsi que leurs traits distinctifs n'étaient pas si évidents (Tableau 1). L'essentiel des critères d'identification des sous-familles portaient sur l'organisation de la partie mâle de la fleur. Les sous-familles individualisées sur l'arbre phylogénétique publié par Cameron (2004, Figure 1) sont aussi discernables par des caractères morpho-anatomiques concernant la partie mâle de la fleur combinés à des caractéristiques foliaires (Tableau 1).

La définition des tribus et sous-tribus présente également des différences dans les espèces qui les composent. Les remaniements systématiques se poursuivent au grès des nouvelles données obtenues afin de constituer des taxons qui soient monophylétiques, dans la mesure où les hybridations intergénériques le permettent.

Tableau 3. Classification comparée de Dressler (1993) et Cameron (2004).

Dressler (1993)			Cameron (2004)		
Sous-famille	**Tribu**	**Sous-tribu**	**Sous-famille**	**Tribu**	**Sous-tribu**
Apostasioideae			**Apostasioideae**		
Cypripedioideae			**Cypripedioideae**		
Epidendroideae		Pogoniinae	**Vanilloideae**	**Pogonieae**	
	Vanilleae	Vanillinae		**Vanilleae**	
		Galeolinae			
Orchidoideae	**Diurideae**	Chloraeinae	**Orchidoideae**	**Codonorchideae**	
	Diseae	Coryciinae		**Orchideae**	Brownleeniae
		Satyriinae			Disinae
		Disinae			
		Coryciinae			
	Orchideae	Habenariinae			Orchidinae
		Orchidinae			
	Diurideae	Prasophyllinae		**Diurideae**	Prasophyllinae
		Acianthinae			Acianthinae
		Caladeniinae			Caladeniinae
		Diuridinae			Diuridinae
		Cryptostylidinae			Cryptostylidinae
		Caladeniinae			Thelymitrinae
		Thelymitrinae			
		Chloraeinae			
		Drakaeinae			
		Pterostylidinae		**Cranichideae**	Pterostylidinae
		Chloraeinae			Chloraeinae
Spiranthoideae	**Cranichideae**	Pachyplectoninae			Goodyerinae
		Goodyerinae			
		Cranichidinae			Cranichidinae
		Prescottiinae			Prescottiinae
		Spiranthinae			Spiranthinae
Epidendroideae	**Nervilieae**		**Epidendroideae**	**Nervilieae**	
	Triphoreae			**Triphoreae**	
	Epidendreae I	Sobraliinae		**Sobralieae**	
	Palmorchideae			**Neottieae**	
	Neottieae	Listerinae			
		Limodorinae			
Spiranthoideae	**Tropidieae**			**Tropidieae**	
Epidendroideae	**Arethuseae**	Chysiinae		**Arethuseae**	Bletiinae
		Bletiinae			
					Arethusinae
		Arethusinae			
	Coelogyneae	Thuniinae			Coelogyninae
	Epidendreae II	Glomerinae			
	Arethuseae	Bletiinae			
	Incertae	Arundinae			
	Coelogyneae	Coelogyninae			
	Malaxideae			**Malaxideae**	
	Dendrobieae	Dendrobiinae		**Dendrobieae**	
		Bulbophyllinae			
	Arethuseae	Bletiinae		**Epidendreae**	Collabinae
	Epidendreae I	Coeliinae			Coeliinae
		Pleurothallidinae			Pleurothallidinae
		Laeliinae			
		Arpophylliinae			Laeliinae
		Laeliinae			
		Meiracylliinae			

Tableau 3 (suite). Classification comparée de Dressler (1993) et Cameron (2004).

Dressler (1993)			Cameron (2004)		
Sous-famille	**Tribu**	**Sous-tribu**	**Sous-famille**	**Tribu**	**Sous-tribu**
Epidendroideae	**Epidendreae II**	Glomerinae	**Epidendroideae**	**Agrostophyllinae**	
	Cymbidieae	Goveniinae		**Calypsoeae**	
	Calypsoeae				
	Epidendreae II	Polystachyinae		**Vandeae**	Polystachyinae
	Vandeae	Aeridinae			Aeridinae
		Angraecinae			Angraecinae
		Aerangidinae			Aerangidinae
	Podochileae	Thelasiinae		**Podochileae**	Thelasiinae
		Podochilinae			Podochilinae
		Eriinae			Eriinae
	Cymbidieae	Cyrtopodiinae		**Cymbidieae**	Cymbidiinae
					Cyrtopodiinae
					Catasetinae
		Catasetinae			
		Eulophiinae			Eulophiinae
		Cyrtopodiinae			
	Maxillarieae	Telipogoninae			Oncidiinae
		Oncidiinae			
		Cryptarrheninae			Zygopetalinae
		Zygopetalinae			
					Eriopsidinae
		Stanhopeinae			Coeliopsidinae
		Lycastinae			Maxillariinae
		Maxillariinae			
		Stanhopeinae			Stanhopeinae

Evolution des *Orchidaceae*

Les *Orchidaceae* sont apparues il y a environ 110 millions d'années, soit au Crétacé. Les restes les plus anciens identifiés sont des pollinies datées du Miocène. Ces plantes maintenant classées au sein des Asparagales constituent le groupe frère de toutes les autres familles de cet ordre. Les plantes qui leur ont donné naissance étaient vraisemblablement terrestres, à croissance sympodiale, avec un rhizome et une courte tige dressée, portant des fleurs à l'aisselle des feuilles, fleurs caractérisées par un ovaire infère et six étamines extrorses produisant un pollen pulvérulent (Pridgeon *et al*., 2003). La structure florale a rapidement évolué par transformation des étamines, ne maintenant qu'une seule étamine fertile dans les sous-familles les plus évoluées (Figure 2). La zygomorphie et la différenciation du labelle se sont également affirmés après l'individualisation des *Apostasiodeae*, constituées de seulement deux genres. Un nombre réduit de gènes du développement floral (duplication d'un gène spécifiant le labelle, autre gène contrôlant la symétrie florale) suffisent à déterminer l'essentiel de la structure florale typique des *Orchidaceae* (Mondragon-Palomino & Thieβen, 2009).

Les sous-familles semblent avoir divergé à la fin du Crétacé (65 millions d'années). Le groupe le plus ancestral est celui des *Apostasiodeae* qui présente les caractères les moins typiques des orchidées (zygomorphie peu marquée, plusieurs étamines fertiles). Les sous-familles des *Cypripedioideae* et *Vanilloideae* ont divergé à peu près en même temps entre elles et de la lignée conduisant aux *Orchidoideae* et *Epidendroideae* (Figure 1). Les *Vanilloideae* comportent deux ensembles nettement séparés, les *Vanilleae* et les *Pogonieae*. Dressler (1993) avait bien perçu leur caractère ancestral par rapport aux Epidendroideae mais ne les avait pas individualisés. Les *Orchidoideae* constituent un groupe clairement défini, constitué de quatre ensembles dont celui des *Cranichideae* qui inclue une partie des

Spiranthoideae. Les *Epidendroideae*, groupe le plus récent, montrent une différenciation continue de tribus et sous-tribus.

Les *Cypripedioideae* sont représentés par cinq genres distribués en Asie du sud-est, en Amérique du sud et dans les zones tempérées de l'hémisphère nord. Leur large répartition fragmentée a favorisé la différenciation des différents genres tout en conservant des caractéristiques communes (feuilles engainantes allongées, inflorescence à une ou quelques fleurs zygomorphes et résupinées, avec un sépale dorsal et deux sépales latéraux généralement fusionnés, un labelle en forme de sabot, deux anthères fertiles ovales à oblongues produisant un pollen plus ou moins pulvérulent, un staminode en forme de bouclier, un gynostème court). Les *Vanilloideae* ont une répartition restreinte aux régions tropicales. Des caractères différents ont été acquis par ces plantes : ce sont des lianes ou des herbacées terrestres, avec une croissance monopodiale ou sympodiale, elles sont pérennes. Les feuilles sont alternes ou verticillées, et non engainantes ; les fleurs sont zygomorphes généralement résupinées, elles présentent une zone d'abscission entre le périanthe et l'ovaire, les sépales et pétales sont libres ; l'anthère est mobile et produit un pollen généralement assez pulvérulent. Sauf pour Szlachetko (1995), les *Vanilloideae* n'avaient guère été considérées comme une division majeure depuis Lindley qui en avait fait une famille indépendante. Les *Orchidoideae*, tout comme les *Epidendroideae* ont une vaste aire de répartition sur les différents continents. Leur structure florale est très semblable avec une seule étamine fertile en position médiane. Les pollinies sont plus compactes et plus fermes chez les *Epipendroideae*. Leur cohabitation dans de nombreuses régions du monde n'a pas empêché des différences dans l'appareil végétatif : les *Orchidoideae*, comptant environ 200 genres, sont constituées de plantes essentiellement terrestres possédant des racines tubéreuses, des tubercules ou des rhizomes, leurs feuilles sont insérées le long de la tige selon une phyllotaxie généralement spiralée ou groupées à la base de la tige ; alors que les *Epidendroideae* riches d'environ 550 genres, sont en grande majorité des épiphytes, leurs feuilles sont disposées selon une phyllotaxie généralement distique et portées par une tige assez robuste, renflée à sa base en pseudobulbe.

L'analyse de données morpho-anatomiques menée par Freudenstein & Rasmussen (1999), l'une des plus conséquentes chez les orchidées car portant sur plus de 100 caractères décrivant les orchidées (tige, feuille, fleur, pollen, graine), ne fait pas apparaître les mêmes divisions majeures et ne conduit donc pas au même schéma évolutif des *Orchidaceae*. Certains états de caractère pas forcément équivalents, les effets de sélection et d'autres facteurs peuvent expliquer ces différences. C'est pourquoi, l'arbre phylogénétique, assez bien supporté au moins dans ses grandes lignes par les données morphologiques, est utilisé pour y porter les états de caractères morphologiques afin de positionner leurs changements d'états. La figure 1 illustre cette possibilité pour deux caractères : la phyllotaxie (distique ou non) et l'existence d'un capuchon recouvrant et protégeant les pollinies (absence ou présence).

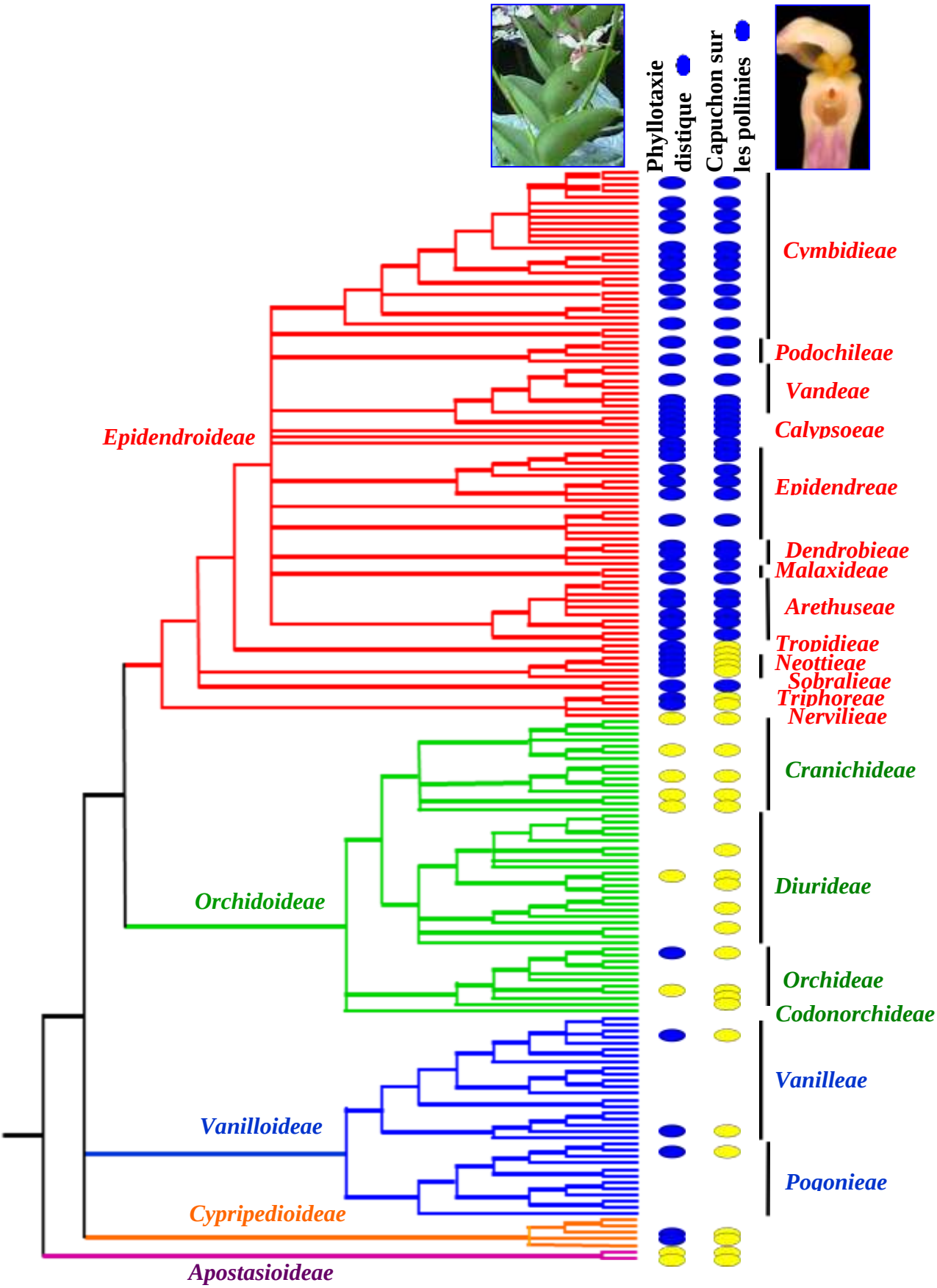


Figure 1. Arbre phylogénétique des *Orchidaceae* (séquences des génomes nucléaire et chloroplastique, Cameron, 2004) complété par les états de caractères morphologiques (protection des pollinies et phyllotaxie, d'après Freudenstein & Rasmussen, 1999).

Les données sont tirées de l'étude de Freudenstein & Rasmussen (1999). Il apparaît que le caractère « phyllotaxie distique » (code de couleur appliqué sur le schéma) est homogène pour l'ensemble des *Epidendroideae*, *Vanilloideae* et *Cypripedioideae*. Les *Orchidoideae* ne présentent pas, sauf de rares exceptions, une phyllotaxie distique, pas plus que les *Apostasiodeae*. Cette disposition des feuilles n'est pas très répandue chez les Monocotylédones. Ce caractère aurait été acquis et fixé aussitôt la différenciation des *Apostasiosdeae* et perdu pour la plupart des *Orchidoideae*. Ce caractère pris seul ne permet pas d'identifier une sous-famille. L'autre caractère illustré ici, la présence d'un capuchon sur les pollinies est un caractère apparu au cours de l'évolution des *Epidendroideae* mais qui n'est pas rencontré chez tous les taxons de ce groupe. Quelques taxons de cette sous-famille ont pu retourner à l'état ancestral sans ce capuchon. Ces deux exemples présentent une faible variation à l'intérieur des sous-familles ; ce n'est pas le cas de la plupart des caractères qu'ont étudiés Freudenstein & Rasmussen (1999). Peu de caractères sont fixés dans une sous-famille dans un état différent d'une autre, ce qui témoigne des difficultés à déterminer les sous-familles à l'aide de tels caractères.

Une autre particularité des *Orchidaceae* est leur très grande diversité de la quantité d'ADN de leur génome. Ce caractère montre une forte différenciation des sous-familles : les *Cypripedioideae* et *Vanilloideae* (*Pogonieae*) présentent des génomes de très grande taille (> 20 pg ADN / noyau haploïde) atteignant 55 pg pour des *Pogonieae* et une moyenne de 25,8 chez les *Cypripedioideae* (Leitch *et al*., 2009). Les *Epidendroideae* et *Orchidoideae* ont des valeurs moyennes de 3,6 et 8,4 pg avec des valeurs extrêmes de 0,3 à 19,8 pg. L'origine et la signification de ces variations restent inconnues.

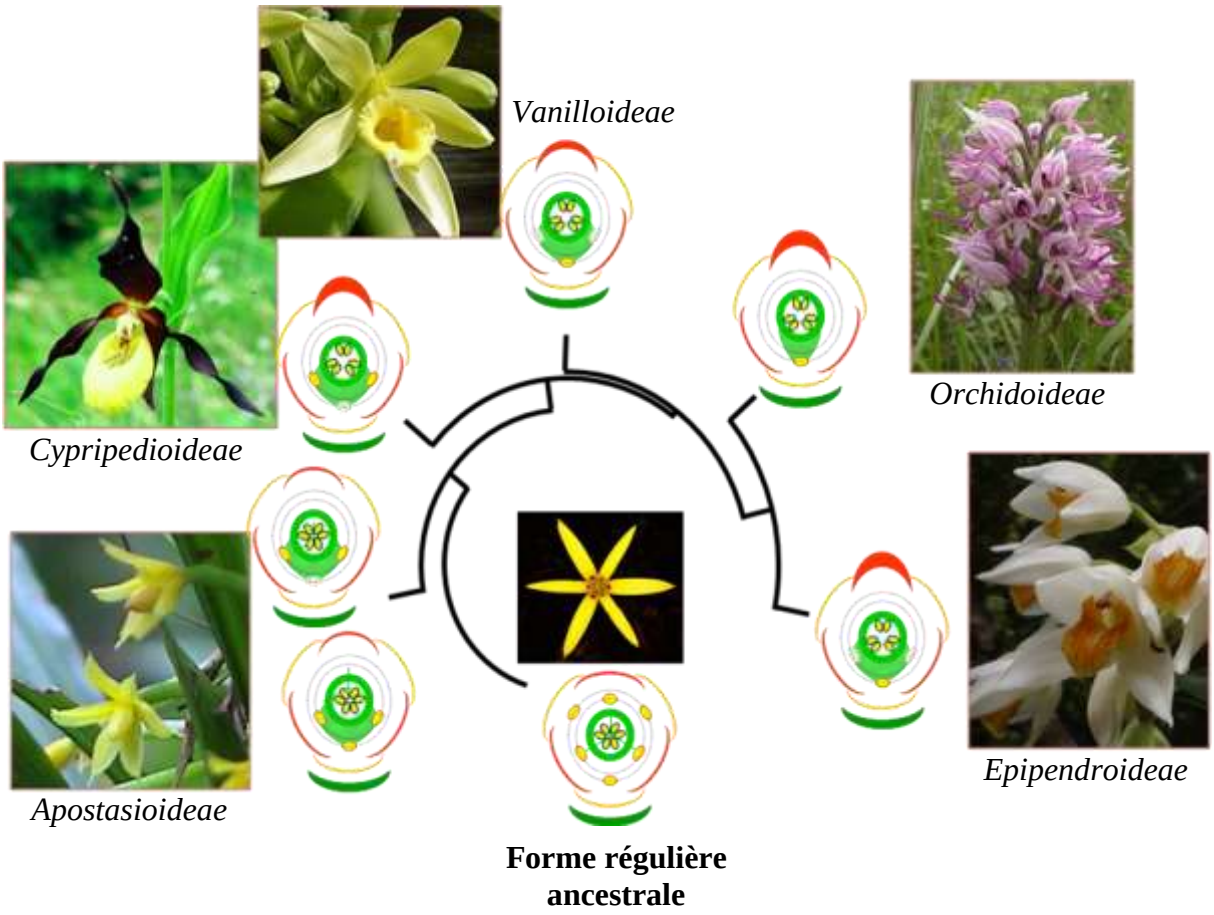


Figure 2. Structure florale et relations évolutives entre les cinq sous-familles des *Orchidaceae*.

CONCLUSION

L'aire occupée par les *Apostasiodeae* qui sont plus primitives, pourrait correspondre à la zone d'origine de la famille, mais cette région d'Asie du sud-est n'existait pas au moment supposé de leur origine. La question du site d'origine des orchidées ne peut pas être tranchée. Les sous-familles sont présentes sur la plupart des continents ce qui confirme une différenciation ancienne, avant la séparation des continents au Crétacé. Certains genres ont une large répartition sur plusieurs continents (*Cypripedium*, *Goodyera*..) qui témoigne de leur origine ancienne. D'autres, au contraire, d'origine plus récente, ont une aire de répartition plus limitée (*Phragmipedium* en Amérique, *Ophrys* dans le pourtour méditerranéen). La topologie de l'arbre phylogénétique montre que la monandrie n'a été acquise qu'une seule fois dans la famille. Les caractéristiques des sous-familles montrent que le sens de l'évolution observée chez les orchidées est en faveur d'une association très étroite entre étamines et style qui forment le gynostème dans les groupes plus évolués. La phylotaxie reste spiralée, de type primitif, et n'évolue vers une phylotaxie distique que chez les *Epidendroideae*. Les pollinies typiques ne sont observées qu'au sein des deux sous-familles les plus évoluées. La zygomorphie de la fleur est acquise dès les *Cyrpripedioideae* et *Vanilloideae*. D'autres caractères comme le métabolisme CAM (Crassulacean Acid Metabolism) semble avoir été acquis à diverses reprises chez les orchidées. De nombreux changements ont eu lieu au cours de leur évolution.

Les orchidées sont originales par les fortes interactions qu'elles développent avec les insectes ou autres animaux pollinisateurs et aussi avec les champignons symbiotiques pour leur germination. Sans avoir d'évidences d'une coévolution stricte entre les orchidées et leurs partenaires il est certain que leur coadaptation résulte d'une évolution non indépendante qui a certainement fortement influencé les caractères morpho-anatomiques.

Notre connaissance croissante sur l'évolution des *Orchidaceae* s'est traduite par des changements nomenclaturaux dus au fait que les systématiciens tendent à ne considérer que des taxons monophylétiques. Diverses systématiques se sont succédées et se succéderont encore. Les modifications futures porteront davantage sur les tribus, sous-tribus et surtout les délimitations des genres plutôt que des sous-familles. Une classification reflète les connaissances d'un moment et n'est pas définitive. Notre vision de l'évolution des *Orchidaceae* est encore incomplète et de nouvelles études, tant sur la phylogénie que sur les gènes de développement floral ou que sur leur coévolution avec les insectes et champignons viendront la compléter dans le futur.

Bibliographie

APGII 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. Bot J Linn Soc 141: 399-436.

APGIII 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Bot J Linn Soc 161: 105-121.

Cameron K.M. 2004. Utility of plastid psaB gene sequences for investigating intrafamilial relationships within *Orchidaceae*. Mol Phyl Evol 31: 1157-1180.

Cribb P. & Govaerts R. 2005. Just How Many Orchids Are There? In: A Raynal-Roque, A Roguenant & D Prat (eds). *Actes 18e Congrès mondial d'orchidées*. pp. 161-172. Naturalia, Turriers.

Dressler R.L. & Dodson C.H. 1960. Classification and phylogeny in the *Orchidaceae*. Ann MO Bot Gar 47: 25-67.

Dressler R.L. 1981. *The orchids: natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge, Massachussets. 279 p.

Dressler R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the Orchid family*. Dioscorides Press, Portland, Oregon. 330 p.

Franzke A. & Mummenhoff K. 1999. Recent hybrid speciation in *Cardamine (Brassicaceae).* Conversion of nuclear ribosomal ITS sequences in statu nascendi. Theor Appl Genet 98: 831-834.

Freudenstein J.V. & Rasmussen F.N. 1999. What does morphology tell us about orchid relationships? A cladistic analysis. Amer J Bot 86: 225-248.

Garay L.A. 1960. On the origin of the *Orchidaceae*. Bot Mus Leaflets Harvard Univ 19: 57-96.

Hegarty M.J. & Hiscock S.J. 2005. Hybrid speciation in plants: new insights from molecular studies. New Phytol 165: 411-423.

Leitch I.J., Kahandawala I., Suda J., Hanson L., Ingrouille M.J., Chase M.W. & Fay F.L 2009. Genome size diversity in orchids: consequences and evolution. Ann Bot 104: 469-481.

Lindley J. 1830-1840. *The genera and species of orchidaceous plants*. Ridgways, London. 553 p.

McBreen K. & Lockhart P.J. 2006. Reconstructing the evolutionary history of species radiations. Trends Plant Sci 11: 398-404.

Mondragon-Palomino M. & Thieβen G. 2009. Why are orchid flowers so diverse? Reduction of evolutionary constraints by paralogues of class B floral homeotic genes. Ann Bot 104: 583-594.

Nei M. & Kumar S. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics*. Oxford University Press, New York. 333 p.

Otto S.P. & Whitton J. 2000. Polyploid incidence and evolution. Annu Rev Genet 34: 401-437.

Pfitzer E.H.H. 1887. *Entwurf einer natürlichen Anordung der Orchideen*. Carl Winter, Heidelberg. 108 p.

Pridgeon A.M., Cribb P.J., Chase M.W. & Rasmussen F.N. 1999. *Genera Orchidacearum. Vol. 1. General introduction, Apostasioideae, Cypripedioideae*. Oxford University Press, Oxford. 197 p.

Pridgeon A.M., Cribb P.J., Chase M.W. & Rasmussen F.N. 2001. *Genera Orchidacearum. Vol. 2. Orchidoideae (Part one)*. Oxford University Press, Oxford. 416 p.

Pridgeon A.M., Cribb P.J., Chase M.W. & Rasmussen F.N. 2003. *Genera Orchidacearum. Vol. 3. Orchidoideae (Part two), Vanilloideae*. Oxford University Press, Oxford. 358p.

Pridgeon A.M., Cribb P.J., Chase M.W. & Rasmussen F.N. 2005. *Genera Orchidacearum. Vol. 4. Epidendroideae (Part one)*. Oxford University Press, Oxford. 672 p.

Rasmussen F.N. 1999. The development of orchid classification. In: AM Pridgeon, PJ Cribb, MW Chase & FN Rasmussen (eds). *Genera Orchidacearum. Vol. 1. General introduction, Apostasioideae, Cypripedioideae*. pp. 3-12. Oxford University Press, Oxford.

Rieseberg L.H. 1997. Hybrid origins of plant species. Annu Rev Ecol Syst 28: 359-389.

Sang T. 2002. Utility of low-copy nuclear gene sequences in plant phylogenetics. Crit Rev Biochem Mol Biol 37: 121-147.

Schlechter R. 1926. Das System der Orchidaceen. Notizblatt Bot Gart Mus Berlin-Dahlem 9: 563-591.

Swartz O. 1800. Orchidernes slaegter och arter up stadle. Kongl Vetenskaps Acad Nya Handlingar 21: 115-139.

Szlachetko D.L. 1995. Systema Orchidalium. Fragm. Flor. Geobot., Suppl. 3: 1-152.

Vermeulen P. 1966. The system of the Orchidales. Acta Bot Neerl 15 :224-253.

Volkov R.A., Borisjuk N.V., Panchuk I.I., Schweitzer D. & Hemleben V. 1999. Elimination and rearrangement of parental rDNA in the allotetraploid *Nicotiana tabacum*. Mol Biol Evol 16: 311-320.

Semis in vitro de quelques *Ophrys* tardifs du sud-est de la France

Henry BARTSCHI[1] & Daniel PRAT[2]
1) Laboratoire Régional Horticole, CFPH, 13 Avenue de Verdun, 69130 Ecully
henry.bartschi@educagri.fr
2) SFO, Commission scientifique
UMR 5023, Département de Biologie, Université Lyon 1, 6 rue Raphaël Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex
prat@biomserv.univ-lyon1.fr

Abstract – In vitro propagation of late flowering Ophrys from south-eastern France. Capsules were collected on several plants in populations of late flowering Ophrys not yet well characterized in south-eastern France. Fruit were disinfected and after opening the fruit, the seeds were cultured on various culture media. The swelling of the seeds, then the formation of protocorm were observed. Young green plants were obtained and introduced in greenhouse for acclimatization.

INTRODUCTION

La systématique du genre *Ophrys* varie considérablement selon les auteurs. L'observation morphologique in situ conduit à la description de nombreux taxons alors que l'approche moléculaire révèle un faible nombre de lignées évolutives plus ou moins isolées. La diversité des formes et la multiplicité des hybrides conduisent à des interrogations sur l'importance des flux de gènes entre taxons et la relation entre pollinisateur et plante, supposée définir les taxons dans ce groupe.

Il paraît utile dans ce contexte de pouvoir observer des plants de différentes origines dans un même site et surtout d'évaluer la diversité obtenue à partir d'une population, voire d'une plante ou même d'une fleur en réalisant des semis.

MATERIELS ET METHODES

Les fruits immatures ont été récoltés sur deux stations d'*Ophrys* tardifs (voir ci-contre), une capsule également immature d'*Ophrys apifera* a été utilisée comme référence.

Les fruits ont été prélevés dans 3 populations d'*Ophrys* : *Ophrys* tardif du Roubion (Charois, 26 ; récolte le 3/7/2008), *Ophrys* tardif du Vaucluse (Sainte-Cécile les Vignes, 84 ; récolte le 3/7/2008) et *Ophrys apifera* (Meyzieu, 69 ; récolte le 4/7/2008). Ils ont été ensuite désinfectés à l'hypochlorite de calcium, puis après ouverture des fruits, les graines ont été réparties sur trois milieux de culture et placées à l'obscurité.

Milieux de culture

MS/4 P : macroéléments et microéléments de Murashige & Skoog (1962) et vitamines de Nitsch & Nitsch (1969) dilué quatre fois (milieu commercial Duchefa référence Mo256) et additionné de saccharose (20 g/L), peptones (100 mg/L) et charbon actif (500 mg/L) ;

MS/4 C : macroéléments et microéléments de Murashige & Skoog (1962) et vitamines de Nitsch & Nitsch (1969) dilué quatre fois (milieu commercial Duchefa référence Mo256) et additionné de saccharose (20 g/L), lait de noix de coco (50 mL/L) et charbon actif (500 mg/L) ;

Malm : milieu de **Malmgren** (1996, constitué de Ca_3PO_4, KH_2PO_4, $MgSO_4$) additionné de saccharose (10 g/L), lait de noix de coco (50 mL/L) et charbon actif (500 mg/L)

Les milieux sont gélifiés par de la gélose (6 g/L), leur pH est ajusté à 5,65 avant autoclavage.

RESULTATS ET CONCLUSION

Les germinations sont abondantes pour *O. apifera*, des protocormes sont également observés pour l'*Ophrys* du Vaucluse (figure 1 et aucun pour celui du Roubion. Les trois milieux conduisent aux mêmes résultats, excepté une capsule de l'*Ophrys* du Vaucluse qui n'a donné des protocormes que sur le milieu MS/4 C. Des protocormes ont été repiqués et ont continué leur développement donnant des premières feuilles chlorophylliennes (Figure 1).

Le stade de maturité n'était pas exactement le même pour chaque taxon récolté et peut expliquer une partie des différences observées. La fécondation pouvait aussi être un facteur limitant, d'autant que le nombre de fleurs produisant un fruit était faible dans la station de l'*Ophrys* du Roubion.

Des plantes ont pu être transférées et acclimatation en serre un an après le semis.

L'analyse de la morphologie de ces plantes et de leur phénologie constituera une étape importante pour déterminer le statut de ces taxons.

Figure 1. Protocormes repiqués d'*Ophrys* du Vaucluse.

Remerciements

Les auteurs remercient Gil Scappaticci pour sa contribution et son soutien à cette étude et également la SFO pour son aide

Bibliographie

Murashige T. & Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.

Nitsch J.P. & Nitsch C. 1969. Haploid plants from pollen grains. Science 163: 85-87.

Malmgren S. 1996. Orchid propagation. Theory and practice. In: C Allen (ed). *North American native terrestrial orchids. Propagation and production*. pp. 63-71. North America Native Terrestrial Orchid Conference Proceedings. Germantown, Madison.

La systématique du genre *Epipactis* : cas particulier du groupe de *E. phyllanthes* G.E. Smith et sa représentation en France

Alain GEVAUDAN
93 rue E. Vaillant, 69100 Villeurbanne
Gevaudan.alain@wanadoo.fr

Abstract – Systematics of genus *Epipactis*: particularities of *E. phyllanthes* G.E. Smith group and its distribution in France. The systematics of the genus *Epipactis* has long been the concern of botanists and orchidologists from Northern and Central Europe. The mapping and floristic inventories pledged for 20 years throughout Europe, especially in France, leading to the discovery of an increasing number of new taxa, have revealed new issues and therefore need to rethink systematics of this genus. After a brief recall of main ideas that guided systematists since the early 20th century, principles and morphological characteristics of the current classification, used notably by Delforge (2005) in its Guide to Orchids of Europe, or applied by the author in the book Orchids of France, Belgium and Luxembourg (Bournerias & Prat *et al*., 2005) are detailed and discussed critically. *E. phyllanthes* group, under the definition of previous classification, is presented, and its various representatives in the French territory are reviewed, illustrated and compared.

Résumé – La systématique du genre *Epipactis* a longtemps été l'affaire des botanistes et orchidologues du nord et du centre de l'Europe. Les travaux de cartographie et d'inventaires floristiques engagés depuis 20 ans dans toute l'Europe, en particulier en France, conduisant à la découverte d'un nombre toujours croissant de nouveaux taxons, ont fait apparaître de nouvelles questions et donc le besoin de repenser la systématique de ce genre.
Après un bref rappel des principales idées ayant guidé les systématiciens depuis le début du 20ème siècle, les principes et caractères morphologiques de la classification actuelle, utilisée notamment par Delforge (2005) dans son Guide des Orchidées d'Europe, ou appliquée par l'auteur dans l'ouvrage les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg (Bournérias & Prat *et al*., 2005), sont détaillés et commentés de manière critique. Le groupe d'*E. phyllanthes* au sens de la classification précédente, est présenté, et ses différents représentants sur le territoire français sont passés en revue, illustrés et comparés.

INTRODUCTION AU GENRE *EPIPACTIS*

Le genre *Epipactis* appartient à la tribu des *Neottiae*, et apparaît comme frère de *Listera* et *Neottia*, ainsi que l'indique la figure 1. Au sein du genre, les analyses moléculaires publiées par Bateman *et al*. (2005) permettent d'isoler sur le plan génétique 3 différents clades :

- Le clade de *E. veratrifolia* - espèce proche-orientale qui atteint l'Europe à Chypre - qui semble s'être isolé en premier, et constitue un clade frère des deux autres groupes suivants,

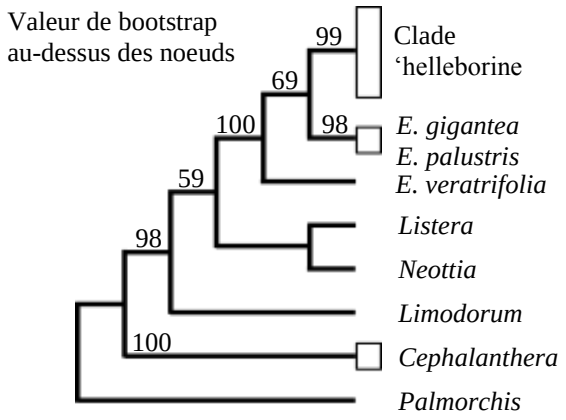


Figure 1. Arbre strict consensus des Neottiaeae.

- Le clade d'*E. palustris* comprend l'espèce éponyme et *E. gigantea* (nord américain),
- Le clade d'*E. helleborine* regroupe toutes les autres espèces européennes analysées.

Sur un plan morphologique, les clades de *E. palustris* et *E. veratrifolia* entrent dans la section *Arthrochilium* – labelle à épichile articulé -, comprenant des espèces poussant comme *Dactylorhiza* exclusivement en zones humides permanentes sans présence obligatoire d'arbres, tandis que le clade de *E. helleborine* correspond à la section Euepipactis, comprenant l'ensemble des espèces à labelle fixe, dont l'espèce emblématique *E. helleborine*.

S'intéresser à la systématique du genre *Epipactis* nécessite que l'on prenne en compte ses grandes caractéristiques biologiques et biogéographiques, en particulier :

- *une vaste aire de répartition eurasiatique* : Si l'on dénombre environ 60 taxons en Europe occidentale et au moyen Orient, la partie orientale de l'aire, au-delà du Caucase jusqu'au Japon à l'est et jusqu'au au Vietnam au sud, renferme très vraisemblablement une profusion d'espèces inconnues. Cette vaste aire, centrée sur la Chine, reste jusqu'alors très peu étudiée pour des raisons évidentes d'accès et du peu d'intérêt porté à la botanique par les autorités des pays concernés. Les propositions de systématique avancées ici sont donc limitées dans leur portée, tant que nous ne sommes pas en mesure de les valider sur l'ensemble du territoire.

- *un mode de reproduction faisant large place à l'autogamie* : Plus de 75% des espèces occidentales possèdent un mode de reproduction autogame, que ce soit de manière facultative ou obligatoire. Outre les espèces pour lesquelles le gynostème est morphologiquement adapté à l'autopollinisation, la gitonogamie, causée par le pollinisateur qui transporte le pollen d'une fleur à l'autre de la même inflorescence au cours de son parcours, contribue également à l'autogamie chez les plantes possédant une structure florale compatible avec l'allogamie. Ces espèces, occupant souvent une niche écologique bien délimitée et pouvant avoir de très grandes aires de distribution (*E. muelleri*, *E. leptochila*, *E. greuteri*, etc …) ou occuper des territoires beaucoup plus restreints (*E. fibri*, *E. provincialis*), semblent bien individualisées sur le plan génétique (Hollingsworth *et al*., 2006).

- *un mode de vie mixotrophe* : Les derniers travaux sur la tribu des *Neottiae* (Selosse *et al*., 2010 ; Roy & Selosse, 2010) montrent qu'à l'instar du genre proche *Cephalanthera*, les Epipactis utilisent le champignon symbiotique pour puiser le carbone, non seulement pour le développement de la graine, mais aussi tout au long de la vie de la plante. Il s'agit d'un mode de nutrition mixotrophe qui combine photosynthèse et mycotrophie. Même si les champignons symbiotiques semblent être génériques, et non spécifique, cet aspect de la vie des Epipactis doit être considéré pour établir une bonne systématique.

SYSTEMATIQUE DU GENRE *EPIPACTIS*

Mise en place de la systématique

Bien que les premières espèces comme *Epipactis helleborine* ou *E. microphylla* aient déjà été isolées et décrites dès la fin du 18ème siècle, la systématique du genre *Epipactis* n'a connu un réel progrès que vers la toute fin du 19ème siècle. L'impulsion est venue du nord de l'Europe, de la part de botanistes anglais et allemands cherchant à mieux cerner le statut de nombreuses de populations de plantes, dont les descriptions formelles s'accumulaient, alimentant ainsi considérablement la nomenclature.

Du côté de l'école anglaise des avancées décisives ont été faites dans les années 1920 par Godfery, qui, par la précision de ses descriptions et sa connaissance de la plupart des taxons européens identifiés à l'époque, a jeté les bases de la systématique actuelle. Il a ainsi pu en particulier délimiter *E. leptochila* et *E. muelleri*, taxons maintenant indiscutables en Europe, au sein d'un ensemble confus de plantes et de binômes. Plus tard, dans les années 1950, D.P. Young (1952a, b) a montré que les différents taxons découverts dans les îles

britanniques, appelés *E. vectensis* ou *E. pendula*, ne formaient qu'une seule et même espèce, à savoir *E. phyllanthes*. Pour cela, au lieu d'entrer dans le détail de la structure du labelle et du gynostème des fleurs, il s'est appuyé sur des caractères foliaires peu usités de ses contemporains, à savoir la pilosité du rachis et la denticulation du bord des feuilles.

Dans la même période, sur le continent, dans la mouvance des observations de H. Müller, les botanistes allemands comme Krösche, puis A. Nieschalk, ont mis en évidence beaucoup de formes, en particulier chez *E. leptochila*, en se penchant notamment sur l'anatomie du gynostème. Ce caractère, clé de voute de la classification de Dressler sera ensuite très utilisé par les spécialistes d'*Epipactis*, et avec une très grande finesse par K. Robatsch, pour isoler les espèces.

Vers une synthèse

En effectuant une synthèse des travaux antérieurs et en confrontant celle-ci à la réalité du terrain, il apparaît qu'une systématique du genre doit reposer sur les principes suivants :

- l'approche doit se fonder sur l'utilisation d'un faisceau de caractères morphologiques et ne doit pas être mono-caractère,
- il faut plutôt privilégier au premier niveau des caractères végétatifs, qui sont moins soumis à une sélection rapide que les caractères floraux, et en outre, dans le cas d'Epipactis, soumis à des modifications rapides en raison de l'autogamie,
- les caractères considérés doivent être suffisamment stables - à défaut d'être constants - à l'intérieur des espèces et sur l'ensemble de l'aire.

Suivant la proposition de Delforge (1995, 2005), le tableau 1 résume les caractères qui nous semblent pertinents pour bâtir une classification du genre *Epipactis*. Ils sont classés par ordre d'importance décroissante.

Tableau 1. Caractères retenus pour établir la classification et leur variation.

	Variabilité infraspécifique
Structure de l'épichile	Nulle
Coloration du pédicelle	Rarissime
Pilosité du rachis et de l'ovaire	Variable avec l'âge de la plante
Denticulation bord des feuilles	Variable le long de la feuille
Anatomie du gynostème	Variable pour quelques espèces autogames

Structure de l'épichile

Comme nous l'avons déjà précisé la distinction entre épichile articulé et fixe, séparant les sections *Arthrochilium* et *Euepipactis* semble confortée par les analyses génétiques. Au sein des plantes à épichile fixe, on peut distinguer celles possédant un épichile calleux et verruqueux, ce dernier caractérisant le groupe d'*E. atrorubens*. La structure de l'épichile ne varie pas au sein d'une espèce.

Coloration de la base du pédicelle floral

Les observations de terrain montrent que la coloration de la base du pédicelle floral ne fluctue que très exceptionnellement au sein d'une espèce. Dans les cas douteux de populations présentant des colorations variées, des soupçons d'hybridations sont souvent observables sur les autres caractères diagnostiques. La coloration varie du rouge au vert. L'observation de ce caractère doit être effectué à la lumière naturelle sur du matériel frais.

Pilosité du rachis et de l'ovaire

La densité, la coloration et la longueur de la pilosité du rachis des *Epipactis* varient dans des proportions limitées pour autant que l'on observe la tige au même niveau de l'inflorescence. La coloration n'est pas toujours facile à relever, car elle se confond souvent avec la couleur de la tige. La densité et la longueur sont heureusement suffisantes pour caractériser la plante. L'argument d'une forte influence de l'écologie sur la pilosité de la tige, ne tient pas si l'on considère que certaines espèces très thermophiles comme *E. phyllanthes*, poussant dans des pinèdes et chênaie vertes dunaires, possède une pilosité très réduite, alors qu'*E. leptochila* vivant dans des hêtraies sombres et fraîches dispose d'une longue pilosité abondante.

Denticulation du bord des feuilles

En dehors de *E. palustris*, qui possède des feuilles à bord lisse toutes les espèces d'Epipactis ont des feuilles munies de denticules de forme et de taille variable. Comme l'indique le tableau 2, on distingue globalement deux types de denticulation.

La géométrie des denticules peut varier le long de la feuille entre sa partie distale et proximale, et dépend en partie de la taille de la feuille, la taille des dents augmentant avec celle de la feuille. Ce caractère est donc à examiner de manière globale au sein d'une population et comparée entre espèces.

Tableau 2. Géométrie de la denticulation du bord des feuilles dans le genre *Epipactis*.

Type helleborine	*Type phyllanthes*
dents courtes (hauteur inférieure à 0,1 mm), de taille régulière et de forme approximativement triangulaire	dents plus longues (0,1 à 0,2 mm), de hauteur irrégulière et de forme assez souvent courbe ; sur le terrain elles sont souvent visible à l'œil nu

Anatomie du gynostème

La structure du gynostème est délicate à utiliser car elle peut être parfaitement stable pour certaines espèces comme par exemple *E. muelleri* ou *E. helleborine*, ou au contraire présenter une diversité peu commune si l'on observe *E. leptochila* ou *E. phyllanthes*, pour citer les plus délicates. C'est donc un caractère à utiliser en dernier ressort.

En s'appuyant sur cette définition de caractères, nous aboutissons au découpage suivant du genre en Europe occidentale (Tab. 3).

Relativement à Delforge (2005), nous ne reconnaissons pas le groupe de *E. tremolsii*, qui regroupe des taxons intermédiaires entre *E. helleborine* et *E. atrorubens*, et de ce fait difficile à isoler clairement de ces deux entités. Klein (2005) a récemment avancé une classification qui rejoint celle-ci pour certains groupes, par exemple *E. atrorubens* ou *E. purpurata*, mais présente le défaut de réunir dans une seule section les espèces autogames, ce qui est contraire aux conclusions d'une origine multiple pour les taxons autogames, comme l'avancent Hollingsworth *et al*. (2006). Cette classification s'éloigne par ailleurs de celle

proposée par Bateman *et al*. (2005) qui reconnaît seulement trois groupes dans le clade d'*E. helleborine* :

- un groupe formé par les taxons proches de *E. helleborine* et *E. atrorubens* (groupes de *E. atrorubens*, *E. helleborine*, *E. phyllanthes* et *E. albensis* tels que définis plus haut),
- un groupe monospécifique constitué du seul *E. microphylla*,
- un groupe comprenant les espèces méditerranéennes occidentales (*E. tremolsii*, *E. provincialis*, *E. lusitanica* …) et *E. leptochila*.

Tableau 3. Récapitulatif des caractères distinctifs du genre *Epipactis* en Europe occidentale.

GROUPE	Epichile		Pilosité		Couleur pédicelle floral	Denticulation feuilles
	articulé	verruqueux	haut tige	ovaire		
E. palustris	Oui	Non	Forte	Forte	Rouge	Nulle
E. atrorubens	Non	Oui	Forte	Forte	Rouge	fine / régulière
E. helleborine	Non	Non	Forte	Modérée	Rouge	fine / régulière
E. leptochila	Non	Non	Forte	Modérée	Vert	fine / régulière
E. albensis	Non	Non	Modérée	(Sub)Nulle	Vert (bronze)	fine / régulière
E. phyllanthes	Non	Non	Nulle à Modérée	(Sub)Nulle	Vert	grossière/ irrégulière

LE GROUPE D'*E. PHYLLANTHES* EN FRANCE

Selon la classification proposée plus haut (Tabs. 3 et 4), le groupe d'*E. phyllanthes* comprend 6 espèces en Europe (Delforge 2005) et 3 seulement pour la France, à savoir :

- *E. phyllanthes* G.E. Smith : l'espèce a d'abord été identifiée dans les îles britanniques dans le Sussex dès la fin du 19ème siècle; la confirmation de sa présence sur le continent, et notamment en France, repose sur l'examen d'exsiccata par Young (1962);
- *E. fageticola* (Hermosilla) J. Devillers-Terschuren & P. Devillers : décrite de la Rioja (Espagne) en 1998, cette plante a été signalée dès 1999 dans les Pyrénées Orientales sous le nom de *E. gracilis* (Lewin *et al*., 1999).
- *E. exilis* Delforge : nommée anciennement *E. gracilis* H. Baumann & B. Baumann (nom. illeg.), ce taxon est connu à l'origine de Grèce du nord et du sud de l'Italie par ses auteurs en 1988. Il a été découvert pour la première fois en France en 2003 (Gévaudan, 2007) et une seconde mention pour la France a été faite récemment dans le Puy de Dôme (63) (Riboulet *et al*., 2010).

Le tableau 3 présente une diagnose comparée succincte de ces 3 espèces. Plus de détails peuvent être trouvés dans Gévaudan *et al*. (2001) ou Scappaticci *et al*. (2009).

La répartition actuelle de ces taxons, mise à jour pour l'Atlas des orchidées de France (à paraître), est fournie sur la carte suivante. Si l'on peut légitimement penser que l'aire de *E. phyllanthes*, plante du littoral atlantique, est convenablement cernée, *E. fageticola*, et bien plus encore, le très récemment découvert, *E. exilis* sont à rechercher activement. Pour ce dernier des potentialités très fortes existent en Corse et dans les Alpes maritimes, si l'on se

réfère à la répartition italienne de cette espèce, présente en Sardaigne et dans la région d'Imperia (Ligurie).

Tableau 4. Caractéristiques comparées des taxons du groupe d'*E. phyllanthes* en France.

	E. phyllanthes	***E. fageticola***	***E. exilis***
Caractères végétatifs			
Taille plante (cm)	*20-50 (60)*	(15) 30-50 (60)	20-30 (40)
Nombre feuilles	3-7	3-7	3
Taille feuilles (cm)	1,5-3 x 5-8	1-4 x 4-7	1-2 x 2-4
Caractères floraux			
Couleur fleur	Epichile blanc verdâtre clair Hypochile vert à brunâtre	Epichile blanc verdâtre clair Hypochile vert à brunâtre	Epichile blanc verdâtre souvent teinté de rose Hypochile brun verdâtre à -rosâtre
Ouverture fleur	Peu ouvertes	Souvent cléistogames	Largement ouvertes
Viscidium	Généralement absente	Présente	Présente
Jonction épi-hypochile	Large	Large	Etroite
Ecologie			
Habitat	Pineraies et chênaies sur sable calcaire – Zone littorale Atlantique	Bord de cours d'eaux dans ripisylves et hêtraies sur substrat calcaire	Hêtraie fraîche sur sols neutres à légèrement acides
Altitude	< 50 m	Jusqu'à 1600 m	800 à 1200 m

La répartition actuelle de ces taxons, mise à jour pour l'Atlas des orchidées de France (à paraître), est fournie sur la carte suivante. Si l'on peut légitimement penser que l'aire de *E. phyllanthes*, plante du littoral atlantique, est convenablement cernée, *E. fageticola*, et bien plus encore, le très récemment découvert, *E. exilis* sont à rechercher activement. Pour ce dernier des potentialités très fortes existent en Corse et dans les Alpes maritimes, si l'on se

réfère à la répartition italienne de cette espèce, présente en Sardaigne et dans la région d'Imperia (Ligurie).

CONCLUSION

La systématique du genre *Epipactis* détaillée dans cette note repose sur un examen morphologique et écologique des taxons du genre *Epipactis*. Une confrontation avec les premières analyses moléculaires menées par Bateman *et al*. (2005) montre des discordances entre ces classifications phénotypique et génétique dans le clade d'*E. helleborine*, qui regroupe des taxons très proches sur le plan génétique. Ce point devra faire l'objet d'études complémentaires. Le groupe d'*E. phyllanthes* au sens de cette systématique, réuni des espèces rares, encore mal connues et dont la répartition souffre de ce fait de graves lacunes, qui peuvent être comblées sur le plan national par une prospection systématique des milieux favorables. Des éléments morphologiques et écologiques, pouvant aider à la différenciation de ces taxons sont fournis dans cette note.

Bibliographie

Bateman R.M., Hollingsworth P.M., Squirrell J. & Hollingsworth M.L. 2005. Tribe Neottiaeae: Phylogenetics. In : Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW, & Rasmussen FN (eds) *Genera Orchidacearum, volume 4*. pp 487-495. Oxford University Press. Oxford.

Bournérias M. & Prat D. 2005. Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg. Edition Biotope, collection Parthénope. 504 p.

Delforge P. 1995. *Epipactis dunensis* (T. & T.A. Stephenson) Godfery et *Epipactis muelleri* Godfery dans les îles Britanniques. Natural. Belges (Orchid. 8) 76 : 103-123.

Delforge P. 2005. Guide des Orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient: 3e éd., 640p. Delachaux et Niestlé, Lausanne - Paris.

Gévaudan A. 2007. *Epipactis exilis* P. Delforge, une espèce nouvelle pour la France. Natural. Belges (Orchid. 20) 88 : 27-40.

Gévaudan A., Lewin J.M. & Delforge P. 2001. Contribution à la connaissance du groupe d'*Epipactis phyllanthes*: délimitation, écologie et distribution d'*E. fageticola* (Hermosilla 1998) J. Devillers-Terschuren & P. Devillers 1999. Natural. belges 82 (Orchid. 14): 39-104.

Hollingsworth P.M., Squirrell J., Hollingsworth M.L., Richards A.J. & Bateman R.M. 2006. Taxonomic complexity, conservation and recurrent origins of self-pollination in Epipactis (Orchidaceae). In : Bailey, J. & Ellis, R.G. (eds) *Current taxonomic research on the British & European flora*. pp. 27-44. BSBI. London.

Klein E. 2005. Versuch einer Gliederung der Gattung *Epipactis* Zinn (*Orchidaceae – Neottiae*). Jour. Eur. Orch. 37(1): 121-130.

Lewin J.M., Mangeot A. & Letscher. R 1999. Sur deux *Epipactis* nouveaux des Pyrénées-Orientales. L'Orchidophile 135 : 35-39.

Riboulet C., Gatien J.L. & Selosse M.A. 2010. *Epipactis exilis* (Baumann et Baumann) Delforge, espèce nouvelle pour l'auvergne et la France. Cah. Soc. Fr. Orch., 8, Actes 15e colloque de la SFO, 126-127.

Roy M. & Selosse M.A. 2010. De la graine à l'adulte, de l'individu à l'espèce : des orchidées plus hétérotrophes qu'il n'y paraît ? Cah. Soc. Fr. Orch., 8, Actes 15e colloque de la SFO, 185-194.

Scappaticci G., Gévaudan A. & Lewin J.M. 2009. *Epipactis fageticola* (Hermosilla) J. Devillers-Terschuren & P. Devillers : état des connaissances en France. L'Orchidophile 180 : 43-52.

Selosse M.A., Dubois M.P., Roy M., Martos F., Faccio A., Bonfante P., Girlanda M. 2010. Avancées récentes sur les mycorhizes d'orchidée. Cah. Soc. Fr. Orch., 8, Actes 15e colloque de la SFO, 170.

Young D.P. 1952a. Studies in the British *Epipactis*. III. *Epipactis phyllanthes* G.E. SM., an overlooked species. Watsonia **2**(4): 253-259.

Young D.P. 1952b. Studies in the British *Epipactis*. IV. A revision of tbe *phyllanthes-vectensis-pendula* group. Watsonia **2**(4): 259-276.

Young D.P. 1962. Studies in the British *Epipactis*. VI. Some further notes on *E. phyllanthes* . Watsonia 5(3): 136-139.

Epipactis exilis (Baumann et Baumann) Delforge, espèce nouvelle pour l'Auvergne et la France

Chantal RIBOULET[1], Jean-Louis GATIEN[1] & Jean-Jacques GUILLAUMIN[2]
1) 39 Avenue du Chorigier, Boisséjour, 63122 Ceyrat
crijlg@sfr.fr
2) 7 Chemin des Roussilles, Jussat, 63450 Chanonat
jj.guillaumin@gmail.com

Abstract – ***Epipactis exilis* (Baumann et Baumann) Delforge, a new species in Auvergne and France**. In late June 2007 a new species of *Epipactis*, belonging to the *Phyllanthes* group, was observed in a beech stand, in the Department of Puy-de-Dôme, Auvergne region, France. The species was first identified as *E. fageticola*, but it revealed certain morphological traits different from the later species, as well as different ecological requirements. It was finally identified as *Epipactis exilis*, a species not yet observed in France. In 2007 and 2008, about 200 stems of the new species were numbered, within a restricted area (5 square km). The species was also observed by other authors in summer 2007 in the Cévennes.

Epipactis exilis a été découvert le 30 juin 2007 dans le département du Puy-de-Dôme (commune de Saint-Diéry, bassin de la Couze Pavin).

La plante observée, qui appartenait visiblement au groupe *Phyllanthes* du genre *Epipactis*, a d'abord été identifiée comme *Epipactis fageticola* (Hermosilla) Devillers-Terschuren et Devillers, présente dans le sud de la France. Toutefois, il est apparu rapidement que le taxon présent dans le Puy-de-Dôme différait d'*E. fageticola* par une série de caractères. Avec l'aide d'A. Gévaudan, elle a finalement été déterminée comme *Epipactis exilis* (Baumann et Baumann) Delforge. Jusque là, cette espèce n'était connue que dans les Balkans, l'Italie continentale et la Sardaigne. A peu près en même temps qu'en Auvergne, elle a été aussi mise en évidence dans les Cévennes gardoises par A. Gévaudan. Il s'agit donc d'une espèce nouvelle pour la France, découverte de façon concomitante dans deux régions du Massif Central éloignées l'une de l'autre.

Epipactis exilis (ancien nom *Epipactis gracilis* Baumann et Baumann) fait partie de la sous-section *Phyllanthes* de la section *Euepipactis* du genre *Epipactis*. Cette sous-section se caractérise par une tige grêle et rigide, des feuilles petites et peu nombreuses, ovoïdes et acuminées, des pédoncules floraux verts à jaunâtres et peu velus, le rebord des feuilles comportant des faisceaux de denticulations irrégulières. Assez proche *d'Epipactis fageticola*, *E. exilis* s'en distingue par un nombre de feuilles vraies généralement égal à 3 (3 à 7 chez *E. fageticola*), des feuilles plus courtes que les entre-nœuds, le rachis subglabre, l'hypochile brun-rouge, l'épichile rigide à callosités roses, une préférence pour les sols acides.

L'espèce a des exigences écologiques très strictes : elle a été rencontrée seulement dans des sous-bois de hêtraie à ombre épaisse, à des altitudes entre 800 et 950 m, au fond de ravins extrêmement humides (avec une circulation d'eau), à forte pente et exposés au nord, et sur des substrats à réaction acide (pH 5,5).

En 2007, l'espèce était représentée par 200 individus environ, sur 6 stations, réparties sur une aire restreinte (environ 5 km^2). En 2008, année également très pluvieuse, toutes les stations de 2007 ont été retrouvées et une station supplémentaire a été détectée, avec 60 pieds. Les plantes sont autogames et fructifient abondamment. L'espèce ne semble donc pas menacée. Elle n'avait pas été jusque là signalée dans le Puy-de-Dôme, soit parce qu'elle y est

d'introduction récente, soit, plus vraisemblablement parce qu'elle était passée inaperçue, ses sites étant difficiles d'accès et peu fréquentés. En outre, il est possible que la plante ne fleurisse pas les années sèches.

Epipactis exilis : port de la plante en boutons et inflorescence.
(Photos Chantal Riboulet, SFO-Auvergne)

Pourquoi les fleurs d'orchidées sont-elles si diverses ?

Mariana MONDRAGÓN-PALOMINO & Günter THEIßEN
Département de Génétique, Université Friedrich-Schiller, D-07743 Jena, Allemagne
m.mondragonpalomino@googlemail.com

Ce texte est essentiellement une traduction incomplete de l'article des mêmes auteurs *Why are orchid flowers so diverse? Reduction of evolutionary constraints by paralogues of class B floral homeotic genes*, publié en 2009 dans *Annals of Botany, 104: 583-594*.

Abstract – Why are orchid flowers so diverse? The nearly 30 000 species of orchids produce flowers of unprecedented diversity. However, whether specific genetic mechanisms contributed to this diversity is a neglected topic and remains speculative. We recently published a theory, the 'orchid code', maintaining that the identity of the different perianth organs is specified by the combinatorial interaction of four DEF-like MADS-box genes with other floral homeotic genes.
Here the developmental and evolutionary implications of our theory are explored. Specifically, it is shown that all frequent floral terata, including all peloric types, can be explained by monogenic gain- or-lossof-function mutants, changing either expression of a DEF-like or CYC-like gene. Supposed dominance or recessiveness of mutant alleles is correlated with the frequency of terata in both cultivation and nature. Our findings suggest that changes in DEF- and CYC-like genes not only underlie terata but also the natural diversity of orchid species. We argue, however, that true changes in organ identity are rare events in the evolution of orchid flowers, even though we review some likely cases.
The four DEF paralogues shaped floral diversity in orchids in a dramatic way by modularizing the floral perianth based on a complex series of sub- and neo-functionalization events. These genes may have eliminated constraints, so that different kinds of perianth organs could then evolve individually and thus often in dramatically different ways in response to selection by pollinators or by genetic drift. We therefore argue that floral diversity in orchids may be the result of an unprecedented developmental genetic predisposition that originated early in orchid evolution.

Résumé – Les orchidées, avec leurs 30 000 espèces environ, produisent des fleurs d'une diversité sans précédent. Cependant, les mécanismes génétiques à l'origine de cette diversité sont restés spéculatifs, faute d'étude. Nous avons récemment établi une théorie : celle du « code de l'orchidée », expliquant que l'identité des différentes pièces du périanthe est déterminée par les interactions entre quatre gènes à boîte MADS de type *DEF* et d'autres gènes homéotiques du développement floral.
Les conséquences de notre théorie sur le développement et l'évolution des orchidées sont exposées ici. Toutes les monstruosités florales habituelles, y compris les diverses pélories, peuvent être expliquées par des mutations affectant l'expression d'un gène soit de type *DEF* soit de type *CYC*. La dominance ou la récessivité des allèles mutés est reliée avec la fréquence des monstruosités, que ce soit en culture ou dans la nature. Nos résultats suggèrent que les changements dans les gènes de type *DEF* ou *CYC* sont non seulement à l'origine des monstruosités florales mais aussi de la variabilité sans fin des espèces d'orchidées. Nous considérons, cependant, que les véritables changements d'identité des pièces florales sont des événements rares dans l'évolution des orchidées, nous traiterons toutefois de quelques cas probables.

Les quatre paralogues *DEF* ont modelé la diversité florale des orchidées par une série complexe d'évènements de sous-fonctionalisation et de néofonctionalisation. Ces duplications ont pu éliminer des contraintes, de telle sorte que les différentes pièces du périanthe ont pu évoluer indépendamment et dans des directions différentes sous l'effet de la pression de sélection des pollinisateurs ou de la dérive génétique. Nous considérons ainsi que la diversité florale des orchidées peut être le résultat d'une prédisposition génétique unique qui est apparue très tôt dans l'évolution de la famille. **Mots clés** : évolution des orchidées, périanthe, gènes de classe B, duplication de gène, pélorie.

FLEURS D'ORCHIDEES : les plus belles formes à variation illimitée sur un thème

La fleur typique d'une monocotylédone à périanthe pétaloïde comporte cinq cycles constitués de trois pièces, ou dérive de ce schéma. Cependant, contrairement à d'autres monocotylédones comme les lis ou les tulipes, les orchidées ont des fleurs d'une diversité morphologique stupéfiante (Figure 1A). Cette diversité repose sur des variations d'un schéma relativement simple (Figures 1B-D). Comme les fleurs des lis et des tulipes, celles des orchidées comportent deux cycles de pièces pétaloïdes dénommées tépales qui entourent les éléments reproducteurs. Chez les orchidées, les éléments reproducteurs sont particuliers du fait qu'ils forment un gynostème ou colonne, structure composite résultant de l'accolement des éléments mâles et femelles (Dressler, 1993 ; Rudall et Bateman, 2002). Les variations de la taille et de la forme, la présence de pièces annexes, la conformation, la position et le nombre d'anthères, les caractéristiques des pollinies et des autres structures, font de cette colonne un organe remarquablement complexe. La présente étude est focalisée sur le développement et l'évolution des pièces du périanthe.

Le périanthe de la plupart des familles de Monocotylédones à périanthe pétaloïde comporte des pièces (presque) identiques. Chez les orchidées, trois types de pièces sont reconnus pour le périanthe : trois tépales externes (T1-T3 ; souvent dénommés sépales) dans le premier verticille floral, puis deux tépales internes latéraux (t1 et t2 ; dénommés pétales) et un tépale interne médian (t3) dénommé labelle pour le deuxième verticille (Rudall et Bateman, 2002 ; Mondragon-Palomino et Theißen, 2008 ; Figures 1B-D). La plupart des descriptions du périanthe des orchidées considèrent les tépales externes (T1-T3) comme des pièces sans divisions ni ornements ; ils peuvent ressembler aux tépales internes latéraux (Figure 1A) ou former des éperons nectarifères (par exemple : *Plectophora*, Oncidiinae). Le labelle se distingue généralement des autres pièces du périanthe par son ornementation élaborée avec des callosités, des éperons, des glandes et une répartition originale des couleurs (Figure 1A). Bien que le labelle soit probablement l'homologue du tépale adaxial des autres monocotylédones et que par conséquent il devrait être en position supérieure, il est souvent en position inférieure en raison de la résupination (rotation de 180° de la fleur au cours de son développement ; Arditti, 2002). L'orientation abaxiale du labelle résupiné et sa position opposée à l'anthère fertile suggèrent que son fort degré de complexité morphologique est le résultat d'adaptations à des pollinisateurs spécifiques.

Quelles sont les forces responsables de la diversité florale des orchidées ?

Les questions sur les causes de l'évolution sont généralement difficiles puisqu'elles peuvent concerner des aspects fondamentalement différents. On peut distinguer les « causes fondamentales » comme la sélection ou la dérive génétique et les « causes immédiates » comme les mécanismes du développement facilitant ou limitant les changements évolutifs. Depuis Darwin, la biologie des orchidées s'est focalisée sur les causes fondamentales de la diversité morphologique et de la richesse en espèces (Darwin, 1862 ; Cozzolino et Widmer,

2005 ; Schlüter et Schiestl, 2008). La diversité florale impressionnante des orchidées a été attribuée à l'adaptation aux pollinisateurs spécifiques (Johnson *et al*., 1998). Bien que chez les orchidées, il y ait un large éventail de spécificité dans les interactions plante-pollinisateur, environ 60% des espèces d'orchidées n'ont qu'une seule espèce de pollinisateur (Tremblay, 1992). Cette spécificité a été considérée comme un mécanisme éthologique prézygotique important de l'isolement reproducteur (revu par Cozzolino et Widmer, 2005). Les phénomènes tels que l'attraction des pollinisateurs en imitant la nourriture ou des partenaires sexuels sans fournir de récompense (tromperie alimentaire ou sexuelle) ont fasciné beaucoup de chercheurs et ont suscité de nombreuses études (Jersakova *et al*., 2006).

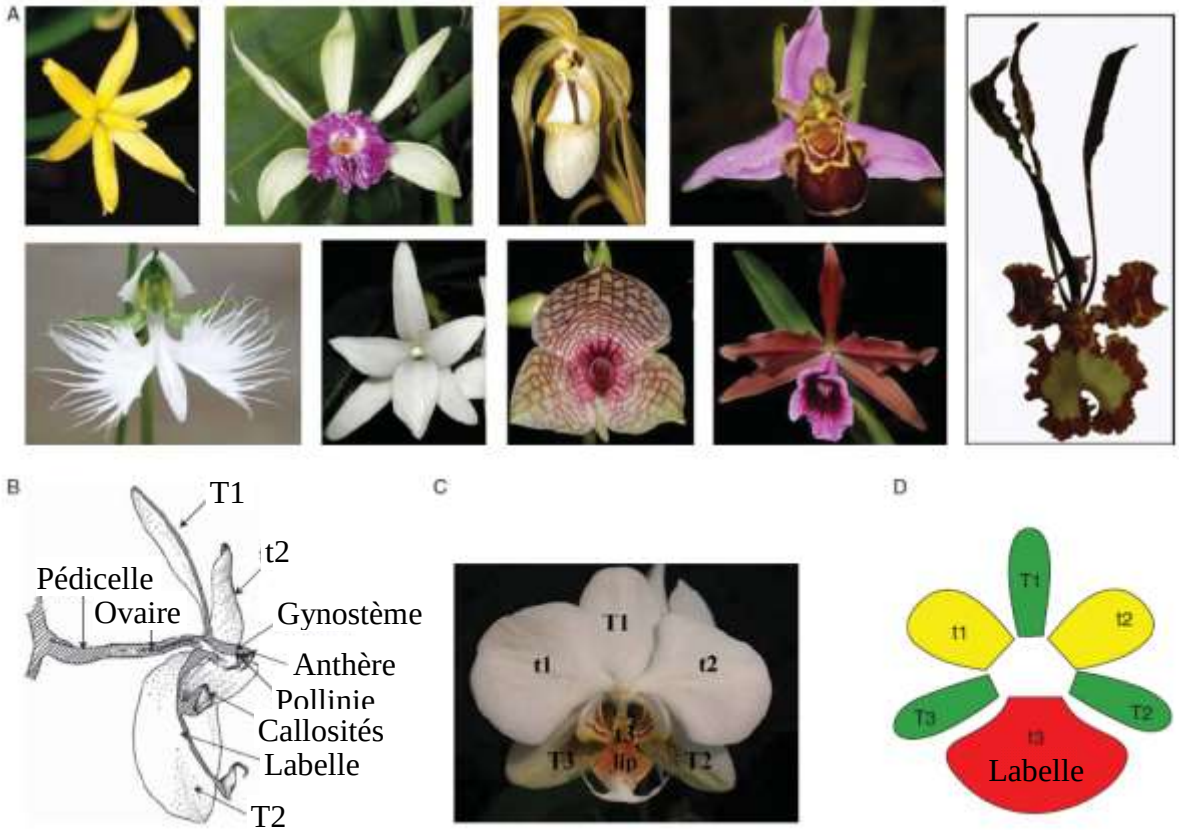


Figure 1. Structure et diversité des fleurs d'orchidées.
A : Diversité du périanthe des orchidées, du haut à gauche au bas à droite : *Apostasia wallichii* (sous-famille Apostasioideae) ; *Vanilla imperialis* (sous-famille Vanilloideae) ; *Phragmipedium caudatum* (sous-famille Cypripedioideae) ; *Ophrys apifera* , *Habenaria radiata* (sous-famille Orchidoideae) ; *Aerangis fastuosa*, *Telipogon intis*, *Cattleya tenebrosa*, *Psychopsis papilio* (sous-famille Epidendroideae). **B** : Schéma d'une coupe longitudinale d'une fleur d'orchidée (hybride de *Phalaenopsis*) décrivant l'organisation générale du périanthe du gynostème et de l'ovaire. **C** : Vue d'une fleur d'un hybride de *Phalaenopsis*, le périanthe est composé de six pièces distribuées sur deux cycles et représentant 3 catégories de pièces (T1-T3 : tépales externes, t1 et t2 : tépales internes latéraux, t3 : labelle). **D** : Représentation schématique de l'identité des pièces du périanthe, chaque couleur symbolise une identité de pièces du périanthe (tépales externes, tépales internes latéraux, labelle), ces identités sont probablement déterminées par la combinaison des produits d'expression de gènes à boîte MADS de quatre clades du type *DEF* et *MIKC*.

Cependant, la compréhension des « causes fondamentales » de l'évolution des orchidées ne nous explique pas pourquoi les Orchidacées, et pas les Liliacées ni les Hypoxidacées, montrent une diversification florale si importante. On peut supposer, par exemple, que les

caractéristiques génétiques et développementales des orchidées ont pu contribuer à leur grande diversité. En opposition au grand intérêt porté aux « causes fondamentales » de la diversité florale des orchidées, les « causes immédiates » sont restées peu étudiées et spéculatives. Bateman et Rudall (Bateman, 1985 ; Rudall et Bateman, 2002, 2003 ; Bateman et Rudall, 2006) figurent parmi les rares chercheurs à intégrer les connaissances actuelles sur la génétique du développement floral obtenues avec les espèces modèles comme *Arabidopsis thaliana* pour prévoir la base génétique de l'organogenèse dans les fleurs de type sauvage et pélorique. Ces contributions et l'exploitation des données récentes sur les gènes du développement floral chez les orchidées, apportent un meilleur éclairage sur l'évolution des orchidées.

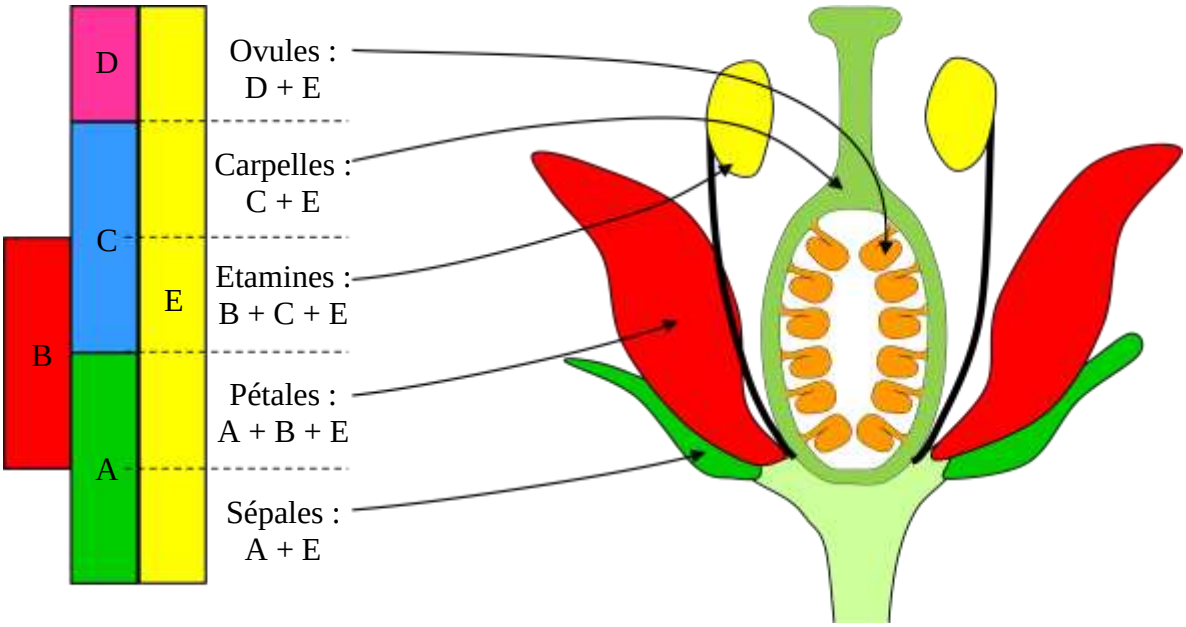


Figure 2. Déterminisme de l'identité des différentes pièces florales.
Les gènes homéotiques de cinq classes (A, B, C, D et E) agissent en combinaison pour spécifier les territoires de la fleur et leur donner leur identité : les sépales, les pétales, les étamines, les carpelles et les ovules se différencient sous l'influence précoce de ces gènes homéotiques ; les sépales résultent de l'expression dans le même territoire des gènes homéotiques du développement floral des classes A et E, les pétales de l'expression des gènes des classes A, B et E, les étamines de l'expression des gènes des classes B, C et E, les carpelles de l'expression des gènes des classes C et E, les ovules de l'expression des gènes des classes D et E.

Un code à combinaison pour l'identité des pièces du périanthe des orchidées

Nous avons proposé récemment une théorie sur le contrôle du développement et l'évolution des pièces du périanthe des orchidées (Mondragon-Palomino et Theißen, 2008). Le code génétique fondamental de l'identité des pièces du périanthe chez les orchidées (dénommé ici le « code des orchidées ») suppose que l'identité des différentes pièces de la fleur est déterminée par l'expression combinée des orthologues des gènes d'identité de pièces florales connus chez les plantes modèles dicotylédones comme *Arabidopsis thaliana* et *Antirrhinum majus*. Ceux-ci incluent des gènes homologues de *DEF* (ou *AP3*) et *GLO* (ou *PI*) spécifiant l'identité des étamines et des pétales, dénommés gènes homéotiques floraux de classe B. Chaque élément de la fleur (sépale, pétale, étamine, carpelle, ovule) est spécifié par une combinaison bien particulière de ces gènes homéotiques (du développement floral), qui codent des facteurs de transcription. Cinq types de fonctions différentes, dénommées A, B, C, D et E ont été mis en évidence chez ces plantes modèles (Theißen et Saedler, 2001 ; Wellmer *et al*., 2006). Les fonctions E et A sont exprimées dans le sépale, et les fonctions A, B et E

dans le pétale. Les fonctions B, C et E sont exprimées dans les étamines, C et E dans les carpelles, et D et E dans les ovules (Figure 2). Lors des divisions des cellules du méristème qui conduisent à la mise en place des pièces florales, la régulation de ces facteurs de transcription se traduit par l'induction spécifique dans des territoires différents, la mise en place des pièces florales, grâce à l'activation on l'inhibition de gènes cibles spécifiques.

Chez les plantes modèles Dicotylédones, l'identité des pétales résulte de l'interaction et de la fonction d'un gène de type *DEF* et d'un gène de type *GLO*. Notre théorie suppose que l'identité des tépales des orchidées est spécifiée par l'interaction de quatre gènes paralogues de type *DEF* avec un gène de type *GLO*. En effet, les reconstructions phylogénétiques ont montré que ces gènes de type *DEF* se distribuent dans quatre clades distincts, dénommés *PeMADS2* (clade 1), *OMADS3* (clade 2), *PeMADS3* (clade 3) et *PeMADS4* (clade 4) (Mondragon-Palomino et Theißen, 2008). Ces gènes présentent des expressions très conservées et caractéristiques de chaque clade. Basée sur ces résultats, notre théorie considère que l'expression combinée des gènes des clades 1 et 2 détermine la formation des tépales externes (T1-T3) au niveau du primordium du premier cycle de pièces florales. Dans le second cycle, l'identité des tépales latéraux (t1 et t2) résulte de l'action combinée des gènes des clades 1, 2 et 3. L'identité du labelle (t3) est déterminée par l'expression spécifique d'un gène du clade 4 et de tous les autres gènes de type *DEF* (Figure 3). Notre théorie implique que l'expression différentielle des gènes du clade 3 différencie les tépales internes et externes, tandis que l'expression différentielle des gènes du clade 4 différencie les tépales internes latéraux du labelle (Figure 3).

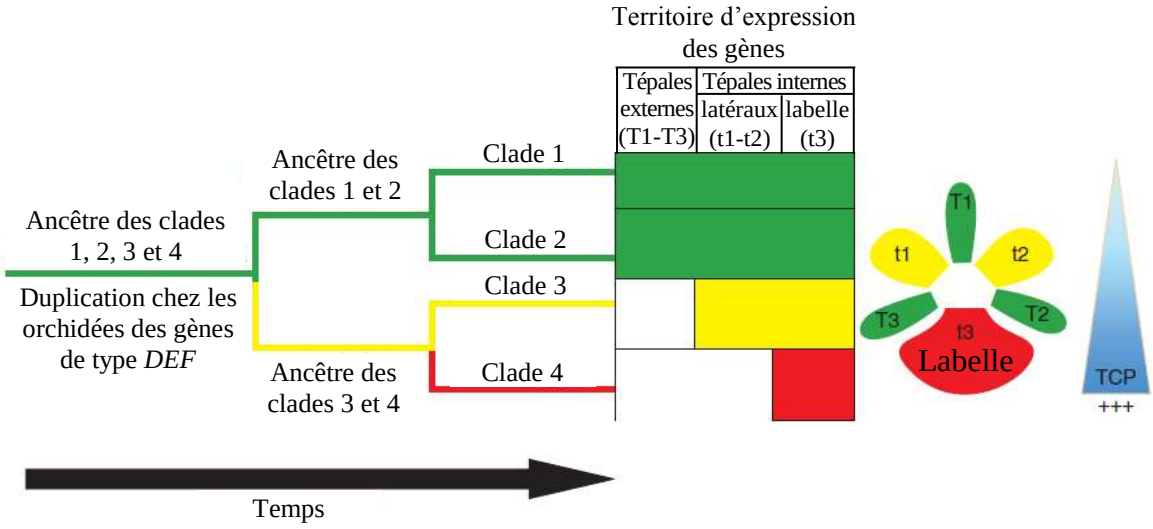


Figure 3. Duplication et divergence des gènes de type DEF et origine du code des orchidées.
Les duplications des gènes de type *DEF* conduisent à 4 clades (schématisés à gauche) ; les différents territoires d'expression de ces gènes et leurs impacts sur l'identité des pièces du périanthe (code des orchidées) sont représentés au centre ; le périanthe résupiné des orchidées avec le labelle positionné en bas est représenté à droite avec un gradient adaxial-abaxial pouvant correspondre au contenu en protéines TCP. Les couleurs soulignent la correspondance entre l'identité de la pièce du périanthe et l'expression des gènes responsables de cette identité pour les trois catégories de pièces (tépales externes, tépales internes latéraux et labelle).

Les clades 1 et 2 de gènes de type *DEF* représentent des clades frères caractéristiques des orchidées, il en est de même pour les gènes des clades 3 et 4 ; ces résultats et d'autres concernant la phylogénie des gènes *DEF* des orchidées montrent qu'il est possible d'établir une relation entre l'évolution de ces gènes et la différentiation morphologique du périanthe

(Mondragon-Palomino et Theißen, 2008). Nous faisons l'hypothèse que les duplications de gènes chez l'ancêtre de toutes les orchidées ont joué un rôle fondamental dans la diversification du périanthe. L'ancêtre commun le plus récent des orchidées et des autres Asparagales avait probablement un périanthe actinomorphe constitué de six tépales identiques spécifiés par un gène *DEF* ancestral, exprimé de façon uniforme. Selon notre théorie, la première duplication des gènes de type *DEF* a conduit à la forme ancestrale des gènes des clades 1 et 2 et à la forme ancestrale des gènes des clades 3 et 4. L'évolution de l'expression différentielle de la forme ancestrale des gènes des clades 3 et 4 a pu conduire à la mise en place d'identités différentes des tépales externes (extinction des gènes) et internes (activation des gènes). De même, l'expression des gènes du clade 4 résultant d'une seconde duplication a mené à la distinction entre les tépales internes latéraux (extinction des gènes) et le labelle (activation des gènes, Figure 3).

Comme indiqué précédemment, le phénomène de la résupination change l'orientation de beaucoup de fleurs d'orchidées pendant l'anthèse de telle sorte que le tépale interne médian, ou labelle, bien qu'en position initiale adaxiale/dorsale, se trouve finalement dans la position la plus basale du périanthe. Ce processus a lieu également chez d'autres espèces à fleurs zygomorphes comme *Lobelia* (Campanulaceae) et *Orchidantha* (Lowiaceae), mais il est clairement plus général chez les Orchidaceae. Considérant que ce caractère facilite la pollinisation en faisant du labelle une plateforme d'atterrissage et un guide vers le nectar, il est raisonnable de supposer qu'il a évolué après que la fleur est devenue zygomorphe. Ceci est bien montré chez les Apostasioideae, groupe frère des quatre autres sous-familles d'orchidées, pour lesquels la résupination se produit dans le genre *Neuwiedia* à fleurs zygomorphes mais pas dans le genre *Apostasia* à fleurs actinomorphes (Kocyan et Endress, 2001). Ce scénario pose la question des mécanismes moléculaires qui ont associé la zygomorphie à la torsion ultérieure de l'ovaire pédicellé. Les expériences de suppression de la colonne et des pollinies indiquent que la résupination se produit comme une réponse de la fleur à la gravité (Nyman *et al.*, 1985), ce qui est contrôlé par l'auxine et d'autres hormones produites par les pollinies des orchidées, et lié aux mécanismes de perception de la gravité par les plantes (Nyman *et al.*, 1985 ; Nair et Arditti, 1991). Le lien entre pollinies et résupination est aussi révélé par des observations sur quelques espèces de *Catasetum*, chez lesquelles les fleurs femelles ne sont pas résupinées alors que les fleurs mâles le sont, même lorsqu'elles sont sur la même inflorescence (Dressler, 1993). Ceci suggère que les pollinies sont liées d'une façon ou d'une autre au processus du résupination.

Bien que l'orientation du labelle, qui d'une certaine manière, est adaptée au comportement du pollinisateur, apporte une explication convaincante de l'évolution de la résupination, nous nous demandons pourquoi un tel changement morphologique n'est pas apparu grâce à un mécanisme beaucoup plus simple, tel que l'évolution du tépale externe médian en un labelle (plutôt que du tépale interne médian) puisque cette pièce aurait déjà été en position et orientation correctes. Notre théorie sur l'évolution de l'identité des pièces florales des orchidées propose une explication : la distinction entre le labelle et les autres tépales dépend uniquement de l'expression des gènes *DEF* du clade 4, qui ont pu avoir évolué sous le contrôle d'une information positionnelle adaxiale/dorsale. Peu après la duplication qui a produit les gènes du clade 3 et ceux du clade 4, tous les tépales internes devaient avoir la même structure, mais rapidement le labelle a pu devenir différent des deux autres tépales internes pour assurer des fonctions particulières. Une nouvelle fonction importante était l'attraction des pollinisateurs, expliquant que la résupination soit intervenue comme mécanisme secondaire pour attribuer le rôle de plateforme d'atterrissage au labelle. Cette hypothèse est évidemment très spéculative. C'est cependant à notre connaissance, la première qui donne une explication génétique développementale et évolutive de la résupination, et qui pourrait être testée expérimentalement dès que les éléments de régulation *cis* et *trans* 4 des

gènes de type *DEF* du clade 4 seront mieux connus. Une logique semblable pourrait être appliquée pour étudier l'évolution et le développement du périanthe des fleurs d'*Orchidantha* (Lowiaceae), qui possèdent également des fleurs résupinées, et un tépale intérieur médian transformé en labelle (Kirchoff et Kunze, 1995).

Variants homéotiques en culture et dans la nature

Bateman et Rudall ont classé les monstruosités florales naturelles des Orchidaceae en six classes de pelories et de pseudopélories (Bateman, 1985 ; Rudall et Bateman, 2002, 2003 ; Bateman et Rudall, 2006). À l'exception des pseudopélories de type A (supposée dues à une hétérochronie), les autres monstruosités impliquent une transformation homéotique d'un ou plusieurs tépales. Dans les fleurs péloriques, le type sauvage zygomorphe est complètement perdu en raison du développement d'un périanthe actinomorphe, alors que dans les fleurs pseudopéloriques, la zygomorphie est seulement moins marquée. Ces auteurs ont distingué trois catégories d'orchidées péloriques et trois pseudopéloriques en invoquant des substitutions homéotiques dans le deuxième cycle de pièces florales ou entre le premier et le deuxième (Bateman, 1985 ; Rudall et Bateman, 2002, 2003 ; Bateman et Rudall, 2006).

Pour faire des hypothèses sur l'origine génétique et développementale des fleurs tératologiques des orchidées, nous avons considéré quelques règles simples et plausibles de l'expression des gènes de type *DEF*. On suppose que dans tout organe, la fonction du gène du clade 3 a besoin de l'expression des gènes des clades 1 et 2, et que la fonction du gène du clade 4 nécessite l'expression des gènes des clades 1, 2 et 3. Une autre règle est que la perte de fonction d'un gène de type *DEF* est récessive, alors que l'expression ectopique des gènes des clades 3 ou 4 dans le périanthe conduit à un gain de fonction. Il est montré ici qu'avec ces hypothèses, toutes les catégories de fleurs tératologiques considérées par Rudall et Bateman (Rudall et Bateman, 2002 ; Bateman et Rudall, 2006) et même un autre type non analysé par ces auteurs peuvent être expliqués par des mutations des gènes de type *DEF* des clades 3 ou 4 conduisant à un gain ou une perte de fonction. La dominance ou la récessivité des allèles mutés est corrélée de façon intrigante avec la fréquence de la monstruosité en culture et dans la nature.

Pélorie de type A

Dans les pélories de type A, les tépales internes latéraux (t1 et t2) sont transformés en labelle (t3 ; Figure 1B). C'est un type de pélorie fréquemment observé en culture qui peut résulter de variation somaclonale après culture de tissu *in vitro*. A côté de ces modifications complètes, il existe des variants semi-péloriques dans lesquels les tépales internes latéraux sont partiellement transformés en labelle et qui sont également fréquents et commercialisés (Wallbrunn, 1987 ; Chen et Chen, 2007). Les pélories de type A correspondent probablement à la catégorie la plus commune de monstruosité naturelle affectant le périanthe des orchidées ; par exemple, elles ont été rapportées pour environ 25% des espèces indigènes britanniques d'orchidées, et en particulier dans plusieurs espèces de *Dactylorhiza* et *Ophrys* (Bateman et Rudall, 2006).

Selon notre théorie sur les spécifications d'identité des pièces florales des orchidées, les pélories de type A résultent de l'expression ectopique des gènes du clade 4 dans les tépales internes latéraux (Figure 4A). Notre hypothèse est basée sur le travail de Tsai *et al*. (2004) sur *Phalaenopsis equestris*, dans lequel un variant pélorique de type A montre ce type d'expression génique ectopique. Mais une mutation dans la région promotrice putative du gène de clade 2 a été montrée chez cette orchidées, ce qui a pu entraîner la perte de fonction de ce gène (Tsai *et al*., 2004). Ceci peut indiquer que les gènes *DEF* du clade 2 régulent ceux du clade 4, en empêchant leur expression ectopique dans les tépales internes latéraux, mais cette hypothèse demande à être confirmée.

Pélorie de type B

D'après les règles du code des orchidées, les pélories de type B peuvent provenir de la perte de fonction de gènes du clade 4, laissant seulement l'expression des gènes des clades 1, 2 et 3 dans le tépale interne médian qui prend donc la même identité que les tépales internes latéraux (Figure 4B). Le phénotype des pélories de type B est illustré ici par *Phragmipedium lindenii*, une forme tératologique probable de *Phragmipedium caudatum* (Figures 4B et 1A, respectivement) (Hurst, 1925 ; Bateman et Rudall, 2006 ; Mondragon-Palomino et Theißen, 2008). Un autre exemple bien connu est celui de *Calochilus imberbis*, qui a été considéré comme un « monstre plein d'espoir » (Burns-Balogh et Bernhardt, 1986), qui comme *C. robertsonii* peut se multiplier par autofécondation (Tonelli, 1999) (Figure 5). Les pélories de type B sont relativement fréquentes, mais moins que celles de type A (Bateman et Rudall, 2006).

Pélorie de type C

Les pélories de type C, d'après le code des orchidées, peuvent provenir d'une perte de fonction des gènes *DEF* du clade 3 (Figure 4C). Puisque la fonction des gènes du clade 4 est supposée dépendre des gènes du clade 3, seule l'activité des gènes des clades 1 et 2 est conservée dans tous les tépales, qui adoptent donc l'identité des tépales externes (Figure 4C). La perte de fonction des gènes du clade 3, conduisant aux pélories de type C, peut expliquer l'apparition indépendante des genres à fleur actinomorphe au sein de groupes à fleur zygomorphe de la sous-famille des Orchidoideae. Un exemple en est donné par le genre australien *Thelymitra* (tribu *Diurideae* ; Figure 4C) ou les genres monospécifiques de la tribu *Neottieae* : *Diplandorchis*, *Tangtsinia*, *Sinorchis* et *Holopogon* (Komarov, 1935 ; Chen, 1965, 1978, 1979). Plus précisément, Dressler (1993) puis Rudall et Bateman (2002) ont proposé que *Diplandorchis* et *Holopogon* soient des formes péloriques de *Neottia*, alors que *Tangtsinia* et *Sinorchis* pourraient être des variants actinomorphes de *Cephalanthera*. L'autogamie et même la cléistogamie ont probablement aidé ces monstruosités potentiellement pleines d'avenir à former des populations stables (Chen, 1965, 1979). *Thelymitra* s'est diversifié de façon remarquable pour former un nouveau genre qui a évolué avec des systèmes plus complexes de pollinisation comprenant l'imitation florale (Burns-Balogh et Bernhardt, 1986 ; Tonelli, 1999). Une hypothèse alternative moins parcimonieuse pour expliquer ce phénotype serait de considérer que toutes les pièces du périanthe ont l'identité des tépales internes latéraux (jaune). Cette forme pélorique non classée exigerait l'expression ectopique des gènes *DEF* du clade 3 dans toutes les pièces du périanthe en même temps qu'une inactivation complète du gène *DEF* du clade 4 (non illustré).

Pseudopélorie de type B

Les variants pseudopéloriques d'orchidées peuvent également être expliqués par des gains ou pertes de fonction des gènes du clade 3 (Figures 4D-F). Dans les pseudopélories de type B, le labelle prend l'identité d'un tépale externe par perte de fonction des gènes du clade 3 seulement dans le labelle, mais pas dans les tépales internes latéraux, probablement par limitation du territoire d'expression aux tépales internes latéraux (Figure 4D). Même si les gènes *DEF* du clade 4 peuvent être exprimés dans le tépale interne médian, l'identité du labelle ne se manifeste pas parce qu'elle nécessite l'expression combinée de tous les gènes *DEF* (Figure 4D).

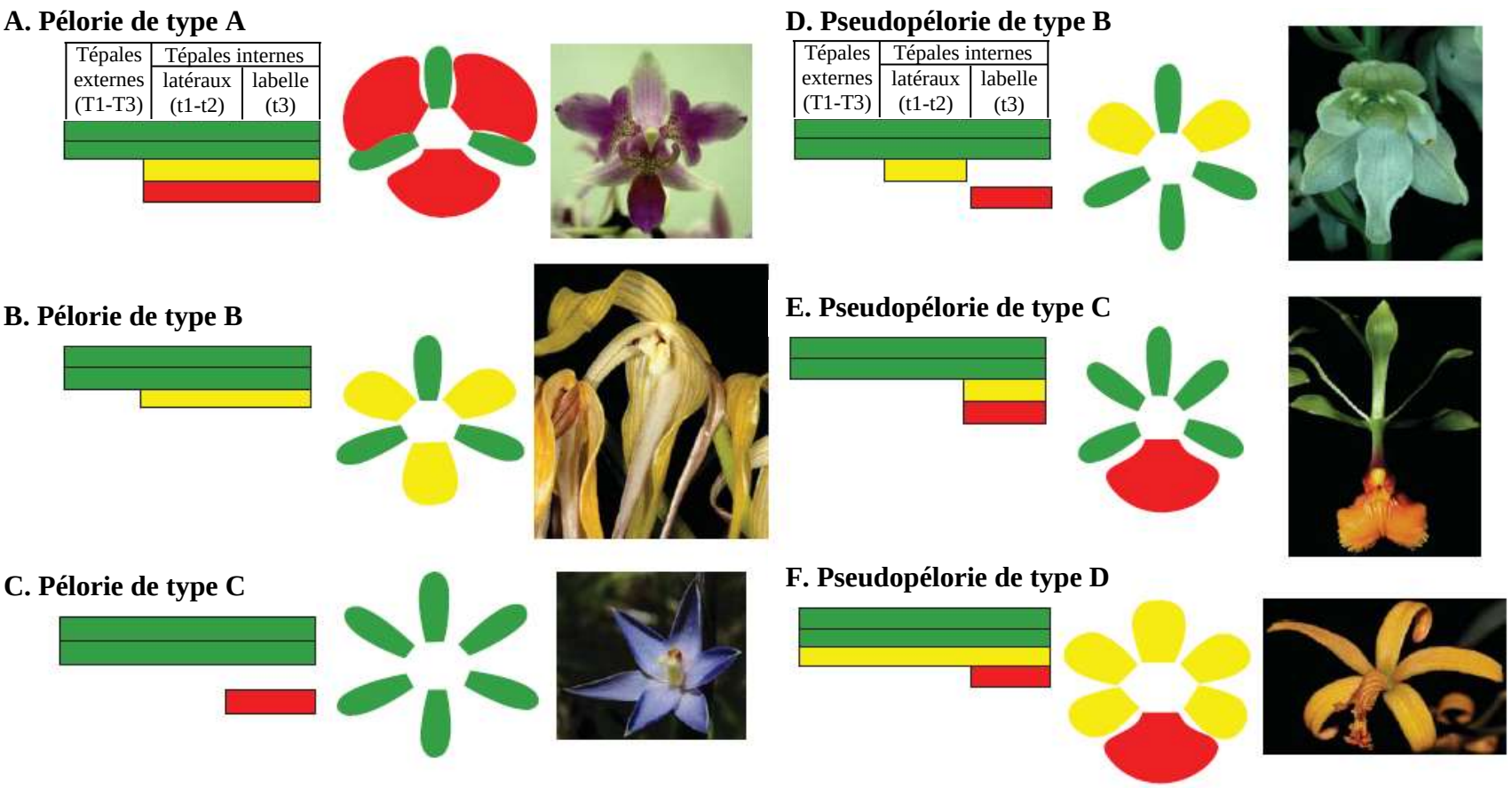


Figure 4. Monstruosités florales des orchidées expliquées par des changements dans l'expression des gènes de type *DEF*.
Pour chaque exemple, les territoires d'expression sont schématisés à gauche, l'identité des pièces selon les couleurs de la figure 2 au centre avec une illustration à droite (voir la fleur normale en Figure 2). **A** : Pélorie de type A (tépales internes latéraux transformés en labelle, expression ectopique du gène de clade 4 dans les tépales internes, exemple : *Phalaenopsis equestris*). **B** : Pélorie de type B (labelle transformé en tépale interne latéral, perte de fonction du gène du clade 4, exemple : *Phragmipedium lindenii*). **C** : Pélorie de type C (tépales internes transformés en tépales externes, perte de fonction du gène de clade 3 dans les tépales internes, exemple : *Thelymitra formosa*). **D** : Pseudopélorie de type B (labelle transformé en tépale externe, perte d'activité du gène de clade 3 seulement dans le labelle, variant de *Platanthera chlorantha*). **E** : Pseudopélorie de type C (tépales internes latéraux transformés en tépales externes, perte d'activité du gène de clade 3 seulement dans les tépales internes latéraux, exemple : *Epidendrum pseudoepidendrum*). **F** : Pseudopélorie de type D (tépales externes transformés en tépales internes latéraux, activité ectopique du gène de clade 3 dans les tépales externes, exemple non confirmé : *Cattleya alvaroana*).

Figure 5. Type sauvage et fleurs péloriques observées dans la nature chez ***Calochilus robertsonii.*** A : fleur normale ; B : fleur pélorique de type A (tépales internes latéraux transformés en labelles) ; C : fleur pélorique de type B (labelle transformé en tépale interne latéral) ; ces différentes formes sont trouvées dans la même aire de répartition en Australasie.

Pseudopélorie de type C

Dans les pseudopélories de type C, les tépales internes latéraux adoptent l'identité des tépales externes par perte de fonction des gènes du clade 3 seulement dans les tépales internes latéraux et pas dans le labelle, très probablement par limitation de leur territoire d'expression au seul labelle (Figure 4E).

Pseudopélorie de type D

Bien qu'il ne soit pas clair si les pseudopélories de type C *sensu* Bateman et Rudall (2006) sont le résultat de la conversion homéotique des tépales internes latéraux en tépales externes ou *vice versa*, notre théorie sur les spécifications d'identité des pièces florales d'orchidées permet de distinguer ces deux possibilités. Cette distinction est une première étape pour tester ces possibilités en comparant les profils d'expression des gènes de type *DEF*. Ainsi, en plus des pseudopélories de type C décrites ci-dessus nous proposons un type D de pseudopélories dans lequel tous les tépales externes sont transformés en pièces ayant pris l'identité des tépales internes latéraux, probablement par expression ectopique des gènes du clade 3 dans les tépales externes (Figure 4F).

Nous considérons que les pseudopélories de type C et de type D, dans lesquelles tous les tépales internes et externes, sauf le labelle, sont très semblables entre eux (Figures 4E, F), sont peut-être plus communes que précédemment reconnu chez les Orchidaceae. Par exemple, dans le groupe d'espèces brésiliennes de *Cattleya* (autrefois *Laelia*), les fleurs de la section Parviflorae ont un périanthe dans lequel tous les tépales excepté le labelle ont une forme, une taille et une couleur semblable (Figure 4F), donnant au périanthe un léger degré d'actinomorphie. Cette morphologie est en opposition avec celle des sections voisines *Hadrolaelia* et *Cattleyodes* (par exemple *Cattleya tenebrosa*, Figure 1A) dans lesquels toutes les espèces (Van der Berg *et al*., 2000) ont des tépales internes et externes latéraux distincts. La phylogénie moléculaire des groupes impliqués et les profils d'expression des gènes de type *DEF* aideraient à clarifier si les différences morphologiques apparentes entre ces groupes proviennent de transitions homéotiques (Figures 4E, F) ou de changements dans les gènes cibles en aval, comme discuté précédemment (Mondragon-Palomino et Theißen, 2008).

Malgré la puissance explicative du code des orchidées, quelques orchidées ont des variations florales qui ne rentrent pas facilement dans le schéma général sur l'identité des

pièces du périanthe discuté ci-dessus (Bateman et Rudall, 2006). Les tépales externes latéraux (T2 et T3) sont parfois plus semblables au labelle (t3) qu'au tépale externe médian (T1) ; de même, le tépale externe médian (T1) peut ressembler fortement aux tépales internes latéraux (t1 et t2). Des fleurs de ce type existent au niveau des espèces (par exemple *Psychopsis papilio* ; Figure 1A) et au niveau de mutants, comme *Habenaria radiata* `Hishou', une variante horticole de *H. radiata* `Ginga' (Figure 1A). Selon notre code des orchidées, dans le cas de *H. radiata* 'Hishou', les deux tépales externes latéraux et le labelle devraient exprimer des gènes *DEF* de chacun des quatre clades, alors que les autres tépales devraient exprimer seulement les gènes des clades 1, 2 et 3. Ceci nécessite à la fois l'expression ectopique d'un gène de clade 3 dans les tépales externes et celle d'un gène du clade 4 dans les tépales externes latéraux.

Dans toute cette discussion, nous avons traité des bases génétiques des transitions homéotiques affectant les pièces du périanthe. Cependant les gènes de type *DEF*, avec ceux de type *GLO*, contribuent également à l'identité des étamines chez les Angiospermes. Ainsi, on pourrait s'attendre à ce que des changements d'expression des gènes de type *DEF* impliqués dans le développement des fleurs péloriques affectent également les structures reproductrices mâles. En fait, au contraire, dans les exemples discutés ci-dessus concernant des transformations homéotiques confirmées ou probables (Figure 4), les structures reproductrices mâles ne semblent pas être affectées. Aux stades précoces du développement des pélories de type A chez *Phalaenopsis equestris* l'analyse en microscopie à balayage de Tsai *et al.* (2004) a révélé l'absence de développement d'étamines et staminodes, et la fusion des carpelles adaxiaux. La dissection des fleurs adultes d'autres hybrides de *Phalaenopsis* a conduit à leur classement en péloriques ou pseudopéloriques, en fonction du degré d'identité entre les tépales internes latéraux et le labelle modifiés. Cette analyse a montré que les fleurs pseudopéloriques ont des stigmates normaux et des anthères, alors que les fleurs complètement péloriques n'ont pas de stigmates ni de tissus des anthères et sont ainsi stériles (Wallbrunn, 1987), suggérant que les facteurs génétiques sous-jacents peuvent avoir différents degrés de pénétrance phénotypique. Bien qu'il soit clair que dans toutes les orchidées péloriques ou pseudopéloriques, la structure de la colonne demeure zygomorphe, il y a dans chaque type de monstruosité quelques exemples instructifs qui suggèrent une association entre les changements développementaux du périanthe et des étamines. Dans le cas de *Phragmipedium lindenii* (Figure 4B), chez lequel le labelle est remplacée par un tépale interne latéral (pélorie de type B), il y a une troisième anthère fertile, au contraire de tous les autres membres de Cypripedioideae qui en ont seulement deux (Hurst, 1925). La pélorie supposée de type C de *Diplandorchis sinica* montre deux étamines médianes fertiles issues des premier et deuxième verticilles de pièces florales se formant à l'extrémité du stigmate, directement opposées au tépale dorsal et au labelle (Chen, 1979). En revanche, *Tangtsinia nanchuanica*, une autre espèce actinomorphe discutée ci-dessus, a cinq emplacements de staminodes sur la colonne, qui peuvent correspondre à trois étamines du cycle intérieur et deux du cycle externe (Chen, 1965). Comme l'indique le nom *Prosthechea cochleata* var. *triandra*, probablement une pseudopélorie de type C, cette forme a trois anthères au lieu d'une trouvée habituellement dans cette espèce (Sauleda *et al.*, 1985). Néanmoins, ces relations générales entre les pélories du périanthe et les changements dans la structure des étamines ne tient pas systématiquement pour Thelymitra, le genre le plus riche en espèces candidates pour les pélories de type C. Il n'est pas encore bien établi si la structure en capuchon formée par la loge postérieure de l'anthère (le mitra) au bout de la colonne, représente des anthères modifiées ou des staminodes. A côté de cela, les pièces reproductrices de *Thelymitra* ne présentent aucune modification apparente en nombre ou en organisation (Tonelli, 1999).

De nouvelles descriptions systématiques des différents degrés de modification du périanthe et des variations associées des structures reproductrices sont nécessaires pour un

nombre plus élevé de pélories et de pseudopélories des orchidées. Les cas précédemment discutés (Figure 4) incluent des situations d'autogamie, de cléistogamie, de pollinisation par des animaux, ce qui suggère que les changements péloriques des organes reproducteurs ne conduisent pas systématiquement à la stérilité.

Vu la très grande diversité des fleurs d'orchidée, il est clair que la nature nous offre une grande gamme de matériel pour tester la théorie du code des orchidées en déterminant pour les différentes pièces florales, la spécificité de l'expression de différents gènes de type *DEF* et *CYC* par hybridation d'ARN, hybridation *in situ* ou RT-PCR quantitative.

La fleur des orchidées : une structure reproductrice dé-contrainte

Comme souligné ci-dessus, les mutations homéotiques ont probablement contribué à la diversification des fleurs des orchidées au cours de leur l'évolution. Il est supposé que des changements morphologiques reposent sur des changements d'expression de gènes de type *DEF* ou de gènes commandant leur expression. Les accroissements ou réductions des territoires ou des intensités d'expression des gènes de développement ont conduit à des changements d'identité des pièces florales, telle que la transformation des tépales internes latéraux en labelle ou *vice versa*. Malgré une apparition sporadique de mutants homéotiques dans beaucoup de populations d'orchidées (sinon toutes), ils tendent à être éphémères, vraisemblablement parce qu'ils ne sont pas souvent pollinisés (Bateman et Rudall, 2006). Par exemple, même les pélories de type A, les plus fréquentes, ne mènent pas à de nouvelles espèces. Même la célèbre *Cattleya intermedia* var. *aquinii* d'origine naturelle est considéré seulement comme une variété. Les pélories de type B sont également fréquentes, mais elles aussi conduisent rarement à une spéciation, avec une exception remarquable, celle de *Phragmipedium lindenii* (Hurst, 1925 ; Bateman et Rudall, 2006 ; Mondragon-Palomino et Theißen, 2008). Ainsi, l'obtention de variants homéotiques n'est pas le mécanisme le plus efficace de diversification des fleurs d'orchidées : les changements d'identité de pièce florale sont probablement des événements rares dans l'évolution des orchidées. Ceci ne signifie cependant pas qu'ils n'ont joué aucun rôle majeur sur l'origine d'autres groupes de plantes (Ronse de Craene, 2003 ; Theißen, 2006).

Vu la diversité florale des orchidées (partiellement illustrée par la Figure 1), il est probable que l'élaboration différentielle des pièces spécifiques du périanthe, sans changement d'identité des pièces, ait été un mécanisme beaucoup plus important de diversification florale. Par exemple, bien qu'il soit encore reconnaissable comme un labelle, le tépale interne médian se peut se développer de diverses façons. À maturité, il peut ressembler aux tépales internes latéraux ou aux tépales externes, mais il peut également en être nettement différent (Figure 1A). Le labelle peut être beaucoup plus grand ou beaucoup plus petit que les autres tépales, avoir ou non une couleur différente, les mêmes motifs de coloration, les mêmes ornementations, porter ou non un éperon nectarifère. Il peut se développer en une pièce pratiquement plate comme les autres tépales, mais il peut également former des structures complexes telles qu'un tube ou un sabot. En fait, c'est évidemment la possibilité de variation qu'ont les pétales et particulièrement le labelle, qui se développe indépendamment des autres, qui constitue la principale source de diversification évolutive des fleurs d'orchidées. En considérant que notre théorie sur l'identité des pièces du périanthe des orchidées (le code des orchidées) est correcte, il semble, sans être trop spéculatif, que les quatre classes de gènes paralogues *DEF* permettant l'« adressage » séparé des divers types de tépales leur ont permis d'évoluer indépendamment. Les tépales des fleurs comme celles des lis et des tulipes (comme les pétales des eudicotylédones) sont probablement sous le contrôle du même ensemble de gènes homéotiques floraux, incluant les gènes *DEF* et *GLO* (Kanno *et al.*, 2003) ; les tépales externes, les tépales internes latéraux et le labelle des orchidées sont contrôlés par différents jeux de gènes avec des territoires d'expression emboîtés (Figure 3). Des modifications du

périanthe des orchidées, dus à des mutations peuvent facilement concerner seulement les tépales intérieurs dans le cas de mutation de gènes du clade 3 ou de leurs cibles, ou le labelle dans le cas de mutation de gènes du clade 4 ou de leurs cibles. Ceci peut expliquer pourquoi le labelle est la pièce la plus diversifiée. Un scénario semblable est peu probable chez les Monocotylédones qui possèdent des tépales tous identiques, tels que les lis et d'autres espèces similaires. Une modification par mutation d'un tépale serait certainement accompagnée des mêmes changements de tous les autres tépales en raison d'un contrôle génétique commun du développement (pléiotropie). Ainsi, l'évolution des quatre classes de gènes paralogues de type *DEF* ont « modularisé » le périanthe des orchidées de telle manière que les tépales internes ont pu évoluer de façon semi-indépendante des tépales externes, et de même pour le labelle avec les tépales internes latéraux. De cette façon, l'évolution des gènes paralogues de type *DEF* a pu libérer le potentiel évolutif du périanthe, en rompant les contraintes liées à l'interdépendance pléiotropique des tépales. A partir du moment où ces contraintes ont été relâchées par la modularisation, les différentes classes de tépales produites pouvaient évoluer de façon semi-indépendante et une diversification morphologique presque explosive a eu lieu, conduite en grande partie par l'adaptation des fleurs d'orchidées aux différentes catégories de pollinisateurs. L'indépendance de l'évolution est probablement restée toute relative car, en fait, quelques gènes du contrôle développemental (tels que les gènes de type *DEF* des clades 1 et 2, et les gènes de type *GLO*) sont nécessaires au développement de tous les pétales.

Par exemple, imaginez une orchidée avec des tépales blancs (comme certains *Phalaenopsis*) ou verdâtres (comme *Vanilla imperialis*, Figure 1A) pour laquelle seul le labelle est coloré en pourpre par des anthocyanines. Des travaux sur des plantes modèles comme *Antirrhinum majus* et *Zea mays* (Grotewold, 2006), et aussi sur des orchidées (Chiou et Yeh, 2008), ont montré que la production d'anthocyanine dépend de l'expression d'enzymes clés, telles que la chalcone synthase, la chalcone isomérase (CHI), la flavanone 3-hydroxylase, la dihydroflavonol 4-réductase (DFR) et d'autres. L'expression des gènes correspondants est sous le contrôle de facteurs de transcription des familles bHLH et MYB ; parmi ces derniers le gène OgMYB1 de l'hybride *Oncidium* Gower Ramsey active *CHI* et *DFR* (Chiou et Yeh, 2008). Les anthocyanines peuvent être produites dans différentes pièces florales et d'autres parties de la plante en fonction de l'expression des enzymes concernés. Ainsi, quand seulement le labelle produit des anthocyanines, les gènes *DEF* du clade 4 sont probablement nécessaires et suffisants pour activer la voie de biosynthèse complète, peut-être en induisant les gènes régulateurs *bHLH* et *MYB* comme cela a été montré pour d'autres gènes spécifiques de pétales chez *Antirrhinum majus* (Perez-Rodriguez *et al.*, 2005). Dans le cas où tous les tépales internes, ou même tous les tépales, produisent des anthocyanines (situation fréquente chez les orchidées), les gènes du clade 3 ou même les gènes des clades 1 ou 2 pourraient être suffisants pour activer la voie de biosynthèse des anthocyanines. Cet exemple simple tente d'expliquer comment des changements évolutifs dans les relations entre gène paralogues de spécification des pièces du périanthe de type *DEF* et leurs cibles peuvent avoir contribué à la diversification des fleurs des orchidées.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Nous avons analysé l'hypothèse de la modularisation du périanthe des fleurs d'orchidées par quatre gènes paralogues d'identité des pièces florales de classe B de type *DEF* suite à une série complexe d'événements de sous-fonctionnalisation et de néo-fonctionnalisation. Ces gènes ont pu conduire à un relâchement des contraintes, de telle sorte que les différentes catégories de tépales ont pu évoluer individuellement et souvent de manière nettement différente. Nous soutenons ainsi qu'une prédisposition génétique du développement, unique aux orchidées a pu jouer un rôle important dans la diversification florale de cette famille.

C'est une avancée importante de la biologie évolutive du développement (évo-dévo) que l'organisation interne des organismes, en particulier le contrôle génétique de leur développement, peut influencer le rythme et l'orientation des changements évolutifs (voir Brakefield, 2003). De façon générale, les duplications de gènes augmentent la tolérance aux mutations des organismes et favorisent de ce fait les innovations évolutives (Wagner, 2008). En supposant que notre hypothèse sur le code des orchidées est correcte, nous ne voyons pas beaucoup d'autres systèmes qui montrent une relation si forte entre les duplications de gènes et l'apparition de nouveautés évolutives impliquées directement dans la spéciation. Nous sommes convaincus que la fleur des orchidées constitue un excellent modèle pour les prochaines études d'évo-dévo destinées à une meilleure compréhension des relations entre l'évolution des gènes du développement et les modifications morphologiques conduisant à une spéciation. Ceci ne pourra être réalisé qu'une fois que les méthodes de validation des fonctions des gènes, comme la transformation génétique et le « silencing » des gènes par des constructions virales, seront optimisées chez les orchidées (Lu *et al*., 2007). A ce titre, le développement d'une orchidée modèle diploïde avec un cycle de vie rapide et une petite taille de génome apparaît nécessaire pour les recherches futures, et ceci est déjà en cours (Mark Chase, Royal Botanical Gardens, Kew, et Barbara Gravendeel, National Herbarium, Leiden, communications personnelles, novembre 2007). Le grand nombre d'orchidées à fleurs péloriques ou pseudopéloriques peut déjà être utilisé pour tester les hypothèses du code des orchidées et ses conséquences sur leur évolution florale.

Remerciements

Nous remercions Mark Chase, Paula Rudall, Richard Bateman et Rainer Melzer pour leurs commentaires utiles sur le manuscrit, Pia Nutt pour les schémas et Thomas Wolf pour son aide aux photographies. Nous remercions les collègues suivants qui nous ont autorisé à utiliser leur photographies : A. Kocyan (*Apostasia wallichii*), A. Kanno et S. Y. Kim (*Habenaria radiata*), T. Kusibab (*Phragmipedium caudatum* et *P. lindenii*), H. Schildauer et W. Schraut (*Vanilla imperialis*, *Ophrys apifera*, *Aerangis fastuosa*, *Telipogon intis*, *Cattleya alvaorana*, *C. tenebrosa*, *Epidendrum pseudoepidendrum*), Hans Wapstra pour l'image de la pélorie de type B de *Calochilus robertsonii*, James wood (type sauvage et pélorique de type A de *Calochilus robertsonii*), Michael Pratt (*Thelymitra formosa*) et Richard Bateman et Robin Bush (pélorie de *Platanthera chlorantha*). Ce travail a été soutenu par la fondation Volkswagen (I/81 901 à M.M.P. et G.T.).

Bibliographie

Arditti J. 2002. Resupination. In: Arditti J, Nair H, eds. Proceedings of the 17th World Orchid Conference, Shah Alam, Malaysia, published in 2005. Borneo: Natural History Publications, 111–121.

Bateman R.M. 1985. Peloria and pseudopeloria in British orchids. Watsonia. 15: 357–359.

Bateman R.M. & Rudall P.J. 2006. The good, the bad and the ugly: using naturally occurring terata to distinguish the possible from the impossible in orchid floral evolution. Aliso 22: 481–496.

Brakefield P.M. 2003. The power of evo-devo to explore evolutionary constraints: experiments with butterfly eyespots. Zoology 106: 283–290.

Burns-Balogh P. & Bernhardt P. 1986. Floral evolution and phylogeny in the tribe Thelymitreae. Plant Systematics and Evolution 159: 19–47.

Chen F.C. & Chen W.H. 2007. Somaclonal variation in orchids. In: Chen WH, Chen HH, eds. Orchid biotechnology. Singapore: World Scientific Publishing Co, 65–76.

Chen S.C. 1965. A primitive new orchid genus Tangtsinia and its meaning in phylogeny. Acta Phytotaxonomica Sinica 10: 193–207.

Chen S.C. 1978. Sinorchis, a primitive new genus of Orchidaceae from China. Acta Phytotaxonomica Sinica 16: 82–85.

Chen S.C. 1979. On Diplandorchis, a very primitive and phylogenetically significant new genus of Orchidaceae. Acta Phytotaxonomica Sinica 17: 1–6.

Chiou C.Y. & Yeh K.W. 2008. Differential expression of MYB gene (OgMYB1) determines color patterning in floral tissue of Oncidium Gower Ramsey. Plant Molecular Biology 66: 379–388.

Cozzolino S. & Widmer A. 2005. Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? Trends in Ecology and Evolution 20: 487–492.

Darwin C.R. 1862. On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects, and on the good effects of intercrossing. London: John Murray.

Dressler R.L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Portland, OR: Discorides Press.

Grotewold E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. Annual Review of Plant Biology 57: 761–780.

Hurst C.C. 1925. Experiments in genetics. Cambridge: Cambridge University Press.

Jersakova J., Johnson S.D. & Kindlmann P. 2006. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society 81: 219–235.

Johnson S.D., Linder H.P., Steiner K.E. 1998. Phylogeny and radiation of pollination systems in Disa (Orchidaceae). American Journal of Botany 85: 402–411.

Kanno A., Saeki H., Kameya T., Saedler H. & Theissen G. 2003. Heterotopic expression of class B floral homeotic gene supports a modified ABC model for tulip (Tulipa gesneriana). Plant Molecular Biology 52: 831–841.

Kirchoff B.K. & Kunze H. 1995. Inflorescence and floral development in Orchidantha maxillarioides (Lowiaceae). International Journal of Plant Sciences 156: 159–171.

Kocyan A. & Endress P.K. 2001. Floral structure and development of Apostasia and Neuwiedia (Apostasioideae) and their relationships to other orchids. International Journal of Plant Science 162: 847–867.

Komarov V.L. 1935. Liliiflorae and Microspermae. In: Komarov VL, ed. Flora of the USSR. Koenigstein: Bishen Singh Mahendra Pal Singh and Koeltz Scientific Books, 571–572.

Lu H.C., Chen H.H. & Yeh H.H. 2007. Application of virus-induced gene silencing technology in gene functional validation of orchids. In: Chen WH, Chen HH, eds. Orchid biotechnology. Singapore: World Scientific Publishing, 211–223.

Mondragón-Palomino M. & Theißen G. 2008. MADS about the evolution of orchid flowers. Trends in Plant Science 13: 51–59.

Nair H. & Arditti J. 1991. Resupination in orchids. III. Effects of indoleacetic, naphthaleneacetic and gibberellic acids and benzyladenine on buds and flowers of Aranda Kooi Choo. Lindleyana 6: 154–161.

Nyman L.P., Soediono N. & Arditti J. 1985. Resupination in flowers of two Dendrobium (Orchidaceae) hybrids: effects of nodal position and removal of floral segments. Botanical Gazette 146: 181–187.

Perez-Rodriguez M., Jaffe F.W., Butelli E., Glover B.J. & Martin C. 2005. Development of three different cell types is associated with the activity of a specific MYB transcription factor in the ventral petal of Antirrhinum majus flowers. Development 132: 359–370.

Ronse De Craene L.P. 2003. The evolutionary significance of homeosis in flowers: a morphological perspective. International Journal Plant Science 164 (Suppl. 5): 225–230.

Rudall P.J. & Bateman R.M. 2002. Roles of synorganisation, zygomorphy and heterotopy in floral evolution: the gynostemium and labellum of orchids and other lilioid monocots. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society 77: 403–441.

Rudall P.J. & Bateman R.M. 2003. Evolutionary change in flowers and inflorescences: evidence from naturally occurring terata. Trends in Plant Science 8: 76–82.

Sauleda R.P., Wunderlin R.P. & Hansen B.F. 1985. Transfers in Florida orchids. Phytologia 56: 308.

Schlüter P.M. & Schiestl F.P. 2008. Molecular mechanisms of floral mimicry in orchids. Trends in Plant Science 13: 228–235.

Theißen G. 2006. The proper place of hopeful monsters in evolutionary biology. Theory in Biosciences 124: 349–369.

Theißen G. & Saedler H. 2001. Floral quartets. Nature, 409: 469-471

Tonelli P. 1999. In: Jones DL, Wapstra H, Tonelli P, Harris S, eds. The orchids of Tasmania. Carlton South, VIC: Melbourne University Press.

Tremblay R. 1992. Trends in pollination biology of the Orchidaceae: evolution and systematics. Canadian Journal of Botany 70: 642–650.

Tsai W.C., Kuoh C.S., Chuang M.H., Chen W.H. & Chen H.H. 2004. Four DEF-like MADS box genes displayed distinct floral morphogenetic roles in Phalaenopsis orchid. Plant Cell Physiology 46: 831–844.

Van der Berg C., Higgins W.E., Dressler R.L., *et al*. 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. Lindleyana 15: 96–114.

Wagner A. 2008. Gene duplications, robustness and evolutionary innovations. BioEssays 30: 367–373.

Wallbrunn H. 1987. Peloria in orchids. Orchid Reviews 95: 360–367. Xu Y, Teo LL, Zhou J, Kumar PP, Yu H. 2006. Floral organ identity genes in the orchid Dendrobium crumenatum. The Plant Journal 46: 54–68.

Wellmer F., Alves-Ferreira M., Dubois A., Riechmann J.L.& Meyerowitz E.M. 2006. Genome-wide analysis of gene expression during early *Arabidopsis* flower development. *PLoS Genet.*, 2: 1012-1024.

Diversité génétique et cytogénétique des vanilliers

Séverine BORY[1-3], Spencer BROWN[2], Michel GRISONI[3], Marie France DUVAL[4] & Pascale BESSE[1]

1) Université de La Réunion, UMR PVBMT Cirad - Université de La Réunion, 15 avenue René Cassin, BP 7151, 97715 Saint Denis messag cedex 9, La Réunion, France
2) CNRS, Groupe « Dynamique de la compartimentation cellulaire », Institut des Sciences du Végétal, UPR 2355, bat 23/24, 91198 Gif-sur-Yvette
3) CIRAD, UMR PVBMT Cirad - Université de La Réunion, Pôle de Protection des Plantes, 7 chemin de l'IRAT, 97410 Saint Pierre, La Réunion, France
4) CIRAD, UPR Multiplication Végétative, Boulevard de la Lironde, TA A-75/02, 34398 Montpellier cedex 5

Abstract – **Genetic and cytogenetic diversity of vanilla** The genus *Vanilla* belongs to the Orchidaceae family and comprises about 110 species. Among the 18 to 35 aromatic species of the genus, two main species are cultivated: *V. planifolia* G. Jackson syn *V.fragrans* (Salisb) Ames, supplying around 95% of the pods sold on the international market, and *V. tahitensis* JW Moore, cultivated in the Pacific area. *V. planifolia* was initially cultivated in the South-East of Mexico, a region supposed to be its centre of origin, and was disseminated first to the Caribbean Islands, then to the Indian and Pacific Ocean regions. Although originating from a narrow genetic basis and clonally propagated, the accessions cultivated in La Reunion Island display an important phenotypic variation with five recognized morphotypes.

To explain this variation and to study that of cultivated *Vanilla* species, an important germplasm collection of *Vanilla* species and varieties has been gathered in La Reunion Island since 2003. A sample including representatives of the two cultivated plus two spontaneous American species was constituted and studied using both molecular markers and cytogenetics. AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism) marker analysis allows a clear separation of the four species studied. *V pompona* Schiede accessions display the highest diversity, which can be explained by a mixed clonal/sexual reproductive system and an extensive distribution. On the contrary, the spontaneous Brazilian species *V. bahiana* Hoehne, whose distribution is restricted to the Bahia region, displays a much lower diversity. Both cultivated species *V. planifolia* and *V. tahitensis* display a low intraspecific genetic diversity consistent with the predominant vegetative reproduction system.

The *V. planifolia* accessions were analysed separately and their high intraspecific homogeneity was confirmed, showing that they originate from a limited number of introduced samples (possibly one). The phenotypic variation observed could not be correlated with particular genotypes, except for the morphotype "Aiguille" cultivated in La Reunion Island. Comparison of "Aiguille" with individuals obtained from manual self-pollination points towards the probable sexual origin of this morphotype. Numerous point mutations could be detected among the other accessions but could not explain the phenotypic variations observed. Nevertheless, the cytogenetic analysis indicated three ploidy levels (2x, 3x and 4x) correlated with some observed morphological variations (stomatal length, leaf size).

Thus, four of the five different morphotypes observed in La Reunion could be explained: the "Classique" diploid represents the most common variety; "Aiguille" originates from a rare event of sexual self-reproduction of 'Classique' (spontaneous or directed); while the "Sterile" is autotriploid and the "Grosse vanilla"autotetraploid. This study demonstrates the important role of polyploidisation, which has also been observed in other *Vanilla* species studied and is probably a major mechanism in the evolution of the genus.

Résumé – Dans la famille des Orchidaceae, le genre *Vanilla* comprend environ 110 espèces dont 18 à 35 sont aromatiques. Deux espèces aromatiques sont principalement cultivées et commercialisées : *V. planifolia* G. Jackson syn. *V. fragrans* (Salisb.) Ames et *V. tahitensis* J.W. Moore. Le Sud-Est du Mexique est la plus ancienne zone de culture connue de *V. planifolia* et est supposé être sa zone d'origine. *V. planifolia* a ensuite été dispersée vers les Antilles et les îles de l'Océan Indien et du Pacifique. *V. tahitensis* est cultivée quant à elle essentiellement dans l'Océan Pacifique et son origine reste controversée. Le matériel végétal utilisé en culture présente une variabilité phénotypique inter et intra-spécifique importante. Des variétés sont identifiées par les producteurs de *V. planifolia* au Mexique et à La Réunion, tout comme chez *V. tahitensis* en Polynésie. Cette diversité phénotypique observée s'est créée à partir d'une base génétique étroite. La vanille étant propagée essentiellement par voie végétative, les possibilités de recombinaison sexuée sont rares et l'origine et l'évolution de la variabilité sont inconnues.

Comment se structure la diversité inter-spécifique ? Comment se situe la diversité intra-spécifique de *V. planifolia* à La Réunion et dans l'Océan Indien par rapport à sa diversité dans sa zone d'origine, le Mexique, et par rapport à la diversité d'autres espèces (cultivées ou spontanées) ? Quelle est l'origine de la diversité phénotypique observée à La Réunion chez *V. planifolia* ? C'est pour répondre à ces questions qu'une importante collection de vanilliers cultivés et apparentés a été rassemblée à La Réunion. Nous présentons ici deux approches utilisées pour son étude : une approche génétique par le biais de marqueurs nucléaires (AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism) et SSR (Simple Sequence Repeats), et une approche cytogénétique (cytométrie de flux, microdensitométrie et comptages chromosomiques).

L'analyse de la diversité génétique par AFLP a permis de distinguer aisément les quatre espèces américaines étudiées. *V. pompona* Schiede est l'espèce présentant la plus grande diversité génétique, ce qui peut être expliqué par un régime mixte de reproduction (végétative et sexuée) et une large aire de répartition. A contrario, l'espèce *V. bahiana* Hoehne spontanée au Brésil, mais présentant une aire de distribution restreinte, présente un niveau de diversité génétique plus faible. Il existe une grande homogénéité génétique intra-spécifique pour les espèces cultivées *V. planifolia* et *V. tahitensis*, directement corrélée avec leur mode de reproduction végétative, qui n'explique pas toutes les variations phénotypiques observées entre les différents types morphologiques de ces espèces. La combinaison des marqueurs AFLP et microsatellites a par ailleurs mis en évidence l'occurrence d'événements d'hybridation naturelle entre les espèces américaines.

En ce qui concerne la variation morphologique observée à La Réunion, une faible partie correspond à une diversité génétique réelle et pour le cas de la variété « Aiguille », on a pu révéler une intervention rare de la reproduction sexuée. De nombreuses mutations ponctuelles aléatoires ont également été mises en évidence mais elles ne permettent pas d'expliquer la variation morphologique observée et n'ont pu être reliées aux phénotypes reconnus. En revanche, l'analyse cytogénétique a mis en évidence trois niveaux de ploïdie différents (2x, 3x, 4x) chez *V. planifolia* à La Réunion, parfaitement corrélés avec les variations morphologiques (tailles des stomates et forme des feuilles). Des variations de tailles de génome ont aussi été révélées chez les autres espèces de *Vanilla* étudiées. Ces phénomènes d'auto-polyploïdisation, supposés récents, jouent donc un rôle majeur dans l'évolution des vanilliers cultivés, et possiblement dans l'évolution du genre *Vanilla*.

LES VANILLES CULTIVEES

Le genre *Vanilla*, monophylétique, représente une branche ancienne dans la famille des Orchidaceae (Soto Arenas, 1999). Son aire de répartition se situe entre les parallèles 27°N et

27°S et recouvre l'Amérique tropicale (52 espèces), le Sud-Est asiatique et la Nouvelle Guinée (31), l'Afrique (14), l'Océan Indien (10) et le Pacifique (3) (Portères, 1954). Selon les auteurs, 18 (Portères, 1954) à 35 (Soto Arenas, 1999) espèces de *Vanilla,* majoritairement américaines, sont aromatiques. Deux d'entre elles sont cultivées : *Vanilla planifolia,* et à une échelle beaucoup plus modeste, *Vanilla tahitensis,* toutes deux rattachées à la branche américaine de la section *Foliosae*, sous-section *Lamellosae* (Portères, 1954).

L'espèce *Vanilla planifolia* représente plus de 95% de la production mondiale de vanille. C'est une liane pérenne, rare, endémique des forêts tropicales humides mésoaméricaines (Portères, 1954 ; Soto Arenas, 1999). L'origine de sa domestication est incertaine ; une hypothèse récente suggère que l'espèce aurait été sélectionnée avec un groupe de plantes originaire des basses terres Maya avant 3400-BC (Colunga-GarciaMarin & Zizumbo-Villareal, 2004). Sa plus ancienne mention connue remonte à des archives de production de 1427 (Stehlé, 1952). Un herbier aztèque de 1552 reporte son usage, pour aromatiser les boissons au chocolat prisées par la noblesse aztèque, et en tant que plante médicinale (Bruman, 1948). Après la conquête européenne, la première mention de diffusion de la vanille concerne l'introduction de *V. planifolia* en Martinique par le Père Labat en 1697, à partir du Mexique. Entre 1793 et 1875, cinq événements d'introduction de vanille dans l'Ile de La Réunion ont été recensés (Bory *et al.*, 2008a) mais ce n'est qu'après l'introduction en 1822 par Marchant de *V. planifolia* provenant des Jardins du Roy à Paris, que des plants auraient survécu et seraient à l'origine de la culture de la vanille dans cette île.

En conditions naturelles, les pollinisateurs seraient *Eulaema* et *Euglossa,* et le mode de fécondation indifféremment autogame ou allogame, y compris avec d'autres espèces de *Vanilla*. Cependant la reproduction sexuée est rarement observée (1-3% de fleurs donnant des fruits selon Soto-Arenas). Dans les zones d'introduction, les plants de vanille sont restés improductifs du fait du manque de pollinisateurs naturels jusqu'en 1841, date à laquelle Edmond Albius découvrit une méthode simple de pollinisation manuelle à La Réunion. A la suite de cette découverte la diffusion de la vanille connût un nouvel essor dans l'Océan indien et dans le monde.

Introduite à Tahiti depuis les Philippines par l'amiral Hamelin en 1848 (Portères, 1954), *V. tahitensis* est cultivée en Polynésie et représente 5% de la production totale de gousses. Son origine est restée longtemps discutée, avec l'hypothèse d'une origine inter-spécifique impliquant *V. planifolia* et selon les auteurs et les caractères morphologiques étudiés, un représentant du complexe *V. pompona*-*V. odorata* (Portères, 1951 ; Soto Arenas, 1999) ou *V. pompona* (Portères, 1954). Une étude génétique récente incluant des accessions polynésiennes et mexicaines a conclu que *V. tahitensis* est un hybride inter-spécifique entre les espèces *V. planifolia* et *V. odorata* (Lubinsky *et al.*, 2008a).

On considère généralement que la culture de *V. planifolia* est issue d'une base génétique étroite. Le mode de multiplication végétatif de la vanille a ensuite maintenu une forte homogénéité de la culture. Cependant, on observe à La Réunion une diversité phénotypique notable et plusieurs types sont identifiés (Figure 1). La variété la plus répandue, « Classique », est reconnaissable à sa couleur vert clair, ses feuilles aplaties et ses gousses étrécies à la base. Un deuxième type fréquent dénommé « Mexique » ou « Bleue » présente des feuilles plus foncées avec une gouttière centrale et des gousses cylindriques. D'autres variétés plus rares sont identifiées par les producteurs : « Aiguille » identifiable par l'étroitesse de ses feuilles et de ses gousses ; « Grosse Vanille » que sa tige et ses feuilles épaisses rapprochent de l'espèce *V. pompona* ; « Stérile », similaire à « Classique » mais auto-stérile ; « Variegata » à feuilles striées (Bory *et al.*, 2008a). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette variabilité, parmi lesquelles :

- des introductions de matériel végétal d'origines différentes
- l'intervention possible de la reproduction sexuée

- l'accumulation de mutations somatiques propagées par multiplication végétative
- la polyploïdisation.

Les études présentées ont été conduites à Montpellier puis à La Réunion pour tester ces différentes hypothèses. Pour les mener à bien, une collection des ressources génétiques de la vanille a été constituée et regroupe 498 accessions appartenant à 36 espèces de *Vanilla*. Parmi ces accessions, 250 (13 espèces) ont été obtenues et sont conservées sous forme d'ADN ; 248 (23 espèces) parmi lesquelles 147 ont été indexées et maintenues indemnes de virus, sont conservées en serre au CIRAD (La Réunion), dans une collection récemment labellisée CRB Vatel (Grisoni *et al.*, 2007).

Figure 1. Divesité des variétés de vanille cultivées à l'île de la Réunion.

Etude de la diversité génétique

Un échantillon de la diversité génétique totalisant 375 accessions a été constitué (Tableau 1) à partir de la collection. Un total de 289 accessions de *V. planifolia* incluant les six phénotypes observés à La Réunion ainsi que des échantillons de différentes origines obtenus par prospection (Océan Indien, Polynésie Française, Antilles) ou par échange (Mexique, Costa Rica, Brésil et Guatemala), et une descendance obtenue par auto-fécondation, a été sélectionné. Des accessions (11) de *V. tahitensis* fournies par l'Etablissement Vanille de Tahiti ont également été étudiées pour fournir une base de

comparaison de la variabilité avec une autre espèce cultivée. Pour comparer les niveaux de variabilité entre espèces cultivées et spontanées, l'échantillon comprend également 21 accessions de *V. pompona*, espèce spontanée dispersée en Amérique Centrale et en Amérique du Sud jusqu'au Paraguay, ainsi que 16 accessions de *V. bahiana*, endémique du Nord-Est brésilien, récemment prospectées par le MNHN (Pignal, 1994). Une accession de *V. odorata*, espèce présente dans les vanilleraies mexicaines et parente de *V. tahitensis* a été incluse ainsi que 6 hybrides inter-spécifiques provenant d'un programme d'amélioration conduit à Madagascar (FOFIFA, 1990). Enfin 31 accessions non classées provenant de Jardins Botaniques ont été également analysées pour une éventuelle classification.

Tableau 1. Matériel végétal du genre *Vanilla* utilisé pour les analyses génétiques.

Espèce	Nombre d'accessions	Provenance
V. planifolia	289	Océan Indien, Polynésie Française, Antilles, Mexique, Costa Rica, Brésil, Guatemala
V. tahitensis	11	Polynésie Française (EVT), Madagascar, PNG
V. pompona	21	Océan Indien, Guyane, Guadeloupe, Jardins Botaniques
V. bahiana	16	Brésil (MNHN)
V. odorata	1	inconnue
V. hybrides	6	Madagascar
V. sp	31	Océan Indien, Guyane, Costa, Rica, Brésil, Jardins Botaniques
	375	

*EVT : Etablissement Vanille de Tahiti ; MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle

Les marqueurs AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) sont des marqueurs neutres et dominants. Ils ont été choisis pour leur large couverture du génome, l'aptitude de la méthode à générer de nombreux marqueurs polymorphes et sa grande fiabilité. Sept couples d'amorces ont été utilisés et ont généré entre 81 et 205 fragments par couple avec un taux de polymorphisme variant entre 94.7 et 98.8%. Les 942 marqueurs obtenus ont permis de calculer les dissimilarités entre accessions (indice de Sokal et Michener) et de construire une représentation arborée de la diversité par la méthode du Neighbour Joining (Bory *et al.*, 2008b).

La représentation de la diversité globale obtenue (Figure 2) montre une grande cohérence avec les éléments connus de la classification et permet de différencier nettement les espèces étudiées. L'espèce la plus proche de *V. planifolia* est *V. tahitensis*, ce qui confirme le lien de parenté étroit entre ces deux espèces. *V. pompona* et *V. bahiana*, espèces spontanées sud-américaines, sont les plus éloignées. Les hybrides connus sont bien placés à des positions intermédiaires entre leurs parents. Parmi les accessions non classées, 21 ont pu être attribuées et 10 restent dans des positions intermédiaires, parfois proches d'hybrides inter-spécifiques connus.

La variabilité intra-spécifique est modérée pour les espèces cultivées (dissimilarités intraspécifiques maximum de 0.220 pour *V. planifolia* et 0.161 pour *V. tahitensis*) mais également pour *V. bahiana* (0.164) alors que *V. pompona* se caractérise par une plus grande variabilité. Cette différence observée entre les espèces spontanées peut être attribuée à leurs distributions respectives, restreinte au Nord-Est brésilien pour *V. bahiana* (Pignal, 1994) alors qu'elle s'étale de l'Amérique Centrale au Paraguay dans le cas de *V. pompona*.

Une représentation de la diversité des *V. planifolia* a été construite séparément (Figure 3), en incluant les accessions non classées attribuées à cette espèce. Une grande partie des accessions (284) est représentée par 101 génotypes fortement regroupés avec une dissimilarité maximale de 0.106 (le plus représenté de ces génotypes incluant 122 accessions) malgré des origines et des phénotypes divers. Le calcul des fréquences alléliques des 185 marqueurs polymorphes dans ce groupe montre que pour une très forte majorité de ces marqueurs (172), les fréquences alléliques sont comprises dans les intervalles 0-10% et 90-100%. La composition de ce groupe, qui rassemble des variétés d'origine mexicaine présentant de faibles divergences, les phénotypes réunionnais « Classique », « Mexique », « Grosse Vanille », « Stérile », « Variegata » et des accessions de diverses origines (Madagascar, Polynésie Française, Antilles) conforte l'hypothèse d'une origine unique des introductions. La répartition des fréquences alléliques correspond bien à un génotype initial reproduit végétativement et diversifié par l'accumulation de mutations somatiques. Ces résultats concordent avec les résultats d'études récentes qui ont montré que les plants diffusés par les Européens seraient apparentés aux plants actuellement cultivés dans la région de Papantla au Mexique (Lubinsky *et al.*, 2008b).

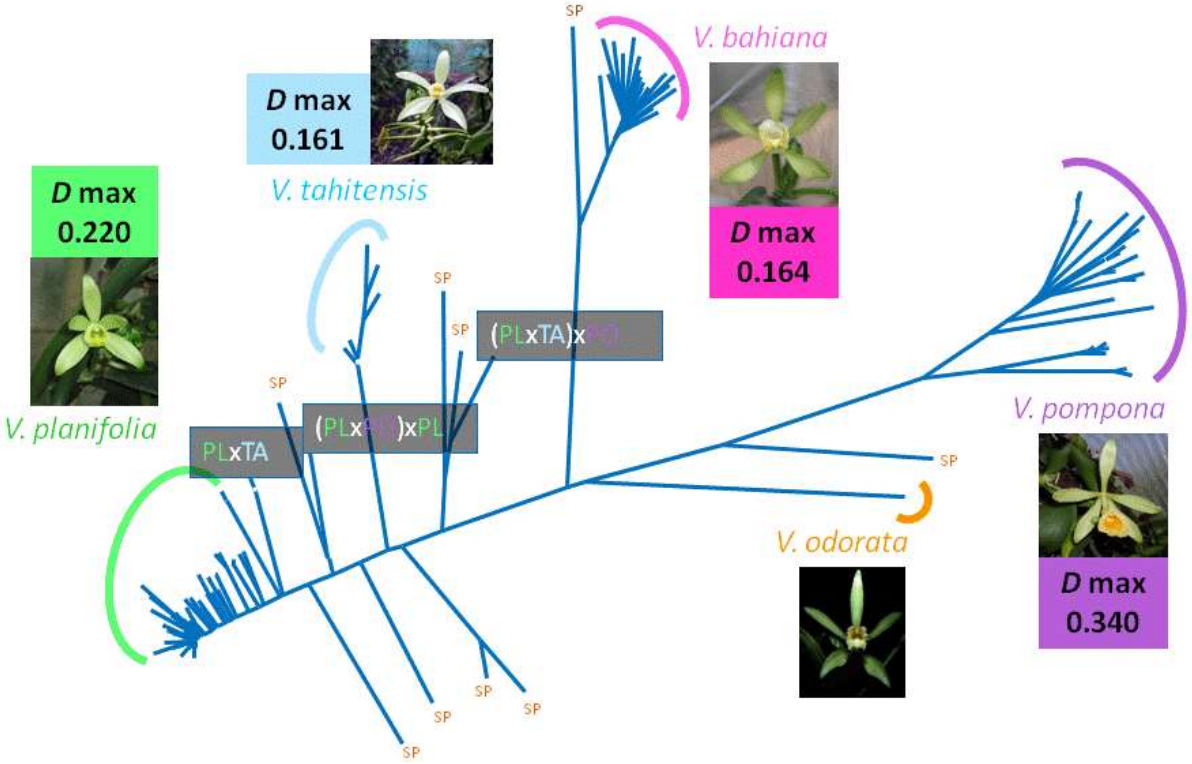


Figure 2. Représentation de la diversité interspécifique chez *Vanilla* (375 accessions, 942 marqueurs AFLP, indice Sokal et Michener, NJ).

Les 19 accessions restantes sont des génotypes uniques ; parmi eux on retrouve les types mexicains « Oreja de Burro » et « Colibri », 12 descendants obtenus par auto-fécondation (10 de la variété réunionnaise « Classique » et deux de la variété malgache « Tsy-Taitry »), et les deux représentants de la variété réunionnaise « Aiguille ». Des analyses des fréquences alléliques ont été effectuées pour les 95 marqueurs polymorphes observés dans les descendances d'auto-fécondation. La majorité (80) des marqueurs présentent des fréquences comprises entre 60 et 90%, ce qui correspond à la ségrégation de locus hétérozygotes. La présence de deux variétés mexicaines et de deux accessions de la variété « Aiguille » présentant des génotypes différents suggère que ces variétés peuvent être issues de la

reproduction sexuée. Les génotypes « Aiguille » sont quasi identiques et dérivent probablement l'un de l'autre par voie végétative. Ils n'ont pu être rapprochés d'aucun génotype mexicain, ce qui indique la possibilité d'une intervention de la reproduction sexuée sur l'île de La Réunion, le plus probablement par pollinisation manuelle (Bory *et al*, 2008b).
L'étude de la diversité génétique a apporté des informations très importantes sur la diffusion de la vanille et a permis d'affirmer que les variétés de *V. planifolia* cultivées actuellement à La Réunion et dans la plupart des régions d'introduction proviennent bien d'une base génétique étroite dont l'origine peut être retrouvée au Mexique. L'origine sexuée de la variété « Aiguille » a également été mise en évidence. Cependant quatre phénotypes n'ont pu être expliqués.

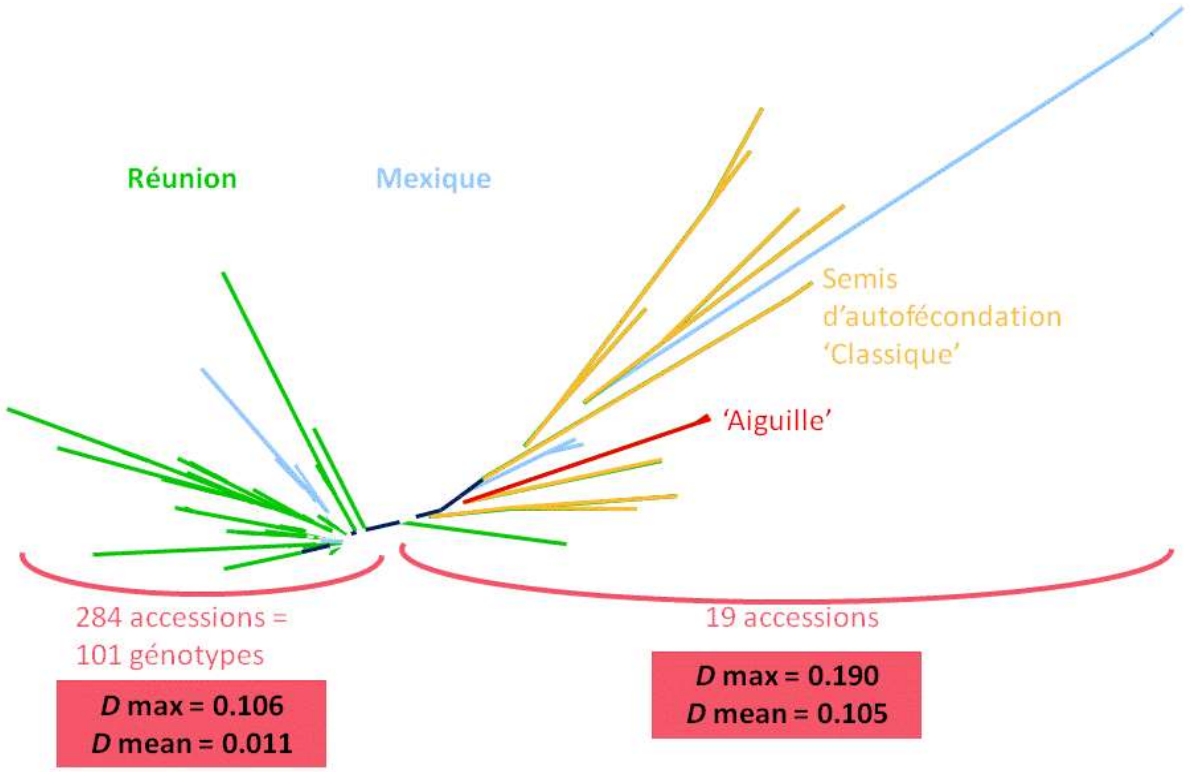


Figure 3. Représentation arborée de la diversité de 303 accessions de *V. planifolia* (436 marqueurs AFLP, indice de Sokal et Michener, NJ).

Analyse cytogénétique

Ces analyses ont été conduites à l'UMR PVBMT CIRAD-Université de La Réunion, La Réunion, à l'Institut des Sciences du Végétal (CNRS, Gif sur Yvette) et au Jodrell Laboratory (RBG, Kew, UK) pour tester l'hypothèse d'une diversification par variation des niveaux de ploïdie de *V. planifolia* (Bory *et al.*, 2008c).

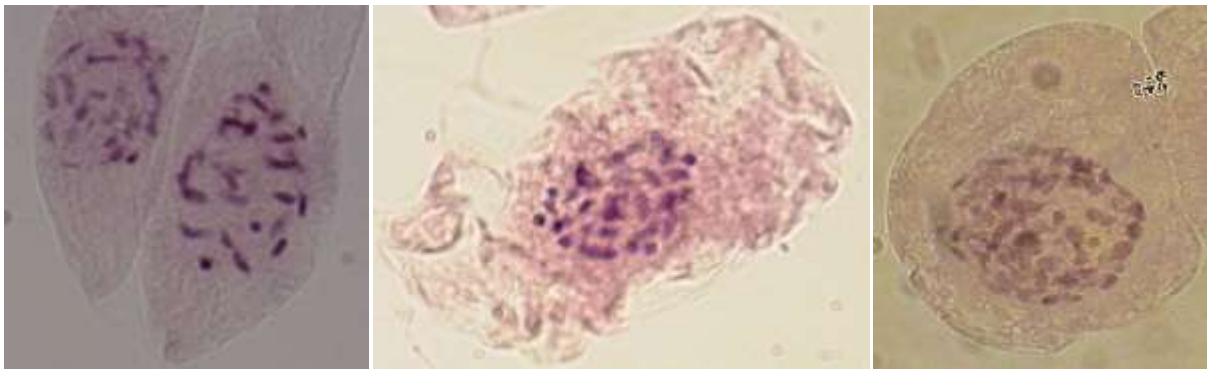
Pour cela 50 accessions incluant les six phénotypes de *V. planifolia* cultivés à La Réunion et des accessions d'origines différentes ont été étudiées. Les quantités d'ADN nucléaire ont été estimées par cytométrie en flux (témoin *Triticum aestivum)* et confirmées par microdensitométrie de Feulgen pour trois accessions. Pour vérifier les niveaux de ploïdie détectés, des comptages chromosomiques ont été réalisés à partir des racines aériennes de six accessions.

Les résultats obtenus en cytométrie en flux départagent clairement trois groupes d'accessions. Le plus important comprend 43 accessions avec des valeurs de 2-C comprises entre 4.66 et 5.30 pg (moyenne 5.03 ± 0.16). Il inclut des accessions de La Réunion et

d'autres origines géographiques. Le deuxième groupe est composé de deux accessions de la variété réunionnaise « Stérile » et présente des valeurs de 2-C variant entre 7.57 et 7.78 pg (moyenne 7.67 ± 0.14). Un troisième groupe correspond aux cinq accessions de la variété « Grosse Vanille » pour des valeurs de 2-C entre 9.65 et 10.38 pg (moyenne 10.00 ± 0.28).

Pendant ce travail, nous avons identifié un processus d'endoréplication partielle, progressive au cours des endocycles (*"progressively partial endoreplication"*), finement régulée en relation avec le développement somatique. Nous avons retrouvé ce même phénomène chez d'autres orchidées. En pratique, ceci expliquerait de nombreuses erreurs d'analyses cytométriques publiées, où les noyaux 2C ont été ignorés. Les valeurs observées en microdensitométrie sont cohérentes avec nos résultats obtenus par cytométrie (Tableau 2).

Les comptages chromosomiques ont été effectués au stade métaphase ou prométaphase, sur un nombre de cellules variant entre 35 et 81 par accession (Figure 4). De fortes variations intra-spécifique et intra-individuelles ont été observées (Tableau 2). Le nombre chromosomique de base reporté chez *V. planifolia* étant de 16, des comptages chromosomiques ont été faits sur pollen et ont confirmé ce nombre de base. Les résultats confirment des observations plus anciennes (Hurel-Py, 1938 ; Nair *et al.*, 1994) et indiquent donc l'existence d'une forte variation des nombres de chromosomes dans les cellules somatiques étudiées, phénomène expliquée par de fréquentes associations de chromosomes observées lors des mitoses, qui conduiraient à des fusions chromosomiques (Nair *et al.*, 1994).



'Aiguille'	**'Stérile'**	**'Grosse Vanille'**
26 chromosomes	**32 chromosomes**	**54 chromosomes**

Figure 4. Comptages chromosomiques sur racines aériennes de trois variétés réunionnaises de *V. planifolia*.

Les analyses statistiques ont mis en évidence une corrélation positive entre les quantités d'ADN et les nombres de chromosomes observés, ce qui confirme que les variations de taille du génome reflètent bien une variation du niveau de ploïdie. Nous sommes donc bien en présence de trois niveaux de ploïdie différents. La majorité des variétés sont diploïdes ; la variété « Stérile » est triploïde, ce qui explique son auto-stérilité. Enfin la variété « Grosse Vanille » est tétraploïde. Ces deux variétés ne pouvant être différenciées de la variété « Classique » par leurs profils génétiques, sont probablement d'origine auto-polyploïde. L'hypothèse la plus probable de l'origine de ces auto-polyploïdes est la formation de gamètes *2n* lors de la méïose suivie d'auto-fécondation (Bory *et al.*, 2008c).

CONCLUSIONS

En conclusion, différents mécanismes de différenciation ont été mis en évidence chez une plante à multiplication végétative prédominante, *V. planifolia*, dans une zone

d'introduction récente, l'Ile de La Réunion. Quatre des phénotypes observés ont pu être expliqués. La variété « Classique », proche des cultivars mexicains de la région de Paplanta est certainement le cultivar introduit originellement, ce qui est confirmé par d'autres travaux récents (Lubinsky *et al*, 2008b). La variété « Aiguille » proviendrait de l'intervention rare de la multiplication sexuée. Les variétés « Stérile » et « Grosse Vanille » sont issues d'événements d'auto-polyploïdisation. L'intervention de processus de polyploïdisation dans l'évolution du genre *Vanilla* a pu également être confirmée par une étude d'autres espèces (Bory *et al.*, à paraître).

Tableau 2. Résultats des analyses cytogénétiques.

Cytométrie en flux		**Microdensitométrie (Feulgen)**		**Comptages chromosomiques**	
Groupe	**Quantité d'ADN moyenne (2-C pg)**	**Nombre de cellules étudiées**	**Quantité d'ADN moyenne (2-C pg)**	**Nombre de cellules étudiées**	**Nombre moyen de chromosomes**
A 43 accessions	5.03 ± 0.16	90 (x 2 accessions)	5.05 ± 0.50 4.54 ± 0.24	35 + 72 (2 accessions)	22.11 ± 4.52 23.69 ± 3.87
B 2 accessions 'Stérile'	7.67 ± 0.14			81 + 59 (2 accessions)	26.57 ± 5.22 28.41 ± 4.77
C 5 accessions 'Grosse Vanille'	10.00 ± 0.28	90	9.98 ± 0.61	35 + 42 (2 accessions)	30.23 ±4.02 33.67 ± 5.83

Ces travaux sont issus de la thèse de Séverine Bory « Diversité de Vanilla planifolia G. Jackson dans l'Océan Indien et de ses espèces apparentées : aspects génétiques, cytogénétiques et épigénétiques » soutenue le 17 Décembre 2007 (Université de La Réunion)

Bibliographie

Bory S., Brown S., Duval M.F. & Besse P. à paraître. Evolutionnary processes and diversification in the genus *Vanilla*. *In* E. Odoux and M. Grisoni [edts.], "Vanilla". Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles, CRC Press.

Bory S., Grisoni M., Duval M.F. & Besse. P. 2008a. Biodiversity and preservation of vanilla: present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55: 551-571.

Bory S., Lubinsky P., Grisoni M., Duval M.F. & Besse. P. 2008b. Patterns of introduction and diversification of Vanilla planifolia and genetic diversity in related American species. *American Journal of Botany* 95: 805-815.

Bory S., Catrice O., Brown S., Leitch I.J., Gigant R., Chiroleu F., Grisoni M., Duval M.F. & Besse P. 2008c. Natural polyploidy in *Vanilla planifolia* (Orchidaceae). *Genome* 51: 816-826.

Bruman H. 1948. "The culture history of Mexican Vanilla." Hispanic Am. Historical Review 28(3): 360-376.

Colunga-Garcia Marin P. & Zizumbo-Villareal D. 2004. "Domestication of plants in Maya lowlands." Econ. Bot 58: 101-110.

Grisoni M., Moles M., Besse P., Bory S., Duval M.F. & Kahane R. 2007. Towards an international plant collection to maintain and characterize the endangered genetic resources of Vanilla. XXVII IHC-S1 Plant Gen Resources, Seoul, Corea, 760: 83-90.

Fofifa 1990. Le Vanillier. Bilan de la recherche agricole à Madagascar, FOFIFA**:** 112-119.

Hurel-Py G. 1938. Etude des noyaux végétatifs de *Vanilla planifolia Revue de Cytologie et de Cytophysiologie Végétales* 3.

Lubinsky P., Cameron K.M., Molina M.C., Wong M., Lepers-Andrzejewski S., Gomez-Pompa A. & Kim. S.C. 2008a. Neotropical roots of a Polynesian spice: the hybrid origin of Tahitian vanilla, *Vanilla tahitensis* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 95: 1040-1047.

Lubinsky P., Bory S., Hernandez-Hernandez J., Kim S.C. & Gomez-Pompa A.2008b. Origins and Dispersal of cultivated vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. [Orchidaceae]). *Economic Botany* 62: 127-138.

Nair R.R. & Ravindran P.N. 1994. Somatic association of chromosomes and other mitotic abnormalities in *Vanilla planifolia* (Andrews). *Caryologia* 47: 65-73.

Pignal M. 1994. "Deux vanilles du Brésil : *Vanilla palmarum* Lindley et *Vanilla bahiana* Hoehne." L'Orchidophile(110): 23-25.

Porteres R. 1951. "Observations sur le vanillier de Tahiti." Bulletin de la Société Botanique de France 98(4-6): 126-127.

Porteres R. 1954. Le genre *Vanilla* et ses espèces. Le vanillier et la vanille dans le monde. G. Bouriquet. Paris, Editions Paul Lechevalier. XLVI: 94-290.

Soto Arenas M.A. 1999. Filogeografia y recursos genéticos de las vainillas de Mexico. Mexico, Instituto Chinoin - Herbario de la Asociacion Mexicana de Orquideologia AC.

Stehle H. 1952. "Le Vanillier et sa culture. I. Histoire - Botanique - Géographie - Ecologie du vanillier." Fruits 7(2): 50-56.

Les orchidées terrestres d'Afrique subsaharienne : présentation et biogéographie sommaire des principaux genres

Frédéric MELKI
Biotope, 22 Boulevard Maréchal Foch, 34140 Mèze
fmelki@biotope.fr

Abstract – Terrestrial orchid from subsharian Africa: rapid presentation and biogeography of the main genus. My observation concern 8 genus of terrestrial orchids from Africa: *Satyrium*, *Disa*, *Habenaria*, *Brachycorythis*, *Cynorkis*, *Eulophia*, *Disperis* and *Liparis*. For each of them, the description concerned:

-morphology ;

-diversity ;

-biogeography and distribution in Africa and eslsewhere.

This presentation was ended by the brief report of a large project of exploration about terrestrial orchids in subsaharian Africa.

Résumé – Les observations concernent 8 genres d'orchidées terrestres africaines : *Satyrium*, *Disa*, *Habenaria*, *Brachycorythis*, *Cynorkis*, *Eulophia*, *Disperis*, *Liparis*. Pour chacun de ces genres sont abordéses :

-morphologie ;

-diversité ;

-biogéographie et répartition en Afrique et au delà.

Un vaste projet d'exploration sur les orchidées terrestres d'Afrique subsaharienne est envisagé.

Attracteurs étranges des Orchidées australiennes

Albert ROGUENANT & Aline RAYNAL-ROQUES
roguenant.albert@sfr.fr, aline.rr@sfr.fr

Abstract – Strange attractants in Australian orchids. The Australian Orchids have developed and implemented odd strategies to attract pollinators. The interrelation Orchid-Insect is based on cross pollination, through mutualism: food supply for pollen deposit or removal. The relationship ends up in pollination. Searching for food, male Insects are mainly attracted by the fragrances, either of food or of females for mating. Their vision enables them to detect objects only a few decimeters apart; they poorly distinguish colours, but yellow, as are most pollinias, and ultraviolet. Orchid flowers resort to illusion: some of them exhibit false stamens, others mimic nectar presenting flowers. The most sophisticated strategy is the emission of sexual pheromons similar, to those produced by female insects when attracting males for mating. In some flowers, the hinged label drives the pollinator onto the column, operating as a passive trap. In others, the sensitive label propels actively the visitor onto the column, enclosing it for a time.

Résumé – Les Orchidées australiennes ont développé et mis en œuvre des stratégies originales d'attraction des pollinisateurs.

INTRODUCTION

Les Orchidées, comme la plupart des plantes à fleurs, évitent l'autogamie et ont recours à la pollinisation croisée. Elles ont besoin d'intermédiaires, insectes, oiseaux, etc. La relation Orchidées-insectes est fondée sur le mutualisme : offre de nourritures par exemple contre dépôt ou enlèvement de pollen ; l'interrelation aboutit à la pollinisation.

Recherche de nourriture

Les plantes à fleurs fondent en général leurs stratégies d'attraction sur la silhouette et les couleurs des fleurs, sur leurs odeurs, et en particulier celles des nectars. Les insectes ont des facultés visuelles très déficientes, au moins dans la lumière visible par l'homme ; leur vision ne les guide qu'à quelques dizaines de centimètres. Leur perception des odeurs est en revanche très développée, ils sont capables de percevoir des odeurs de pollen ou de nectar, à des kilomètres, de les distinguer les unes des autres, de mémoriser leurs caractéristiques et de retrouver la fleur émettrice. Parvenu sur la fleur attractive, l'insecte prélève nectar, pollen, cire, etc.

Ce sont les formes rayonnantes qui attirent le mieux les insectes ; les espèces du genre *Thelymitra* ont toutes une fleur à 6 tépales, inscrite dans un cercle : le labelle est semblable aux pétales et aux sépales. La couleur bleue et la couleur jaune sont les mieux perçues par les insectes. On observe que le pollen, organisme vivant porteur, de l'élément mâle dans la reproduction sexuée, est très généralement jaune, parfois bleu. Le jaune est la couleur qui réfléchit le mieux les ultraviolets, destructeurs de la vie, le pollen malgré sa fragilité est donc protégé. En raison de la couleur et de l'odeur du pollen, les insectes le repèrent et l'identifient facilement.

Chez la plupart des Orchidées les pollinies sont dissimulées sous un capuchon qui les protège des intempéries et des prédateurs ; les pollinies ne constituent pas alors des attracteurs visuels. Pour attirer les insectes certaines espèces ont recours à l'illusion, elles affichent de fausses étamines. Chez *Abaxianthus convexus* ou *Bulbophyllum torressae* l'apex du labelle,

jaune et épais, mime une étamine ; chez *Glossodia major* une fausse étamine dressée devant le gynostème mime à s'y méprendre les vraies pollinies qui, elles, sont cachées sous le capuchon.

Illusion sexuelle

Outre ces offres vraies ou illusoires de nourriture, les Orchidées, australiennes notamment, ont recours à l'attraction sexuelle pour obtenir la coopération des pollinisateurs. Le syndrome d'attraction est fondé sur l'émission d'allomones ; chez les Orchidées, ce sont des phéromones émises par des plantes pour attirer des animaux en quête de partenaires sexuels. Les allomones des plantes, espèce par espèce, ont presque la même composition que les phéromones émises par les femelles de certains insectes, espèce par espèce : les mâles d'une espèce donnée se dirigent vers une fleur d'une espèce donnée, croyant y trouver une partenaire. C'est une autre forme d'illusion.

Mais certaines Orchidées vont plus loin. Elles ont mis au point des pièges, les uns passifs, d'autres actifs.

Pièges

Dans les fleurs qui présentent un **piège passif** le labelle est articulé, il peut basculer ou osciller sous le poids de l'insecte. L'animal est contraint d'entrer en contact avec le stigmate et les pollinies ; il pourra s'échapper naturellement, sans dommages.

Chez les *Caladenia* sp. pl., le labelle oscillant s'abaisse lorsque l'insecte s'y pose, puis se relève lorsque l'insecte avance vers la base du gynostème : l'insecte s'échappe, vers le haut, par le tunnel formé par le labelle et le gynostème.

Chez les *Drakaea*, le labelle-piège comporte trois articles, une base en bâtonnet rigide, une lame souple qui joue le rôle d'articulation, et un autre bâtonnet terminé par une grosse glande. Un insecte, attiré par les allomones émises par la glande s'en saisit et tente de l'emporter ; il décrit alors un demi-cercle et son dos se trouve en contact avec le gynostème ; dès qu'il lâche la glande, le labelle retombe par son poids et reprend automatiquement sa position initiale d'attraction.

Figure 1. *Drakaea glyptodon*, piège passif ; le labelle (à gauche) peut basculer sur le gynostème (à droite).

Dans les fleurs qui présentent un **piège actif,** le labelle, articulé, est susceptible d'effectuer un mouvement rapide, en réponse à un contact au niveau d'un point sensible, distinct de l'articulation ; ce mouvement, réversible et renouvelable, est une nastie. Les mouvements de *Mimosa pudica*, la sensitive, qui ferme ses feuilles au moindre contact, sont du même type, ils répondent de la même façon à un contact, mais n'affectent pas les fleurs de la plante.

Chez les *Pterostylis* sensu lato le sépale médian et les pétales forment un grand casque translucide qui coiffe le gynostème ; les pollinies se trouvent près du sommet du casque. Le labelle, pendant en position de repos, porte un point sensible parfois visible sous forme de verrue ou d'appendice branchu ; un contact, même très ténu, sur cet organe déclenche le

relèvement brutal du labelle dont le limbe vient s'encastrer dans l'ouverture du casque. Le petit insecte responsable du contact se trouve enfermé dans une cage au sommet translucide, dans laquelle il s'agite. Un quart d'heure environ après, le labelle reprend progressivement sa position initiale ; dès le début de la réouverture, l'insecte peut s'échapper vers le haut, en se faufilant le long des pollinies.

Les *Caleana* et *Paracaleana* atteignent un niveau élevé de sophistication. Sépales et pétales, réduits, ne jouent pas de rôle dans l'attraction et la capture des insectes. Le gynostème, très développé, en forme de cloche bordée de larges ailes translucides, est dirigé vers le bas ; il porte les pollinies à son sommet. Le labelle, dressé, comprend une partie basale en ruban élastique arqué qui porte à son sommet un organe volumineux, glanduleux, en forme de tête d'oiseau, disposé perpendiculairement à la lame élastique. Un léger contact au sommet de la « tête de l'oiseau » provoque un déclenchement qui l'amène brutalement dans l'ouverture de la cloche ; l'insecte piégé se débat, pollinise éventuellement le stigmate. La fleur s'ouvrira progressivement 10 à 15 minutes plus tard, l'insecte s'échappera en prélevant les pollinies.

Les stratégies d'attraction des pollinisateurs et de leur mise en action ne sont pas réservées aux Orchidées ; d'autres plantes y ont recours. Toutefois les spécialisations les plus extrêmes citées ici ne se rencontrent que chez des espèces australiennes.

Figure 2. *Paracaleana nigrita*, piège actif ; le labelle (en haut) peut se rabattre sur le gynostème (large coupe, en bas).

Bibliographie

Alcock J. – 2006. *An enthusiasm for Orchids*. Oxford University Press.

Australian Orchid Research – 1989 - 2006. Vol. 1 à 5. Australian Orchid Foundation, National Library of Australia

Dockrill A.W. – 1992. *Australian indigenous Orchids*. 2 vol. Surrey Beatty and sons, Chipping Norton NSW.

Jones D. & B – 2000. *A field guide to the Native Orchids of Southern Australia*. Bloomings Books, Hawthorn VIC.

Jones D.L. – 2006. A *complete guide to native orchids of Australia*. New Holland Publishers, Sydney, Auckland, London, Cape Town.

Roguenant A., Raynal-Roques A. & Sell Y. – 2005. *Un amour d'Orchidée, le mariage de la fleur et de l'insecte*. Belin.

Revue : *The Orchadian*, Official Journal of the Australasian Native Orchid Society

Le feu et les orchidées australiennes

Aline RAYNAL-ROQUES & Albert ROGUENANT
aline.rr@sfr.fr, roguenant.albert@sfr.fr

Abstract – Fire and Australian orchids. Many Australian terrestrial Orchids survive bushfires. Some are tolerant, they are able to flower after an early summer fire; others are strictly dependant and do not flower if fire does not pass through. In the absence of fire, pyrophytic Orchids flower little or not; they are able to multiply vegetatively, producing daughter-tubers.

Résumé – Certaines orchidées terrestres australiennes survivent aux feux. Quelques unes d'entre elles sont tolérantes, elles peuvent fleurir après un feu de début d'été ; d'autres, strictement dépendantes, ne fleurissent qu'après avoir subi le passage d'un feu. En l'absence de feu, les orchidées pyrophiles fleurissent peu ou pas et peuvent se multiplier activement en produisant des tubercules-fils.

Le bush peuple une large partie méridionale de l'Australie. Les orchidées y sont représentées par de nombreuses espèces, presque toutes terrestres.

Le bush est régulièrement parcouru par des feux, parfois violents ; leur impact sur la végétation varie en fonction de la date de l'incendie. Au printemps (octobre-novembre), le feu passe rapidement sur une végétation encore fraîche, il n'est pas destructeur. En été, (décembre-février) la végétation n'est pas encore complètement sèche, le feu passe rapidement sans échauffer le sol, il éclaircit la végétation, arbres, géophytes et hémicryptophytes ne sont pas tués. En automne (février-juin), la végétation est desséchée, le feu détruit les arbres, le sol est échauffé sur une profondeur importante, les géophytes sont tués.

Les feux, à l'exception des feux destructeurs d'automne, ont une action paradoxalement bénéfique. Les feux de début d'été ont une action inductrice sur le phénomène de la floraison chez certaines espèces de plantes à fleurs ; chez d'autres espèces, ils peuvent avoir une action inhibitrice.

Quel peut être le mode d'action positif du feu ? L'échauffement du sol et le stress qui en découle, le dépôt de cendres, donc de phosphates, l'éclaircissement du couvert végétal qui laisse la lumière parvenir au sol semblent les facteurs principaux de croissance et de floraison des plantes liées au feu (pyrophytes) qui passent la saison défavorable au repos, leur bourgeon végétatif étant protégé sous terre (géophytes) ou près de la surface du sol (hémicryptophytes).

Dès les premières pluies, la végétation renaît rapidement. Sur le sol dénudé, des Orchidées apparaissent. La réponse au passage du feu diffère selon les espèces d'orchidées. On peut citer divers cas.

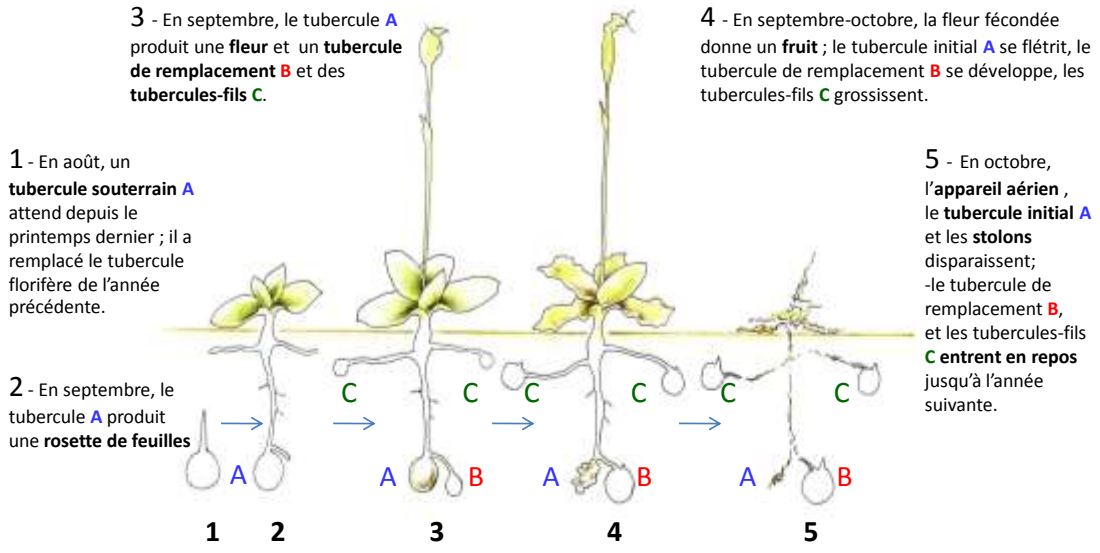
Espèces indifférentes au feu, leur floraison n'est pas influencée, ni positivement ni négativement, par l'incendie ; exemples : *Cyanicula caerulea, C. amplectans, Caleana major, Caladenia longicauda*, de nombreuses espèces de T*helymitra.*

Espèces favorisées par le feu ; leur floraison est plus abondante dès la première année suivant un feu, mais elle n'est pas nulle en son absence ; exemples : *Eriochilus dilatatus, Cyanicula gemmata, Diuris longifolia, Elythranthera emarginata, Pyrorchis nigricans, Leptoceras mensiezii*, de nombreuses espèces de *Caladenia*, *Thelymitra antennifera*.

Espèces dont la floraison dépend strictement du feu : les années où le feu ne passe pas, elles produisent des feuilles et pratiquent une multiplication végétative ; exemples : *Pyrorchis forrestii*, *Prasophyllum regium*, *Diuris purdiei.*

Il existe des Orchidées dépendantes à la fois de l'inondation saisonnière et du feu, c'est le cas de *Diuris carinata* qui ne fleurit qu'après le passage du feu sur les marais desséchés.

Chez *Pterostylis curta*



Le tubercule de remplacement B est apte à fleurir dès le prochain printemps.
Lors des printemps prochains, les tubercules-fils C ne produiront que des rosettes de feuilles ; ils ne fleuriront qu'au troisième ou au quatrième printemps.
Chaque tubercule est devenu un individu autonome.

Le feu, même s'il passe en début d'été, peut avoir une action négative sur certaines espèces.

Espèces dont la floraison est perturbée par le passage d'un feu ; les *Cyrtostylis* ne fleurissent pas pendant un ou deux ans après le passage d'un feu ; *Burnettia cuneata* refleurit au plus tôt deux ans après le passage d'un feu, et parfois après 4 ans.

La floraison des *Chiloglottis* est inhibée pour plusieurs années par les feux d'été, et la plante elle-même est souvent détruite. La floraison de *Simpliglottis cornuta* ou d'*Acianthus exsertus* est fortement inhibée par le feu, la plante est généralement détruite ; si elle n'est pas détruite, elle ne refleurira qu'après régénération complète du couvert végétal.

De nombreuses espèces d'orchidées pratiquent simultanément la reproduction sexuée et une multiplication végétative par tubercules-fils, qui permet à l'espèce de survivre et d'étendre ses populations clonales, même sans floraison ; c'est le cas de *Leptoceras menziesii*, *Pyrorchis nigricans*, *Caladenia latifolia* par exemple.

La résistance au feu constitue chez les plantes une stratégie de survie ; elles s'adaptent à une perturbation majeure. On notera que cette adaptation est parfois exacerbée et se mue en suradaptation : non seulement la plante fleurit malgré le feu, mais certaines espèces ne fleurissent qu'après le passage d'un feu.

La production de tubercules nombreux est une autre stratégie de survie. En l'absence de conditions favorables, les orchidées, comme d'autres plantes, peuvent attendre parfois plusieurs dizaines d'années avant que leur milieu ne retrouve un état qui leur permet de refleurir.

Absence de feu

Plante tolérante au feu	Plante adaptée	Plante suradaptée
floraison normale	floraison réduite	pas de floraison

Relation plante / feu

Plante intolérante	Plante tolérante	Plante adaptée	Plante suradaptée
destruction	floraison normale	floraison plus abondante	floraison normale

L'orchidée *Pyrorchis nigricans* est totalement dépendante du feu, comme son nom l'indique.

Un système d'identification graphique des Orchidées du Laos

Pierre BONNET[1], Daniel BARTHELEMY[1], Pierre GRARD[2], André SCHUITEMAN[3]& Boukhaykhone SVENGSUKSA[4]
1) UMR AMAP, 34398 Montpellier Cedex
pierre.bonnet@cirad.fr, Daniel.barthelemy@cirad.fr
2) CIRAD, UMR AMAP, 34398 Montpellier Cedex
Adresse actuelle :
Institut Polytechnique de Hanoï, Trường Đại Học Bách Khoa 1, Đại Cồ Việt - Hai Bà Trưng, Hà Nội - Việt Nam;
pierre.grard@cirad.fr
3) Nationaal Herbarium Nederland, Universiteit Leiden branch, P.O. Box 9514,
2300 RA Leiden, Pays-Bas
Adresse actuelle :
Herbarium, Library, Art and Archives, Royal Botanic Gardens,
Kew, Richmond, Surrey, TW9 3AB, Royaume-Uni
A.Schuiteman@kew.org
4) National University of Laos, Faculty of Science, P.O. Box 7322, Vientiane, Laos
bkkhone@gmail.com

Abstract – **A graphic identification system of Orchids from Laos.** The Orchids flora of Laos is still very poorly understood compared with some of its neighbouring countries, such as Thailand and Vietnam. This flora however is submitted to a lot of pressure. In an effort to promote better understanding and greater protection, a graphical tool for the identification has been realised on a hundred species of orchids in Laos. **Key words** – Orchids, Laos, Graphic identification tool.

Résumé – La flore des Orchidées du Laos est restée très mal connue par rapport à certains de ses pays voisins, tel que la Thaïlande ou le Vietnam. Bien que très riche, elle subit de fortes pressions, qui engendrent une inévitable érosion sa diversité. Dans le but d'en promouvoir une meilleure connaissance, ainsi qu'une plus grande protection, un outil d'identification graphique a été réalisé sur une centaine d'espèces du Laos.
Mots clés.- Orchidées, Laos, Outil graphique d'identification.

INTRODUCTION

La flore des Orchidées du sud-est asiatique est très riche en nombre de genres et d'espèces (Seidenfaden & Wood, 1992). Elle comprend pour la Thaïlande près de 1100 espèces représentées dans 162 genres (Schuiteman & de Vogel, 2000). L'ensemble de la péninsule indochinoise (Thaïlande, Laos, Cambodge, Vietnam) comprend ainsi 1400 espèces répertoriées dans 174 genres. Si la Thaïlande et le Vietnam possèdent une très bonne connaissance de leurs flores grâce entre autre, aux travaux remarquables effectués par Mr. Averyanov (Averyanov & Averyanov, 2003) au Vietnam et Mr. Seidenfaden (Seidenfaden, 1992) en Thaïlande depuis de nombreuses années ; le Cambodge et le Laos ont, quant à eux, une bien moins bonne connaissance de leur flore, et de celle des Orchidées en particulier. Les prospections botaniques y ont été peu nombreuses, notamment en raison de leur contexte historique. Des travaux récents visent cependant à combler ces lacunes (Newman *et al.*, 2007), mais restent encore insuffisant au regard de la richesse de cette flore. Il existe peu d'herbiers ou de collections de plantes vivantes au Laos, ce qui constitue un handicap majeur

dans la capitalisation d'information au niveau local, et la réalisation de synthèses à un niveau plus large. Une partie du travail exposé dans cet article a donc été de promouvoir une meilleure connaissance de la flore des orchidées du Laos, tout en informant au mieux les acteurs de la réglementation de ce commerce dans ce pays.

De nouveaux moyens pour l'application d'une réglementation récente

Le Laos a récemment ratifié la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages, menacées d'extinction (CITES). Ce pays a rejoint la position des pays signataires de cette convention le 30/05/2004. En raison de l'insuffisance d'informations sur sa flore, les autorités laotiennes manquent cependant de moyens pour lutter efficacement contre le commerce illégal de ses espèces protégées. Plusieurs centaines de tonnes d'orchidées quittent ainsi le pays chaque année à des fins horticoles, ou pour leur utilisation en médecine traditionnelle chinoise (Svengsuka, comm. pers.). Afin de mieux encadrer leur protection, et dans le but d'en promouvoir leur commerce dans un cadre légal, le Cirad, l'herbier National de Hollande et l'Université Nationale du Laos sont impliqués depuis le 1er avril 2006 dans le projet ORCHIS ayant pour principal objectif la réalisation d'un système d'identification de 100 espèces d'orchidées du Laos. (http://www.orchisasia.org/).

335 espèces d'orchidées présentes dans 85 genres différents étaient recensées lors du lancement de ce projet (Schuiteman & de Vogel, 2000). Etant donné la disparité importante des connaissances entre les différentes espèces de cette flore, une sélection d'une centaine d'espèces sur lesquelles nous disposions de suffisamment d'informations a été réalisée. Les espèces sélectionnées sont parmi les plus pertinentes, tant pour des aspects de conservation que pour la promotion d'une commercialisation contrôlée des espèces à plus fort intérêt horticole. Ce système d'identification répertorie aussi bien des orchidées parmi les plus menacées d'extinction, que celles présentant un intérêt commercial important et qui pourraient ainsi être utilisées dans un cadre légal de commercialisation. Il a donc été utilisé lors de sessions de formations des autorités douanières pour identifier les plantes exportées à l'étranger et ainsi vérifier que les documents de la CITES associés à ces exports correspondent bien aux plantes transportées. Le renforcement des compétences des autorités douanières doit permettre de réduire ainsi la quantité d'orchidées commercialisées illégalement vers les pays voisins.

Ce projet, financé par le programme Asia INVEST de la Commission Européenne, a bénéficié de la subvention LA/Asia Invest II/03 (114285). Il était dirigé par Mr. Daniel Barthélémy, directeur du laboratoire AMAP (Unité Mixte de Recherche Cirad-CNRS-INRA-IRD-Université Montpellier II) et réalisé en partenariat avec l'université Nationale du Laos et l'Herbier National des Pays-Bas, qui disposent chacun d'une collection de plantes vivantes spécialement dédiées à la culture des orchidées asiatiques.

METHODOLOGIE DE TRAVAIL

Ce travail a été articulé autour de missions de collecte sur terrain, réalisées durant la première phase du projet. Plusieurs missions ont été organisées dans différents parcs nationaux. Ces prospections ont permis de visiter des sites présentant des conditions bioclimatiques variées, augmentant ainsi les possibilités de récolter des plantes nouvelles pour la collection entreprise. Ces travaux sont intervenus dans les provinces suivantes :

- Phongsaly : zones montagneuses aux frontières chinoises et vietnamiennes, dans le Nord du pays.
- Luang Namtha, près de la frontière birmane et chinoise, au nord-ouest.
- Vientiane, dans le centre du pays.
- Bolikhamxai, où se trouvent de hautes montagnes ainsi que de grandes formations karstiques, située à l'est de Vientiane,

- Khammouane, située sur la chaine de montagnes des Annamites, sur la frontière vietnamienne, et présentant également l'une des plus grandes zone karstique de la péninsule indochinoise,
- Champasak, où se trouvent des forêts de plaine ainsi que des zones d'altitude proches du plateau des Bolovens, dans le Sud du pays.

Plus de 1000 échantillons ont ainsi été collectés, et furent identifiés au fur et à mesure de leur floraison. Pour chaque nouvelle espèce présente dans la collection, des parties de plantes en fleurs sont conservées dans l'alcool, dans le but de pouvoir échanger ces échantillons avec l'herbier National de Hollande, et ainsi vérifier les identifications et permettre la publication des nouvelles espèces récoltées. Les données de terrain recueillies ont ainsi permis d'enregistrer des informations sur leur environnement, leurs modes de développement,Les plantes collectées sont cultivées dans les serres de l'université Nationale du Laos à Vientiane, où elles sont identifiées lors de leur floraison. Les espèces de plantes en culture, sélectionnées pour l'outil d'identification, permettent d'affiner les descriptions réalisées, et compléter chacune d'entre-elle par une série de photographies intégrées dans cet outil. Certaines plantes de la collection sont reproduites par culture in-vitro dans un laboratoire de l'Université Nationale du Laos, afin d'être diffusées auprès des horticulteurs souhaitant mettre en place une filière de commercialisation légale, sans pression sur les ressources naturelles existantes. Afin de leur assurer une plus grande pérennité, les plantes les plus rares sont dispersées dans des collections privées, telle que celle de l'entreprise Vientiane Orchidées (http://www.vientianeorchidees.com).

Des dessins réalisés à partir des spécimens en collection, ont été numérisés pour ensuite être intégrés dans le portrait-robot de l'outil d'identification graphique développé. Pour chaque espèce, une standardisation de la description et des informations associées (distribution en Asie, au Laos, conseil de culture, etc…) a été mise en place. Elles ont été complétées au fur et à mesure de la collecte de données. La synthèse de ces données a été ensuite intégrée et exploitée au travers de l'outil d'identification.

Les données nouvelles sur cette flore

Depuis son démarrage, ce projet a permis le recensement de plus de 145 espèces qui ne l'avaient jusque là pas encore été au Laos, contribuant ainsi à une meilleure connaissance de cette flore au niveau régional. Plusieurs espèces rares, telles que *Thaia saprophytica* Seidenf. (Schuiteman *et al*., 2009), *Eparmatostigma dives* (Rchb. f.) Garay (Schuiteman et Bonnet, 2008) ; et une nouvelle espèce pour la science, *Holcoglossum calcicola* Schuit. & P.Bonnet (Schuiteman et Bonnet, 2009) ont ainsi été enregistrées. Ces travaux ont mené à la publication d'une synthèse sur la flore des orchidées de ce pays (Schuiteman *et al*., 2008), portant à 486 le nombre d'espèces actuellement enregistrées au Laos. Les récoltes ont permis une mise à jour de la liste des espèces d'orchidées présentes dans le pays, mais également une meilleure connaissance de leur distribution.

Pourquoi et comment réaliser cet outil d'identification graphique ?

L'outil d'identification graphique est réalisé grâce à l'emploi du système IDAO (Grard, 2002), qui a déjà fait l'objet de plusieurs applications sur des flores ligneuses aussi bien qu'herbacées, et dans différentes régions du monde (Ile de la Réunion, Afrique de l'Ouest, Plaine Indo-Gangétique, etc.). Cet outil offre la possibilité à son utilisateur de réaliser le portrait-robot d'une plante qu'il souhaite identifier à partir de la combinaison de dessins de tous ses caractères. La sélection successive de ces dessins permet d'isoler les seules espèces chez lesquelles ces caractères sont présents. Cette caractéristique en fait un outil adapté pour des non-spécialistes, puisqu'il n'est pas nécessaire de connaitre le vocabulaire scientifique utilisé pour l'identification des plantes, et parfois complexe dans le cas particulier des

orchidées. Il présente de plus des atouts pédagogiques importants par le fait qu'il donne accès en plus de l'identification des espèces, à des descriptions botaniques pour chacune d'elles, ainsi qu'à un glossaire illustré des termes botaniques. L'interface d'identification est entièrement graphique, elle peut donc être utilisée par des personnes de langues différentes. Les descriptions d'espèces sont quant à elles réalisées en anglais, en français et en laotien.

Les espèces sélectionnées pour cet outil, l'ont été en fonction de leur niveau de protection sur les listes de la CITES (toutes les espèces en annexe 1 de cette liste pour le Laos ont été intégrées), de leur utilisation avérée dans le commerce illégal d'orchidées au Laos, de leur rareté, de leur niveau de menace d'extinction, et enfin de leur disponibilité. Une sélection de 100 espèces sur les 335 connues au Laos au démarrage du projet a alors été réalisée, sur la base de ces critères

Les caractères d'identification sélectionnés sont principalement des caractères végétatifs, ceci afin de permettre l'emploi de cet outil même dans le cas où les plantes ne seraient pas en fleur. Des caractères sexuels ont cependant dû être intégrés afin de discriminer des espèces proches au sein de gros genres tels que les genres *Dendrobium* et *Bulbophyllum*.

La diffusion du travail réalisé

Différents supports sont utilisés pour diffuser ce travail. Le site web http://www.orchisasia.org/ est ainsi utilisé pour présenter les objectifs généraux du projet, et publier la liste illustrée de toutes les espèces répertoriées au Laos, y compris celles issues des derniers relevés de terrain. Cette liste est complétée par des espèces que l'on peut supposer présentes au Laos, ceci en raison de leur présence dans les pays voisins.

Dans un contexte de ressources limitées en informatique, tel qu'on l'observe au Laos, il est aussi nécessaire de diffuser plus largement des informations sur des supports papiers (sous forme de brochures ou de posters) afin de permettre une meilleure compréhension de nos actions, ainsi que pour faciliter l'identification des plantes répertoriées. Nous diffusons ainsi des listes illustrées d'espèces, au niveau des provinces pour lesquelles nous disposons de suffisamment d'informations, et cela pour permettre aux autorités nationales (douaniers et gestionnaires des réserves naturelles) de mieux identifier les plantes protégées.

L'outil d'identification graphique est quant à lui diffusé librement sur le site internet du projet. Cet outil sera accessible en 3 langues; laotien, anglais et français et utilisé au cours de sessions de formation à la reconnaissance de plantes, à l'Université Nationale du Laos, au département des douanes, ainsi qu'au niveau des différentes provinces du pays. Cet outil accessible en 3 langues, est utilisé au cours de sessions de formation à la reconnaissance de plantes, à l'Université Nationale du Laos, au département des douanes, ainsi qu'au niveau des différentes provinces du pays. Il peut être utilisé aussi bien sur un ordinateur fixe que sur ordinateur portable ultra-mobile (UMPC). L'avantage de pouvoir utiliser un tel système directement sur le terrain permet d'effectuer des identifications en forêt, ou dans des zones éloignées de ressources informatiques, accroissant ainsi les potentialités d'utilisation. Cette approche vient ainsi en complément d'une flore classique de terrain.

Plusieurs sessions de formations impliquant des représentants des Douanes au Laos, des représentants du bureau scientifique de la Cites au Laos, ainsi que des membres du Ministère de l'Agriculture laotien, ont été réalisées. Ces sessions ont constituées un élément important pour permettre une meilleure adaptation de l'outil d'identification au public auquel il est destiné.

CONCLUSION

Ce travail a servi de base à des travaux de plus grande ampleur sur la flore des orchidées du Laos. En fournissant une première liste d'espèces présentes au Laos, avec des moyens d'identification simplifiés, nous souhaitons participer à une meilleure connaissance de la

biodiversité végétale de ce pays et ainsi soutenir les efforts de protection et de valorisation de celle-ci. Le commerce légal de ces plantes pourrait participer à leur protection, c'est pourquoi nous soutenons toute initiative qui souhaiterait établir des liens commerciaux avec des structures basées au Laos dans ce but.

Remerciements

Nous remercions Mr Phetsamone Khounsavath, vice-recteur du l'Université Nationale du Laos, Mr Phasy, Directeur de la Faculté des Sciences, et Mr Bounthop Phraxaysombat, Directeur du département de Biologie, pour leur précieuse participation à ces recherches, et a l'appui qu'ils ont apporté lors des phases de restitutions des travaux réalisés. Nous remercions également l'ensemble des personnes du département de Biologie qui ont participée aux différentes missions sur le terrain, et sans lesquelles toutes ces données n'auraient pu être collectées. Enfin, nous remercions Mr. Laville et Mr. Lovera, de Vientiane Orchidées, pour leurs précieux conseils et soutien logistique tout au long de ce travail.

Toute dernière (Décembre 2009). Ce travail fait l'objet de mises à jours régulières accessibles à l'adresse suivante : http://www.orchisasia.org

Bibliographie

Averyanov L.V. & Averyanova A.L. 2003. *Updated checklist of the orchids of Vietnam*. Vietnam National University Publishing House, Hanoi.

Newman M., Ketphanh S., Svengsuksa B., Thomas P., Sengdala K., Lamxay V. & Armstrong K. 2007. *A Checklist of the Vascular Plants of Lao PDR. – Royal Botanic Garden*, Edinburgh.

Schuiteman A. & Bonnet P., 2008. *Eparmatostigma dives* (Orchidaceae), a new generic record for Laos. Blumea, 53 : 341-344.

Schuiteman A. & Bonnet P. 2009. *Holcoglossum calcicola* and *Paphiopedilum barbigerum* var. *sulivongii*: two attractive new orchids from the limestone hills of Laos. Orchideen Journal, 16 : 6-16.

Schuiteman A., Bonnet P., Svengsuksa B. & Barthélémy D. 2008. An annotated checklist of the Orchidaceae of Laos. Nordic Journal of Botany, 26 : 257-316.

Schuiteman A., Bonnet P. & Svengsuksa B. 2006. onwards. Preliminary checklist of the Orchidaceae of Laos. Published on the Internet: http://www.orchisasia.org.

Schuiteman A., Bonnet P., Vannachak V., Barthélémy D. 2009. *Thaia saprophytica Seidenf.: a misinterpreted novelty in the flora of Laos*. Orchid Review, 117 (1286) : 92 – 97.

Schuiteman A. & de Vogel E.F. 2000. O*rchid Genera of Thailand, Laos, Cambodia and Vietnam*. Nationaal Herbarium Nederland, Leiden.

Seidenfaden G. 1992. *The orchids of Indochina*. Opera Botanica 114: 1-502.

Seidenfaden G. & Wood J. 1992. *The Orchids of Peninsular Malaysia and Singapore*. Ed. Olsen and Olsen.

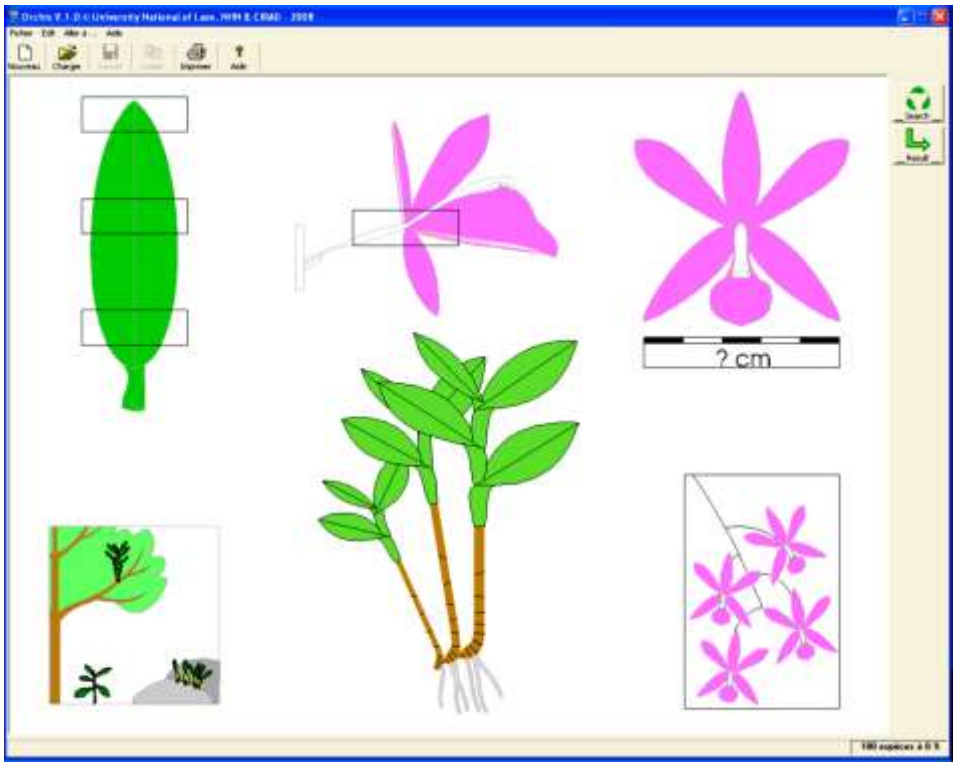


Figure 1. Interface graphique au démarrage de l'outil d'identification graphique des Orchidées du Laos. (Image P. Bonnet)

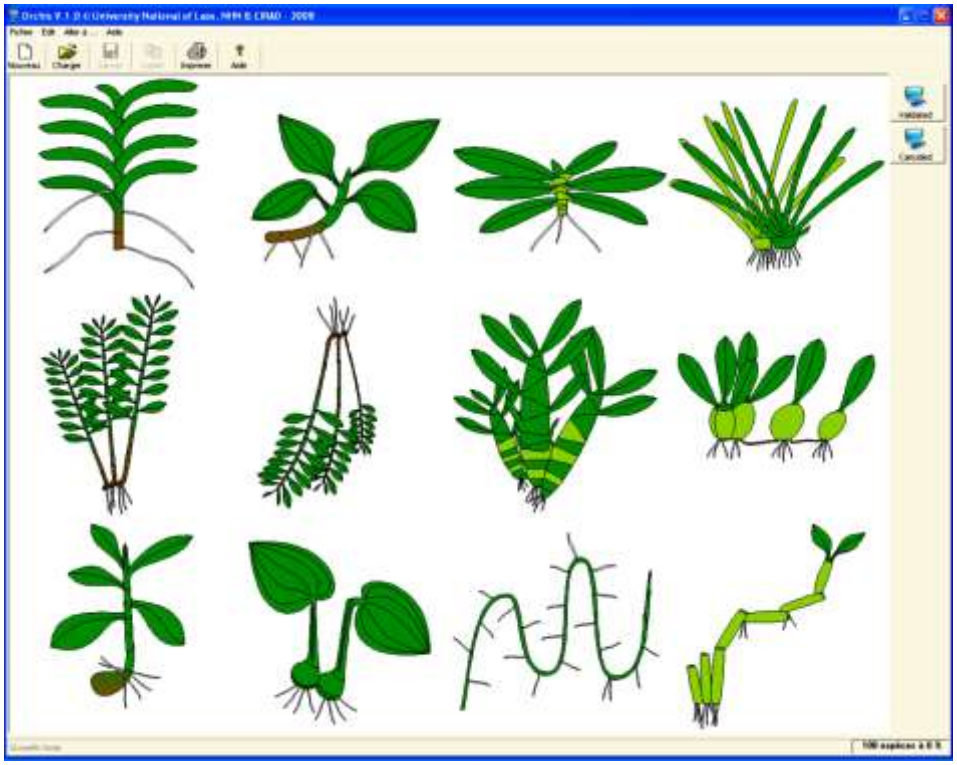


Figure 2. Interface graphique illustrant les ports possibles des espèces sélectionnées pour l'outil d'identification graphique. (Image P. Bonnet)

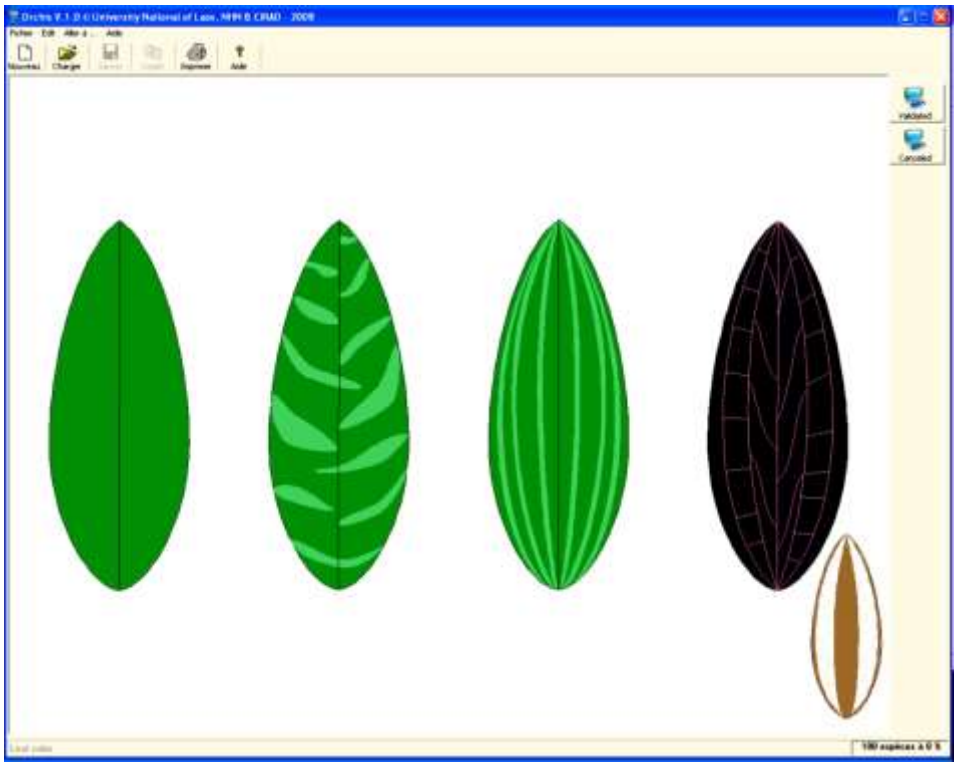


Figure 3. Interface graphique illustrant les couleurs de feuilles possibles des espèces sélectionnées pour l'outil d'identification graphique. (Image P. Bonnet)

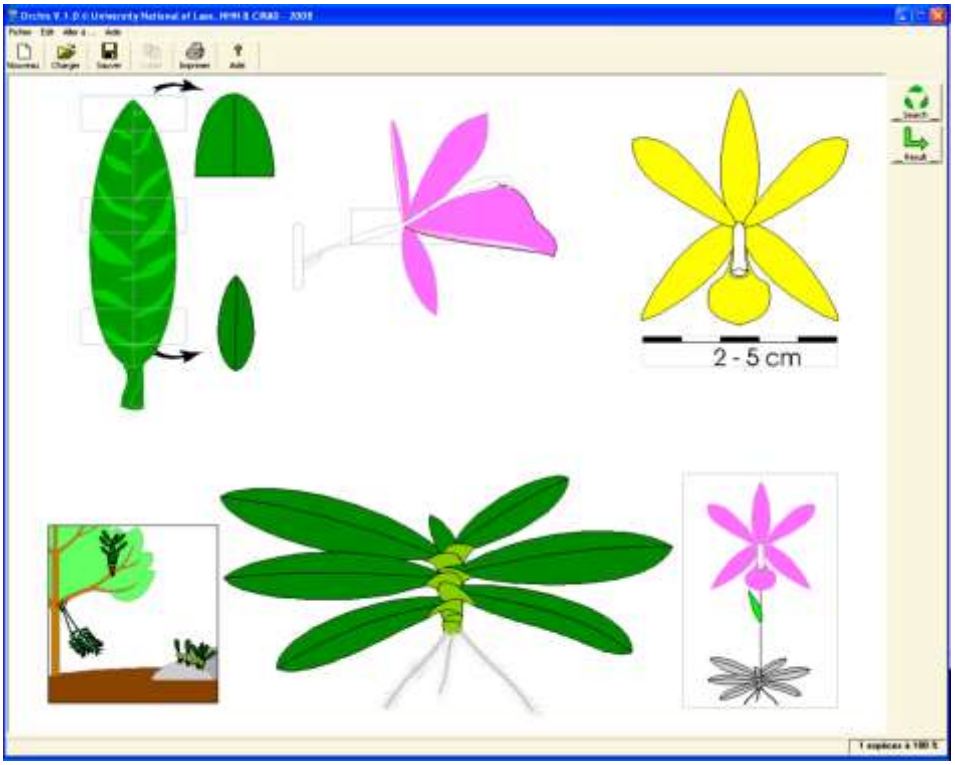


Figure 4. Portrait-robot complété afin de permettre l'identification d'une espèce d'orchidée. (Image P. Bonnet)

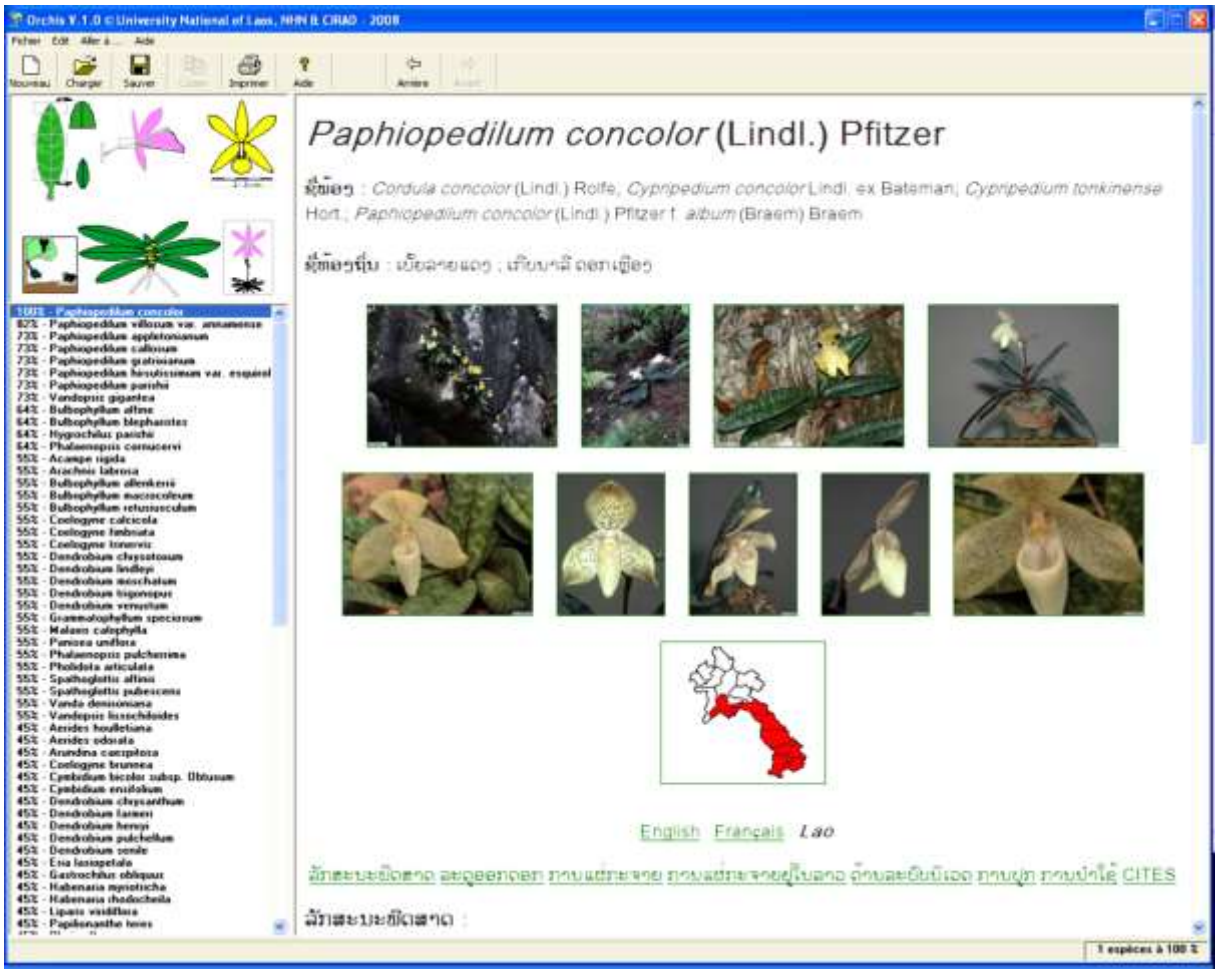


Figure 5. Interface des résultats, présentant la description d'une espèce en laotien, à droite, et son portrait-robot complété en haut à gauche. (Image P. Bonnet)

Figure 6. Session de formation des autorités douanières à l'identification des Orchidées, à Vientiane. Laos. 20 mars 2008. (Photo P. Bonnet)

Figure 7. Formation karstique de la province de Khammouane. 16/05/2007. (Photo P.Bonnet)

Figure 8. *Paphiopedilum callosum* (Rchb.f.) Stein, dans son milieu naturel, près d'un petit cours d'eau, réserve naturelle de Phou Khao Khouay, Province de Vientiane. 5 juin 2007. (Photo P. Bonnet)

La Société Française d'Orchidophilie à Madagascar

Jean-Michel HERVOUET

Abstract – SFO (French Orchid Society) in Madagascar.
- Outline of the 9 trips of French orchidophiles in Madagascar from 2000.
- Presentation of the project established by SFO and by SFO-PCV: census and protection.
- Generality about orchids in Madagascar: the most frequent, our discoveries and some unkonwn species
- The last trip in March 2009:
  - The most beautiful discovery in the Manjakatompo forest, in Ibity Mountain, in the Ranomafana reserve and the Andringitra Mountain.
  - One day of census from the Ambondrombe River: the mountain of deads, which is in free access only from 2007.
- Other biodivdersity than orchids: lemurs, amphibians, chameleon and insects. A small lesson of camouflage. Landscapes

Résumé
- Aperçu des 9 expéditions des orchidophiles français à Madagascar, depuis l'an 2000.
- Présentation du projet de la SFO et de la SFO-PCV : prospection et protection.
- Généralités sur les orchidées de Madagascar, les plus communes, nos découvertes, quelques espèces inconnues.
- L'expédition de mars 2009 :
  - les plus belles trouvailles de la forêt de Manjakatompo, du mont Ibity, de la réserve de Ranomafana, du massif de l'Andringitra.
  - une journée de prospection sur l'Ambondrombe : la montagne des morts, dont l'accès a été autorisé en 2007.
- Autre chose que des orchidées : lémuriens, amphibiens, caméléons et insectes. Petite anthologie du camouflage. Paysages.

Avancées récentes sur les mycorhizes d'orchidée

Marc-André SELOSSE, Marie-Pierre DUBOIS, Mélanie ROY & Florent MARTOS
Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, UMR 5175,
Equipe Interactions Biotiques, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5
ma.selosse@wanadoo.fr - www.cefe.cnrs.fr/coev/MA_Selosse.htm

Antonella FACCIO, Paola BONFANTE. & Mariangela GIRLANDA
Dipartimento di Biologia Vegetale dell'Università, Istituto per la Protezione delle Piante,
CNR, Viale Mattioli 25, 10125 Torino, Italie

Abstract – Mycorhizes correspond to associations between plant roots and fungi, in which they provide mineral elements to plants. Present in more than 90% of plants, such associations are crucial in orchids because associated fungi also provide carbon supply during germination phase. Molecular biology explains recent advances in the identification of the fungi involved in orchid mychorizes. We studied here two kinds of orchids in the *Neottieae* tribe.
Orchids without photosynthetic activity are often involved in species-specific associations with fungi that providing carbon supply. Certain species, notably in temperate habitat, are associated with fungi, which are also themselves associated with neighbooring trees in order to extract their carbon supply - as *Epipogium aphyllum* with Inocybes, or *Neottia nidus-avis* with *Sebacina*. Other species, tropical in particular, are associated with saprophytic fungi, decomposing litter and dead wood.
Terrestrial and green orchids are supplied in carbon by mycorhizal fungi in spite of their photonsynthetical activity. That is the case for *Epipactis* associated with ascomycetes like truffes, for *Cephalanthera* with basidiomycetes like Thelephores, and for *Limodorum* with Russules. Such original metabolism (mixotrophy) explains survival of white and achlorophyllous individuals. That updates our view of orchids and their conservation *in situ*.

Résumé – Les mycorhizes sont des associations entre les racines des plantes et des champignons du sol, où la plante reçoit des sels minéraux collectés par les champignons. Présente chez plus de 90% des plantes, ces associations sont vitales chez les orchidées, où le champignon assure aussi l'alimentation carbonée lors de la germination. L'utilisation de la biologie moléculaire a permis des progrès récents dans l'identification des champignons colonisant les racines des orchidées, sans culture. Soutenus par la SFO, nous avons étudié deux types d'orchidées, en particulier de la tribu des *Neottieae*.
Les orchidées non photosynthétiques forment des associations souvent très spécifiques avec des champignons assurant leur nutrition carbonée. Certaines espèces, en particulier tempérées, sont associées à des champignons qui mycorhizent également les arbres voisins, et tirent de là leur carbone - comme *Epipogium aphyllum* avec des Inocybes, ou *Neottia nidus-avis* avec des *Sebacina*. D'autres, en particulier tropicales, sont associées à des champignons saprophytes, décomposant la litière ou le bois mort.
Certaines espèces terrestres vertes (souvent proches des précédentes), bien que photosynthétiques, reçoivent aussi du carbone par leur champignon – qui complète ainsi leur alimentation et permet leur survie en sous-bois. Ainsi les *Epipactis* sont associés à des ascomycètes comme des Truffes, les *Cephalanthera*, à des basidiomycètes comme les Théléphores, et le Limodore, à des Russules. Ce métabolisme original (appelé mixotrophie) explique la survie d'individus entièrement blancs dans certaines populations. Ces recherches renouvellent notre vision de la biologie des orchidées et de leur conservation *in situ*.

Compatibilité entre champignons symbiotiques et orchidées méditerranéennes

Michele RODDA, Enrico ERCOLE, Silvia PEROTTO, Mariangela GIRLANDA
Dipartimento di Biologia Vegetale, Università di Torino, Viale PA Mattioli 25, 10125 Torino, Italie

Abstract – Compatibility between symbiotic fungi and Mediterranean orchids. Upon germination, all orchids rely on seed-colonizing fungi as a source of water and carbon for protocorm development. At adulthood, orchids featuring a lack of photosynthetic activity (due to their achlorophyllous nature) or reduced photosynthetic efficiency (such as forest species, growing in deeply shaded habitats) still depend on symbiotic fungi for organic carbon supply. By contrast, green orchids thriving in exposed, meadow habitats are believed to emancipate themselves from fungal dependency as soon as they form fully developed leaves, thus acquiring photosynthesis-derived organic carbon.
We have investigated symbiotic associations between soil fungi and Mediterranean meadow orchids (mostly *Orchis*, *Ophrys*, *Anacamptis* and *Serapias* species). Molecular identification of the fungal symbionts of these orchids at the adult stage revealed that, although some orchid species co-occurring in some meadows associate non-specifically with the same fungi, other species feature specific associations with fungi (*Tulasnella* spp.) related to symbionts of forest orchids.Identification of fungal isolates obtained from roots allowed to address specificity of the association at juvenile stages of the orchid life cycle. Germination and symbiotic development assays indicated that fungi isolated from adult plants may be incompatible with orchid seeds or protocorms. The same tests have revealed occurrence of intraspecific variability in fungal performances. These findings underline the need of taking fungal symbiotic associations into account when envisaging conservation plans for green orchids.

Résumé – Au moment de la germination, toutes les orchidées sont dépendantes de champignons qui envahissent la graine en lui apportant l'eau et le carbone nécessaires au développement d'un protocorme. A l'âge adulte, les orchidées ayant une activité photosynthétique absente (par manque de chlorophylle) ou réduite (telles que les espèces forestières, qui colonisent des milieux peu éclairés) continuent à dépendre de leurs champignons symbiotes pour l'apport de carbone organique. En revanche, on considère généralement que les orchidées vertes de milieu ouvert s'affranchissent de cette dépendance au moment où elles forment des feuilles développées, et produisent donc leur propre matière organique par photosynthèse.
Nous avons étudié les associations entre champignons et orchidées méditerranéennes de prairie (espèces d'*Orchis*, *Ophrys*, *Anacamptis* et *Serapias* surtout). L'identification moléculaire des symbiotes racinaires de ces orchidées à l'âge adulte montre que, alors que certaines espèces cohabitant dans la même pelouse s'associent de manière non spécifique aux mêmes cortèges de champignons, d'autres sont spécifiquement colonisées par des espèces fongiques (*Tulasnella* spp.) proches de celles trouvées dans les racines d'orchidées forestières. La possibilité d'identifier précisément les champignons isolés des racines nous a permis aussi de vérifier la spécificité d'interaction dans les stades juvéniles de la plante. Tests de germination et développement symbiotique ont démontré que les souches fongiques isolées à partir d'adultes ne sont pas toujours compatibles avec la graine ou le protocorme, et qu'il existe à ce sujet une variabilité intraspécifique pour les champignons. Ces données soulignent la nécessité de prendre en compte les associations orchidées-champignons dans les projets de conservation d'espèces vertes.

INTRODUCTION

Dans la nature, pour que la graine des orchidées, minuscule et quasiment dépourvue de réserves, puisse germer et atteindre le stade de protocorme, il est nécessaire qu'elle soit infectée par un champignon symbiote fournissant eau et sels minéraux ainsi que du carbone (C) organique. Germination et premiers stades de développement dépendent donc d'une stratégie mycohétérotrophe, c'est-à-dire d'une nutrition carbonée assurée par les champignons symbiotes (Leake, 1994). A l'âge adulte, les orchidées non-chlorophylliennes, faute de photosynthèse, continuent nécessairement à dépendre de leurs partenaires fongiques pour l'apport du C organique (Leake, 2004, 2005; Bidartondo, 2005; Waterman & Bidartondo, 2008; Rasmussen & Rasmussen, 2009). En revanche, on considère généralement que les orchidées "vertes" s'affranchissent de cette dépendance lorsqu'elles forment des feuilles développées et produisent donc leur propre matière organique par photosynthèse. Les espèces ayant une activité photosynthétique réduite, toutefois, telles que les espèces de sous-bois, continuent à recevoir du C par leurs champignons, qui complètent ainsi leur nutrition, et sont par conséquent dites mixotrophes (Selosse & Roy, 2009). Cela peut être démontré grâce à l'analyse des teneurs isotopiques naturelles du C (le rapport entre les isotopes C12 et C13). En effet, les espèces mixotrophes ont une signature isotopique différente des plantes complètement autotrophes environnantes, étant notamment enrichies en C13 par rapport à celles-ci (Gebauer & Meyer, 2003 ; Bidartondo *et al.*, 2004 ; Julou *et al.*, 2005 ; Whitridge & Southworth, 2005 ; Zimmer *et al.*, 2007). Puisque cette condition peut s'expliquer par la colonisation d'habitats caractérisés par un ensoleillement réduit, on peut se demander qu'est-ce qu'il en est des orchidées vertes de milieu ouvert, dont l'activité photosynthétique n'est pas restreinte par cette contrainte environnementale. Ces orchidées restent cependant méconnues quant à leurs stratégies de nutrition et pour ce qui concerne l'identité de leurs champignons mycorrhiziens. Jusqu'à l'introduction de la biologie moléculaire l'on présumait qu'elles étaient associées de manière non spécifique aux Rhizoctonias (Taylor *et al.*, 2002). Ce terme générique est fréquemment utilisé pour désigner des champignons basidiomycètes, faciles à obtenir en culture, regroupés du fait de leurs ressemblances morphologiques au stade asexué (notamment au niveau de leur mycelium, la seule structure que l'on obtient en effet en culture). Comme la biologie moléculaire l'a démontré, il s'agit en réalité d'un ensemble polyphylétique (hétérogène) de basidiomycètes appartenant à des familles/ordres distincts (Taylor *et al.*, 2002 ; Weiss *et al.*, 2004). Par conséquent, la connaissance de l'identité des symbiotes de ces orchidées et de leur spécificité d'association a été longtemps négligée (Waterman & Bidartondo, 2008). Qui plus est, la quasi-totalité des recherches concernant ces orchidées a été consacrée à des espèces d'Australie, généralement étudiées avec des méthodes classiques de mise en culture des symbiontes (Rasmussen, 2002 ; Bonnardeaux *et al.*, 2007 ; Dearnaley, 2007).

Nos recherches à Turin ont porté sur des espèces méditerranéennes [entre autres, *Orchis purpurea* Huds., *Ophrys fuciflora* (F.W Schimdt) Moench, *Anacamptis laxiflora* (Lam.) R.M. Bateman, et *Serapias vomeracea* (N. L. Burman) Briquet], poussant en mélange dans une steppe calcicole à brome située à Cosseria (Liguria, Italie du Nord), un site hébergeant une diversité considérable en orchidées. La présence, sur ce site, de prairies où les quatre espèces cohabitent en différentes combinaisons nous a fourni un scénario idéal pour vérifier l'existence d'une spécificité d'association avec les champignons mycorrhiziens, et pour comparer les cortèges de partenaires fongiques, identifiés grâce à l'analyse des régions ITS de l'ADN nucléaire, en condition de sympatrie et d'allopatrie. L'identification moléculaire des champignons dans les racines de plantes adultes des quatre espèces a été abordée à la fois par l'analyse de l'ADN fongique extrait directement des racines, ainsi que par la mise en culture des champignons. La possibilité d'identifier précisément les champignons isolés nous a

permis aussi de vérifier la spécificité d'interaction dans les stades juvéniles de la plante, à travers la mise en œuvre d'essais de développement symbiotique.

MATERIEL ET METHODES

Identification des champignons mycorrhiziens

Afin d'identifier les champignons mycorrhiziens d'*O. purpurea*, *O. fuciflora*, *A. laxiflora* et *S. vomeracea*, des échantillons de racines d'exemplaires adultes des quatre espèces d'orchidées ont été prélevés à l'époque de floraison dans les années 2005-2007. Les échantillons ont été principalement prélevés dans le site de Cosseria, Ligurie, Italie (N 44,38259; E 8,25623, à 410-450 d'altitude), caractérisé par une végétation à *Festuco-Brometalia*. Pour chaque espèce, des exemplaires provenant de formations végétales semblables en Toscane et Campanie ont aussi été analysés. Les racines ont été lavées sous eau courante, brossées délicatement et soumises à sonication pour éliminer les contaminants superficiels. Les portions racinaires mycorrhizées ont été utilisées directement pour la mise en culture des champignons mycorrhiziens, ou conservées à -80°C pour l'extraction directe d'ADN.

L'ADN a été extrait de fragments de racines selon la méthode de Doyle & Doyle (1990). Le DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) a été utilisé pour l'extraction d'ADN à partir des myceliums. La région ITS de l'ADN ribosomique nucléaire a été amplifiée à l'aide des couples d'amorces ITS1F/ITS4 (génériques pour la région ITS fongique; White *et al.*, 1990), ITS1F/ITS4B (spécifiques pour les basidiomycètes; Gardes & Bruns, 1993) et ITS1/ITS4-Tul (spécifiques pour les Rhizoctonias du groupe *Tulasnella*; Taylor, 1997). Les produits amplifiés ont été clonés dans des vecteurs pGEM-T (Promega) Vingt clones ont été choisis au hasard pour chaque exemplaire d'orchidée et ont été digérés par les enzymes *Alu*I et *Hha*I. Un représentant de chacun des différents profils RFLP, a été séquencé à l'aide des mêmes amorces utilisées pour l'amplification. Les séquences ont été utilisées pour des recherches BLASTN sur le site du National Center for Biotechnology Information (NCBI, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/). Des alignement ont été réalisés à l'aide du logiciel CLUSTALX et utilisés pour des analyses phylogénétiques Neighbour-joining (NJ) avec le logiciel PAUP 4.0.

Pour la mise en culture des champignons mycorhiziens, 1-2 portions de racine pour chaque exemplaire d'orchidée ont été stérilisées par de l'hypochlorite de sodium pendant 30 s et ont été ensuite lavées trois fois avec de l'eau stérile. Au moins 8 portions racinaires longues de 3-5 mm ont été déposées sur milieu de culture MEA (Malt Extract Agar ; 20 g extrait de malt, 20 g agar l^{-1}) additionné de gentamycine (40 mg l^{-1}) en boîtes de Petri. Les boîtes de Petri ont été incubées à température du laboratoire pendant au moins 2 mois afin de permettre le développement des champignons à plus lente croissance.

Essais de germination et développement symbiotique

Les champignons mycorrhiziens isolés des racines ont été utilisés aussi pour la mise en place d'essais de germination et développement symbiotique de *A. laxiflora* et *S. vomeracea*. Des capsules ont été collectées sur plusieurs plantes dans des populations des deux espèces à Cosseria. Les fruits ont été désinfectés et après leur ouverture, la vitalité des graines a été vérifiée par le test du TTH (chlorure de triphényl tetrazolium). Après stérilisation avec hypochlorite de sodium (0,5% de Na actif), les graines ont été déposées sur papier filtre stérile dans des boîtes de Petri contenant du milieu de culture à base de farine d'avoine (Oatmeal Agar). Les boîtes, inoculées au centre avec les souches fongiques, ont été incubées à 20°C, à l'obscurité, pendant 30 jours. Le renflement des graines, puis la formation des protocormes ont été observés. De jeunes plantes chlorophylliennes ont été obtenues à partir des graines qui avaient atteint le stade de protocorme.

RESULTATS

Identification des champignons mycorrhiziens

L'identification moléculaire des champignons mycorrhiziens dans les racines d'exemplaires adultes d'*O. purpurea*, *O. fuciflora*, *A. laxiflora* et *S. vomeracea* a montré que les cortèges de partenaires fongiques des quatre espèces d'orchidées sont dominés par des Rhizoctonias appartenant au groupe *Tulasnella* (64% des séquences de Rhizoctonia), suivies par des Rhizoctonias appartenant à *Ceratobasidium* (30% des séquences), et, dans le cas de *A. laxiflora* et *S. vomeracea* à *Sebacina* (6% des séquences). Aucune des séquences ITS obtenues ne présentait 100% d'identité avec les séquences d'espèces connues de *Tulasnella*, *Ceratobasidium* et *Sebacina*. Ces séquences identifient donc de nouveaux OTUs (« Operational Taxonomic Units », Unités Taxonomiques Opérationnelles) au sein de ces genres fongiques.

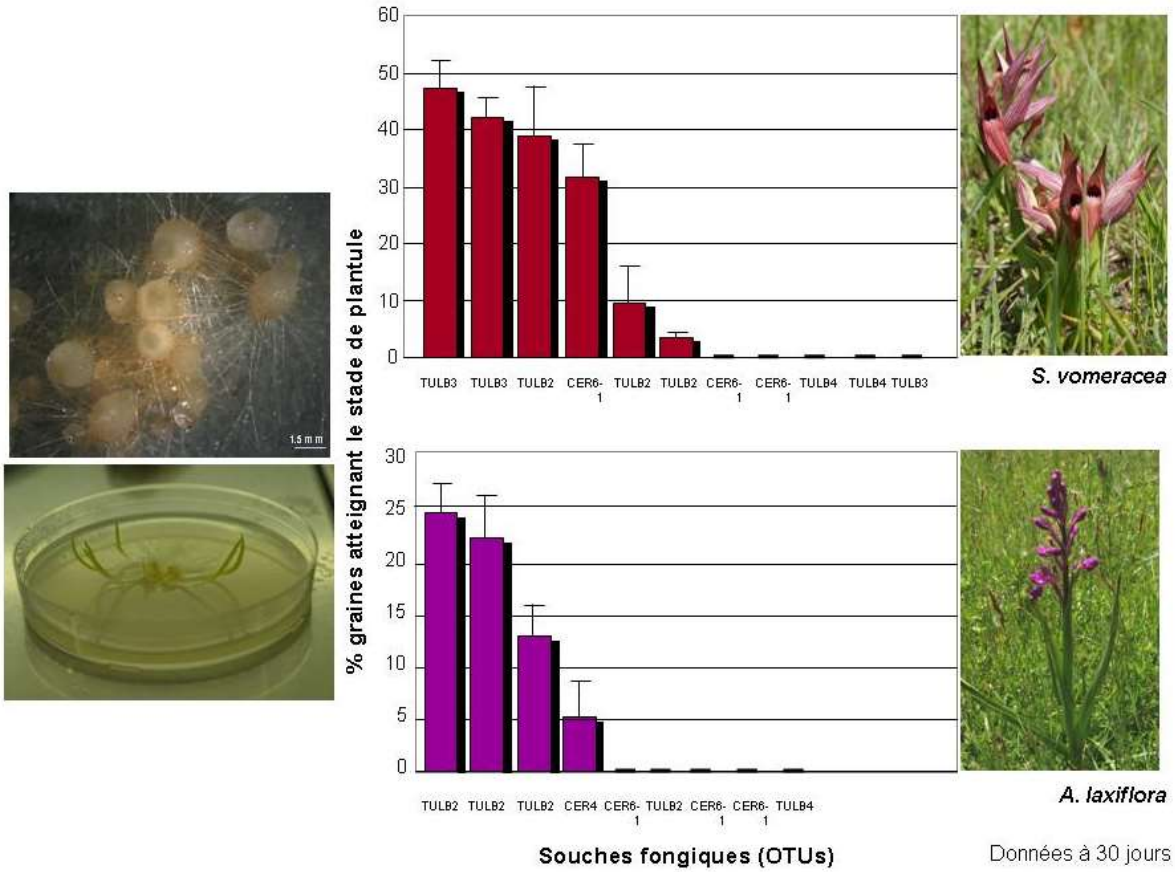


Figure 1. Proportion de graines de *Serapias vomeracea* et *Anacamptis laxiflora* atteignant le stade de plantule suite à l'association symbiotique par différentes souches de *Rhizoctonia*, isolées d'exemplaires adultes des mêmes espèces, appartenant à différents OTUs (« Operational Taxonomic Units », Unités Taxonomiques Opérationnelles) de *Tulasnella* (TUL) et *Ceratobasidium* (CER).

Ces OTUs ont été notamment définis comme groupes de séquences, émergeant dans les analyses phylogénétiques effectuées, qui présentaient au moins 97% d'identité entre elles. La distribution des OTUs de *Tulasnella*, *Ceratobasidium* et *Sebacina* chez les quatre espèces d'orchidées examinées (Tableau I) montre que les orchidées cohabitant dans la même pelouse peuvent s'associer de manière spécifique à des champignons différents, comme il arrive en particulier pour *O. purpurea* et *O. fuciflora*. Enfin, les exemplaires d'une même espèce

d'orchidée prélevés dans des sites différents étaient généralement colonisés par les mêmes cortèges de champignons, ce qui suggère l'absence d'une spécificité géographique.

Tableau 1. Présence des OTUs (« Operational Taxonomic Units », Unités Taxonomiques Opérationnelles) de *Rhizoctonia* identifiées au moyen de l'analyse des séquences d'ADN ITS, appartenant aux genres *Tulasnella* (TUL), *Ceratobasidium* (CER) et *Sebacina* (SEB), dans les racines des exemplaires d'*Anacamptis laxiflora* (AL), *Serapias vomeracea* (SV), *Orchis purpurea* (OP) et *Ophrys fuciflora* (OF) analysés. X, présence dans ≤ 20% exemplaires ; XX, présence dans 21-54% exemplaires ; XXX, présence dans ≥ 55% exemplaires.

	TUL A1-1	TUL A1-2	TUL A1-3	TUL A1-4	TUL A1-5	TUL A2	TUL B1	TUL B2	TUL B3	TUL B4	CER 1	CER 2	CER 3	CER 4	CER 5	CER 6-1	CER 6-2	SEB 1	SEB 2	SEB 3
AL						X	X	**XX**	X	X			X		X	**XX**				X
SV						X	X	**XX**	**XXX**	X						**XX**		X	X	X
OP			X	**XXX**	X				X					X			X			
OF	X	**XXX**						X	X			**XX**	X			X				

Essais de germination et développement symbiotique

Dans le cas d'*A. laxiflora* et de *S. vomeracea* le semis *in vitro* dans les conditions décrites auparavant a démontré que les deux espèces peuvent, parfois, germer en l'absence de symbionte (le pourcentage de graines germant en l'absence de champignons compatibles étant de 3% et 18% pour les deux espèces respectivement). Toutefois, plusieurs souches fongiques ont permis un degré de germination significativement supérieur. En plus, en l'absence de champignons compatibles, le développement ne se poursuit pas au-delà du renflement des graines. La réalisation du stade de protocorme et ensuite de plantule sont donc conditionnés par l'établissement d'un rapport symbiotique.

La comparaison des pourcentages de graines atteignant le stade de plantule suite à l'association symbiotique avec différentes souches de *Rhizoctonia*, appartenant à différents OTUs de *Tulasnella* et *Ceratobasidium* (Figure 1) suggère l'existence d'une variabilité intraspécifique pour ce qui concerne l'efficacité symbiotique des Rhizoctonias utilisées (voire, par exemple, les performances différentes au sein de l'espèce de *Ceratobasidium* indiquée comme OTU CER6_1, ou de l'espèce de *Tulasnella* TULB3). Les résultats obtenus montrent aussi que les souches isolées d'exemplaires adultes ne sont pas toujours compatibles avec la graine.

DISCUSSION

Dans la nature, l'efficacité de la symbiose qui s'établit entre les plantes et leurs microorganismes, en termes de bénéfices reçus par la plante, varie en fonction de l'identité génétique des partenaires. La spécificité d'association [préférence de partenaire(s)] représente donc un aspect important des associations symbiotiques entre plantes et microorganismes. La symbiose mycorrhizienne (interaction entre racines des plantes terrestres et champignons du sol) est généralement non-spécifique, puisque la plante s'associe normalement avec plusieurs partenaires fongiques (Bruns *et al.*, 2002 ; Roy *et al.*, 2008 ; Smith & Read, 2008). Une spécificité des associations mycorrhiziennes se rencontre toutefois dans des situations particulières. Ainsi, chez les plantes mycohétérotrophes (MH) qui dépendent de leurs champignons mycorrhiziens pour ce qui concerne le C organique, la spécificité de cette symbiose représente une règle quasiment absolue. Les seules exceptions connues à présent concernent des orchidées MH tropicales (Franke *et al*,. 2006 ; Roy *et al.*, 2009), ce qui peut suggérer une particularité fonctionnelle des plantes MH et/ou des champignons mycorrhiziens en milieu tropical (Roy *et al.*, 2009). Les espèces mixotrophes de forêt en milieu tempéré

présentent un degré variable de spécificité mycorrhizienne ainsi que de pourcentage de C organique d'origine fongique reçu par la plante. Cela peut s'interpréter comme indication d'une forte influence de l'environnement sur le degré d'hétérotrophie de ces plantes (Bidartondo *et al.*, 2004 ; McCormick *et al.*, 2004, 2006 ; Julou *et al.* 2005 ; Shefferson *et al*,. 2005 ; Abadie *et al.*, 2006 ; Girlanda *et al.*, 2006).

Les résultats de nos analyses concernant quatre espèces d'orchidées méditerranéennes de prairie montrent que les orchidées de milieu ouvert peuvent aussi présenter une préférence de partenaire(s). Il est intéressant de constater que, au moins dans le cas d'*O. purpurea*, cette spécificité peut s'accorder aussi avec l'hypothèse d'une corrélation entre degré de spécificité d'association mycorrhizienne et degré d'hétérotrophie, et donc de dépendance du C d'origine fongique. L'analyse des teneurs isotopiques des quatre espèces, réalisée en collaboration avec Heiko Liebel et Gerhard Gebauer (Université de Bayreuth, Allemagne), a indiqué qu'*O. purpurea* utilise soit le C issu de sa propre photosynthèse soit le C issu des champignons mycorrhiziens, et peut par conséquent être qualifiée de mixotrophe. Cette donnée prouve que cette stratégie trophique mixte est plus répandue qu'on ne le croyait, et renforce l'idée que les exigences particulières de la symbiose (telles que l'apport de C organique à la plante) peuvent accroître la spécificité d'association. Il a été suggéré que la divergence, pour ce qui concerne la préférence pour les partenaires fongiques, entre deux variétés d'une même espèce d'orchidée pourrait représenter une indication de la contribution de la spécificité mycorrhizienne à la diversification évolutive des orchidées (Taylor *et al.*, 2003). Chez le genre *Cypripedium*, l'association avec des groupes particuliers de champignons est apparemment conservée pendant l'évolution (Shefferson *et al.*, 2007). En accord avec l'idée de la « pré-adaptation », l'hypothèse peut être avancée que la capacité des espèces de prairie de s'associer à des champignons pouvant leur fournir de la matière organique pourrait avoir préparé le terrain, au cours de l'évolution des orchidées, pour la colonisation des milieux forestiers, où la photosynthèse est limitée.

Les retombées de nos résultats peuvent concerner tant le domaine fondamental en permettant une meilleure compréhension de la biologie (ainsi que, peut-être de l'évolution) de ces plantes, que celui des applications en mettant à disposition de nouvelles ressources utilisables dans des programmes de conservation. Les indications fournies par les essais de germination et de développement symbiotique, bien qu'obtenues dans des conditions de laboratoire, s'accordent avec des expériences de terrain réalisées par d'autres auteurs. Enfouissement de « seed packets » (sachets en toile contenant les graines), suivi par l'identification moléculaire des champignons associés aux graines, plantules et adultes de *Cephalanthera* spp. ont indiqué que dans la nature aussi, le nombre de partenaires fongiques est plus réduit chez les plantules qu'à l'âge adulte, ou chez les graines (Bidartondo & Read, 2008). Ces données soulignent la nécessité de prendre en compte les associations orchidées-champignons dans les projets de conservation des orchidées photosynthétiques.

Bibliographie

Abadie J.C., Püttsepp Ü., Gebauer G., *et al*. 2006. *Cephalanthera longifolia* (*Neottieae*, *Orchidaceae*) is mixotrophic: a comparative study between green and non-photosynthetic individuals. Canadian Journal of Botany 84: 1462-1477.

Bidartondo M.I. & Read D.J. 2008. Fungal specificity bottlenecks during orchid germination and development. Molecular Ecology 17: 3707-3716.

Bidartondo M.I. 2005. The evolutionary ecology of myco-heterotrophy. New Phytologist 167: 335-352.

Bidartondo M.I., Burghardt B., Gebauer G., Bruns T.D. & Read D.J. 2004. Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of mycorrhizal liaisons between forest

orchids and trees. Proceedings of the Royal Society London Series B – Biological Sciences 271: 1799-1806.

Bidartondo M.I., Burghardt B., Gebauer G., *et al*. 2004. Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of mycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. Proceedings of the Royal Society London Series B – Biological Sciences 271: 1799-1806.

Bonnardeaux Y., Brundrett M., Batty A., *et al*. 2007. Diversity of mycorrhizal fungi of terrestrial orchids: compatibility webs, brief encounters, lasting relationships and alien invasions. Mycological Research 111: 51-61.

Bruns T.D., Bidartondo M.I. & Taylor D.L. 2002. Host specificity in ectomycorrhizal communities: what do the exceptions tell us? Integrative and Comparative Biology 42: 352-359.

Dearnaley J.D.W. 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. Mycorrhiza 17: 475-486.

Doyle J.J. & Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.

Franke T., Beenken L., Doring M., *et al*. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi of the Glomus-group A lineage (Glomerales; Glomeromycota) detected in myco- heterotrophic plants from tropical Africa. Mycological Progress 5: 24-31.

Gardes M. & Bruns T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology 2: 113–118.

Gebauer G. & Meyer M. 2003. ^{15}N and ^{13}C natural abundance of autotrophic and mycoheterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. New Phytologist 160: 209-223.

Girlanda M., Selosse M.A., Cafasso D., *et al*. 2006. Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae. Molecular Ecology 15: 491-504.

Julou T., Burghardt B., Gebauer G., *et al*. 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium*. New Phytologist 166: 639-653.

Julou T., Burghardt B., Gebauer G., *et al*. 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium*. New Phytologist 166: 639-653.

Leake J.R. 1994. The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants. New Phytologist 127: 171-216.

Leake J.R. 2004. Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi. Current Opinions in Plant Biology 7: 422–428.

Leake J.R. 2005. Plants parasitic on fungi: unearthing the fungi in myco-heterotrophs and debunking the "saprophytic" plant myth. Mycologist 19: 113–122.

McCormick M.K., Whigham D.F. & O'Neill J. 2004. Mycorrhizal diversity in photosynthetic terrestrial orchids. New Phytologist 163: 425–438.

McCormick M.K., Whigham D.F., Sloan D., O'Malley K., Hodkinson B. 2006. Orchid-fungus fidelity: a marriage meant to last? Ecology 87: 903–911.

Rasmussen H.N. & Rasmussen F.N. 2009. Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style. Oikos 118: 334-345.

Rasmussen H.N. 2002. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. Plant & Soil 244: 149–163.

Roy M., Dubois M.P., Proffit M., *et al*. 2008. Evidence from population genetics that the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria amethystina* is an actual multihost symbiont. Molecular Ecology 17: 2825-2838.

Roy M., Watthana S., Stier A., *et al*. 2009. Mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. BMC, (in press).

Selosse M.A. & Roy M. 2009. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. Trends in Plant Sciences 14: 64-70.

Shefferson R.P., Weiß M., Kull T., *et al*. 2005. High specificity generally characterises mycorrhizal association in rare lady's slipper orchids, genus *Cypripedium*. Molecular Ecology 14: 613-626.

Smith S.E. & Read D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third Edition. Academic Press, Elsevier.

Taylor D.L. 1997. The evolution of myco-heterotrophy and specificity in some North American orchids. PhD dissertation, University of California at Berkeley.

Taylor D.L., Bruns T.D., Leake J.R. & Read D.J. 2002. Mycorrhizal specificity and function in myco-heterotrophic plants. In: MGA Van der Heijde & IR Sanders (eds). *Mycorrhizal Ecology*. pp. 375-413. Springer-Verlag, Berlin.

Taylor D.L., Bruns T.D., Szaro T.M., Hodges S.A. 2003. Divergence in mycorrhizal specialization within *Hexalectris spicata* (Orchidaceae), a non-photosynthetic desert orchid. American Journal of Botany 90: 1168–1179.

Waterman R.J. & Bidartondo M.I. 2008. Deception above, deception below: linking pollination and mycorrhizal biology of orchids. Journal of Experimental Botany 59: 1085-1096.

Weiß M., Selosse M.A., Rexer K.H., Urban A., Oberwinkler F. 2004. *Sebacinales*: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. Mycological Research 108: 1003–1010.

White T.J., Bruns T.D., Lee S.B. & Taylor J.W. 1990. Amplifications and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: MA Innis, DH Gelfand, JJ Sninsky & TJ White (eds). *PCR protocols: A Guide to Methods and Applications*. pp. 315-322. Academic Press, New York.

Whitridge H. & Southworth D. 2005. Mycorrhizal symbionts of the terrestrial orchid *Cypripedium fasciculatum*. Selbyana 26: 328–334.

Zimmer K., Hynson N.A., Gebauer G., *et al*. 2007. Wide geographical and ecological distribution of nitrogen and carbon gains from fungi in pyroloids and monotropoids (Ericaceae) and in orchids. New Phytologist 175: 166-175.

L'adaptation à la vie à l'ombre chez les orchidées : étude des orchidées non-chlorophylliennes dans les régions tropicales

Florent MARTOS[1,2], Thierry PAILLER[1], Jacques FOURNEL[1] & Marc-André SELOSSE[2]

1) UMR C53 Peuplements végétaux et bioagresseurs en milieu tropical, Université de La Réunion
2) UMR 5175 Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive, Equipe interactions biotiques, CNRS, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5

Abstract – Adaptation to shade in orchids: study in achlorophyllous orchids in tropical regions. Beside species diversity, tropical and temperate forests are expected to offer different biotic interactions. This especially applies to the mycoheterotrophic orchids which have adapted to shaded forest understorey by shifting to achlorophylly. In temperate forests, they specifically associate with some ectomycorrhizal fungi, and thereby exploit carbon from surrounding trees. But do these rules hold in tropical rainforests where ectomycorrhizal fungi are generally absent and such orchids abound? A study of two tropical achlorophyllous orchids shows unexpected mycorrhizal associations with diverse saprotrophic basidiomycetes, and divergence in mycorrhizal specificity. *Gastrodia similis* (Reunion; Mascarene) specifically associates with a *Resinicium* (Hymenochaetales), whereas *Wullschleaegelia aphylla* (Guadeloupe; West Indies) associates with both *Gymnopus* and *Mycena* species. Moreover, analyses of natural 15N and 13C abundances support nutrient chains from dead wood to *G. similis* and from decaying leaf litter to *W. aphylla*. These findings widen the diversity of mycorrhizal fungi associating with orchids, and open new perspectives on orchid and mycorrhizal biology in the tropics.

Résumé – Les organismes peuvent avoir des interactions différentes dans les écosystèmes tempérés et dans les écosystèmes tropicaux. Les orchidées non-chlorophylliennes, adaptées à pousser à l'ombre dans les sous-bois forestiers, en sont un bon exemple. Dans les forêts tempérées, elles ont des associations très spécifiques avec des champignons ectomycorhiziens, et exploitent ainsi la photosynthèse des plantes avoisinantes. Or, les champignons ectomycorhiziens sont absents dans la plupart des forêts tropicales. Cela soulève la question du stratagème développé par les orchidées non-chlorophylliennes dans les régions tropicales. Dans cet article, deux espèces choisies dans des contextes taxonomiques et géographiques différents, révèlent des associations inattendues avec divers champignons saprophytes : *Gastrodia similis* (La Réunion), associée au genre *Resinicium*, obtient du carbone issu de la décomposition de bois mort; *Wullschlaegelia aphylla* (Guadeloupe), associée aux genres *Mycena* et *Gymnopus*, reçoit du carbone issu de la décomposition de feuilles mortes. En élargissant le spectre taxonomique des basidiomycètes associés aux orchidées, cette étude démontre l'existence d'interactions fonctionnellement différentes entre les écosystèmes tempérés et tropicaux.

INTRODUCTION

Les plantes n'exploitent pas directement les ressources du sol, mais dépendent pour cette activité de champignons du sol avec lesquels elles échangent des nutriments dans leurs racines (Smith & Read, 2008). Dans les forêts tempérées, la plupart des plantes ont des symbioses ectomycorhiziennes avec des champignons appartenant aux ascomycètes et aux

basidiomycètes. Dans les forêts tropicales, où l'on rencontre une très grande diversité de plantes, les associations mycorhiziennes sont très peu connues (Alexander & Selosse, 2009).

Toutefois, la symbiose ectomycorhizienne semble absente dans la plupart des forêts tropicales (Smith & Read, 2008). Cela soulève la question du stratagème développé par les orchidées non-chlorophylliennes dans les écosystèmes tropicaux. Apparues indépendamment chez les orchidées (Molvray *et al*., 2000), les 180 espèces non-chlorophylliennes décrites ne réalisent pas la photosynthèse et exploitent le carbone de leurs champignons mycorhiziens (mycohétérotrophie), s'adaptant ainsi à la vie à l'ombre dans les sous-bois forestiers (Leake, 1994, 2004). Dans les forêts tempérées, plusieurs espèces ont intéressé la recherche ces dix dernières années. Chacune révèle une association très spécifique avec un type de champignon, lui même impliqué dans des symbioses ectomycorhiziennes avec des racines de plantes voisines. Par exemple, la néottie nid d'oiseau (*Neottia nidus-avis*) des forêts tempérées obtient des sucres de la photosynthèse des plantes avoisinantes, transmis par des champignons ectomycorhiziens (Selosse *et al*. 2002).

Les espèces tropicales ne semblent pas s'associer à des glomeromycètes (Dearnaley, 2007), groupe de champignons qui forme des symbioses avec la plupart des plantes étudiées dans les régions tropicales. En revanche, certaines espèces asiatiques montrent des stratagèmes différents quant à l'écologie des champignons impliqués et l'origine du carbone obtenu, comme l'espèce *Gastrodia elata* chez laquelle a été isolé un champignon parasite du genre *Armillaria* (Kusano, 1911 ; Kikuchi *et al.*, 2008). Cependant, la spécificité chez les orchidées mycohétérotrophes reste une règle générale (Taylor *et al*., 2002).

Cet article présente la synthèse d'une étude réalisée par nos deux équipes de recherches. Dans cette étude (Martos *et al*., 2009), nous démontrons par différentes méthodes que des orchidées mycohétérotrophes tropicales ont des associations avec divers champignons saprophytes, de façon peu spécifique, et obtiennent ainsi du carbone provenant de la dégradation de la matière organique végétale morte.

MATERIEL ET METHODES

Deux orchidées non-chlorophylliennes, appartenant à des genres distincts dans la sous-famille des Epidendroideae (Molvray *et al*., 2000), ont été étudiées dans deux régions tropicales distantes géographiquement : *Gastrodia similis* Bosser (Bosser, 2006) (figure 1) à La Réunion (Mascareignes) qui fleurit annuellement entre août et septembre, et *Wullschlaegelia aphylla* (Sw.) Rchb. F. (Feldmann & Barré, 2001) (figure 2) à La Guadeloupe (Antilles) qui fleurit annuellement entre avril et juin. Toutes les populations connues en 2007 ont été étudiées, soit cinq et quatre populations respectivement, dans des forêts humides denses de basse altitude. Deux à dix individus par population ont été échantillonnés au niveau de leurs racines. Au laboratoire de l'Université de La Réunion, des coupes fines ont été réalisées dans les racines et observées en microscopie optique afin de retenir des zones présentant des colonisations par des champignons. Au niveau de ces zones, des tronçons de racines de 0,5 cm ont été réalisés et traités pour des analyses de génétique et pour des observations de microscopie électronique (non détaillé ici; Martos *et al*., 2009). D'autre part, pour vérifier nos hypothèses sur l'origine du carbone obtenu indirectement par les orchidées, différents échantillons ont été collectés dans l'environnement proche de plantes étudiées, et analysés pour leurs teneurs naturelles en éléments ^{13}C et en ^{15}N (non détaillé ici; Martos *et al*., 2009). Simplement, les concentrations de ces deux éléments lourds dans les tissus des organismes sont utilisés comme des indicateurs permettant de retracer indirectement les chaînes alimentaires dans les écosystèmes (Trudell *et al.*, 2003 ; Zeller *et al.*, 2007).

RESULTATS

Chez *G. similis*, espèce endémique de La Réunion, trois nouvelles populations ont été découvertes au cours de cette étude. Les nouvelles populations ont été observées dans les deux forêts naturelles du Tremblet (Saint Philippe) et du Brûlé Takamaka (Sainte Rose), ainsi que dans une forêt secondaire à la Rivière Sainte Suzanne envahie par *Syzygium jambos* (Myrtaceae). Une sixième population, non étudiée ici, a été découverte récemment dans la forêt naturelle de Sainte Marguerite (Saint Benoît).

G. similis présente dans ses parties souterraines, un rhizome très développé rempli de réserves en amidon et dépourvu de champignons mycorhiziens. Les racines partant du rhizome présentent des colonisations massives par des champignons mycorhiziens au niveau de renflements importants. Ces renflements sont souvent directement en contact avec des débris de bois mort appartenant souvent à l'espèce *Nuxia verticillata* (Loganiaceae) (figure 1). D'autre part, *W. aphylla* présente dans ses parties souterraines des racines tubéreuses remplies de réserves en amidon et dépourvues de champignons mycorhiziens. De très longues racines secondaires, colonisées massivement, sont connectées par zones à des débris de feuilles mortes et même indirectement par des faisceaux allongés de champignons (rhizomorphes) (figure 2). En microscopie électronique, l'épiderme des racines colonisées est souvent nécrosé chez les deux espèces, et des colonisations massives sont observées à ce niveau dans des zones plus internes à la racine. Les champignons observés au niveau de ces zones montrent certaines structures microscopiques des basidiomycètes.

L'analyse génétique des champignons a confirmé la présence de plusieurs basidiomycètes. Un champignon *Resinicium sp.* (Hymenochaetales) a été identifié chez *G. similis* dans toutes les populations et chez la majorité des plantes. Alors que plusieurs champignons *Mycena spp.* et *Gymnopus spp.* ont été identifiés chez *W. aphylla* au sein des mêmes populations et parfois des mêmes plantes. Tous les champignons identifiés ont été rattachés à des groupes de champignons saprophytes dans les sols forestiers.

Enfin, les teneurs naturelles en ^{13}C et en ^{15}N ont conforté nos hypothèses sur les chaînes alimentaires des deux espèces, soit bois mort > champignon saprophyte > orchidée chez *G. similis*, et feuilles mortes > champignons saprophytes > orchidée chez *W. aphylla*.

DISCUSSION

Les deux espèces *G. similis* et *W. aphylla* montrent plusieurs similarités dans leur morphologie et dans celles de leurs associations mycorhiziennes, bien que ces deux espèces aient des origines taxonomiques différentes (Molvray *et al.*, 2000). De plus, leurs particularités diffèrent en de nombreux points du scénario sur le fonctionnement de la mycohétérotrophie décrit chez les orchidées tempérées :

(1) L'interaction au niveau des racines : notamment au niveau de l'épiderme, vivant chez la plupart des plantes, qui est souvent nécrosé dans les zones colonisées par des champignons. S'agit-il d'un mécanisme orchestré par la plante pour attirer les champignons saprophytes en libérant des substances organiques près des racines?

(2) La morphologie des racines : les deux espèces présentent des systèmes souterrains plus développés que la plupart des espèces tempérées. Ces particularités anatomiques sont-elles liées à une adaptation aux conditions écologiques des forêts tropicales humides ou bien à certaines positions taxonomiques chez les espèces?

(3) Les champignons basidiomycètes impliqués dans des associations mycorhiziennes : les genres *Resinicium*, *Mycena* et *Gymnopus* identifiés dans cette étude, démontrent l'existence d'une diversité encore sous-estimée de basidiomycètes mycorhiziens. Cette étude rejoint les hypothèses de plusieurs apparitions indépendantes de la mycohétérotrophie chez les orchidées (Molvray *et al.*, 2000 et de changements fréquents de partenaires mycorhiziens durant l'évolution des genres

mycohétérotrophes—comme le genre *Gastrodia* dont les différentes espèces ont des associations avec *Armillaria* (Kusano, 1911), *Mycena* (Ogura-Tsujita *et al*., 2009) et *Resinicium*. Ces changements ont-ils un rôle dans la diversification des espèces mycohétérotrophes?

(4) De la matière végétale dégrédée comme unique source de carbone: les orchidées mycohétérotrophes considérées comme des espèces « parasites » dans les milieux tempérés, spécialisées dans l'exploitation de la photosynthèse des plantes voisines, montrent un stratagème très différent dans les régions tropicales. Elles obtiennent du carbone par divers associations avec des champignons saprophytes, comme le genre *Resinicium spp.* décrit comme un groupe saprophyte spécialisé dans la décomposition du bois mort (Nakasone, 2007)

(5) La non-spécificité chez l'espèce *W. aphylla* : la spécificité dans les interactions entre organismes peut varier entre les types d'écosystèmes. L'orchidée *W. aphylla*, en s'associant à divers champignons dans les populations et même dans les plantes, présente une spécificité peu marquée dans son choix de partenaires. Récemment, les orchidées *Aphyllorchis spp.* d'Asie tropicale ont révélé des associations peu spécifiques avec des champignons ectomycorhiziens (Roy *et al.*, 2009).

CONCLUSION

Les orchidées mycohétérotrophes, longtemps appelées orchidées saprophytes, révèlent dans cette étude des associations inattendues avec divers champignons saprophytes dans leurs racines. Ces résultats appellent à de nouvelles recherches sur d'autres espèces mycohétérotrophes des régions tropicales afin de vérifier si les particularités observées ici sont liées à des adaptations indépendantes aux conditions écologiques tropicales ou bien à certaines positions taxonomiques chez les orchidées. Plus généralement, cette étude montre que les végétaux peuvent avoir des interactions différentes dans les écosystèmes tempérés et tropicaux, ces derniers abritant probablement une grande diversité de niches écologiques originales.

Bibliographie

Alexander I.J. & Selosse M.-A. 2009. Mycorrhizas in tropical forest: a neglected research imperative. New Phytologist 182: 14-16.

Bidartondo M.I. 2005. The evolutionary ecology of mycoheterotrophy. New Phytologist 167: 335-352.

Bosser J. 2006. Contribution à l'étude des Orchidaceae de Madagascar, des Comores et des Mascareignes. XXXV. Description d'un *Oeceoclades* nouveau de Madagascar, et notes sur trois genres nouveaux pour les Mascareignes. Adansonia 28: 45-54.

Dearnaley J.D.W. 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. Mycorrhiza 17: 475-486.

Feldmann P. & Barré N. 2001. Atlas des orchidées sauvages de la Guadeloupe. Patrimoines Naturels 48, Paris, SPN/IEGB/MNHN/CIRAD.

Kikuchi G., Higuchi M., Morota T., Nagasawa E. & Suzuki A. 2008. Fungal symbiont and cultivation test of *Gastrodia elata* Blume (Orchidaceae). Journal of Japanese Botany 83: 88-95.

Kusano S. 1911. *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*. Journal of the College of Agriculture Imperial University of Tokyo 4: 1-65.

Leake J.R. 1994. The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants. New Phytologist 127: 171-216.

Leake J.R. 2004. Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi. Current Opinion in Plant Biology 7: 422-428.

Martos F., Dulormne M., Pailler T., Bonfante P., Faccio A., Fournel J., Dubois M.-P. & Selosse M.-A. 2009. Independent recruitment of saprotrophic fungi by tropical achlorophyllous orchids. New Phytologist 184: 668-681.

Molvray M., Kores P.J. & Chase M.W. 2000. Polyphyly of mycoheterotrophic orchids and functional influence on floral and molecular characters. In: Wilson K.L., Morrison D.A., eds. Monocots: systematics and evolution. Melbourne: CSIRO, 441-447.

Nakasone K.K. 2007. Morphological and molecular studies on *Resinicium* s. str. Canadian Journal of Botany 85: 420-436.

Ogura-Tsujita Y., Gebauer G., Hashimoto T., Umata H. & Yukawa T. 2009. Evidence for novel and specialized mycorrhizal parasitism: the orchid *Gastrodia confusa* gains carbon from saprotrophic *Mycena*. Proceedings of the Royal Society London B 276: 761-767.

Roy M., Whatthana S., Richard F., Vessabutr S. & Selosse M.-A. 2009. Mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical dipterocarpacean forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. BMC Biology 7:51.

Selosse M.-A., Weiss M., Jany J.L. & Tillier A. 2002. Communities and populations of sebacinoid basidiomycetes associated with the achlorophyllous orchid *Neottia nidus-avis* and neighbouring tree ectomycorrhizae. Molecular Ecology 11: 1831-1844.

Smith S.E. & Read D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Cambridge, UK: Academic Press.

Taylor D.L., Bruns T.D., Leake J.R. & Read D. 2002. Mycorrhizal specificity and function in myco-heterotrophic plants. In: Van der Heijden M.G.A., Sanders I, eds. *Mycorrhizal Ecology*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 375-413.

Trudell S.A., Rygiewicz P.T., Edmonds R.L. 2003. Nitrogen and carbon stable isotope abundances support the myco-heterotrophic nature and host-specificity of certain achlorophyllous plants. New Phytologist 160: 391-401.

Zeller B., Brechet C., Maurice J.P., Le Tacon F. 2007. ^{13}C and ^{15}N isotopic fractionation in trees, soils and fungi in a natural forest stand and a Norway spruce plantation. Annals of Science 64: 419-429.

Figure 1. Photographies de l'orchidée *Gastrodia similis*, endémique de La Réunion, enracinée dans des débris de bois mort de l'espèce d'arbre *Nuxia verticillata* (Loganiaceae). Forêt de Mare Longue à Saint Philippe ; août 2006.

Figure 2. Photographies de l'orchidée *Wullschlaegelia aphylla* à La Guadeloupe, dont les racines sont connectées à des feuilles mortes par des rhizomorphes de champignons (filaments noirs). Forêt de la Traversée ; juin 2007.

De la graine à l'adulte, de l'individu à l'espèce : des orchidées plus hétérotrophes qu'il n'y paraît ?

Mélanie ROY & Marc-André SELOSSE
Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR 5175 CNRS,
1919 route de Mende. 34293 Montpellier cedex 07
melanie.roy@cefe.cnrs.fr, ma.selosse@wanadoo.fr

Abstract – From seed to adult stage, from individuals to species: are orchid more mycoheterotroph than they look like? A few orchids can survive without photosynthesis, producing albino individuals that receive their organic carbon from their mycorrhizal fungi. This kind of nutrition, called mycoheterotrophy, has frequently arose in orchid evolution: all orchid seeds are rely on fungi for their germination, and nearly 200 species are mycoheterotroph until adult stage. A few forest dwelling orchid that are photosynthetic for adult stages can even produce adult albino. Such punctual albino are mainly observed in the Neottieae tribe and are phylogenetically close to complete mycoheterotroph species. Studying these albino permit to understand better the nutritional strategies of forest dwelling orchids, their relationships to their mycorrhizal fungi and their ecology.

Résumé – Les orchidées complètement dépourvues de chlorophylle peuvent survivre car leur nutrition ne repose pas uniquement sur la photosynthèse, mais également sur des apports de matière organique *via* des champignons mycorhiziens. Ce mode de nutrition, la mycohétérotrophie, est fréquemment apparu chez les orchidées, et concerne aussi les graines en germination de toutes les orchidées. A côté des espèces non chlorophylliennes, mycohétérotrophes à l'âge adulte, certaines espèces photosynthétiques présentent des individus non chlorophylliens. Ces individus dits albinos, surtout observés chez les Néottiées, permettent d'étudier plus généralement la nutrition des orchidées en milieu forestier, et leur lien particulier aux champignons.

Une synthèse sur les mycorhizes d'orchidées rédigée par M.-A. Selosse et J.-J. Guillaumin a été publiée dans "Orchidées de France, Belgique et Luxembourg" (M. Bournérias & D. Prat, ed., p. 34-44). Une version mise à jour en allemand a été publiée en 2007 (Vom Keimstadium zur adulten Pflanze: die symbiotischen Pilze der Orchideen. *Jahresberichte des Naturwissenschaftlichen Vereins Wuppertal*, 60: 253-273), et une nouvelle mise à jour en néerlandais paraitra bientôt dans *"Liparis"*, le périodique annuelle du "*Werkgroep Europese Orchideeën Pays-Bas"*.

INTRODUCTION

Les orchidées sont extrêmement diversifiées en termes d'espèces et d'habitat, puisqu'elles comptent près de 30000 espèces forestières ou de milieu ouvert, tropicales ou tempérées, terrestres ou épiphytes (Cribb et al., 2003). Les orchidées présentent aussi une grande diversité d'interactions avec d'autres organismes, comme des insectes pollinisateurs (Benzing, 1987), ou les champignons mycorhiziens (Clements, 1988 ; Bournerias & Prat, 2005).

De la graine à l'adulte : un début de vie mycohétérotrophe

Les mycorhizes d'orchidées diffèrent de celles des autres plantes terrestres. En effet, les racines de 85% des plantes terrestres sont associées à des champignons du sol qui leur fournissent de l'eau et des sels minéraux en échange de sucres issus de la photosynthèse (Smith & Read, 2008). Les échanges s'effectuent au niveau d'organes appelés mycorhizes, formés par les cellules de la racine et des filaments mycéliens du champignon. Chez les orchidées, les mycorhizes sont formées avec des rhizoctonias (Moore, 1987 ; Rasmussen, 1995 ; Bayman *et al*., 2008), un ensemble de champignons par ailleurs connus comme saprophytes de milieux ouverts (un saprophyte se nourrit à partir de matière organique morte). Chez les autres plantes, les champignons mycorhiziens ont rarement conservé la capacité à vivre en purs saprophytes dans le sol.

De plus, chez les orchidées, les champignons sont à la fois présents dans les graines en germination et dans les racines des plantes adultes (Bournerias & Prat, 2005 ; Smith & Read, 2008). La colonisation des graines d'orchidées en germination est par ailleurs étonnante : puisque celles-ci ne possèdent ni réserves (Figure 1a ; Arditti & Ghani, 2000) ni chlorophylle, les champignons ne reçoivent donc aucun sucre. Ils fournissent eux-mêmes les sucres, l'eau et les sels minéraux et aident au développement d'un massif cellulaire souterrain peu différencié et hétérotrophe, le protocorme (Figure 1b). Ces rhizoctonias, qui gardent leur mode de vie saprophyte, sont capables d'apporter des sucres issus de la dégradation de la matière organique aux graines d'orchidées. De ce fait, les graines d'orchidées sont hétérotrophes : elles sont dites mycohétérotrophes (Leake, 1994), puisque leur matière organique provient de champignons.

Les orchidées non-photosynthétiques : des plantes toujours mycohétérotrophes

Ce mode de vie mycohétérotrophe est apparu chez huit familles d'angiospermes et principalement chez les orchidées, qui comptent 180 espèces mycohétérotrophes, soit près de la moitié des mycohétérotrophes (Leake, 1994). Ces 180 orchidées appartiennent à des tribus distinctes, laissant supposer au moins une vingtaine d'apparitions indépendantes de la mycohétérotrophie adulte chez les orchidées (Figure 2a ; Molvray et al., 2000).

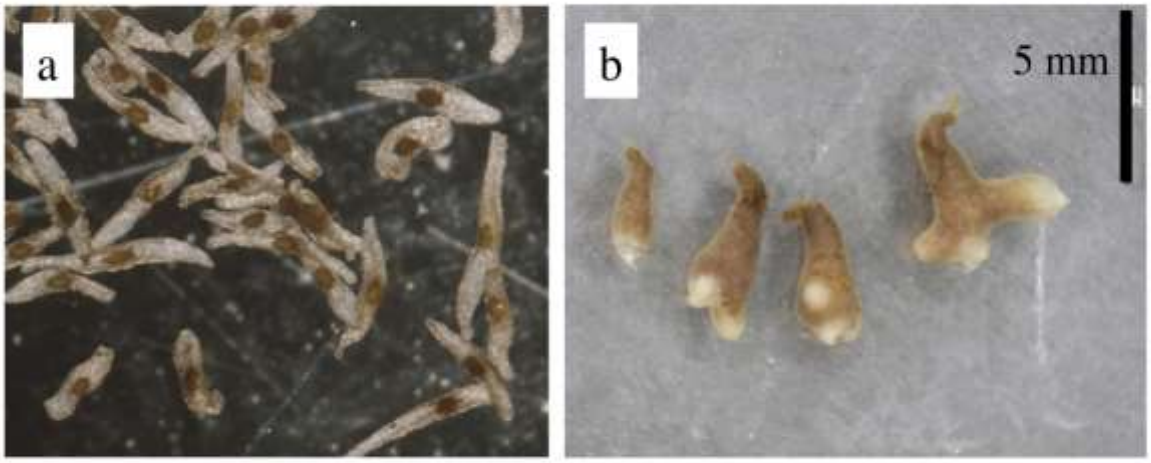


Figure 1. a, Graines d'*Epipactis helleborine* (noter le petit embryon brun et rond dans l'enveloppe transparente de la graine, photo T. Malinova) et **b**, à la même échelle, protocormes de 6 mois d'*Epipactis atrorubens* (les zones brunes sont mycorhizées, tandis que les méristèmes, non colonisés, sont blanchâtres. (Photo J. Jersakova)

Ces apparitions récurrentes suggèrent des prédispositions à la perte de la photosynthèse et à la mycohétérotrophie chez les orchidées, perte sans doute facilitée par le fait que toutes les germinations d'orchidées sont mycohétérotrophes. Il reste toutefois à étudier les

transitions d'un état 'germination mycohétérotrophe' à un état 'germination et adulte mycohétérotrophe', pour comprendre l'abondance des espèces mycohétérotrophes chez les orchidées.

Les Néottiées et l'évolution de la mycohétérotrophie

La tribu des Néottiées comporte à la fois des espèces mycohétérotrophes et des espèces vertes, donc photosynthétiques, essentiellement de régions tempérées (Figure 3 ; Bateman, 2005). La proximité phylogénétique d'espèces photosynthétiques et mycohétérotrophes peut permettre de comprendre ce qui, chez les espèces photosynthétiques, favoriserait la fixation de la mycohétérotrophie à l'âge adulte : sans doute les espèces photosynthétiques ont-elle un trait qui les prédispose à devenir parfois mycohétérotrophes dans l'évolution.

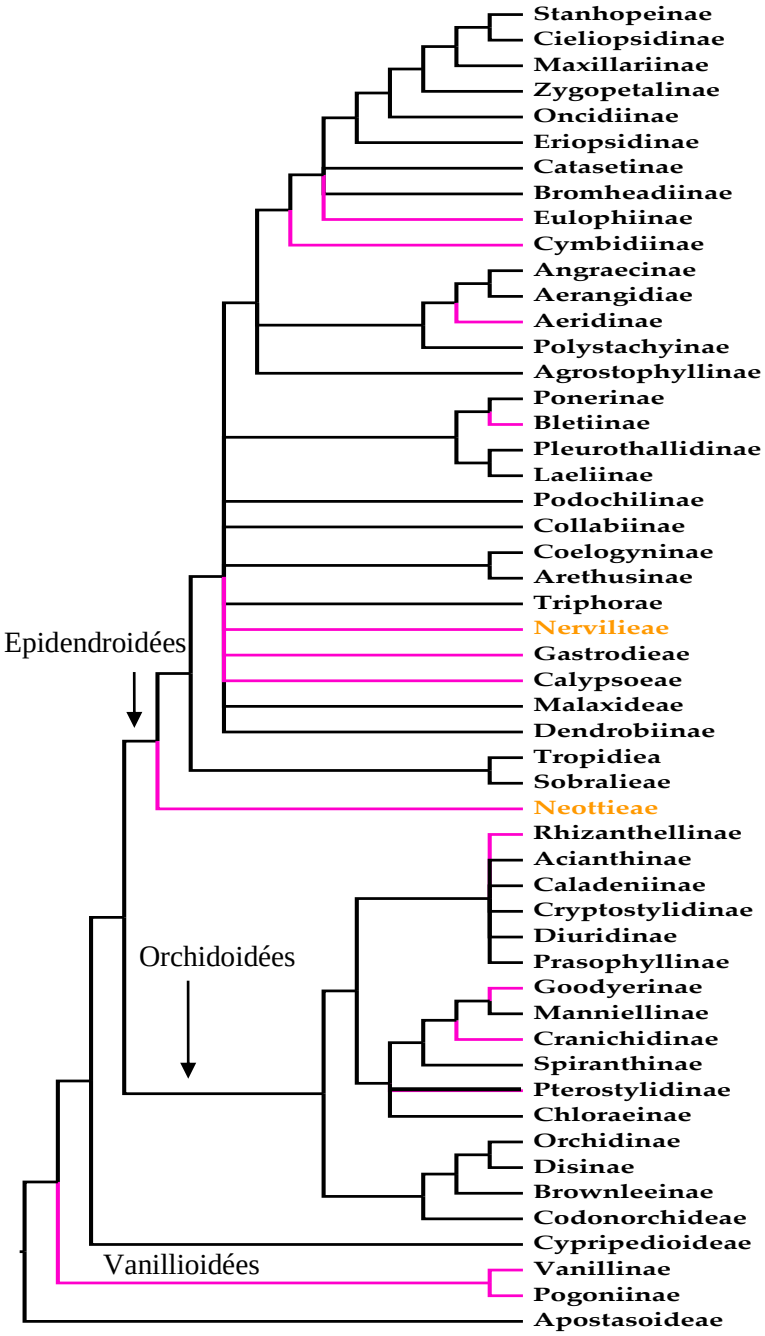


Figure 2. a, Arbre phylogénétique des sous-tribus d'Orchidées. Les branches coloriées en rose comportent des espèces mycohétérotrophes. Les tribus coloriées en orange contiennent la plupart des mycohétérotrophes tempérées. Phylogénie d'après Chase *et al.*, 2003. **b**, *Aphyllorchis montana*, une orchidée mycohétérotrophe de la tribu des Neottiées. Sa tige est non chlorophyllienne et ses feuilles sont réduites à des écailles. (Photo M. Roy)

Les Néottiées mycohétérotrophes présentent un point commun : elles ne sont pas associées à des rhizoctonias, mais à des champignons comme les Sébacinas, les Russules ou les Théléphores (Taylor & Bruns, 1997 ; Selosse *et al*, 2002b). Ces champignons sont par ailleurs connus comme mycorhiziens d'arbres forestiers tels le Chêne ou le Hêtre (Selosse *et al*., 2002a). De plus, les mêmes individus ont été identifiés à la fois dans les racines de chêne et de la Néottie nid d'oiseau (une néottiée mycohétérotrophe), ce qui confirme l'identité et l'écologie de ces champignons (Selosse *et al*, 2002b ; Selosse, 2003). Ces champignons établissent donc également des mycorhizes avec les arbres, dont ils reçoivent des sucres. En conséquence, la Néottie nid d'oiseau reçoit indirectement des sucres produits par l'arbre auquel ces mêmes champignons sont associés (Selosse, 2003).

Cette hypothèse a été validée chez *Corallorhiza trifida* en marquant radioactivement du dioxyde de carbone assimilé par un arbre relié à cette orchidée par le mycélium de champignons mycorhiziens (McKendrick *et al*., 2000). Ce fonctionnement est aussi attesté indirectement par les teneurs spontanées en isotopes stables du carbone (carbone 13) chez les mycohétérotrophes (Roy *et al*., 2009). En effet, au sein d'une chaîne alimentaire, le consommateur présente la même teneur en isotopes stables du carbone que sa source d'aliments. Dans ce cas, la teneur en isotopes stables mesurée chez les mycohétérotrophes est identique à celle des champignons mycorhiziens des arbres voisins. Ceux-ci constituent donc la source de carbone utilisée par les Néotties. Ce mode d'alimentation et ce type d'association sont communs aux différentes Néottiées mycohétérotrophes tempérées ou tropicales (Tableau 1).

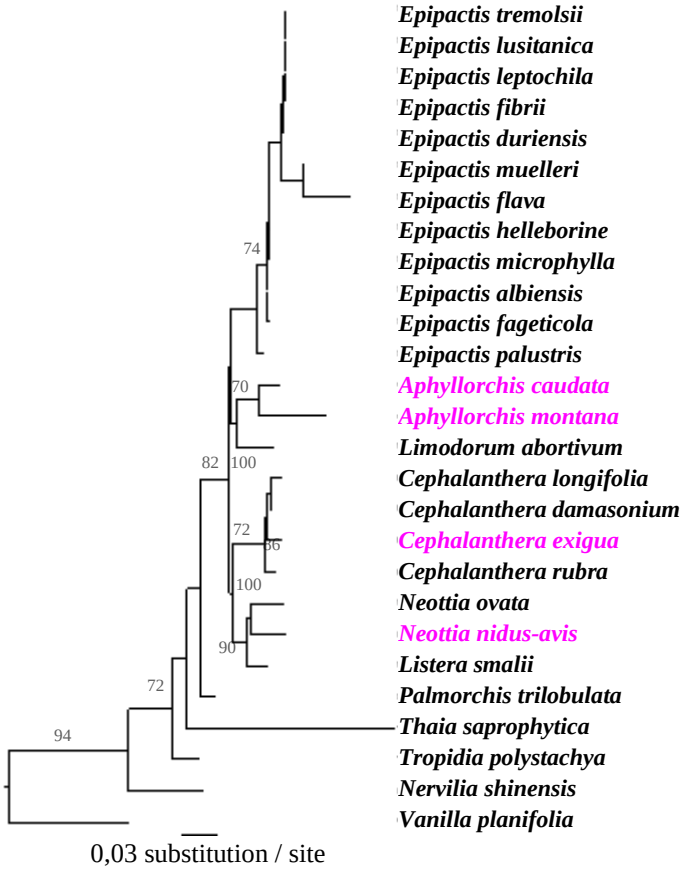


Figure 3. Arbre phylogénétique des Néottiées, reconstruit à partir de trois gènes (ITS, rbcL et trnS-G), par la méthode du maximum de vraisemblance, (les valeurs sont celles de bootstrap dépassant 70%, sur 10000 réplicats). Les espèces en rose sont mycohétérotrophes, celles en noir sont photosynthétiques. D'après Roy *et al*., 2009.

Ces champignons mycorhiziens d'arbres et d'orchidées mycohétérotrophes sont phylogénétiquement bien distincts des rhizoctonias : l'apparition de la mycohétérotrophie chez les Néottiées s'est accompagnée d'un changement de partenaire mycorhizien par rapport aux orchidées chlorophylliennes. Il s'y ajoute aussi un changement d'habitat : les

mycohétérotrophes poussent en sous-bois, dans des environnements sombres, au contraire des orchidées chlorophylliennes de pelouses et de milieux ouverts.

Tableau 1. Diversité des partenaires mycorhiziens des Néottiées mycohétérotrophes.

Espèce	Habitat	Partenaire mycorhizien	Etude de référence
Neottia nidus-avis	Tempéré	Sebacinaceae	Selosse *et al*. 2002
Cephalanthera austinae		Thelephoraceae	Taylor & Bruns 1997
Cephalanthera exigua	Tropical	Thelephoraceae	Roy *et al*. 2009a
Aphyllorchis montana et *A. caudata*		Thelephoraceae, Russulaceae, Sebacinaceae, Clavulinaceae	

La nutrition des Néottiées photosynthétiques… toujours autotrophe ?

Les plus proches parents photosynthétiques de ces espèces mycohétérotrophes sont aussi des orchidées de sous-bois, comme les Listères, les Epipactis ou les Cephalanthères (Figure 3). Etonnamment, ces espèces ne sont que peu ou pas associées à des champignons rhizoctonias, et leurs racines sont souvent colonisées par des champignons tels que les Russules, les Théléphores (Julou *et al*., 2005 ; Abadie *et al*., 2006). Dans le cas des Epipactis, il s'agit même… d'espèces de truffes (Selosse *et al*., 2004) – d'ailleurs des auteurs hongrois ont démontré que la présence des Epipactis est corrélée avec celle des espèces de truffes (Ouanphanivanh *et al*., 2009) ! Il s'agit donc, dans tous les cas, encore une fois des champignons mycorhiziens à la fois des arbres et des orchidées - les mêmes que ceux mycorhizant les Néottiées mycohétérotrophes. Se pourrait-il que, dans ce cas aussi, l'orchidée recoive du carbone du champignon à l'âge adulte ?

La mesure de la teneur en isotope stable du carbone (carbone 13) chez ces espèces photosynthétiques a démontré ce phénomène : elles ont une teneur intermédiaire entre celle de champignons mycorhiziens d'arbres (Gebauer & Meyer, 2003 ; Julou *et al*., 2005) et celle des autres plantes photosynthétiques des alentours. Leur teneur n'est cependant pas identique aux mycohétérotrophes puisque ces espèces sont photosynthétiques et n'utilisent donc qu'en partie les sucres fournis par les champignons. A partir des arbres voisins (Figure 4). Mélangeant deux sources de carbone (la photosynthèse et le champignon), ces espèces sont appelées 'mixotrophes'.

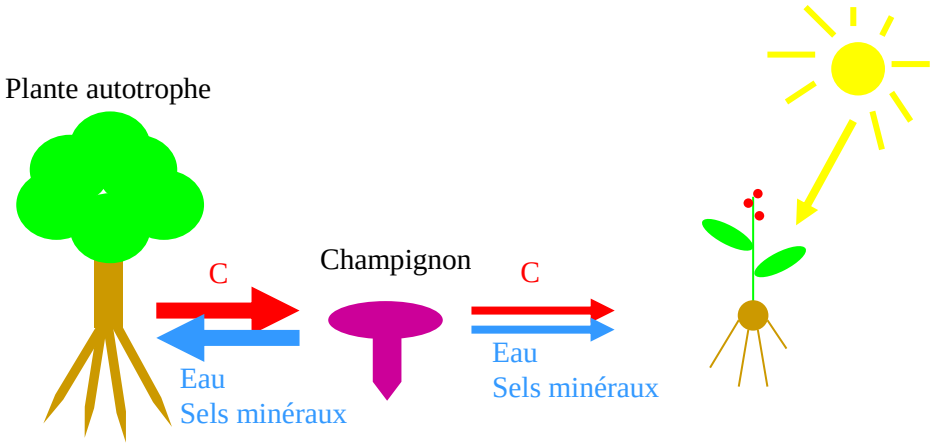


Figure 4. Schéma du métabolisme carboné des orchidées mixotrophes, associées à des champignons mycorhiziens d'arbres.

En comparant leur teneur en carbone 13 à celle des plantes photosynthétiques ou mycohétérotrophes (voire, des champignons) poussant aux alentours, il est donc possible de calculer le pourcentage de carbone d'origine fongique reçu par la plante. Par définition il est

de 100% pour une plante mycohétérotrophe, varie au moins de 20 à 80% chez les Néottiées mixotrophes, selon l'espèce et les cas étudiés (Selosse *et al*., 2006 ; Selosse & Roy, 2009 ; Figure 5). Dans chaque espèce, l'intensité de l'éclairement agit négativement sur ce pourcentage : inversement, plus elle est à l'ombre, plus une orchidée se nourrit de ses champignons. Nous essayons actuellement de comprendre ce qui détermine le niveau de mycohétérotrophie dans le détail.

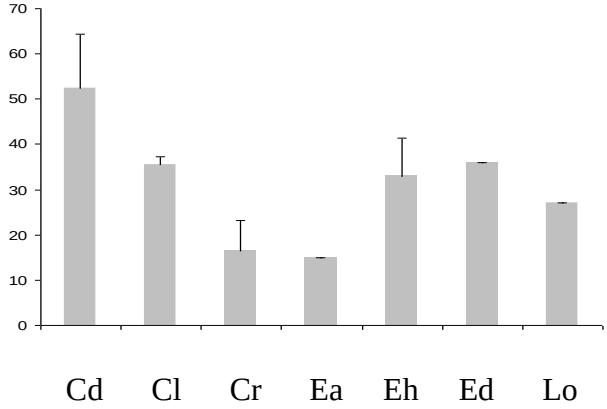


Figure 5 : Pourcentage de carbone d'origine fongique dans les feuilles de quelques Néottiées mixotrophes. Cd : *Cephalanthera damasonium* ; Cl : *C. longifolia* ; Cr : *C. rubra* ; Ea : *Epipactis atrorubens* ; Eh : *E. helleborine* ; Ed : *E. distans* ; Lo : *Listera ovata.* (Données extraites de Gebauer & *Meyer*, 2003 ; Julou *et al*., 2005 ; Abadie *et al*., 2006).

Evolutivement, au moins au sein des Néottiées, il en ressort que l'apparition de la mycohétérotrophie complète n'est pas un phénomène apparu brutalement. Bien plus, elle est le résultat d'une dépendance de plus en plus importante vis-à-vis du carbone des champignons dans certaines lignées, qui aboutit à la perte de la chlorophylle (Abadie *et al*., 2006 ; Selosse & Roy, 2009). L'ancêtre des Néottiées était sans doute déjà mixotrophe, ce qui a autorisé plusieurs apparitions de la mycohétérotrophie chez les Néottiées (Figure 3).

Les Néottiées albinos : des individus mycohétérotrophes

Chez les Néottiées mixotrophes, certains individus perdent la photosynthèse de façon ponctuelle (par exemple, ils ne fixent pas de CO2 à la lumière ; Julou *et al*., 2005) : on les dit « albinos » (Figure 6). (Attention, le terme albinos est ici utilisé pour caractériser l'organisme entier, ne pas confondre avec l'albinisme floral !). Ces albinos sont toutefois assez rares. Chez les Céphalanthères, le phénotype est souvent stable (observation jusqu'à 12 ans de suite pour *C. longifolia* ; Abadie *et al*., 2006) ; chez les Epipactis, des individus panachés ou de coloration évoluant dans le temps existent. Ces albinos diffèrent de ceux observés chez les autres plantes dans la mesure où ils sont assez vigoureux pour se reproduire et éventuellement persister plusieurs années de suite. Ils semblent posséder les mêmes champignons mycorhiziens que les individus photosynthétiques voisins (Julou *et al*. 2005 ; Abadie *et al*., 2006).

Figure 6. Un exemple d'albinos chez *Cephalanthera rubra*. (Photo J.-P. Amardeilh)

Ces albinos témoignent aussi de la facilité avec laquelle la photosynthèse peut être perdue chez des espèces mixotrophes. En conséquence, la détection de ces albinos peut mettre

en évidence des espèces photosynthétiques et mixotrophes (Tableau 2). Par exemple, chez les Néottiées, nous avons répertorié au moins six espèces de Céphalanthères et onze espèces d'Epipactis qui pourraient être mixotrophes, d'après l'existence d'albinos.

Le recensement des albinos viables chez les orchidées montre que les Néottiées ne sont pas les seules à présenter ce phénomène (Tableau 3). La mixotrophie est donc probablement beaucoup plus répandue chez les orchidées que ne le suggèrent les seules espèces mycohétérotrophes.

Pour conclure, il reste beaucoup à apprendre de ces albinos. En particulier, de leur rareté : tout se passe comme si leur transition vers la mycohétérotrophie n'était pas un succès évolutif… Si on comprenait le pourquoi de ce relatif échec, on saurait mieux ce qui, *a contrario*, permet une transition évolutive réussie vers l'hétérotrophie. De plus, les causes biologiques du phénomène restent mal cernées : est-ce un défaut génétique, ou bien le résultat de conditions très locales, liées par exemple au sol (et aux microbes) environnant l'individu ? Nos travaux se poursuivent afin de préciser ces aspects…

Tableau 2. Nombre de cas d'albinisme documentés chez les genres *Cephalanthera* et *Epipactis* par espèce et par pays : n, nombre de mentions (Mairold & Weber, 1950 ; Salmia, 1986 ; Delforge, 1998 ; Scappaticci & Scappaticci, 1998, et communications personnelles de S. Acker, P. Amardeilh, P.M. Blais, J.C. Claessens, F. Dusak, P. Geniez, P. Ilhat, G. Joseph, J.M. Lewin, T. Malinova, H. Mathé, T. Pain, C. Peternel, P. Peternel, C. Portier, J. Renoult, G. Reynaud, G. Scappaticci, R. Souche, A. Soulié, E. Sulmont, T. Yukawa).

Espèce	**Pays**	**n**
Cephalanthera damasonium	France, Italie, Allemagne, GB, Slovaquie	171
C. longifolia	France, Espagne, Estonie	16
C. rubra	France	6
C. kurdica	Turquie	2
C. falcata	Japon	1
C. longibracteata	Japon	1
Epipactis helleborine	France, Belgique, Finlande, USA	130
E. purpurata	France, Allemagne, GB	37
E. microphylla	France	8
E. albiensis	Pologne	5
E. tremolsii	France	4
E. fibrii	France	3
E. atrorubens	France, République Tchèque	3
E. distans	France	1
E. muelleri	Allemagne	1
E. neerlandica	Pays-Bas	1
E. leptochila	Allemagne	1

Des albinos à la conservation des orchidées forestières

Ces albinos sont certes étonnants, mais aussi très informatifs sur l'écologie de l'espèce à laquelle ils appartiennent. Ils soulignent la dépendance d'espèces, pourtant photosynthétiques, vis-à-vis du carbone fourni par leurs champignons mycorhiziens : ce lien physique et trophique a un impact majeur en biologie de la conservation. Pour conserver une orchidée mixotrophe ou mycohétérotrophe *in situ*, il faut gérer les arbres qui lui sont connectés… Il y a donc des orchidées photosynthétiques pour lesquelles l'ouverture du milieu n'est pas

favorable ! La connaissance des champignons associés permet de cibler certaines espèces d'arbres reliés à ces orchidées, par exemple dans le cas d'espèces rares telles que l'Epipogon sans feuille (*Epipogium aphyllum*, Roy *et al*., 2009b).

Espèce	Habitat	Pays	Tribu contenant des mycohétérotrophes
Cymbidium sp.	Sous-bois	Japon	Oui
Corallorhiza trifida		France	
Platanthera minor		Japon	Non
Ophrys scolopax	Milieu ouvert	France	Non
O. obaesa			
O. speculum			
O. holoserica			
O. insectifera			
Dactylorrhiza sambucina			

Tableau 3 : Cas d'albinisme total (feuille et tige) chez des espèces d'orchidées, en dehors des Néottiées (communications personnelles de T. Malinova, G. Scappaticci et T. Yukawa).

Tableau 4 : Possibilité de transplantation de quelques orchidées européennes et degré de mycotrophie (= taux de colonisation des racines par les champignons mycorhiziens) d'après Sadovsky, 1965 – repris d'une synthèse par R. Barbier paru dans l'Orchidophile n° 27 en 1976.

Espèce	Degré de mycohétérotrophie	Possibilité de culture
Cypripedium calceolus *Listera ovata* *Orchis militaris* *Orchis purpurea*	Nul	Transplantation possible
Dactylorhiza fuchsii *Dactylorhiza incarnata* *Dactylorhiza latifolia* *Epipactis palustris* *Gymnadenia conopea* *Orchis palustris*	Faible	
Dactylorhiza maculata *Dactylorhiza sambucina* *Ophrys (toutes espèces)* *Orchis mascula* *Orchis coriophora* *Orchis Traunsteineri* *Platanthera bifolia* *Platanthera chlorantha* *Serapias (toutes espèces)*	Modéré	
Cephalanthera damasonium *Cephalanthera rubra* *Epipactis helleborine* *Himathoglossum hircinum* *Nigritella nigra* *Orchis pallens* *Orchis tridentata*	Fort	Transplantation pratiquement impossible
Epipactis microphylla *Epipactis purpurata* *Orchis ustulata*	Très fort	
Corallorhiza trifida *Epipogium aphyllum* *Neottia nidus-avis*	Total	

Ensuite, pour de telles orchidées, le lien avec les champignons doit être préservé, et pour cela, les transplantations ou perturbations du sol sont proscrites. Dans un travail publié en 1965, Sadovsky (Tableau 4) avait tenté des transplantations sur diverses orchidées – y compris sur des espèces rares, car le contexte de protection n'était alors pas le même. Pour sacrilège qu'il puisse paraître aujourd'hui, ce travail livrait une liste intéressante des espèces impossibles à transplanter. La liste est riche en mycohétérotrophes et en mixotrophes avérés, dont on comprend maintenant qu'elles ne puissent survivre à la rupture des liens fongiques aux arbres voisins. Cette liste comprend aussi d'autres espèces à étudier : des mixotrophes possibles, comme *Himantoglossum hircinum* ou *Nigretella nigra*, ainsi que des Néottiées peut-être pas si dépendantes des champignons, comme *Listera* (= *Neottia*) *ovata* ou *Epipactis palustris*...

A terme, la connaissance des champignons associés peut permettre de cultiver les orchidées mixotrophes, ou bien de choisir des milieux propices pour d'éventuelles réintroductions. Le recensement des albinos démontre aussi que la mixotrophie est un phénomène plus courant que la seule mycohétérotrophie, et que cette stratégie trophique concerne la plupart des orchidées forestières ou de milieu semi-forestier. La mixotrophie a été récemment étendue à

d'autres plantes, les Pyroles, proches des Ericacées (Tedersoo et al., 2007), et diverses équipes tentent maintenant de la mettre en évidence sur diverses espèces forestières, tempérées ou tropicales (Selosse et Roy, 2009). Les orchidées ont ainsi ouvert la voie à un champ de recherche qui promet une nouvelle vision de l'écologie et de la gestion des plantes du sous-étage forestier.

Remerciements

Cet article reprend une partie de la thèse de Mélanie Roy au CEFE-CNRS, sous la direction de M.-A. Selosse. Ce travail a été soutenu financièrement par le CNRS et la SFO et, pratiquement, par les nombreux botanistes et orchidophiles qui ont partagé sans compter leurs observations, leur temps et leur passion. Un grand merci à tous pour leur soutien et leurs connaissances, particulièrement à J.C. Abadie, S. Acker, J.-P. Amardeilh, J.P. Anglade, C. Aupic, M. Aymonin, J.-F. Bergouignan P.M. Blais, C. Blanchon, C. Casiez, L. Civeyrel, E. Chas, J.C. Claessens, F Dabonneville, J. Dauge, F. Dusak, P.H. Fabre, P. Feldmann, P. Geniez, A. Gévaudan, J.J. Guillaumin, S. Hul, P. Ilhat, C. Jay-Allemand, M. Joly, G. Joseph, A. Jouy, T. Julou, J. Koenig, H. Lemagnen, J.M. Lewin, V. Malecot, H. Mathé, M. Nicole, T. Pain, P. Pernot, C. Peternel, P. Peternel, C. Portier, D. Prat, N. Ray, J. Renoult, G. Reynaud, C. Riboulet, B. Roux, G. Scappaticci, B. Schatz, R. Souche, A. Soulié, E. Sulmont et J.C. Thomas. La plupart de nos articles sont en ligne à l'adresse www.cefe.cnrs.fr/coev/MA_Selosse.htm.

Bibliographie

Abadie J.C., Puttsepp U., Gebauer G., Faccio A., Bonfante P. & Selosse M.A. 2006. *Cephalanthera longifolia* (Neottieae, Orchidaceae) is mixotrophic: a comparative study between green and nonphotosynthetic individuals. Canadian Journal of Botany 84:1462-1477.

Arditti J. & Ghani A.K.A. 2000. Tansley review 110 - Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. New Phytologist 145:367-421.

Bateman R.M., Hollingsworth P.M., Squirell J. & Hollingsworth M.L. 2005. Phylogenetics: Neottieae. in Pridgeon. A.M., P.J. Cribb, M.W. Chase, and F.N. Rasmussen, editors. Genera Orchidacearum (4): Epidendroideae. Oxford University Press, Oxford, UK.

Benzing DH. 1987. Major patterns and processes in orchid evolution: a critical synthesis. In: Arditti J, ed. Orchid biology, Vol. IV. Ithaca, NY: Cornell University Press, 34–77.

Bournérias M. & Prat D. 2005. Orchidées de France, Belgique et Luxembourg. Ed. Parthénope, Mèze

Cameron D.D., Leake J.R. & Read D.J. 2006. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant-fungus C and N transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. New Phytologist 171:405–416.

Clements M.A. 1988. Orchid mycorrhizal associations. Lindleyana 3:73-86.

Cribb P.J., Kell S.P., Dixon K.W. & Barrett R.L. 2003. Orchid conservation: a global perspective. Pages 1-25 in K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barrett, and P.J. Cribb, editors. Orchid conservation. Natural History publications (Borneo), Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.

Gebauer G. & Meyer M. 2003. N-15 and C-13 natural abundance of autotrophic and mycoheterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. New Phytologist 160:209-223.

Julou T., Burghardt B., Gebauer G., Berveiller D., Damesin C. & Selosse M.A. 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium*. New Phytologist 166:639-653.

Leake J.R. 1994. The Biology of myco-heterotrophic (saprophytic) Plants. New Phytologist 127:171-216.

McKendrick S.L., Leake J.R. & Read D.J. 2000. Symbiotic germination and development of myco-heterotrophic plants in nature: transfer of carbon from ectomycorrhizal *Salix repens* and *Betula pendula* to the orchid *Corallorhiza trifida* through shared hyphal connections. New Phytologist 145:539-548.

Molvray M., Kores P.J. & Chase M.W. 2000. Polyphyly of mycoheterotrophic orchids and functionnal influences on floral and molecular characters. Pages 441-447 in K.L. Wilson and D.A. Morrison, editors. Monocots: systematics and evolution. CSIRO, Melbourne.

Moore R.T. 1987. The genera of Rhizoctonia-like fungi - *Ascorhizoctonia, Ceratorhiza, Epulorhiza, Moniliopsis*, and *Rhizoctonia*. Mycotaxon 29:91-99.

Ouanphanivanh N., Zsolt M., Kund Orczán Á., Bratek Z., Szigeti Z. & Illyés Z. 2008. Could orchids indicate truffle habitats? Mycorrhizal association between orchids & truffles. Acta Biologica Szegediensis 52:229-232.

Rasmussen H.N. 1995. Terrestrial orchids – from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press.

Roy M., Watthana S., Stier A., Richard F., Vessabutr S. & Selosse M.A. *2*009Two mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical dipterocarpacean forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. BMC Biology, 7:51.

Roy M., Yagame T., Yamato M., Iwase K., Heinz C., Faccio A., Bonfante P. & Selosse M.A. 2009 Ectomycorrhizal *Inocybe* species associate with the mycoheterotrophic orchid *Epipogium aphyllum* but not with its asexual propagules. Annals of Botany, 104(3): pp 595-610.

Sadovsky O. 1965. Orchideen im eigenen Garten. BLV, München, Germany.

Selosse M.A., Bauer R. & Moyersoen B. 2002a. Basal hymenomycetes belonging to the Sebacinaceae are ectomycorrhizal on temperate deciduous trees. New Phytologist 155:183-195.

Selosse M.A., Weiss M., Jany J.L. & Tillier A. 2002b. Communities and populations of sebacinoid basidiomycetes associated with the achlorophyllous orchid *Neottia nidus-avis* (L.) LCM Rich. and neighbouring tree ectomycorrhizae. Molecular Ecology 11:1831-1844.

Selosse M.A. 2003. La Néottie, une "mangeuse" d'arbres. L'Orchidophile, 155: 21-31.

Selosse M.A., Scappaticci G., Faccio A. & Bonfante P. 2004. Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla* (Neottieae, Orchidaceae) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including truffles. Microbial Ecology 47: 416-426.

Selosse M.A., Richard F., He X.H. & Simard S.W. 2006. Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? Trends in Ecology & Evolution 21:621-628.

Selosse M.A. & Roy M. 2009. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. Trends in Plant Sciences 2008, 14(2): 64-70.

Smith S.E. & Read D.J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, 3 edition. Academic Press, London, UK.

Taylor D.L. & Bruns T.D. 1997. Independent, specialized invasions of ectomycorrhizal mutualism by two nonphotosynthetic orchids. PNAS 94:4510-4515.

Tedersoo L., P. Pellet, U. Koljag, M.A. Selosse 2007 Parallel evolutionary paths to mycoheterotrophy in Ericaceae & Orchidaceae: ecological evidence for mixotrophy in Pyroleae. Oecologia 151, 206-217.

Pollinisation des orchidées angraecoïdes : de Darwin à aujourd'hui

Claire MICHENEAU
Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical, Université de La Réunion,
15 avenue René Cassin BP 7151, 97715 Saint-Denis, La Réunion.
claire.micheneau@univ-reunion.fr

Abstract – Pollination in Angraecoïd orchids: from Darwin to today. Angraecoïd orchids are mainly diversified in southwestern zone of Indian Ocean. Some of them are equipped with a particularly long spur, up to more than 30 cm. Charles Darwin very interested by this trait, which become famous argument in favor of the role of plant-insect interactions in the evolution of floral morphology. Observations of Charles Darwin conducted him to predict the existence of a long-tongue pollinator (nocturnal sphingid) for *Angraecum sesquipedale*. Such a specialisation is often associated with a unique pollinator. The orchid is then dependent on this pollinator for its sexual reproduction, and the sensitive to environnemental change influecing the pollinator presence. Oceanic islands, as in Mascareigne archipelago, provide a nice site to investigate the evolutionnary processes of reproductive strategies following colonization events. Having largely colonised this archipelago, the Angraecinae group is particularly interesting in the Reunion island where it represented by about fifty species. Among them, all endemics are orginiated from Madagascar and displayed flowers with long spur and original floral morphologies, suggesting the emergence of pollination system specific to this archipelago (*Angraecum* section *Hadrangis*). We showed that floral forms with long spur are all autogamous, whereas the three species of the *Hadrangis* section are adapted tor insular pollinators. Probable absence of big sphinx during their colonisation phase certainly induced the emergence of this novel pollination strategy in the first group and the adaptation to the local pollinator fauna in the second group.

Résumé – Les orchidées angraecoïdes ont principalement radié dans la zone sud-ouest de l'Océan Indien. Certaines d'entre elles possèdent un tube nectarifère extraordinairement long, pouvant atteindre plus de 30 cm. Ce caractère spectaculaire attira la curiosité de Charles Darwin et deviendra un exemple célèbre du rôle des interactions interspécifiques dans l'évolution des formes florales. Depuis les observations de Charles Darwin, qui le conduisirent à la fameuse prédiction du pollinisateur de l'*Angraecum sesquipedale*, les orchidées à long éperon représentent l'exemple classique de l'adaptation des fleurs à la pollinisation par les lépidoptères nocturnes de la famille des Sphingidés. Une telle spécialisation induit la présence d'un pollinisateur souvent unique, rendant de fait l'orchidée entièrement dépendante pour le maintien d'une reproduction sexuée. L'espèce, ainsi spécialisée, est ainsi plus vulnérable aux changements environnementaux, notamment en cas de disparition du partenaire spécifique. Les îles océaniques, comme les trois îles de l'archipel des Mascareignes, offrent un modèle d'étude privilégié pour la compréhension des processus évolutifs impliqués dans le maintien, la perte ou l'évolution des stratégies reproductives suite à la colonisation de l'île. Ayant massivement colonisé l'archipel, le groupe des Angraecinae est particulièrement intéressant à La Réunion où il totalise une cinquantaine d'espèces. Parmi ces dernières, les espèces endémiques, toutes issues de Madagascar, présentent à la fois des fleurs à long éperon, mais aussi des formes florales originales suggérant la présence de systèmes de pollinisation spécifiques à l'archipel (*Angraecum* section *Hadrangis*). Nos études ont montré que les formes florales à long éperon sont toutes autofertiles, tandis que les trois espèces de la section *Hadrangis* se sont adaptées aux pollinisateurs insulaires. L'absence probable des grands sphinx lors de l'arrivée des souches ancestrales de Madagascar a certainement été le moteur de l'évolution vers un nouveau mode de reproduction dans le premier cas, et de l'adaptation à la faune pollinisatrice locale dans le deuxième exemple.

Avancées récentes sur la pollinisation chez les orchidées méditerranéennes

Bertrand SCHATZ[1], Roxane DELLE-VEDOVE[1], Nicolas JUILLET[1,2] & Laurent DORMONT[1]

1) Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5
bertrand.schatz@cefe.cnrs.fr

2) Adresse actuelle : Conservatoire Botanique National de Corse, Office de l'Environnement de la Corse, avenue Jean Nicoli, 20250 Corte

Abstract – Recent advances in pollination of Mediterranean orchids. Orchids are fascinant because of the diversity in forms and colors on their inflorescences, which consequence of the large variety of strategies for pollinator attraction. Recent investigations in their pollination ecology are permitted by chemical ecology, by multidisplinary approaches of this subject and by integration of questions raised from their conservation. We present three kinds of study during oral presentation, but we rather focus in one of them for this text. We detailed here the consequence of white morphs (hypochromy) in male orchis (*Orchis mascula*) on morphology, emitted scents, pollinator attraction and finally on the fruit set. All investigation of our team conducted hitherto showed that the understanding of the pollination ecology in mediterranean orchids enhances at different level thanks to a multidisplinary approach and brings new and diverse informations relevent in conservation plans.

Résumé – Les orchidées sont fascinantes par la diversité des formes et des couleurs de leurs inflorescences, qui est la conséquence de la grande variété des stratégies d'attraction des pollinisateurs. Les avancées récentes en écologie de la pollinisation ont été marquées par le développement de l'écologie chimique, par l'approche pluridisciplinaire dans l'étude de la pollinisation et par l'intégration de ces problématiques dans des programmes de conservation. Plutôt que de présenter plusieurs études succintement, nous avons préféré ici présenter une étude plus en détail. Il s'agit de l'étude concernant l'hypochromie florale étudiée ici chez l'orchis mâle au niveau de la morphologie, des odeurs émises, et de l'attraction des pollinisateurs, et des conséquences importantes de cette hypochromie sur le taux de pollinisation. L'ensemble des études menées jusqu'à présent par notre équipe montre que la compréhension de l'écologie de pollinisation des orchidées méditerranéennes progresse à différents niveaux notamment du fait de l'approche pluridisciplinaire, constituant ainsi de nouvelles informations pour améliorer les modalités de la conservation de ces espèces.

INTRODUCTION

Les travaux récents de notre équipe ont permis des avancées significatives dans la connaissance de l'écologie de pollinisation de plusieurs espèces d'orchidées méditerranéennes. Lors du colloque SFO à Montpellier, nous avons présenté trois types de résultats : 1) Le premier concerne l'hybridation entre différentes espèces d'orchis qui a été étudiée de façon comparative entre les espèces parentales et l'hybride au niveau de la morphologie, des odeurs émises, du succès reproducteur, ce qui a permis de déterminer les causes et les conséquences de cette hybridation (Schatz, 2006). 2) Le deuxième porte sur l'ophrys d'Aymonin, endémique des Grands Causses, dont le taux de pollinisation est corrélé de façon non linéaire au nombre de fleurs, ce dernier facteur variant fortement sur l'ensemble de la zone de présence de cette espèce (Fleury *et al*., 2008). 3) Le troisième correspond à l'étude de l'hypochromie florale étudié ici chez l'orchis mâle au niveau de la morphologie,

des odeurs émises, et de l'attraction des pollinisateurs avec des conséquences importantes sur le taux de pollinisation (Dormont *et al*., 2010a, 2010b). Plutôt que de présenter ces études trop succintement, nous avons préféré ici n'en présenter qu'une seule plus en détail, en l'occurrence celle sur l'hypochromie de l'orchis mâle.

L'écologie de la pollinisation a été marquée par le développement récent des techniques d'écologie chimique ainsi que par la tendance de plus en plus marquée d'analyse des résultats selon une approche pluridisciplinaire, parfois applicable à des programmes de conservation. Une récente revue de Raguso (2008) montre par exemple qu'au cours de l'année 2007, il y a eu environ 200 articles scientifiques concernant l'odeur florale, plus de 100 sur la couleur florale et 50 sur les odeurs végétatives, alors qu'en 1990 (et avant) le nombre d'articles sur chacun de ces domaines ne dépassait pas 20. Sa conclusion insiste sur l'importance qu'il y a à considérer les signaux olfactifs et visuels comme des caractères phénotypiques très importants dans l'expérience qu'un insecte acquiert lors de la visite d'une fleur.

La préférence des pollinisateurs pour certains caractères floraux peut avoir des conséquences sur le succès reproducteur des différents « morphotypes », et ainsi exercer une sélection sur ces caractères de l'espèce végétale qu'ils pollinisent et favoriser le maintien d'un polymorphisme floral (voir l'article de Roxane Delle-Vedove *et al*. dans ces Actes). Le polymorphisme phénotypique représente un système idéal d'étude de la sélection naturelle en conditions naturelles car il permet le suivi des changements génétiques des populations au travers de leur changement phénotypiques (Juillet, 2006). Dans ce contexte, un modèle particulier d'étude du polymorphisme floral correspond aux plantes trompeuses, qui n'offrent pas de récompense (nectar) (Salzmann *et al*., 2007 ; Raguso, 2008 ; Dormont *et al*., 2010a). Cette stratégie, rare chez la majorité des angiospermes, est particulièrement bien représentée chez les orchidées avec plus d'un tiers des espèces pratiquant la tromperie (revue dans Jersakova *et al*., 2006 : voir l'article de Roxane Delle-Vedove *et al*. dans ces Actes). Chez ces espèces, les attendus théoriques sont d'une part un succès reproducteur faible puisque les capacités d'apprentissage des pollinisateurs leur permettent d'éviter ces fleurs après quelques essais (Neiland & Wilcock, 1998), et d'autre part une forte diversité florale permettant de compenser cette capacité d'apprentissage (Jersakova *et al*., 2006).

Nous avons examiné ici le polymorphisme facultatif de couleur de type pourpre/ blanc, avec au sein des populations à inflorescence pourpre, de rares individus à inflorescence blanche chez l'orchis mâle (*Orchis mascula*). Nous avons examiné les questions suivantes chez cette espèce : (1) quelles sont les caractéristiques des deux formes de couleur (caractéristiques spectrales, odeur, morphologie, phénologie, localisation) (2) Existe-t-il des associations particulières entre ces différents caractères ? (3) Y a-t-il des différences de succès reproducteur entre ces différentes formes ?

MATERIEL ET METHODES

Site et matériel biologique

Plusieurs populations d'orchis mâles ont été étudiées dans la région dite des Grands Causses (sud du Massif Central) qui sont de grands plateaux calcaires d'altitude présentant une importante diversité floristique notamment en orchidées (Schatz & Jacob, 2008). La zone d'étude correspond à plusieurs stations situées entre le causse du Larzac prés du Caylar (43°53'N, 3°15'E, 740m d'altitude) et le causse du Blandas (43°91'N, 3°51'E, 700m). Nous avons étudié plusieurs populations d'*Orchis mascula* (N=10), séparées entre elles de 1 à 10 kilomètres et composées de plusieurs taches de quelques dizaines à quelques centaines d'individus, ces taches étant séparées entre elles d'au minimum 10 m.

L'orchis mâle est largement réparti (toute l'Europe, ouest de l'Asie et Afrique du Nord), et elle est protégée en Belgique, Suisse, Luxembourg et dans une région du nord de la France (Bournérias & Prat, 2005). La floraison s'étend de mi-mars à fin mai dans la région

méditerranéenne. Les inflorescences sont composées de 5 à 20 fleurs (Bournérias & Prat, 2005) et mesurent environ 15 cm de hauteur dans la région d'étude. Elle fleurit précocement et elle présente une pollinisation généraliste (strictement entomogame) pouvant inclure jusqu'à 11 espèces d'insectes différents (surtout des hyménoptères et quelques coléoptères) (Nilsson, 1983 ; Cozzolino *et al*. 2005 ; Dormont *et al*., 2010a). Du fait de sa floraison précoce, cette espèce ne profite pas de la présence d'espèces nectarifères attirant plus de pollinisateurs ; *O. mascula* est plutôt connu pour être pollinisé par des pollinisateurs naïfs, juste émergés (Nilsson, 1983).

Figure 1. Individu blanc dans une population d'individus pourpres d'orchis mâle.

RESULTATS

Fréquence des individus blancs

Les populations sont généralement composées de 20 à 100 individus pourpres. Les individus blancs sont présents dans quelques-unes de ces populations, le plus souvent de façon solitaire (Fig. 1). Leur proportion de présence a été de 1,03%, 0,87% et 0,91% respectivement sur un total de 1563, 1145 et 1324 individus suivis en 2006 et 2007 (Dormont *et al*., 2010a). Des comptages plus récents et dans d'autres secteurs respectent cette proportion de 1% d'individus blancs dans les populations d'individus pourpres.

Analyse de la couleur

La couleur a été analysée au niveau de la plus grande largeur du labelle chez 10 individus pourpres et 10 autres blancs (Fig. 2). Les spectres de réflectance sont très différents entre les deux catégories d'individus, les blancs absorbant la lumière entre 420 et 700 nm alors que les pourpres ont un pic de réflectance à 450 nm et un autre après 650 nm. L'analyse selon le modèle de l'hexagone de Chittka & Raine (2006) des deux formes de couleur à partir des spectres moyens permet de montrer d'une part que les deux formes sont différentes pour les insectes par rapport à l'arrière plan (ou l'environnement) et d'autre part que ces deux types de couleurs sont discriminées par les insectes considérés (bourdons).

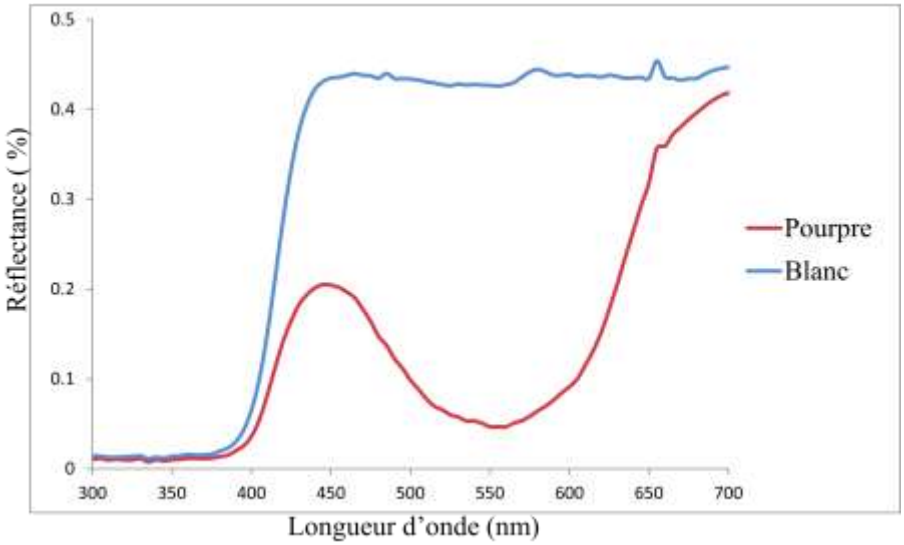


Figure 2. Spectre de réflectance des deux catégories d'individus chez l'orchis mâle (ligne bleu pour les individus blancs, et ligne rouge pour les individus pourpres). Analyse par spectromètre (AvaSpec-2048, lumière halogène à deutérium, mesures entre 300 à 700 nm, donc incluant les UV).

Comparaison morphologique

Plusieurs caractères morphologiques ont été mesurés à l'aide d'un pied a coulisse électronique (précision : 0,001mm) pour 118 fleurs d'individus blancs et 132 fleurs d'individus pourpres. Aucune différence significative n'a été détectée pour le nombre total de fleurs, la hauteur d'inflorescence, la longueur de l'éperon et la longueur du labelle, alors qu'une petite différence faiblement significative existe pour la largeur du labelle (celle-ci étant inférieure pour la forme blanche (8, 30 ± 1,18) par rapport à la pourpre (8,65 ± 1,28) (Anova type III : F = 2,76 ; p = 0,04).

Analyse de l'odeur émise

L'analyse de l'odeur émise par les deux morphes de l'orchis mâle (18 individus pourpres et 18 blancs) a été réalisée par la méthode de la micro-extraction en phase solide (SPME) pendant 1 heure sur des fibres absorbantes (PDMS-DVB 65µm) (Supelco) sur des inflorescences ensachées dans un sac de plastique Nalophan® inodore. Les composés piégés sur la fibre SPME ont ensuite été analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC-MS) (Varian CP-3800 / Saturn 2000).

La composition chimique des émissions volatiles des individus pourpres et blancs d'*O. mascula* révèle un total de 61 composés volatils (51 et 43 pour les formes pourpre et blanche, respectivement). Le profil d'odeur des deux formes est dominé par des terpènes (64,4% pour les blancs et 67,9% pour les pourpres). Les composés majoritaires (fréquence supérieure à 10%) des deux formes sont le (E)-ocimène, le limonène, le (Z)-3-hexenyle acetate et le linalool (>10% du profil). Très peu de différences qualitatives sont observées et concernent des composés minoritaires (fréquence inférieure à 1%) dont la moitié correspond à des composés de type aromatique. Il n'y a pas de différence significative dans les proportions relatives de composés olfactifs volatils communs aux deux formes, la majorité de ces composés montrant une forte variation de leur fréquence relative dans le bouquet global.

Effet sur le taux de pollinisation

Nous avons déterminé le taux de pollinisation (= nombre de fleurs pollinisées divisé par le nombre total de fleurs) chez 805 individus pour un total de 11709 fleurs (Fig. 3). Ce taux de pollinisation est de 6,2% pour les individus pourpres en population monochrome, de 27,2% pour les individus pourpres en population avec présence d'un individu blanc; ainsi la présence d'un individu blanc multiplie par plus de 4 fois la pollinisation des orchis mâles au sein d'une telle population. Il est également intéressant de noter que dans cette dernière situation, le taux de pollinisation des individus blancs est de 6,7% (13 individus, 180 fleurs), ce qui suggère que l'individu aide à la pollinisation de ses voisins pourpres sans favoriser la sienne.

De plus, nous avons cherché à imiter grossièrement la présence d'un individu blanc (similaire en taille et en forme à une inflorescence) en plaçant une balle de ping-pong au bout d'une tige de fil de fer vert plantée dans le sol. À notre grande surprise, la présence de ce leurre grossier permet d'obtenir un effet similaire à celui d'un individu blanc puisque ce leurre permet d'augmenter par 4 le taux de pollinisation de 26,4% (Fig. 3).

Cet effet d'un 'blanc' (individu ou leurre) est dépendant de la distance avec chaque individu considéré de la population. Ainsi, pour chaque individu pourpre, le taux de pollinisation est significativement supérieur au niveau classique (celui observé dans des populations uniquement pourpres) jusqu'à une distance de 1,6m de l'individu blanc ou du leurre blanc. Au-delà de cette distance, la présence d'un blanc (inflorescence ou leurre) n'a plus d'effet sur le taux de pollinisation des individus pourpres.

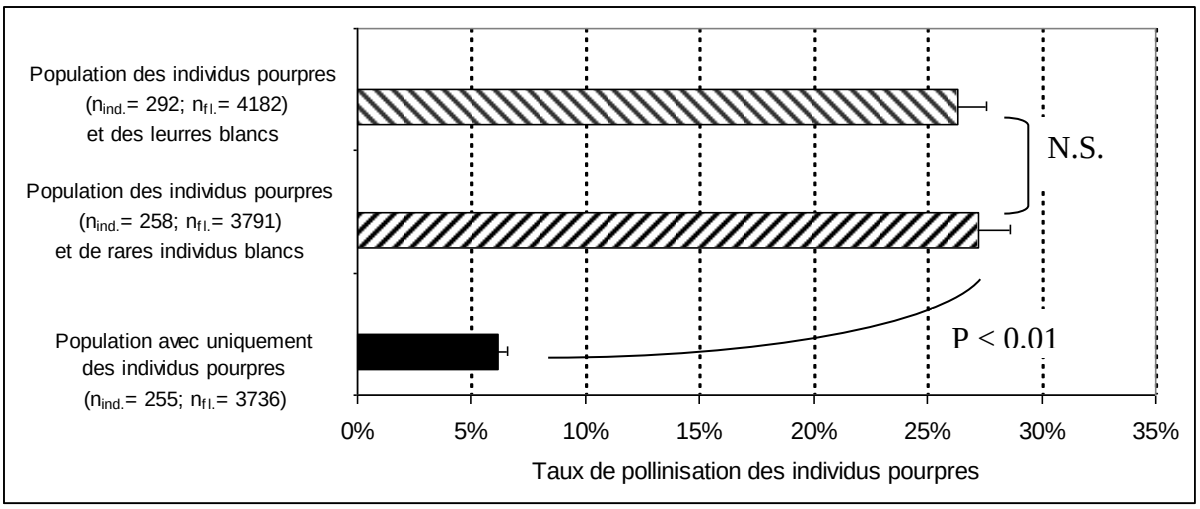


Figure 3. Récapitulatif des taux de pollinisation d'individus pourpres dans les différentes situations (moyenne et erreur-type ; test d'analyse de la variance ; n.s. : différence non significative).

DISCUSSION

Cette étude a permis de révéler deux résultats surprenants, un au niveau de l'absence d'association entre la couleur et l'odeur et l'autre au niveau de l'effet des 'blanc' (individu ou leurre) sur le taux de pollinisation des pourpres. Nous montrons donc ici que le polymorphisme de couleur n'est pas associé à un polymorphisme d'odeur, contrairement à l'intuition qui voudrait que des plantes de couleurs différentes aient des odeurs différentes, comme cela a d'ailleurs été montré chez d'autres espèces (Li *et al*. 2006 ; Majetic *et al*., 2007 ; Salzmann *et al*., 2007). Cette absence d'effet de l'odeur est indirectement prouvée par l'augmentation du taux de pollinisation par la présence des leurres, qui n'ont pas une odeur voisine de celle des orchidées. De plus, l'importance des repères visuels est également confirmée par l'importance graduelle de l'effet de la distance entre un individu pourpre et l'individu ou le leurre blanc. L'attraction des pollinisateurs est donc basée sur le contraste visuel entre un individu blanc et l'environnement immédiat (vert pour l'entourage et pourpre pour les autres individus), destiné à attirer le pollinisateur naïf, inexpérimenté ou nouvellement émergé.

La conséquence de cette perception de contraste visuel parmi les fleurs à visiter est l'augmentation très importante du niveau de pollinisation des populations où est présent un individu blanc (toujours en fréquence très basse, globalement inférieure à 1%). Cette situation est différente de celle de l'orchis sureau (*D. sambucina*) dont les formes jaunes ou rouges peuvent chacune dépasser les 50% et bénéficier de l'attraction des pollinisateurs locaux par d'autres plantes nectarifères de couleur jaune ou rouge (Smithson & McNair, 1997; Gigord *et al*., 2001). Chez l'orchis mâle, cette augmentation de pollinisation observée chez les individus pourpres et permise par la présence d'un individu blanc (qui n'en bénéficie pas lui-même) est plutôt similaire à une sélection de parentèle permise par des individus altruistes apportant un bénéfice à la population mais pas directement à eux-mêmes (Hamilton, 1964 ; Dormont *et al*., 2010b).

Des analyses complémentaires sont en cours pour compléter la compréhension de ce mécanisme au niveau d'une part de la perception olfactive par les bourdons des deux catégories d'individus, et d'autre part du rôle des individus blancs et de leur maintien dans ces populations. D'autres études sont également en cours chez d'autres espèces d'orchidées méditerranéennes (dont beaucoup présentent également des individus à inflorescence blanche) afin de tester la généralité de ce phénomène. Nous incitons d'ailleurs tous les orchidophiles à

participer à cette étude en nous envoyant leurs informations concernant leurs observations au sujet d'espèces d'orchidées à inflorescences blanches. L'ensemble de cette étude présente des intérêts évidents en termes de conservation, notamment au niveau des espèces d'orchidées sans nectar et à faible niveau de pollinisation. Ces découvertes sont communiquées à différents gestionnaires d'espaces naturels et sont pertinentes dans le contexte actuel de réduction de présence des orchidées régionales (voir Schatz & Geniez dans ces Actes), et plus généralement d'érosion de la biodiversité en insectes pollinisateurs et en plantes pollinisées par les insectes (Biesmeijer *et al*., 2006).

Remerciements

Un grand merci à Bruno Buatois et Jean-Marie Bessière, ainsi qu'aux orchidophiles (Stéphane Marquis, Michel Guegou, Emeric Sulmont, Philippe Geniez) qui nous ont fait part de leurs observations d'individus blancs. Ce projet a été partiellement financé par la SFO, que nous remercions vivement ici pour leur soutien.

Bibliographie

Biesmeijer J.C., Roberts S.P.M., Reemer M., Ohlemüller R., Edwards M., Peeteres T., Schaffers A.P., Potts S.G., Kleukers R., Thomas C.D., Settle J. & Kunin W.E. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and in the Netherlands. Science 313: 351-354.

Bournérias M. & Prat D. 2005. Les orchidées de France, Belgique, et Luxembourg. Collection Parthénope, Biotope, Mèze. 504 p.

Chittka L. &Raine N.E. 2006. Recognition of flowers by pollinators. Current Opinion in Plant Biology 9: 428–435.

Cozzolino S., Schiestl F.P., Muller A., De Castro O., Nardella A.M. & Widmer A. 2005. Evidence for pollinator sharing in Mediterranean nectar-mimic orchids: absence of premating barriers? Proc. R. Soc. B. 272: 1271-1278.

Dormont L., Delle-Vedove R., Bessière J.-M., Hossaert-McKey M. & Schatz B. 2010a. Rare white-flowered morphs increase the reproductive success of common purple morphs in a food-deceptive orchid. New Phytologist 185: 300-310.

Dormont L., Delle-Vedove R., Bessière J.-M., Hossaert-Mc Key M. & Schatz B. 2009. Helping in food-deceptive orchids? A possible new mechanism maintaining polymorphism of floral signals. Plant Signaling & Behavior (sous presse)

Fleury J., Jacob L., Dormont L. & Schatz B. 2008. Caractérisation de l'habitat et des populations de l'Ophrys d'Aymonin, espèce endémique des Grands Causses. In : Enjeux de conservation pour les orchidées caussenardes. Schatz B. & Jacob L. (Eds.). p 44-49.

Gigord L.D.B., McNair M.R. & Smithson A. 2001. Negative frequency-dependent selection maintains a dramatic flower color polymorphism in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.). Proc. Natl Acad. Sci. USA. 98: 6253–6255.

Hamilton W.D. 1964. The genetical evolution of social behavior, I, II. Journal of Theoretical Biology 7: 1-52.

Jersakova J., Johnson S.D. & Kindlmann P. 2006. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. Biol. Rev. 81: 219-235.

Juillet, N. 2006. Evolutionnary ecology of the colour-dimorphic rewardless orchid *Dactylhoriza sambucina*. Thèse de l'Université de Lausanne, 114 p.

Li, Z. G., Lee, M. R. and Shen, D. L. 2006. Analysis of volatile compounds emitted from fresh *Syringa oblate* flowers in different florescence by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. Anal. Chim. Acta, 276: 43-49.

Majetic, C. J., Raguso, R. A., Tonsor, S. J. and Ashman, T. L. 2007. Flower color-flower scent associations in polymorphic *Hesperis matronalis* (Brassicaceae). Phytochemistry, 68: 865-874.

Neiland M.R. & Wilcock C.C. 1998. Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae. Am. J. Bot. 85: 1657–1671.

Nilsson L.A. 1983. Anthecology of *Orchis mascula* (Orchidaceae). Nord. J. Not. 3: 157-179.

Raguso RA. 2008. Start making scents: the challenge of integrating chemistry into pollination ecology. Entomol. Exp. Appl. 128: 196–207.

Salzmann C., Cozzolino S. & Schiestl F.P. 2007. Floral scent in food-deceptive orchids: species specificity and sources of variability. Plant Biology 9: 720-729.

Schatz B. 2006. Fine scale distribution of pollinator explains the occurrence of the natural orchid hybrid x*Orchis bergonii*. Ecoscience 13: 111-118.

Schatz B. & Jacob L. 2008. Actes de la journée scientifique "Enjeux de conservation pour les orchidées caussenardes ». Sept. 2007, Millau, 88p.

Smithson A. & MacNair M.R. 1997. Negative frequency-dependent selection by pollinators on artificial flowers without rewards. Evolution 51: 715–723.

Couleur, odeur et succès reproducteur chez une orchidée tropicale

Roxane DELLE-VEDOVE[1], Nicolas JUILLET[1,2,3], Jean-Marie BESSIERE[4], Thierry PAILLER[2], Laurent DORMONT[1] & Bertrand SCHATZ[1]

1) Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France
roxane.delle-vedove@cefe.cnrs.fr
2) UMR53, Laboratoire des Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical, 15 Avenue René Cassin, BP 7151, 97715 St Denis de la Réunion messag cedex 9, France
3) Adresse actuelle : Conservatoire Botanique National de Corse, Office de l'Environnement de la Corse, avenue Jean Nicoli, 20250 Corte, France
4) Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, 8 rue de l'Ecole Normale, 34296 Montpellier cedex 5, France

Abstract – Color, odor and fruit set in a tropical orchid. Intraspecific variations of floral color are quite rare in angiosperms, but more commoon in deceptives orchids. Several studies reported theses variations and their effects on individual reproductive success. However, the combined effects of other attractive traits (color, morphology) have been rarely studied, especially in orchids. We conducted here an integrative study by quantifying differents traits in a deceptive orchid of Réunion Island, the sylvatic calanthe (*Calanthe sylvatica*) whuich displayed three vareties with different colors (called *alba*, *purpurea* and *lilacina*). We showed here significant differences among these three varieties for all measured traits (morphology, color, odor, fruit set). The *alba* variety bloomed at lower altitude and later than the two others which bloomed in forest in higher altitude. Individuals of the *alba* variety displayed a higher fruit set than those of the two colored varieties. Thus, pollinator attraction in this deceptive orchid is the result of complexe combination among floral and ecological traits

Résumé – Les variations intraspécifiques de la couleur des fleurs sont assez rares chez les angiospermes, mais plus communes chez les orchidées trompeuses. De nombreuses études ont examiné ces variations et leur impact sur le succès reproducteur des individus, mais leurs effets conjugués avec d'autres caractères attractifs tels que l'odeur ou la morphologie ont rarement été étudiés, en particulier chez les orchidées. Dans une étude intégrative, nous avons quantifié les différents caractères chez une espèce d'orchidée trompeuse de l'île de la Réunion, la calanthe sylvatique (*Calanthe sylvatica*) qui présente trois variétés de couleur différentes (nommées *alba*, *purpurea* et *lilacina*). Nous avons mesuré des différences entre ces trois variétés pour chacun des caractères étudiés (morphologie, couleur, odeur, succès reproducteur). La variété *alba* fleurit à basse altitude et plus tardivement que les deux autres variétés, qui fleurissent dans les forets d'altitude. Les individus de la variété *alba* ont un succès reproductif plus important que les individus des variétés colorées. L'attraction des pollinisateurs de cette espèce d'orchidée trompeuse tropicale est ainsi liée à des combinaisons complexes entre caractères floraux et écologiques.

INTRODUCTION

Les angiospermes comptent plusieurs exemples de variations intraspécifiques de traits floraux (entre individus d'une même population ou entre populations ; Azuma *et al*., 2001), comme la couleur (Schemske & Bierzychudek, 2007), l'odeur (Knudsen *et al*., 2006) ou la taille des fleurs (Galen, 1999). Ces différences peuvent être dues à une sélection exercée par les pollinisateurs au niveau de la couleur (Jones & Reithel, 2001 ; Gigord *et al*., 2001 ;

Dormont *et al*., 2010) et de l'odeur des fleurs (Azuma *et al*., 2001 ; Raguso *et al*., 2003 ; Knudsen *et al*., 2006) en influençant le succès reproducteur des plantes visitées. Cependant, des facteurs environnementaux, ou des interactions pleiotropiques entre les différents traits floraux peuvent jouer un rôle important sur les variations observées et leur maintien (Galen, 1999 ; Jersakova *et al*., 2006 ; Dormont *et al*., 2010).

Les insectes apprennent à associer les différents signaux floraux lorsqu'ils sont associés à une récompense (nectar, pollen,…) offerte par les fleurs. C'est pourquoi les espèces trompeuses (qui attirent les insectes sans leur offrir de récompense), constituent un cas particulier. Assez rare chez les angiospermes en général, cette stratégie est présente chez plus d'un tiers des espèces d'orchidées. Un nombre important de ces espèces présentent une variabilité phénotypique importante entre individus d'une même population au niveau de la couleur et de l'odeur émise (Salzmann *et al.*, 2007; Dormont *et al*., 2010). Ces espèces trompeuses polymorphes constituent donc un modèle d'étude idéal de la variation des caractères floraux et de leurs effets sur les pollinisateurs.

Nous avons examiné cette variation des caractères floraux chez une espèce d'orchidée trompeuse, la calanthe sylvatique (*Calanthe sylvatica)* qui présente trois variétés différenciées par la couleur des fleurs : lilas, pourpres ou blanches (Fig. 1). Elle a une répartition pantropicale, fleurit pendant l'été austral et peu d'informations existent quant au système de reproduction et de pollinisation. Nous avons abordé les questions suivantes : (1) quelles sont les différentes caractéristiques des trois variétés ? (2) Existe-t-il des associations particulières entre ces différents traits ? (3) Le succès reproducteur est-il similaire entre ces trois variétés? 4) Quelles hypothèses pour expliquer le maintien du polymorphisme de cette espèce ?

Figure 1. La Calanthe sylvatique (*Calanthe sylvatica*) présentée ici sous deux de ces formes colorées (pourpre à gauche et blanche à droite) est une espèce forestière, assez grande (jusqu'à 1m de haut) et présente en région tropicale. (Photos B. Schatz)

MATERIEL ET METHODES

Site et matériel biologique

Située dans l'océan indien, l'île de La Réunion forme avec l'île Maurice et l'île Rodrigue l'archipel des Mascareignes. Ile océanique formée il y a 3 millions d'années, c'est la plus jeune de ces trois îles, mais aussi la plus grande (2512 km²) et la plus haute (Piton des Neiges, 3069 m). Avec Madagascar et l'ensemble des îles du Sud Ouest de l'océan indien, elle appartient à l'un des 34 "hot spots" de la biodiversité mondiale définis par Myers *et al*. (2000). Les importants gradients d'altitude et de précipitations donnent à l'île de La Réunion une grande diversité d'habitats, et donc de types de végétation que Cadet (1980) a regroupé en quatre grands types : 1) la forêt tropicale humide de basse altitude de 200 à 500 m (FTHBA), 2) la forêt tropicale humide de moyenne altitude entre 500 et 1100 m (FTHMA), 3) la forêt de montagne (FM) entre 1100 et 1800, et 4) au-delà de 1800 m la végétation altimontaine. L'île de La Réunion présente un faible nombre d'espèces et d'individus par espèces d'insectes pollinisateurs à l'exception des Sphingidae particulièrement bien représentés sur l'île (Guillermet & Guillermet, 1986). Ainsi, beaucoup d'orchidées réunionnaises ont développé l'autogamie en réponse au manque de pollinisateurs (Jacquemyn *et al*., 2005). La présence d'orchidées trompeuses sur cette île en est d'autant plus intéressante que cette stratégie est généralement associée à un très faible taux de pollinisation (Neiland & Wilcock, 1998 ; Jersakova *et al*., 2006).

Le genre *Calanthe* (Orchidaceae) appartient à la sous-famille des Epidendroideae (10 000 espèces, 90 à 100 genres) et à la tribu des Arethuseae (500 espèces). C'est un vaste genre tropical terrestre présent en Afrique, Asie et Australie, qui comprend plus de 150 espèces. La Calanthe sylvatique (*Calanthe sylvatica* (Thouars) Lindley) est une espèce des sous-bois, et son aire de répartition à la Réunion s'étend de 150 à 1600 m. Caractérisée par la présence d'un éperon sans nectar et par une des plus grandes inflorescences des orchidées de La Réunion, il s'agit d'une espèce trompeuse et dépendante des pollinisateurs pour sa reproduction (Micheneau, com. pers.). Elle présente des individus ayant trois formes de couleur blanche, lilas et pourpres (décrites dans la flore comme trois variétés dénommées *alba, lilacina* et *purpurea* ; Jacob de Cordemoy, 1895) (Figure 1). Le pollinisateur principal serait le sphinx diurne (Sphingidae) de l'espèce *Macroglossum milvus* (Pailler, com. pers.), qui n'a été pour l'instant observé que sur la forme lilas. Les connaissances sur l'espèce *C. sylvatica* et son écologie étaient très limitées avant cette étude.

Inventaire et cartographie des populations

Un important travail préliminaire de prospection a été effectué sur différents secteurs de l'île de la Réunion, orienté par la base de données de l'équipe du laboratoire PVBMT (T. Pailler, com. pers.) et les informations issues d'orchidophiles locaux. A chaque station de calanthe sylvatique (re)découverte, ont été relevés la latitude, la longitude, l'altitude, le type de milieu et la date approximative de floraison (extensible sur 3 mois dans une population selon Micheneau, com. pers.). Ces informations nous ont permis d'établir des cartes de répartition, les périodes de floraison, et le type de milieu de chaque variété. Le tableau 1 détaille l'échantillonnage pour les trois variétés de calanthe.

Etude de la couleur

Les spectres de réflectance de chacune des couleurs de fleurs ont été analysés sur du matériel frais (fleurs prélevées le jour même pour éviter l'altération des pigments). Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un spectromètre USB2000 (Ocean Optics) avec une source lumineuse halogène à tungsten (mesures dans la gamme 450 à 700 nm). Les mesures ont été effectuées au niveau externe du labelle, représentatif de la couleur globale de la fleur.

Tableau 1 : Plan d'échantillonnage de l'étude.

	Variétés de Calanthe sylvatique		
	alba	*lilacina*	*purpurea*
Nombre de populations :			
Répartition géographique	10	10	8
Phénologie	22	8	7
Traits floraux	3	4	5
Nombre d'individus :			
Couleur	43	62	38
Odeur	14	17	15
Morphologie	44	70	85
Succès reproducteur	93	154	158

Morphologie

Après les mesures de couleur et dissection des pièces florales, les fleurs ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse électronique (précision : 0.001mm) pour les 7 caractères floraux suivants : longueur et largeur du sépale médian, longueur et largeur du pétale latéral, longueur et largeur du labelle et, longueur de l'éperon.

Etude des odeurs

L'analyse chimique des composés organiques volatils (COV) du bouquet floral a été réalisée en deux étapes. Tout d'abord, le prélèvement *in situ* des composés volatils émis par les fleurs a été réalisé par la méthode de la micro-extraction en phase solide (SPME) sur des fibres absorbantes du type polydimethylsiloxane/ divinylbenzene (PDMS-DVB 65µm) (Supelco). Les inflorescences sont ensachées dans un sac de plastique Nalophan® inodore, où est insérée une fibre SPME pendant 2h entre 9h et 13h (période optimale d'activité maximale des pollinisateurs et sans pluie). Une fibre placée dans un sac vide permet de réaliser un témoin à chaque échantillonnage (retrait ultérieur des COV de l'air ambiant). La seconde étape est l'analyse des COV piégés sur la fibre SPME à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC-MS) (GC) (Varian CP-3800 / Saturn 2000). Le chromatographe permet de séparer les différents composés volatils selon leur poids moléculaire et leur volatilité afin de faciliter leur identification basée sur leur indice de rétention relatif, calculé par la méthode de Kovats et comparé avec ceux connus (Adams, 1995) avec l'aide d'un chimiste spécialiste (J.M. Bessière). L'importance relative de chaque composé est exprimée en pourcentage dans le bouquet final.

Succès reproducteur

Dans chaque population et à la fin de la période de floraison, le taux de pollinisation (= nombre de fleurs pollinisées divisé par le nombre total de fleurs sur l'inflorescence) a été relevé pour tous les individus marqués précédemment et retrouvés sur le site.

Analyses statistiques

Des analyses en composantes principales (ACP) ont été réalisées pour les caractères morphologiques chez *C. sylvatica* et pour l'étude des composés volatils afin de permettre une description globale des nombreuses variables mesurées. Les différentes variables mesurées ont ensuite été testées par des ANOVA ou des MANOVA (SAS version 9.1) pour mettre en évidence les différences significatives entre les trois variétés.

RESULTATS

Répartition géographique et phénologie

L'espèce a été historiquement observée dans 74 sites, surtout à l'est de l'île. Les prospections n'ayant pas pu être réalisée pour chaque site, les données sur la forme colorée et le pic de floraison sont connues pour 37 d'entre eux. Les résultats obtenus indiquent des différences de répartition : les populations de forme blanche se trouvent significativement à plus basse altitude que pour les deux autres formes de couleur, pour lesquelles aucune différence significative dans la répartition n'a été mise en évidence (Fig. 2). La période de floraison est aussi différente entre les trois variétés : les variétés lilas et blanches sont significativement décalées, la première présentant un pic de floraison en décembre l'autre en mars (test de Kruskal-Wallis : H = 14,6 ; p < 0,001). La forme pourpre fleurit à une période intermédiaire, sans différence significative avec les autres (comparaisons multiples du test précédent). Il est a noté également que deux ou trois variétés peuvent fleurir sur le même site, mais que cela se produit très rarement, et ne concerne dans ce cas que très peu d'individus. Les trois variétés semblent donc relativement isolées de par les différences de phénologie et de répartition géographique.

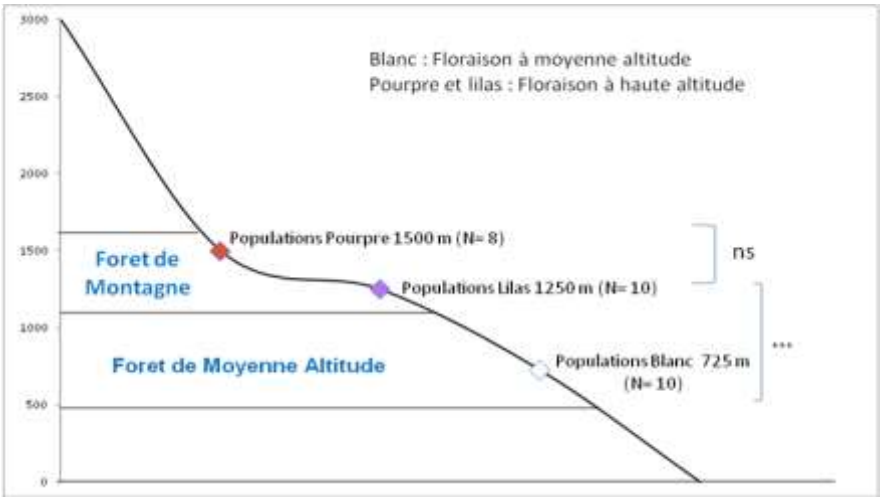


Figure 2 : Etagement des formes de *Calanthe sylvatica* (en nombre de populations) le long du gradient altitudinal / écologique de La Réunion.

.

Données morphologiques

Les mesures morphologiques de *C. sylvatica* ayant été effectuées sur 7 variables, une première analyse à l'aide d'une ACP nous a permis de déterminer les variables d'intérêt et les éventuels regroupements de variables. L'analyse nous permet d'identifier deux facteurs PC1 et PC2 représentant plus de 75% de la variance. Le premier axe PC1 représente une variable de morphologie globale de la fleur (contribution similaire des variables), alors que pour l'axe PC2 représente la longueur de l'éperon. Les résultats de la MANOVA réalisée pour les différentes variables morphologiques nous indique que les variétés se différencient morphologiquement (MANOVA: F = 17,78 ; p<0,001), les fleurs de la forme lilas ayant tendance à être plus petites que les fleurs des autres variétés. De plus, la longueur moyenne de l'éperon est plus grande pour la forme blanche (25,54 ± 2,95 mm) que chez les formes lilas (19,13 ± 4,99 mm) et pourpre (18,75± 4,15 mm), non différentes entre elles. Il existe également des différences significatives au niveau de 1) la hauteur de l'inflorescence (72,5 cm ± 15,32 pour *alba*, 67,1 ± 15,8 pour *lilacina* et 67,8 cm ± 15,7 pour *purpurea* ; test de Kruskal-Wallis : H= 16,03 ; p < 0,001), et 2) du nombre de fleurs par inflorescence (15,82 ± 7,54 pour *alba*, 17,68 ± 7,6 pour *lilacina*, et 14,8 ± 9,1 pour *purpurea* (H=20,45 ; p < 0,001).

Analyse des spectres de couleur

Les formes lilas et pourpres sont caractérisées par un pic dans les longueurs d'onde correspondant au rouge (620-750 nm) (Fig. 3). Ces pics sont significativement décalés (Test Mann-Whitney, Z = -2,22 ; p = 0,026), car la forme lilas présente un pic dans le bleu (450-495 nm) absent chez la forme pourpre. Les différences observées au niveau de la brillance sont significatives pour les trois formes (test de Kruskal-Wallis : H = 59,5, p < 0,001).

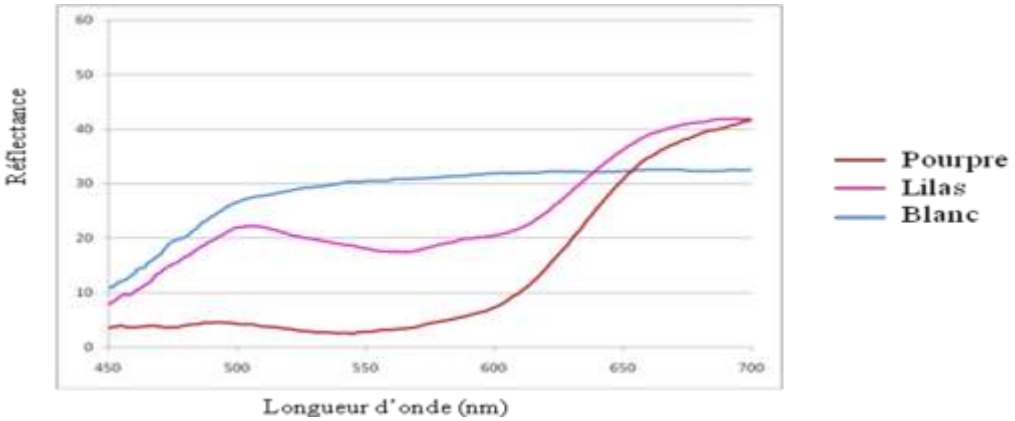


Figure 3 : Courbes de réflectance moyennes des trois variétés de *C. sylvatica*.

Analyse de l'odeur

Un total de 22 composés ont étés identifiés chez *C. sylvatica*. Les profils d'odeur des trois formes sont largement dominés par les composés aromatiques représentant respectivement 81%, 68% et 75% des volatils émis respectivement par les formes lilas, pourpre et blanche. Si les profils d'odeur ne varient pas au niveau qualitatif (nature des composés olfactifs), il existe des différences significatives entre les formes pour la quantité relative de certains composés. Ainsi, les trois variétés ont des odeurs différentes.

Succès reproducteur

Le succès reproducteur moyen des individus de la forme blanche est de 9,09% ± 12.76, ce qui est significativement supérieur à celui des formes lilas (5.04% ± 7,22 ; test de Kruskal-Wallis : H = 31,6 ; p = 0.002) et pourpre (3, 48 ± 8,39 ; test de Kruskal-Wallis : H = 31,6 ; p < 0.001).

DISCUSSION

Chez *C. sylvatica*, il existe, au delà des variations de couleur notées dès le siècle passé, des différences pour d'autres variables morphologiques ou écologiques : odeur, morphologie florale, phénologie, répartition), ce qui démontre une différenciation des formes, et qui ont des répercussions au niveau du succès reproducteur. De nombreuses hypothèses permettent d'expliquer l'évolution de ces variations intra-spécifiques, par des processus liés ou non aux pollinisateurs. Parmi ces processus, des agents de sélection non pollinisateurs peuvent jouer un rôle important (revu par Rausher, 2008). Par exemple, il existe souvent entre traits floraux des relations pleïotropiques ; par exemple certains gènes codant pour les pigments floraux interviennent également dans la synthèse des COV. Ainsi la sélection exercée par des facteurs abiotiques (précipitations, températures, climat) ou biotiques (herbivores et pathogènes) peuvent contraindre de manière importante l'expression des différents traits floraux comme ceux étudiés ici (Strauss & Whittall, 2006 ; Rausher, 2008). Cependant, une analyse plus détaillée de ces facteurs nous conduit à considérer que le polymorphisme floral de cette espèce doit majoritairement s'expliquer par l'effet des pollinisateurs, et donc sur la relation entre les traits floraux et le succès reproducteur.

La faune pollinisatrice de La Réunion est particulièrement représentée par les lépidoptères nocturnes et notamment les sphingidés (15 espèces à La Réunion vs 3 à Madagascar ; Guillermet & Guillermet, 1986). Cette faune particulière a un rôle important sur les communautés d'angiospermes et notamment les orchidées avec la surreprésentation dans ces conditions, d'espèces à fleurs blanches ou très pâles (Johnson & Steiner, 2000). Les résultats des analyses spectrales indiquent que les caractéristiques spectrales des trois formes diffèrent nettement, d'une part d'un point de vue chromatique avec des pics de réflectance à différentes longueurs d'ondes du spectre (couleur) et d'autre part par les caractéristiques achromatiques (brillance). Si les sphinx diurnes privilégient les signaux chromatiques et les nocturnes l'achromatique, tous deux sont capables de différencier ces deux paramètres et d'apprendre ainsi de nouvelles couleurs (Kelber *et al*., 2002). C'est notamment le cas de *Macroglossum stellatarum* qui est capable de différencier le signal émis par des longueurs d'ondes rouges jusque 620nm pour des valeurs de réflectance différentes (Kelber *et al*., 2002). Les trois formes de *C. sylvatica* se différencient également au niveau des profils d'odeur dont la majorité des composés émis sont de type aromatiques. La présence combinée d'une odeur et d'une couleur peuvent augmenter l'attraction (Galizia *et al*., 2004), par apprentissage de ces combinaisons par les pollinisateurs (Daly & Smith, 2000).

Au niveau morphologique, Kelber (1997) a pu mettre en évidence la sensibilité des sphinx aux variations de la taille des fleurs, si toutefois celles-ci étaient de l'ordre de plusieurs cm, ce qui n'est pas le cas chez *C. sylvatica*. Par contre, la longueur d'éperon est un caractère particulièrement soumis à sélection puisque la longueur de trompe des pollinisateurs va conditionner le contact avec les pollinies ; ainsi la taille de l'éperon reflète souvent l'adaptation de la plante à un type de pollinisateurs (Johnson *et al*., 2003). La hauteur des inflorescences détermine la détection par les pollinisateurs et influence aussi le succès reproducteur (Dickson & Petit, 2006). Les différences observées pour plusieurs traits morphologiques sont potentiellement à mettre en relation avec les différentes niches écologiques occupées par les trois formes de *C. sylvatica*.

Cependant, les modifications de l'abondance des pollinisateurs semblent constituer l'élément majeur influençant les traits floraux et le succès reproducteur de cette espèce. Elles correspondent à des pressions de sélection fluctuantes dans le temps et dans l'espace et contribuent ainsi à la séparation spatiale et temporelle de ces trois formes de couleur. Dans les écosystèmes tropicaux et notamment à la Réunion, l'altitude est un des principaux gradients écologique qui génère des conditions environnementales différentes pouvant impliquer des variations dans la composition des communautés (Jacquemyn *et al*, 2005). À basse altitude, les pollinisateurs sont plus abondants (conditions favorables de pluies et de chaleur) ce qui peut expliquer le meilleur succès reproducteur de la forme blanche. De plus, il est possible d'observer des variations du cycle de vie des sphinx, avec des générations chevauchantes à basse altitude tandis que leur éclosion en altitude intervient pendant les mois de novembre et décembre, c'est-à-dire juste après le début de floraison de la forme lilas qui pourraient ainsi profiter de la naïveté des pollinisateurs (Pailler, comm. pers.). Similairement, les différences de période de floraison entre les trois formes de *C. sylvatica* peuvent aussi être conditionnées par ces différences temporelles d'abondance de pollinisateurs. Ainsi, les différences de présence des trois formes de *C. sylvatica* selon l'altitude peuvent aussi être dues à ces différences spatiales d'abondance de pollinisateurs. Enfin, les niches écologiques des trois formes de couleur se caractérisent également par des variations des communautés et d'autres espèces à fleur nectarifères. Ainsi, *C. sylvatica* ne produisant pas de récompense, le succès reproducteur des formes dépend des préférences innées des pollinisateurs. Celles-ci sont conditionnées par les signaux émis par d'autres fleurs nectarifères localement présentes et de leur phénologie (Johnson *et al*., 2003 ; Raine & Chittka, 2006). Globalement, les différences pour les traits floraux et pour le succès reproducteur entre les trois formes de couleur de

C. sylvatica nous conduisent à considérer qu'elles ont tendance à occuper des niches écologiques différentes (altitude, période de floraison, environnement biotique), sous l'influence majeure de la présence et du comportement de choix des pollinisateurs.

Bibliographie

Adams, R.P. 1995. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, Allured Publishing, Carol Stream IL (1995).

Azuma H., Toyota M., Asakawa Y. 2001. Intraspecific variation of floral scent chemistry in *Magnolia kobus* DC. (Magnoliaceae). Journal of Plant Research 114: 411-422.

Cadet, T. 1980. La végétation de l'île de La Réunion : étude phytosociologique et phytoécologique. Thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille, France.

Daly K.C. and Smith B.H. 2000. Associative olfactory learning in the moth *Manduca sexta*. Journal of Experimental Biology 203: 2025-2038.

Dickson C.R. & Petit S. 2006. Effect of individual height and labellum colour on the pollination of *Caladenia* (syn. *Arachnorchis*) *behrii* (Orchidaceae) in the northern Adelaide region, South Australia. Plant Systsytematics & Evolution 262: 65-74.

Dormont L., Bessière J.-M., Delle-Vedove R., Hossaert-McKey M. & Schatz B. 2010. Rare white-flowered morphs increase the reproductive success of common purple morphs in a food-deceptive orchid. New Phytologist 185: 300-310.

Galen C. 1999. Why do flowers vary? The functional ecology of variation in flower size and form within natural plant populations. Bioscience 49: 631–640.

Galizia G.C., Kunze J., Gumbert A., Borg-Karlson A.-K., Sachse S., Markl C. & Menzel, R. 2004. Relationship of visual and olfactory signal parameters in a food-deceptive flower mimicry system. Behavioral Ecology 16: 159-168.

Gigord L.D.B., MacNair M.R. & Smithson A. 2001. Negative frequency-dependent selection maintains a dramatic flower color polymorphism in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.). Proc. Natl Acad. Sci. USA. 98 : 6253–6255.

Guillermet C. & Guillermet C.W.W., 1986. Contribution à l'Etude des Papillons Hétérocères de l'Ile de La Réunion: Résultats des Chasses de Nuit à l'Usage des Amateurs et des Débutants. Société Réunionnaise des Amis du Muséum, Saint Denis.

Jacquemyn H., Micheneau C., Roberts D.L. & Pailler T. 2005. Elevational gradients of species diversity, breeding system and floral traits of orchid species on Réunion Island. Journal of Biogeography 32: 1751-1761

Jersakova J., Johnson S.D. & Kindlmann P. 2006. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. Biological Review 81: 219-235.

Johnson S.D. & Steiner K.E. 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems TREE 15(4): 140-143

Johnson S.D., Peter C.I., Nilsson L.A. & Ågren J. 2003. Pollination success in a deceptive orchid is enhanced by co-occurring rewarding "magnet" plants. Ecology 84: 2919-2927.

Jones K.N. & Reithel J.S. 2001. Pollinator-mediated selection on a flower color polymorphism in experimental populations of *Antirrhinum* (Scrophulariaceae). American Journal of Botany 88: 447-454.

Kelber A. 1997. Innate preferences for flower features in the hawkmoth *Macroglossum stellatarum*. Journal of Experimental Biology 200: 827-836.

Kelber A., Balkenius A. & Warrant E.J. 2002. Colour vision in diurnal and nocturnal hawkmoths. Integrative and Comparative Biology 43: 571-579.

Knudsen J.T., Eriksson R. & Gershenzon J. 2006. Diversity and distribution of floral scent. The Botanical Review 72: 1-120.

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403: 853-58.

Neiland M.R. & Wilcock C.C. 1998. Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae. American Journal of Botany 85: 1657–1671.

Raguso R.A., Levin R.A., Fooze S.E., Holmberg M.W. & McDade L.A. 2003. Fragrance chemistry, nocturnal rythms and pollination "syndromes" in Nicotiana. Phytochemistry 63: 265-284.

Raine N.E. & Chittka L. 2006. Pollen foraging: learning a complex motor skill by bumblebees (*Bombus terrestris*). Naturwissenschaften 94: 459-464.

Rausher M.D. 2008. Evolutionary transitions in floral color. International Journal of Plant Sciences 169: 7-21.

Salzmann C., Cozzolino S. & Schiestl F.P. 2007. Floral scent in food-deceptive orchids: species specificity and sources of variability. Plant Biology 9: 720-729.

Schemske D.W. & Bierzychudek P. 2007. Spatial differentiation for flower color in the desert annual *Linanthus parryae*: was Wright right? Evolution 61: 2528-2543.

Strauss S.Y. & Whittall J.B. 2006. Non-pollinator agents of selection on floral traits. *In*: The Ecology and Evolution of Flowers (Barrett M. & Harder H. eds). Oxford University Press. pp. 120-138.

Facilitation de pollinisation chez les orchidées trompeuses

Nicolas JUILLET[1,2], Laurent DORMONT[1] & Bertrand SCHATZ[1]
1) Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier Cedex
2) Adresse actuelle : Conservatoire Botanique National de Corse, Office de l'Environnement de la Corse, avenue Jean Nicoli, 20250 Corte
njuillet@gmail.com

Abstract – Facilitation of pollination in deceptive orchids. In Angiosperms, flowers are often coloured and scented to attract pollinators, and usually produce nectar to reward them and encourage them to revisit conspecific flowers. However, nectar rewards are lacking in about one third of all orchid species, and pollination of such deceptive species has stirred numerous studies. After a general review of pollination strategies in deceptive orchids, we present two strategies of "pollination facilitation", which is the positive influence of co-flowering species on reproduction of deceptive orchids. First, we explore the case of Batesian mimicry, where orchid floral traits evolved to closely resemble the ones of a nectar producing species in the community, driving the pollinator to visit both species without possible discrimination. Then, we present a few examples of pollination facilitation between an orchid species and co-flowering species in the community, even if the similarity of floral display is not important. Pollinators may be attracted in the vicinity of the orchid by a greater density or diversity of co-flowering species. These two facilitation strategies are discussed highlighting similarities and differences between them, and then their potential implications for in-situ orchid conservation are discussed. **Key-words :** Pollination, floral traits, interspecific interactions, facilitation

Résumé – Les Angiospermes présentent des fleurs souvent colorées et parfumées pour attirer leurs pollinisateurs, ainsi que du nectar pour les récompenser et les fidéliser. Or chez les orchidées, environ un tiers des espèces ne produisent pas de nectar en récompense. Ces espèces dites trompeuses ont un succès reproducteur souvent faible, dû à l'évitement des pollinisateurs. Après une revue récente des stratégies de pollinisation chez les espèces trompeuses, nous apporterons des précisions sur deux stratégies de facilitation de pollinisation, c'est à dire dans les situations où les espèces en fleurs dans les communautés favorisent indirectement la reproduction des orchidées trompeuses. C'est le cas de certaines espèces qui miment spécifiquement (mimétisme Batésien) une espèce nectarifère. Les traits floraux de l'orchidée sont si proches de ceux de l'espèce mimée que les pollinisateurs passent de l'une à l'autre sans s'en apercevoir, et assurent ainsi la reproduction de l'orchidée. Ensuite, nous présentons, plusieurs études récentes montrant que les espèces nectarifères fleurissant dans les populations peuvent avoir un rôle également dans la reproduction des orchidées, même si la ressemblance entre les fleurs n'est pas importante, par exemple en augmentant l'attraction des pollinisateurs à proximité des orchidées (facilitation de pollinisation). Ces stratégies de facilitation au sens large sont discutées d'un point de vue théorique puis dans le cadre appliqué de la conservation des espèces dans leur milieu.
Mots-clés : Pollinisation, traits floraux, interactions interspécifiques, facilitation

Introduction

Depuis les débuts de la botanique, les fleurs des orchidées, avec leurs couleurs vives, leurs formes complexes, et leurs odeurs, ont intrigué les naturalistes et les scientifiques

observateurs. La pollinisation, est probablement le thème le plus étudié chez les orchidées, et de très nombreuses études se sont penchées sur les relations qui lient les pollinisateurs aux orchidées (Darwin, 1862 ; Van der Pijl, 1966; Van der Cingel, 1995). Chez certaines espèces, la pollinisation est assurée par une seule espèce d'insecte, voire même par un seul sexe d'une seule espèce d'insecte (comme chez certains ophrys pour les espèces méditerranéennes). A contrario, d'autres espèces sont dites généralistes, et leur reproduction est assurée par un cortège d'espèces plus ou moins important. Contrairement à d'autres familles végétales, les orchidées présentent une multitude de stratégies d'attraction des pollinisateurs allant de celles généralistes à différents modes de spécialisations extrêmes (Johnson & Steiner, 2000).

Des espèces trompeuses adoptant des stratégies variées

Depuis les travaux de Darwin (1862), les signaux floraux comme la couleur, la forme l'odeur, la qualité du nectar sont connus pour être issus d'une sélection naturelle liée à l'attraction des pollinisateurs pour accomplir la pollinisation. Environ un tiers des espèces d'orchidées (et plus encore en Europe) ne produisent pas de nectar pour leurs pollinisateurs. Elles sont dites trompeuses et leurs traits floraux servent à attirer et donc duper les pollinisateurs. Le taux de pollinisation de ces espèces est souvent faible (en moyenne une fleur sur 3 est pollinisée) (Neiland & Wilcock, 1998 ; Jersakova *et al*., 2006), car les pollinisateurs apprennent à éviter de telles espèces, sans intérêt pour eux.

De très nombreuses études sur la pollinisation de ces espèces trompeuses ont été réalisées pour comprendre cette stratégie apparemment paradoxale. La récente revue de Jersakova *et al.* (2006) font le point sur les différentes stratégies proposées jusqu'à présent pour ces espèces trompeuses mondiales :

- la tromperie alimentaire (« generalized food deception ») concerne 38 genres d'orchidées. C'est la stratégie la plus connue, qui est basée sur la naïveté des insectes (Figs 1A &1D). L'insecte recherche de la nourriture chez une espèce qui n'en fournit pas (attention, toutefois à considérer les insectes se nourrissant de pollen, cf. Schatz, 2006). Chez certaines espèces tropicales, l'orchidée peut même présenter du pseudopollen ou des pseudoanthères pour tromper l'insecte. Ces espèces sont généralement grégaires et présentent un certain polymorphisme floral (Salzmann *et al.*, 2007 ; Dormont *et al*., 2010). Ces derniers auteurs (voir aussi Schatz *et al*. dans ces actes) ont aussi montré que la présence d'individus à inflorescence hypochrome peut également être associée à une forte augmentation du taux de pollinisation chez les individus voisins de couleur classique (Fig. 1B).
- le mimétisme Batésien (« Batesian floral mimicry ») est l'autre stratégie qui trompe le comportement de recherche alimentaire de l'insecte, et elle est rencontrée chez 9 genres. Nous y reviendrons plus loin.
- l'imitation du site de ponte (« brood site imitation ») se rencontre chez 11 genres (ainsi que chez d'autres familles végétales) et vise plutôt des diptères et des coléoptères recherchant un site approprié pour pondre leurs œufs. Les fleurs sont généralement brunes ou pourpres foncées et très odorantes.
- l'imitation d'un abri (« shelter imitation ») correspond uniquement au genre *Serapias* et cible généralement des hyménoptères (abeilles sauvages et bourdons). L'ensemble labelle et casque (soudure des deux autres pétales et des trois sépales) offre un abri de repos nocturne et de protection an cas de mauvaise météo, où la température est légèrement supérieure à celle ambiante (Fig. 1C).
- le pseudoantagonisme (« pseudoantagonism ») existe chez deux genres (*Oncidium* et *Tolumnia*) et détourne le comportement territorial de l'insecte. Des abeilles (*Centris* sp.) attaquent les flowers lorsqu'elles vibrent dans le vent, et ce faisant assurent la pollinisation.
- l'attraction de type rendez-vous (« rendezvous attraction ») concerne 4 genres (par exemple chez *Anacamptis papilionacea* et *Cephalanthera rubra*), et détourne le

comportement sexuel de l'insecte. Les mâles des insectes recherchent leur femelle dans certaines fleurs selon leur morphologie générale (couleur, forme, odeur, etc…). Constituant les « lieux de rendez-vous », ces fleurs sont imitées par certaines orchidées.

- la tromperie sexuelle (« sexual deception ») est l'autre stratégie qui cible le comportement sexuel de l'insecte, et qui est bien sûr utilisée par les espèces du genre *Ophrys* … ainsi que par 17 autres genres d'orchidées (cette stratégie étant apparue indépendamment en Europe, en Australie, en Afrique et en Amérique du Sud). La fleur imite la femelle de l'insecte par la forme, la taille, la couleur, la pilosité (parfois) … mais surtout par l'odeur, à tel point que le mâle adopte un comportement de pseudocopulation sur le labelle.

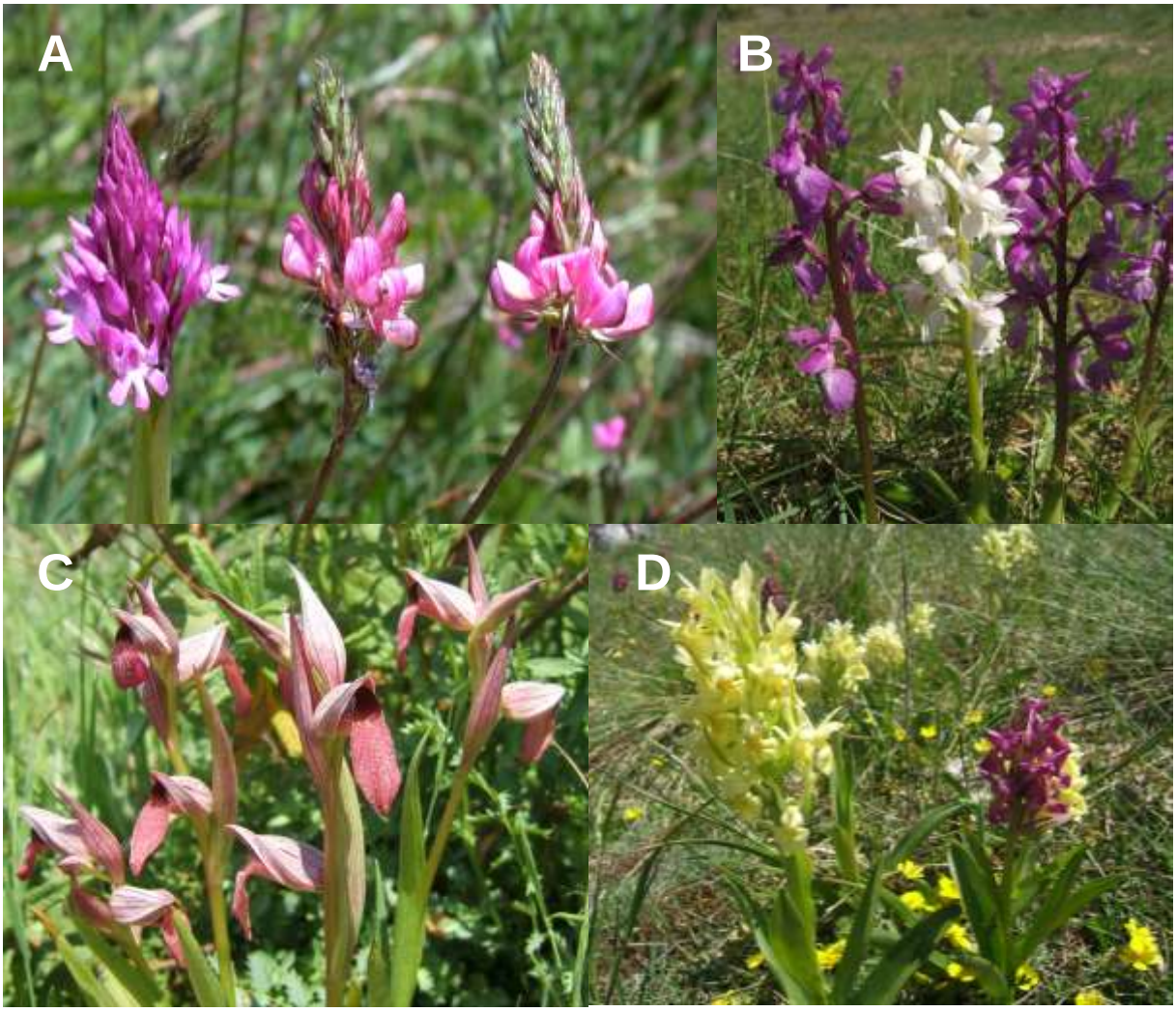


Figure 1. A. Une fleur sans nectar d'Orchis pyramidal (*Anacamptis pyramidalis*) mimétique (forme, taille et couleur) de fleurs de sainfoin. B. Des fleurs d'Orchis mâle (*Orchis mascula*) dont une hypochrome (au centre), qui sont pollinisées par des bourdons inexpérimentés. C. Des fleurs du Sérapias à langue (*Serapias lingua*) qui sont pollinisées par des insectes venant s'abriter dans la fleur. D. Des fleurs jaunes ou pourpres d'Orchis sureau (*Dactylorhiza sambucina*) pollinisées par des insectes alternant entre les deux couleurs de cette espèce. (Photos B. Schatz)

L'effet de l'environnement proche sur la pollinisation des orchidées trompeuses

Parmi l'ensemble des stratégies utilisées par les orchidées sans nectar pour attirer les insectes pollinisateurs, seules les deux premières sont largement influencées pour les autres espèces végétales de leur environnement proche. En effet, du fait de leur floraison

printannière, les orchidées (européennes) sont généralement présentes dans des communautés de plantes en fleurs, plus ou moins variées suivant l'habitat et la période de l'année. La pollinisation des orchidées trompeuses ne correspond donc pas seulement à une interaction entre un insecte et une plante, mais les autres espèces présentes peuvent également jouer un rôle. Du point de vue des pollinisateurs qui recherchent de la nourriture dans les fleurs qu'ils visitent, les orchidées trompeuses ne constituent pas une source isolée de nourriture (nectar, pollen), mais sont plutôt inclues dans un réseau plurispécifique de pollinisation. Dès lors qu'il existe des interactions indirectes potentielles entre les espèces en fleur au même instant au même endroit, il est important de tenir compte de ces interactions pour comprendre l'écologie de la reproduction des orchidées trompeuses.

Nous détaillons ici deux cas où l'environnement proche influence la pollinisation, à savoir le mimétisme Batésien et l'effet « magnet ». Avant cela, nous rappelons les différents types d'interactions possibles entre deux espèces (ici végétales). Lorsque deux espèces interagissent, les conséquences peuvent être négatives, neutres ou positives. En cas d'interaction négative, il s'agit de compétition. Par exemple, il y a compétition pour la pollinisation lorsque l'une des deux espèces est préférée par un pollinisateur commun : l'espèce la moins attractive, ou celle qui produit le moins de nectar sera moins visitée ou même évitée par le pollinisateur. La compétition a longtemps été proposée comme la cause principale expliquant le faible taux de pollinisation chez les orchidées trompeuses : comme les pollinisateurs recherchent le nectar, ils abandonnent rapidement la visite des fleurs qui ne leur en procure pas. Cette explication est intuitive, et semble expliquer également que les orchidées trompeuses européennes fleurissent en moyenne avant les espèces nectarifères (Jersakova *et al*, 2006). Cependant, les conséquences de la compétition ne sont peut être pas aussi importantes que supposées, comme nous le détailleront plus loin.

Deux espèces peuvent également être en interaction neutre par l'intermédiaire d'un pollinisateur commun mais sans avoir d'effet sur leur pollinisation. Par exemple, un insecte peut visiter une espèce pour prélever le nectar et une autre pour la consommation du pollen : il n'y a pas de compétition entre les 2 espèces, les pollinisateurs exploitent deux sources de nourriture différentes.

Enfin, deux espèces peuvent également impliquées dans une interaction positive, que l'on nomme aussi facilitation de pollinisation. Par exemple, c'est le cas lorsque la présence d'une espèce à proximité d'une orchidée trompeuse accroit le succès reproducteur de celle-ci. Dafni (1987) reporte que le taux de fructification de *Orchis israelitica* est nul quand il fleurit seul, et de 30% en présence de la liliacée *Bellevalia flexuosa*. Nous allons détailler ici d'autres exemples récents tirés de la littérature pour expliquer les mécanismes de la facilitation de pollinisation chez les orchidées trompeuses.

Le mimétisme Batésien ou mimétisme spécifique

Le mimétisme a d'abord été décrit par Bates chez les papillons, décrivant le cas d'une espèce comestible (pour les oiseaux) présentant la même morphologie et la même couleur qu'une espèce différente toxique. L'espèce comestible profite ainsi d'une immunité, du fait de l'absence de distinction entre les deux espèces par le prédateur. Le moteur de cette adaptation est la sélection naturelle, puisque toute mutation augmentant la ressemblance du papillon comestible vers ceux du papillon toxique diminue les risques de prédation.

Par analogie, des systèmes de mimétisme entre plantes en fleurs ont été décrit chez les orchidées, pour lesquelles une inflorescence d'orchidée trompeuse est tellement similaire à une inflorescence nectarifère de la communauté que le pollinisateur ne peut pas faire la différence entre les deux espèces.

L'orchidée mimétique a ainsi sa reproduction facilitée par la présence dans la communauté de l'inflorescence modèle. C'est le cas de *Orchis israelitica* cité plus haut, mais

également de l'orchidée sud-africaine *Disa pulchra* et de son « modèle » *Watsonia densiflora*, pollinisées toutes deux par la mouche *Philoliche aethiopica* (Johnson 2000) a montré expérimentalement un effet de facilitation en plaçant des inflorescences de *Disa* dans des populations de *Watsonia*, et d'autres dans les même prairies mais a distance de *Watsonia*. Les *Disa* entourées de leur modèle sont en moyenne pollinisées à 60% contre 40% pour celles isolées. De plus, la présentation simultanée au bout d'un bâton d'une inflorescence de chaque espèce à ces mouches de la population, qui n'ont pas révélé de préférence pour *Watsonia* qui produit du nectar. Cette expérience démontre que la très grande ressemblance entre les deux espèces empêche le pollinisateur de choisir l'espèce profitable, et visite les inflorescences au hasard. L'orchidée exploite ainsi les capacités cognitives limitées de son pollinisateur et le fait que celui-ci est impliqué dans un système de pollinisation spécialisée (*Watsonia*-mouche), et non pas un système généraliste.

Cette stratégie se traduit chez le pollinisateur par un comportement aléatoire de visite des inflorescences en fonction de ce qu'il trouve, sans choix ou évitement. La similarité morphologique doit être adaptative, et la manipulation d'un des caractères de similarité s'accompagne d'une réduction du succès de pollinisation, comme dans le cas de la création expérimentale d'inflorescences linéaires à partir d'inflorescences globulaires par Johnson *et al*. (2003a) qui s'est accompagnées d'une réduction du succès reproducteur pour l'orchidée.

Il faut noter également que selon certains auteurs (Gumbert & Kunze, 2001), la similarité de couleur suffirait à induire en erreur les pollinisateurs, de sorte que l'orchidée pourrait tirer avantage de la présence de plusieurs espèces de même couleur simultanément (mimétisme non-spécifique). Ce cas est potentiellement intermédiaire avec l'effet « magnet » décrit dans le chapitre suivant, et seule une analyse du comportement des pollinisateur permettrait de trancher entre les deux stratégies.

La facilitation de pollinisation

De plus en plus étudié chez les Orchidées et d'autres Angiospermes, l'effet « magnet » ou effet « aimant » peut aussi être considéré simplement comme la facilitation de pollinisation (Johnson *et al*., 2003b) entre espèces partageant des pollinisateurs communs. En fleurissant dans une population riche en inflorescences nectarifères, une orchidée trompeuse va profiter de la part des autres espèces de l'attraction qu'elles exercent sur les pollinisateurs. Ceux-ci pourront visiter dans la population, et par erreur, les orchidées trompeuses présentes, même si elles ne sont pas les plus attractives, ou ne ressemble à aucune autre plante dans la communauté (voir par exemple dans ces Actes la communication de Schatz *et al*. sur la facilitation de pollinisation chez *Orchis mascula* par des balles de ping-pong).

Dans ce cas, l'effet de facilitation d'une ou plusieurs espèces sur la reproduction de l'orchidée n'implique pas une ressemblance entre les fleurs, pas plus qu'un abus des capacités limitées de l'insecte à discriminer les espèces. L'effet bénéfique sur la reproduction de l'orchidée s'explique simplement par l'attractivité globale de la communauté. Chez l'espèce alpine *Traunsteinera globosa* (Juillet *et al*. 2007), cet effet a été mis en évidence en corrélant le succès reproducteur moyen des inflorescences à la densité moyenne d'inflorescence en fleur : plus les populations sont richement fleuries, plus le succès reproducteur de l'orchidée est important (Figure 2). L'effet de facilitation concerne ici des espèces à pollinisation généraliste, puisque l'attraction des insectes est réalisée par l'ensemble de la communauté des plantes en fleurs. Les orchidées trompeuses concernées par cet effet « magnet » sont des espèces (*Orchis mascula*, *Anacamptis morio*, *Dactylorhiza sambucina* etc…) souvent pollinisées par un cortège d'hyménoptère généralistes (Johnson *et al*., 2003b ; Juillet *et al*, 2007). Cet effet de facilitation de pollinisation peut potentiellement s'appliquer à une orchidée nectarifère mais qui serait peu pollinisée, bien que ce cas n'ait jamais été étudié à notre connaissance.

Figure 2. L'espèce *Traunsteinera globosa* dans ses pelouses alpines. (Photos N. Juillet)

Quelques perspectives en guise de conclusion

Nous avons détaillé ici deux mécanismes différents par lesquels les orchidées trompeuses peuvent être affectées positivement par leurs espèces sympatriques. L'une implique une interaction positive et spécifique entre une espèce d'orchidée et une espèce modèle, sur la base d'une similarité de morphologie générale permettant de duper le pollinisateur. L'autre est beaucoup plus générale et concerne potentiellement de très nombreuses espèces ; une étude synthétique sur un grand nombre de genres européens serait par exemple intéressante et permettrait de tester la généralité de ce phénomène et également l'évolution des traits floraux. Il faut noter que la ressemblance entre une orchidée et une autre espèce ne signifie pas forcément qu'elles sont impliquées dans une relation mimétique : seule l'analyse du comportement des pollinisateurs permet de discriminer entre les deux stratégies de facilitation.

Figure 3. Expérimentation de la pollinisation de l'orchis mâle par ajout de leurre visuel, correspondant à une balle de ping-pong blanche placée à même hauteur que les inflorescences. A gauche, le leurre visuel au milieu d'une population d'orchis mâle, et à droite inflorescence fortement pollinisée à proximité de ce type de leurre visuel. (Photos B. Schatz)

Dans le contexte actuel de réduction des pollinisateurs et des plantes pollinisées par les insectes récemment démontré en Europe (Biesmeijer *et al.*, 2006), cet effet de facilitation pourrait constituer un outil potentiel pour la conservation d'espèces trompeuses à faible taux de reproduction ou de taxons rares. Ceci n'a jamais été testé à notre connaissance, bien que la théorie et les études récentes en populations naturelles soient encourageantes. Sur des espèces communes, deux tentatives concrètes ont été réalisées pour tester grandeur nature

l'application du concept: Lammi & Kuitunen (1995) ont placé des pots de violette (*Viola sp.*) dans des populations de *Dactylorhiza incarnata* pour favoriser l'attraction des pollinisateurs mais sans succès. Dormont *et al*. (2010) à l'inverse ont réussi à augmenter de manière spectaculaire le succès reproducteur de populations *d'Orchis mascula* par adjonction de leure visuels correspondant à des balles de ping-pong (Figure 3). Les différentes études théoriques et empiriques publiées ces quinze dernières années devront être synthétisées, de manière à comprendre quelles sont les modalités, ou les valeurs seuils de densité ou de similarité de couleur nécessaires pour obtenir un effet notable sur les taux de pollinisation. A partir de là, la facilitation de pollinisation pourrait devenir un outil de renforcement de populations, utilisable dans des plans de gestion.

Bibliographie

Biesmeijer J.C., Roberts S.P.M., Reemer M., Ohlemüller R., Edwards M., Peeteres T., Schaffers A.P., Potts S.G., Kleukers R., Thomas C.D., Settle J. & Kunin W.E. 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and in the Netherlands. Science 313: 351-354.

Dafni A. 1987. Pollination in Orchis and related genera: evolution from reward to deception. In: Orchid Biology: Reviews and Perspectives 4 (ed. J. Arditti), pp. 79-104. Cornell University Press, Ithaca.

Darwin C. 1862. On the various contrivances by British and foreign orchids are fertilised by insects. London, John Murray.

Dormont L., Bessière J.-M., Delle-Vedove R., Hossaert-McKey M. & Schatz B. 2010. Rare white-flowered morphs increase the reproductive success of common purple morphs in a food-deceptive orchid. New Phytologist 185: 300-310.

Gumbert A. & Kunze J. 2001. Colour similarity to rewarding model plants affects pollination in a food deceptive orchid, *Orchis boryi*. Biol. J. Linn. Soc. 72: 419–433.

Jersakova J., Johnson S. D. & Kindlmann P. 2006. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. Biol. Rev. 81: 219-235.

Johnson S.D. 2000. Batesian mimicry in the non-rewarding orchid *Disa pulchra*, and its consequence for pollinator behaviour. Biol. J. Linn. Soc. 71: 119-132.

Johnson S.D. & Steiner K.E. 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems TREE 15: 140-143

Johnson S.D., Alexandersson R. & Linder H.P. 2003a. Experimental & phylogenetic evidence for floral mimicry in a guild of fly-pollinated plants. Biol. J. Linn. Soc. 80: 289-304.

Johnson S.D., Peter C.I., Nilsson L.A. & Ågren J. 2003b. Pollination success in a deceptive orchid is enhanced by co-occurring rewarding "magnet" plants. Ecology 84: 2919-2927.

Juillet N., Gonzalez M.A., Page P.A. & Gigord L.D.B. 2007. Pollination of the European food-deceptive *Traunsteinera globosa* (Orchidaceae): the importance of nectar-producing neighbouring Plants. Pl. Syst. Evol. 265: 123–129.

Lammi A. & Kuitunen M. 1995. Deceptive pollination of *Dactylorhiza incarnata*: an experimental test of the magnet species hypothesis. Oecologia 101: 500–503.

Neiland M.R. & Wilcock C.C. 1998. Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae. Am. J. Bot. 85: 1657–1671.

Salzmann C., Cozzolino S. & Schiestl F.P. 2007. Floral scent in food-deceptive orchids: species specificity and sources of variability. Plant Biology 9: 720-729.

Schatz B. 2006. Fine scale distribution of pollinator explains the occurrence of the natural orchid hybrid x*Orchis bergonii*. Ecoscience 13: 111-118.

Van der Cingel N.A. 1995. An atlas of orchid pollination. European orchids. A.A. Balkema, Rotterdam.

Van der Pijl L. 1966. Pollination mechanisms in orchids. In Reproductive Biology and Taxonomy of Vascular plants, 9th Conference report of the Botanical society of the British Isles (ed. J. G. Hawkes), pp. 61–75. Pergamon Press, Oxford.

La sortie sur le terrain du 1er juin 2009 : le plateau de Guilhaumard, en Aveyron (12)

Michel NICOLE & Francis DABONNEVILLE
SFO-Languedoc 903, chemin du pied du Bon Dieu, 30000 Nîmes

Les organisateurs du colloque ont tenu à faire coïncider sa tenue avec la période de floraison des orchidées sur les causses, ainsi mise à profit pour organiser une animation sur le terrain. Le choix du site privilégié par la SFO-Languedoc s'est tourné vers le plateau de Guilhaumard situé au sud de l'Aveyron à deux pas de l'Hérault. Initialement prévue pour 50 personnes, nous nous vîmes plus de 80 à trépigner d'impatience pour une randonnée dans l'un des joyaux des écosystèmes caussenards de la région Languedoc. Outre les problèmes d'intendance que cet effectif a générés, et qu'il a fallu gérer dans l'urgence, l'inquiétude a prévalu tout au long de la sortie en raison du risque possible d'égarement des participants tant ce milieu est favorable à l'errance…..

Le plateau de Guilhaumard se distingue par son isolement topographique dans la partie occidentale du Causse du Larzac, ce qui lui confère un statut tout particulier tant pour la faune que pour la flore. Culminant à plus de 8oo mètres, il est classé dans la région biogéographique de type méditerranéen, avec climat de transition complexe et variable du fait des influences méditerranéennes et océaniques. Cette diversité explique en partie la grande richesse floristique de cette zone avec plusieurs espèces endémiques. Le causse de Guilhaumard est un plateau calcaire et dolomitique (karstique) fortement érodé par endroits (chaos ruiniformes, avens, grottes, dolines, dolomies bathoniennes du Jurassique moyen). Il est bordé de falaises et d'escarpements rocheux présentant des marnes noires riches en fossiles marins du jurassique. Autrefois boisé de hêtres, il est aujourd'hui réduit à l'état de pelouses sèches, de landes à genévrier et à buis, ainsi que de taillis de chênes pubescents et de bois de pins sylvestres. La hêtraie relictuelle, vestige d'une exploitation passée intense pour le

bois de chauffage et le pâturage des animaux, n'est plus présente que dans les canaules plus humides.

Les habitats naturels de ce causse sont très diversifiés et traduisent la richesse floristique de ce site. On y distingue :

*des pelouses sèches et steppes (40 %) : pelouses sèches semi-naturelles et faciès d'embroussaillement sur calcaires riches en graminées (fétuque et brome) et remarquables en orchidées ; zones substeppiques de graminées et annuelles (brachypode); formations à genévrier sur landes ou pelouses calcaires ;

*des forêts caducifoliées (26 %) : la hêtraie calcicole médio-européenne et la chênaie pubescente accompagnée du pin sylvestre, résineux naturel des causses ;

*des landes, broussailles, recrus, maquis et garrigues (25 %) : formations stables xérothermophiles à buis avec des pentes rocheuses à berbéris et des pelouses rupicoles calcaires ou basiphiles riche en orpin et alysse ;

*des rochers intérieurs, éboulis rocheux, dunes intérieures, grottes non exploitées par le tourisme (8 %) : pentes rocheuses calcaires avec une végétation chasmophytique qui pousse à la faveur des petites accumulations de terre dans les fissures et anfractuosités des zones rocheuses ;

* des mares calcaires avec végétation benthique à *Chara spp* sur les zones marneuses ;

* et quelques terres arables (1 %).

La flore des causses est particulièrement riche, avec plus de 1900 espèces, dont certaines endémiques et rares existantes sur le plateau de Guilhaumard : l'armérie de Girard, la carline à feuilles d'acanthe, l'ancolie visqueuse, l'adonis de printemps, la saponaire à feuilles de pâquerettes, l'euphraise des Cévennes, la pulsatille rouge ou la tulipe des bois. Les gorges et les canaules possèdent une flore remarquable et souvent endémique : la potentille des Cévennes, l'alyssum à gros fruits, l'érine des Alpes, le saxifrage des Cévennes, le centranthe de Lecoq, la drave faux aizon, la violette rupestre, l'ancolie visqueuse, l'adonis de printemps. Dans les zones les plus fraîches, on pourra observer la pinguicule à longues feuilles, différents daphnés ainsi que l'œillet du Roussillon. Sur les pelouses à stipe se localisent diverses renoncules, la carline à feuilles d'acanthe, l'anthyllis des montagnes, l'armérie de Girard, plusieurs carex, la variété cévenole de l'aster des Alpes, des hélianthèmes, alors que les rocailles dolomitiques voient fleurir la violette des rochers, le lin campanulé, la vesce à feuilles dentées ou l'euphorbe de Gérard. Les petites dépressions herbeuses et rocailleuses peuvent proposer la fritillaire des Pyrénées. Les landes à buis ou à genévriers se caractérisent par l'abondance du brome dressé, de fétuque, de la seslérie et du géranium sanguin en lisière, de même que par la présence du silène penché, de la spirée, de la lavande, de l'aphyllante de Montpellier et de l'immortelle stoechas. L'iris nain est fréquent dans les garrigues, associé au thym et romarin, ainsi qu'à la lavande et aux asphodèles Les hêtraies, enrichies en espèces supraméditerranéennes, renferment le sorbier des oiseleurs, le chèvrefeuille, la benoîte des bois, le lis martagon, le sceau de Salomon, la pulmonaire des Cévennes et quelques carex dont le rare carex appauvri des abords boisés des abîmes.

L'objectif de cette sortie était cependant ciblé sur l'objet du colloque : les orchidées. A cet égard, l'arrivée sur site en bus et en voitures a été particulièrement remarquée avec un laché d'orchidophiles rapidement conquit par l'abondance d'*Ophrys aveyronensis* à proximité…… des pneumatiques. Dans ces conditions, les consignes de sécurité étaient déjà aux oubliettes, tant l'instinct indiscipliné de ces passionnés a favorisé la dispersion quasi instantanée des effectifs. Spectaculaire ! Les congressistes se sont familiarisés avec près des 2/3 des 36 espèces d'orchidées recensées à ce jour sur le plateau de Guilhaumard soit plus de la moitié des espèces du Larzac. La randonnée s'est déroulée dans la partie sud du causse à partir de la Frayssinède pour rejoindre le Bois de la Taillade ; c'est la plus diversifiée et la plus facile. Nous avons ainsi pu observer :

Anacamptis morio,
Anacamptis pyramidalis,
Dactylorhiza sambucina,
Neotinea ustulata,
Cephalanthera damasonium,
Cephalanthera longifolia,
Himantoglossum hircinum,
Limodorum abortivum,
Ophrys apifera,
Ophrys aveyronensis,
Ophrys insectifera,
Ophrys lutea,
Ophrys passionis,
Ophrys scolopax,
Ophrys santonica,
Orchis anthropophora,
Orchis mascula,
Orchis militaris,
Orchis purpurea,
Orchis simia,
Plantanthera bifolia,
Ainsi que quelques hybrides :
Orchis anthropophora x O. simia,
Orchis purpurea x O. simia,
Orchis militaris x O. simia,
Ophrys aveyronensis x O. passionis.
Non loin de là, certains d'entre-nous ont également pu voir à La Pezade :
Coeloglossum viride,
Gymnadenia conopsea,
Listera ovata,
Ophrys aymoninii,
Ophrys funerea (=O. sulcata)
et *Ophrys aymoninii x O. scolopax*

Photographies du colloque

Photographies de Catherine Blanchon, Francis Dabonneville et Daniel Prat

Ouverture du colloque

Pierre Laurenchet

Daniel Prat

Francis Dabonneville

John Thompson

Communications du 30 mai

Pierre Laurenchet, Jean-Michel Hervouet,
Alain Jouy, Michel Seret

Philippe Feldmann

Gérard Joseph François Dusak

Irène Till-Bottraud, Gil Scappaticci

François Munoz

Table ronde
« Conservation et cartographie après l'atlas »

Bertrand Schatz, Dominique Bonardi, Frédéric Melki

Session posters et buffet

Communications du 31 mai

Paula Rudall

Richard Bateman

Marc-André Selosse

Alain Gévaudan

Frédéric Melki

Communications du 31 mai

Mariana Mondragon-Palomino

Aline Raynal-Roques, Albert Roguenant

Marieangela Girlanda, Marc-André Selosse

Marie-France Duval

Excusion sur le plateau du Guilhaumard

Programme du colloque

Samedi 30 mai

8 : 00 – 10 : 00 Accueil des participants

9 : 00 – 10 : 00 Cérémonie d'ouverture

Pierre Laurenchet, Président de la SFO
John Thompson, CEFE
Daniel Prat, commission scientifique SFO
Francis Dabonneville, Président de la SFO-Languedoc

10 : 00 – 10 : 30 Pause Café

10 : 30 – 12 : 30 Session 1 « Languedoc, Roussillon, Aveyron » modérateur : Bertrand Schatz

Michel Nicole : **Les habitats naturels en Languedoc Roussillon et Aveyron**
Errol Véla : **La région méditerranéenne française, un carrefour biogéographique pour l'orchidoflore ibérique et tyrrhénienne**
Jean-Philippe Anglade : **Situation d'*Ophrys aranifera* en Languedoc-Roussillon et Aveyron**
Gérard Joseph : ***Ophrys aegirtica* en Languedoc Roussillon et Aveyron**
Philippe Feldmann : **Le statut de menace des espèces d'orchidées en Languedoc et en Aveyron**
Stéphan Arnassant : **La problématique de conservation des orchidées en Camargue**
John Thompson : **La protection des espèces rares en France : l'importance d'établir et hiérarchiser des priorités**

12 : 30 – 14 : 00 Déjeuner libre

14 : 00 – 17 : 00 Session 2 « Conservation et Cartographie » modérateur : Aline Raynal-Roques

Bertrand Schatz : **Variations diachroniques de l'habitat et des populations d'orchidées**
François Dusak : **L'Atlas des orchidées de France**
François Munoz : **Approcher l'écologie des orchidées à travers un atlas : enjeux de suivi et de conservation**
Philippe Feldmann : **Evaluation des risques d'extinctions des orchidées : application de la méthode de la Liste Rouge de l'UICN au niveau national**
Gil Scappaticci et Irène Till : ***Epipactis fibri*, une espèce atypique et mal connue**

15 : 30 – 16 : 00 Pause café

Pierre Bonnet : **Une approche graphique originale pour l'identification d'orchidées asiatiques**
Ridha El Mokni : **Aperçu sur la diversité taxinomique et la distribution écologique de l'orchidoflore des régions de Kroumirie-Mogods, Tunisie septentrionale**
Thomas Tully : **Démographie et histoire de vie d'*Ophrys bertolonii* : suivi décénal d'une population dans la région de Nice**

17 : 00 – 18 : 30 Table ronde « Conservation et cartographie après l'atlas »

18 : 30 – 20 : 30 Session posters

Khellaf Rebbas, Moussa Haddad & Errol Véla : **Contribution à l'inventaire des orchidées de la Kabylie (Algérie)**
Jocelyne Cambecèdes, Jérôme Garcia, Laurie Mouney, Gérard Joseph, Jaoua Celle & Jérôme Calas : **Un plan de conservation pour l'Orchis lacté (*Neotinea lactea* (Poir.) R.M.Bateman, A.M.Pridgeon & M.W.Chase) en Haute-Garonne**
Chantal Riboulet, Jean-Louis Gatien & Jean-Jacques Guillaumin : ***Epipactis exilis* (Baumann et Baumann) Delforge, espèce nouvelle pour l'Auvergne et la France**
Francis Dabonneville & Vincent Marty : **Les Orchidées du domaine de Solan (la Bastide d'Engras, 30)**
Vincent Marty & Francis Dabonneville : **Orchidées sauvages. Trésors du Languedoc**
Henry Bartschi & Daniel Prat : **Semis in vitro de quelques *Ophrys* tardifs du sud est de la France**

18 : 30 – 20 : 30 Buffet

20 : 30 – 22 : 00 Soirée consacrée à Madagascar

Finn Kjellberg : **Darwin et l'évolution des orchidées**
Jean-Michel Hervouet : **La Société Française d'Orchidophilie à Madagascar**

Dimanche 31 mai

9 : 00 – 10 : 30 Session 3 « Evolution et taxonomie » modérateur : Marc-André Selosse

Richard Bateman : **Conflicting species concepts underlie perennial taxonomic controversies in *Ophrys***
Paula Rudall **: Comparative floral micromorphology of molecularly delimited species groups in *Ophrys***
Daniel Prat : **Evolution et classification des Orchidaceae**
Alain Gévaudan : **La systématique du genre *Epipactis* : cas particulier du groupe d'*E. phyllanthes* et sa représentation en France**

10 : 30 – 11 : 00 Pause café

11 : 00 – 12 : 30 Session 4 « Orchidées exotiques » modérateur : Philippe Feldmann

Thierry Pailler : **Evolution et conservation des orchidées de La Réunion**
Claire Micheneau : **Pollinisation des orchidées angraecoïdes : de Darwin à aujourd'hui**
Aline Raynal-Roques : **Relation entre le feu, la floraison et la multiplication végétative**
Frédéric Melki : **Les orchidées terrestres d'Afrique subsaharienne : présentation et biogéographie des principaux genres**

12 : 00 – 14 : 00 Déjeuner libre

14 : 00 – 15 : 30 Session 5 « Biologie des orchidées » modérateur : Daniel Prat

Mariana Mondragon-Palomino : **On how the orchid got its lip and why pelorics are beautiful**
Aline Raynal-Roques et Albert Roguenant : **Morphologie et stratégies de la fleur chez les orchidées australiennes**
Marie-France Duval : **Diversité génétique et cytogénétique des vanilliers**
Marc-André Selosse : **Avancées récentes sur les mycorhizes d'orchidée**

15 : 30 - 16 : 00 Pause café

16 : 00 – 17 : 30 Session 6 « Interactions biotiques » modérateur : Michel Nicole

Mariangela Girlanda : **Compatibilité entre champignons symbiotiques et orchidées méditerranéennes**
Florent Martos : **L'hétérotrophie pour le carbone chez les orchidées : l'apport des études en régions tropicales**
Mélanie Roy : **Le mystère des orchidées fantômes**
Bertrand Schatz : **Avancées récentes sur la pollinisation de quelques orchidées méditerranéennes**
Roxane Delle-Vedove : **Couleur, odeur et succès reproducteur chez une orchidée trompeuse tropicale**
Nicolas Juillet : **Facilitation de pollinisation chez les orchidées trompeuses**

17 : 30 – 18 : 00 Clotûre des conférences

Lundi 1er juin

Sortie guidée sur le Guilhaumard, organisée par la SFOL

Rendez-vous pour le départ à 8h45, Place Eugène Bataillon à Montpellier
(arrêt de tram Université Sciences et Lettres, ligne 1), retour vers 18h à Montpellie

Liste des participants

Jean-Philippe	ANGLADE
Françoise	ARABIA
Stéphan	ARNASSANT
Agnès	ARTIGES
Frédéric	AUTHIER
Mathieu	BARBE
Richard	BATEMAN
Alain	BERTHIAUX
Daniel	BIZET
Catherine	BLANCHON
Monique	BONARDI
Dominique	BONARDI
Pierre	BONNET
Nicole	BORDES
Robert	BORDES
Marie-Pierre	BOURDIN
Jean	CASTEX
Freddy	CLAPIER
Benjamin	COLL
Geneviève	CONEJERO
Jean-Louis	CONSTANT
Christiane	CROCI
Daniel	DA COSTA
Francis	DABONNEVILLE
Jean	DAUGE
Madeleine	DAUGE
Alain	DELAGE
Roxane	DELLE-VEDOVE
François	DUDRAGNE
Jacqueline	DUDRAGNE
Jean-Marie	DUPONT
François	DUSAK
Pierre	DUTILLEUL
Marie-France	DUVAL
Ridha	EL MOKNI
Enrico	ERCOLE
Philippe	FELDMANN
Jérôme	GARCIA
Alain	GEVAUDAN
Michèle	GEVAUDAN
Mariangela	GIRLANDA
Claire	GORIOT
Alain	GREFF
Clémentine	GREFF
Annie	GUILLAUMIN
Jean-Jacques	GUILLAUMIN
Christophe	GUILLAUMOT
Patrick	HAFFNER
Chantal	HERVOUET
Jean-Michel	HERVOUET
Denise	ILHAT
Paul	ILHAT
Gérard	JOSEPH
Nicole	JOSEPH
Alain	JOUY
Monique	JOUY
Nicolas	JUILLET
Finn	KJELLBERG
Mario	KLESCZEWSKI
Jean	KOENIG
Jean-Claude	LACHARPAGNE
Eric	LANOS
Annick	LARBOUILLAT
Francis	LARCHE
Pierre	LAURENCHET
Geneviève	LEBEAUPIN
Jean-Claude	MALAVAL
Roland	MARTIN
Florent	MARTOS
Vincent	MARTY
Daniel	MATHIEU
Florence	MATUTINI
Frédéric	MELKI
Claire	MICHENEAU
Mariana	MONDRAGON-PALOMINO
Anne-Christine	MONNET
Laurie	MOUNEY
François	MUNOZ
Daniel	NARDIN
Richard	NEWTON PRICE
Jodette	NICOLE
Michel	NICOLE
Thierry	PAILLER
Frédéric	PICARD
Arti	PRAT
Daniel	PRAT
Veronahitra	RAFIDISON
Aline	RAYNAL-ROQUES

Khellaf	REBBAS
Christel	RENARD
Vincent	ROBERT
Michele	RODDA
Albert	ROGUENANT
Claudie	ROGUENANT
Marlène	ROSINSKI
Marianne	ROUAULT
François	ROUSSET
Mélanie	ROY
Paula	RUDALL
François	SAIX
Christiane	SCAPPATICCI
Gil	SCAPPATICCI
Bertrand	SCHATZ
Marc-André	SELOSSE
Michel	SERET
Marpha	TELEPOVA
Thierry	THIEBAULT
John	THOMPSON
Irène	TILL-BOTTRAUD
Thomas	TULLY
Jacques	VAILLE
Sylvain	VEDEL
Errol	VELA
Daniel	VIZCAINO
Jérôme	VOLANT
Caroline	WELCH

Index des auteurs

ANGLADE Jean-Philippe 5, 16
ARNASSANT Stéphan 24
BARTHÉLÉMY Daniel 161
BARTSCHI Henry 116
BATEMAN Richard 87
BESSE Pascale 144
BESSIERE Jean-Marie 204
BONFANTE Paola 171
BONNET Pierre 161
BORY Séverine 144
BRADSHAW Elizabeth 87
BROWN Spencer 144
CALAS Jérôme 82
CAMBECEDES Jocelyne 82
CELLE Jaoua 82
DABONNEVILLE Francis 16, 24, 29, 220
DEBUSSCHE Max 28
DELLE-VEDOVE Roxane 197, 204
DEVEY Dion S. 87
DORMONT Laurent 197, 204, 213
DUBOIS Marie-Pierre 170
DUSAK François 39
DUVAL Marie France 144
EL AOUNI Mahomed Hédi 66
EL MOKNI Ridha 66
ERCOLE Enrico 172
FACCIO Antonella 171
FELDMANN Philippe 16, 51
FOURNEL Jacques 84, 180
GARCIA Jérôme 82
GATIEN Jean-Louis 126
GAUTHIER Perrine 28
GAUVIN-BIALECKI Anne 84
GENIEZ Philippe 31
GEVAUDAN Alain 118
GIRLANDA Mariangela 171, 172
GRARD Pierre 161
GRISONI Michel 144
GUILLAUMIN Jean-Jacques 126
HERVOUET Jean-Michel 170
HUMEAU Laurence 84
JACQUEMYN Hans 84
JOSEPH Gérard 11, 82
JUILLET Nicolas 197, 204, 213
KJELLBERG Finn 102
MAHMOUDI Mohamed Riadh 66
MALMGREN Svante 87
MARTOS Florent 84, 171, 180
MARTY Vincent 29
MELKI Frédéric 154
MICHENEAU Claire 84, 196
MONDRAGON-PALOMINO Mariana 128
MOUNEY Laurie 82
MUNOZ François 46
NICOLE Michel 3, 16, 220
OLIVIER Gilbert 24
PAILLER Thierry 84, 180, 204
PEROTTO Silvia 172
PRAT Daniel 103, 116
RAKOTOARIVELO Fanny 84
RAYNAL-ROQUES Aline 155, 158
RIBOULET Chantal 126
RODDA Michele 172
ROGUENANT Albert 155,158
ROY Mélanie 171, 186
RUDALL Paula 87
SCAPPATICCI Gil 59
SCHATZ Bertrand 31, 102, 197, 204, 213
SCHUITEMAN André 161
SEBEI Houcine 66
SELOSSE Marc-André 102, 171, 180, 186
SOUCHE Rémy 16
SOULIÉ André 16
SVENGSUKSA Boukhaykhone 161
THIEBEN Günter 128
THOMPSON John 28
TILL-BOTTRAUD Irène 59
TULLY Thomas 73
VELA Errol 4

Publications de la Société Française d'Orchidophilie

L'Orchidophile
Plus de 180 fascicules publiés depuis 1970
4 fascicules en 2010

Cahiers de la Société Française d'Orchidophilie
N° 1 (1993) : Synoptis des orchidées européennes, par Pierre Quentin
N° 2 (1995) : Synoptis des orchidées européennes, deuxième édition, par Pierre Quentin
N° 3 (1996) : Actes du 13ème colloque de la SFO, Grenoble, 29 juin – 2 juillet 1995
N° 4 (1999) : Compte-rendu des premières journées rencontres orchidophiles Rhône-Alpes, Lyon, 30 mai-1er juin 1998
N° 5 (1999) : Les hybrides des genres *Nigritella* et/ou *Pseudorchis*, par O. Gerbaud et W. Schmid (coédition SFO-AHO)
N° 6 (2000) : Actes du 14e colloque de la SFO, Paris, 20-21 novembre 1999
N° 7 (2010) : Actes du 15e colloque sur les orchidées de la Société Française d'Orchidophilie, Montpellier, 30 mai - 1er juin 2010

Cartographies
18 cartographies départementales publiées en fascicules supplémentaires à l'Orchidophile
Plus de 15 autres cartographies départementales ou régionales publiées ou co-publiées

Ouvrages
Divers ouvrages sur les orchidées tempérées et tropicales, de France, d'Europe et du monde dont :
Les orchidées de France Belgique et du Luxembourg (2005, M. Bournérias et D. Prat coordinateurs).