

CAHIERS DE
LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ORCHIDOPHILIE

N°8 – 2014

1^{er} et 2
MARS 2014

16^e Colloque
SFO



BLOIS
Halle aux grains

Orchidées



LVMH RECHERCHE
PARFUMS & COSMÉTIQUES



**Actes du 16^e colloque
sur les Orchidées
de la
Société Française d'Orchidophilie**

***Quel avenir pour les orchidées
dans leur milieu ?***



**1^{er} et 2 mars 2014
Blois, La Halle aux Grains**

Avec le soutien de la Société botanique de France

**Colloque organisé par la Commission Scientifique de la SFO :
Pascal Descourvière, Philippe Feldmann, Alain Gévaudan, Daniel Prat,
Marc-Andre Selosse, Bertrand Schatz, Daniel Tyteca**

Coordination des Actes : Daniel Prat

Affiche du Colloque : Sabrina Jallet

Cahiers de la Société Française d'Orchidophilie, N° 8, Actes du 16^e Colloque sur les orchidées de la Société Française d'Orchidophilie : Quel avenir pour les orchidées dans leur milieu ?

ISSN 0750-0386

© SFO, Paris, 2014

Certificat d'inscription à la commission paritaire N° 55828

ISBN 978-2-905734-18-1

Actes du 16^e colloque sur les Orchidées de la Société Française d'Orchidophilie, SFO, Paris, 2014, 168 p.

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

Préface

BLOIS 2014

Mai/juin 2009 : Montpellier,

Mars 2014 : Blois,

Ce nouveau colloque qui intervient 5 ans après le précédent, est organisé avec le soutien de la Société Botanique de France.

La ville de Blois accueille donc cette manifestation. Elle offre un environnement architectural exceptionnel pour lequel elle est classée au patrimoine mondial de l'Unesco et nous fait bénéficier du cadre prestigieux de la Halle aux Grains. (Une visite de la vieille ville prévue samedi après-midi, vous permettra de découvrir et d'apprécier un des fleurons de cet environnement architectural)

Aussi, je tiens à remercier chaleureusement la municipalité pour les facilités qu'elle a mises à notre disposition pour l'organisation de cette double manifestation : Colloque et exposition.

Merci à tous ceux qui nous ont apporté un soutien financier sans lequel il nous aurait été difficile de proposer aux amateurs d'orchidées et de botanique cet événement :

- La communauté d'agglomération de Blois, Agglopoly
- La Région Centre
- Le lycée horticole de Blois,
- LVMH

Merci aussi au comité d'organisation :

- Claude Surand l'initiateur du projet,
- Daniel Prat et toute l'équipe de la Commission scientifique organisateurs du colloque
- Jean Claude Roberdeau et tous les bénévoles de Centre Loire qui se sont dépensés sans compter pour faire de ces deux journées une réussite.

Le thème qui vous est proposé pour ce colloque « *quel avenir pour les orchidées dans leur milieu* » sous-entend une autre interrogation que se posent tous ceux qui font de la protection un des objectifs de leur action :

- « allons-nous dans la bonne direction lorsque nous menons ces actions de protection, sommes-nous certain de proposer les bonnes solutions »

Le sujet est certes vaste et complexe, mais il est important que nous puissions bénéficier du retour d'expérience sur nos activités de protections si nous voulons éviter des erreurs qui pourraient avoir des conséquences parfois irréversibles pour **l'avenir des orchidées dans leur milieu.**

Je sais que ce n'est pas deux jours de colloque, les conférences et les discussions aussi riches soient-elles, qui permettront d'y répondre. Mais si nous pouvons dégager quelques pistes nous aurons fait un pas dans la bonne direction et c'est là l'essentiel.

Bon colloque à tous.

Pierre Laurechet
Président de la SFO

SOMMAIRE

Quelles connaissances pour la protection des orchidées ?

Tyteca D., Ceinos M., Brys R., Gathoye J.L., Jacquemyn H. – Systématique, phylogénie et isolement reproducteur des sous-genres <i>Orchis</i> et <i>Masculae</i> (Orchidaceae, Orchidinae, <i>Orchis</i>)	1
Telepova M. – Diversité des orchidées de différentes zones bio-géographiques du Cambodge	14
Vogt H., Munoz F., Richard F., Schatz B. – Apparitions et disparitions départementales des orchidées en France	19
Valentin B. – Agir pour le <i>Liparis</i> de Loesel : le Plan National d'Action	20
Munoz F., Vogt H., Richard F., Schatz B. – L'écologie des orchidées au travers de l'Atlas SFO : les stratégies de reproduction et de nutrition dépendent étroitement de l'environnement	26
Feldmann P., Daulmerie S., Gévaudan A., Hirschy O., Koenig J., Nicole M., Prat D. – Orchisauvage.fr : un projet ambitieux de science participative en appui à la connaissance et à la conservation des orchidées sauvages	27
Lafarge D. – Diffuser la connaissance des orchidées à l'ère des réseaux sociaux	29
Selosse M.A., Martos F., Bocayuva M.F., Kasuya M.C.M. – La découverte de la mixotrophie chez les plantes à mycorhizes	31
Schatz B., Delle-Vedove R., Bessière J.M., Dormont L. – La couleur comme communication entre orchidées et insectes pollinisateurs	45
Gérard F., Cakova V., Margaf M.L., Bonté F., Lobstein A. – Protection d'une orchidée tropicale, <i>Vanda coerulea</i>, dans son milieu naturel : impact sur la protection locale de la biodiversité	52

Comment conserver les milieux à orchidées ?

Cordier J. – La liste rouge régionale de la flore vasculaire du Centre. Quel bilan pour les orchidées ?	58
Schatz B., Gauthier P., Debussche M., Thompson J.D. – Proposition d'une méthode pour réviser les statuts de protection des orchidées en France aux échelles nationale et régionale	73
Machon N., Bardin P. – Exemple de populations de <i>Spiranthes spiralis</i>, déplacées puis replacées sur l'aqueduc de la Vanne avec constitution d'une population de sauvegarde	74
Chaumont S. – Le <i>Liparis</i> de Loesel var. <i>ovata</i>, <i>Liparis loeselii</i> var. <i>ovata</i> (L.) L.C.M Rich, dans le site du Conservatoire du littoral, les dunes de Keremma en Tréfléz. Bilan de neuf années de gestion et de suivi (2005-2013)	79

Recherches soutenues par la Société botanique de France et la Société française d'orchidophilie

Roy M., Nagati M., Thomas W., Gareil R., Claessens O., Léotard G., Sambin A., Ravet E., Tostain O. – Diversité phylogénétique des orchidées en Guyane Française	99
Schatz B., Leseur A., Fonderflick J., Till-Bottraud I., Gattus J.C., Nicolè F. – Conservation du Sabot de Vénus en France : bilan et préconisation	119
Prat D., Brown S.C., Gévaudan A. – Evolution des Neottieae, apport de la cytométrie en flux	125

Conférences grand public

Claessens J., Kleynen J. – La pollinisation des orchidées européennes : une affaire de ruse et de tromperie	134
Le Roy M. – La culture semi-hydroponique (S/H) des orchidées	136
Sélosse M.A. – Ces champignons qui aident les orchidées, de la germination à la floraison	137
Lafarge D. – Phalaenopsis : des orchidées méconnues ?	138

Affiches

Besse P., Atuahiva T., Bourge M., Brown S.C., Dasilva D., Dijoux J.B., Dron M., Fock-Bastide I., Gigant R., Gigord L., Grisoni M., Jade K., Kodja H., Lepers-Andrzejewski S., Magnin H., M'Sa T., Pailler T., Palama T., Péliissier C., Robin O., Siljak-Yakovlev S., Silvestre D., Ufa R., Viscardi G. – Caractérisation, protection, usage durable et valorisation de la biodiversité de <i>Vanilla</i> en zone tropicale de l'Europe (VaBiome)	142
Brown S.C., Maunoury N., Bourge M., Bianchi M., Lepers-Andrzejewski S., Siljak-Yakovlev S., Dron M. – Stricte endoréplication partielle au cours du développement des orchidées	144
Cakova V., Wehrung P., Bonté F., Lobstein A. – Capacité d'adaptation des orchidées à différents biotopes : exemple de <i>Vanda coerulea</i>	146
Navas C.I., Telepova M. – L'<i>Oncidium ornithorhynchum</i> (H.B.K.) : étude des cahiers de terrains de Bonpland et expertise micro-morphologique des fleurs	152
Prat D., Ciminera M., Gévaudan A. – Hybridations contrôlées chez quelques <i>Epipactis</i>	157
Prat D., Brown S.C., Gévaudan A. – Variations de la taille du génome au sein du genre <i>Epipactis</i>	159
Siljak-Yakovlev S., Lepers-Andrzejewski S., Robin O., Grisoni M., Brown S.C., Dron M., Besse P. – Caractérisation par la cytogénétique moléculaire de quelques accessions de <i>Vanilla pompona</i> : cartographie physique des séquences d'ADNr et d'hétérochromatine	160
Witté I., Touroult J., Poncet L. – Patrons de diversité des Orchidées de France ; valorisation des données d'Atlas	161

Programme du colloque : communications orales et posters	163
---	---------------------

Index des auteurs	167
--------------------------------	---------------------

Publications de la Société Française d'Orchidophilie	168
---	---------------------

Systématique, phylogénie et isolement reproducteur des sous-genres *Orchis* et *Masculae* (Orchidaceae, Orchidinae, *Orchis*)

Daniel TYTECA¹, Manon CEINOS¹, Rein BRYNS², Jean-Louis GATHOYE³ et Hans JACQUEMYN⁴

¹ Biodiversity Research Centre, Université catholique de Louvain, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgique

² Research Institute for Nature and Forest, B-1070 Brussels, Belgique

³ Département de l'Etude du Milieu naturel et agricole, Service Public de Wallonie, B-5030 Gembloux, Belgique

⁴ Laboratory of Plant Ecology, Katholieke Universiteit Leuven, B-3001 Leuven, Belgique

Abstract – Systematics, phylogeny and reproductive isolation of subgenera *Orchis* and *Masculae* (Orchidaceae, Orchidinae, *Orchis*). Several arguments show that the subgenera *Orchis* and *Masculae* are clearly segregated. In this paper recent evidence from several researches is briefly reviewed, including a discussion of arguments recently proposed by Bateman (2012). Recent evidence includes reproductive isolation as reflected in pre-zygotic and post-zygotic barriers, molecular phylogenetics, seed micromorphology, and the absence of naturally or artificially produced hybrids between the two subgenera. The paper also develops results from additional research in morphometrics. Multivariate statistical analyses show that there are more similarities between subgenus *Masculae* and genus *Anacamptis* (represented by the *A. morio* group) than between each of them and subgenus *Orchis*. Additional discussion is devoted to a comparison of the couple of (sub-) genera *Orchis* / *Androrchis* to two other analogous couples, i.e., *Anacamptis* / *Serapias* and *Dactylorhiza* / *Gymnadenia*, in the perspective of genetic compatibility, pollination biology, ecology and phenology. We conclude that, for simple coherence reasons, *Orchis* and *Androrchis* deserve to be viewed as distinct genera, as several researchers already did.

Résumé – Plusieurs arguments montrent que les sous-genres *Orchis* et *Masculae* sont nettement séparés. Dans cet article, tout en discutant notamment les arguments récemment proposés par Bateman (2012), nous passons d'abord en revue des études récentes dont les résultats vont dans ce sens. Ceux-ci incluent l'isolement reproducteur, tel qu'exprimé par des barrières prézygotiques et postzygotiques, la phylogénie moléculaire, la micromorphologie des graines, ainsi que l'inexistence d'hybrides produits naturellement ou artificiellement entre les deux sous-genres. L'article présente également les résultats de recherches complémentaires sur la morphométrie. Des analyses statistiques multivariées montrent qu'il existe davantage de similarité entre le sous-genre *Masculae* et le genre *Anacamptis* (ce dernier représenté par le groupe d'*A. morio*) qu'entre chacun d'eux et le sous-genre *Orchis*. Pour compléter la discussion, nous comparons la paire de (sous-) genres *Orchis* / *Androrchis* à deux autres paires analogues, *Anacamptis* / *Serapias* et *Dactylorhiza* / *Gymnadenia*, sur les plans de la compatibilité génétique, la biologie de la pollinisation, l'écologie et la phénologie, et concluons que pour des raisons de simple cohérence, *Orchis* et *Androrchis* méritent d'être vus comme genres distincts, comme l'ont déjà fait plusieurs chercheurs.

Mots clés : *Androrchis*, *Orchis*, Biologie reproductive, Morphométrie, Systématique

INTRODUCTION – RAPPEL HISTORIQUE

On savait depuis longtemps que le genre *Orchis*, au sens de la systématique traditionnelle (voir p.ex. Vermeulen, 1972), est

hétérogène. D'une part les nombres chromosomiques ne sont pas uniformes, certaines sections possédant $2n = 42$, et d'autres, $2n = 40$ comme nombre principalement observé; d'autre part, les espèces à l'intérieur d'une section peuvent

s'hybrider entre elles, mais pas avec les espèces des autres sections. On pouvait ainsi distinguer les sections *Platycheilae* (groupe d'*O. morio*), *Dipterocheilae* (groupe d'*O. mascula*), *Orchis* (groupe d'*O. militaris*) et *Galericulatae* (groupe d'*O. ustulata*) (Klein, 2004).

La phylogénie moléculaire a confirmé que le genre *Orchis* sensu latissimo est bien polyphylétique, et que trois groupes peuvent être dégagés, ceux d'*O. morio*, d'*O. ustulata*, et un groupe reprenant les espèces proches d'*O. mascula* et d'*O. militaris*. Pour obtenir des entités monophylétiques, les chercheurs ont rassemblé le premier groupe dans le genre élargi *Anacamptis*, le deuxième groupe dans le genre élargi *Neotinea*, tandis que le troisième groupe incluait le reliquat, dont il gardait le nom, *Orchis*, puisqu'*O. militaris* est le type du genre (Pridgeon *et al.*, 1997 ; Bateman *et al.*, 1997). Bien qu'il y eût des différences morphologiques flagrantes entre les deux sections du nouveau genre *Orchis* s.str. (celles d'*O. mascula* et d'*O. militaris*), et qu'aucun hybride incontestable n'eût jamais été observé entre représentants de ces deux sections, d'un point de vue purement phylogénétique, il n'était pas possible de scinder *Orchis* davantage, le groupe d'*O. militaris* s'avérant paraphylétique (Bateman *et al.*, 2003 ; Bateman, 2009).

Nonobstant ce dernier fait, Kretzschmar *et al.* (2007) proposèrent de décomposer le genre *Orchis* en deux sous-genres, à savoir *Orchis*, reprenant les espèces du groupe d'*O. militaris*, et *Masculae* H.Kretzschmar, Eccarius et H.Dietr., comprenant les espèces du groupe d'*O. mascula*. Les caractéristiques morphologiques les plus évidentes, permettant de distinguer ces deux groupes, sont résumées au Tableau 1. Au niveau floral, ces différences apparaissent clairement à la Figure 1. Poursuivant plus loin la réflexion, Tyteca & Klein (2008, 2009) proposèrent de séparer les deux groupes en deux genres distincts, respectivement *Orchis* au sens le plus strict et *Androrchis*. Cette proposition a reçu un accueil mitigé, d'aucuns l'acceptant sans réserve tant les arguments sont flagrants (Gamarra *et al.*, 2012 ; Foelsche & Jakely, 2009 ; voir aussi le site « Orquídeas Ibéricas »¹), mais la majorité la rejetant, sur des bases que nous allons discuter plus loin (voir notamment Scopece *et*

al., 2010 ; Bateman, 2012). Enfin, notons que Delforge (2009), qui rejette aussi la distinction entre *Orchis* et *Androrchis*, propose par contre de séparer le genre *Anacamptis* sensu Bateman et coll. en cinq genres (*Anacamptis* s.str., *Herorchis*, *Anteriorchis*, *Vermeulenina* et le nouveau genre *Paludorchis*). Le Tableau 2 résume l'évolution récente de la systématique au sein du genre *Orchis* s.l.

Les contributions les plus récentes à ce dossier concernent à nouveau des aspects moléculaires. Les résultats obtenus par Jacquemyn *et al.* (2011), Tyteca *et al.* (2012) et Inda *et al.* (2012), partant de jeux de données indépendants, et utilisant des méthodes distinctes, arrivent à mettre en évidence un groupe d'*Orchis militaris* monophylétique (voir les figures publiées dans ces articles). Tyteca *et al.* (2012) ajoutent des éléments morphométriques et biologiques (pré- et post-zygotiques), auxquels s'adjoignent ceux développés par Gamarra *et al.* (2012) sur le plan de la micro-morphologie des graines, pour appuyer l'option de deux genres distincts, *Orchis* et *Androrchis*.

Dans cet article, nous proposons de reprendre et compléter ces arguments, notamment à la lumière de ceux récemment développés par Bateman (2012) qui réfute notre argumentation. Nous montrons aussi que la distinction entre *Orchis* et *Androrchis* est parfaitement cohérente avec celle qui prévaut au sein d'autres paires de genres de la même sous-tribu des Orchidinae.

Les matériels et méthodes utilisés ont été décrits dans Tyteca *et al.* (2012).

DISCUSSION PRELIMINAIRE SUR LES ELEMENTS A PRENDRE EN COMPTE

Toute classification, au sens moderne du terme, est censée refléter les relations phylogénétiques entre entités taxonomiques. Parmi celles-ci, celles sur lesquelles nous portons notre attention dans cet article sont les espèces, genres, voire sous-genres. Nous pouvons ici nous référer aux arguments que proposent à ce sujet Bateman (2012) ainsi que Devillers & Devillers-Terschuren (p.ex. 2013).

Bateman (2012) soutient que la discussion à propos des genres est maintenant close et que la classification au niveau des genres, telle qu'établie dans le projet *Genera Orchidacearum* (Pridgeon *et al.*, 1999, *et seq.*), est déjà optimale, la discussion ne restant

¹ <http://www.orquideasibericas.info>

Tableau 1. – Comparaison morphologique entre les sous-genres *Masculae* et *Orchis* (d'après Tyteca & Klein, 2008 et Tyteca *et al.*, 2012).

Caractère	<i>Masculae</i>	<i>Orchis</i>
Feuilles	Maculées ou non maculées	Généralement non maculées (exceptionnellement maculées : <i>O. italica</i>)
Bractées	Bien développées, longues, quasi foliacées	Extrêmement réduites à quasi nulles, hyalines
Inflorescence	Plutôt lâche	Souvent dense
Sépales et pétales	Sépales latéraux dressés vers le haut ou étalés latéralement	Sépales et pétales réunis, formant un casque
Eperon	Orienté vers le haut, rarement horizontal ou descendant ; souvent long	Incurvé vers le bas, plus court que l'ovaire ou absent
Forme du labelle	Trilobé, avec un lobe médian entier ou légèrement bilobé ; bords souvent denticulés	Trilobé, avec un lobe médian clairement bilobé, souvent profondément, souvent pourvu d'un petit appendice médian (silhouette « anthropomorphique ») ; bords toujours entiers

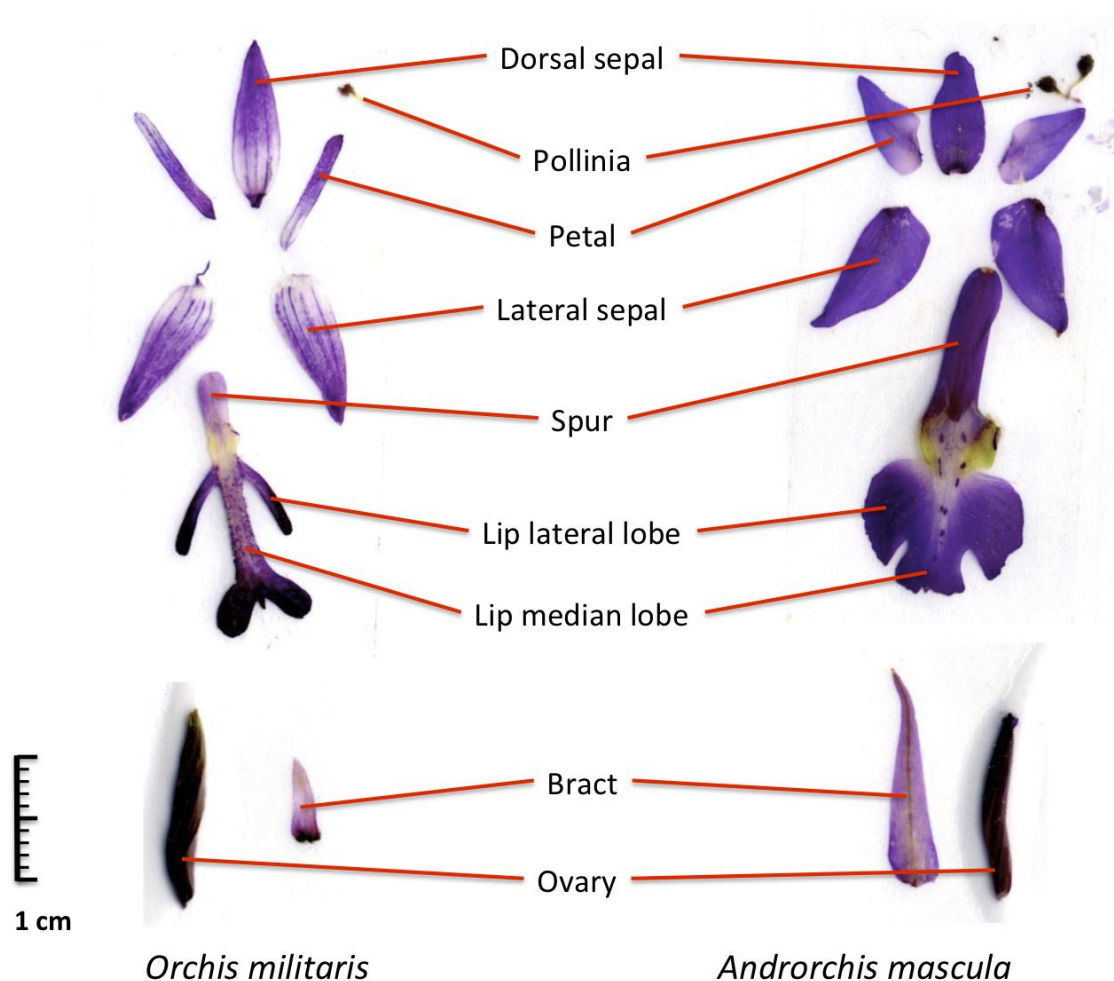


Figure 1. – Comparaison de caractères floraux entre un représentant d'*Orchis* (*O. militaris*) et un représentant d'*Androrchis* (*A. mascula*).

Tableau 2. – Vue d'ensemble des classifications du genre *Orchis* et genres proches (inspiré de Scopece *et al.*, 2010). Noter que toutes les espèces du genre ne sont pas listées.

Vermeulen, 1972		Bateman et al., 1997 ; 2003		Tyteca et Klein, 2008		Tyteca et Klein, 2009		Delforge, 2009	
Genres	Espèces induites	Genres	Esp.induites	Genres	Esp. induites	Genres	Esp. Induites	Genres	Esp. inclues
<i>Aceras</i>	<i>anthropophorum</i>	<i>Orchis</i> s. str.	<i>anthropophora</i>	<i>Orchis</i> s. ss.	<i>anthropophora</i>	<i>Orchis</i> s. str.	<i>anthropophora</i>	<i>Orchis</i> s. str.	<i>anthropophora</i>
<i>Orchis</i> s.l.	<i>simia</i> <i>militaris</i> <i>italica</i> <i>purpurea</i> <i>galilea</i> <i>punctulata</i> <i>pauciflora</i> <i>mascula</i> <i>canariensis</i> <i>pallens</i> <i>anatolica</i> <i>provincialis</i> <i>spitzelii</i> <i>quadripunctata</i> <i>coriophora</i> <i>sancta</i> <i>laxiflora</i> <i>palustris</i> <i>morio</i> <i>boryi</i> <i>longicornu</i> <i>papilionacea</i> <i>collina</i>		<i>simia</i> <i>militaris</i> <i>italica</i> <i>purpurea</i> <i>galilea</i> <i>punctulata</i> <i>pauciflora</i> <i>mascula</i> <i>canariensis</i> <i>pallens</i> <i>anatolica</i> <i>provincialis</i> <i>spitzelii</i> <i>quadripunctata</i> <i>coriophora</i> <i>sancta</i> <i>laxiflora</i> <i>palustris</i> <i>morio</i> <i>boryi</i> <i>longicornu</i> <i>papilionacea</i> <i>collina</i>	<i>Orchis</i> s. ss.	<i>simia</i> <i>militaris</i> <i>italica</i> <i>purpurea</i> <i>galilea</i> <i>punctulata</i> <i>pauciflora</i> <i>mascula</i> <i>canariensis</i> <i>pallens</i> <i>anatolica</i> <i>provincialis</i> <i>spitzelii</i> <i>quadripunctata</i> <i>coriophora</i> <i>sancta</i> <i>laxiflora</i> <i>palustris</i> <i>morio</i> <i>boryi</i> <i>longicornu</i> <i>papilionacea</i> <i>collina</i>	<i>Orchis</i> s. str.	<i>simia</i> <i>militaris</i> <i>italica</i> <i>purpurea</i> <i>galilea</i> <i>punctulata</i> <i>pauciflora</i> <i>mascula</i> <i>canariensis</i> <i>pallens</i> <i>anatolica</i> <i>provincialis</i> <i>spitzelii</i> <i>quadripunctata</i> <i>coriophora</i> <i>sancta</i> <i>laxiflora</i> <i>palustris</i> <i>morio</i> <i>boryi</i> <i>longicornu</i> <i>papilionacea</i> <i>collina</i>	<i>Orchis</i> s. str.	<i>simia</i> <i>militaris</i> <i>italica</i> <i>purpurea</i> <i>galilea</i> <i>punctulata</i> <i>pauciflora</i> <i>mascula</i> <i>canariensis</i> <i>pallens</i> <i>anatolica</i> <i>provincialis</i> <i>spitzelii</i> <i>quadripunctata</i> <i>coriophora</i> <i>sancta</i> <i>laxiflora</i> <i>palustris</i> <i>morio</i> <i>boryi</i> <i>longicornu</i> <i>papilionacea</i> <i>collina</i>
<i>Anacamptis</i>	<i>pyramidalis</i>		<i>pyramidalis</i>	<i>Anacamptis</i>	<i>pyramidalis</i>		<i>pyramidalis</i>	<i>Anacamptis</i>	<i>pyramidalis</i>
<i>Neotinea</i>	<i>maculata</i>	<i>Neotinea</i> s.l.	<i>maculata</i>	<i>Neotinea</i>	<i>maculata</i>		<i>maculata</i>	<i>Neotinea</i>	<i>maculata</i>
<i>Orchis</i> s.l.	<i>lactea</i> <i>tridentata</i> <i>ustulata</i>		<i>lactea</i> <i>tridentata</i> <i>ustulata</i>	<i>Odontorchis</i>	<i>lactea</i> <i>tridentata</i> <i>ustulata</i>		<i>lactea</i> <i>tridentata</i> <i>ustulata</i>	<i>Neotinea</i>	<i>lactea</i> <i>tridentata</i> <i>ustulata</i>

ouverte qu'au niveau spécifique. Nous croyons au contraire que la systématique reste une discipline de recherche dynamique, et que sans cesse de nouveaux arguments et de nouvelles découvertes sont susceptibles de remettre en question des conceptions bien établies, même au niveau générique. Nous croyons aussi, et avons déjà soutenu (p.ex., Tyteca & Klein, 2008), que, bien que la phylogénie moléculaire ait apporté une contribution considérable, presque sans précédent, à la compréhension des relations entre les êtres vivants et de leur évolution, elle ne doit pas être seule à être prise en compte dans les travaux systématiques. Contrairement à ce que dit Bateman (2012), nous ne privilégions pas la morphométrie par rapport à la phylogénie moléculaire, puisque nous partons justement des éléments d'information apportés par celle-ci, pour concentrer notre attention sur les taxons qui restent « proches » et dont la position systématique nous paraît rester peu claire ou insatisfaisante (en l'occurrence, les espèces du genre *Orchis* s.str.). Il est évident que nous ne remettons jamais en cause la séparation très nette entre les « nouveaux » genres *Anacamptis* et *Orchis* sensu Bateman et coll., bien que nous eussions exploité des éléments de convergence morphologique entre les groupes d'*A. morio* et d'*O. mascula*, à l'occasion d'une comparaison purement morphométrique (Tyteca *et al.*, 2012). Bien évidemment, nous n'allons jamais proposer sur cette seule base un regroupement de ces deux groupes en un genre *Orchis* archaïque.

C'est bien la prise en compte *simultanée* des arguments phylogénétiques et morphologiques que nous privilégions, et nous pouvons en cela rejoindre la position de Bateman (2012) qui indique que les propriétés « intrinsèques » (ADN, morphologie) sont à préférer par rapport aux éléments « extrinsèques », qui sont influencés par l'environnement et les relations avec les autres êtres vivants présents dans le milieu. Mais lorsque nous pouvons « contrôler » les influences environnementales, et que les populations des taxons que nous étudions, soumises à des stimulations environnementales semblables voire identiques (en l'occurrence, les pollinisateurs ou les champignons mycorhiziens), répondent de façon cohérente, ces influences sont certainement à prendre en considération dans l'élaboration des conceptions systématiques. Et de plus, la

capacité (ou l'incapacité) à former des hybrides viables n'est certainement pas une propriété extrinsèque, dès lors qu'elle s'observe dans toutes les situations de populations naturelles connues, voire même dans les expériences menées en laboratoire.

Nous préconisons donc une analyse multi-critères dans la compréhension des relations qui régissent les êtres vivants, une analyse qui tienne compte de la biologie et des réalités de terrain, et nous rallions donc volontiers à « the importance of considering the bigger picture » (Bateman, 2012).

PHYLOGENIE

Un des obstacles de taille à la séparation d'*Orchis* s.str. (sensu Bateman et coll.) en deux sous-genres, voire genres, concerne la paraphylie du sous-genre *Orchis*, observée dans de nombreux phylogrammes. Comme mentionné plus haut, celle-ci n'est pas unanime et les travaux les plus récents indiquent bien la possibilité d'obtenir un tel groupe monophylétique. Ceci soulève alors le problème de la stabilité et la robustesse des phylogrammes, comme discuté par Bateman (2012).

Se pose notamment la question du contexte dans lequel est menée l'analyse : la topologie de l'arbre phylogénétique d'un groupe donné (dans notre cas, les taxons du genre *Orchis* s.str. sensu Bateman et coll.) est sensible aux autres groupes échantillonnés et pris en compte dans l'analyse. D'après Bateman (2012), l'adoption d'un seul groupe externe (outgroup), comme c'est le cas dans l'étude de Tyteca *et al.* (2012), réduit la fiabilité de l'embranchement (« Only one outgroup species is needed to root the trees, but a larger number of outgroups is needed to test the monophyly of the ingroup » - Bateman, 2012). On peut discuter de la validité d'un tel argument, puisque le but de notre analyse n'était pas de tester la position phylogénétique du genre *Orchis* s.str., pris dans son ensemble, dans la sous-tribu des Orchidinae, mais bien de tester le caractère monophylétique du sous-genre *Orchis*, celui-ci étant dès lors l'ingroup, et les outgroups étant constitués des échantillons du sous-genre *Masculae* ainsi que de l'outgroup initial (*Traunsteinera globosa*).

Cependant, même au cas où l'argument de Bateman (2012) est fondé, les résultats obtenus par Inda *et al.* (2012) traduisent bien la

monophylie du sous-genre *Orchis*, dans un contexte où de nombreux autres genres font partie de l'analyse. D'après Mark Chase (comm. pers.), plus personne ne conteste l'originalité de ce groupe, qui forme un ensemble bien distinct du sous-genre *Masculae*, au vu des autres évidences accumulées. Cependant, le rang de sous-genre lui paraît plus approprié et ne remet pas en cause la monophylie du genre *Orchis* s.str. dans son ensemble.

Une constante observée dans les phylogrammes publiés est la singularité des deux espèces *Orchis italica* et *O. anthropophora*. Dans la majorité des arbres publiés avant 2011, ce sont eux qui entraînent la paraphylie du sous-genre *Orchis*. Dans les arbres de Jacquemyn *et al.* (2011), Inda *et al.* (2012) et Tyteca *et al.* (2012), ils rejoignent le clade du sous-genre *Orchis* et ils constituent parfois, ensemble, un sous-clade distinct de

l'ensemble des autres taxons du sous-genre. En regard de cette imprécision dans les résultats, les autres arguments dont il sera question ci-après font clairement pencher la balance vers l'adoption d'un sous-genre homogène, pas que n'ont pas hésité à franchir Kretzschmar *et al.* (2007) dans leur décision d'ériger la section des *Masculae* en sous-genre.

MORPHOMETRIE

Divers résultats d'analyses morphométriques ont été présentés par Tyteca *et al.* (2012). Nous en fournissons quelques-uns supplémentaires ci-après, en les commentant brièvement.

La Figure 2 montre une analyse en composantes principales, centrée sur les deux sous-genres *Orchis* et *Masculae* et en considérant l'ensemble des échantillons que nous avons mesurés pour ces deux sous-genres

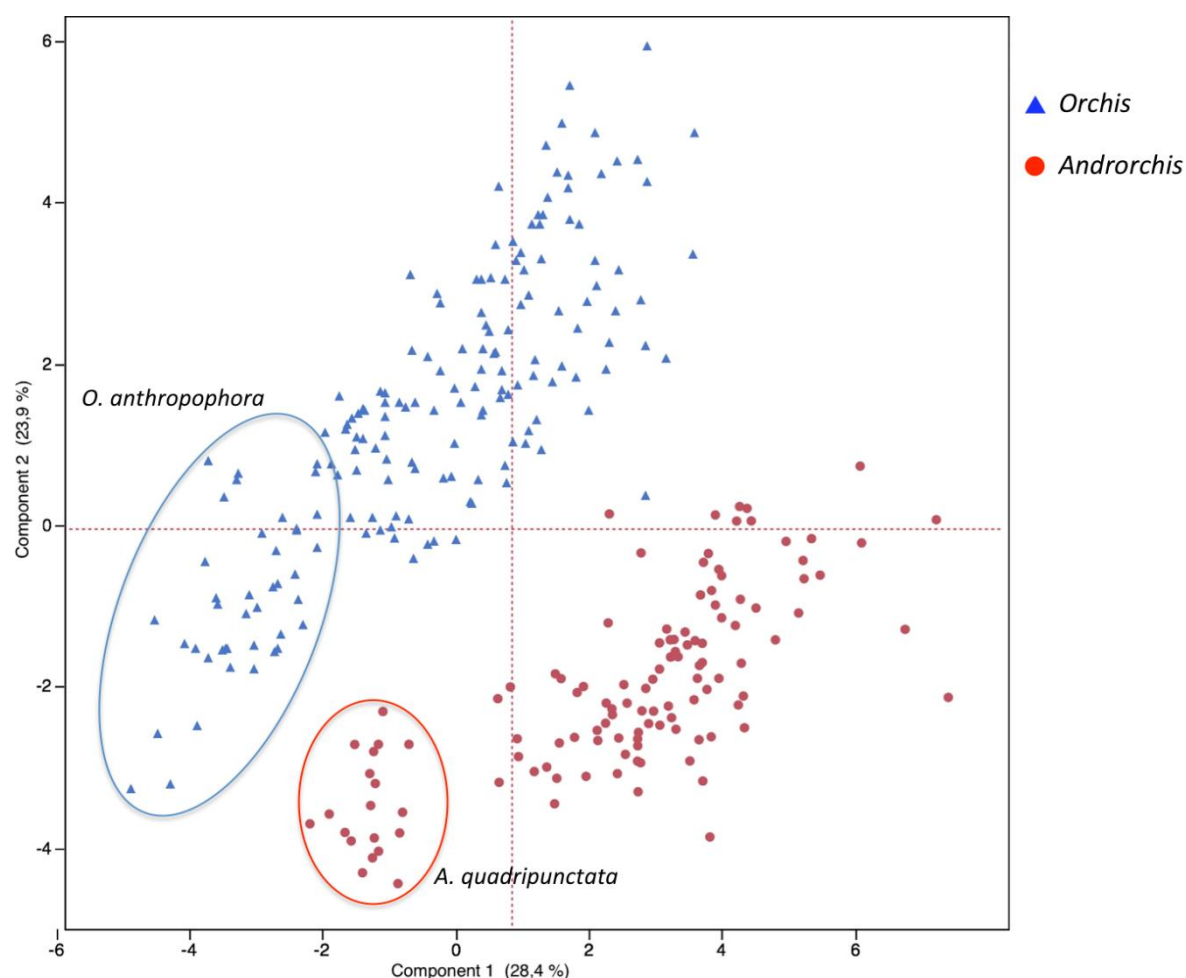


Figure 2. – Analyse en composantes principales menée sur l'ensemble des échantillons mesurés pour les deux sous-genres *Orchis* et *Masculae*.

(pour les détails des caractères mesurés et les méthodes utilisées, nous renvoyons le lecteur à Tyteca *et al.*, 2012). Cette analyse complète celle publiée dans notre article de 2012 et met clairement en évidence deux nuages de points correspondant aux deux sous-genres. Deux ensembles de points se détachent dans chacun des sous-genres, correspondant aux taxons mesurés qui présentent des caractéristiques morphologiques extrêmes : *Orchis anthropophora* pratiquement dépourvu d'éperon, et *O. (Androrchis) quadripunctata* caractérisé par des fleurs très petites. Malgré ces différences, les deux taxons sont bien proches de leurs sous-genres respectifs.

Pour deux des caractères identifiés parmi les plus discriminants, la longueur de l'éperon et la longueur du lobe médian du labelle (Tyteca *et al.*, 2012), la Figure 3 montre, si

besoin en était, à quel point les échantillons du sous-genre *Masculae* (*Androrchis*) sont plus proches des représentants du groupe d'*Anacamptis morio* que de ceux du sous-genre *Orchis*. Cette figure et d'autres résultats publiés par Tyteca *et al.* (2012) traduisent la grande proximité morphologique entre les *Masculae* et les *Anacamptis*.

Celle-ci est quelque peu tempérée par un dernier résultat, à la Figure 4, qui montre une analyse canonique discriminante, basée sur la pré-attribution des échantillons mesurés aux quinze taxons analysés dans les (sous-) genres *Orchis*, *Masculae* et *Anacamptis*. Les quinze nuages de points seregroupent bien en trois ensembles nettement distincts, correspondant aux trois (sous-) genres. La singularité des deux espèces *Orchis italica* et *O. anthropophora* transparaît clairement et

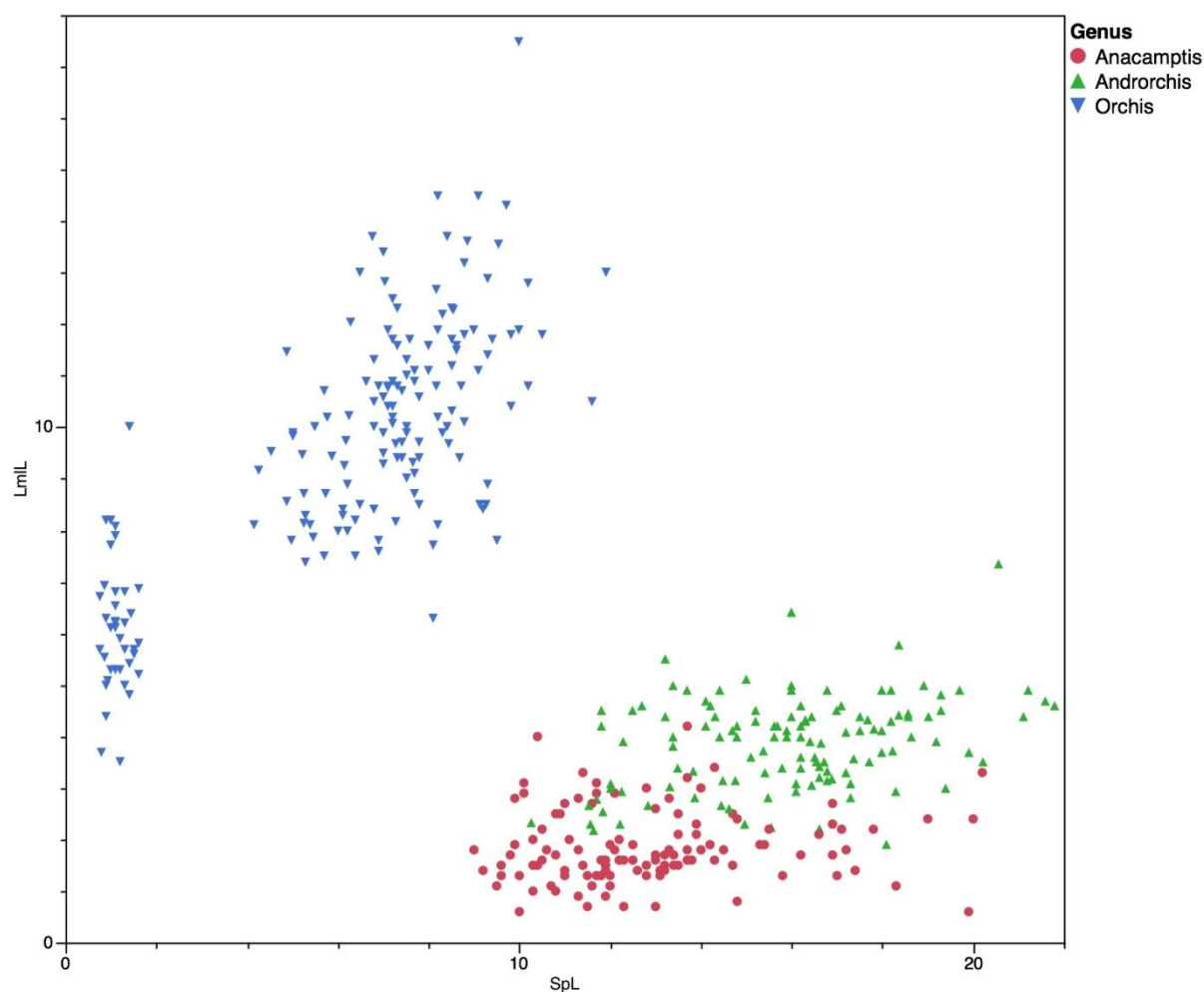


Figure 3. – Graphique bidimensionnel comparant les sous-genres *Orchis* et *Masculae* (*Androrchis*) aux représentants du genre *Anacamptis*, sur base de la longueur de l'éperon (SpL) et du lobe médian du labelle (LmL).

corrobore les résultats obtenus par l'analyse moléculaire (voir plus haut).

Il convient de souligner que l'échantillonnage des espèces est encore incomplet, principalement pour le genre *Anacamptis*, qui n'est représenté que par des taxons du groupe d'*A. morio*. A cet égard, nous sommes bien d'accord avec les commentaires de Bateman (2012), qui souligne que, d'un point de vue morphométrique, nous « enfonçons des portes ouvertes », et que la prise en compte d'autres espèces du genre, représentant les autres groupes (*A. coriophora*, *A. papilionacea*, *A. laxiflora*, *A. pyramidalis*) se serait traduite par des résultats considérablement différents. Il convient ici de souligner que notre analyse n'était pas du tout centrée sur le genre *Anacamptis* et que nous avons pris en compte les espèces pour

lesquelles nous disposions d'échantillons, celles-ci pouvant servir d'« outgroups » dans cette étude morphométrique centrée sur les sous-genres *Orchis* et *Masculae*.

MICRO-MORPHOLOGIE DES GRAINES

Bateman (2012) démonte les arguments proposés par Gamarra *et al.* (2012), que ces auteurs utilisent pour appuyer la distinction entre *Orchis* et *Androrchis* au niveau générique sur base de la micro-morphologie des graines, sous prétexte (1) qu'il y a convergence morphologique entre les *Orchis* anthropomorphiques d'une part et *Anacamptis papilionacea* et *A. collina* d'autre part, (2) que les trois sections proposées par ces auteurs au sein d'*Androrchis* présentent des graines identiques, et (3) que l'hétérogénéité micro-

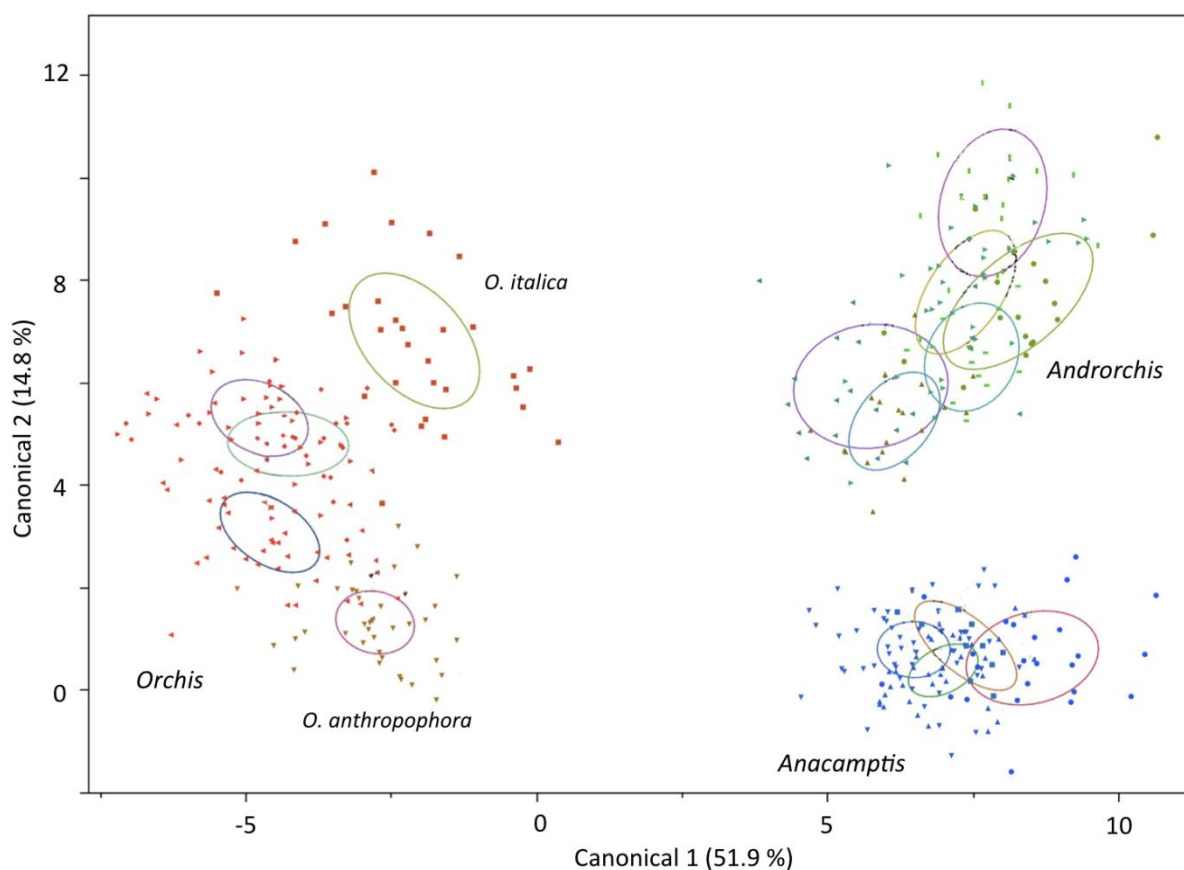


Figure 4. – Analyse canonique discriminante basée sur l'attribution des échantillons mesurés aux quinze espèces analysées dans les (sous-) genres *Orchis*, *Masculae* (*Androrchis*) et *Anacamptis*. Les ellipses incorporent 50 % des individus attribués à chaque espèce. Les espèces échantillonnées sont *Orchis italica*, *O. simia*, *O. militaris*, *O. purpurea*, *O. anthropophora* (sous-genre *Orchis*), *O. mascula*, *O. pauciflora*, *O. provincialis*, *O. langei*, *O. olbiensis*, *O. quadripunctata* (sous-genre *Masculae*), *Anacamptis morio*, *A. picta*, *A. champagneuxii* et *A. longicornu*.

morphologique au sein d'*Anacamptis* (maintenu comme genre unique) est au moins aussi grande qu'au sein d'*Orchis* s.str. qu'ils acceptent de diviser en deux genres.

Nous ne pensons pas que cet argument tienne, puisque nous savons très bien qu'il peut y avoir aussi des convergences et divergences au niveau macro-morphologique, comme nous l'avons observé dans nos analyses morphométriques, en prenant l'exemple de la convergence (relative) entre *Androrchis* et le groupe d'*Anacamptis morio*, n'empêchant pas que ces deux groupes appartiennent à des genres génétiquement et phylogénétiquement très éloignés. Les arguments micro-morphologiques, tout comme les arguments macro-morphologiques, viennent en appui d'une discussion plus globale, multi-critères, incluant d'autres arguments, et ne doivent certainement pas être considérés isolément, indépendamment de cette discussion globale.

ISOLEMENT PRE- ET POST-ZYGOTIQUE

Dans notre article de 2012 (Tyteca *et al.*, 2012), nous mettions en avant des profils de pollinisateurs significativement différents entre *Orchis* et *Androrchis*, ce que Bateman (2012) conteste – non sans une certaine raison – en avançant que la préférence marquée pour les Coléoptères chez *Orchis* est principalement le fait d'une espèce, *O. anthropophora*, les autres espèces anthropomorphes ne se distinguant pas significativement d'*Androrchis* à cet égard. La corrélation supposée exister entre la forme particulière de l'épéron (majoritairement long et ascendant chez *Androrchis*, court et descendant chez *Orchis*) et le proboscis des insectes pollinisateurs devrait encore faire l'objet de recherches, en vue d'évaluer ce caractère au rang des facteurs d'isolement pré-zygotique.

Par contre, Bateman (2012) ne dit plus grand' chose à propos de l'observation relative aux hybrides, fortement mise en exergue dans l'étude de Scopece *et al.* (2010), selon laquelle les hybrides sont fréquents entre espèces du genre *Orchis* ainsi qu'entre espèces du genre *Androrchis*, mais ne sont jamais observés entre les deux genres. La mortalité réduite des embryons provenant de croisements artificiels entre représentants des deux genres n'aboutit quand même jamais à la constitution de plantes adultes viables. Cette constatation vaut aussi

bien dans la nature qu'en conditions artificielles (Kretzschmar *et al.*, 2007). Il y a là, croyons-nous, un argument solide en faveur de la ségrégation entre deux genres distincts, comme nous allons encore le discuter plus loin.

DISCUSSION

QU'EST-CE QU'UN GENRE ?

QU'EST-CE QU'UN « SOUS-GENRE » ?

Bien qu'il soit à la base de la classification linnéenne, le concept de genre est « une notion abstraite et assez intuitive, qui était présente dans le vocabulaire courant bien avant d'être adoptée dans la terminologie scientifique des naturalistes » (Wikipedia). « En systématique, le genre est un rang [...] taxonomique qui regroupe un ensemble d'espèces ayant en commun plusieurs caractères similaires » (Wikipedia). Pour avoir une définition plus rigoureuse d'un concept aussi fondamental, nous pouvons nous référer à Stuessy (2009), qui propose trois critères permettant de définir un genre : (1) l'écart phénétique entre genres, qui doit être plus grand qu'entre espèces d'un même genre ; (2) la nature holophylétique (en l'occurrence, monophylétique) des genres ; (3) d'autres éléments d'information qui peuvent aider à améliorer la « comparaison entre taxa dans le but de la délimitation générique » (traduction libre).

En revanche, il est beaucoup plus ardu de définir ce qu'est un « sous-genre ». Un rapide examen sur le web nous fournit au mieux des définitions vagues. Voici deux perles relevées (pour ne pas trahir l'idée exprimée, nous avons préféré laisser la langue originale) :

- An occasionally used taxonomic category ranking between a genus and a species (*American Heritage® Dictionary of the English Language*, 4th Edition, 2006).
- A subordinate genus; a section or subdivision of a genus higher than a species. Since there is no fixed definition of a genus, there can be none of a subgenus; and thousands of groups in zoology formerly regarded as subgenera, or disregarded entirely, are now named and held to be genera ... In botany a subgenus is a section of a genus so strongly marked as to have plausible claims to be itself an independent genus (*Century Dictionary and Cyclopedia*, 1911).

Autrement dit, alors que le concept de sous-espèce possède des définitions assez rigoureuses, ce n'est absolument pas le cas pour le niveau de sous-genre. A notre connaissance, le Code International de Nomenclature Botanique ne propose pas de définition du sous-genre. Vouloir parler de sous-genres en lieu et place de genres, ou élever une section au rang de sous-genre, relève dès lors, à notre avis, d'un sophisme.

Des éléments d'information rassemblés et résumés dans cet article, il nous paraît assez clair que les groupes d'espèces rassemblées dans les « sous-genres » *Masculae* et *Orchis* répondent bien aux critères de Stuessy (2009) rappelés plus haut. D'une part, on observe bien l'écart phénétique, comme le montrent les caractères résumés au Tableau 1 et les analyses morphométriques réalisées. D'autre part, il fait maintenant peu de doute que chacun des deux groupes est bien monophylétique comme on l'a montré. Enfin, les éléments d'isolement, principalement post-zygotiques, rappelés plus haut, constituent des arguments solides permettant d'améliorer la délimitation générique.

Dans notre article de 2012 (Tyteca *et al.*, 2012), nous disions qu'à notre avis, l'avantage principal de reconnaître *Orchis* et *Androrchis* comme genres distincts vient du traitement homogène et cohérent des groupes d'espèces parmi les Orchidinae. Ce que Bateman (2012) conteste en disant (traduction libre) qu'

« ironiquement, c'est parce que je souscris au même but primordial d'atteindre une classification consistante au niveau du genre que je persiste à m'opposer à la ségrégation d'*Androrchis* du genre *Orchis* s.s. ». Pour terminer cet article, nous voudrions expliciter ces arguments de consistance et de cohérence qui permettent de conclure que le niveau générique est nettement préférable, en comparant la situation de la paire de genres *Orchis* – *Androrchis* à d'autres paires de genres au sein des Orchidinae. Cette comparaison est proposée au Tableau 3.

Nous ne souhaitons pas revenir ici sur la discussion, encore vive, sur la séparation des genres *Gymnadenia* et *Nigritella*, ou celle entre *Dactylorhiza* et *Coeloglossum*, voire entre *Himantoglossum*, *Barlia* et *Comperia*, qui trouvent des partisans aussi bien que des opposants, préférant nous en tenir aux deux situations de référence du Tableau 3.

Aucun orchidologue sensé ne penserait à réunir les genres *Anacamptis* et *Serapias* en un seul, alors qu'ils forment des hybrides fréquemment observés dans la nature, et ceci en dépit du fait qu'ils recourent à des stratégies d'attraction des insectes assez différentes, mais l'une n'excluant pas l'autre (un insecte leurré par l'absence de nectar peut très bien rechercher un refuge pour passer la nuit, ou se laisser berner par un leurre sexuel – puisqu'il est établi que *Serapias lingua* attire les insectes

Tableau 3. – Quelques caractéristiques permettant de comparer trois paires de genres au sein des Orchidinae.

	<i>Orchis</i> vs. <i>Androrchis</i>	<i>Anacamptis</i> vs. <i>Serapias</i>	<i>Dactylorhiza</i> vs. <i>Gymnadenia</i>
Hybrides naturels	Non connus ou extrêmement douteux	Nombreux connus	Nombreux connus
Modes d'attraction des pollinisateurs	Leurre nourricier	Leurre nourricier (quelques nectarifères) vs. Refuge nocturne (un cas de leurre sexuel)	Leurre nourricier vs. Nectarifère (quelques cas d'apomixie)
Communauté d'habitats	Très fréquente	Moyennement fréquente (dépend des groupes)	Peu fréquente (± hygrophile vs. mésophile)
Phénologie	Identique	Précoces vs. Un peu plus tardifs	± identique

par un processus semblable à celui qui caractérise les *Ophrys* – Vereecken *et al.*, 2012). Cette discrimination dans les modes d'attraction des insectes va d'ailleurs de pair avec les différences morphologiques considérables, qui de toute évidence empêchent qu'on réunisse *Anacamptis* et *Serapias* en un genre unique.

Les aspects d'isolement écologique et pré-zygotique prévalent semblablement entre les genres *Dactylorhiza* et *Gymnadenia*, puisque le premier comprend des espèces principalement hygrophiles et se caractérise par un mode d'attraction par leurre nourricier, alors que les espèces du second genre offrent du nectar et fréquentent des habitats plus secs. L'isolement écologique n'est toutefois pas absolu et ici encore, les hybrides entre espèces des deux genres sont relativement fréquents. Ici encore, l'hypothèse de la réunion des deux genres en un seul n'est pas à l'ordre du jour.

Dans une optique de cohérence, on peine alors à comprendre pourquoi *Orchis* et *Androrchis* devraient être maintenus réunis en un seul genre. Alors qu'on observe fréquemment les représentants des deux groupes dans les mêmes habitats, fleurissant aux mêmes périodes, et adoptant la même stratégie d'attraction des insectes, par leurre nourricier, les hybrides entre espèces des deux groupes n'ont jamais été observés. Ce dernier aspect est d'ailleurs rappelé par Kretzschmar *et al.* (2007), les « hybrides » parfois mentionnés dans la littérature ne résistant pas à l'analyse. Un exemple de telle mention est celle d'un croisement entre *Androrchis spitzelii* et *Orchis purpurea* (Archambault, 1985). La photo montrant cette plante représente en fait, manifestement, un *lusus* d'espèce d'*Orchis*, en l'occurrence *O. purpurea*.

CONCLUSION

Au vu de l'évidence accumulée, et particulièrement des quelques exemples que l'on vient d'évoquer, nous pensons que la séparation entre *Orchis* et *Androrchis* souffre d'un « syndrome du nom nouveau » : alors que les noms existaient depuis longtemps pour « justifier » que des genres présentant des caractéristiques communes soient maintenus séparés (*Dactylorhiza* et *Gymnadenia*, voire *Gymnadenia* et *Nigritella*, ou *Himantoglossum* et *Barlia* ...), ou expliquer que certains autres genres autrefois considérés comme distincts

aient eu « la vie dure » (*Aceras*, ...), l'acceptation du nouveau nom *Androrchis* sera plus difficile, malgré que certains, mentionnés plus haut, n'aient pas hésité à franchir le pas, très rapidement, tant l'évidence était criante.

Après tout, peut-on se dire, peu importe le nom et le rang taxonomique ; ce qui compte, c'est que nous appréhendions la réalité de groupes distincts, et surtout, que nous reconnaissons les espèces comme entités distinctes : les critères sont ici, souvent (mais pas toujours !), beaucoup plus clairs et explicites, et c'est là le principal challenge auquel Bateman (2012) nous invite : « to concentrate our research efforts on addressing a far more challenging and open-ended topic – the optimal circumscription of species ».

Références

- Archambault D. 1985. Un nouvel hybride naturel : *Orchis* x *elsarocchia*. *L'Orchidophile*, 16 : 900-901.
- Bateman R.M. 2009. Evolutionary classification of European orchids: the crucial importance of maximising explicit evidence and minimising authoritarian speculation. *J. Eur. Orch.*, 41: 243-318.
- Bateman R.M. 2012. Circumscribing genera in the European orchid flora: a subjective critique of recent contributions. *Ber. Arbeitskrs. Heim. Orchid.*, 29: 94-126.
- Bateman R.M., Hollingsworth P.M., Preston J., Yi-Bo L., Pridgeon A.M., Chase M.W. 2003. Molecular phylogenetics and evolution of *Orchidinae* and selected *Habenariinae* (*Orchidaceae*). *Bot. J. Linn. Soc.*, 142: 1-40.
- Bateman R.M., Pridgeon A.M., Chase M.W. 1997. Phylogenetics of subtribe *Orchidinae* (*Orchidoideae*, *Orchidaceae*) based on nuclear ITS sequences. 2. Infrageneric relationships and taxonomic revision to achieve monophyly of *Orchis sensu stricto*. *Lindleyana*, 12: 113-141.
- Delforge P. 2009. *Orchis* et monophylie. *Natural. belges*, 90 (*Orchid.* 22): 15-35.
- Devillers P., Devillers-Terschuren J. 2013. Orchidées et concepts modernes de l'espèce. *Natural. belges*, 94 (*Orchid.* 26): 61-74.
- Foelsche W., Jakely D. 2009. *Androrchis* x *koenighoferae*, die Hybride zwischen *Androrchis ovalis* and *Androrchis*

- pauciflora* in Istrien. *J. Eur. Orch.*, 41: 319-358.
- Gamarra R., Ortúñez E., Galán Cela P., Guadaño V. 2012. *Anacamptis* versus *Orchis* (Orchidaceae): seed micromorphology and its taxonomic significance. *Plant Syst. Evol.*, 298: 597-607.
- Inda L.A., Pimentel M., Chase M.W. 2012. Phylogenetics of tribe Orchideae (Orchidaceae: Orchidoideae) based on combined DNA matrices: inferences regarding timing of diversification and evolution of pollination syndromes. *Ann. Bot.*, 110: 71-90.
- Jacquemyn H., Merckx V., Brys R., Tyteca D., Cammue B.P.A., Honnay O., Lievens B., 2011. Analysis of network architecture reveals phylogenetic constraints on mycorrhizal specificity in the genus *Orchis* (Orchidaceae). *New Phytol.*, 192: 518-528.
- Klein E. 2004. Das intersektionale und intergenerische Hybridisierungsgeschehen in der Gattung *Orchis* (Orchidaceae – Orchidinae) und seine Relevanz für die systematische Gliederung dieser Gattung. *J. Eur. Orch.*, 36: 637-659.
- Kretzschmar H., Eccarius W., Dietrich H., 2007. The Orchid Genera *Anacamptis*, *Orchis*, *Neotinea*. Phylogeny, Taxonomy, Morphology, Biology, Distribution, Ecology and Hybridisation. EchinoMedia, Bürgel, Germany.
- Pridgeon A.M., Bateman R.M., Cox A.V., Hapeman J.R., Chase M.W. 1997. Phylogenetics of subtribe *Orchidinae* (Orchidoideae, Orchidaceae) based on nuclear ITS sequences. 1. Intergeneric relationships and polyphyly of *Orchis sensu lato*. *Lindleyana*, 12: 89-109.
- Pridgeon A.M., Cribb P.L., Chase M.W., Rasmussen F.N., eds., 1999. Genera Orchidacearum. Vol. 1. Oxford University Press, Oxford.
- Scopece G., Cozzolino S., Bateman R.M. 2010. Just what is a genus? Comparing levels of postzygotic isolation to test alternative taxonomic hypotheses in Orchidaceae subtribe Orchidinae. *Taxon*, 59: 1754-1764.
- Stuessy T.F. 2009. Plant Taxonomy - The systematic evaluation of comparative data. 2nd ed. Columbia Univ. Press, New York, Chichester, West Sussex.
- Tyteca D., Ceinos M., Gathoye J.L., Brys R., Jacquemyn H. 2012. A reappraisal of genera *Orchis* s.s. and *Androrchis* (Orchidaceae, Orchidinae). Submitted.
- Tyteca D., Klein E. 2008. Genes, morphology and biology—the systematics of Orchidinae revisited. *J. Eur. Orch.*, 40: 501-544.
- Tyteca D., Klein E. 2009. Genes, morphology and biology—The systematics of Orchidinae revisited: a reappraisal. *J. Eur. Orch.*, 41:473-480.
- Vereecken N.J., Wilson C.A., Hötling S., Schulz S., Banketov S.A., Mardulyn, P. 2012. Pre-adaptations and the evolution of pollination by sexual deception: Cope's rule of specialization revisited. *Proc. R. Soc. B*, 279: 4786-4794.
- Vermeulen P. 1972. Übersicht zur Systematik und Taxonomie der Gattung *Orchis* s. str. *Jahresberichte des Naturwissenschaftlichen Vereins in Wuppertal*, 25: 22–36.



Figure 5. – *Androrchis mascula* (à gauche) et *Orchis militaris*.
Laval-du-Tarn (Dépt. Lozère), 29 mai 2010 (photo D. Tyteca).

Diversité des orchidées de différentes zones bio-géographiques du Cambodge

Marpha TELEPOVA

Département des Jardins Botaniques et Zoologiques, Muséum national d'Histoire naturelle, 57 rue Cuvier, 75005 Paris, France

telepova@gmail.com

Abstract – Diversity of orchids in Cambodia biogeographical zones. The territorial of Cambodia has been divided on six biogeographical zones: Mt Cardamom, Marin beach, Nord Mt, Mt Ratana and Mondul, Tonle Sap and Mekong beach. Each of these regions is one predominance in species. Paper contains results of modern field botanical explorations in Cambodia during last 10 years.

Résumé – Nous avons partagé le territoire du Cambodge en six zones bio-géographiques : Montagnes de Cardamome, zone de la côte maritime, Montagnes du Nord, Montagnes de Ratanakiri et Mondulkiri, Tonlé Sap et la vallée du Mékong. Il y a une prédominance d'un cortège d'espèces dans chaque zone.

Mots-clés : Cambodge, orchidées

INTRODUCTION

Le Cambodge se trouve à coté de l'équateur, et donc la température reste toute l'année entre 23-26 °C. La diversité de son climat est reliée notamment à l'humidité à et au relief géographique, dominé par le fleuve Mékong et le Tonlé Sap. Le pays se trouve en grande partie au niveau, et même sous le niveau des fleuves. La bordure maritime de 443 km donne sur le golfe du Siam. Par contre, les trois grandes chaînes de montagnes (de l'Éléphant au sud aux Monts Cardamomes à l'ouest, la Cordillère annamitique à l'est, Monts Dangrek et le plateaux de Phnom Koulen au nord) ajoutent du contraste au relief du pays.

On a répertorié pour le Cambodge environ un demi millier d'espèces dans la famille Orchidaceae Juss.

Cependant, le territoire de ce pays a vu plusieurs changements durant le XX^{ème} siècle, et il était nécessaire de vérifier l'état actuel de la famille, qui est très menacée par le développement de l'industrie et de l'agriculture.

Ma première rencontre avec les orchidées du Cambodge (Kamputchea) a eu lieu en 2003. Depuis, les orchidées de ce pays sont devenues mon principal thème d'étude et aussi une véritable passion (Figure 1).

En 2002 j'ai côtoyé à l'herbier du Muséum National d'Histoire Naturelle en particulier, Jules Vidal, grand explorateur du Laos. Il m'a présenté à Sovanmoly Hul, qui avait pleine d'énergie pour développer les études sur la flore de Cambodge, son pays à peine sortant de la sinistre période des Khmers rouges. À cette époque, la zone autorisée pour les récoltes botaniques était limitée à 5 mètres de la route. Des contacts avec les enseignants locaux ont été pris, entre autres, à l'Université Royale de Phnom-Penh (RUPP).

Les provinces les plus étudiées étaient celles de la côte maritime du sud-est (Koh Kong, Kampot et Sihanoukville). Donc, nous avons commencé notre exploration botanique par la province de Kampong Speu.

PLATEAU DE KIRIROM, PROVINCE DE KAMPONG SPEU

Forêts de plaine

Notre exploration avec nos partenaires cambodgiens a commencé par une sortie dans les forêts de plaine sur le plateau de Kirirom, à une altitude de 385 mètres. Les pentes abruptes de ce plateau sont incisées par les cours d'eau sur plusieurs côtés. Au col de Pich Nil, le relief est déjà bien marqué (coordonnées géographiques : 11° 16' N, 104° 5' E). A partir de la descente en direction d'une chute d'eau,



Figure 1. – Carte des sites prospectés au Cambodge.’

la vallée est couverte de forêt claire, riche d’arbres sempervirents de la famille des Dipterocarpacees (Ordre des Malvales) et ensuite, on a pu voir les orchidées.

L’orchidée terrestre la plus typique est ici *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr, qui est souvent domestiquée sous les tropiques. Sa culture est même considérée comme facile, alors qu’en serre elle est impossible. De ce fait, son cycle de vie a été peu étudié. C’était tout à fait étrange pour moi de voir ces bulbes de couleur vert-vif sous la terre.

Sur une quarantaine d’individus d’*Arundina* observés, je n’ai pas pu photographier une seule fleur intacte, car leurs pétales et sépales blancs étaient partiellement dévorés, ayant attiré des insectes pollinisateurs très gourmands. Mais ces mêmes insectes finissaient dans les pièges des plantes

carnivores (*Nepenthes* sp.) poussant à proximité. La Nature ne fait rien par hasard...

Nous avons vu de nombreuses épiphytes sur le tronc des Dipterocarpacees, comme de petites fougères (*Pyrrosia lanceolata*) et des plantes vasculaires, telles *Hoya multiflora* et *Dischidia* sp., toutes deux de la famille des Asclepiadacees. Dans cette forêt, la plupart des orchidées étaient épiphytes : *Bulbophyllum lobbii*, *Dendrobium amabile*, *D. crumenatum*, *D. ellipsophyllum*, *D. hercoglossum*, etc.). Sur les branches d’arbres et les lianes, poussaient des beaux spécimens, mais souvent très haut perchés, dont, *Acampe hulae* Telepova (Telepova, 2009). Une belle rencontre ? Oui, mais quelle déception de voir les épiphytes si loin, sauf dans les rares cas où une branche était tombée au sol avec un petit bout de plante.

Les cannes de *Dendrobium* étaient de taille moyenne, elles portaient entre 10 et 30 entrenœuds ; à cette période de l'année (début novembre) leurs feuilles étaient quasi absentes. Par contre, c'était le bon moment pour observer les fruits d'orchidées. Sous les tropiques, la plupart de ces fruits mûrissent pendant les mois secs. On a pu heureusement cultiver ces plantes dans les serres du Muséum (grâce à l'obtention d'un certificat CITES) et j'ai pu observer la floraison de toutes ces orchidées un an plus tard.

Forêt de montagne

Dans la forêt de montagne (300-500 m d'alt.) peuplée de *Pinus merkusii*, un conifère rare au Sud de l'Equateur, nous avons pu observer quelques orchidées épiphytes aux pseudobulbes striés : *D. bellatum*, *Dendrobium loddigesii* (Figure 2) et *D. lomatochilum* ; certaines d'elles étaient en fruits.

Cette première sortie au Kirirom était, en partie sur les traces de Loureiro, l'explorateur de l'Indochine, qui décrit ici en 1790 les orchidées de 7 genres, dont, *Aerides odorata* Lour., *Ceraia simplicissima* Lour. (nom actuel : *Dendrobium crumenatum* Swartz), *Callista amabilis* Lour. (nom actuel : *Dendrobium amabile* O'Brien), *Renanthera coccinea* Lour., *Thrixspermum centipeda* Lour.

Nous avons également récolté une espèce du genre *Thrixspermum* Lour., *Thrixspermum centipeda* Lour. qui a un port tortueux et des racines plus ou moins contractiles, permettant à la plante de bouger, de s'aérer, dans cette ambiance très humide. Ses inflorescences en zigzag sont aplaties avec des fleurs de couleur blanche translucide, de durée très éphémère (quelques heures). Les photographies étaient difficiles à prendre, car ces fleurs sont luminescentes.

Cymbidium. atropurpureum est généralement une plante terrestre ou lithophyte, qui pousse sur des parois rocheuses verticales, mais ici elle pousse comme épiphyte parmi d'autres espèces : *Cymbidium finlaysonianum* Lindl. (Hul, Telepova, Yok 1312), *Dendrobium crumenatum*.

Il me reste néanmoins quelques remarques utiles dans mon premier carnet de terrain au Cambodge : «Les orchidées poussent souvent sur les fougères et pas directement sur les branches d'arbre» (Figure 3).



Figure 2. – *Dendrobium loddigesii* Rolfe.

CONCLUSIONS

1. En visitant 20 des 24 provinces du Cambodge j'ai pu voir des différences dans la flore des orchidées, correspondant aux changements climatiques et géographiques. Par exemple, sur l'île de Koh Rong Samloem (province de Sihanoukville) j'ai trouvé les espèces endémiques, comme : *Abdominea*



Figure 3. – *Bulbophyllum macrantum* Lindl. sur le rhizome de la fougère *Drynaria quercifolia*.

minimiflora et *Claderia viridiflora*, mais aussi les espèces miniatures et fragiles, comme : *Bulbophyllum sessile* (Koen.) J.J. Sm. ou *Porpax meirax* (Parish & Rchb. f.) King & Pantl.

2. Dans un premier temps, nous avons dû estimé un pourcentage d'orchidées pour la flore de chaque zone décrite : Mt Cardamome (30%), Côte maritime (25%), Monts du Nord (14%), Monts de la Cordillère annamitique (15%), Tonlé Sap (11%), zone de la vallée du Mékong (5%).

3. Durant 10 ans on a décrit pour la flore du Cambodge environ 50 nouvelles espèces, dont 3 nouveaux taxons (Telepova-Textier, 2009, 2013). Ils sont listés ci-dessous par ordre alphabétique.

Nouvelles* et rares orchidées du Cambodge

- **Abdominea minimiflora* (Hook.) J.J. Sm.
2009 Koh Rong Samloem Hul, Peou, Telepova 4065
- **Acampe hulae* Telepova
2003 Kirirom Hul, Telepova, Yok 1243
- **Aerides crassifolia* Par. & Rchb.f.
2012 Aoral Telepova & Maisak 961
- Appendicula hexandra* Bl.
2003 Bokor Hul, Telepova, Yok 1253
2009 Koh Rong Saloen Hul, Peou, Telepova M. 4328
2012 Aoral Telepova & Maisak 953
- **Bulbophyllum blepharistes* Rchb. f.
2005 Aoral Hul et al. 1308
2012 Aoral Telepova & Maisak 961
2013 Ratanakiri Telepova, Houttekiet, Ping 1279
- **B. clandestinum* Lindl.
2009 Koh Rong Samloem Hul, Peou, Telepova 4334
- **B. macranthum* Lindl.
2009 Koh Rong Samloem Hul, Peou, Telepova 4223
- **B. orientale* Seidenf.
2012 Koh Rong Samloem Telepova & Maisak 1290
- **B. putii* Seidenf.
2012 Koh Rong Samloem Telepova & Maisak 12
- **B. violaceolabellum* Seidenf.
2012 Koh Rong Samloem Telepova & Maisak 12
- Calanthe lyroglossa* Rchb. f.
2009 Thma Bang Hul, Ly, Telepova
- C. vestita* (Lindl.) Wall.

- 2013 Bokor Telepova, Averyanova, Ly 1227
- **Claderia viridiflora*
2009 Koh Rong Samloem Hul, Peou, Telepova 4322
- **Ceratostylis subulata* Bl.
2008 Bokor Telepova & Chavard 301
- **Cleisostoma racemiferum* Bl.
2010 Kirirom Telepova, Larpin & Jancloes 807
- C. subulatum* Bl.
2009 Koh Rong Samloem Hul, Peou, Telepova 4331
- Dendrobium acinaciforme* Roxb.
2012 Bokor Telepova & Maisak 909
- **D. christyanum* Rchb.f.
2013 Ratanakiri Telepova, Houttekiet, Ping 1270
- **D. cuspidatum* Lindl.
2003 Koh Rong Samloem Hul, Peou, Telepova 4337
- D. delacourii* Guill.
2009 Preah Vihear Jancloes
- D. exile* Schltr.
2009 Koh Rong Samloem Hul, Peou, Telepova 4334
- **D. findlayanum* Par. & Rchb.f.
2008 Phnom Koulen Telepova & Chavard 297
- **D. hercoglossum* Rchb.f.
2003 Kirirom Hul, Telepova, Yok 1227
- **D. indivisum* (Bl.) Miq.
2003 Kirirom Hul, Telepova, Yok 1225
2012 Aoral Telepova & Maisak 953
- **D. kentrophyllum* Hook.f.
2012 Aoral Telepova & Maisak 955
- D. leonis* Rchb.f.
2009 Preah Vihear Hul, Peou, Telepova
2012 Aoral Telepova & Maisak 952
- **D. lomatochilum* Seidenf.
2003 Bokor Hul, Telepova, Yok 1288
- D. metrium* Kraenzl.
2009 Preah Vihear Hul, Peou, Telepova 1226
- **D. schrautii* Schildl.
2004 Aoral Hul et al. 1491
- **D. trigonopus* Lindl.
2003 Bokor Hul, Telepova, Yok 1283
2012 Koh Rong Samloem Telepova & Maisak 1030
- **D. unicum* Seidenf.
2013 Ratanakiri Telepova, Houttekiet, Ping 1269
- **Dipodium paludosum* (Griff.) Rchb. f.
2004 Aoral Hul et al. 1256

- **Doritis boubetii* Telepova
2009 Phnom Koulen Hul, Lim, Peou,
Telepova & Tardieux 4348
2010 Kirirum Telepova, Larpin, Jancloes
813
- **D. pulcherrima* f. *cinnabarina* Telepova
2011 Koh Rong Samloem Telepova 1018
- **Eria biflora* Griff.
2008 Bokor Telepova & Chavard 319
- **E. muscicola* Lindl.
2012 Aoral Telepova & Maisak
- **Habenaria medioflexa* Turr.
2013 Ratanakiri Telepova, Houttekiet,
Ping 1269
- **H. radiata* (Thunb.) Spreng.
2013 Phnom Koulen Telepova,
Averyanova & Sok 1130
- **Luisia teretifolia* Gaudich.
2012 Aoral Telepova & Maisak
- **L. thailandica* Seidenf.
2013 Ratanakiri Telepova, Houttekiet,
Ping 1253
- **Macropodanthus alatus* (Holtt.) Seidenf. &
Garay
2009 Koh Rong Samloem Hul, Peou,
Telepova 599
- **Nervilla aragoana* (Gaugich.)
2013 Phnom Koulen Telepova,
Averyanova, Sok 1105
- **Oberonia brachyphylla* Blatt. & McCann
2012 Aoral Telepova & Maisak 1068
- **Oberonia rufilabris* Lindl.
2013 Ratanakiri Telepova, Houttekiet,
Ping 127
- **Ornithochilus difforme* Lindl.
2013 Pursat, Veal-Vong Telepova 1135
- **Pelatantheria insectifera* (Rchb. f.) Ridl.
2009 Phnom Koulen Hul, Lim, Peou,
Telepova 4018
2012 Koh Rong Samloem Telepova &
Maisak 947
- **P. bicuspidata* Lindl.
2013 Ratanakiri Telepova, Houttekiet,
Ping 1110
- **Podochilus microphyllus* Lindl.
2009 Thma Bang Hul, Ly, Telepova
4023
2012 Bokor Telepova & Maisak 937
- **Porpax meirax* (Par. & Richb.f.) King. &
Pantl.
2010 Kirirum Telepova, Larpin, Jancloes
804
2011 Koh Rong Samloem Telepova 900
2012 Aoral Telepova & Maisak 1070
- **Renanthera imschootiana* Rolfe
2008 Phnom Koulen Telepova & Chavard
295
2009 Thma Bang Hul, Ly, Telepova
4342
2012 Kbal Chhay Telepova, Maisak,
Averyanova & Ly 977
- **Robiquetia spathulata* (Bl.) J.J. Sm.
2009 Koh Rong Samloem Hul, Peou,
Telepova 4325
2012 Koh Rong Samloem Telepova &
Maisak 1027
- **Spathoglottis eburneum* Gagnep.
2009 Thma Bang Hul, Ly & Telepova
4122
- Taeniophyllum obtusum* Bl.
2011 Koh Rong Samloem Telepova &
Maisak
- **Thelasis pigmaea* (Griff.) Bl.
2009 Thma Bang Hul, Ly & Telepova
4094
- Trias cambodiana* E.A. Christenson
2014 Ratanakiri Telepova, Houttekiet,
Ping 1165
- **Trichoglottis lanceolaria* Bl.
2008 Kirirum Hul, Telepova, Yok 1230
- Trichotosia velutina* (Lodd. ex Lindl.) Kraenzl.
2008 Bokor Telepova & Chavard 308
- Vanilla pierrei* Gagnep.
2012 Kbal Chhay Telepova, Maisak,
Averyanova & Ly 985
- **Zeuxine flava* (Wall. ex Lindl.) Benth. ex
Hook
2009 Thma Bang Hul, Ly & Telepova
4102

Remerciements

Je tiens à remercier le personnel des Herbiers et des Jardins botaniques de Berlin Dalem, Genève, Lyon, Paris, Phnom-Penh, Saint-Petersbourg et Singapore pour leur hospitalité au cours de mes visites.

Références

- Telepova-Texier M. 2009. *Acampe hulae* Telepova (Orchidaceae), une nouvelle espèce du Cambodge et du Laos. *Adansonia*, 31: 267-273.
- Telepova-Texier M. 2013. *Doritis boubetii* Telepova sp. nov. et *Doritis pulcherrima* f. *cinnabarina* Telepova f. nov., deux nouveaux taxons lithophytes du Cambodge. Rhône-Alpes Orchidées 03/2013; 50:6-15.

Apparitions et disparitions départementales des orchidées en France

Hélène VOGT¹, François MUNOZ², Franck RICHARD¹ et Bertrand SCHATZ¹

¹ Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

² UM2 - UMR AMAP, Bd de la Lironde, TA A-51 / PS2, 34398 Montpellier cedex 5, France

Abstract – Orchid appearances and disappearances in French administrative departments.

Information provided by the the second edition of the book entitled "Orchidées de France, Belgique et Luxembourg" allowed us to perform an analysis at the departmental level for appearances and disappearances of orchid species. The number of species shows a Northwest / Southeast gradient along which this number is multiplied by more than 5. Observed species appearances have a similar distribution to that presence gradient. But the comparison between the observed disappearances and those expected in a random distribution of the total observed number of disappearances revealed a severe conservation concern in the north of France. We also present some answers about the causes of these disappearances localized, which constitute a barrier to the potential rise to the north of species as a result of climate change.

Résumé – Les informations de la seconde édition du livre intitulé 'Les orchidées de France, de Belgique et du Luxembourg' nous ont permis de réaliser une analyse au niveau départemental des apparitions et des disparitions d'espèces d'orchidées. Le nombre départemental d'espèces montre un gradient Nord-Ouest / Sud-Est le long duquel ce nombre est multiplié par plus de 5. Les apparitions observées d'espèces ont une distribution similaire à ce gradient de présence. Mais la comparaison entre les disparitions observées et celles attendues selon une répartition aléatoire du nombre total observé de disparitions a révélé un important problème de conservation dans le nord de la France. Nous présenterons aussi des éléments de réponse concernant les causes de ces disparitions localisées, qui constituent une barrière à la remontée potentielle vers le nord des espèces sous l'effet des changements climatiques.

Agir pour le *Liparis de Loesel* : le Plan National d'Actions

Bertille VALENTIN

Conservatoire botanique national de Bailleul, Hameau de Haendries, 59270 Bailleul, France

Abstract – Act on fen orchid: the National Plan of Actions. *Liparis loeselii* is part of the prestigious Orchid family. It is beholden to wetlands threatened habitats. Its populations are still relatively abundant but it declines in the whole Europe. Its conservation is therefore a "real challenge" to our ability to save our natural heritage. The National Plan of Actions for the *Liparis* of Loesel was launched by the French ministry of environment at the end of 2008. Its development and animation was entrusted to the Conservatoire botanique national de Bailleul under the coordination of DREAL Nord-Pas-de-Calais. The plan aims to be a strategical and technical tool to ensure this species the best possible level of conservation on the national territory. The writing allowed an updated knowledge regarding rarefaction, biology, ecology, legislation, management which affect the species. The plan proposes a strategy of long-term preservation focused on knowledge, preservation and information. It targets priority actions. Their implementation started in 2010.

Résumé – Le *Liparis* de Loesel (*Liparis loeselii*) fait partie de la prestigieuse famille des Orchidées. Il est inféodé aux zones humides si menacées dans le monde. Ses populations sont encore relativement abondantes mais sa régression concerne l'Europe entière. Sa conservation représente donc « un réel défi » pour notre capacité à sauver notre patrimoine naturel. Le Plan national d'actions en faveur du *Liparis* de Loesel a été lancé par le MEEDDE en fin d'année 2008. Son élaboration et son animation ont été confiées au Conservatoire botanique national de Bailleul sous la coordination de la DREAL Nord-Pas-de-Calais. Ce plan national d'action se veut être un outil stratégique et technique en vue d'assurer à l'espèce le meilleur niveau de conservation possible sur le territoire national. La rédaction a permis un bilan actualisé des connaissances en matière de raréfaction, biologie, écologie, législation, gestion qui touchent l'espèce. Le plan propose une stratégie de conservation à long terme axée sur la connaissance, la conservation et l'information. Il cible des actions prioritaires dont la mise en œuvre a commencé dès 2010.

Mots-clé : *Liparis loeselii*, Conservation, Protection, Zones humides.

INTRODUCTION

On reproche souvent à la conservation de ne s'intéresser qu'à des cas désespérés pendant que d'autres espèces voient leur déclin s'amorcer sans susciter d'émotion particulière. Le *Liparis* de Loesel est une espèce dont les populations sont encore relativement abondantes. Cette orchidée possède pour l'instant un potentiel de conservation important et représente « un réel défi » pour notre capacité à sauvegarder notre patrimoine naturel. Un premier plan national consacré à cette orchidée a été rédigé en 2001 (Hendoux *et al.*, 2001) et a posé les bases, notamment en terme de synthèse des connaissances sur le *Liparis* de Loesel. Le nouveau Plan national d'actions (PNA) en faveur du *Liparis* de Loesel a été lancé par le MEEDDE en fin d'année

2008 (Valentin *et al.*, 2010). Son élaboration a été confiée au Conservatoire botanique national de Bailleul sous la coordination de la DREAL Nord-Pas-de-Calais. La rédaction du plan est réalisée dans le cadre d'un cahier des charges élaboré en 2006 par la Direction de la Nature et des Paysages. Au cours de son élaboration, le plan est examiné et validé lors de comités de suivi.

Ce plan national se veut être un outil stratégique et technique en vue d'assurer à l'espèce le meilleur niveau de conservation possible sur le territoire national. Le document est articulé en trois phases : 1) synthèse des connaissances : exigences biologiques et écologiques propres à l'espèce, causes du déclin et bilan des actions menées jusqu'à présent 2) besoins et enjeux de la conservation de l'espèce et proposition d'une stratégie à

long terme 3) actions de conservation à mener (en terme d'étude, de protection, de communication) et modalités de mise en œuvre.

BILAN SUCCINCT DES CONNAISSANCES

Le *Liparis* est une orchidée de 5 à 25 cm de haut, hémicryptophyte, à pseudobulbe. Plante entièrement de couleur vert-jaunâtre luisant. Elle est munies de 2 feuilles presque opposées, luisantes, ovales à lancéolées, naissant à la base. L'inflorescence est une grappe lâche de 2 à 18 petites fleurs. Deux variétés se distinguent essentiellement par leur rapport foliaire.

Elle est autogame et peut-être allogame bien que cela ne soit pas prouvé. Au sein d'une même population, le phénomène d'éclipse (variation importante des effectifs apparents d'une année à l'autre) est mentionné fréquemment pour le *Liparis* de Loesel. Il dépend de facteurs encore mal appréhendés qui peuvent être climatiques, biotiques, voire biologiques.



Le *Liparis* de Loesel se rencontre en Europe, au nord-est du continent américain et en Asie. En Amérique du Nord, il est surtout présent au Canada et dans la région des Grands Lacs, aux Etats-Unis. En Europe, sa

distribution s'étend de la chaîne alpine jusqu'aux Carpates et des Iles Britanniques à la Russie. En Asie, il pénètre jusqu'en Sibérie occidentale. Son aire principale est cependant centrée sur les Alpes et l'Europe médiane. C'est la seule des 300 espèces du genre *Liparis* qui soit présente en Europe, et qui ait une aire aussi boréale.

En France, le *Liparis* de Loesel est connu actuellement de 12 régions (Carte 1 : Nord/Pas-de-Calais, Picardie, Haute-Normandie, Basse-Normandie, Bretagne, Champagne-Ardenne, Lorraine, Franche-Comté, Rhône-Alpes, Provence-Alpes-Côte-d'azur, Poitou-Charente et Corse) mais si l'on considère les données historiques, le chiffre s'élève à 18 (disparition des régions Aquitaine, Bourgogne, Ile de France, Pays de Loire, Alsace et Centre). Historiquement, le *Liparis* de Loesel a été signalé dans 22 départements dont il a disparu et il est actuellement présent dans 20 départements. La répartition française potentielle de l'espèce est donc très large. L'amplitude altitudinale française s'étend de 0 à 1050 mètres.



Carte 1. – 12 régions françaises accueillent encore le *Liparis* de Loesel.

L'espèce est protégée en France, inscrite à l'annexe II de la Directive européenne du 21 mai 1992 relative à la protection des habitats, de la faune et de la flore sauvage, inscrite à l'annexe I de la Convention de Berne de 1979 qui a pour but d'assurer la conservation de la vie sauvage et du milieu naturel de l'Europe et inscrite à la convention C.I.T.E.S de 1973 qui régle le commerce international des espèces

de faune et de flore sauvages menacées d'extinction). Elle est protégée dans plusieurs pays européens, et également dans certains états des USA (Virginie...).

Partout ou presque, l'espèce est menacée. Dans de nombreux pays, les populations de *Liparis loeselii* sont peu nombreuses, isolées, et d'effectif faible. L'espèce est jugée vulnérable en France selon les critères de cotations de l'UICN : réductions des effectifs et de la zone d'occurrence > à 30 % et populations < 10 000 individus matures présentant un déclin continu (Feldmann & Prat, 2009 ; Feldmann, 2010).

En France lors de l'évaluation nationale de 2012 des espèces de la directive habitats faune-flore, l'état de conservation de l'espèce a été jugé "défavorable mauvais" sur les territoires géographiques continental et atlantique. Il est "défavorable inadéquat" sur les territoires méditerranéen et alpin. L'évaluation réalisée par les pays européens en 2007 avait abouti à un état de conservation jugé "inadéquat" ou "mauvais" dans toutes les régions géographiques où il est présent (<http://biodiversity.eionet.europa.eu>).

DE LA MER A LA MONTAGNE...

Le *Liparis* de Loesel se rencontre dans des paysages très différents, de la mer à la moyenne montagne. Sur le littoral, bien que les massifs dunaires soient largement dominants, les situations estuariennes peuvent aussi accueillir l'espèce. À l'intérieur des terres, les populations du *Liparis* de Loesel se situent en vallée tourbeuse ou dans des marais de plaine tourbeuse. Il occupe des sols humides pauvres en nutriments, presque toujours neutres ou basiques (à l'exception de la population corse située en tourbière acide). Le substrat peut être tourbeux ou sableux. Une unique station se développe sur argile. Ces sols présentent toujours une réserve en eau importante et facilement mobilisable. D'une manière générale, le *Liparis* de Loesel, est une pionnière qui trouve son optimum dans des végétations herbacées dont la structure est relativement ouverte.

Une espèce en danger...

Il existe un peu plus de 120 populations essentiellement présentes en région Nord-Pas-de-Calais, Rhône-Alpes, Bretagne et Franche-Comté.

Pour 63 % des populations, le nombre maximal d'individus observé au cours des dernières années est inférieur à 100 (Figure 1).

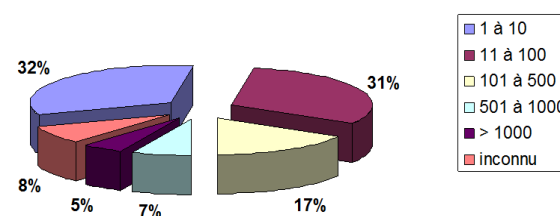


Figure 1. – Répartition des classes d'effectifs des populations de *Liparis loeselii* (après 2000).

Parmi elles, la moitié comptent 10 ou moins de 10 pieds ! Moins de 10 populations de plus de 1000 individus sont répertoriées. Quelques précautions sont à prendre concernant ces effectifs car le *Liparis* de Loesel est une petite orchidée très discrète, toujours difficile à repérer dans les grandes herbes d'un marais par exemple, même lorsqu'elle est en fleurs ou en fruits et parce que les comptages ne prennent pas toujours en compte tous les stades phénologiques. Ainsi, certains suivis ne comptabilisent que les pieds fleuris alors que d'autres totalisent l'ensemble de la population (pieds juvéniles, pieds adultes végétatifs, pieds fleuris). De plus, les effectifs varient de façon importante au cours du temps.

La petite taille des populations rend l'espèce d'autant plus sensible devant les menaces de régression.

Ainsi, en absence de perturbations naturelles, ou sans intervention de l'homme, l'évolution spontanée tend vers la fermeture de la végétation. Le développement des grandes herbes sociales (*Phragmites australis*, *Cladium mariscus*, *Molinia caerulea*, *Juncus subnodulosus*, *Juncus maritimus*, *Bolboschoenus maritimus*...) et des arbustes (*Salix* sp., *Hippophae rhamnoides*, *Frangula dodonei*, *Ligustrum vulgare*) condamne le *Liparis*.

Le drainage, les pompes, les remblaiements, l'aménagement du littoral, l'eutrophisation, la colonisation par les espèces envahissantes sont d'autres menaces qui pèsent sur le *Liparis*.

QUELLE PROTECTION, QUELS MODES DE GESTION ?

Parmi les sites naturels accueillant le Liparis (Figure 2) :

53% bénéficient d'un statut de protection réglementaire (Arrêté préfectoral de protection de biotope, Réserve Naturelle Nationale, etc.)

63% bénéficient d'une maîtrise foncière (propriété du Conservatoire du Littoral, des Conservatoires d'espaces naturels, etc.)

78 % bénéficient de contrats de gestion [généralement entre d'une part un propriétaire privé ou une commune et d'autre part un gestionnaire d'espace naturel (ONF, CREN...)].

82% bénéficient de l'intégration dans le réseau Natura 2000.

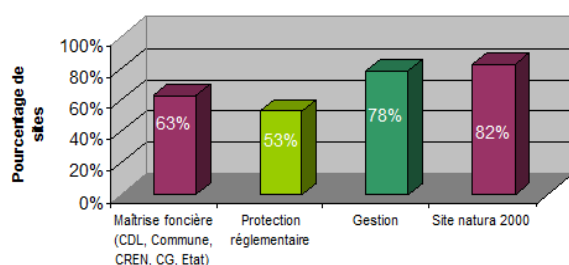


Figure 2. – Pourcentage de populations bénéficiant d'une mesure de préservation.

Le Liparis de Loesel est une espèce pionnière liée à la persistance de milieux humides relativement ouverts. Actuellement, les possibilités de création spontanée de milieux ouverts sont limitées et on assiste plutôt à une tendance généralisée des biotopes à se fermer (abandon de pratiques pastorales, fixation volontaire du milieu littoral, etc.).

Pour maintenir une végétation basse et clairsemée la fauche est indiquée. Elle est pratiquée 1 fois par an ou tous les 2 ou 3 ans. La fauche tardive (septembre-octobre) est conseillée pour que le Liparis puisse finir son cycle.

Le débroussaillage ou l'étrépage peuvent être pratiqués si besoin pour ouvrir plus fortement le milieu.

Le pâturage extensif peut également permettre d'obtenir de bons résultats. C'est le cas à Pagny-sur-Meuse (55), où l'action de chevaux Konik Polski entretient l'ouverture de la végétation. La population de Liparis est passée de 2 pieds en 1992 à 1800 pieds en

2003 (Richard, 2010). Le pâturage est très utile pour la gestion de milieux en voie de fermeture ou déjà fermés, notamment quand ces milieux occupent de vastes superficies ou qu'ils sont inaccessibles à des engins de type agricole.

La restauration hydraulique d'un site (bouchage de drains par exemple) peut s'avérer nécessaire également.

BESOINS, ENJEUX ET ACTIONS DE CONSERVATION

Le bilan réalisé sur l'espèce montre à l'évidence une nette raréfaction de la plante en France mais aussi en Europe au cours du 20^{ème} siècle. Toutefois, notre pays conserve un nombre très important de populations et a de ce fait une responsabilité vis-à-vis de sa conservation. L'ensemble des sujets précédemment abordés montre les acquis mais aussi les lacunes dans différents domaines qu'il convient de combler pour parfaire d'une part la connaissance de l'espèce et d'autre part la politique de conservation et les moyens à mettre en œuvre. Dans cette seconde partie, nous récapitulons selon 3 axes (connaître, conserver, informer) la stratégie de conservation à mettre en œuvre. Cela se traduit par des mesures qui touchent directement à la plante mais aussi par une action plus diffuse, plus discrète mais essentielle à long terme, au niveau de la gestion globale du territoire. La problématique de la conservation d'une espèce doit en effet s'intégrer à tous les niveaux des politiques d'aménagement et de développement mises en place à travers nos paysages, en particulier pour les zones humides, habitat spécifique du Liparis de Loesel.

Il s'agit notamment de mieux connaître les populations (taille, évolution, menaces), de mieux connaître les techniques de gestion favorables, de poursuivre les études biologiques (mode de reproduction, conservation des graines...).

Les actions de conservation *in situ* sont également ciblées. Le mode de reproduction par autogamie limite le brassage génétique. La conservation de l'espèce passe donc par le maintien de méta-population (ensemble de petites populations), impliquant d'offrir à l'espèce un maximum d'habitats disponibles pour sa propagation. Maintenir les petites populations actuelles est crucial mais ne permettra pas la sauvegarde de l'espèce à long

terme. Lever les menaces qui pèsent sur les habitats (embroussaillage, drainage, construction, etc.) apparaît donc primordial pour la conservation du *Liparis de Loesel*. Dans ce contexte, la maîtrise foncière peut être recherchée pour faciliter la mise en œuvre d'action de gestion et surtout pour maintenir ou reconquérir les niveaux et la qualité de l'eau. Que ce soit sur le littoral ou dans l'intérieur, il convient d'insister sur la nécessité d'appréhender la gestion et la protection de l'ensemble des stations de *Liparis* de manière globale et de rechercher des solutions visant à conserver des systèmes fonctionnels au plan écologique et pas seulement des stations isolées de leur contexte. Par exemple, sur le littoral, lorsque cela est possible, il faudra favoriser le retour à des milieux ouverts en permettant aux forces éoliennes et marines de s'exprimer naturellement. Il sera essentiel de prendre en compte le *Liparis* dans les politiques de l'eau. L'espèce ainsi que ses habitats constituent des critères de définition des zones humides au sens de l'arrêté ministériel du 1^{er} octobre 2009. Ils ont donc vocation à être pris en compte dans les politiques de l'eau et notamment dans les Schémas d'Aménagement et de Gestion des Eaux (SAGE). Il importe en particulier que la cartographie des zones humides des SAGE intègre l'intégralité des habitats caractéristiques de cette espèce.

Le troisième axe concerne l'information, l'aide à la gestion et la mutualisation de données. Il s'agit essentiellement de diffuser le plan d'actions auprès des financeurs potentiels et d'informer les propriétaires (Conservatoire du littoral, communes, etc.) et gestionnaires de sites abritant le *Liparis de Loesel*, pour qu'ils aient conscience de leur responsabilité concernant la conservation de l'espèce. Dans ce sens, et bien que les techniques de gestion pour ouvrir les milieux soient globalement connues, il est important de fournir aux gestionnaires, un document technique le plus complet possible, proposant une synthèse des modes de gestion les plus adaptés à l'échelle de la station et à l'échelle du système fonctionnel.

Enfin, pour mesurer l'impact de la mise en œuvre des actions de conservation sur la population nationale de *Liparis* (évolution du nombre de populations, de leur surface, de leur effectif, des menaces, des changements du mode de gestion, etc.) la création d'une base de données et d'une plateforme d'échange s'avère

nécessaire. Il s'agit de centraliser les données scientifiques et techniques déjà acquises et celles à venir. Cette plateforme doit pouvoir être complétée par les acteurs de la conservation du *Liparis* nationaux et internationaux.

Ces enjeux ont été déclinés en 23 actions de niveaux de priorité 1 à 3.

Depuis 2010, 6 déclinaisons régionales ont été rédigées (PACA, Bretagne, Rhône-Alpes, Nord-Pas-de-Calais, Champagne-Ardenne, Franche-Comté). Dans les autres régions, il n'y a pas eu rédaction de déclinaison mais des actions de suivis, de gestion ou de restauration sont programmées. Certaines actions restent cependant soumises au succès de la mobilisation de financements.



Des nouvelles populations ont été découvertes ou redécouvertes à l'occasion de prospections ciblées (Franche-Comté, Nord-Pas-de-Calais, Rhône-Alpes). D'autres ont malheureusement été confirmées comme disparues (Picardie, Rhône-Alpes, Nord-Pas de Calais, Champagne-Ardenne) même si l'habitat est parfois jugé encore potentiel ou restaurable. Dans la plupart des régions des fiches descriptives des stations ont été rédigées. Elles permettent de dresser le bilan des opérations de gestion ou des menaces qui pèsent sur les populations et de proposer des pistes d'actions à l'échelle stationnelle.

Des actions de restauration d'habitat ont d'ores et déjà été mises en œuvre dans le cadre

des déclinaisons régionales en faveur du Liparis. Le PNA a surtout eu un effet moteur pour le financement de travaux ou pour la priorisation des secteurs à restaurer.



Chantier de déboisement par un cheval au Havre.

Un recueil des travaux de gestion des habitats à Liparis de Loesel a été rédigé et sera édité au premier semestre 2014 (Bernard, 2014). Il fournit aux gestionnaires des exemples de gestion appliqués sur les milieux littoraux ou les marais intérieurs. Il sera largement diffusé.

Enfin, un protocole de suivi des populations a été proposé (Bonnet, 2012). Il s'appuie sur un protocole déjà mis en place dans le cadre du réseau de conservation Alpes-Ain. Même s'il n'est pas appliqué sur toutes les populations car parfois jugé difficile à mettre en œuvre, il permettra de définir une tendance générale d'évolution de la population au niveau national. Une base de données déjà utilisée dans le cadre du réseau de conservation Alpes-Ain (application Flore Patrimoniale), devrait évoluer pour permettre la saisie de ces suivis à l'échelle nationale.

Références

- Bernard G. (coord.) 2014. Cahier technique pour la gestion des habitats à Liparis de Loesel (*Liparis loeselii* (L.) L.C.M. Rich.). Fédération des Conservatoires d'espaces naturels / Pôle-relais tourbières, 44 p. A paraître.
- Bonnet V. 2012. Elaboration d'un programme de suivi des populations de Liparis de Loesel au niveau national. Conservatoire botanique alpin. 29 p.
- Feldmann P. & Prat D. 2009. Evaluation des risques d'extinction des orchidées de France : application de la méthode de la Liste Rouge de l'UICN au niveau national. *L'Orchidophile*, 40: 245-256.
- Feldmann P. 2010. Evaluation des risques d'extinction des orchidées de France : application de la méthode de la Liste Rouge de l'UICN au niveau national. In: *Actes du 15^e colloque national sur les orchidées*. Cahiers Société Fr. Orchid., 7: 51-58.
- Hendoux F., Aboucaya A., Bajon R., Delahaye T., Destiné B., Hoff M., Magnanon S., Petetin A., Seznec G. 2001. Plan national de conservation du Liparis de Loesel (*Liparis loeselii* (L.) L.C.M. Rich.). Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. 154 p.
- Richard P. 2010. Bilan du pâturage équin à Pagny sur Meuse. Conservatoire des Sites Lorrains – Colloque de Laon. 10 p.
- Valentin B., Toussaint B., Duhamel F., Valet J.M. 2010. Plan national d'actions en faveur du Liparis de Loesel. Conservatoire botanique national de Bailleul – Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer. 158 p.

L'écologie des orchidées au travers de l'Atlas SFO : les stratégies de reproduction et de nutrition dépendent étroitement de l'environnement

François MUNOZ¹, Hélène VOGT², Franck RICHARD² et Bertrand SCHATZ²

¹UM2 - UMR AMAP, Bd de la Lironde, TA A-51 / PS2, 34398 Montpellier cedex 5, France

²Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

Abstract – Ecology of orchids through the SFO Atlas: reproductive strategies and nutrition are closely linked to the environnement. Orchids have biological and ecological features fascinating, including the interactions they establish with insects for reproduction and fungi for nutrition. These strategies vary between species and their relationships with environmental conditions (climate, substrate quality, land use) remain unknown. We studied the variation of biological traits of orchids according to their environment in the communities sampled by the members of the SFO for the orchid Atlas of France. We get very significant results demonstrating that (i) the biological traits of orchids for nutrition and reproduction depend on the constraints of the environment; (ii) the strategies for nutrition and reproduction are not independent. These novative results highlight high potential value of population census by the SFO, and help to understand and predict the vulnerability of orchids to changes in their environment.

Résumé – Les orchidées présentent des particularités biologiques et écologiques fascinantes, notamment par les interactions qu'elles mettent en place avec les insectes pour la reproduction et avec les champignons pour la nutrition. Ces stratégies varient entre espèces et leurs liens avec les conditions de l'environnement (climat, qualité du substrat, usage des sols) restent méconnus. Nous avons étudié la variation des traits biologiques des orchidées en fonction de leur environnement dans les localités échantillonnées par les membres de la SFO pour l'Atlas des Orchidées de France. Nous obtenons des résultats très significatifs démontrant (i) que les traits biologiques des orchidées pour la nutrition et la reproduction dépendent étroitement des contraintes du milieu, (ii) que les stratégies de nutrition et de reproduction ne sont pas indépendantes. Ces résultats novateurs soulignent la grande valeur scientifique des activités de recensement méthodique des populations par la SFO, et aident à comprendre et à prédire la vulnérabilité des orchidées à des changements de leur environnement.

ORCHISAUUVAGE.fr : un projet ambitieux de science participative en appui à la connaissance et à la conservation des orchidées sauvages

Philippe FELDMANN, Sophie DAULMERIE, Alain GEVAUDAN, Olivier HIRSCHY, Jean KOENIG¹, Michel NICOLE et Daniel PRAT

Gadpro, SFO, 17 Quai de la Seine, 75019 Paris, France

Abstract – ORCHISAUUVAGE.fr: an ambitious participatory science project in support of the knowledge and conservation of wild orchids. The website Orchisauvage.fr is a collaborative website for collection and sharing of orchid records in France. It is coordinated by SFO with the main objective on conservation and knowledge. This website is unique covering the whole national territory and is open to every one. The principles of this website are usability and ergonomics, sharing records, transparency and feedback, safety and quality.

Résumé – Le site Orchisauvage.fr est un site collaboratif de collecte et de partage d'observations d'orchidées de France métropolitaine coordonné par la SFO principalement à des fins de connaissances et de conservation. Ce site ouvert à tous est unique et couvre tout le territoire métropolitain. Les principes de ce site sont convivialité et ergonomie, partage des observations, transparence et retours d'informations, sécurité et qualité.

Mots-clés : Cartographie, Conservation, Observations, Orchidées, Science participative

¹ Jean Koenig a été un promoteur actif et permanent du développement du site Orchisauvage et notamment du choix du système retenu et du développement de son cahier des charges. Il a malheureusement disparu avant de pouvoir assister à sa mise en ligne.

INTRODUCTION

La conservation des orchidées sauvages et de leur biotope nécessitent de disposer de manière continue et d'analyser des informations sur leur statut et l'évolution de leurs populations face aux changements globaux et locaux.

Grâce à l'engouement particulier des orchidophiles, le milieu associatif, représenté notamment par la Société Française d'Orchidophilie, a anciennement développé d'importantes actions scientifiques et de conservation sur cette famille de plantes emblématique. La SFO a produit et mis à disposition des ouvrages sur les orchidées, un atlas cartographique coordonné de manière originale par un réseau de cartographes départementaux. Elle est également le principal organisateur de colloques scientifiques sur les orchidées en France. Elle est en outre à l'initiative de l'évaluation nationale des risques d'extinction par l'application de la méthode de la liste rouge de l'UICN.

Toutefois, la mobilisation importante des

orchidophiles, plus de 3000 contributeurs à l'atlas sur une trentaine d'années, donnait des signes d'essoufflement pour diverses raisons, dont une certaine lassitude liée à une faible capacité de retour d'information vis-à-vis des observateurs locaux et donc de difficulté de valorisation locale pour les besoins de connaissance et de conservation.

Un projet de mobilisation participatif des compétences et volontés nationales a alors été proposé, associant facilité et rapidité d'usage grâce au développement d'outils en ligne et de partage d'informations en toute transparence, tout en veillant à ne pas faire porter de risques nouveaux aux populations d'orchidées sauvages.

METHODES

Le concept retenu est celui de BioloVision éprouvé en France, notamment par le réseau Visionature animé par la LPO, et dans divers plusieurs pays européens, d'un site de collecte et de partage de données en ligne. Sous l'appellation Orchisauvage, il permet la saisie

et le partage d'informations en ligne des observations d'orchidées faites en France continentale et en Corse.

RESULTATS ET DISCUSSION

Le site est testé en ligne depuis juillet 2013 et a été ouvert au public le 13 février 2014.

Il présente les caractéristiques suivantes :

- **Convivialité et ergonomie**

La saisie de données est simple, en quelques étapes, positionnement de l'observation par choix de la commune puis localisation sur une carte en ligne « Google » ou par saisie de coordonnées GPS, recherche facilitée des espèces et possibilité de saisir des informations sur les effectifs, les stades de développement ou toute autre information souhaitée.

- **Partage d'observations**

- Les observations saisies sont visibles pendant 15 jours à tous visiteurs et sans délais pour les contributeurs significatifs.

- Elles peuvent être utilisées éventuellement dans le cadre du mandat de la SFO pour la connaissance, le porter à connaissances et la conservation.

- **Transparence et retours d'informations**

- L'observateur décide des possibilités d'utilisation des informations par des tiers (actuellement possibilités limitées à la SFO et à ses associations fédérées régionalement).

- Des possibilités d'exports de ses données personnelles sont fournies sous différents formats dont cartographique ne nécessitant aucune connaissance particulière.

- La consultation multicritère est possible sans limite sur ses propres données et sur toutes les archives non protégées pour les observateurs ayant fourni un nombre suffisant d'observations.

- **Sécurité**

- Les restitutions sur le site se font au niveau de la commune sans localisation précise et, pour les cartes, par carré de 10 x 10 km.

- Certaines espèces sensibles ne sont pas visibles (cachées) sur tout le territoire et il est possible de masquer localement en tant que de besoin d'autres espèces

- A tout moment, chaque observateur est libre de masquer certaines de ses observations qui lui semblent sensibles.

- **Qualité**

- Un comité de validation s'assure en

informations fournies et prend contact avec les observateurs en cas d'interrogation. En cas de non validation d'une observation, elle n'apparaîtra pas sur les cartes de restitution ou les exports de données, garantissant ainsi la qualité des données.

De nombreux usages sont envisageables à partir des données partagées sur le site. Parmi ceux-ci on peut noter à titre d'exemple que le système Orchisauvage fournit aux observateurs un panel d'outils simples et visuels permettant de gérer leurs données personnelles tout en partageant leurs informations de manière libre et transparente, afin de pouvoir contribuer à la connaissance et à la conservation des orchidées et de leur milieux. Il bénéficiera plus particulièrement aux cartographes de la SFO pour poursuivre leurs travaux d'évaluation de la distribution des espèces sur le territoire en leur facilitant et automatisant la fastidieuse collecte des données. Le suivi de l'évolution des espèces servira notamment à la SFO pour réévaluer la liste rouge nationale à intervalles réguliers.

CONCLUSION

Ce site participatif de collecte et de partage va renouveler profondément le cadre des relations entre orchidophiles et notamment sur l'utilisation scientifique (ou gestion, conservation,...) de leurs observations en leur donnant un rôle direct. Le retour d'information et les possibilités de consultations multicritères, déstructurent les relations établies historiquement entre observateurs, cartographes, institutions de recherche, gestionnaires, autorités environnementales et associations dans un contexte où interviennent peu de scientifiques spécialisés en France. On s'attend à pouvoir ainsi toucher une population de naturalistes orchidophiles mais aussi de « citoyens motivés » nouvelle, peut-être plus jeune et plus habituée aux nouveaux outils numériques. De meilleures connaissances sur la distribution, la phénologie, la biologie et les menaces sont attendues avec un objectif de pouvoir développer des modules permettant de répondre aux besoins des usagers que ce soit en facilitant la collecte, un outil pour Smartphone sera disponible prochainement, mais aussi de restitution et d'utilisation et d'analyse des informations notamment pour les besoins locaux.

Diffuser la connaissance des orchidées à l'ère des réseaux sociaux

David LAFARGE

SFO, 17 Quai de la Seine, 75019 Paris, France

Abstract – Disseminate knowledge on orchids in the era of social networks. Our societies and associations have role to disseminate as widely as possible, knowledge on the family of orchids. Thus, we can expect public awareness of the risks and issues.

Résumé – Nos sociétés et associations ont pour rôle de diffuser, aussi largement que possible, des connaissances sur la famille des orchidées. Ainsi, nous pouvons espérer sensibiliser le public aux risques et aux enjeux.

Mots-clés : Association, Communication, Réseaux sociaux

INTRODUCTION

Longtemps, on a parlé d'orchidées dans des clubs aristocratiques, dans un entre-soi propice à la discussion et au lancement d'initiatives. Progressivement, ce sont des associations qui ont regroupé les amateurs, organisant réunions, expositions et conférences ou publiant des bulletins, journaux et revues. Elles se sont ainsi chargées d'éduquer un public toujours demandeur d'information aux enjeux de la protection des orchidées.

Par la suite, depuis la fin du XX^e siècle, Internet est devenu une source toujours plus riche et toujours plus reconnue d'informations en tous genres. Wikipedia, si on devait imprimer le contenu anglophone, représenterait mille volumes et un million de pages. Mais Internet n'est pas seulement une gigantesque encyclopédie. Progressivement sont apparues diverses formes de communautés virtuelles. Les forums de discussion ont été les précurseurs de ce que sont par la suite devenus les réseaux sociaux. Facebook, à lui seul, totalise plus d'un milliard d'utilisateurs plus ou moins réguliers, après seulement dix années d'existence.

Nous, associations orchidophiles, comment pouvons-nous jouer notre rôle et utiliser ces formidables réseaux pour continuer à diffuser une information fiable et de qualité, amenant le grand public à être plus sensible au sort de l'environnement en général et des orchidées en particulier ? C'est un enjeu majeur des prochaines années, ainsi qu'une

occasion de travailler à nouveau tous ensemble.

PANORAMA

Si Facebook et ses 1,15 milliards d'utilisateurs, dont 26 millions en France, est toujours le premier réseau social mondial, d'autres acteurs ont progressivement émergé, chacun avec ses spécificités.

YouTube peut aujourd'hui être un fabuleux outil de communication. En effet, les utilisateurs de ce service de diffusion de vidéos en ligne sont aussi nombreux que pour Facebook. La création de chaînes ou de liste de diffusion de vidéos permet de diffuser des informations de façon ludique et conviviale.

Google +, réseau social du géant américain (qui possède également YouTube) a du mal à décoller, avec, à ce jour, « seulement » 190 millions d'utilisateurs dans le monde (dont 5 millions de français).

Twitter est très utilisé par les journalistes et les politiques pour diffuser rapidement des informations choc. 200 millions d'utilisateurs mondiaux et 4,5 millions de français « gazouillent » régulièrement. La réactivité est extrême sur ce réseau où tout disparaît très vite, une information étant rapidement remplacée par une autre. C'est l'outil de l'instantané par excellence.

Trois acteurs résolument tournés vers le partage d'images complètent ce panorama des principaux réseaux : Tumblr, Pinterest et Instagram. Chacun a ses spécificités, Tumblr

rapidement des photos pour les partager entre amis et Pinterest étant clairement orienté vers la photographie.

COMMENT PROFITER DE CES OUTILS ?

Nos Sociétés et associations ont pour rôle de diffuser, aussi largement que possible, des connaissances sur la famille des orchidées. Ainsi, nous pouvons espérer sensibiliser le public aux risques et aux enjeux.

Il ne faut pas imaginer que les réseaux sociaux permettent de gagner de grands nombres d'adhérents supplémentaires. Cependant, nous pouvons développer notre notoriété et lancer de nouvelles actions, peu consommatrices de finances, mais en revanche gourmandes en temps.

Plusieurs exemples existent déjà : l'American Orchid Society anime plusieurs pages sur les réseaux sociaux et vient de lancer une série de webinaires. Elle propose aussi l'accès en ligne à sa revue pour les abonnés et des contenus augmentés sur la version en ligne. D'autres sociétés proposent régulièrement des animations, plus particulièrement sur Facebook.

Il ne faut pas ignorer non plus le formidable effet de levier potentiellement représenté par les communautés en ligne. Le développement rapide du crowdfunding, par exemple, est un intéressant moyen de financer certaines actions, tout en impliquant le grand public, qui se sentira ainsi plus concerné. Les sciences participatives ne sont pas en reste, orchisauvage.fr en est un bel exemple.

CONCLUSION

La SFO est déjà présente sur plusieurs réseaux, à différents niveaux et sous différentes formes (pages Facebook, profils, groupes, profil Twitter, compte Pinterest...). Pour développer encore les actions, il semble aujourd'hui nécessaire de repenser une stratégie globale de notre présence sur Internet.

D'autre part, si ces réseaux sont « sociaux », il ne faut pas oublier de créer un lien qui ne reste pas seulement virtuel avec le public. Communiquer sur de grands événements et appeler les gens à se rencontrer directement semble une nécessité. Le colloque en est un exemple, mais un événement de grande ampleur, tel que l'EOC 2018 en est un autre.

Pour réussir à exister face à l'abondance d'offre et assurer la fiabilité et la qualité des informations disponibles, nous devons travailler ensemble et mieux tramer le réseau, réel, de nos associations et des amateurs et professionnels.

La découverte de la mixotrophie chez les plantes à mycorhizes

Marc-André SELOSSE¹, Florent MARTOS², Melissa F. BOCAYUVA³, Maria Catarina M. KASUYA³

¹ UMR 7205 ISYEB, Muséum national d'Histoire naturelle, Département Systématique et Evolution, CP 50, 45 rue Buffon, 75005 Paris, France

² School of Life Sciences, University of KwaZulu-Natal Pietermaritzburg, Private Bag X01 Scottsville 3209, Afrique du Sud

³ Department of Microbiology, Laboratory of Mycorrhizal Association, Viçosa Federal University, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n Campus Universitário 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brésil

Abstract – The discovery of mixotrophy in mycorrhizal plants. In the typical mycorrhizal symbiosis, which links soil fungi with the roots of ~90% of plant species, fungi exploit soil mineral nutrients in return for plant produced carbon. In contrast, mycoheterotrophy, in which plants instead receive carbon from their associated fungi, has been found in several forest-understorey achlorophyllous plants from various families, including orchids. Moreover, green forest-understorey plants, phylogenetically close to mycoheterotrophs, were recently shown to be mixotrophic, i.e. they receive carbon from both their fungi and photosynthesis. Phylogenetic analyses suggest that in orchids and pyroloids (Ericaceae) at least, mixotrophy preceded the evolution of mycoheterotrophy. In some mixotrophic orchid species, achlorophyllous plants (albinos) can even be found rarely in natural populations. Here, we review the available tools and data on mixotrophic plants, and their associated fungi, and point out open questions and future research perspectives.

Résumé – Dans les symbioses mycorrhiziennes typiques, qui lient les racines de près de 90% des plantes à des champignons du sol, ces derniers exploitent des sels minéraux du sol en échange du carbone (sucres) produit par la plante. A l'inverse, dans les cas de mycohétérotrophie, la plante reçoit du carbone des champignons associés : ces plantes non-chlorophylliennes vivent en sous-bois et appartiennent à diverses familles, mais surtout les orchidées dans l'évolution desquelles ce type de nutrition est apparu une trentaine de fois. Bien plus : des plantes chlorophylliennes, elles aussi forestières, et proches évolutivement d'espèces mycohétérotrophes, ont récemment révélé une nutrition mixotrophe, c'est-à-dire qu'elles obtiennent du carbone à la fois de leurs champignons mycorrhiziens et de leur photosynthèse. Des analyses phylogénétiques suggèrent que, chez les Orchidées et les Ericacées au moins, la mixotrophie aurait précédé, dans l'évolution, la mycohétérotrophie. Chez certaines espèces d'orchidées mixotrophes, des individus sans chlorophylle, appelés albinos, existent parfois dans les populations naturelles. Dans cet article, nous passons en revue les outils d'étude et les données actuelles sur les plantes mixotrophes et leurs champignons associés. Nous en définissons, enfin, des questions et des recherches pour les années à venir. (Une version simplifiée en français est disponible dans le *Dossier Pour la Science* « Les végétaux insolites » (2012), pages 102 à 107).

Mots-clés : Mycohétérotrophie, Mycorrhize, Orchidées

INTRODUCTION

The roots of 90% of plants associate with soil fungi, forming a dual organ called mycorrhiza (Smith & Read, 2008). Here, the fungus usually exploits plant photosynthates and provides mineral resources as a reward,

such as nitrogen (N), phosphorous or water collected in the soil by its extraradical mycelium. Plants strongly depend on this symbiosis, especially at low fertility levels, and some plant clades even reversed the exchange. The existence of heterotrophic plants relying on their mycorrhizal fungi for

carbon (C) nutrition is reported since the XIXth century – where for example *Monotropia hypopitys* (now *Hypopitys monotropa*) was thoroughly investigated in the 40's (see review in Bidartondo, 2005). These plants, arisen several times independently in land plant evolution, were once considered as 'saprophytic', but the fact that (i) they feed on their mycorrhizal fungi and (ii) these fungi are not saprophytic suggested that they should be best called 'mycoheterotrophic' (Leake, 1994; see Merckx, 2013 for review). Indeed, these fungi are, most of the time, mycorrhizal on nearby plants, yet with some exceptions in tropical regions (e.g., Martos *et al.*, 2009). A similar case where plants later shift to autotrophy was also known in orchids, whose minute seeds are reserveless and require fungal C to germinate fungi into an underground, mycoheterotrophic mass of cells (the protocorm, Selosse *et al.* 2011; reviewed in Rasmussen, 1995; Smith & Read, 2008; Dearnaley *et al.*, 2012).

More recently, adult green plants were discovered to remain partially mycoheterotrophic, i.e. to maintain a C flow from the fungus to the plant over their whole lifespan (Selosse & Roy, 2009; Hynson *et al.*, 2013b). This nutritional strategy, where green adult plants obtain C from its the mycorrhizal fungi and its photosynthesis, was discovered in the last decade, mainly thanks to isotopic methods (Gebauer & Meyer, 2003; Bidartondo *et al.*, 2004; Julou *et al.*, 2005). It is a kind of mixotrophy (i.e. the mix of two trophic strategies, namely photosynthesis and mycoheterotrophy) and, although orchids were instrumental in the emergence of this concept, the phenomenon is now suspected, and partly demonstrated, to be more widespread (Selosse & Roy, 2009). In this contribution, we review the history of the discovery of mixotrophy in mycorrhizal plants.

DISCOVERY OF PARTIAL MYCOHETEROTROPHY IN ADULT ORCHIDS

The suspicion of a partial mycoheterotrophy in orchids comes from two lines of observations in species of the Neottieae orchid tribe: isotopic anomalies and existence of achlorophyllous individuals. Gebauer & Meyer (2003) discovered an isotopic anomaly in some forest orchids, with

^{13}C and ^{15}N abundances intermediate between these of autotrophic plants and full mycoheterotrophic plants from the same site (Figure 1). This was confirmed from additional European sites by several studies (Bidartondo *et al.*, 2004; Julou *et al.*, 2005; Tedersoo *et al.*, 2007; Abadie *et al.*, 2006). In these investigations, sampling was performed to avoid factors likely to bias the comparison. First, only leaves were considered to avoid the ^{13}C enrichment of heterotrophic or cellulose-rich organs (Cernusak *et al.*, 2009). Samples were collected at same distance above soil to avoid variable contribution of ^{13}C -impoverished CO_2 from soil respiration. Samples were from same light environments to avoid differences in photosynthesis rates: equilibration of isotopic concentration between environmental air and stomatal chamber is lower at higher photosynthetic rates, and forces increased ^{13}C assimilation. Last, autotrophic and mycoheterotrophic references to which partially mycoheterotrophs were compared were often chosen in the same phylogenetic background. Isotopic approaches also allowed quantification of the heterotrophy level, as we will see below.

Independently, achlorophyllous (= albino, white to pinkish due to anthocyanins, Figure 2) individuals are anciently reported in some Neottieae species. Albinos occur especially in the genera *Epipactis* (Salmia, 1986, 1989; Selosse *et al.*, 2004) and *Cephalanthera* (Julou *et al.*, 2005; Abadie *et al.*, 2006; Roy *et al.*, 2013). In many populations, this phenotype remains stable for green individuals and nearby albinos over years (Renner, 1938; Tranchido-Lombardo *et al.*, 2009; Roy *et al.*, 2013), up to 14 years for albinos (Abadie *et al.*, 2006). Although they tend to perform less well than green individuals (see below), some albinos do form flowers and fruits (Salmia, 1986, 1989; Julou *et al.*, 2005; Tranchido-Lombardo *et al.*, 2009). Albinos were thus anciently suggested to depend on their mycorrhizal fungi for C nutrition (e.g., Renner, 1938). Albinos' mycoheterotrophy is now further corroborated by their low chlorophyll content and lack of CO_2 absorption in the light (Figure 3; Julou *et al.*, 2005); congruently, they display ^{13}C enrichment similar to that of mycoheterotrophic plants (Julou *et al.*, 2005; Abadie *et al.*, 2006). This supported the likelihood of a partial mycoheterotrophy in green conspecifics (Selosse *et al.*, 2004 ; Julou

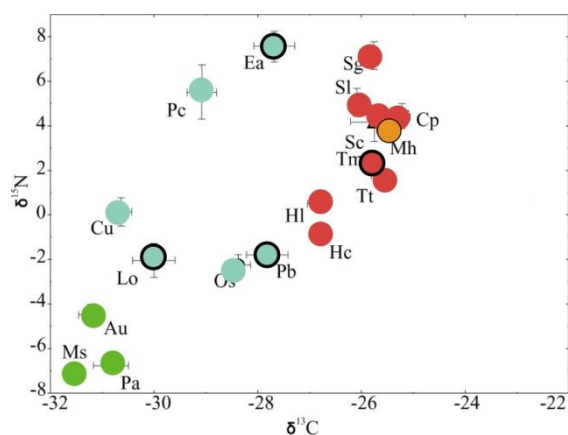


Figure 1. – Isotopes in mixotrophic and mycoheterotrophic plants. A diagrammatic presentation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ abundances (in delta values) of co-occurring plant species from a boreal forest (redrawn from Tedersoo *et al.*, 2007; means $\pm$ SE). Autotrophic plants: *Picea abies* (Pa), *Arctostaphylos uva-ursi* (Au), *Melampyrum sylvaticum* (Ms); mixotrophic orchids: *Listera ovata* (Lo), *Platanthera bifolia* (Pb), *Epipactis atrorubens* (Ea); mixotrophic pyroloids: *Orthilia secunda* (Os), *Chimaphila umbellata* (Cu), *Pyrola chlorantha* (Pc); mycoheterotrophic plant: *Monotropa hypopithys* (Mh); ectomycorrhizal fungi: *Suillus granulatus* (Sg), *Suillus luteus* (Sl), *Coltricia perennis* (Cp), *Sarcosphaera coronaria* (Sc), *Tricholoma myomyces* (Tm), *Thelephora terrestris* (Tt), *Helvella lacunosa* (Hl), *Helvella crispa* (Hc).

et al., 2005), especially considering that they often have small leaves and/or inhabit shaded forest sites. Accordingly, survival of albinos is also reported from green parasitic plants such as *Striga hermonthica* (Press *et al.*, 1991) that use other plants' sap to support part of their C needs (see below and Table X1).

Moreover, anomalies in $\delta^{13}\text{C}$ abundance correlate with absence of rhizoctonias, the usual mycorrhizal partners of orchids, the rhizoctonias, a polyphyletic group of

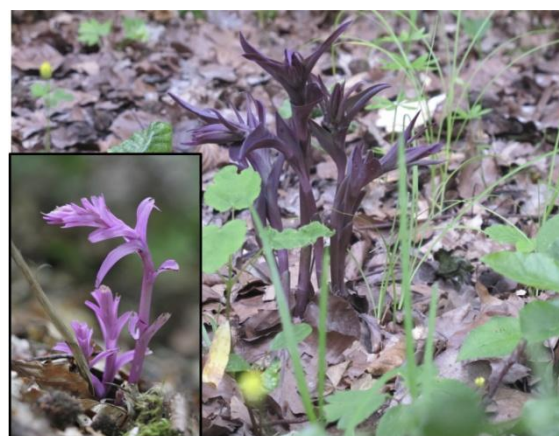


Figure 2. – Albino plants in mixotrophic orchids. An albino (inset) coloured in pink by anthocyanins in the normally green Neottieae (orchid) species *Epipactis purpurata* (main picture). Photo A. Hasenfratz.

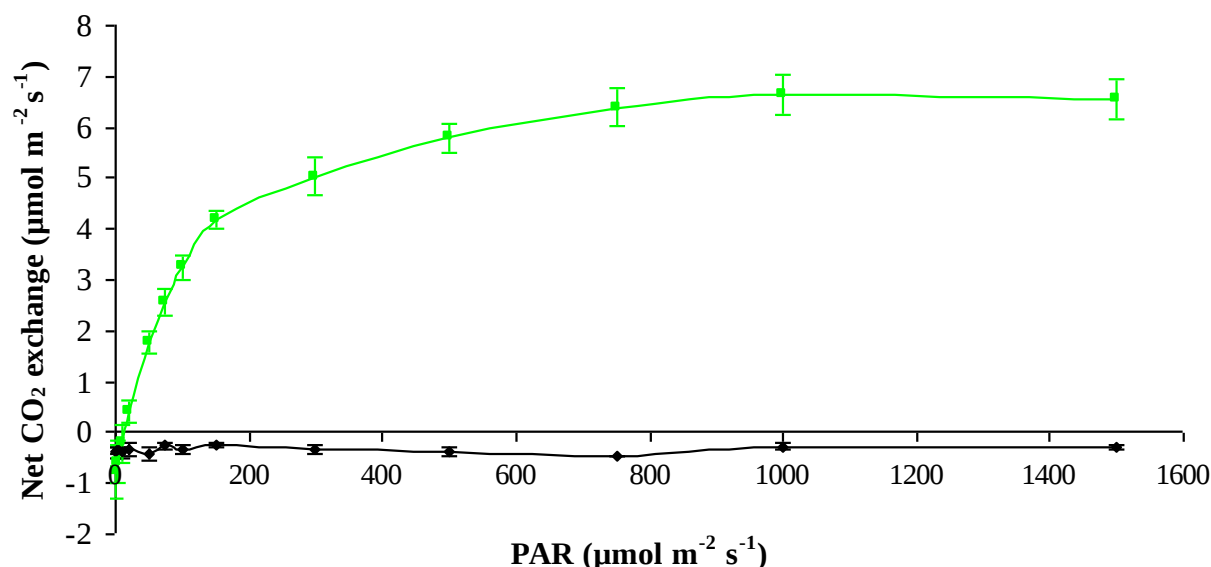


Figure 3. – Heterotrophy and lower basal metabolism (lower CO₂ production in the dark) of albinos. Gas exchanges for *Cephalanthera damasonium* green and albino as a reply to photosynthetic active radiations (PAR).

saprophytic and parasitic basidiomycetes (namely Tulasnellaceae, Ceratobasidiaceae and some Sebacinales; Dearnaley *et al.*, 2012). Neottieae display various levels of specificity to non-rhizoctonias fungi that are known to form ectomycorrhizae on forest trees: most *Epipactis* species show a preference for Pezizomycetes related to truffles, sometimes with additional fungi (Bidartondo *et al.*, 2004; Selosse *et al.*, 2004; Ouanphanivanh *et al.*, 2008; Ogura-Tsujita & Yukawa, 2008; Shefferson *et al.*, 2008; Liebel *et al.*, 2010); *Cephalanthera* species display a large fungal spectrum including Cortinariaceae, Hymenogastraceae and mainly Thelephoraceae (Bidartondo *et al.*, 2004; Julou *et al.*, 2005; Abadie *et al.*, 2006; Matsuda *et al.*, 2008; Yamato & Iwase, 2008); *Russula* are specific associates to *Limodorum* species (Girlanda *et al.*, 2006; Paduano *et al.*, 2010; Liebel *et al.*, 2010). This is much reminiscent of the fungal associates in fully mycoheterotrophic orchids, which are also ectomycorrhizal on nearby trees (see Dearnaley *et al.*, 2012 for review). A similar feature was reported in Japanese *Cymbidium* species: the green *C. lancifolium* and *C. goeringii* had ¹³C abundances intermediate between autotrophs and the mycoheterotrophic *C. macrorhizon* and *C. aberrans* (Motomura *et al.*, 2010); at the same time, they displayed Tulasnellaceae and ectomycorrhizal taxa (Russulaceae, Thelephoraceae and Sebacinales) that are exclusive partners of mycoheterotrophic *Cymbidium* species (Ogura-Tsujita *et al.*, 2012). In all, surrounding trees are thus likely to be the ultimate C source of partial mycoheterotrophs, and it is even considered that availability of ectomycorrhizal fungi could be a limitation for partial mycoheterotrophy (Liebel *et al.*, 2010). The association of mixotrophic orchids to ectomycorrhizal fungi starts at seeds germination (Bidartondo & Read, 2008; Tesitelova *et al.*, 2012).

These data give an *a posteriori* meaning for experiences carried out by Sadovsky (1965) at a time European protection laws allowed destructive manipulation of native orchids. In repeated attempts to transplant various orchids, he listed some species that did not survive the process: the list interestingly mixes full mycoheterotrophs (*Corallorhiza trifida*, *Neottia nidus-avis*...) and partial mycoheterotrophic species (*Cephalanthera*, *Limodorum* and *Epipactis* spp.), suggesting

that in both cases, disconnecting the fungus from its resources (= nearby tree roots) entailed plant death.

As stated above for the genus *Cymbidium* (Tribe Cymbidieae), partial mycoheterotrophy is not limited to Neottieae. An interesting debate exists over *Corallorhiza trifida* (tribe Maxillarieae): whereas other *Corallorhiza* spp. show deleted plastidial genomes (Freudenstein & Doyle, 1994) and are fully mycoheterotrophic, *C. trifida* has an intact plastidial genome and is somewhat greenish. It is sometime considered as mycoheterotrophic (e.g. McKendrick *et al.*, 2000; Cameron *et al.*, 2009), but is partial mycoheterotrophic based on its ¹³C natural abundance (one quarter of its C originating from photosynthesis; Zimmer *et al.*, 2008; see next section). A trend to partial mycoheterotrophy was found in Mediterranean and Macaronesian species (*Barlia robertsiana* (tribe Ophrydeae), *Genneria diphylla*, *Habenaria tridactylites* and *Orchis purpurea* (all from tribe Orchidoideae); Liebel *et al.*, 2010: interestingly, *G. diphylla* at least is associated to ectomycorrhizal fungi). The possibility that rhizoctonias-associated orchids also display some mixotrophy is currently limited. Partial mycoheterotrophy is reported in the tropical *Cheirostylis montana* (tribe Cranichideae) from Thailand (Roy *et al.*, 2009) based on ¹³C isotopic abundance, suggesting the need for more investigations out of Northern America and Eurasia. Thus, many of not all orchid taxa may be predisposed to partial mycoheterotrophy (as well as to full mycoheterotrophy) by their mycoheterotrophic germination.

CARBON SOURCES IN PARTIAL MYCOHETEROTROPHIC ORCHIDS

Investigations on photosynthesis apparatus and *in situ* gas exchange support a partial heterotrophy for some green orchids. CO₂ exchanges in *Cephalanthera damasonium* revealed that, as expected from their phenotype, albinos were full heterotrophs, while green individuals exhibited a normal photosynthetic response to light (fig. 3; Julou *et al.*, 2005). After *in situ* ¹³C labelling, *C. damasonium* showed sub-normal but reduced CO₂ assimilation, while *C. trifida* showed nearly no assimilation, close to the level of the mycoheterotrophic control (Cameron *et al.*, 2009). This was in good agreement with

chlorophyll content and fluorescence values (i.e. proper assembly of photosystems), respectively suggesting sub-normal (but reduced) and very reduced potential for photosynthesis in *C. trifida* (Julou *et al.*, 2005; Zimmer *et al.*, 2008; Cameron *et al.*, 2009). In *C. trifida*, the chlorophyll content is 1% of that of *C. damasonium* (Zimmer *et al.*, 2008). However, Montfort & Küsters (1940), measuring CO₂ exchange in inflorescences and maturing fruits, found that CO₂ assimilation was 2.2 times higher than respiration – whether differences in technology or plant origin explains this remain unclear. Intrinsic photosynthetic limitations also exist in *Limodorum abortivum*, where photosynthetic abilities do not compensate respiration even in full light (Girlanda *et al.*, 2006). In some *C. damasonium* populations however, there is evidence that low light conditions enforce the plant to survive near its compensation point (where respiration equals photosynthesis; Julou *et al.*, 2005) and drive partial mycoheterotrophy. Thus, both intrinsic and environmental factors drive partial mycoheterotrophy, depending on the species and site.

Measurement of photosynthetic activity approaches and stable isotope natural abundance are both powerful tools for investigating partial mycoheterotrophy. However, the information gained from these techniques differs. Gas exchange measurements provide snapshot information about photosynthetic activity, while stable isotope natural abundance data integrate the sources of C gain over the entire life history of a plant or plant organ. This difference may explain the diverging results for *C. trifida*, where isotopic data suggest partial mycoheterotrophy (Zimmer *et al.*, 2008) whereas CO₂ fixation was detected (Montfort & Küsters, 1940) or not (Cameron *et al.*, 2009). However, the major interest of stable isotopes is to allow a quantitative and comparative approach of heterotrophy level (Fig. 1): the percent of C derived from the fungi can be estimated from a linear mixing model. Briefly, the ¹³C abundance in mixotrophs can be viewed as a mixing a proportion p of fungal C and $(1-p)$ of photosynthetic C. Reference values can be derived from ¹³C abundance in surrounding full autotrophs and full mycoheterotrophs, although some discrepancies may exist

between ¹³C abundances of co-occurring MH species (Zimmer *et al.*, 2007; Motomura *et al.*, 2010), so that albinos (Fig. 2) are the ideal conspecific reference for mycoheterotrophic ¹³C abundance whenever available. Not unexpectedly, linear mixing models reveal a continuum from autotrophy to full mycoheterotrophy in mixotrophs.

Moreover, a given species shows variable heterotrophy level. First, from one site to another: for the well-studied *C. damasonium*, this level ranges from $p = 20$ to $p = 85\%$ (Gebauer & Meyer, 2003); in this species, a comparison in various light environments over Europe showed that low light levels result in strong, mycoheterotrophy, while higher irradiances drive the plant towards autotrophy (Preiss *et al.*, 2010). Yet, since we have no C budget for mixotrophs, we ignore where ¹³C enrichment in shaded plants reflects a compensation of the reduced photosynthesis by an increased flow of fungal C. Alternatively, this enrichment may simply result from a lower dilution of a fixed amount of fungal C in a lower input of photosynthetic C, as suggested in albinos (Roy *et al.*, 2013). Second, mixotrophy may vary over the season in shoots, at least at moderate to high light levels: p increases from 80% at shoot emergence, where fungal C is thus the main resource, to 20% at fruiting time (Roy *et al.*, 2013). At this time, the photosynthesis of expanded leaves, whose efficiency looks to improve along the growth season, takes over the C furniture, partially explaining albinos' lower fitness (see below). Thus, partial mycoheterotrophy in orchids is a flexible nutritional mode, driven by light, C availability and development.

There are, however, four main caveats when using stable isotopes: First, analysis of tissues does not take into account the anabolic C that may not mix heterotrophic and autotrophic C sources in the same ratio. In *C. damasonium* at least, ¹³C abundances do not significantly differ in catabolic CO₂ versus biomass C (Roy *et al.*, 2013). Second, the relative contribution of respiratory CO₂ may be enhanced in mixotrophs since they have lower need for external CO₂, leading to higher ¹³C abundance that biases estimates of p values. Third, beyond problems about the mycoheterotrophic baseline stated above, the autotrophic baseline for orchids remains questionable: *Goodyera repens*, a species provide C to its fungus (Cameron *et al.*, 2008),

is less enriched in ^{13}C than nearby autotrophs (Hynson *et al.*, 2009a; Motomura *et al.*, 2010), and indeed several green orchids show the same trend (Liebler *et al.*, 2010). Fourth, partial mycoheterotrophic species likely have lower photosynthesis rates, resulting, as stated above, in better equilibration of $^{13}\text{CO}_2$ concentration between environmental air and stomatal chamber and therefore, in increased ^{13}C discrimination (= lower ^{13}C abundance in photosynthetic C). The two latter caveats may result in under-estimation of heterotrophy level in many orchids when using non-orchid autotrophs as references. As a result, several species with normal ^{13}C abundance may be 'cryptic' partial mycoheterotrophs, with heterotrophy levels not detectable by isotopic methods. Indeed, many orchids from more or less open environments associate with rhizoctonias mainly but occasionally display ectomycorrhizal fungi, e.g. *Cypripedium* (Shefferson *et al.*, 2005, 2007), *Gymnadenia* (Stark *et al.*, 2009), *Orchis* (Lievens *et al.*, 2010), or *Cryptostylis ovata* (Sommer *et al.*, 2012). These associates that were likely hidden in studies based on fungal cultivation, since ectomycorrhizal fungi do not grow easily, may allow a C flow to the plant, at least in some light environments. Moreover, a few rhizoctonias are overlooked ectomycorrhizal fungi, such as some species in Tulasnellaceae (Bidartondo *et al.*, 2003) and Ceratobasidiaceae (Bougoure *et al.*, 2009; Veldre *et al.*, 2013) that could provide C.

One may finally deplore the absence of labelling experiments directly demonstrating the C transfer from plant to (i) fungus and (ii) partial mycoheterotrophic orchid: thus, the fact that nearby trees are the ultimate C source still requires rigorous demonstration. However, there are two indirect additional evidences for the use of mycorrhizal fungi as trophic source: both ^{15}N abundance and N/C ratio are high in partial mycoheterotrophic orchids as compared to surrounding autotrophs, a trend reported for mycoheterotrophs (Gebauer & Meyer, 2003; Abadie *et al.*, 2006; Tedersoo *et al.*, 2007; Selosse & Roy, 2009; Liebel *et al.*, 2010; Roy *et al.*, 2013); these values are lower than in partial than in full mycoheterotrophs, again supporting a mixed trophic strategy. The studies of rhizoctonias orchids mentioned above also demonstrate that some putatively autotrophic orchids exhibit higher (although less extreme) ^{15}N abundance and N/C ratio than other

autotrophs, again raising the possibility of a cryptic partial mycoheterotrophy.

Recently, Yagame *et al.* (2013) opened the possibility that the green orchid *Cremastra appendiculata* (tribe Cypripedieae), which associate to with fungi belonging to saprophytic *Coprinellus* (Psathyrellaceae) could be mixotrophic. This would make sense, as some fully mycoheterotrophic tropical orchids associate to saprophytic fungi (see Selosse *et al.*, 2010, for a review). Yet, the demonstration that saprophytic can support mixotrophic orchids remains pending until isotopic data are available.

PARTIAL MYCOHETEROTROPHY IN ADULT PYROLOIDS

Orchids have been up to now major models for investigations on partial mycoheterotrophy, but this nutritional mode is more widespread. Species from the Pyroleae sub-tribe (Ericaceae), also called pyroloids, are small shade-tolerant perennial shrubs with impressive underground rhizome network that grow in more or less low light temperate, alpine and boreal forests. They are candidates for partial mycoheterotrophy for three reasons: First, a close, although not fully resolved, phylogenetic relationship links with the mycoheterotrophic Monotropeae and Pterosporeae (all members of the Monotropoideae; Kron *et al.*, 2002; Tedersoo *et al.*, 2007; Matsuda *et al.*, 2012). A pyrolid, *Pyrola aphylla*, is even mycoheterotrophic (Zimmer *et al.*, 2007; Hynson & Bruns, 2009), although its recognition as a separate species, or a species complex (Jolles & Wolfe, 2012), or simply an albino variant of the green *P. picta*, remains unclear (Camp, 1940; Haber, 1987). Second, as in orchids, seeds are very small and pyroloids undergo a mycoheterotrophic subterranean germination (Christoph, 1921; Lihnell, 1942) where fungi related to the *Sebacinales* and various ectomycorrhizal taxa provide C (Smith & Read, 2008; Hashimoto *et al.*, 2012; Hynson *et al.*, 2013a). Third, as many other basal Ericaceae (Selosse *et al.*, 2007), pyroloids form ectomycorrhiza-like associations: the fungus forms a sheath around the root but in addition, hyphal coils penetrating root cells (Khan, 1972; Robertson & Robertson, 1985; Vincenot *et al.*, 2008). The fungal taxa involved are typical ectomycorrhizal fungi that also colonize

surrounding tree roots (Robertson & Robertson 1985; Tedersoo *et al.*, 2007; Zimmer *et al.*, 2007; Vincenot *et al.*, 2008; Hynson & Bruns, 2009; Matsuda *et al.*, 2012), thus allowing a mycelial link to surrounding autotrophic trees.

Investigation on stable isotopes provided variable results. A first investigation in two boreal Estonian forest revealed that some pyroloids had higher ¹³C and ¹⁵N abundances and N/C than surrounding autotrophs, including plants from the Ericaceae family (Tedersoo *et al.*, 2007; Fig. 1). Based on a linear mixing model (using *Monotropa hypopitys* as baseline), 10 to 68% of C was of fungal origin in *Orthilia secunda*, *Pyrola chlorantha*, *P. rotundifolia* and *Chimaphila umbellata*. The latter species did not differ from autotrophs on one of the investigated sites, and heterotrophy level did not correlate among sites, indicating a complex regulation of this parameter among species. In a second set of investigations in more southern sites from Germany and California, (Zimmer *et al.*, 2007; Hynson *et al.*, 2009b), ¹⁵N abundance and N/C values were intermediate between autotrophic and mycoheterotrophic plants for *O. secunda*, *C. umbellata*, *P. chlorantha*, *P. minor* and *P. picta*; however, based on ¹³C abundance, only *P. chlorantha* showed significant C gain at a single low irradiance site. Given the broad range of irradiances in investigated sites, light availability is unlikely to be the only driver of the heterotrophy level (Zimmer *et al.*, 2007). Alternatively, it was suggested that the C gain was not solely based on C needs, but could arise as a 'side-product' of the nitrogen and phosphorus nutrition (Selosse & Roy, 2009) as is known in mixotrophic algae (see below); indeed, a specific strategy to obtain fungal N in pyroloids could explain their unusual ¹⁵N abundance and their disappearance after anthropogenic N deposition (Allen *et al.*, 2007), and some fungal C may move with the nitrogen. In Japanese *Pyrola japonica*, an endemic mixotrophic pyroloid that has unusual mycorrhizae devoid of fungal mantles, 84% of which are formed by *Russula* spp., isotopic values negatively correlated with light availability (Matsuda *et al.*, 2012), suggesting higher heterotrophy levels in shaded conditions. Concomitantly, the rate of mycorrhizal colonization and *Russula* frequency was higher in shaded conditions, perhaps compensating for low light levels. In

an experimental shading of *C. umbellata* and *P. picta* (the only experimental studies hitherto carried out on mixotrophs; Hynson *et al.*, 2012) leaf sugars reflecting the immediate C source supported a decrease of fungal C contribution over the growth season, in the first species, but not the second. At the same time, bulk C did not change in *C. umbellata*, suggesting that isotopic contents inherited from previous physiological status can dissimulate instantaneous trends (see above).

It is thus possible that mixotrophy implies very variable features among pyroloid species, and that in some species at least, mycorrhizal symbionts and C nutrition change in accordance to light availability and growth stage, in a flexibility similar to that reported above for orchids. To further support physiological variations among pyroloids, the phylogenetic analysis by Matsuda *et al.* (2012) suggested that the *Pyrola* + *Orthilia* clade may have evolved higher mycoheterotrophic abilities, as further supported by the existence of the mycoheterotrophic *P. aphylla*, while the *Moneses* + *Chimaphila* sister clade would be less prone to mixotrophy. Interestingly, no evidence for lysis or degradation of intracellular hyphae is reported in living pyroloid root cells of pyroloids (Tedersoo *et al.*, 2007; Vincenot *et al.*, 2008), adding to the idea that such a process is not necessary for C transfer, in contrast to a lasting view issuing from early works on mycoheterotrophic orchid seedlings (Rasmussen, 1995).

¹⁴C labelling was claimed to show transfer from autotrophs to pyroloids, in dual pot cultures of *Larix kaempferi* seedlings and *Pyrola incarnata* from Japan (Kunishi *et al.* 2004; Hashimoto *et al.*, 2005), but this experiment and its controls is still not published in details. A C gain from fungi may explain some ecophysiological features of pyroloids, such as the few reserves in winter (the fungal C may contribute to development of new organs in spring for *P. incarnata*; Isogai *et al.*, 2003), the low capacity for adjusting vegetative growth and leaf area after shading (in *P. rotundifolia* at least; Hunt & Hope-Simpson, 1990), or the sensibility to forest disturbances that affect mycorrhizal networks (logging, burning; Zimmer *et al.*, 2007). However, at least some green pyroloids can be outplanted (e.g. Hunt & Hope-Simpson, 1990): contrasting with partial mycoheterotrophic orchids, the use of fungal C

in pyroloids may be thus more facultative, allowing disconnections from mycorrhizal network in some conditions. This may also resolve the discrepancies between studies reporting variable levels of heterotrophy (Tedersoo *et al.*, 2007, Zimmer *et al.*, 2007; Hynson *et al.*, 2009b), if one assumes variable levels of dependency on mycorrhizal network from one population to another.

EVOLUTION OF PARTIAL MYCOHETEROTROPHY AND MYCOHETEROTROPHY

Partial mycoheterotrophic lineages add to a long list of taxa where partial heterotrophy exists in autotrophic organisms. In the general case, such a mixed strategy is called mixotrophy. This word was sometimes used as a synonym for partial mycoheterotrophy (Selosse & Roy, 2009): however, mixotrophy is larger than partial mycoheterotrophy, since mixotrophic strategies are very diverse, as exemplified below. Many independent phyla of planktonic eukaryotes are mixotrophic, either by uptake of dissolved organic matter (Kamjunke & Tittel, 2009), or by phagotrophy on unicellular preys (Jones, 2000). The latter process is a plesiomorphic condition, since ancestors of plastid-bearing taxa are considered to be phagotrophs (a process through which plastids were indeed acquired). Mixotrophy is ecologically relevant in oceans, where planktonic algae achieve up to 95% of the bacterivory in the superficial layer (Zubkov & Tarran, 2008; Moorti *et al.*, 2009). In contrast, mixotrophy in land plant is secondarily evolved, i.e. represents a reversion from full autotrophy, and its ecological relevance is still to be estimated in terrestrial ecosystems. Mixotrophy is mainly found in plants displaying close interactions with surrounding organisms: beyond partial mycoheterotrophy, making use of the widespread mycorrhizal symbiosis, mixotrophy occurs in carnivorous (Adamec, 1997) and hemiparasitic plants (Press & Graves, 1995). The later are green plants that obtain some nourishment, especially mineral nutrient and sometimes C, by parasitizing other plants. For example, despite being photosynthetic, mistletoes derive up to 63% of their C from their host (Bannister & Strong, 2001) and *Striga hermonthica* can survive as albino (Press *et al.*, 1991).

When considering phylogenetic frameworks, partial mycoheterotrophy appear as a step toward evolution of the full mycoheterotrophy (Bidartondo *et al.*, 2004; Selosse *et al.*, 2004). Mycoheterotrophic species are nested within partial mycoheterotrophic lineages in Neottiae (Figure 4; Abadie *et al.*, 2006; Selosse & Roy, 2009) and in the genus *Cymbidium* (Motomura *et al.*, 2010; Ogura-Tsujita *et al.*, 2012). Pyroloids are close to the mycoheterotrophic Monotropoideae (Monotropeae and Pterosporeae; Kron *et al.*, 2002), suggesting a similar scenario (Tedersoo *et al.*, 2007); however, the relationships within Monotropoideae deserve new analyses and a basal position of pyroloids remains uncertain (K. Kron, comm. pers.). Undoubtedly, in orchids and pyroloids at least, the initial mycoheterotrophic germination of seedlings (likely plesiomorphic in these taxa) was an additional predisposition to mixotrophy.

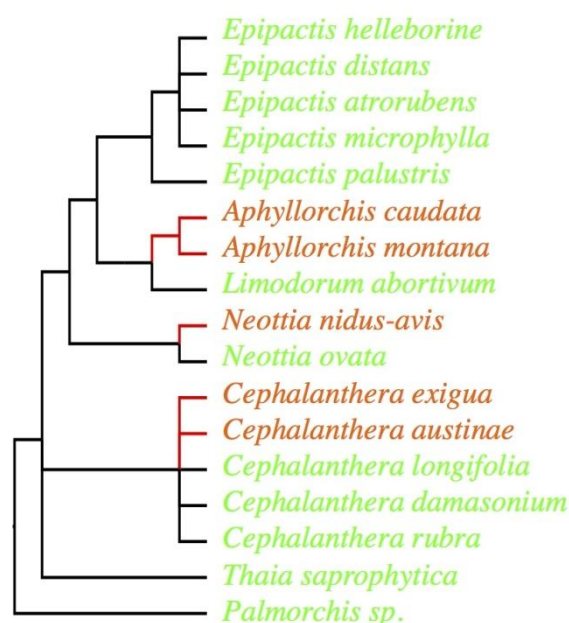


Figure 4. – Polyphyly of mycoheterotrophs. A phylogeny of Neottiae with branches with >80% bootstrap values. Green species have chlorophyll, while brown ones are mycoheterotrophic.

Evolutionary transition to mycoheterotrophy can be expected to occur frequently, since partial mycoheterotrophs often grow in young forests, with loose canopy that tend to close due to ongoing plant

ecological succession. Thus, they undergo increasing shading that selects for more light-independent C supply (Selosse & Roy, 2009); indeed, this may explain the convergent evolution to full mycoheterotrophy observed within the Neottieae (Figure 4; Roy *et al.*, 2009). Full mycoheterotrophy is never shown to be evolutionary reversible, maybe due to irreversible loss of photosynthetic genes both in the plastid and nucleus. However, there are possible reversions from partial mycoheterotrophy to full autotrophy. For example, the *Epipactis palustris-gigantea* clade (Figure 4) is autotrophic, as shown by survival upon transplantation (Sadovsky, 1965), autotrophic ¹³C values, and association to rhizoctonias only (Bidartondo *et al.*, 2004; Zimmer *et al.*, 2007; Illyes *et al.*, 2009). Although Neottieae phylogeny (Fig. 4) and evolution of nutritional traits remain poorly resolved, the genus *Epipactis* is unlikely to be basal (Pridgeon *et al.*, 2008; Roy *et al.*, 2009), making reversion from partial mycoheterotrophic to autotrophy parsimonious scenario for the *Epipactis palustris-gigantea* clade. Biologically, a reversion is not unexpected, as long as photosynthesis genes are not impaired in partial mycoheterotrophs.

In Neottieae, albinos suggest that the transition from partial mycoheterotrophy to mycoheterotrophy cannot be sudden. In a comparison between albinos and co-occurring green individuals *in situ*, albinos displayed (1) more frequent shoot drying at fruiting, possibly due to stomatal dysfunctions, (2) lower basal metabolism (Figure 3), (3) increased sensitivity to pathogens and herbivores, (4) higher dormancy and maladapted sprouting, and, probably due to the previous differences, (5) fewer seeds, with lower germination capacity (Roy *et al.*, 2013; Figure 5). Over the growing season, fungal colonization reached its minimum in both phenotypes at time of fruiting, so that the lack of photosynthesis in fruiting albinos may contribute to C limitation, and to the above-mentioned trends. With a 10³-reduction of their fitness, albinos failed a successful transition to mycoheterotrophy because some traits inherited from their green ancestors were maladaptive (Roy *et al.*, 2013). Conversely, mycoheterotrophy requires at least degeneration of leaves and stomata, optimization of the temporal pattern of fungal colonization and shoot sprouting, and new defences against pathogens and herbivores.

Transition to mycoheterotrophy thus likely requires progressive and joint evolution of these traits, while a sudden loss of photosynthesis leads to unfit plants. This supports an evolutionary metastability of mixotrophy, and what prevents the emergence of fully heterotrophic taxa in mixotrophic lineages. In spite of their survival and successful fruiting in some cases, albinos likely represent snapshots of failed transitions from mixotrophy to mycoheterotrophy; noteworthy, they are not reported from pyroloids. They are ecological equivalents to mutants in genetics, *i.e.* their dysfunctions may suggest what makes mycoheterotrophy successful. Although their determinism remains unknown, they offer fascinating models for comparing the physiology of mixo- and mycoheterotrophs within similar genetic backgrounds.

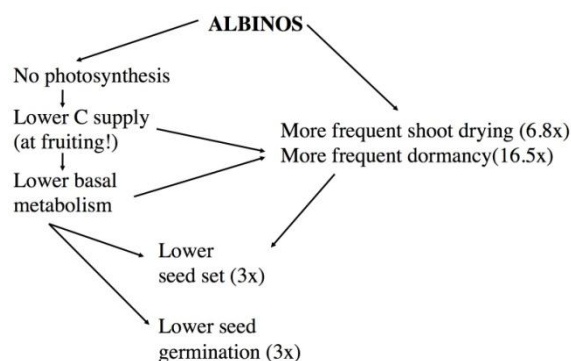


Figure 5. – Lower fitness of albino individuals. A summary of maladaptations in albinos compared to green individuals (Roy *et al.*, 2013) that result in a *ca.* 1000x lower fitness in *Cephalanthera damasonium* populations.

PERSPECTIVES

The existence of mixotrophy awaits confirmation from other taxa displaying mycoheterotrophic lineages (e.g., Burmanniaceae, Gentianaceae, Dioscoreales, Polygalaceae, Iridaceae, Pandanales and Petrosaviaceae; Selosse & Roy, 2009). However, these taxa associate with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. Specific ¹³C and ¹⁵N abundances in ectomycorrhizal fungi were instrumental in discovering partial mycoheterotrophy in orchids and pyroloids. We know few of isotopic abundances values in

AM fungi, or even in the associated mycoheterotroph, making it difficult to predict isotopic abundances in candidate AM-associated mixotrophs. Existing works suggest that fractionation is low, or even absent (Cameron & Bolin, 2010; Merckx *et al.*, 2010; Courty *et al.*, 2011), but these works are blurred by (i) the potential occurrence of C4 plants in the system (Cameron and Bolin, 2010) and (ii) the mix of over- and understorey photosynthetic C that differ in ¹³C abundances (Merckx *et al.*, 2010; Courty *et al.*, 2011). Moreover, the fact that green Burmanniaceae can be cultivated alone (Merckx *et al.*, 2010) is not in favour of a mixotrophy on AM fungal links to surrounding plants these plants at least.

Moreover, lineages devoid of mycoheterotrophs or minute seeds with mycoheterotrophic germination may display mixotrophy, but this remains to demonstrate. There is some evidence from isotopic labelling C transfer can occur between various plants, e.g. between tree seedlings through shared ectomycorrhizal fungi (Simard *et al.*, 1997) or between understorey herbs and overstorey tree, through shared AM fungi (Lerat *et al.*, 2004). However, this method does not evaluate the impact on the long-term C budget of receiving plants. Since no major effect on spontaneous ¹³C abundance is reported in ectomycorrhizal trees (e.g., Diédhiou *et al.*, 2010), assuming that the same fractionation would occur as in orchids and pyroloid systems, the impact on C budget may be limited. Thus, it remains unsure that mycorrhizal linking plants can significantly contribute to their C nutrition in “normal” green plant. But, once again, decisive tests are still lacking.

Furthermore, the ecological relevance of partial mycoheterotrophs on plant communities (as demonstrated for hemiparasitic plants, e.g. Watson 2009) and on their associated fungi (exact load of the C loss, existence of a reward such as vitamins and/or protection, etc.) is still not known. These open questions are relevant, at least in boreal forest where partial mycoheterotrophs dominate the understorey (Tedersoo *et al.*, 2007), and are not assessed for full mycoheterotrophs either. If one assumes, as suggested by C flow, that the plant is parasitic on the fungus, then some conflict may occur and fungi may undergo selection to avoid this parasitism. In seedlings mycoheterotrophy that give rise to autotrophic adults, the interaction maybe positively

selected on the fungal side, since investment in a future C-producing plant can compensate the C flow to seedlings.

Mixo- and mycoheterotrophy plants remain a fascinating research area, demonstrating the power of fungi and microbial interactions in shaping plant evolution. At the epistemological level, the many cited works show how these newly discovered plant trophic strategies have enhanced researches on mycorrhizal fungi, mycorrhizal networks between plants, and metabolism of plant-fungal symbioses.

Acknowledgements

We acknowledge the organizers of the IInd International Symposium on Microbiology and Biotechnology for their invitation, as well as my many co-workers for their help in developing research on mixotrophy and mycoheterotrophy in the last decade. I especially thank Mélanie Roy for help with figures. My research is supported by the CNRS, the Agence National de la Recherche and the Muséum national d'Histoire naturelle.

References

- Abadie J.C., Püttsepp Ü., Gebauer G., Faccio A., Bonfante P., Selosse M.A. 2006. *Cephalanthera longifolia* (Neottieae, Orchidaceae) is mixotrophic: a comparative study between green and non-photosynthetic individuals. *Can. J. Bot.*, 84: 1462-1477.
- Adamec L. 1997. Mineral nutrition of carnivorous plants: A review. *Bot. Rev.*, 63: 273-299.
- Allen E.B., Temple P.J., Bytnerowicz A., Arbaugh M.J., Sirulnik A.G., Rao L.E. 2007. Patterns of understory diversity in mixed coniferous forests of southern California impacted by air pollution. *Sci. World J.*, 21 (Suppl 1): 247-263.
- Bannister P., Strong G.L. 2001. Carbon and nitrogen isotope ratios, nitrogen content and heterotrophy in New Zealand mistletoes. *Oecologia*, 126: 10-20.
- Bidartondo M.I., Read D.J. 2008. Fungal specificity bottlenecks during orchid germination and development. *Mol. Ecol.*, 17: 3707-3716.
- Bidartondo M.I., Bruns T.D., Weiß M., Sérgio C., Read D.J. 2003. Specialized cheating

- of the ectomycorrhizal symbiosis by a epiparasitic liverwort. *Phil. Roy. Soc. Lond. B Bio.*, 270: 835-842.
- Bidartondo M.I., Burghardt B., Gebauer G., Bruns T.D., Read D.J. 2004. Changing partners in the dark: Isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. *Phil. Roy. Soc. Lond. B Bio.*, 271: 1799-1806.
- Bidartondo M.I. 2005. The evolutionary ecology of mycoheterotrophy. *New Phytol.*, 167: 335-352.
- Bougoure J., Ludwig M., Brundrett M., Grierson P. 2009. Identity and specificity of the fungi forming mycorrhizas with the rare mycoheterotrophic orchid *Rhizanthella gardneri*. *Mycol. Res.*, 113:1097-106.
- Cameron D.D., Bolin J.F. 2010. Isotopic evidence of partial mycoheterotrophy in the Gentianaceae: *Bartonia virginica* and *Obolaria virginica* as case studies. *Am. J. Bot.*, 97: 1272-1277.
- Cameron D.D., Johnson I., Read D.J., Leake J.R.. 2008. Giving and receiving: Measuring the carbon cost of mycorrhizas in the green orchid, *Goodyera repens*. *New Phytol.*, 180: 176-84.
- Cameron D.D., Preiss K., Gebauer G., Read D.J. 2009. The chlorophyll-containing orchid *Corallorhiza trifida* derives little carbon through photosynthesis. *New Phytol.*, 183: 358-364.
- Camp W.H. 1940. Aphyllous forms in *Pyrola*. *Torrey Bot. Club*, 67: 453-465.
- Cernusak L.A., Tcherkez G., Keitel C., Cornwell W.K., Santiago L.S., Knohl A., Barbour M.M., Williams D.G., Reich P.B., Ellsworth D.S., Dawson T.E., Griffiths H.G., Farquhar G.D., Wright I.J. 2009. Why are non-photosynthetic tissues generally ¹³C enriched compared with leaves in C3 plants? Review and synthesis of current hypotheses. *Funct. Plant Biol.*, 36: 199-213.
- Christoph H. 1921. Untersuchungen über mykotrophen Verhältnisse der, Ericales“ und die Keimung von Pirolaceen. Beihefte *Botanisches Centralblatt*, 38: 115-157.
- Courty P.E., Walder F., Boller T., Ineichen K., Wiemken A., Selosse M.A. 2011. C and N metabolism in mycorrhizal networks and mycoheterotrophic plants of tropical forests: a stable isotope analysis. *Plant Physiol.*, 156: 952-961.
- Dearnaley J.D.W., Martos F., Selosse M.A. 2012. Orchid mycorrhizas: molecular ecology, physiology, evolution and conservation aspects. In: Fungal Associations, 2nd Edition. Hock B, ed. The Mycota IX. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, (in press).
- Diédhiou A.G., Selosse M.A., Diabate M., Dreyfus B., Bâ A.M., de Faria S.M., Galiana A., Béna G. 2010. The patterns of ectomycorrhizal host specificity and ¹⁵N and ¹³C natural abundance of understory and canopy trees in a tropical rain forest. *Environ. Microbiol.*, 12: 2219-2232.
- Freudenstein J.V., Doyle J.J. 1994. Character transformation and relationships in *Corallorhiza* (Orchidaceae: Epidendroideae). I. Plastid DNA. *Am. J. Bot.*, 81: 1449-1457.
- Gebauer G., Meyer M. 2003. ¹⁵N and ¹³C natural abundance of autotrophic and mycoheterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. *New Phytol.*, 160: 209-223.
- Girlanda M., Selosse M.A., Cafasso D., Brilli F., Delfine S., Fabbian R., Ghignone S., Pinelli P., Segreto R., Loreto F., Cozzolino S., Perotto S. 2006. Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae. *Mol. Ecol.*, 15: 491-50.
- Haber E. 1987. Variability, distribution, and systematics of *Pyrola picta* s.l. (Ericaceae) in Western North America. *Syst. Bot.*, 12: 324-335.
- Hashimoto Y., Fukukawa S., Kunishi A., Suga H., Richard F., Sauve M., Selosse M.A. 2012. Mycoheterotrophic germination of *Pyrola asarifolia* dust seeds reveals convergences with germination in orchids. *New Phytol.*, 195: 620-630.
- Hunt R., Hope-Simpson J.F. 1990. Growth of *Pyrola rotundifolia* ssp. *maritima* in relation to shade. *New Phytol.*, 114: 129-137.
- Hynson N.A., Bruns T.D. 2009. Evidence of a myco-heterotroph in the plant family Ericaceae that lacks mycorrhizal specificity. *Phil. Roy. Soc. Lond. B Bio.*, 276: 4053-4059.

- Hynson N.A., Preiss K., Gebauer G.. 2009a. Is it better to give than receive? A stable isotope perspective to orchid-fungal carbon transport in the green orchid species *Goodyera repens* and *Goodyera oblongifolia*. *New Phytol.*, 182: 8-11.
- Hynson N.A., Preiss K., Gebauer G., Bruns T.D. 2009b. Isotopic evidence of full and partial myco-heterotrophy in the plant tribe Pyroleae (Ericaceae). *New Phytol.*, 182: 719-726.
- Hynson N.A., Mambelli S., Amend A.S., Dawson T.E.. 2012. Measuring carbon gains from fungal networks in understory plants from the tribe Pyroleae (Ericaceae), a field manipulation and stable isotope approach. *Oecologia*, 169: 307-317.
- Hynson N.A., Madsen T.P., Selosse M.A., Adam I.K.U., Ogura-Tsujita Y., Roy M., Gebauer G. 2013b. The physiological ecology of mycoheterotrophy. In: *Mycoheterotrophy: the biology of plants living on fungi*. V. Merckx (ed.). Springer, Berlin Heidelberg. pp. 297-342.
- Hynson N.A., Weiß M., Preiss K., Gebauer G., Treseder K.K. 2013a. Fungal host specificity is not a bottleneck for the germination of Pyroleae species (Ericaceae) in a Bavarian forest. *Mol. Ecol.*, 22: 1473-1481.
- Irmisch T. 1855. Bemerkungen über einige Pflanzen der deutschen Flora. *Flora*, 13: 625-638.
- Illyés Z., Halász K., Rudnóy S., Ouanphanivanh N., Garay T., Bratek Z. 2009. Changes in the diversity of the mycorrhizal fungi of orchids as a function of the water supply of the habitat. *J. Appl. Bot. Food Qual.*, 83: 28-36.
- Isogai N., Yamamura Y., Mariko S., Nakano T. 2003. Seasonal pattern of photosynthetic production in a subalpine evergreen herb, *Pyrola incarnata*. *J. Plant Res.*, 116: 199-206.
- Jolles D.D., Wolfe A.D. 2012. Genetic differentiation and crypsis among members of the mycoheterotrophic *Pyrola picta* species complex (Pyroleae: Monotropoideae: Ericaceae). *Syst. Bot.*, 37: 468-477.
- 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 non-photosynthetic mutants of *Cephalanthera damasonium*. *New Phytol.*, 166: 639-653.
- Kamjunke N., Tittel J. 2009. Mixotrophic algae constrain the loss of organic carbon by exudation. *J. Phycol.*, 45: 807-811.
- Khan A.G. 1972 Mycorrhizae in the Pakistan Ericales. *Pak. J. Bot.*, 4: 183-194.
- Kron K.A., Judd W.S., Stevens P.F., Crayn D.M., Anderberg A.A., Gadek P.A., Quinn C.J., Luteyn J.L. 2002. Phylogenetic classification of Ericaceae: molecular and morphological evidence. *Bot. Rev.*, 68: 335-423.
- Kunishi A., Hasegawa S., Hashimoto Y. 2004. Effects of mycorrhiza on *Pyrola incarnata* growing in dark forest floor. Proceedings of the 51st Annual Meeting of the Ecological Society of Japan (JES51).
- Leake J.R. 1994. The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants. *New Phytol.*, 127: 171-216.
- Lerat S., Gauci R., Catford J.G., Vierheilig H., Piché Y., Lapointe L. 2002. 14 C transfer between the spring ephemeral *Erythronium americanum* and sugar maple saplings via arbuscular mycorrhizal fungi in natural stands. *Oecologia*, 132: 181-187.
- Liebel H.T., Bidartondo M.I., Preiss K., Segreto R., Stöckel M., Rodda M., Gebauer G. 2010. C and N isotope signatures reveal constraints to nutritional modes in orchids of the Mediterranean and Macaronesia. *Am. J. Bot.*, 97: 903-912.
- Lievens B., van Kerckhove S., Justé A., Cammue B.P.A., Honnay O., Jacquemyn H. 2010. From extensive clone libraries to comprehensive DNA arrays for the efficient and simultaneous detection and identification of orchid mycorrhizal fungi. *J. Microbiol. Meth.*, 80: 76-85.
- Lihnell D. 1942. Keimungsversuche mit *Pyrola*-samen. *Symb. Bot. Upsal.*, 6: 1-37.
- Martos F., Dulormne M., Pailler T., Bonfante P., Faccio A., Fournel J., Dubios M.P., Selosse M.A. 2009. Independent recruitment of saprotrophic fungi as mycorrhizal partners by tropical achlorophyllous orchids. *New Phytol.*, 184: 668-681.
- Matsuda Y., Amiya A., Ito S.I. 2008. Colonization patterns of mycorrhizal fungi associated with two

- rare orchids, *Cephalanthera falcata* and *C. erecta*. *Ecol. Res.*, 4: 1023-1031.
- Matsuda Y., Shimizu S., Mori M., Ito S.I., Selosse M.A. 2012. Seasonal and environmental changes of mycorrhizal associations and heterotrophy levels in mixotrophic *Pyrola japonica* (Ericaceae) growing under different light environments. *Am. J. Bot.*, 99: 1177-1188.
- 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 Phytol.*, 145: 539-548.
- Montfort C., Küsters E. 1940. Saprophytismus und Photosynthese. I. Biochemische und physiologische Studien an Humus-Orchideen. *Botanisches Archiv.*, 40: 571-633.
- Motomura H., Selosse M.A., Martos F., Kagawa A., Yukawa T. 2010. Mycoheterotrophy evolved from mixotrophic ancestors: evidence in *Cymbidium* (Orchidaceae). *Ann. Bot.*, 106: 573-581.
- Ogura-Tsujita Y., Yukawa T. 2008. High mycorrhizal specificity in a widespread mycoheterotrophic plant, *Eulophia zollingeri* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.*, 95: 93-97.
- Ogura-Tsujita Y., Yokoyama J., Miyoshi K., Yukawa T. 2012. Shifts in mycorrhizal fungi during the evolution of autotrophy to mycoheterotrophy in *Cymbidium* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.*, 99: 1158-1176.
- Ouanphanivanh N., Merényi Z., Orczán Á.K., Bratek Z., Szigeti Z., Illyés Z. 2008. Could orchids indicate truffle habitats? Mycorrhizal association between orchids and truffles. *Acta Biologica Szegediensis*, 52: 229-232.
- Paduano C., Rodda M., Ercole E., Girlanda M., Perotto S. 2011. Pectin localization in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* reveals modulation of the plant interface in response to different mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 21: 97-104.
- Preiss K., Adam I.K.U., Gebauer G. 2010. Irradiance governs exploitation of fungi: fine-tuning of carbon gain by two partially myco-heterotrophic orchids. *Phil. Roy. Soc. Lond. B Bio.*, 277: 1333-1336.
- Press M.C., Graves J.D. 1995. *Parasitic plants*, Chapman et Hall.
- Press M.C., Smith J.D., Stewart G.R. 1991. Carbon acquisition and assimilation relations in parasitic plants. *Funct. Ecol.*, 5: 278-283.
- Pridgeon A., Cribb P.J., Chase M.W. 2008. *Genera orchidacearum: vol 4: Epidendroidae*: Oxford University Press.
- Rasmussen H.N. 1995. *Terrestrial orchids from seed to mycotrophic plant*. Cambridge University Press.
- Renner O. 1938. Über blasse, saprophytische *Cephalanthera alba* und *Epipactis latifolia*. *Flora*, 132: 225-233.
- Robertson D.C., Robertson J.A. 1985. Ultrastructural aspects of *Pyrola mycorrhizae*. *Can. J. Bot.*, 63: 1089-1098.
- Roy M., Watthana S., Stier A., Richard F., Vessabutr S., Selosse M.A. 2009. Two mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical dipterocarpacean forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. *BMC Biology*, 7: 51.
- Roy M., Gonneau C., Rocheteau A., Berveiller D., Thomas J.C., Damesin C., Selosse M.A. 2013. Why do mixotrophic plants stay green? A comparison between green orchid individuals *in situ*. *Ecological Monographs*, 83: 95-117.
- Sadovsky O. 1965. *Orchideen im eigenen Garten*. Bayerischer Landwirtschaftsverlag, Munich, Germany.
- Salmia A. 1986. Chlorophyll-free form of *Epipactis helleborine* (Orchidaceae) in SE Finland. *Ann. Bot. Fenn.*, 23: 49-57.
- Salmia A. 1989. General morphology and anatomy of chlorophyll-free and green forms of *Epipactis helleborine* (Orchidaceae). *Ann. Bot. Fenn.*, 26: 95-105.
- Selosse M.A., Dubois M.P., Alvarez N. 2009. Do Sebaciales commonly associate with plant roots as endophytes? *Mycol. Res.*, 113: 1062-1069.
- Selosse M.A., Faccio A., Scappaticci G., Bonfante P. 2004. Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla* (Neottieae, Orchidaceae) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including truffles. *Microb. Ecol.*, 47: 416-426.

- Selosse M.A., Setaro S., Glatard F., Richard F., Urcelay C., Weiß M. 2007. Sebacinaleae are common mycorrhizal associates of Ericaceae. *New Phytol.*, 174: 864-878.
- Selosse M.A., Boullard B., Richardson D. 2011. Noël Bernard (1874-1911): orchids to symbiosis in a dozen years, one century ago. *Symbiosis*, 54: 61-68.
- Selosse M.A., Martos F., Perry B.A., Padamsee M., Roy M., Pailler T. 2010. Saprotrophic fungal symbionts in tropical achlorophyllous orchids: Finding treasures among the 'molecular scraps'? *Plant Signaling Behaviour*, 5: 1-5.
- Shefferson R.P., Weiß M., Kull T., Taylor D.L. 2005. High specificity generally characterizes mycorrhizal association in rare lady's slipper orchids, genus *Cypripedium*. *Mol. Ecol.*, 14: 613-626.
- Shefferson R.P., Taylor D.L., Weiß M., Garnica S., McCormick M.K., Adams S., Gray H.M., McFarland J.W., Kull T., Tali K., Yukawa T., Kawahara T., Miyoshi K., Lee Y.I. 2007. The evolutionary history of mycorrhizal specificity among lady's slipper orchids evolution; *Intern. J. Organ. Evol.*, 61: 1380-1390.
- Shefferson R.P., Kull T., Tali K. 2008. Mycorrhizal interactions of orchids colonizing Estonian mine tailings hills. *Am. J. Bot.*, 95: 156-164.
- Simard S.W., Perry D.A., Jones M.D., Myrold D.D., Durall D.M., Molina R. 1997. Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature*, 388: 579-582.
- Smith S.E., Read D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd edn. Academic Press, London.
- Stark C., Babik W., Durka W. 2009. Fungi from the roots of the common terrestrial orchid *Gymnadenia conopsea*. *Mycol. Res.*, 113: 952-959.
- Tedersoo L., Pellet P., Kõljalg U., Selosse M.A. 2007. Parallel evolutionary paths to mycoheterotrophy in understory Ericaceae and Orchidaceae: ecological evidence for mixotrophy in Pyroleae. *Oecologia*, 151: 206-217.
- Těšitelová T., Těšitel J., Jersáková J., Ríhová G., Selosse M.A. 2012. Symbiotic germination capability of four *Epipactis* species (Orchidaceae) is broader than expected from adult ecology. *Am. J. Bot.*, 99: 1020-1032.
- Tranchida-Lombardo V., Roy M., Bugot E., Santoro G., Püttsepp U., Selosse M.A., Cozzolino S. 2010. Spatial repartition and genetic relationship of green and albino individuals in mixed populations of *Cephalanthera* orchids. *Plant Biol.*, 12: 659-667.
- Veldre V., Abarenkov K., Bahram M., Martos F., Selosse M.A., Tamm H., Kõljalg U., Tedersoo L. 2013. Evolution of nutritional modes of Ceratobasidiaceae (Cantharellales, Basidiomycota) as revealed from publicly available ITS sequences. *Fungal Ecol.*, 6: 256-268.
- Vincenot L., Tedersoo L., Richard F., Horcine H., Kõljalg U., Selosse M.A. 2008. Fungal associates of *Pyrola rotundifolia*, a mixotrophic Ericaceae, from two Estonian boreal forests. *Mycorrhiza*, 19: 15-25.
- Watson D.M. 2009. Parasitic plants as facilitators: More dryad than Dracula? *J. Ecol.*, 97: 1151-1159.
- Yagame T., Orihara T., Selosse M.A., Yamato M., Iwase K. 2012. Mixotrophy of *Platanthera minor*, an orchid associated with ectomycorrhiza-forming Ceratobasidiaceae fungi. *New Phytol.*, 193: 178-187.
- Yamato M., Iwase K. 2008. Introduction of aymbiotically propagated seedlings of *Cephalanthera falcata* (Orchidaceae) into natural habitat and investigation of colonized mycorrhizal fungi. *Ecol. Res.*, 23: 329-337.
- Zimmer K., Hynson N.A., Gebauer G., Allen E.B., Allen M.F., Read D.J. 2007. Wide geographical and ecological distribution of nitrogen and carbon gains from fungi in pyrolids and monotropoids (Ericaceae) and in orchids. *New Phytol.*, 175: 166-175.
- Zimmer K., Meyer C., Gebauer G. 2008. The ectomycorrhizal specialist orchid *Corallorhiza trifida* is a partial mycoheterotroph. *New Phytol.*, 178: 395-400.
- Zubkov M.V., Tarran G.A. 2008. High bacterivory by the smallest phytoplankton in the North Atlantic Ocean. *Nature*, 455: 224-226.

La couleur comme communication entre orchidées et insectes pollinisateurs

Bertrand SCHATZ, Roxane DELLE-VEDOVE, Jean-Marie BESSIERE et Laurent DORMONT

Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

bertrand.schatz@cefe.cnrs.fr

Abstract – Colour as communication between orchids and pollinators. Orchids displayed a fascinating diversity of floral colour and ornamentations, due to the evolution in various strategies to attract pollinating insects. Here is a review of these strategies focused on the role of colour.

Résumé – Les orchidées sont fascinantes par la diversité des couleurs et des motifs colorés de leurs fleurs et leurs inflorescences. Ces couleurs ne nous sont pas destinées, mais résultent de l'évolution chez cette famille végétale vers différentes stratégies d'attraction des pollinisateurs. Après une présentation des informations importantes pour comprendre l'effet de la couleur, voici ici une revue de quelques modalités de ces stratégies.

Mots-clés : Couleur, Orchidées, Pollinisation

INTRODUCTION

L'écologie de la pollinisation est la science qui étudie les facteurs affectant la reproduction des plantes impliquant les insectes (ou d'autres animaux) comme vecteurs de pollen. Elle correspond principalement à l'étude de l'ensemble des facteurs impliqués dans l'attraction des insectes. Il s'agit surtout de la couleur et de l'odeur, mais aussi de la morphologie (taille, forme, pilosité) et de la phénologie (période de floraison, disposition des fleurs...) ; l'ensemble de ces facteurs est regroupé sous le terme de syndrome de pollinisation. On peut dire, par exemple, que les platanthères (présentes en France) présentent un syndrome de pollinisation nocturne lié aux papillons, puisque leurs fleurs sont blanches, grandes et équipées d'un éperon nectarifère de grande taille. Il est donc associé à un certain niveau de spécialisation pour un groupe restreint d'insectes, qui apprennent à associer l'ensemble de ces caractères dans la recherche de ces plantes. À noter que c'est la perception de cet ensemble de caractères qui permettra la reconnaissance de l'espèce recherchée : toutes les fleurs blanches ou toutes celles avec un grand éperon ne sont pas des platanthères... Les pollinisateurs ne sont pas l'unique facteur influençant l'évolution de ces syndromes ;

dans certains cas, la couleur florale peut être associée à d'autres facteurs, comme la dérive génétique, des conditions abiotiques (température, nature du sol...) ou l'influence de facteurs biotiques (pathogènes, herbivores). Par exemple, la présence d'un pigment (dont la présence est associée à la couleur) dans les tissus végétaux peut avoir comme origine la défense chimique contre un herbivore par des composés modifiant aussi la couleur végétale.

L'établissement de ces syndromes de pollinisation est bien sûr issu de l'évolution des interactions entre plantes et insectes pollinisateurs. C'est à partir de la fin du Crétacé, c'est-à-dire depuis environ 100 millions d'années, qu'il y a eu une augmentation rapide du nombre d'espèces de plantes, simultanément à celle du nombre d'insectes de différents grands taxons. Cette simultanéité a fortement favorisé l'évolution des interactions de pollinisation chez la plupart de plantes. Cependant, l'histoire est différente chez les orchidées. Même si le premier fossile d'orchidée date de 80 millions d'années, leur diversification en espèces différentes ne semble avoir eu lieu que plus récemment, c'est-à-dire depuis 20 millions d'années et pourrait se poursuivre actuellement. En bref, l'évolution des orchidées est intervenue dans un monde où il existait déjà une grande diversité d'insectes. Cette particularité

[Retour sommaire](#)

[Vers index](#)

expliquerait la grande diversité des stratégies d'attraction d'insectes chez cette famille, ainsi que son important succès évolutif puisqu'avec 25000 espèces environ, donc environ 10% des plantes à fleurs en termes de nombre d'espèces.

Pour illustrer ces syndromes de pollinisation, voici une revue de quelques stratégies d'attraction remarquables, utilisées par les orchidées françaises et focalisées sur la couleur florale. Mais avant cela, il faut bien comprendre à quoi correspond la couleur d'une fleur.

LA COULEUR DES FLEURS

La couleur d'un objet dépend de trois paramètres : de l'objet lui-même qui définira la brillance (de mat à brillant), du type de lumière (voir le spectre de la lumière solaire, Figure 1) qui définira la réflectance, et de l'animal qui la perçoit. Concernant la brillance, elle est directement liée à la microstructure de la surface de l'objet. La réflectance est elle associée aux longueurs d'ondes que l'objet absorbe ou reflète. Ainsi, une feuille éclairée en lumière solaire apparaît verte car elle reflète surtout la longueur d'onde associée au vert. Pour s'en convaincre, il n'y a qu'à observer dans la rue, le changement de couleur des voitures éclairées en lumière lunaire ! Chaque objet n'a ainsi pas de couleur propre, la couleur perçue dépendant notamment du type de lumière (solaire en général). Enfin, la couleur dépend aussi de l'œil qui la perçoit. Selon l'espèce animale, l'œil sera doté d'une diversité plus moins grande de type de photorécepteur (chaque type étant spécialisé pour la perception d'une couleur). Ainsi, la majorité des mammifères sont dichromatiques car leurs yeux possèdent deux types de photorécepteurs ; sauf quelques primates (dont l'homme) qui ont une vision trichromatique. Chez les insectes, la situation est très variée : certains ont une vision achromatique (car basée uniquement sur la brillance), d'autres sont di-, tri- et même tétrachromatique, d'autres encore perçoivent les UV.

Il est donc important de se souvenir que la couleur d'une fleur d'orchidée pourra donc être perçue de façon différente selon l'espèce d'insecte qui la perçoit, et différente de ce que nous percevons nous, humains. S'en souvenir devient important lorsque nous percevons une 'différence très nette' de couleur entre deux

orchidées, au point de les considérer comme appartenant à des espèces potentiellement différentes. La meilleure façon d'éviter cette question de la perception des couleurs est d'analyser la réflectance de l'objet étudié (ici la fleur d'orchidée) et de la comparer au spectre visible pour le pollinisateur considéré ; cette méthode sera utilisée dans quelques uns des exemples présentés. Armés de ces informations, examinons à présent les principales stratégies d'attractions des orchidées françaises, en nous focalisant sur la couleur.

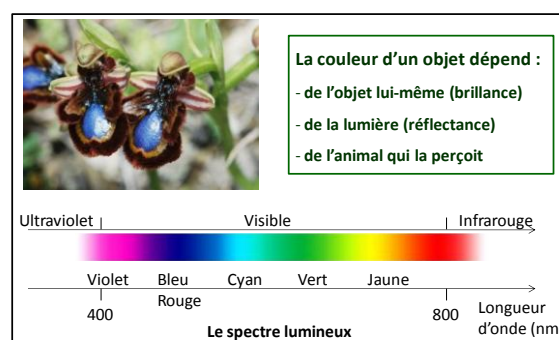


Figure 1. – La perception de la couleur, avec les longueurs d'onde (en nanomètre) du spectre lumineux. Les deux fleurs de l'ophrys miroir (*Ophrys speculum*) aux contrastes importants de morphologie et de couleur ; le centre du labelle étant bleu brillant (Photo P. Geniez).

LES ESPECES NECTARIFERES

Les espèces proposant du nectar sont monochromes (de couleur souvent verte, et parfois rose, blanche ou rouge) ou bicolores (en impliquant souvent du vert ou du blanc). Cette couleur florale verte ne se retrouve pas chez les espèces présentant d'autres stratégies d'attraction. Étant généralement peu odorantes, il est plausible de considérer que ces espèces nectarifères ont un syndrome de pollinisation plutôt orienté sur la présence de nectar que sur celle d'attractants floraux (Listères, Spiranthes, Platanthes...). Mais, il y a évidemment de nombreuses exceptions à cette tendance générale, où l'odeur ou la couleur ont un rôle important dans l'attraction comme par exemple chez les *Epipactis*.

La relation entre couleur et odeur florale constitue un sujet d'étude particulièrement

intéressant, car les pigments (responsables de la couleur florale) et les composés olfactifs émis (responsables de l'odeur florale) partagent souvent leurs voies de biosynthèse. Ce qui explique que notre attendu intuitif concernant cette relation est que deux individus aux couleurs différentes devraient avoir des odeurs différentes (ou à couleur similaire correspondrait une odeur similaire). Pour examiner ce point, le cas de la calanthe sylvatique (*Calanthe sylvatica*) est particulièrement intéressant. Cette espèce est tropicale et étudiée ici sur l'île de La Réunion où elle est appelée « l'orchidée trois couleurs » (Figures 2 et 3) ; elle est pollinisée par un papillon (*Macroglossum milvus*) à mœurs diurnes et à longue trompe.



Figure 2. – Les trois morphotypes colorés (blanc, pourpre et lilas de gauche à droite) de la calanthe sylvatique, avec un détail de fleur en bas à droite pour chaque morphotype (Photos de B. Schatz).

Tout d'abord, il est important de déterminer si cet insecte pollinisateur perçoit ces différences de couleurs (Figure 3). Le spectre de perception de cet insecte couvre le spectre de couleur où interviennent les différences entre morphotypes : il peut donc percevoir ces différences de couleurs. Pour montrer que ces fleurs ont des couleurs différentes, il ne suffit pas de dire 'qu'on le voit bien' : il faut le prouver. Cette démarche permet également d'identifier pour quelle longueur d'onde, donc pour quelle couleur, les fleurs comparées sont les plus différentes. L'analyse de la réflectance sur les trois morphotypes colorés de la *Calanthe sylvatica* (Figure 2) montre que les individus blancs absorbent toutes les longueurs d'onde (entre 500 et 700 nm) et à un niveau similaire ce qui explique qu'ils apparaissent blancs. Les individus lilas montrent un pic de réflectance dans le bleu (500 nm) et dans le rouge

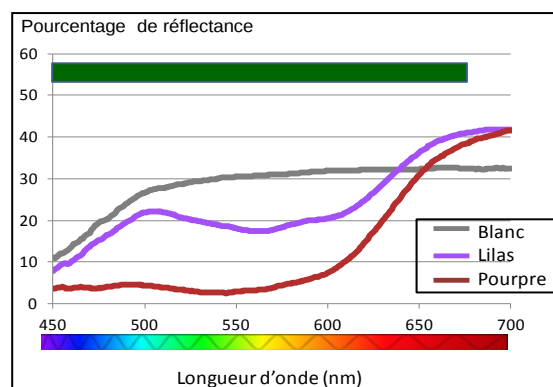


Figure 3. – Analyse de la réflectance sur les trois morphotypes colorés de la *Calanthe sylvatica*. Cette analyse consiste à mesurer le niveau de réflectance du labelle pour chaque longueur d'onde. La barre verte en haut du graphique correspond au spectre de perception du pollinisateur qui s'étend de 450 à 680 nm : il est capable de percevoir les différences de réflectance de cette orchidée.

(630 nm) ce qui explique leur couleur lilas (ou violet clair), alors que les individus pourpres montrent un pic de réflectance dans le rouge (630 nm) et au delà (> 630 nm) qui explique leur couleur pourpre. De plus, ces trois morphotypes colorés sont significativement différents entre eux pour plusieurs longueurs d'onde. Ces couleurs sont donc bien différentes entre elles et perceptibles par le pollinisateur.

Par ailleurs, l'analyse montre des différences entre ces trois morphotypes colorés pour différents aspects comme la morphologie, la période de floraison et le taux de pollinisation (Juillet *et al.*, 2010). Sachant que chaque population ne présente qu'un seul morphotype (dans la grande majorité des cas), ils diffèrent également par leur distribution : les blancs sont en altitude moyenne où la majorité des fleurs d'autres espèces sont blanches, alors que les morphotypes colorés (pourpres et lilas) sont présents à des altitudes plus importantes là où la majorité des fleurs d'autres espèces sont colorées. Cette répartition selon la couleur des fleurs environnantes pourrait donc s'expliquer par le mimétisme Batésien, hypothèse proposant que les insectes effectuent leurs visites en se focalisant sur la couleur localement majoritaire, ce qui augmenterait ainsi le taux général de pollinisation de cette couleur.

L'analyse de l'odeur a révélé une situation surprenante : les trois couleurs ne sont pas associées à trois odeurs différentes, mais seulement à deux odeurs. Ainsi, une partie des blancs émet la même odeur que les lilas, alors que l'autre partie des blancs émet une autre odeur similaire à celle des pourpres (Delle-Vedove *et al.*, 2011). La couleur n'est donc pas ici indicatrice de l'odeur, car d'une part les blancs présentent deux types d'odeur et d'autre part chacun de ces types a une odeur similaire à une forme colorée. L'attendu intuitif d'une relation couleur-odeur n'est donc pas respecté pour cette espèce. Dans l'état actuel, la meilleure hypothèse permettant d'expliquer les différentes observées entre morphotypes semble être un processus en marche de spéciation, c'est-à-dire une différenciation en cours de réalisation vers trois (sous-)espèces différentes.

LES ESPECES A LEURRE SEXUEL

Correspondant en Europe aux espèces du genre *Ophrys*, les espèces utilisant le leurre sexuel pour attirer les insectes présentent un syndrome de pollinisation très marqué où l'odeur joue un rôle essentiel dans la reconnaissance de l'espèce d'orchidée par l'insecte. Cependant, la couleur joue également un rôle important dans le mimétisme entre le labelle et le modèle, à savoir la femelle de l'insecte pollinisateur. C'est parmi ce groupe qu'existe la plus grande diversité de couleur et la plus grande complexité d'ornementations colorées (Figure 4).

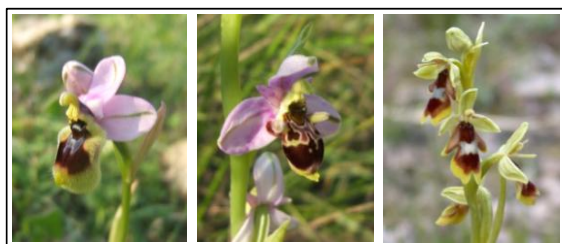


Figure 4. – Diverses ornementations colorées sur trois espèces d'Ophrys. De gauche à droite, l'ophrys négligé (*Ophrys neglecta*), l'ophrys de Saintonge (*O. santonica*) et l'ophrys d'Aymonin (*O. aymoninii*) (Photo B. Schatz).

Au-delà des différences de perceptions visuelles entre nous et les insectes, les ophrys

posent la question de savoir si toutes ces ornementations colorées sont perçues et utilisées par les insectes, et ce à quel niveau de détail. De plus, il est généralement assez difficile de modifier les couleurs présentes sur le labelle sans risquer de modifier d'autres paramètres comme l'odeur émise ou la pilosité. Cette difficulté explique sûrement l'absence de réponses concluantes pour l'instant à cette question. Cependant, Streinzer et ses collègues (2009) ont contourné cette difficulté en manipulant la présence et la couleur des sépales chez *Ophrys heldreichii*. En effet, les sépales représentent une surface colorée importante à côté du labelle, et jouent certainement un rôle dans l'attraction des pollinisateurs. De plus, leur forme et leur couleur contribuent largement à notre identification de l'espèce.

Ces auteurs ont coupé les sépales ou peint les sépales de différentes couleurs et ont comparé le temps de vol avant atterrissage sur les fleurs ou temps de recherche ('Mean search time'), et cela à deux distances depuis la fleur (Figure 5). Ces deux situations expérimentales sont comparées à la situation témoin de fleurs intactes. Ils obtiennent deux types de résultats : la couleur des sépales n'influence pas le temps de recherche de l'insecte pour les deux distances d'observation. Par contre, la présence de sépales, même si elle n'est pas importante à distance moyenne (30-60 cm), devient essentielle à courte distance (< 30cm) pour l'insecte dans sa reconnaissance de la fleur. En effet, l'absence de sépale est associée à une augmentation significative de son temps de recherche, suggérant que cette fleur sans sépale ne correspond pas complètement à son image de recherche. Ainsi, la couleur des sépales n'a pas d'effet sur l'attraction des insectes pollinisateurs, au contraire de leur présence.

LES ESPECES A LEURRE VISUEL

Correspondant à la situation la plus diversifiée en termes de stratégie d'attraction d'insectes (Jersakova *et al.*, 2006), dont deux cas seulement sont illustrés ici. Le premier (Figure 6) correspond à celui de l'orchis sureau (*Dactylorhiza sambucina*), qui présente des inflorescences rouges ou jaunes, et ce dans des proportions variables entre populations.

Le fait de présenter deux couleurs permet d'augmenter le taux de pollinisation pour l'espèce. En effet, l'insecte déçu par l'absence

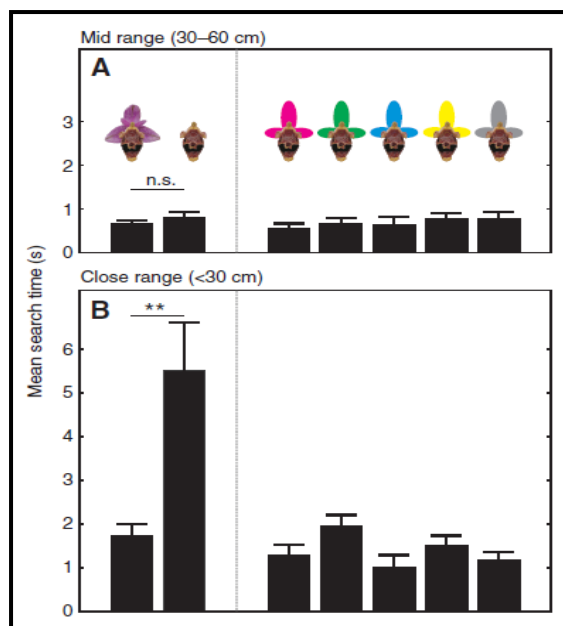


Figure 5. – Expériences de manipulation des sépales d'*Ophrys heldreichii* dont l'effet est mesuré sur la durée du comportement de recherche de l'insecte pollinisateur ('Mean search time'). Les résultats sont présentés dans la partie gauche des histogrammes quand les sépales sont coupés, et à droite quand les sépales sont peints de différentes couleurs, avec en haut les résultats à distance moyenne (30-60 cm) et en bas ceux à courte distance (< 30cm) de la fleur (D'après Streinzer *et al.*, 2009).

de nectar dans une forme colorée aura tendance à visiter l'autre forme colorée dans sa recherche de source alimentaire, ce qui augmente d'autant le taux de visites pour cette espèce. De plus, chacune de ces formes colorées peut aussi bénéficier d'une augmentation de son taux de pollinisation par mimétisme Batésien (voir avant), du fait de la proximité avec des fleurs jaunes ou rouges d'autres espèces. Ainsi, la coexistence printanière avec des coucous ou des primevères jaunes favorisera la dominance de fleurs jaunes parmi les orchis sureau voisins.

Le second cas correspond à celui l'orchis mâle (*Orchis mascula*) qui présente des populations à inflorescence pourpre, ainsi que quelques rares individus à inflorescence blanche dans certaines populations (Figure 7). Ces individus blancs sont issus de mutation, et leur fréquence n'est donc pas variable (comme dans l'exemple précédent) et reste à un niveau très faible (moins de 1% des individus de la

population) (Dormont *et al.*, 2010, 2014). Sa floraison est généralement précoce (fin mars à mi-avril en région méditerranéenne) ce qui lui permet d'être pollinisée par des insectes naïfs et inexpérimentés.



Figure 6. – Le cas de l'Orchis sureau (*Dactylorhiza sambucina*) avec ses deux types d'individus, certains aux inflorescences rouges et d'autres jaunes. Au centre, les individus jaunes et rouges sont généralement bien dispersés au sein des populations. Les proportions rouge/jaune sont variables entre les populations, avec généralement une dominance de jaune (Photos B. Schatz).



Figure 7. – La situation classique : un individu blanc dans une population d'individus pourpres d'orchis mâle (Photo B. Schatz).

Les spectres de réflectance sont très différents entre les deux catégories d'individus (Figure 8) : comme précédemment, les blancs absorbent toutes les longueurs d'onde (entre 500 et 700nm) et à un niveau similaire ce qui explique leur couleur. Les pourpres ont un pic de réflectance à 450 nm (bleu) et un autre après 650 nm (rouge). Ces deux morphotypes colorés sont significativement différents pour plusieurs longueurs d'onde, et ces différences de couleur sont perceptibles par le pollinisateur.

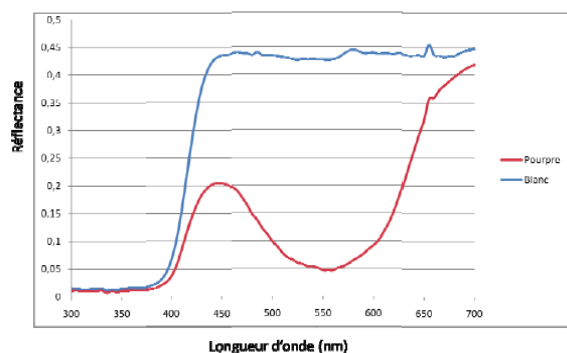


Figure 8. – Spectre de réflectance des deux catégories d'individus chez l'orchis mâle (ligne bleu pour les individus blancs, et ligne rouge pour les individus pourpres). Ces différentes couleurs sont perceptibles par les bourdons et autres hyménoptères pollinisateurs.

Les deux morphotypes colorés ne présentent pas de différences morphologiques (nombre total de fleurs, hauteur d'inflorescence, longueur de l'éperon et longueur du labelle) ni pour l'odeur émise par les fleurs (la majorité des composés volatils montrant une forte variation de leur fréquence relative dans le bouquet global) (Dormont *et al.*, 2009). Par contre, la différence de couleur provoque un effet étonnant sur les pollinisateurs, comme celui d'un attractant visuel. En effet, le taux de pollinisation est de 6% pour les individus pourpres en population monochrome, alors qu'il passe à 27% 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 (Dormont *et al.*, 2010).

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%. 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 1,6 m 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. 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 inexpérimenté (Dormont *et al.*, 2009 ; 2014).

DISCUSSION

Les différents exemples présentés ici montrent l'importance essentielle de la couleur dans l'attraction des pollinisateurs par les orchidées. Ils montrent également que la couleur n'agit pas seule dans cette attraction, mais en association avec différents autres facteurs (odeur, morphologie, phénologie) du syndrome de pollinisation. Même si elles régaler les photographes par leur couleur florale et la diversité de leurs ornements colorés, les orchidées dévoilent petit à petit leurs étonnantes stratégies d'attraction, allant de relations mutualistes avec leurs pollinisateurs à l'exploitation de leur naïveté ou de leur comportement sexuel. Les résultats obtenus chez la calanthe sylvestrique ou l'orchis mâle sont récents et nouveaux, et laissent présager qu'il reste encore de nombreuses découvertes à réaliser dans l'étude de leur écologie de pollinisation, notamment au sujet du rôle de la couleur.

Remerciements

Un grand merci à Roxane Delle-Vedove, Nicolas Juillet, Laurent Dormont, Philippe Geniez, Bruno Buatois et Jean-Marie Bessière, ainsi qu'aux orchidophiles 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.

Références

- Delle-Vedove R., Juillet N., Bessière J.M., Dormont L., Pailler T., Schatz B. 2011. Colour-scent associations in a tropical orchid: three colours but two odours. *Phytochemistry*, 72: 735-742.
- Dormont L., Delle-Vedove R., Bessière J.M., Hossaert-McKey M., Schatz B. 2009. Rare white-flowered morphs increase the reproductive success of common purple morphs in a food-deceptive orchid. *New Phytol.*, 185: 300-310.
- Dormont L., Delle-Vedove R., Bessière J.M., Hossaert-McKey M., Schatz B. 2010. Helping in food-deceptive orchids? A possible new mechanism maintaining polymorphism of floral signals. *Plant Signaling Behavior*, 5: 526-527.
- Dormont L., Delle-Vedove R., Bessière J.M., Schatz B. 2014. Floral scent emitted by white and colored morphs in orchids. *Phytochemistry*, (in press)
- Jersakova J., Johnson S.D., Kindlmann P. 2006. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biol. Rev.*, 81: 219-235.
- Juliet N., Delle-Vedove R., Dormont L., Schatz B., Pailler T. 2010. Floral trait and reproductive success variations among colour varieties in a tropical deceptive orchid. *Plant Syst. Evol.*, 289: 213-221.
- Streinzer M., Paulus H.F. and Spaethe J. 2009. Floral colour signal increases short-range detectability of a sexually deceptive orchid to its bee pollinator *J. Exp. Biol.*, 212: 1365-1370.

Protection d'une orchidée tropicale, *Vanda coerulea*, dans son milieu naturel : impact sur la protection locale de la biodiversité

François GERARD¹, Veronika CAKOVA², Minguo Li MARGRAF³, Frédéric BONTE⁴, Annelise LOBSTEIN²

¹ Boswellia, 73270 Villard sur Doron, France

² Laboratoire de pharmacognosie et substances naturelles bioactives, UMR 7200, Université de Strasbourg, 67200 Strasbourg, France

³ TianZi Biodiversity Research & Development Centre, Chine

⁴ LVMH Recherche, 45800 Saint-Jean de Braye, France

Abstract – Protection of a tropical orchid, *Vanda coerulea*, in its natural environment: impact on local biodiversity protection. Through a partnership between Guerlain CIE and TianZi Biodiversity Research & Development Centre, a program of reforestation and conservation of wild epiphytic orchids has been undertaken over the last ten years in the mountains of Xishuangbanna, in Southern Yunnan (China), regularly devastated by burns, intensive monoculture and deforestation. An example of the reintroduction of *Vanda coerulea* Griff ex. Lindl, from pollination adult specimens until the reintroduction of seedlings or adult specimen on selected trees will be shown. Impacts on local biodiversity observed to date and those expected in the long term will be presented. Favorable conditions to the full development cycle of *V. coerulea* allow spontaneous arrival of other orchid species, thus enriching the biodiversity of an initially very fragile ecosystem.

Résumé – Grâce à un partenariat entre la maison de parfums et cosmétiques Guerlain et le TianZi Biodiversity Research & Development Centre, un programme de reforestation et de conservation d'orchidées épiphytes sauvages a été entrepris depuis une dizaine d'années dans les montagnes du Xishuangbanna au Sud du Yunnan (Chine), régulièrement dévastées par les brûlis, la monoculture intensive et la déforestation. L'exemple de la réintroduction de *Vanda coerulea* Griff ex. Lindl, depuis la pollinisation des spécimens adultes, jusqu'à la réintroduction de jeunes plants ou de spécimens adultes sur des arbres sélectionnés, sera illustré. Les impacts sur la biodiversité locale observés à ce jour et ceux attendus à long terme seront présentés. Les conditions favorables au cycle complet de développement de *V. coerulea* permettent aujourd'hui la venue spontanée d'autres orchidées, contribuant ainsi à enrichir la biodiversité d'un écosystème initialement très fragilisé.

Mots-clés : *Vanda*, Biodiversité, Protection

INTRODUCTION

Depuis une dizaine d'années, la société Guerlain utilise des orchidées dans sa gamme de soins cosmétiques « Orchidée Impériale ». Les orchidées sont connues pour leur faculté d'adaptation remarquable à leur milieu, leur résistance extrême et leur présence dans toutes les régions du monde excepté les pôles. La célèbre entreprise française observe et analyse leur biologie extraordinaire en tant que source d'actifs cosmétiques originaux, à fort potentiel de développement. Afin de développer son savoir-faire sur la famille des Orchidacées, une collaboration internationale a été mise en place

en 2007, avec le soutien scientifique de LVMH recherche, en créant une plateforme de recherche unique au monde appelée *Orchidarium*. Entièrement dédiée aux orchidées, cette plateforme a pour objectif d'étudier aussi bien leur phytochimie, leurs activités biologiques, leur production, ainsi que leur protection dans leur milieu naturel.

Les orchidées ont toujours eu des significations symboliques en Extrême-Orient et y sont mentionnées pour leur beauté et leur parfum qui représentent à la fois la perfection, l'élégance, la noblesse ou encore la délicatesse (Lecoufle, 2004). Les Chinois ont été probablement les premiers à décrire les

orchidées dans les ouvrages anciens. Les premiers usages dans leur médecine traditionnelle apparaissent en 2800 avant J-C (Hossain, 2011). La beauté de leurs fleurs riches en couleurs a passionné plus d'un horticulteur et leur intérêt ornemental en a fait un produit d'une grande importance économique. Cependant, le développement d'une utilisation ornementale des orchidées à l'échelle internationale, au 20^{ème} siècle, a eu un impact sur l'abondance des espèces botaniques présentes à l'état sauvage. Certaines espèces sont en effet devenues rares, d'autres sont en voie d'extinction alors que certaines encore ont déjà disparu. La raison principale de leur disparition est la détérioration de leur écosystème natif par la main de l'homme. On peut donc considérer ces plantes comme un excellent indicateur de la qualité du biotope dans lequel elles se trouvent à l'état sauvage. Il est important de les protéger et de créer des sites de réimplantation pour les ramener dans leur milieu sauvage et maintenir la biodiversité. Dans ce contexte, Guerlain a mesuré l'urgence de mettre en place un programme de conservation des orchidées. L'*Orchidarium* s'articule autour de trois pôles, chacun aux missions précises. L'un d'eux est le pôle Biodiversité, né d'une collaboration avec Tian Zi Biodiversity Research Centre, dirigé par Minguo Li Margaf. Dans le cadre de ce partenariat, Guerlain finance une partie de la reforestation et la réintroduction d'orchidées (« réorchidisation ») d'une réserve de 444 ha, situé dans la province de Yunnan en Chine, à quelques kilomètres de la frontière de la Birmanie et du Laos (Figure 1).

Nous illustrons ici le programme de protection d'une orchidée tropicale, *Vanda coerulea* Griff ex. Lindl (Figure 2), dans son milieu naturel et son impact sur la protection locale de la biodiversité. Originaire d'Himalaya, cette orchidée communément appelée "*Vanda bleue*" a une distribution géographique qui s'étend dans plusieurs régions de l'Asie tropicale. On la trouve naturellement dans les régions indiennes (Assam, Arunachal Pradesh, Meghalaya, Nagaland), au Népal, en Birmanie, au Nord de la Thaïlande, dans le Sud de la Chine (Yunnan), et parfois au Laos, au Bhoutan et au Vietnam. Son biotope naturel correspond à des forêts à feuilles persistantes, situées entre 900 et 1800 m d'altitude (<http://www.kew.org/>

[plants-fungi/Vanda-coerulea.htm](http://www.kew.org/plants-fungi/Vanda-coerulea.htm)). *V. coerulea* est une espèce épiphyte à croissance monopodiale avec des tiges ligneuses de 1 à 1,5 cm de diamètre, pouvant atteindre 50 cm de haut. Ses feuilles sont plates, engainantes et alternes. Longues de 15-18 cm et larges de 1,7-2 cm, elles sont disposées en deux rangées opposées. L'inflorescence peut atteindre 35 cm de long portant des fleurs d'une taille de 4 à 7 cm, bleu pâle à bleu ciel, avec une mosaïque de ces couleurs foncées (Nanakorn, 2008).

Certains spécimens sauvages particulièrement rares, de couleur rose ou blanche, ont également été observés à l'état sauvage.

MATERIELS ET METHODES

Pollinisation. Chaque année, une quinzaine de fleurs provenant de spécimens différents sont artificiellement pollinisées. Les pollinies proviennent également de spécimens différents, avec une priorité donnée aux vieux spécimens, nés et originaires du site. Les fruits sont récoltés à maturation pour une reproduction *in vitro*. Après 15 à 18 mois, les jeunes *Vanda coerulea* se « durcissent, c'est-à-dire se fortifient pendant 8 mois à 1 an à Jinghong au Mekong Hill Garden (Province de Yunnan, Chine), sur du charbon de bois, principalement.

Réintroduction des spécimens adultes. Les *Vanda coerulea* sont fixées à l'aide d'un fil de fibres naturelles, à raison de 10 à 15 spécimens par arbre de prédilection. Ces ficelles d'un matériau naturel servent d'un nid d'accueil pour la micro biodiversité que les épiphytes pourront utiliser. Le départ de la tige principale est positionné à l'Est, le soleil le matin étant leur exposition la plus favorable. Les spécimens sont regroupés, à moins d'un jet de racine aérienne les unes des autres.

Suivi des populations. Les données GPS de la plupart des spécimens remarquables, et des repères sont relevés. Ces données GPS sont saisies pour toutes les espèces d'orchidées présentes sur la réserve. Avant la saison des pluies, puis après, nos populations d'orchidées sont suivies de près. Les observations, telles que leur état général, l'état de leur système racinaire, leur floraison et leur fructification, un éventuel dessèchement, sont relevées.

Reforestation. Inspiré par les travaux du Dr Josef Margraf, (biologiste spécialisé dans les milieux, sur le « jungle farming », le processus de reforestation suit une densité de plantation optimum ajustée selon leur taille. Ainsi, le squelette de ce « jungle farming » est constitué d'espèces de grands arbres de plus de 20 mètres de hauteur, comme *Shimma walichii*, et de nombreux *Castanopsis* sp. Ces arbres formeront une structure d'accueil en moins de cinq années, pour des espèces spontanées, plus ombrophiles et de plus petite taille.

Afin de favoriser la meilleure reprise d'espèces en voie de disparition que nous

réintroduisons, ce schéma de reforestation est complété par la plantation d'arbres de taille moyenne ou petite, comme par exemple *Camellia sinensis*, dont la principale fonction sera d'assurer la pérennité économique de notre programme de restauration de la biodiversité (Figure 3). L'engagement de Guerlain pour ce programme est de replanter chaque année 3 hectares supplémentaires. Ces 3 hectares supplémentaires sont reforestés par petites unités dispersées de façon à créer des chapelets de bosquets où la biodiversité spontanée peut se réinstaller dans les espaces interstitiels.



Figure 1. – Localisation du projet de reforestation et protection des orchidées dans le Sud de la province de Yunnan (Chine), symbolisée par une flèche. Données cartographiques Google Earth 2014.



Figure 2. – *Vanda coerulea* Griff. ex. Lindl. 1: source Warner R. "Select Orchidaceous plants", first series (1862-1865). 2: (<http://eol.org>).

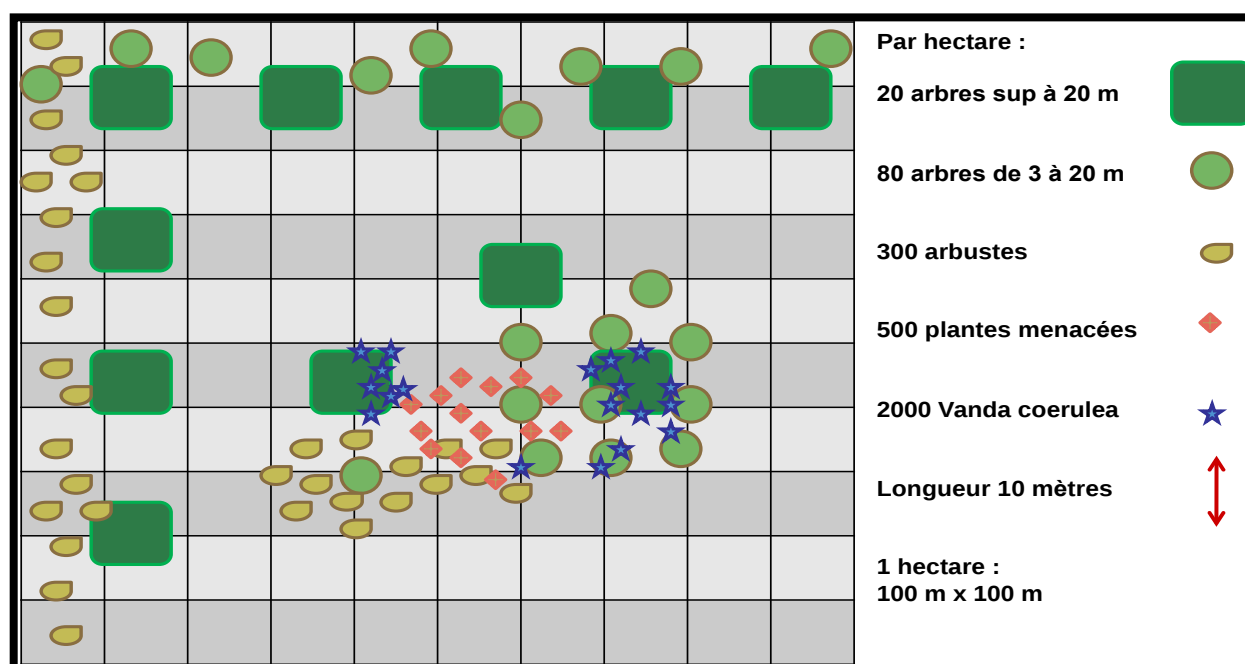


Figure 3. – Plan idéal de reforestation d'un ha de la réserve.

RESULTATS ET DISCUSSION

La réserve d'une surface de 444 ha, est située dans une zone particulièrement menacée par des déforestations massives, laissant la place dans les vallées à des plantations d'hévéas, et en altitude, à des plantations industrielles de thés. La réserve présente une macro et une micro biodiversité irrégulière selon les endroits. Elle est importante auprès des cours d'eau dans les vallées avec quelques centaines d'espèces botaniques, ainsi que dans quelques bosquets où il reste une densité de 3 à 7 arbres géniteurs pour 1000 m², avec grande diversité de plantes grimpantes, d'épiphytes, de mousses et de lichens sur les arbres restants. Plus d'une trentaine d'espèces d'orchidées ont pu être identifiées sur la réserve, par exemple *Bulbophyllum nigrescens* ou *Vanda pumila*. Trois vieux spécimens de *Vanda coerulea*, originaires du lieu, ont pu être localisés. Ces vieux spécimens trouvés dans la réserve représentent un matériel génétique précieux. Deux d'entre eux ont pu servir de géniteurs pour être croisés avec d'autres spécimens adultes de la même espèce issus du Yunnan. Depuis 3 ans, plus de 3000 spécimens adultes de *V. coerulea* ont été réintroduits dans la réserve. La plupart de ces spécimens ont été sauvés suite aux déforestations massives ayant lieu dans le Xishuagbanna ces dernières années. Nos observations nous ont conduits à

l'identification des espèces d'arbres locaux les plus appréciées par les *V. coerulea*. Il s'agit de *Castanopsis annamensis* (Fagacées) à l'écorce rugueuse et *Shima wallichii* (Théacées) à l'écorce crevassée. Lors de leur réintroduction, les spécimens sont regroupés car nous avons observé qu'au bout de deux ou trois ans, leurs racines s'entrecroisent systématiquement, probablement afin d'échanger leur microflore respective, nécessaire en particulier pour une bonne mise à fleurs.

Les spécimens issus de la reproduction *in vitro* durcissent pendant 8 mois à 1 an sur du charbon de bois principalement. C'est une période essentielle où se forme la microflore des jeunes plantules sans stress hydrique. Il n'y a quasiment pas de pertes. Au début du programme de conservation, les jeunes plants étaient installés directement sur les arbres à leur sortie du bocal. Le taux de reprise était de 50 % alors qu'il est aujourd'hui de 95 %. Les morceaux de charbon sont précieusement conservés lors de l'installation. Ils agissent comme réservoir de micro-biodiversité. A ce jour, les jeunes orchidées sont installées sur les arbres existants de plus de 6 à 7 ans, au début de la saison des pluies (mai juin). D'ici 4 à 5 ans, elles pourront être positionnées sur les sujets issus de notre programme de reforestation.

Les pollinisations naturelles des *Vanda coerulea* dans la réserve sont encore

exceptionnelles. Dans cet objectif, 300 pieds de bambous géants (*Dendrocalamus hamiltonii*) ont été plantés en 2013. Selon les travaux du Dr Santi Watthana du Queen Sirikit Botanic Garden à Chiang Mai (Thaïlande), ils sont susceptibles d'attirer la « bamboo bee », pollinisateur présumé de *Vanda coerulea*. En octobre 2013, un nouveau spécimen de *Vanda coerulea*, originaire de la réserve, a été trouvé. Une inflorescence tombée par le vent nous a permis de polliniser une dizaine d'autres fleurs d'autres spécimens. Les fruits se sont formés et seront récoltés à maturation pour être envoyés dans un laboratoire partenaire en Chine. Certaines espèces d'orchidées comme *Dendrobium chrysotoxum* se reproduisent sans interventions humaines au cœur de la réserve.

Depuis 2007, le début de notre engagement de protection et conservation, nous pouvons observer des changements dans l'environnement de la réserve. Une certaine biodiversité animale commence à s'installer sur la réserve spontanément, comme l'espèce *Tylotriton verrucosus* (salamandre "Dragon pearl") ou encore un phasme, "l'insecte feuille" de la famille des Phyllidées. Les découvertes continues des espèces d'orchidées originaires du lieu témoignent de la bonne santé de la réserve et notre impact sur le maintien de la biodiversité. Nous avons récemment découvert sur notre site l'espèce *Habenaria dentata*. Son aire de répartition s'étend depuis les contreforts de l'Himalaya jusqu'en Indochine. Le bulbe de cette orchidée terrestre est utilisé en médecine ayurvédique et chinoise comme analgésique, désinfectant, antirhumatismal, voir aphrodisiaque. C'est une des explications à sa disparition progressive du continent asiatique. Une autre espèce sauvage, *Monomeria barbata* (proche du genre *Bulbophyllum*), relativement rare, a été sauvée d'un village voisin, puis ramenée dans la réserve. Nous constatons que l'écosystème commence à se diversifier et à se structurer comme lieu d'accueil d'espèces extérieures à la réserve. Les 3 espèces d'orchidées les plus fréquentes de notre programme de protection dans la réserve sont *Dendrobium chrysotoxum*, *Vanda coerulea* et *Vanda brunnea*.

Avant la mise en route de notre programme en 2007, il y avait dans la réserve 90 espèces végétales identifiées. En 2013, nous avons 26 espèces d'orchidées présentes sur l'ensemble de la réserve (Tableau 1) et approximativement 120 espèces végétales

Tableau 1. – Liste des espèces d'orchidées présentes sur la réserve en 2013.

Espèce d'orchidées	Altitude
<i>Arundina graminifolia</i>	1724 m
<i>Ascocentrum ampulaceum</i>	1697 m
<i>Bulbophyllum colomaculosum</i>	1727 m
<i>Bulbophyllum nigrescens</i>	1637 m
<i>Cleisostoma williamsii</i>	1730 m
<i>Coelogyne nitida</i>	1692 m
<i>Coelogyne prolifera</i>	1729 m
<i>Dendrobium chrysotoxum</i>	1726 m
<i>Dendrobium cristalinum</i>	1693 m
<i>Dendrobium densiflorum</i>	1694 m
<i>Dendrobium fimbriatum</i>	
<i>Dendrobium harveyanum</i>	1692 m
<i>Dendrobium nobile</i>	1677 m
<i>Dendrobium officinale</i>	
<i>Dendrobium thyrsiflorum</i>	1693 m
<i>Epigeneium nakhaharai</i>	
<i>Habenaria dentata</i>	
<i>Monomeria barbata</i>	1695 m
<i>Oberonia jenkinsiana</i>	1728 m
<i>Otochilus fuscus</i>	1707 m
<i>Pholidota articulata</i>	1726 m
<i>Thunia alba</i>	1692 m
<i>Vanda coerulea</i>	1698 m
<i>Vanda coerulescens</i>	1700 m
<i>Vanda pumila</i>	1730 m
<i>Vandopsis gigantea</i>	1678 m
<i>Vanda subconcolor</i>	1679 m

identifiées. Naturellement présentes dans la région, les espèces suivantes ont été réintroduites à raison de plus 500 spécimens :

- *Dendrobium chrysotoxum*

- *Dendrobium fimbriatum*
- *Dendrobium officinalis*
- *Vanda brunnea*
- *Vanda coerulea*
- *Vanda coerulescens*.

Notre objectif pour l'année 2020 serait d'établir une trentaine de populations d'orchidées sauvages à raison de plus de 100 spécimens par espèce. En termes de biodiversité végétale, nous prévoyons de dépasser les 250 espèces végétales, ce qui correspond à la diversité végétale d'une forêt de théiers jardinée, comme il en existe dans le Xishuangbanna. Nous comptons réintroduire une cinquantaine d'espèces et permettre l'accueil d'une centaine d'espèces qui se réinstalleraient spontanément.

D'un point de vue quantitatif, plus de 1500 arbres ont été plantés grâce au programme Guerlain, et près de 3000 seront plantés jusqu'en 2020. Ces plantations sont accompagnées par une nouvelle méthode de semis direct, permettant un meilleur enracinement des plants.

CONCLUSION

Notre programme est en premier lieu un travail d'équipe sur le terrain. Plutôt qu'un inventaire ou un diagnostic du lieu, nous agissons via un programme concret de « réorchidisation ». Ce travail unique est également un engagement socio-économique qui éduque et favorise certaines minorités chinoises afin de les inciter à protéger la diversité culturelle et leur biodiversité naturelle.

Références

- Hossain M.M. 2011. Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances – An overview. *Fitoterapia*, 82: 102-140.
- Lecoufle M. 2004. *Le traité des Orchidées*. Artemis Editions.
- Nanacorn W., Watthana S. 2008. *Thai native orchids I*. Queen Sirikit Botanical garden, Wandia Press.
- <http://www.kew.org/plants-fungi/Vanda-coerulea.htm> (accès en octobre 2013)

La liste rouge régionale de la flore vasculaire du Centre Quel bilan pour les Orchidées ?

Jordane CORDIER

Conservatoire botanique national du Bassin parisien, Délégation Centre, 5 avenue Buffon,
BP 6407, 45064 ORLEANS Cedex 2, France

Abstract – The Red List of vascular flora of Centre region. Which situation for orchids? After nearly 8 years of work, the edition of the red book of biodiversity in the *Région Centre* is the achievement of a network including volunteers and professionals which was built with the aim of collecting, managing and promoting naturalist data. Initiated by Nature Centre, this project has been coordinated - as regards flora and natural habitats - by the Conservatoire Botanique National du Bassin Parisien (CBNBP). In line with the criteria defined by the International Union for the Conservation of Nature (IUCN), this review highlights the endangered components of biodiversity in the region. The entire regional vascular flora (*Spermatophyta* and *Pteridophyta*) has been analyzed, that is to say almost 1600 native species of flowering plants and ferns. This regional Red List of vascular flora has permitted to establish that 66 vegetal species (6%) seem to have become extinct in the region since the 18th century and more than 350 others (25%) are currently threatened. Further observations can be made for orchids. This family shows a high vulnerability rate, given that more than half of orchids are threatened. Most of those species are highly connected to fragile and rare habitats which are commonly in recession at the regional level. As such, they are especially sensitive to the actual mutations of our natural environment.

Résumé – Après 8 années de travail, l'édition du livre rouge de la biodiversité en région Centre est l'aboutissement d'un réseau de bénévoles et de professionnels qui s'est organisé autour de la collecte, de la gestion et de la valorisation des données naturalistes en région Centre. Initié par Nature Centre, ce projet a été coordonné pour les parties flore et habitats par le Conservatoire botanique national du Bassin parisien. Selon les critères définis par le standard international de l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN), cet état des lieux met en évidence les éléments menacés du territoire régional. L'ensemble de la flore vasculaire (Ptéridophytes et Spermaphytes) régionale a été analysée soit près de 1 600 espèces indigènes de fougères et de plantes à fleurs. Cette Liste rouge régionale de la flore vasculaire a permis d'établir que 66 espèces végétales (6 %) semblent avoir disparu de la région depuis le XVIII^e siècle et plus de 350 autres (25 %) sont aujourd'hui menacées. Les orchidées n'échappent pas à ce constat. Avec plus d'une espèce sur deux qui est menacée, cette famille montre que ces espèces présentent une vulnérabilité élevée. Ces espèces menacées sont toutes plus ou moins inféodées à des milieux fragiles, rares et le plus souvent en régression au niveau régional et sont ainsi d'autant plus sensibles aux mutations actuelles du territoire.

Mots-clés : Liste Rouge Régionale, Orchidées, Région Centre

INTRODUCTION

La liste rouge de la flore de la région Centre concerne l'ensemble des plantes vasculaires, également appelées végétaux supérieurs. Elle comprend, d'une part, les fougères et espèces apparentées comme les prêles (Ptéridophytes) et, d'autre part, les plantes à graines incluant les conifères (Gymnospermes) et les plantes à fleurs (Angiospermes).

De 2005 à 2013, le Conservatoire botanique national du Bassin parisien (CBNBP), service scientifique du Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN), et Nature Centre, fédération régionale des associations de protection de nature et de l'environnement, ont conduit les travaux de réalisation des listes rouges régionales. Ce travail conjoint fait du Centre la région la mieux couverte sur l'ensemble des compartiments du vivant avec 7 listes

labellisées par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) : oiseaux nicheurs, reptiles et amphibiens, poissons et écrevisses, mollusques, odonates (libellules et demoiselles), orthoptères (criquets, grillons ...) et flore vasculaire. D'autres listes sont en cours de réalisation ou sont finalisées mais non validées par l'UICN (mammifères, lépidoptères, coléoptères, bryophytes, champignons et habitats). Ces listes ont été ou seront également validées par le Conseil scientifique régional du patrimoine naturel (CSRPN). La liste rouge régionale de la flore vasculaire a été validée par le CSRPN lors d'une session dédiée, à l'unanimité, le 18 janvier 2013. Elle a été labellisée par l'UICN le 6 mars 2013.

En 2009, le Ministère en charge de l'environnement a confié à la Fédération des Conservatoires botaniques nationaux l'élaboration d'une méthode de définition des listes d'espèces végétales protégées à l'échelle régionale ou nationale. Ce travail a imposé la réalisation des listes rouges régionales comme préalable indispensable à l'actualisation des listes d'espèces protégées. Ainsi, les listes rouges régionales constituent un support scientifique déterminant pour l'évolution à venir des outils réglementaires de protection des espèces et de leur conservation dans leur milieu naturel.

En complément du Livre rouge régional à paraître en 2014, un zoom particulier est fait ici pour les Orchidées et permet de présenter l'ensemble des résultats pour cette famille.

MATERIELS ET METHODES

La base scientifique de cette liste repose d'une part sur le volume important de données contenues dans la base de données © Flora du CBNBP et d'autre part sur l'animation et la contribution d'un groupe thématique initié en 2005 et composé de naturalistes spécialistes de tout ou partie de la flore régionale.

Les membres du groupe thématique ont été : Yves Allion, Christophe Bodin, Serge Gressette, Laurent Lequivard, Philippe Maubert, Francis Olivereau, François Pinet, Jean-Claude Roberdeau, Jean-Pierre Amardeilh, Alain Berger, François Botte, Pierre Boudier, Jean-Claude Bourdin, Jean Bouton, Evelyne Cantone, David Greyo, Blandine Grillon, Etienne Herault, François Hergott, Olivier Hirschy, Gérard Laurain,

Laurent Mahe, Dominique Tessier, Noël Tremblay, Guillaume Vuitton et l'ensemble du personnel de la délégation Centre du Conservatoire botanique national du Bassin parisien.

Connaissances floristiques disponibles en région Centre

Les données anciennes et modernes concernant l'ensemble du territoire d'agrément du Conservatoire botanique national du Bassin parisien sont rassemblées dans une base de données unique (© FLORA), qui comprenait, lors de la réalisation de la liste en mars 2013, 1 399 527 données pour la région Centre. Le volume d'information concernant la famille des Orchidées était de l'ordre de 22 000 données.

Quatre grandes sources de données alimentent cette base :

- **les données bibliographiques** (7 % des données de la base de données Flora du CBNBP).

Depuis la mise en place de cette base de données en 1994, la majorité des publications et des documents contenant des informations sur la flore du Centre (livres, articles issus de revues périodiques, études...) a été rassemblée et dépouillée par le CBNBP pour extraire les données floristiques (ex : Boreau, 1849 et 1857 ; Franchet, 1885 ; Jullien-Crosnier, 1890 ; Lefèvre, 1866 ; Le Grand, 1887 et 1894 ; Martin, 1894 et Tourlet, 1908). Les informations issues de publications anciennes sont fondamentales pour estimer l'état de la flore à une époque considérée puis analyser son évolution jusqu'à nos jours.

- **le dépouillement des herbiers** (1 % des données de la base de données Flora du CBNBP).

Les herbiers sont des collections comprenant, en plus de l'échantillon de la plante, une étiquette comportant le nom de l'auteur ainsi que la date et le lieu de prélèvement. Ces données, lorsqu'elles sont complètes, permettent, tout comme les données issues de publications anciennes, de mieux connaître la localisation passée de plantes rares et de pouvoir les retrouver sur le terrain le cas échéant. Un intérêt majeur des herbiers est de pouvoir étudier à nouveau le spécimen et de vérifier sa bonne détermination. Cela permet, entre autres, de valider la présence passée d'une espèce non revue récemment.

- **le réseau de correspondants** (30 % des données de la base de données Flora du CBNBP).

L'objectif du réseau de correspondants du Centre est de fédérer les compétences et les moyens, autour de l'inventaire général de la flore régionale mené par le CBNBP, afin de partager et faire progresser la connaissance sur la flore et d'établir des collaborations durables avec les botanistes et les structures gestionnaires des milieux.

- **les prospections du CBNBP** (62 % des données de la base de données Flora du CBNBP).

De façon à obtenir une vision homogène de la flore du territoire régional, les botanistes du CBNBP sont chargés, depuis 2000, d'effectuer des inventaires de terrain. Certains départements ont bénéficié d'inventaires intensifs durant 3 ans par un botaniste : l'Eure-et-Loir de 2000 à 2002 (Dupré *et al.*, 2009) ; le Loiret de 2001 à 2003 (Pujol *et al.*, 2008) ; l'Indre de 2003 à 2005 et le nord du Loir-et-Cher en rive droite de la Loire, entre 2002 et 2003. Les prospections ont été plus discontinues dans le reste de la région. Le sud du Loir-et-Cher, essentiellement la Sologne, a surtout été visité en 2007 et 2010 et le val de Loire de 2002 à 2004 (Boudin *et al.*, 2007). Les inventaires communaux en Indre-et-Loire ont débuté en 2004 avec la participation successive de plusieurs botanistes du CBNBP.

L'inventaire du Cher a eu lieu en 2007, puis en 2009 et 2010.

Depuis 2011, le CBNBP a lancé de nouvelles campagnes de terrain afin d'engager un inventaire permanent de la flore et d'actualiser les données antérieures à 2000 sur l'ensemble de la région. Les prospections du CBNBP sont soutenues d'une part par l'Etat dans le cadre de son agrément et de programmes nationaux comme l'inventaire permanent des Zones naturelles d'Intérêt Ecologique, Faunistique et Floristique (ZNIEFF) et la Cartographie Nationale des

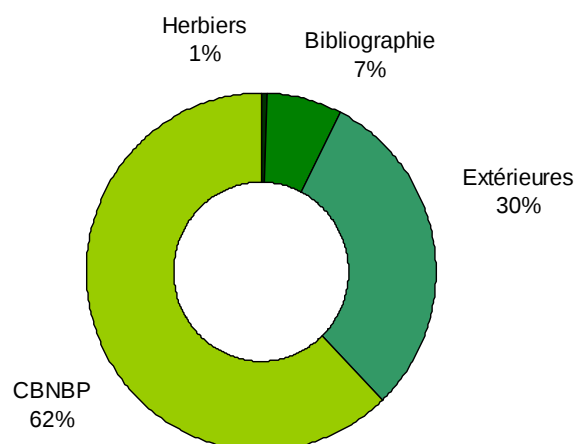


Figure 1. – Sources des données de la base de données © Flora pour la région Centre (toutes espèces de flore confondues) (Cordier *et al.*, 2012).

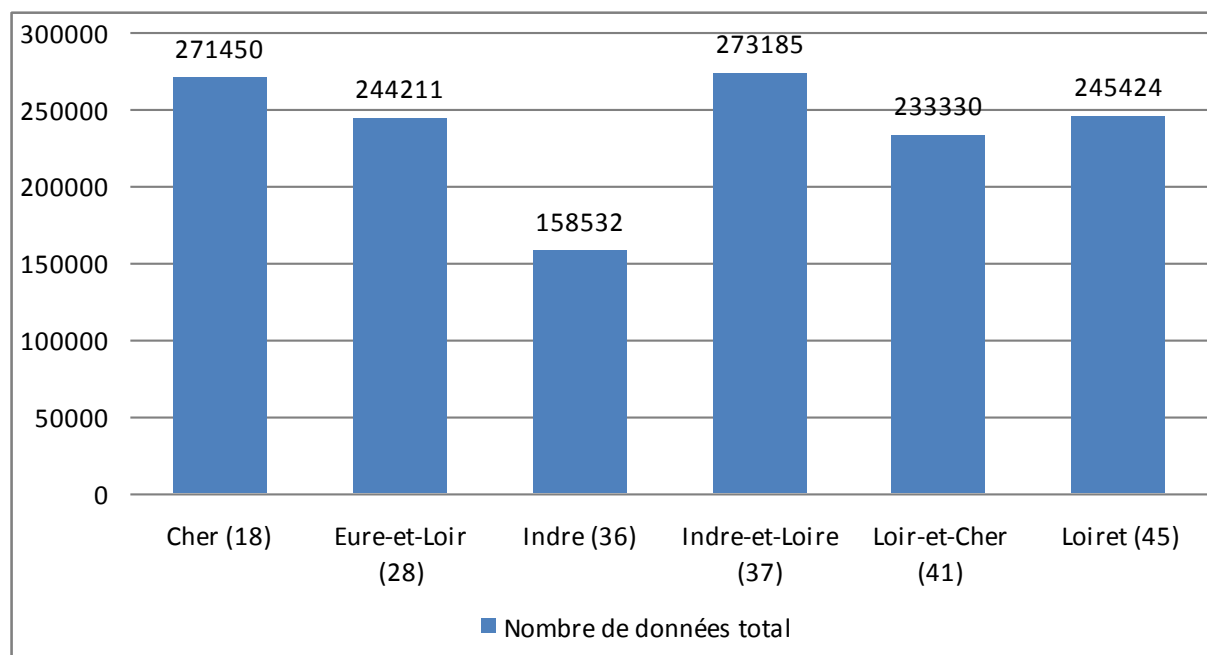


Figure 2. – Nombre de données de la base de données © Flora du CBNBP par département.

Enjeux Territorialisés de Biodiversité remarquable (CARNET B), le Conseil régional et d'autre part par des collectivités locales (Conseil général du Loiret, le Conseil général d'Eure-et-Loir, PNR du Perche, ...).

Le travail de rassemblement des informations au sein de la base de données du CBNBP est un travail très conséquent et encore partiel. Les données de la base de données du CBNBP ont été complétées par la consultation des ouvrages récents (Pinet, 2005) concernant plus spécifiquement les Orchidées (SOCL, 2002 ; Amardeilh, 2007 ; Indre Nature, 2009).

Tableau 1. – Liste des familles les plus représentées dans la flore régionale en termes de nombre d'espèces indigènes.

Famille	Nombre d'espèces
<i>Asteraceae</i>	149
<i>Poaceae</i>	135
<i>Rosaceae</i>	100
<i>Fabaceae</i>	94
<i>Cyperaceae</i>	89
<i>Apiaceae</i>	65
<i>Caryophyllaceae</i>	64
<i>Plantaginaceae</i>	56
<i>Brassicaceae</i>	55
<i>Lamiaceae</i>	54
<i>Orchidaceae</i>	51
<i>Ranunculaceae</i>	48
<i>Orobanchaceae</i>	31
<i>Boraginaceae</i>	24
<i>Rubiaceae</i>	22
<i>Juncaceae</i>	21
<i>Polygonaceae</i>	21
<i>Potamogetonaceae</i>	19
<i>Euphorbiaceae</i>	18

Etat des lieux régional, la place des Orchidées dans leur milieu naturel

Les Orchidées en région Centre représentent 75 taxons (espèces et rangs infraspécifiques) dont 51 espèces (hors hybrides) indigènes et naturalisés. Le nombre total d'espèces indigènes ou naturalisées de la flore en région Centre est estimé à 1591 (Cordier *et al.*, 2010, 2012). Les Orchidées représentent ainsi 3,20 % de la diversité

régionale et se situent au 11^{ème} rang des familles quant à leur diversité spécifique.

La région Centre abrite une part assez modeste de la biodiversité spécifique nationale de la famille des Orchidées. Seules 35,6 % des espèces (et 36,2 % des taxons) de France continentale sont ou ont été présentes en région Centre.

A noter que 9 espèces sont représentées par une seule sous-espèce correspondant au « type » en région Centre. Dans ces cas, seul le niveau infraspécifique sera pris en compte dans les résultats suivants afin d'éviter de compter deux fois la même entité.

Méthode d'élaboration de la liste rouge de la flore

La liste rouge régionale de la flore a été réalisée sur la base des critères UICN pour l'élaboration de listes rouges, selon les recommandations du guide UICN France 2011 (*Guide pratique pour la réalisation de Listes rouges régionales des espèces menacées - Méthodologie de l'UICN & démarche d'élaboration. Paris, France*).

Le système de la Liste rouge régionale comporte six catégories allant des espèces non menacées (« Préoccupation mineure » ou LC) aux espèces éteintes régionalement (« Disparu en région Centre » ou EX). Il existe deux catégories supplémentaires au niveau régional : « données insuffisantes » (DD) et « non applicable » (NA), par exemple pour les espèces non indigènes.

Sur proposition de l'UICN, une rubrique supplémentaire a été créée. Elle concerne les espèces qui, bien que connues de manière moderne (≥ 1990), n'ont pas été revues depuis un certain temps mais dont la disparition du dernier individu de l'espèce n'est pas certaine (en raison de recherches ou d'un nombre de retours sur sites insuffisant). Il a été possible ainsi d'indiquer cette situation en classant les espèces dans la catégorie « En danger critique, probablement éteint ? (CR*) ».

La méthode s'appuie sur 5 critères, déclinés ou non selon l'état des connaissances. Ainsi, si les critères n'ont pas été modifiés, ils n'ont pu être tous évalués en raison de l'absence, pour certains, d'éléments statistiques et scientifiques suffisamment solides pour leur renseignement. Deux critères n'ont pu être appliqués, il s'agit du :

- **Critère A « Réduction de la population »** : l'UICN préconise une analyse

sur 10 ans minimum ou 3 générations de l'espèce étudiée. En région Centre, l'unique synthèse régionale disponible et fiable pour estimer une régression est située entre la fin du XIX^e siècle et le début du XX^e siècle. A cette période, la quasi-totalité des départements ainsi que la région ont bénéficié de la publication de catalogues de la flore résultant d'une phase intensive d'inventaires. Depuis, il existe peu de donnée flore et encore moins de synthèse jusqu'au début des années 1970. Enfin, les données de la période 1970-1990 sont trop incomplètes et partielles pour un calcul d'un indice de dynamique des populations. De plus, un pas de temps de 10 ans pour estimer la régression d'une espèce

végétale semble peu pertinent. En effet, un pas de temps plus long permet également de visualiser des tendances effectives de fond reflétant les évolutions d'occupation du territoire ainsi que la transformation et la destruction d'habitats naturels jadis abondants. Malgré l'importance du volume des données concernant les orchidées et le travail de collecte organisé par les associations depuis de nombreuses années par un réseau d'observateurs actifs, une telle analyse n'a pu être conduite.

- **Critère E « Analyse quantitative »** : il requiert des éléments de modélisation de la dynamique des populations aujourd'hui non disponibles.

Tableau 2. – Nombre d'espèces et de taxons indigènes et naturalisés en région Centre et de France continentale (hors hybrides) d'après Bournérias, Prat *et al.*, (2005).

Genre	Nombre d'espèces		Nombres de taxons infraspécifiques	
	France continentale	Centre	France continentale	Centre
<i>Anacamptis</i>	9	5	9	2
<i>Cephalanthera</i>	3	3	-	-
<i>Chamorchis</i>	1	-	-	-
<i>Coeloglossum</i>	1	1	2	2
<i>Corallorrhiza</i>	1	-	-	-
<i>Cypripedium</i>	1	-	-	-
<i>Dactylorhiza</i>	20	8	20	10
<i>Epipactis</i>	17	6	8	2
<i>Epipogium</i>	1	-	-	-
<i>Gennaria</i>	1	-	-	-
<i>Goodyera</i>	1	1	-	-
<i>Gymnadenia</i> (sectio <i>Gymnadeniae</i>)	3	3	2	2
<i>Gymnadenia</i> (sectio <i>Nigritellae</i>)	5	5	2	2
<i>Hammarbya</i>	1	1	-	-
<i>Herminium</i>	1	1	-	-
<i>Himantoglossum</i>	2	1	-	-
<i>Limodorum</i>	2	2	2	2
<i>Liparis</i>	1	1	2	2
<i>Listera</i>	3	2	-	-
<i>Neotinea</i>	5	1	2	2
<i>Ophrys</i>	40	6	9	6
<i>Orchis</i>	11	5	2	1
<i>Platanthera</i>	2	2	2	1
<i>Pseudorchis</i>	1	1	2	2
<i>Serapias</i>	8	1	-	-
<i>Spiranthes</i>	2	2	-	-
<i>Traunsteinera</i>	1	1	-	-
TOTAL	143	51	64	23

Tableau 3. – Nombre de taxons et d'Orchidées disparus au niveau régional, de la liste rouge régionale et de la liste orange de la flore vasculaire du Centre.

Catégories UICN	Nombre de taxons (<i>Orchidaceae</i>)	Nombres de taxons de la flore régionale
Disparus au niveau régional	5	66
Liste rouge :	25	351
- En danger critique, probablement éteints	1	20
- En danger critique	8	148
- En danger	7	110
- Vulnérables	9	73
Liste orange = « Quasi menacés »	1	68
TOTAL	31	485

Enfin, une liste orange, correspondant aux taxons « quasi-menacés » a été créée afin de compléter la liste des taxons menacés. Cette catégorie a été définie également en suivant les préconisations de la méthode de l'UICN.

RESULTATS

L'ensemble des taxons (espèces, sous-espèces, variétés, formes) dont la présence passée ou moderne a été confirmée en région Centre a été évalué.

L'analyse du risque d'extinction des Orchidées du Centre selon les critères UICN a permis d'identifier 31 taxons d'Orchidées (représentant au total 27 espèces) relevant de la liste rouge régionale et des catégories « Disparus au niveau régional » « Liste rouge » et « quasi menacés ». Cela représente un taux important d'espèces menacées pour cette famille avec plus d'une espèce sur deux.

Les autres taxons de la famille des Orchidées ont été répartis dans les catégories Préoccupation mineure (LC), Données insuffisantes (DD) ou Non applicable (NA).

Parmi les espèces évaluées, ce sont ainsi 23 espèces qui se sont révélées non menacées selon les critères UICN et ont été classées dans la rubrique des espèces en « Préoccupation mineure » (LC).

Les espèces ne devant pas être soumises à évaluation ont été identifiées et classées dans la catégorie « Non applicable » (NA). Il s'agit des espèces exotiques introduites, subspontanées, naturalisées, visiteuses

(accidentelles) au niveau régional. En effet, la liste rouge constitue un état des lieux des espèces indigènes (incluant les archéophytes) qui se reproduisent dans le milieu naturel et qui y sont régulièrement présentes sans introduction volontaire régulière.

Les hybrides de première génération, fréquents dans la famille des Orchidées et mieux étudiés que pour d'autres familles de plantes, ont été classés dans la rubrique « Non applicable » (NA). Ceux-ci restent généralement stériles ou constituent seulement des populations locales hybridogènes n'entrant pas dans les taxons soumis à évaluation.

Les taxons pour lesquels les données disponibles ne permettent pas de répondre aux critères de l'UICN ont été classés dans la catégorie « Données insuffisantes » (DD). Ces taxons ne sont pas à considérer comme non menacés. Il s'agit de taxons méconnus qui seraient considérés comme menacés si on s'en tenait au niveau des connaissances actuelles mais qui est jugé insuffisant. La mise en évidence de ces taxons permet d'encourager l'acquisition de connaissances. Cette rubrique comprend essentiellement des sous-espèces et variétés et inclut, également, une espèce mise en évidence dans la région seulement depuis ces dernières années : *Gymnadenia pyrenaica* (Philippe) Giraudias, 1892. Cette dernière ne bénéficie ni de cartographies dans les atlas départementaux et régionaux publiés ni d'inventaires suffisants au moment de cette étude.

Tableau 4. – Liste des taxons de la famille des Orchidées relevant des catégories UICN (Listes rouge et orange régionales et espèces disparues au niveau régional).

Nom scientifique des taxons menacés de la région Centre (Taxref v7.0)
RE = Disparus au niveau régional (5)
<i>Dactylorhiza sambucina</i> (L.) Soó, 1962 (94279)
<i>Dactylorhiza traunsteineri</i> (Saut.) Soó, 1962 (94287)
<i>Hammarbya paludosa</i> (L.) Kuntze, 1891 (100739)
<i>Herminium monorchis</i> (L.) R.Br., 1813 (101315)
<i>Liparis loeselii</i> (L.) Rich., 1817 (106353)
CR* = En danger critique, probablement éteints (1)
<i>Limodorum trabutianum</i> Batt., 1886 (106035)
CR = En danger critique (8)
<i>Anacamptis coriophora</i> (L.) Bateman, Pridgeon & Chase subsp. <i>coriophora</i> (162132)
<i>Anacamptis palustris</i> (Jacq.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, 1997 (82286)
<i>Dactylorhiza elata</i> (Poir.) Soó, 1962 (94252)
<i>Dactylorhiza elata</i> subsp. <i>brennensis</i> E.Nelson, 1976 (94247)
<i>Dactylorhiza elata</i> subsp. <i>sesquipedalis</i> (Willd.) Soó, 1962 (133668)
<i>Gymnadenia odoratissima</i> (L.) Rich., 1817 (100614)
<i>Ophrys sulcata</i> Devillers & Devillers-Tersch., 1994 (110480)
<i>Spiranthes aestivalis</i> (Poir.) Rich., 1817 (124699)
EN = En danger (7)
<i>Dactylorhiza incarnata</i> (L.) Soó subsp. <i>incarnata</i> (133675)
<i>Dactylorhiza viridis</i> (L.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, 1997 (94289)
<i>Epipactis atrorubens</i> (Hoffm.) Besser, 1809 (96432)
<i>Epipactis microphylla</i> (Ehrh.) Sw., 1800 (96454)
<i>Epipactis palustris</i> (L.) Crantz, 1769 (96465)
<i>Epipactis purpurata</i> Sm., 1828 (611289)
<i>Spiranthes spiralis</i> (L.) Chevall., 1827 (124701)
VU = Vulnérables (9)
<i>Cephalanthera rubra</i> (L.) Rich., 1817 (89928)
<i>Dactylorhiza praetermissa</i> (Druce) Soó, 1962 (94273)
<i>Dactylorhiza praetermissa</i> var. <i>junialis</i> (Verm.) Senghas, 1968 (146011)
<i>Dactylorhiza praetermissa</i> var. <i>praetermissa</i> (146012)
<i>Epipactis muelleri</i> Godfery, 1921 (96456)
<i>Limodorum abortivum</i> (L.) Sw., 1799 (106026)
<i>Ophrys araneola</i> sensu auct.plur. (620041)
<i>Ophrys fuciflora</i> (F.W.Schmidt) Moench, 1802 (110392)
<i>Orchis militaris</i> L., 1753 (110920)
NT = Quasi menacés (1)
<i>Dactylorhiza majalis</i> subsp. <i>majalis</i> (612455)

Tableau 5. – Liste des taxons de la famille des Orchidées relevant de la catégorie de menaces UICN « Préoccupation mineure » (LC).

Nom scientifique des taxons de la catégorie « Préoccupation mineure » (Taxref v7.0)
<i>Anacamptis laxiflora</i> (Lam.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, 1997
<i>Anacamptis morio</i> (L.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, 1997
<i>Anacamptis pyramidalis</i> var. <i>pyramidalis</i>
<i>Cephalanthera damasonium</i> (Mill.) Druce, 1906
<i>Cephalanthera longifolia</i> (L.) Fritsch, 1888
<i>Dactylorhiza fuchsii</i> (Druce) Soó, 1962
<i>Dactylorhiza maculata</i> (L.) Soó, 1962
<i>Dactylorhiza maculata</i> subsp. <i>ericetorum</i> (E.F.Linton) P.F.Hunt & Summerh., 1965
<i>Epipactis helleborine</i> (L.) Crantz, 1769
<i>Gymnadenia conopsea</i> (L.) R.Br., 1813
<i>Himantoglossum hircinum</i> (L.) Spreng., 1826
<i>Neotinea ustulata</i> (L.) R.M.Bateman, Pridgeon & M.W.Chase, 1997
<i>Neottia nidus-avis</i> (L.) Rich., 1817
<i>Neottia ovata</i> (L.) Bluff & Fingerh., 1837
<i>Ophrys apifera</i> Huds., 1762
<i>Ophrys aranifera</i> Huds. subsp. <i>aranifera</i>
<i>Ophrys insectifera</i> L., 1753
<i>Orchis anthropophora</i> (L.) All., 1785
<i>Orchis mascula</i> (L.) L. subsp. <i>mascula</i>
<i>Orchis purpurea</i> Huds., 1762
<i>Orchis simia</i> Lam., 1779
<i>Platanthera bifolia</i> (L.) Rich. subsp. <i>bifolia</i>
<i>Platanthera chlorantha</i> (Custer) Rchb., 1828
<i>Serapias lingua</i> L., 1753

Tableau 6. – Liste des taxons de la région Centre relevant de la catégorie UICN Non applicable (NA) (sources : © Flora du CBNBP, J.C. Roberdeau (SFOCL), Amardeilh, 2007 et Indre Nature, 2009).

Nom scientifique des taxons de la catégorie « Non applicable » (NA) (Taxref v7.0)
Les taxons accidentels
<i>Serapias neglecta</i> De Not., 1844
<i>Serapias vomeracea</i> (Burm.f.) Briq., 1910
Les taxons naturalisés
<i>Goodyera repens</i> (L.) R.Br., 1813

Les hybrides (nom scientifique / parent 1 x parent 2)

<i>Anacamptis</i> x <i>alata</i> (Fleury) H.Kretzschmar, Eccarius & H.Dietr., 2007	<i>Anacamptis laxiflora</i> x <i>Anacamptis morio</i>
<i>Anacamptis</i> x <i>lloydiana</i> (Rouy) H.Kretzschmar, Eccarius & H.Dietr., 2007	<i>Anacamptis laxiflora</i> x <i>Anacamptis palustris</i>
<i>Anacamptis</i> x <i>genevensis</i> (Chenevard) H.Kretzschmar, Eccarius & H.Dietr., 2007	<i>Anacamptis morio</i> x <i>Anacamptis palustris</i>
<i>Anacamptis</i> x <i>olida</i> (Bréb.) H.Kretzschmar, Eccarius & H.Dietr., 2007	<i>Anacamptis coriophora</i> subsp. <i>coriophora</i> x <i>Anacamptis morio</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>bourdonii</i> D.Tyteca & Gathoye, 1988	<i>Dactylorhiza brennensis</i> x <i>Dactylorhiza incarnata</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>dubreuilhii</i> (G.Keller & Jeanj.) Soó, 1962	<i>Dactylorhiza elata</i> x <i>Dactylorhiza incarnata</i> subsp. <i>incarnata</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>hallii</i> (Druce) Soó, 1962	<i>Dactylorhiza maculata</i> x <i>Dactylorhiza praetermissa</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>kerneriorum</i> (Soó) Soó, 1962	<i>Dactylorhiza fuchsii</i> x <i>Dactylorhiza incarnata</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>paridaeniana</i> Kreutz, 1990	<i>Dactylorhiza elata</i> x <i>Dactylorhiza praetermissa</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>stagni-novi</i> D.Tyteca & Gathoye, 1988	<i>Dactylorhiza brennensis</i> x <i>Dactylorhiza fuchsii</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>townsendiana</i> (Rouy) Soó, 1960	<i>Dactylorhiza maculata</i> subsp. <i>ericetorum</i> x <i>Dactylorhiza majalis</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>transiens</i> (Druce) Soó, 1962	<i>Dactylorhiza fuchsii</i> x <i>Dactylorhiza maculata</i> subsp. <i>ericetorum</i>
<i>Dactylorhiza</i> x <i>vermeuleniana</i> Soó, 1973	<i>Dactylorhiza maculata</i> x <i>Dactylorhiza majalis</i>
<i>Epipactis</i> x <i>reineckeii</i> M.Bayer, 1986	<i>Epipactis helleborine</i> subsp. <i>helleborine</i> x <i>Epipactis muelleri</i>
<i>Gymnadenia</i> x <i>intermedia</i> Peterm., 1841	<i>Gymnadenia conopsea</i> x <i>Gymnadenia odoratissima</i>
<i>Ophrys</i> x <i>albertiana</i> E.G.Camus, 1891	<i>Ophrys apifera</i> x <i>Ophrys fuciflora</i>
<i>Ophrys</i> x <i>devenensis</i> Rchb.f., 1851	<i>Ophrys fuciflora</i> x <i>Ophrys insectifera</i>
<i>Ophrys</i> x <i>hybrida</i> Pokorný ex Rchb.f., 1851	<i>Ophrys aranifera</i> x <i>Ophrys insectifera</i>
<i>Ophrys</i> x <i>jeanpertii</i> E.G.Camus, 1891	<i>Ophrys araneola</i> x <i>Ophrys aranifera</i>
<i>Ophrys</i> x <i>obscura</i> Beck, 1879	<i>Ophrys aranifera</i> x <i>Ophrys fuciflora</i>
<i>Orchis</i> x <i>angusticruris</i> Franch. ex Rouy, 1912	<i>Orchis purpurea</i> x <i>Orchis simia</i>
<i>Orchis</i> x <i>bergonii</i> Nanteuil, 1887	<i>Orchis anthropophora</i> x <i>Orchis simia</i>
<i>Orchis</i> x <i>beyrichii</i> A.Kern., 1865	<i>Orchis militaris</i> x <i>Orchis simia</i>
<i>Orchis</i> x <i>hybrida</i> Boenn. ex Rchb., 1830	<i>Orchis militaris</i> x <i>Orchis purpurea</i>
<i>Platanthera</i> x <i>hybrida</i> Brügger, 1882	<i>Platanthera bifolia</i> x <i>Platanthera chlorantha</i>
x <i>Anacamptorchis bonnieriana</i> (E.G.Camus ex Fourcy) B.Bock, 2012	<i>Anacamptis palustris</i> x <i>Orchis militaris</i>
x <i>Dactylocamptis leguei</i> (E.G.Camus) B.Bock, 2012	<i>Anacamptis laxiflora</i> x <i>Dactylorhiza incarnata</i> subsp. <i>incarnata</i>
x <i>Dactylocamptis rouyana</i> (E.G.Camus) B.Bock, 2012	<i>Anacamptis palustris</i> x <i>Dactylorhiza majalis</i>
x <i>Dactylodenia legrandiana</i> (E.G.Camus) Peitz, 1972	<i>Dactylorhiza maculata</i> x <i>Gymnadenia conopsea</i>
x <i>Dactylodenia toussaintiorum</i> D.Tyteca & Gathoye, 1988	<i>Dactylorhiza brennensis</i> x <i>Gymnadenia conopsea</i>
x <i>Dactylodenia regeliana</i> (Brügger) Peitz, 1972	<i>Dactylorhiza fuchsii</i> x <i>Gymnadenia odoratissima</i>

× <i>Gymnanacamptis evequei</i> (L.C.Lamb.) B.Bock, 2012	<i>Anacamptis laxiflora</i> × <i>Gymnadenia odoratissima</i>
× <i>Gymnaplatanthera borelii</i> L.C.Lamb., 1907	<i>Gymnadenia odoratissima</i> × <i>Platanthera chlorantha</i>
	<i>Serapias lingua</i> × <i>Anacamptis morio</i>
	<i>Dactylorhiza fuchsii</i> × <i>Dactylorhiza praetermissa</i>
	<i>Dactylorhiza incarnata</i> × <i>Dactylorhiza praetermissa</i> subsp. <i>junialis</i>
	<i>Dactylorhiza incarnata</i> × <i>Dactylorhiza praetermissa</i> subsp. <i>praetermissa</i>
	<i>Dactylorhiza maculata</i> subsp. <i>ericetorum</i> × <i>Dactylorhiza praetermissa</i> subsp. <i>junialis</i>
	<i>Dactylorhiza maculata</i> subsp. <i>ericetorum</i> × <i>Dactylorhiza praetermissa</i> subsp. <i>praetermissa</i>

Tableau 7. – Liste des taxons de la région Centre relevant de la catégorie UICN Données insuffisantes (DD).

Nom scientifique des taxons relevant de la catégorie « Données insuffisantes » (DD) (Taxref v7.0)
<i>Dactylorhiza maculata</i> (L.) Soó subsp. <i>maculata</i>
<i>Epipactis helleborine</i> (L.) Crantz subsp. <i>helleborine</i>
<i>Epipactis helleborine</i> subsp. <i>minor</i> (Engel) Engel, 1992
<i>Gymnadenia pyrenaica</i> (Philippe) Giraudias, 1892
<i>Ophrys apifera</i> var. <i>aurita</i> Moggr., 1869
<i>Ophrys apifera</i> var. <i>flavescens</i> Rosbach, 1880
<i>Ophrys apifera</i> var. <i>immaculata</i> Bréb., 1849
<i>Ophrys apifera</i> var. <i>saraepontana</i> Ruppert
<i>Ophrys apifera</i> var. <i>trollii</i> (Hegetschw.) Rchb.f., 1851

Prise en compte des espèces de la liste rouge régionale dans la réglementation actuelle afférente aux espèces protégées

Si l'on étudie le statut de protection des Orchidées, il ressort qu'une majorité des espèces menacées selon les critères UICN sont prises en compte dans les listes de protection régionales ou nationales en vigueur. Cette part des taxons menacés protégés dépasse les 75 % (soit 24 des 31 taxons menacés). A noter également, la protection de 6 taxons classés en préoccupation mineure.

L'ensemble de ces éléments plaident pour un examen et un ajustement des listes actuelles de protection afin de préciser le contexte légal de l'intégration des taxons menacés non protégés mais également des taxons non

menacés dont la protection ne se justifie pas aisément.

Par ailleurs, il est à noter que la famille des Orchidées constitue la famille la mieux prise en compte actuellement dans les listes de protection en région Centre avec 30 taxons inscrits sur les listes de protection nationale et régionale.

Chorologie des espèces menacées, quasi-menacées et disparues

Par la place biogéographique de la région Centre, on retrouve dans la liste des taxons menacés un mélange de taxons à large distribution (Eurasiatique) et des taxons avec des influences plus marquées méridionales, méridio-atlantiques, continentales et boréales dans des proportions assez « équilibrées ».

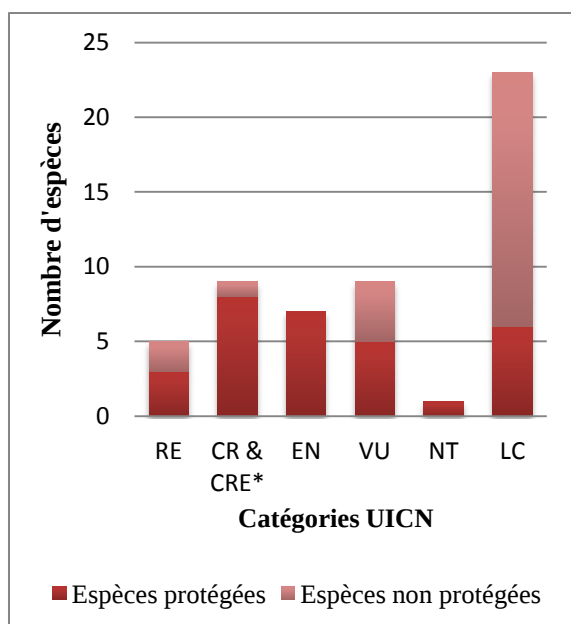


Figure 3. – Prise en compte des taxons menacés dans la réglementation actuelle (arrêté du 20/01/1982 fixant la liste des espèces végétales protégées sur l'ensemble du territoire et arrêté du 13/05/1993 relatif à la liste des espèces végétales protégées en région Centre complétant la liste nationale).

Tableau 8. – Nombre de taxons par grandes catégories de chorologie simplifiée.

Chorologie simplifiée	Nombre de taxons
Eurasiatique	9
Eurasiatique occidentale/Européen	7
Méridional-atlantique	5
"Continental"	4
"Boréal"	3
"Méridional"	2
Endémique	1

La région Centre est une région de plaine au positionnement biogéographique très particulier. Elle se trouve à la confluence d'influences climatiques atténuées des domaines atlantique, continental et, dans une moindre mesure, submontagnard (contreforts du Massif central à l'extrême sud de l'Indre et du Cher et dans Pays-Fort). La composition floristique de certains secteurs reliques révèle également des influences climatiques

anciennes : influence subméditerranéenne dans le sud du Cher et de l'Indre-et-Loire et influence boréale au niveau des régions naturelles propices aux tourbières (Sologne, Pays-Fort...). L'ensemble de ces variations et leur histoire ont conduit à la présence d'un nombre important d'espèces en limite d'aire de répartition ou en aire morcelée ne trouvant que des niches écologiques extrêmement isolées et restreintes en termes de nombre et de surface.

Les Orchidées n'échappent pas à cette particularité régionale. C'est le cas pour un nombre non négligeable d'entre elles dont la limite d'aire traverse la région Centre. Cette position géographique peut impliquer une vulnérabilité locale plus importante de ces populations.

9 taxons en limite d'aire de répartition sont concernés par la liste rouge régionale et se répartissent comme suit :

- 5 en limite occidentale, nord-occidentale et sud-occidentale (*Herminium monorchis* (L.) R.Br., 1813 ; *Epipactis purpurata* Sm., 1828 ; *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser, 1809 ; *Dactylorhiza traunsteineri* (Saut.) Soó, 1962 et *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soó, 1962) ;
- 2 en limite méridionale : *Dactylorhiza praetermissa* var. *praetermissa* ; *Dactylorhiza praetermissa* var. *junialis* (Verm.) Senghas, 1968 ;
- 2 en limite nord-orientale : *Dactylorhiza elata* (Poir.) Soó, 1962 et *Dactylorhiza elata* subsp. *sesquipedalis* (Willd.) Soó, 1962.

Les grands « types d'habitats naturels et semi-naturels » des espèces disparues, menacées et quasi-menacées

Au niveau de la liste rouge régionale de la flore vasculaire, les zones humides et les pelouses calcaires et sablo-calcaires abritent une proportion importante de la diversité végétale. Le fait que ces milieux abritent le plus grand nombre en espèces disparues, menacées et quasi-menacées (les pelouses calcaires : 25 % ; les étangs, mares et cours d'eau : 16 % ; les tourbières, bas-marais et landes humides : 11% ; les prairies humides : 10 %), leur attribue un rôle support déterminant de la biodiversité régionale.

La famille des Orchidées reflète très fortement cette tendance et apparaît au moins pour ses espèces patrimoniales très fortement reliées à ces habitats.

Répartition Maille 10*10 INPN
 Moins de 10 observations
 Entre 10 et 100 observations
 Plus de 100 observations
 Territoires agréments CBN
 Conservatoire botanique en création
 Conservatoires botaniques agréés

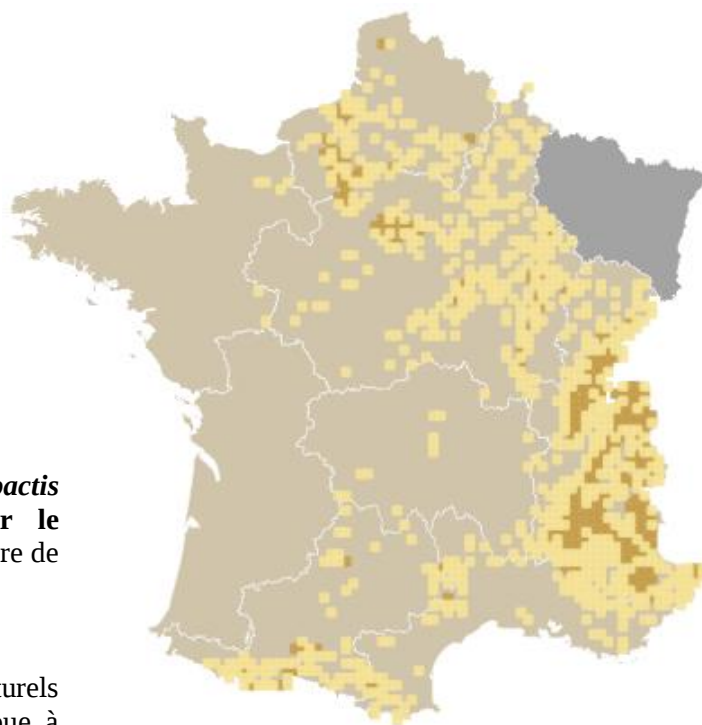


Figure 4. – carte de répartition d'*Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser, 1809 sur le territoire métropolitain (source : © SI Flore de la FCBN).

Afin de déterminer les milieux naturels abritant ces espèces menacées, on attribue à chaque taxon d'Orchidées retenu un grand type d'habitat préférentiel. En calculant le nombre de taxons ainsi obtenu par grands types de milieu, il en ressort que deux grands types de milieu abritent des enjeux très forts en termes de conservation pour les Orchidées :

- les zones humides (prairies humides et marais, tourbières, bas-marais et landes humides) où le nombre de taxons menacés est de loin le plus important avec 19 taxons ;
- les pelouses calcaires et boisements associés (pelouses sèches calcicoles ; forêts claires calcicoles) avec 10 taxons menacés.

En appliquant le même procédé et en s'appuyant sur un rattachement phytosociologique de l'espèce à un syntaxon, on peut connaître plus précisément les végétations abritant les espèces d'Orchidées menacées de la région Centre.

La combinaison des espèces menacées et des grands types de milieux de prédilection permet de déterminer les types de végétation qui ont un rôle avéré et primordial de support d'une diversité végétale locale patrimoniale. Une analyse supplémentaire sur l'évolution des fréquences de présence des espèces patrimoniales par grands types de milieu (par exemple entre le XIX^e siècle et aujourd'hui) permettrait de savoir si la vulnérabilité des espèces est liée à une rareté de longue date de ces milieux ou à une régression contemporaine.

Tableau 9. – Proportion d'espèces disparues (RE), menacées (CR, CR*, EN, VU) et quasi-menacées (NT) par grands types de milieu.

Les grands types d'habitats	Nombre de taxons
Prairies humides et marais	17
Pelouses sèches calcicoles	5
Forêts claires calcicoles	5
Tourbières, bas-marais et landes humides	2
Pelouses et landes siliceuses sèches et acides	2

CONCLUSION

L'analyse du risque d'extinction des Orchidées du Centre selon les critères UICN a permis de démontrer que plus de la moitié des taxons de la région Centre appartiennent aux catégories « Disparus au niveau régional », « menacés » et « quasi menacés ». Cela représente un taux important des espèces de cette famille avec plus d'une espèce sur deux et montre ainsi des enjeux de conservation des Orchidées dans leur milieu naturel.

Tableau 10. – Nombre de taxons d'Orchidées disparus (RE), menacés (CR, CR*, EN, VU) et quasi-menacés (NT) par habitat naturel (source : synopsis de la région Centre. CBNBP, en préparation).

Appartenance phytosociologique en région Centre	Nombre de taxons
<i>Caricetalia davallianae</i> Braun-Blanq. 1949	8
<i>Molinio caeruleae</i> - <i>Juncetea acutiflori</i> Braun-Blanq. 1950	7
<i>Mesobromion erecti</i> (Braun-Blanq. & Moor 1938) Oberd. 1957	5
<i>Geranion sanguinei</i> Tüxen in T. Müll. 1962	3
<i>Scheuchzerietalia palustris</i> Nordh. 1936	2
<i>Polygalo vulgaris</i> - <i>Cynosurelion cristati</i> Jurko 1974	2
<i>Cephalanthero rubrae</i> - <i>Fagion sylvaticae</i> (Tüxen in Tüxen & Oberd. 1958) Rameau in J.-M. Royer, Felzines, Misset & Thévenin 2006	2
<i>Tetragonolobo maritimi</i> - <i>Bromenion erecti</i> J.-M. Royer in J.-M. Royer, Felzines, Misset & Thévenin 2006	1
<i>Carpino betuli</i> - <i>Fagenalia sylvaticae</i> Rameau in J.-M. Royer, Felzines, Misset & Thévenin 2006	1

Cette étude a mis en évidence également la nécessité d'acquisition de connaissance sur 9 taxons infraspécifiques classés aujourd'hui en « Données insuffisantes ». Une espèce observée dans la région seulement depuis ces dernières années, *Gymnadenia pyrenaica* (Philippe) Giraudias, 1892, devra bénéficier d'une attention toute particulière sur le terrain.

Plus largement, les lacunes de connaissance concernent aussi des taxons qui ont pu être qualifiés en termes de menaces et pour lesquels les tendances de présence ou les valeurs taxonomiques ne sont pas encore définitivement établies : *Dactylorhiza praetermissa* var. *junialis* (Verm.) Senghas, 1968, *Dactylorhiza elata* subsp. *brennensis* E.Nelson, 1976 et *Limodorum trabutianum* Batt., 1886. Les mentions anciennes d'espèces non revues de longue date, comme *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soó, 1962 et *Dactylorhiza traunsteineri* (Saut.) Soó, 1962 mériteront un examen plus approfondi afin de confirmer leur présence ancienne pouvant être qualifiée « d'inattendue ».

Enfin la recherche de taxons en région Centre, non observé à ce jour mais de présence probable en lien avec l'amélioration des connaissances des territoires adjacents, sera à mener. Ainsi, M. Jean-Claude Roberdeau (SFOCL) a déjà pu attirer l'attention sur *Epipactis rhodanensis* Gévaudan & Robatsch, 1994, possiblement présent en région Centre et

qu'il conviendrait de rechercher en val d'Allier.

La liste rouge régional de la flore vasculaire et le zoom réalisé sur la famille des Orchidées permet de montrer le rôle déterminant des pelouses calcaires et des zones humides comme support d'espèces menacées et quasi-menacées. A titre d'exemple, des études de terrain complémentaires sur ces habitats particuliers et ces espèces permettraient de vérifier techniquement le lien entre un bon état de conservation de ces habitats et la présence de ce cortège d'Orchidées menacées. Les Orchidées, seules ou avec d'autres espèces menacées, pourraient être un indicateur de diagnostic, de suivi ou de maintien de ces végétations. La détermination de ces indicateurs de terrain, basés sur une patrimonialité avérée, devrait constituer un savoir ou un préalable indispensable pour une meilleure orientation, hiérarchisation et mise en cohérence de la réglementation et des actions de conservation et de gestion.

Dans cet objectif, ce travail mené sur la constitution de la liste rouge régionale de la flore vasculaire fait ressortir la nécessité de nombreuses actions restant à mener comme :

- l'actualisation de la connaissance de terrain et l'amélioration de la précision de la donnée (spatiale, écologie, effectifs..);
- la poursuite du partage de la connaissance de terrain de ces espèces ;

- l'approfondissement de la connaissance de l'écologie des espèces et de leurs appartenances locales phytosociologiques ;
- l'amélioration des connaissances des habitats naturels de la région Centre ;
- l'évolution des outils réglementaires (listes de protection, arrêté du 24 juin 2008, complété par un arrêté du 1^{er} octobre 2009 pour la délimitation des zones humides).

Références

- Amardheil J.P. 2007. Atlas des Orchidées d'Indre-et-Loire. Société Française d'orchidophilie. 102 p.
- Boreau A. 1849. Flore du Centre de la France ou description des plantes qui croissent spontanément, ou qui sont cultivées en grand dans les départements arrosés par la Loire et ses affluents, avec l'analyse des genres et des espèces, Flore du centre de la France et du Bassin de la Loire ou description des plantes qui croissent spontanément, ou qui sont cultivées en grand dans les départements arrosés par la Loire et ses affluents, avec l'analyse des genres et des espèces. Paris, Librairie encyclopédique de Roret. 968 p.
- Boreau A. 1857. Flore du centre de la France et du Bassin de la Loire ou description des plantes qui croissent spontanément, ou qui sont cultivées en grand dans les départements arrosés par la Loire et ses affluents, avec l'analyse des genres et des espèces, Flore du centre de la France et du Bassin de la Loire ou description des plantes qui croissent spontanément, ou qui sont cultivées en grand dans les départements arrosés par la Loire et ses affluents, avec l'analyse des genres et des espèces. Paris, Librairie encyclopédique de Roret. 1126 p.
- Boudin L., Cordier J. et Moret J. 2007. Atlas de la flore remarquable du Val de Loire entre le bec d'Allier et le bec de Vienne. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris. 464 p. (Patrimoines naturels, 66).
- Bournerias M., Prat D. *et al.* (collectif de la Société Française d'Orchidophilie) 2005. Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg, deuxième édition, Biotope, Mèze, (Collection Parthénopé). 504 p.
- Cordier J., Dupré R., Vahrameev P. 2010. Catalogue de la Flore sauvage de la région Centre. *Symbioses*, n.s., 26: 36-84.
- Cordier J., Vahrameev P., Dupré R., Monticolo J. 2012. La diversité floristique en région Centre. Synthèse et analyse des données recueillies par le Conservatoire botanique national du Bassin parisien. CBNBP, délégation Centre. 54 p.
- Dupré R., Boudier P., Delahaye P., Joly M., Cordier J., Moret J. 2009. Atlas de la flore sauvage du département d'Eure-et-Loir. Biotope, Mèze (Collection Parthénopé) ; Muséum national d'Histoire naturelle Paris. 488 p.
- Franchet A. 1885. Flore de Loir-et-Cher comprenant la description, les tableaux synoptiques et la distribution géographique des plantes vasculaires qui croissent spontanément ou qui sont généralement cultivées dans Le Perche, La Beauce et La Sologne. 792 p.
- Indre Nature 2009. Atlas de répartition des Orchidées de l'Indre. Indre Nature. 176 p.
- Jullien-Crosnier A. 1890. Catalogue des plantes vasculaires du département du Loiret. Orléans, Michau et C^{ie}. 140 p.
- Lefèvre E. 1866. Botanique du département d'Eure-et-Loir. Chartres, Petrot-Garnier. 311 p.
- Le Grand A. 1887. Flore analytique du Berry contenant toutes les plantes vasculaires spontanées ou cultivées en grand dans les départements de l'Indre et du Cher. 1^{ère} édition. Bourges, Soumard-Berneau. 346 p.
- Le Grand A. 1894. Flore analytique du Berry contenant toutes les plantes vasculaires des départements de l'Indre et du Cher. 2^{ème} édition. Bourges, Léon Renaud. 430 p.
- Martin E. 1894. Catalogue des plantes vasculaires et spontanées des environs de Romorantin. Romorantin, A. Standachar et C^{ie}. 533 p.
- Pinet F. 2005. Flore remarquable du Parc naturel régional de la Brenne. Edition – Région Centre. 400 p.
- Pujol D., Cordier J., Moret J. 2008. Atlas de la flore sauvage du département du Loiret. Biotope, Mèze (Collection Parthénopé) ; Muséum national d'Histoire naturelle Paris. 472 p.

- S.O.C.L. 2002. Les Orchidées de la région Centre. Société d'Orchidophilie Centre Loire. 190 p.
- Tourlet E.H. 1908. Catalogue raisonné des plantes vasculaires du département d'Indre-et-Loire. Paris, Paul Klincksieck / Tours, Théophile Tridon. 621 p.

UICN France 2011. Guide pratique pour la réalisation de Listes rouges régionales des espèces menacées - Méthodologie de l'UICN et démarche d'élaboration. Paris, France.

Proposition d'une méthode pour réviser les statuts de protection des orchidées en France aux échelles nationale et régionale

Bertrand SCHATZ, Perrine GAUTHIER, Max DEBUSSCHE, John D. THOMPSON

Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

bertrand.schatz@cefe.cnrs.fr

Abstract – Proposed a method to revise the statutes of protection of orchids in France at the national and regional levels. One of the challenges of conservation biology is to assess the spatial scale and species protection. We propose a method to establish the statutes of national and regional protection; objective because it is based on quantitative data of three criteria which are distribution, abundance and decline of each species. Among the different plant families, the Orchidaceae are one of the better known thanks to the actions of the SFO. The application of this method leads to a national protection for 57 taxa and regional protection for 52 taxa, 48 taxa remaining without protection (instead of 21, 78 and 58 respectively under the current statutes). It helps prioritize species for which a region or a country has a strong patrimonial liability, considering the observed decline of species and avoiding the administrative burden due to repetitions of regional protection.

Résumé – Un des défis de la biologie de la conservation est d'évaluer l'échelle spatiale et de la protection des espèces. Nous proposons ici une méthode pour établir les statuts de protection nationale et régionale ; elle est objective car basée sur des données quantitatives de trois critères que sont la distribution, l'abondance et le déclin de chaque espèce. Parmi les différentes familles végétales, celle des orchidées est une des mieux connues grâce aux actions de la SFO. L'application de cette méthode propose une protection nationale pour 57 taxons et une régionale pour 52 et 48 sans protection (au lieu de 21, 78 et 58 respectivement selon les statuts actuels). Elle permet de donner la priorité aux espèces pour lesquelles une région ou un pays a une forte responsabilité patrimoniale, de considérer le déclin observé des espèces et d'éviter la lourdeur administrative due aux répétitions de protections régionales.

Exemple de populations de *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall., déplacées puis replacées sur l'aqueduc de la Vanne avec constitution d'une population de sauvegarde

Nathalie MACHON¹, Philippe BARDIN²

¹ CESCO, Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation, UMR 7204 MNHN, CNRS, UPMC, Muséum National d'Histoire Naturelle, 61 rue Buffon, 75005 Paris, France

machon@mnhn.fr

² CBNBP, Conservatoire Botanique National du Bassin Parisien, Muséum National d'Histoire Naturelle, 61 rue Buffon, 75005 Paris, France

Abstract – Example of transplanted populations of *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. The only population of *Spiranthes spiralis* (autumn lady's-tresses) known in Ile-de-France grows at the top of an aqueduct bringing potable water to Paris across the Fontainebleau forest. The rehabilitation of the aqueduct in the early 2000's threatened the viability of this population. Thus, a plan has been implemented by the CBNBP and the managers of the aqueduct to avoid the loss of this population during the work. It consisted in removing the topsoil of the aqueduct in " slabs " of 50 x 50 cm of soil containing spiranthes tubers, in temporarily storing them under the aqueduct, in replacing half of them on the aqueduct after the work and in transferring the other half in another station a few kilometers from there. The two transplanted populations quickly regained a positive dynamics. More than five years after rehabilitation, their preservation seems assured as the number of rosettes increases regularly and the plants flower and produce fruits. The population of the aqueduct shows the best recovery since its size is higher and the plants produce more flowers and fruits than the other ones. This experiment can be an example for the recovery of other orchid populations in the context of mitigation.

Résumé - Une seule station de *Spiranthes spiralis* est connue en Ile-de-France. Elle se trouve sur l'aqueduc de la Vanne, ouvrage traversant la forêt de Fontainebleau pour apporter de l'eau potable à Paris. La réfection de cet aqueduc prévue au début des années 2000 était très risquée pour la pérennité de cette population. Un plan de sauvegarde a donc été mis en œuvre par le CBNBP et le gestionnaire de l'aqueduc pour éviter la perte de cette population à l'occasion des travaux. Il consistait à décaper le dessus de l'aqueduc sous forme de « dalles » de 50 x 50 cm de sol contenant les tubercules de spiranthes, de les entreposer temporairement au pied de l'aqueduc, d'en replacer la moitié sur l'aqueduc à l'issue des travaux et de transférer l'autre moitié dans une station de sauvegarde à quelques kilomètres de l'aqueduc. Les deux populations issues de ces transplantations ont repris rapidement une dynamique positive. Plus de 5 années après les travaux, leur maintien semblait assuré puisque le nombre de leurs rosettes a régulièrement augmenté et que des hampes florales sont observées. C'est la population de l'aqueduc qui se porte le mieux en termes de taille des hampes florales et nombre de fruits produits. Cette expérience peut servir d'exemple à d'autres transplantations de populations d'orchidées dans le cadre de mesures compensatoires.

Mots-clé : *Spiranthes spiralis*, Transplantation, Population de sauvegarde

INTRODUCTION

La conservation des taxons menacés de disparition passe par la protection de toute population mise en danger par des projets d'aménagements censés modifier les qualités écologiques des sites dans lesquels ils vivent. Cette activité de conservation est l'une des

missions des Conservatoires Botaniques Nationaux, telles que définies par leur cahier des charges.

La présence d'ouvrages et d'édifices permet, lorsque les conditions sont favorables, l'installation d'une flore qui peut présenter une certaine originalité dans un contexte régional. Ainsi, les parties aériennes des aqueducs sont

colonisées par une flore qui affectionne les milieux ouverts et chauds régulièrement entretenus.

Cependant, la vétusté des édifices, dont certains ont été construits sous Haussmann (Aqueduc de la Dhuy : 1865, Aqueduc de la Vanne : 1867 à 1874), impose souvent la réfection de l'étanchéité interne et externe des ouvrages, ce qui peut menacer la pérennité des espèces qui poussent dessus. Dans ce cadre, le Conservatoire Botanique National du Bassin Parisien a mené, en étroite collaboration avec la société gestionnaire de l'ouvrage, un programme de sauvegarde d'une orchidée protégée régionalement : *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. sur l'Aqueduc de la Vanne en forêt de Fontainebleau.

Ce chantier de transplantation a été réalisé en automne 2002. Initialement localisées sur l'Aqueduc à 10 mètres du sol, les populations ont dû être temporairement déplacées, avant que la moitié des effectifs ne retrouve son emplacement d'origine. L'autre moitié des effectifs a été transplantée dans une station protégée, toujours sur une emprise de la société qui gère cet Aqueduc.

Dans le cadre de ces opérations, le CBNBP a suivi la dynamique des populations transplantées, afin de valider les orientations techniques retenues pour ce chantier. Les résultats de ces suivis alimenteront une réflexion plus générale sur la transplantation de populations dans le cadre de la destruction de sites naturels, notamment au niveau des études préalables et des modalités techniques des opérations de déplacement de populations.

MATERIELS ET METHODES

L'espèce

Spiranthes spiralis (L.) Chevall. est largement distribuée en Europe du Sud et dans la région méditerranéenne. Il s'agit d'une espèce autocompatible geitonogame qui dépend des insectes pollinisateurs pour sa production de graines (Willems et Lahtinen, 1997). C'est une orchidée longévive : les individus peuvent vivre plus de 50 ans. Selon Wells (1981), une première rosette apparaît environ 11 ans après la germination des graines et la première tige florale, 2 à 4 ans plus tard. Les plantes se composent de rosettes (Figure 1) et d'un ou plusieurs petits tubercules souterrains qui peuvent vivre pendant plusieurs décennies. De nouveaux tubercules sont

formés au cours de l'hiver et du printemps. Les feuilles de la rosette apparaissent en automne et meurent à la fin du printemps ou au début de l'été.



Figure 1. – Rosette de *Spiranthes spiralis* (Photo Wikipedia).

Les inflorescences apparaissent à la fin de l'été juste avant l'apparition des rosettes. Les fleurs nectarifères blanches et vertes (Willems et Lahtinen, 1997) font moins d'un demi-centimètre de longueur (Figure 2). Elles forment une seule ligne qui s'enroule sur toute l'inflorescence. Chaque plante peut produire jusqu'à trois inflorescences d'environ 25 fleurs. Les inflorescences sont visibles à partir d'août à septembre. La pollinisation croisée est favorisée grâce à la floraison séquentielle par protandrie (Summerhayes, 1951; Pijl et Dodson, 1966) et par le viscidium qui fait adhérer les pollinies aux bourdons (Catling, 1983). D'octobre à novembre les capsules deviennent mûres et les graines sont dispersées par le vent.

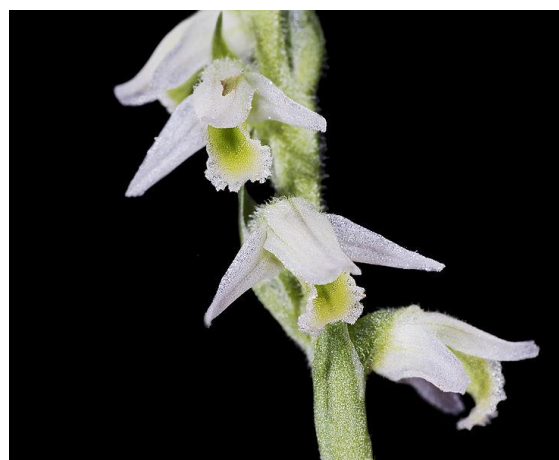


Figure 2. – Fleurs de *Spiranthes spiralis* (Photo wikipedia).

Le site : l'Aqueduc de la Vanne

L'Aqueduc de la Vanne est un ouvrage qui apporte de l'eau potable à Paris en provenance de la région de Sens. Il mesure 110 km de long et 3 m de large et traverse la forêt de Fontainebleau. La station de spiranthe se trouve sur une portion de l'aqueduc surplombant d'une dizaine de mètres le sol de la forêt (Figure 3). Elle est couverte par une végétation herbacée et héliophile et le sol avant travaux avait tendance à être humide mais bien drainé. La végétation est tondue chaque automne pour éviter l'installation de strates arbustives ou arborées.



Figure 3. – Vue de l'Aqueduc de la Vanne en forêt de Fontainebleau et de la station de *Spiranthus spiralis*.

Les travaux de transplantation

Les travaux de réfection de l'ouvrage ont impliqué la transplantation temporaire de la totalité de la population de spiranthes. Cette transplantation devait permettre à l'espèce de retrouver, à l'issue des travaux, son emplacement initial, dans le respect de la structuration de sa diversité génétique établie quelques années auparavant (Machon *et al.*, 2003). La rareté de cette espèce en Ile-de-France imposait, parallèlement aux travaux, la réalisation de mesures compensatoires par la création d'une population de sauvegarde dans un autre site favorable.

Le déroulement des travaux a été le suivant : Le sol de l'aqueduc a été découpé en dalles de 50 x 50 cm. Les dalles ont été prélevées avec une mini pelle et un godet spécifique. Le système racinaire, ainsi que les premiers horizons du sol, ont été intégralement prélevés. Les dalles ont ensuite été déposées sous l'aqueduc et protégées par un grillage rivé à l'infrastructure. Dans le même temps, les

étanchéités internes et externes ont été réalisées sur la canalisation.

A l'issue des travaux, la moitié des effectifs de la population de *S. spiralis* a été replacée sur l'aqueduc, soit près de 300 individus. L'autre moitié a été déplacée avec son substrat dans la zone de sécurité. La distribution des dalles vers les deux stations a été effectuée afin de respecter la structuration de la diversité génétique, la population restant sur l'aqueduc et celle transplantée devant recevoir la même composition génétique (en terme de fréquence allélique) avec des effectifs très proches (environ 300 rosettes pour chaque population).

Un suivi pied par pied a été mis en œuvre les années qui ont suivi les transplantations.

RESULTATS

Les dalles de sol des populations de l'aqueduc et de sauvegarde devaient contenir environ 300 tubercules chacune. Cartographiées en 2003, durant la saison suivant la transplantation, elles comptaient toutes les deux 57 rosettes. Sur l'aqueduc aucune fleur n'a été observée cette année là alors que dans la population de sauvegarde, tous les individus ont fleuri. Les années suivantes, les nombres de rosettes ont régulièrement augmenté pour se stabiliser autour de 150 dans la population de sauvegarde, et elles ont continué à augmenter dans la population de l'aqueduc jusqu'en 2008, pour atteindre un nombre d'environ 200 (Figure 4).

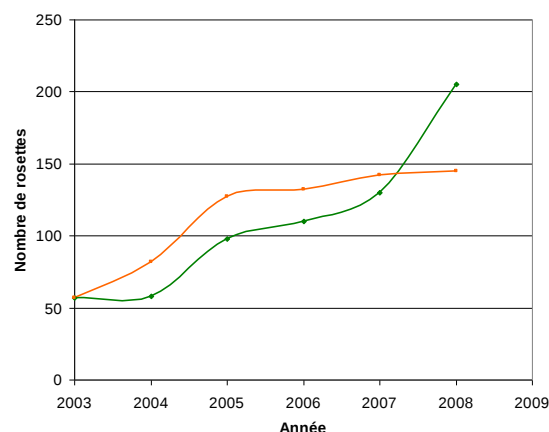


Figure 4. – Evolution des effectifs entre 2003 et 2008 pour les deux populations transplantées (en vert, population de l'aqueduc, en orange population de sauvegarde).

Depuis 2003, chaque année, la proportion des rosettes produisant des hampes florales est significativement plus élevée (30 à 70% des rosettes) pour les plantes de l'aqueduc que pour celles de la population de sauvegarde (<20%). Les mesures effectuées montrent que les plantes de l'aqueduc ont des hampes florales plus grandes que celles de la population de sauvegarde et produisent davantage de fruits (Figures 5 et 6).

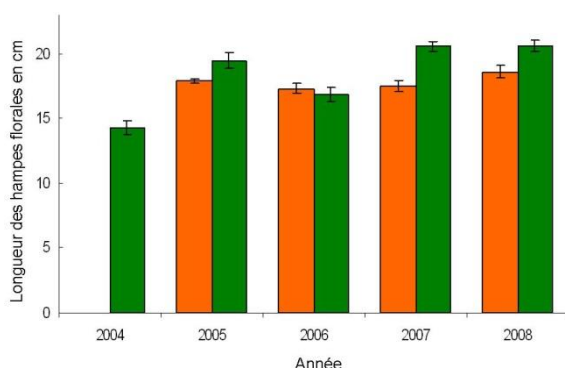


Figure 5. – Taille des hampes florales pour les plantes des deux populations transplantées (en vert, population de l'aqueduc, en orange population de sauvegarde).

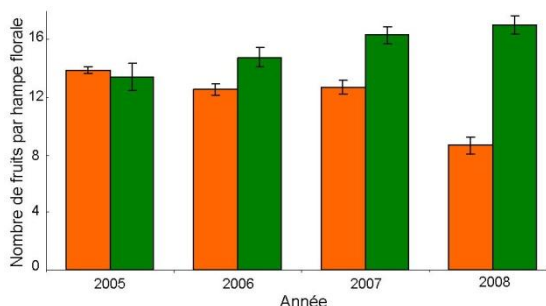


Figure 6. – Nombre de fruits portés par les hampes florales des plantes des deux populations transplantées (en vert, population de l'aqueduc, en orange population de sauvegarde).

DISCUSSION

La première constatation concernant cette expérimentation est qu'il est possible de réussir la transplantation de populations de *Spiranthes spiralis* pour peu que les moyens mis en œuvre soient suffisants. Il est certain que dans le cas de l'Aqueduc de la Vanne, le coût de la réussite de la transplantation a été très élevé, par le matériel utilisé et le temps dépensé à effectuer des travaux de précision, sur une

station large de 3 m et à 10 m au dessus du sol ! Cependant, la valeur patrimoniale de cette espèce connue depuis plusieurs décennies dans la forêt de Fontainebleau et seule station naturelle d'Ile-de-France, nécessitait bien de tels efforts.

De façon générale, on peut observer une croissance progressive du nombre des rosettes depuis la transplantation. Depuis 2008, le dénombrement précis n'a pas été fait. Il est prévu pour 2014. Néanmoins, les populations existent toujours avec un grand nombre d'individus (P. Bardin comm. pers.). On peut donc considérer les transplantations comme provisoirement réussies. Peu à peu, le nombre de rosettes atteint le nombre de tubercules probables contenus dans le sol. Une bonne fraction des tubercules semble avoir résisté aux déplacements. L'expérience sera vraiment un succès lorsque ces plantes transplantées auront donné naissance à de nouveaux individus par reproduction sexuée, ce qui a été impossible à certifier jusqu'à maintenant puisqu'il faut une dizaine d'années pour que les germinations donnent naissance à une première rosette. En l'occurrence, c'est à partir de cette année 2014 que de nouveaux individus, issus de reproduction dans les sites, aménagé ou réaménagé, vont pouvoir émerger. Il va donc être intéressant de suivre la démographie des populations pour voir si une dynamique nouvelle se met en place.

Depuis la transplantation, à l'exception de la toute première année, il est évident que la population de l'aqueduc est beaucoup plus dynamique que la population de sauvegarde. Ce résultat est déduit de l'augmentation du nombre de rosettes années après années, au nombre d'individus fleuris chaque année et au nombre de fleurs et de fruits par individus. Pourtant grâce aux données génétiques obtenues préalablement, nous avons essayé de faire deux populations relativement similaires sur le plan de leur diversité génétique (révélées par des isoenzymes). Si l'une des populations est moins performante que l'autre, c'est certainement que les caractéristiques environnementales de la station de sauvegarde correspondent moins bien aux exigences écologiques de l'espèce : ambiance plus fraîche par une plus grande proximité de la forêt, accumulation d'une litière de feuilles plus importante, conditions moins venteuses et gestion par fauche exportatrice moins fréquente.

CONCLUSION

L'expérimentation de transplantation sur *Spiranthes spiralis* est une des rares documentées sur une orchidée. Pourtant de nombreux travaux d'aménagement peuvent menacer la viabilité de populations d'orchidées plus ou moins rares et plus ou moins protégées. Lorsque l'« Intérêt Public Majeur » a été prononcé, il faut souvent trouver des solutions pour permettre au chantier de se faire, même au détriment des orchidées les plus vulnérables. Cette expérience montre à quel point la remise en état d'une population après travaux est couteuse, lente et incertaine. Inutile d'insister, donc sur la nécessité de tout faire pour EVITER les sites naturels les plus intéressants pour la biodiversité et REDUIRE au maximum l'emprise des travaux. Car pour ce qui est de COMPENSER, aucune population de sauvegarde n'aura l'environnement idéal pour l'espèce. Rien ne pourra remplacer les stations qu'elle se sera choisies elle-même.

Références

- Catling P.M.. 1983. Pollination of northeastern North American *Spiranthes* (Orchidaceae). *Canadian Journal of Botany*, 61: 1080-1093.
- Machon N., Bardin P., Mazer S.J., Moret J., Godelle B. Austerlitz F. 2003 Relationship between genetic structure and seed and pollen dispersal in the endangered orchid *Spiranthes spiralis*. *New Phytologist*, 157: 677-687.
- Pijl L.V., Dodson C.H. 1966. *Orchid flowers – their pollination and evolution*. Coral Gables, University of Miami Press, Miami.
- Summerhayes V.S. 1951. *Wild orchids of Britain with a key to the species*. Collins, London.
- Wells T.C.E. 1981. The biological aspects of rare plants conservation. In: *The biological aspects of rare plant conservation*. Synge H., ed., John Wiley & Sons Ltd, London. pp. 281-295.
- Willems J.H., Lahtinen M.L. 1997. Impact of pollination and resource limitation on seed production in a border population of *Spiranthes spiralis* (Orchidaceae). *Acta Botanica Neerl.*, 46: 365-375.

Le *Liparis de Loesel* var. *ovata*, *Liparis loeselii* var. *ovata* (L.) L.C.M. Rich, dans le site du Conservatoire du littoral, les dunes de Keremma en Tréfléz. Bilan de neuf années de gestion et de suivi (2005-2013)

Stéphane CHAUMONT

Communauté des Communes de la Baie du Kernic, service espace naturel,
Keremma, 29430 Tréfléz, France

Abstract - *Liparis loeselii* var. *ovata* (L.) LCM Rich, on the site of the Conservatoire du Littoral, dunes Keremma in Tréfléz - Balance sheet of nine years of management and monitoring (2005-2013). This monitoring is ongoing on a rich site of an unusual history and has several objectives. It serves the team in order to better understand the species biology. This adjusts the management and promotes species. It tries to understand the impact of factors such as drainage and urbanization. By observing this population monthly, new data on the biology of the species could be recorded, especially on the phenological shift. Advantages and disadvantages of each type of management, such as mowing or scouring could be pointed.

Résumé - Ce suivi qui est toujours en cours sur un site riche d'une histoire peu commune a plusieurs objectifs. Il sert à l'équipe gestionnaire à mieux cerner l'espèce et ses exigences. Cela permet d'ajuster la gestion et de favoriser l'espèce. Il permet d'appréhender l'impact de facteurs indépendants tels que le drainage et l'urbanisation. En suivant cette population mensuellement, de nouvelles observations sur la biologie de l'espèce ont pu être relevées, notamment sur le décalage phénologique. Il a également mis en avant les avantages et inconvénients de chaque type de gestion, comme la fauche et l'étrépage.

Mots-clés : *Liparis loeselii*, Gestion de site, Protection

INTRODUCTION

Né entre le XV^e et le XVII^e Siècle sur les communes de Plounevez-Lochrist et Tréfléz, ce massif dunaire de la côte nord finistérienne prit appui sur l'Enez vraz, la grande île en breton, qu'il engloutit pour s'étendre de part et d'autre de la Baie de Goulven. Il s'étend alors sur presque 5 km², qui avec les travaux de poldérisation de 1824, élaboré par Louis Rousseau et le sable issu de l'ancien estran, rayonnera sur 9 km². Pendant plusieurs décennies, sa dune rase servit aux séchages des algues, son herbe à nourrir le bétail et ses buissons de troènes à l'élaboration de fond de casier de pêche. Pendant la deuxième guerre mondiale, l'occupant ostracise le site et érige différentes défenses, dont le fossé antichar, toujours visible, qui balafre le site sur plus de quatre kilomètres de long. Après avoir été interdit pendant la guerre, les agriculteurs lui tournent le dos, l'activité goémonière périclité, les casiers se fabriquent désormais en plastique et le fossé antichar devient une décharge.

Cependant une nouvelle activité voit le jour, le tourisme. De vives tensions naissent alors entre les propriétaires, et ses fugaces occupants. Car la dune s'érode comme jamais, sous cette activité anormale. Les descendants de Louis Rousseau, se tournent vers le Conservatoire du Littoral et lui lèguent près de 200 hectares à la fin des années 80. Deux campings voient le jour à sa périphérie, ainsi que de nombreux parkings et plus de 100 tonnes de déchets sont extraits du fossé anti char. Il s'en suivra des années de plantations d'oyats pour consolider la dune mobile et protéger ainsi le polder, bloquant la dynamique naturelle de la dune

Cette espace aujourd'hui protégé, offre une multitude d'habitats allant de la dune embryonnaire et mobile en passant par la dune grise, des dépressions arrières dunaires, ainsi que des prairies atlantiques et mésophiles. Grâce à son sable coquillier il abrite de nombreuses espèces d'orchidées: *Anacamptis coriophora* subsp. *coriophora* Linné, *A. laxiflora* Poiret, *A. palustris* Jacquin, *A.*

pyramidalis L.C.M. Richard, *Coeloglossum viride* Linné, *Dactylorhiza fuchsii* Druce, *D. maculata* Linné, *D. praetermissa* Druce, *D. incarnata* Linné, *Epipactis neerlandica* Vermeulen, *E. palustris* Linné, *Himantoglossum hircinum* Sprengel, *Liparis loeselii* var. *ovata* Linné, *L. loeselii* var. *loeselii* Linné, *Neottia ovata* Linné, *Platanthera chlorantha* (Custer) Reichenbach, *Orchis mascula* Linné, *Ophrys apifera* Hudson, *O. aranifera* Hudson, *Serapias parviflora* Parlatores, *Spiranthes aestivalis* (Poiret) L.C.M. Richard, *S. spiralis* Linné.



Photo1. – Plant florifère de *Liparis loeselii* var *ovata* avec hampe sèche de l'année passée.

Depuis les années 90 plusieurs mesures de gestions sont prises afin de préserver cette richesse botanique. Et depuis 2005 l'ensemble de la flore patrimoniale du site, profite d'un suivi annuel et particulièrement la station de *Liparis* de Loesel.

Rappel

Liparis loeselii est avec *Hammarbya paludosa*, la seule orchidée à pseudobulbe de notre flore.

L'organe de réserve se trouve à la surface et non dans le sol, comme les autres espèces d'orchidées européennes. Le pseudobulbe le plus âgé est le plus souvent contigu à celui en formation. Il est de forme ovoïde, strié, avec de petites arrêtes dépassant du pseudobulbe.

Plante verte jaunâtre aux feuilles opposées, ovales pour la variété *ovata* ou oblongues à lancéolées pour la variété *loeselii*, luisantes aux nombres de deux, très rarement 3. La tige est trigone, glabre et grêle. L'inflorescence est lâche avec des fleurons orientés vers le haut aux nombres de 1 à 20. Les sépales et pétales sont effilés, repliés formant une gouttière, le labelle est entier, courbe à son extrémité et sans éperon. Les plants dépassent rarement les 20 cm. Les fruits, forment une capsule triangulaire, verticale nervurée d'environ 1 cm sur un court pédoncule.

Plusieurs stations existent dans ce département. La plus proche se trouve sur la commune de Guisseny dans le marais du Vougot et du Curnic à 12 km. Il s'agit d'ailleurs des deux seules stations de *Liparis loeselii* var. *ovata* de Bretagne. Les deux autres stations relativement proches se trouvent respectivement à 30 et 47 kilomètres toujours au sein de dépressions arrière-dunaires sur les communes de Lampaul-Ploudamézeau et de Crozon. Dans le sud du département une station existe aussi sur la commune de Plomeur et toujours sous la var. *loeselii*.

Le milieu dunaire est une zone tampon entre mer et continent. Il est modelé en fonction des transgressions et régressions marines, du vent, des marées et plus récemment des hommes. Sa dynamique naturelle en perpétuel mouvement façonne de nouveaux habitats.

En Bretagne, l'ensemble des stations connues sont toutes d'origine anthropique, le plus souvent d'ancienne carrière de sable. L'activité humaine ayant figée la dynamique des dunes, le *Liparis* doit son maintien uniquement à la gestion humaine. Les méthodes de gestion les plus utilisées pour pérenniser l'espèce sont la fauche avec exportation, le pâturage et l'étrépage.

La première observation du *Liparis loeselii* var. *ovata* date de 1994 au sein d'une dépression humide en terrain privé. Monsieur Xavier Grémillet réalise en 1995 différents travaux de fauche et d'étrépage afin de pérenniser l'espèce. Jusqu'en 1999, l'espèce est visible en plusieurs endroits mais toujours sur de très faibles effectifs. Malheureusement en l'an 2000, une construction d'architecte remblaie la parcelle et vient ainsi détruire la station. En parallèle, sur les terrains du Conservatoire du littoral, à partir de 1999 un pâturage basé sur des poneys shetlands, ne permet pas le maintien de l'espèce. Il n'a pas empêché non plus la fermeture du milieu. Les troènes, très nombreux, referment les pannes. Très peu appétants, ils ne sont consommés que très sporadiquement.



Photos 2 et 3. – Station avant et après destruction (F. Seité, avril 1998, 2001).

Il faudra attendre 2005 pour redécouvrir l'espèce plus à l'Ouest. La concentration se situe dans un ancien fossé de drainage. Monsieur François Seité découvre 22 plants, 18 sont florifères et 4 sont au stade de plantules. Le fossé mesure plus de 600 m, mais l'espèce se cantonne uniquement à son extrémité sur à peine 100 m. Le milieu est fortement embroussaillé par des ronces, troènes et autres saules. La station de *Liparis*

se trouve dans la partie la plus ouverte. A noter une présence humaine assez marquée (sexotourisme), qui malgré les détritus et la pression exercée, a sans doute permis de freiner un peu la dynamique spontanée du milieu. Les plants bénéficient ainsi d'un effet lisière.

Cette station enclavée ne permet pas l'extension de la population de *Liparis* sans travaux. Elle ne communique avec aucune autre dépression humide. Sa morphologie et sa situation se prête bien au suivi sans piétinement excessif.

L'année de leur découverte, les plants florifères étaient très nombreux. Ils représentent 82% de la population globale. Ils sont tous disséminés et il n'y a pas de reproduction végétative avérée.

MATERIELS ET METHODES

Les travaux

Année 2005

Le nombre de graines produites étant encore important, il est alors décidé de réaliser un étrépage. Cela afin de créer une "issue de secours" si le nombre de reproducteur venait à périr. A la fin de l'été une fosse de 16 m/20 m (nommée FS1), est creusée afin de permettre aux graines de trouver un milieu pionnier et d'échapper à la présence anthropique. C'est une méthode brutale, mais qui imite l'action naturelle, propice à l'installation de l'espèce.



Photo 4. – Création de FS1 (S. Chaumont, août 2005).

Afin de ne pas léser la population en place, l'étrépage est réalisé dans une zone vierge mais en contact direct avec la station.

L'ensemble des plants est piqueté pour identifier la zone la plus propice aux travaux. Une journée de tractopelle permet de décaper environ 320 m³ de sable. Les bords sont réalisés en pente plus ou moins douce et l'assise présente une légère pente très douce. Il est demandé au chauffeur de façonner le fond de manière la plus irrégulière possible pour créer des micro-habitats, en se calquant le plus possible sur la hauteur où l'espèce est en grand nombre.

Année 2006



Photo 5. – FS1 (S. Chaumont, janvier 2006).

En janvier, un débroussaillage au sein de la concentration avec exportation de matière est réalisé, ainsi qu'un micro étrepag (A).

Pendant l'hiver, deux autres micro étrepag sont réalisés (B et C). Comme pour le premier, seule une couche inférieure à 10 cm est enlevée afin de rajeunir le substrat dans chaque carré. Le substrat retiré pour la création de l'étrepag est stocké dans FS1. Ce stockage permet de s'assurer qu'aucun plant n'a été prélevé pendant les travaux.

Année 2007

Durant l'hiver, création de deux nouveaux carrés (D et E), les localisations sont différentes pour essayer de connaître l'optimum de l'espèce (Figure 1).

- Le **carré A** est situé au centre d'un pool de plants fructifères.

- Le **carré B** se trouve dans la zone la plus humide, en limite la plus basse où ont été vus des *Liparis*. Il connaît des temps d'immersion très long.

- Le **carré C** est piqueté, au sein de FS1 dans une micro cuvette.

- Le **carré D** est borné au centre de la station, mais hors concentration de plants florifères.

- Le **carré E** se trouve dans la zone la plus sèche, en limite la plus haute où ont été vus des plants de *Liparis*. Il connaît des temps d'immersion courts.

L'ensemble de la station est quadrillé, chaque mètre à l'aide de piquets pour connaître la localisation de chaque plant.

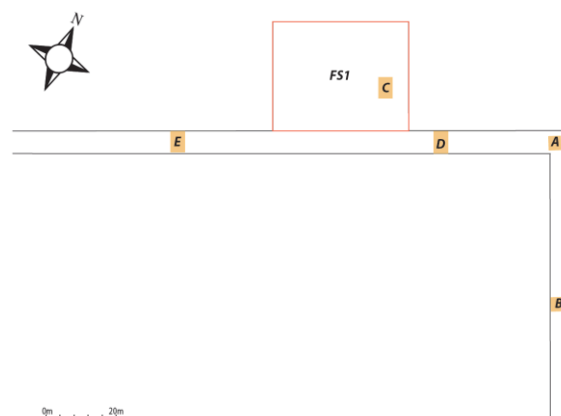


Figure 1. – Plan de la station et localisation des carrés d'étrépages.

Année 2008

En janvier, un saule est abattu et une fauche exportatrice est réalisée dans l'ensemble du fossé.

Année 2009

Aucun travaux n'est réalisé.

Les bordures de la station sont couvertes de troènes qui envahissent l'étroit fossé. Il est alors décidé de ré-ouvrir sur 1 mètre cette bordure.

Année 2010

L'extrémité ouest du fossé est entièrement recouverte de saule, troène. Pendant l'automne, il est ré-ouvert jusqu'à son extrémité sur 15 mètres. Un cyprès est également élagué.

Année 2012

Une fauche des deux tiers du fossé est effectuée pendant l'automne.

A noter, que l'ensemble des fauches et étrépages au sein de la concentration sont toujours réalisés entre la mi-novembre et fin février, en prenant soin de ne pas toucher aux plants en graines et hors des périodes d'inondations. Sept ans après sa création, FS1 n'a pour l'instant demandé aucun entretien.



Photos 6. – FS1 octobre 2012 (S. Chaumont)

Année 2013

Aucun travail n'a été réalisé.



Photo 7. – FS1 hiver 2013-2014.
(S. Chaumont)

Suivi des hauteurs d'eau

La variation de hauteur de la nappe entre l'été et l'hiver est relativement importante. Ne disposant d'aucun piézomètre, il est décidé de mesurer les hauteurs d'eau au niveau des cinq carrés d'étrépage. La station est linéaire, mais les temps d'immersions diffèrent d'un point à un autre. A partir de 2007, une fois par mois les hauteurs d'eau sont mesurées.

Suivi des plants

A partir de 2006, la station est scrutée de mai jusqu'à disparition des derniers plants de *Liparis*. On observera ainsi et relèvera sur carte chaque mois :

- le nombre de plants et plantules,
- le nombre de plants fructifères,
- le temps de maturation des graines.

En 2007, pour gagner en précision, il est alors décidé de noter l'emplacement exact de chaque plant florifère et plantule grâce aux quadrillages de piquets disposés à chaque mètre dans la station.

RESULTATS

Variations des hauteurs d'eau

Les hauteurs et les temps d'immersions varient d'une année sur l'autre et d'un point à l'autre de la station. La hauteur de la nappe entre l'été et l'hiver peut osciller sur plus d'un mètre. Cette fluctuation va conditionner une possible migration des graines et des pseudobulbes sur une distance plus ou moins grande. Il m'a été possible d'observer par deux fois cette migration l'une pendant l'hiver 2006, sur plus de 10 mètres et l'autre au printemps 2007. Cela va donc avoir une répercussion sur la possibilité de l'espèce à coloniser de nouveaux espaces. Plus le niveau d'eau est élevé, plus la migration peut être importante. Le vent va induire la direction de migration, plus que l'écoulement.



Photo 8. – Zoom sur un pseudobulbe flottant à la surface de l'eau (S. Chaumont juin 2006).

Les arrêtes dépassant du pseudobulbe lui ont permis de s'arrimer à la végétation voisines.

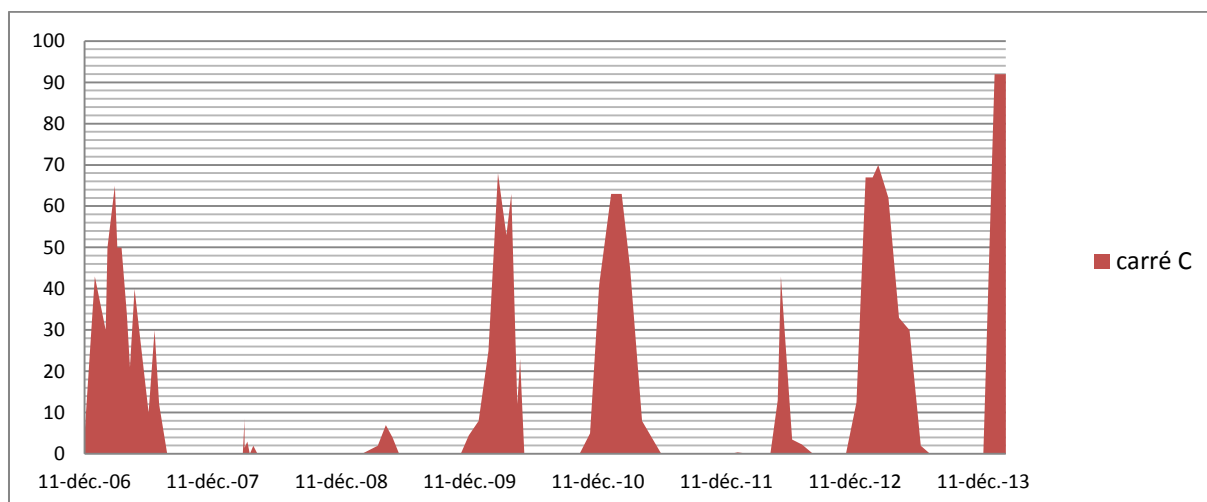
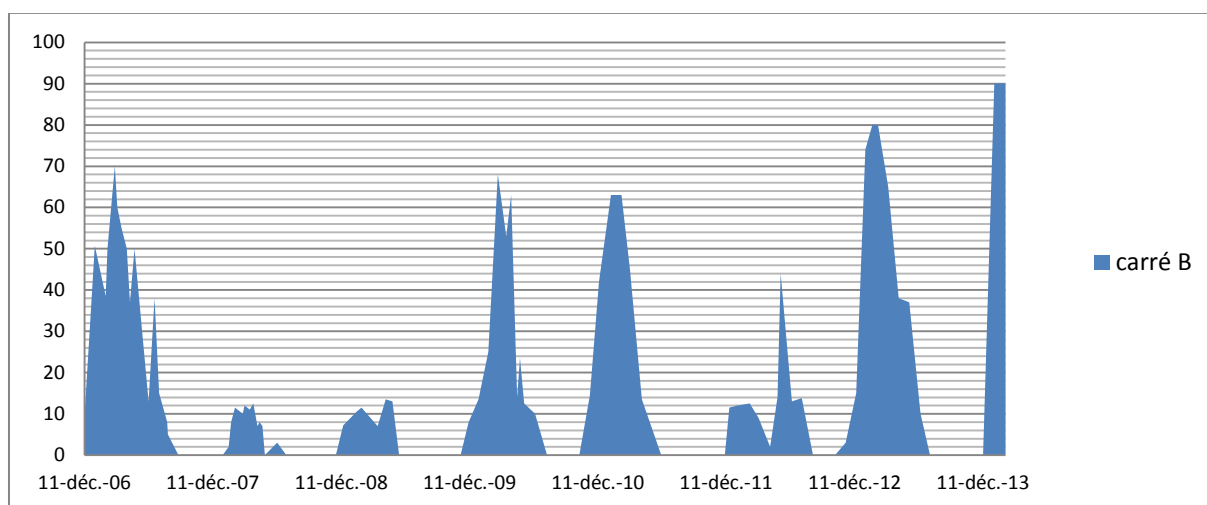
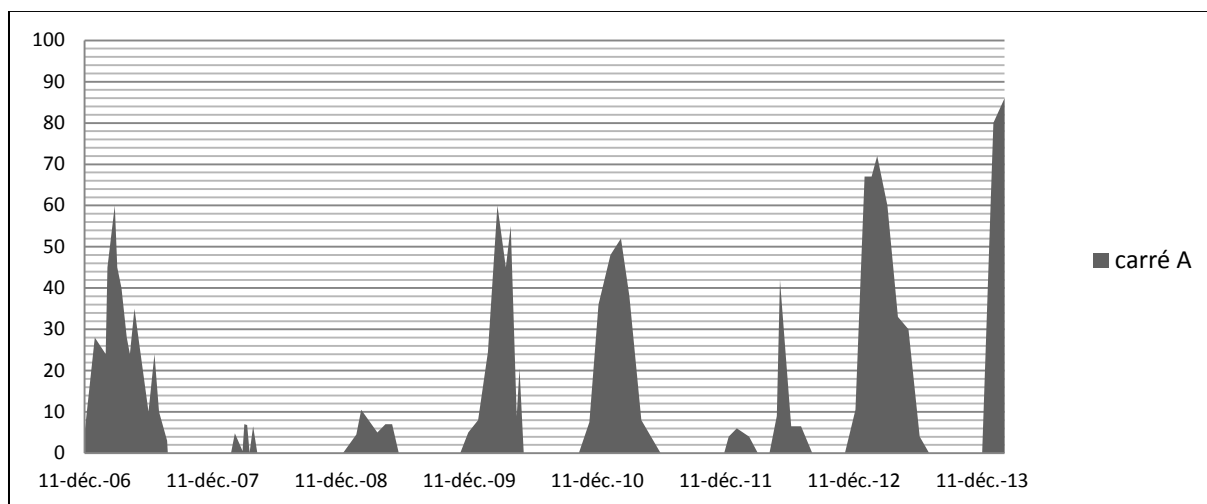
Suite à la création de FS1, cette zone est devenue un lieu de reproduction pour le pélodyte ponctué et pour bons nombres d'invertébrés. Cela a donc servi à nourrir couleuvre à collier et autres aigrettes.

Les moyennes sur les cinq à six années de suivi donnent des temps d'immersions entre la partie la plus sèche (carré E) et la plus humide (carré B) variant entre 3 à 7 mois par an (Figure 2). Il s'agit d'un facteur important car certaines portions ne connaissent que des inondations sporadiques certaines années avec un substrat qui a tendance à sécher plus vite. A l'inverse, les années pluvieuses vont laisser certaines portions trop longtemps immergées. Dans les deux cas, il peut y avoir inhibition.

Ici les zones les plus propices sont les parties qui gardent en été une relative humidité de substrat, avec des temps d'immersion moyen (env. 50% d'immersion par an). Plus que la fluctuation de la nappe, la capacité du sol à rester humide en été est déterminante à l'implantation et à la croissance des *Liparis*. Il

est donc primordial de connaître le fonctionnement et le type d'approvisionnement de la nappe phréatique.

Il reste des zones d'ombres quant au fonctionnement de la nappe, comment s'écoule t-elle, comment se charge-t-elle ? ...



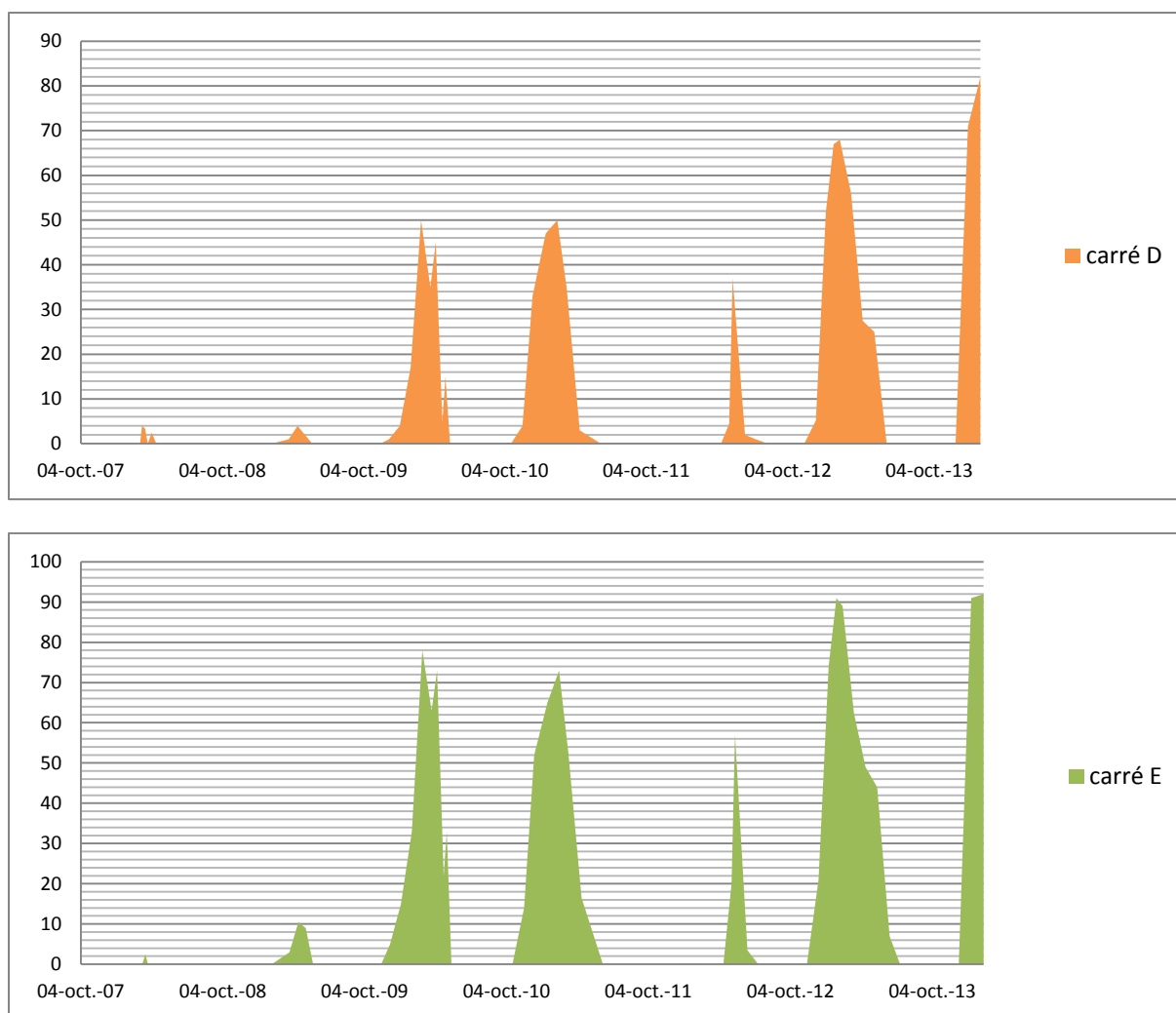


Figure 2. – Graphiques des temps d'immersion et des hauteurs d'eau dans les différents carrés d'étrépages de la station.

Variation du nombre de plants et plantules pour la période 2005 à 2013

Les travaux hivernaux donnent immédiatement de bons résultats. Ils permettent de rajeunir le milieu et le nombre de plants, et surtout de plantules, augmente.

L'augmentation du nombre de plantules doit beaucoup aux travaux de réouverture mais surtout d'étrépage. Les jeunes plantules trouvent de nouveaux espaces à coloniser et s'épanouissent loin du tout piétinement.

A noter trois baisses, l'une en 2009 qui est sans doute liée à deux années de faible inondation hivernale accompagnée d'une plus forte prédation (lapin, gastéropode). L'autre en 2011 est consécutive à de faibles inondations hivernales, un stress hydrique élevé pendant la période estivale et à trois années consécutives sans production de graines (Figure 3). La

dernière en 2012 par un printemps maussade suivi d'un été très sec avec une très forte prédation de gastéropodes.

En revanche pour les plants florifères, les travaux de réouverture sont en demi teinte. N'étant plus protégées par les plantes avoisinantes, les hampes florales subissent beaucoup plus l'action des différents brouteurs. Après 2006, les florifères deviennent de moins en moins nombreux, jusqu'à disparaître en 2010 par faute d'abrutissement.

Variation mensuelle des plants de *Liparis loeselii* var. *ovata*

En réalisant un suivi mensuel de la station, de petites anomalies apparaissent nettement. L'emplacement et le nombre de plants et plantules entre le début et la fin de saison, semblent différents (Figure 4).

Les raisons de cette différence pourraient venir d'une difficulté à repérer les plants par faute d'expérience ou pour cause de végétation plus luxuriante au printemps, ou bien encore pour les avoir confondu avec d'autres plantes.

Grâce aux piquetages réalisés, les observations amorcées se confirment. Il y a bien des fluctuations des nombres de plantules au sein de la station chaque mois. Tout au long de l'année, des jeunes plantules se développent entre juin et octobre. La majorité des pics de présence de plants se concentrent dans 86% des cas entre les mois d'août et d'octobre. Si l'on observe uniquement les années avec reproduction sexuée, nous arrivons à 75% pour le mois d'octobre et 15 % pour le mois de septembre. Pour les années sans reproduction, le pic est au mois d'août à 75% et 15 % en juillet.

Au regard des différents graphiques et schémas, il est possible de séparer les années en deux grands groupes: les années où l'on note une variation (2009, 2010, 2011) notées V1 et les années à deux variations (2006, 2007, 2008, 2013) notées V2. Malheureusement en 2012, l'eau ne s'est retirée qu'à la fin du mois de juillet, empêchant tout comptage pour juin et juillet.

Les années V1, font toujours suite à des années sans reproduction sexuée. Pour les trois années concernées, la courbe atteint son optimum soit en juillet ou en août. Cela

n'empêche pas l'apparition de plantules en septembre ou en octobre mais en petit nombre.

Pour avoir passé toute la saison face aux aléas du climat et des différents prédateurs, elles sont à la fin de l'été, souvent amputées de morceaux de feuilles, soit entièrement fanées ou dévorées par divers gastéropodes. Il doit s'agir de plantules issues d'une reproduction asexuée ou de plants relativement jeunes.

En revanche les années V2 succèdent toujours à des années avec production de graines.

Pour les V2, le premier pic correspond à des plants âgés de plusieurs années ou à des florifères. Il est assez facile de retrouver une grande partie d'entre eux d'une année sur l'autre. Ils sont de taille moyenne à grande avec deux feuilles. Une année, il a été observé un florifère à trois feuilles. Le deuxième pic est toujours constitué de plantules de très petites tailles. Elles sont souvent posées à même le sol avec un ancrage très faible. Elles sont extrêmement mobiles. Il est très difficile de les retrouver et de les suivre d'une année à l'autre. Leur petite taille, les rend également très sensibles à la prédation. Sur les schémas l'on remarque assez bien des pools, contigus à des plants florifères de l'année passée. Ils peuvent concentrer sur quelques centimètres carrés jusqu'à 20 plantules. Puis les années passant, ils se délitent jusqu'à disparaître.

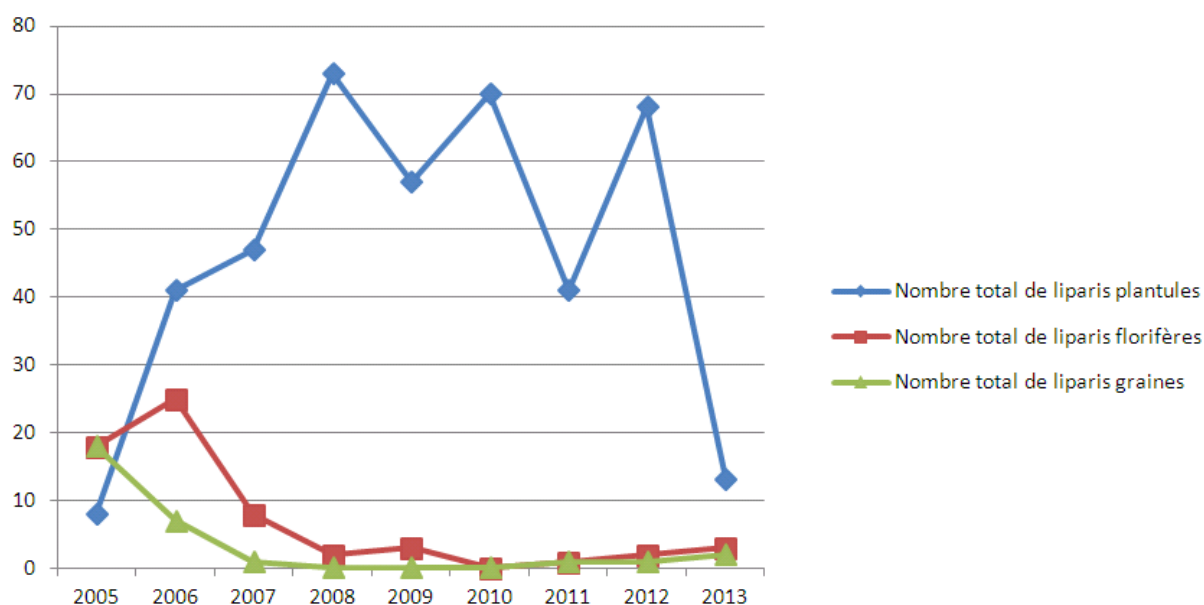
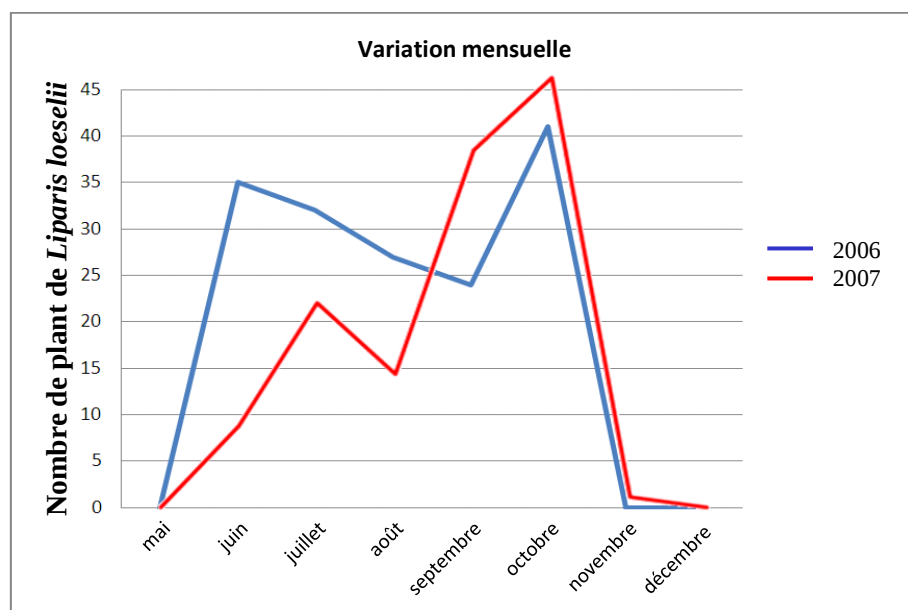
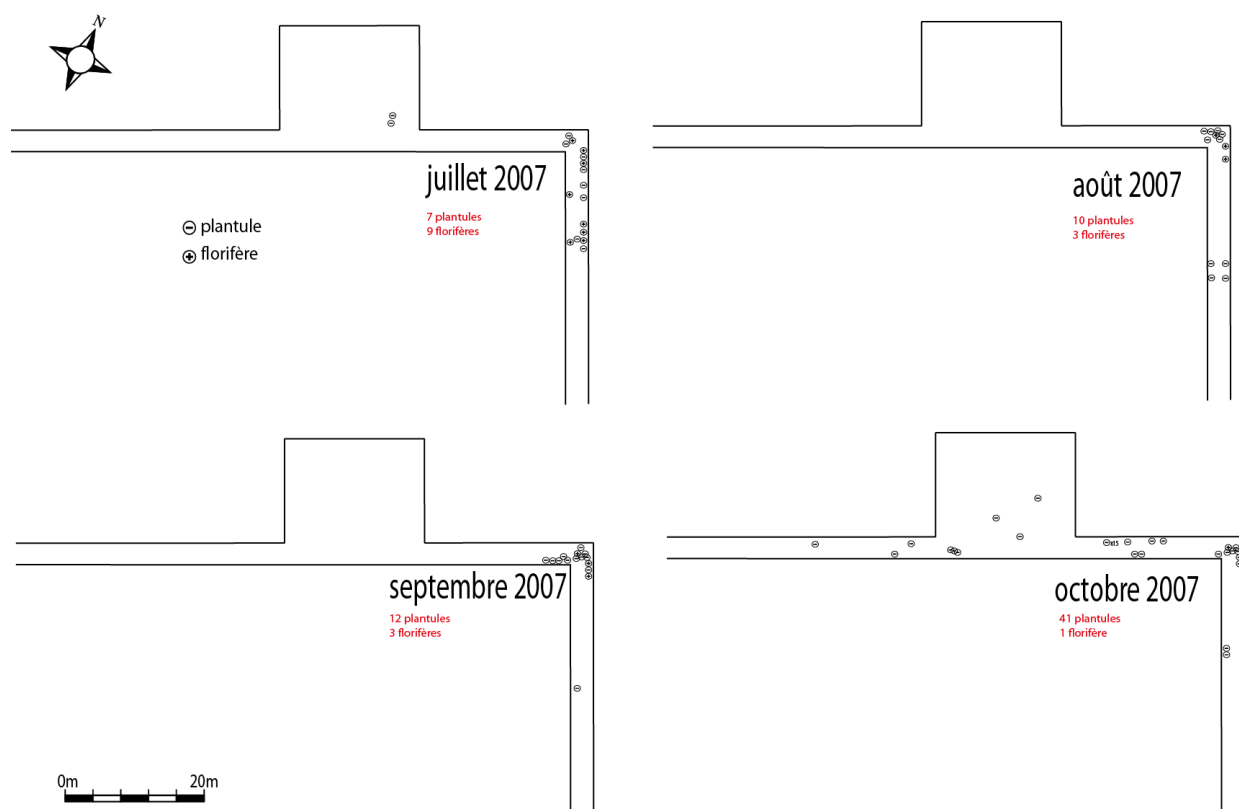
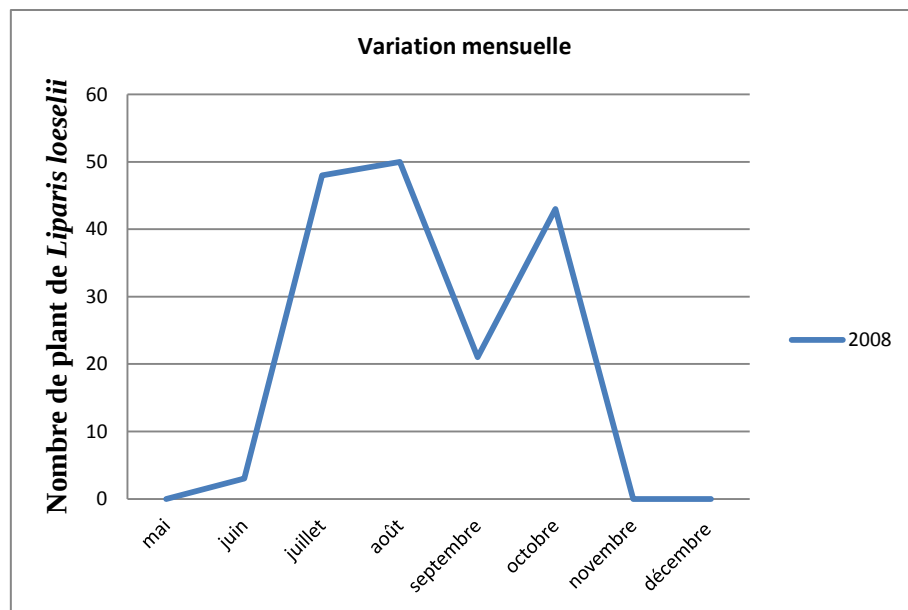


Figure 3. – Variation annuelle des plants

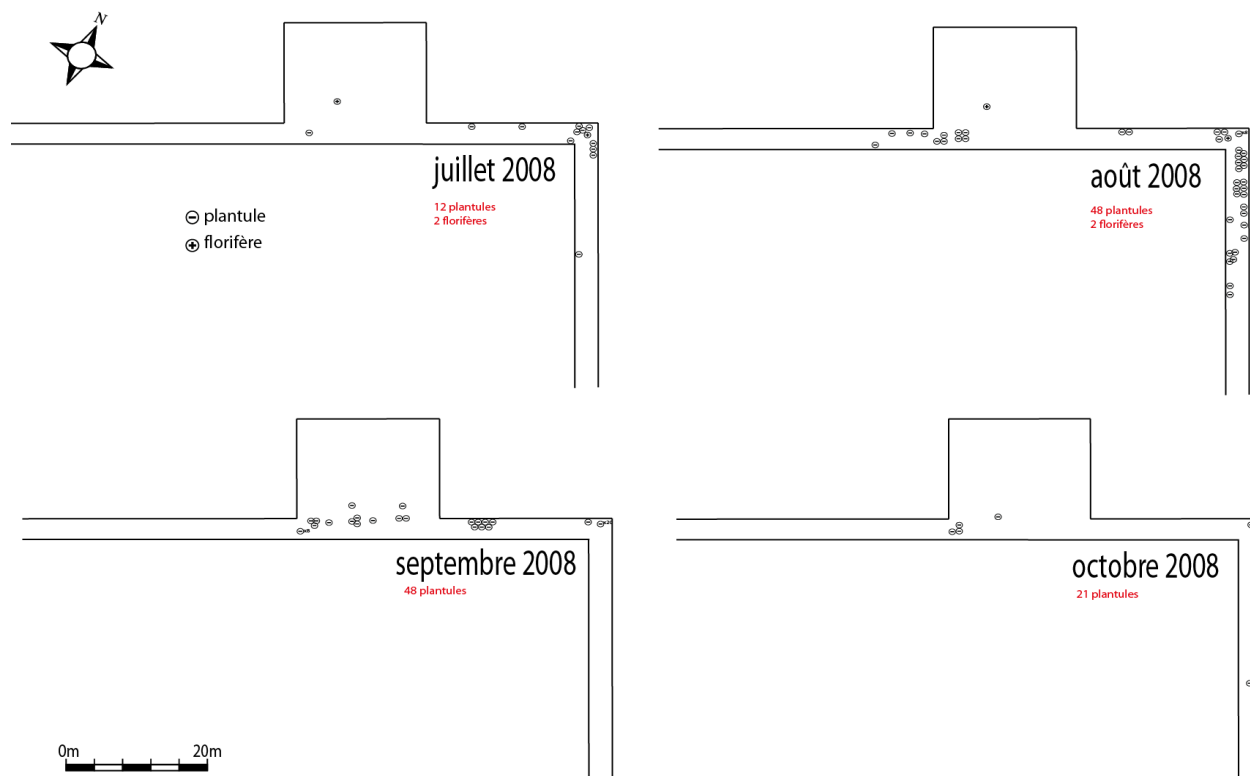


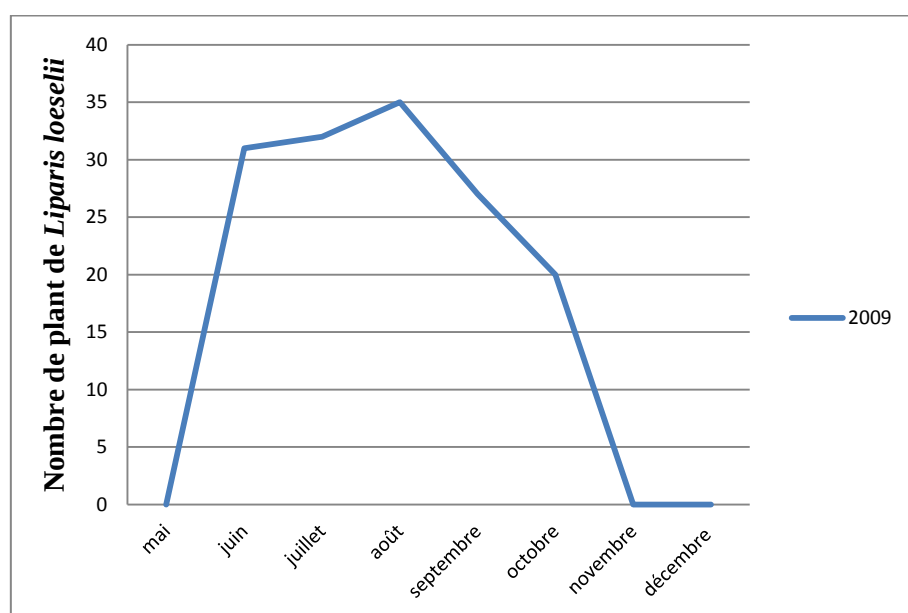
Variation mensuelle des plants de *Liparis loeselii* var. *ovata* en 2006 et 2007.



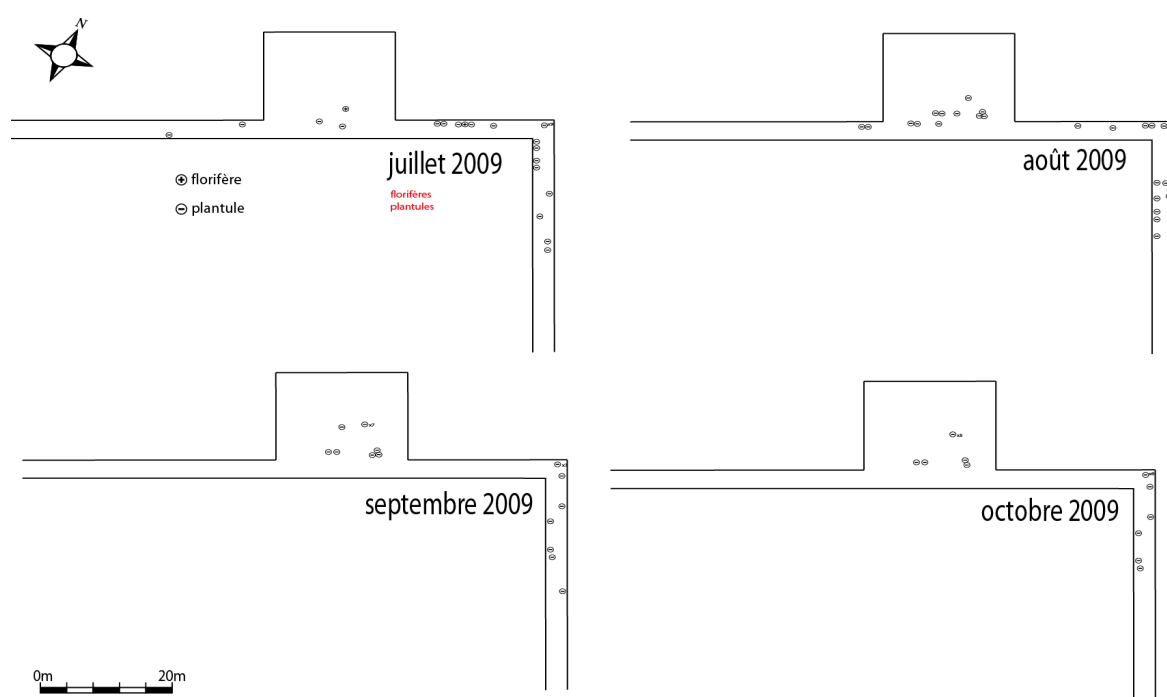


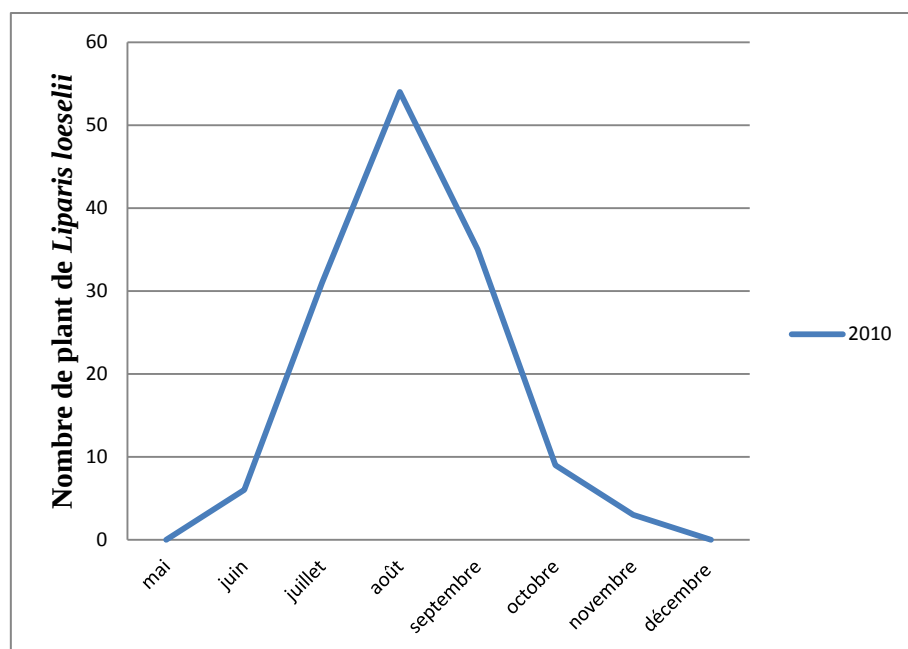
Variation mensuelle des plants de *Liparis loeselii* var. *ovata* en 2008.



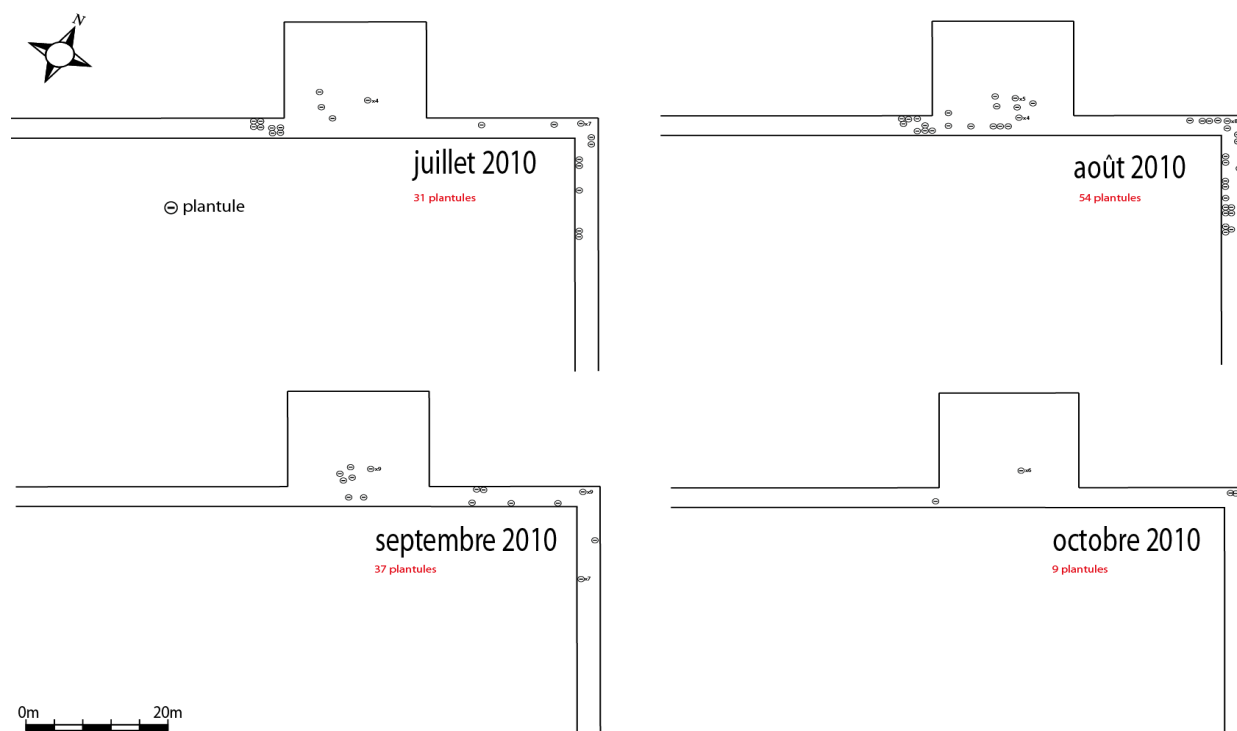


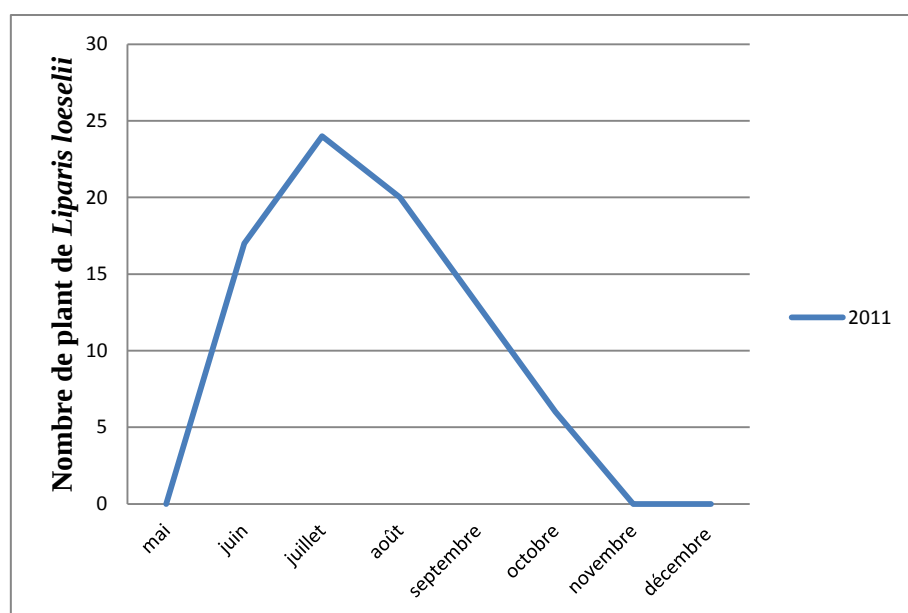
Variation mensuelle des plants de *Liparis loeselii* var. *ovata* en 2009.



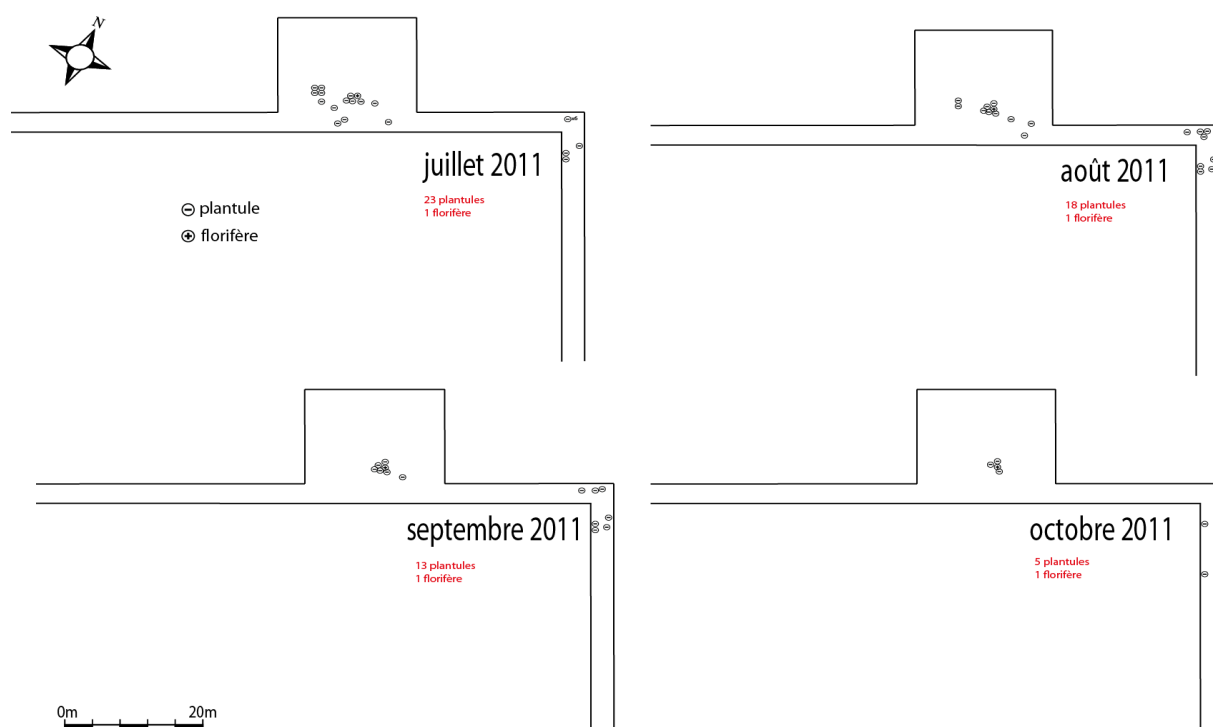


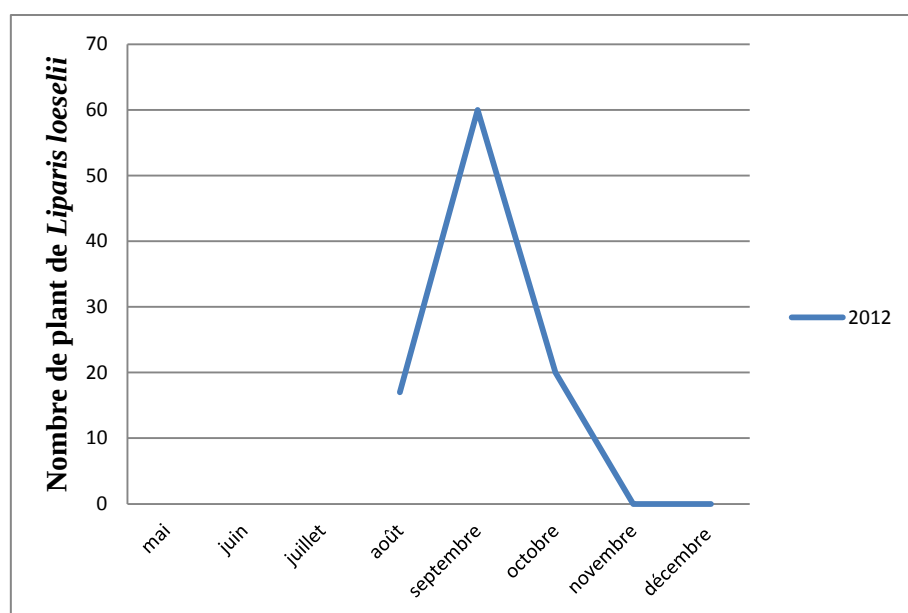
Variation mensuelle des plants de *Liparis loeselii* var. *ovata* en 2010.



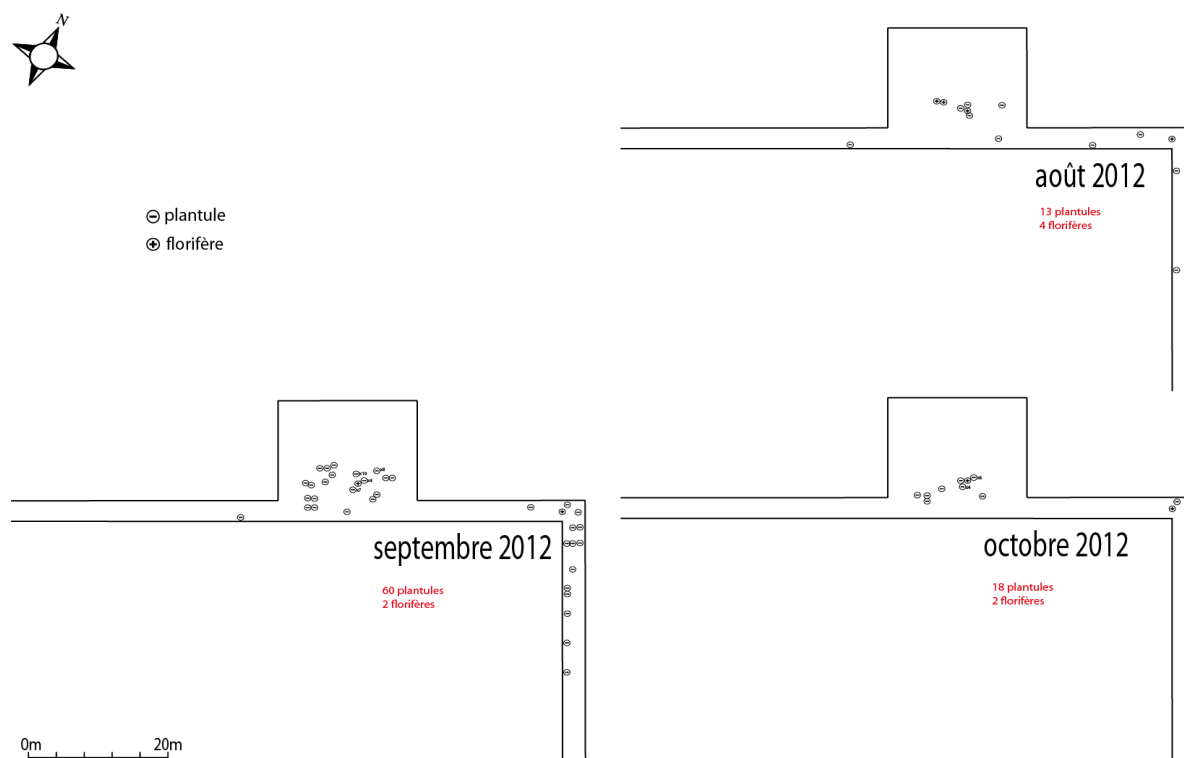


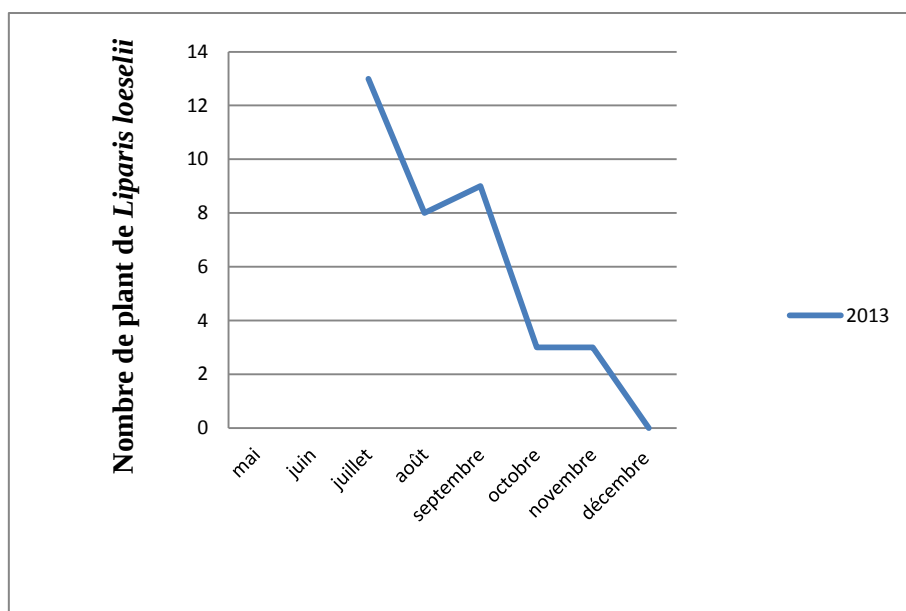
Variation mensuelle des plants de *Liparis loeselii* var. *ovata* en 2011.





Variation mensuelle des plants de *Liparis loeselii* var. *ovata* en 2012.





Variation mensuelle des plants de *Liparis loeselii* var. *ovata* en 2013.

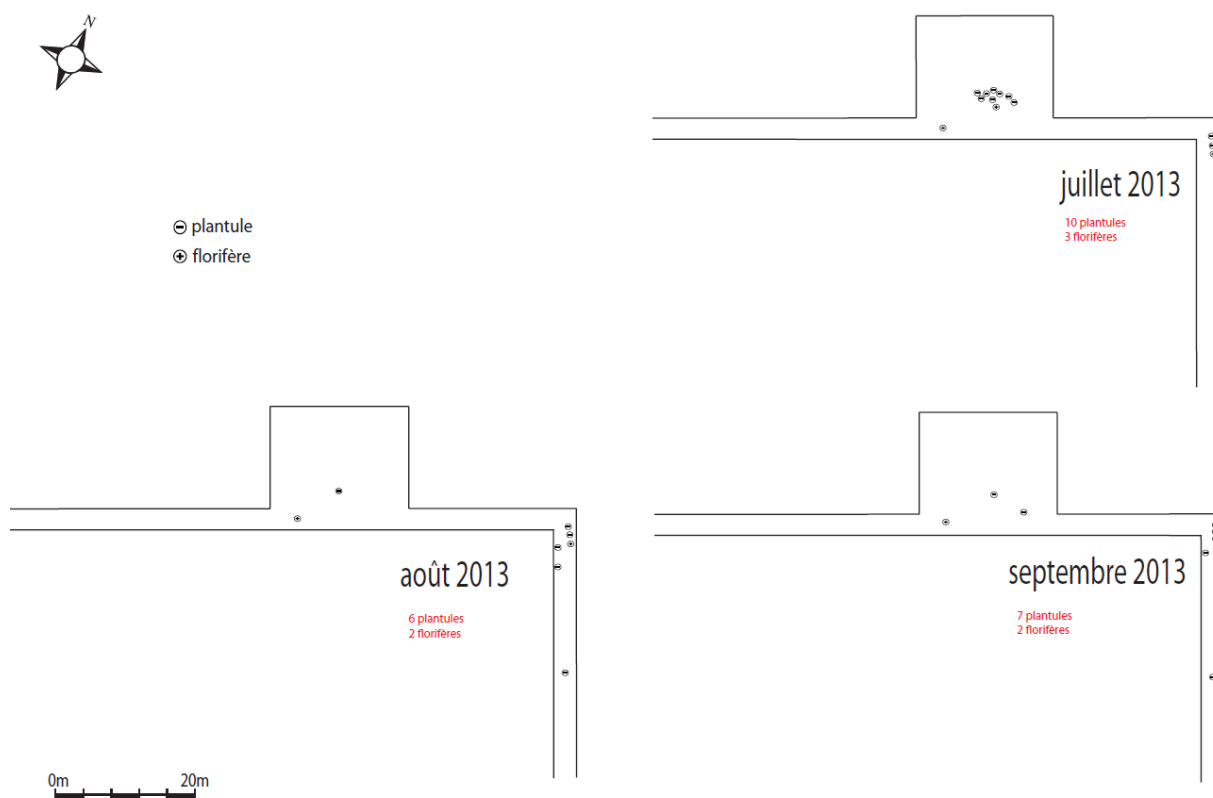


Figure 4. – Variations mensuelles des plants au sein de la station entre 2006 et 2013.

Ce décalage phénologique de très jeunes plants peut s'expliquer. Pour cela il suffit de regarder les périodes d'inondations, le temps de maturation des graines et les étapes de développement d'une semence. D'après les travaux de Hendoux, il faut 6 à 8 mois afin d'arriver à un pseudobulbe feuillé. Il ne faut pas oublier non plus que le *Liparis* est un hémicryptophyte. Si une graine germe en été, elle pourra subir un stress hydrique plus important. Il en va de même pour un jeune sujet pourvu de peu de réserve. Il est plus aisé de réussir à croître et ou à germer pendant des jours courts avec une humidité de l'air plus importante.



Photo 9. – Jeune plantule, septembre 2012 (S. Chaumont).

Certaines années les inondations peuvent être assez tardives, pouvant empêcher un ancrage au sol. Nous savons également que certaines graines ne sont émises qu'en février. Si la graine a besoin de plusieurs mois pour se développer nous arrivons facilement au mois d'août. Cela correspond assez bien aux observations faites sur le terrain.

Les mois exempts de toute inondation pour la période suivie sont de 100 % le mois

octobre, 66% les mois d'août et novembre et 17% les mois de décembre.

Plus le plant de *Liparis* vieillit, plus il perd en mobilité.



Photo 10. – Jeune plantule, octobre 2012 (S. Chaumont).

Les florifères semblent eux beaucoup plus stables, seul un événement inhabituel peut déclencher une "migration" (novembre 2006 et juillet 2007), comme une remontée soudaine de la nappe phréatique sur quelques plants mal ancrés, ou ayant subis l'action de grattis de lapins. Ils peuvent se mettre alors à flotter à la surface et se déplacer sous l'action du vent. Mais pour une très grande majorité, les florifères, une fois installés, restent toujours au même endroit.

La période de floraison est toujours homogène entre les plants. Ils fleurissent tous de fin juin à fin juillet.

Un seul plant a pu être suivi avec certitude comme étant florifère pendant au moins cinq années, entre 2005 et 2009.

Suivi des travaux d'étrépage et micro étrépage

Conjointement à la fauche, plusieurs étrépages ont été réalisés sur la station. Ils ont donné des résultats plutôt variés. Cela est dû essentiellement à la relation de leur emplacement ou sein de la station et de leurs morphologies. Réalisés à des dates différentes, ils sont antérieurs aux dernières émissions de graines de la période 2005-2007. Dans l'ensemble des carrés suivis, les plants de *Liparis* de Loesel ont toujours été observés de façon isolée. Aucune reproduction végétative n'a été identifiée. La dynamique étant faible, aucun étrépage n'a été entretenu par fauche.

Le micro-étrépage est plus facile à réaliser. Il demande peu de moyen et est peu

énergivore. En revanche, il offre une moins grande diversité d'habitat et peut être très vite affecté par les grattis et le broutage.

Créé en 2006, le carré A, est situé au centre d'un pool de plants fructifères. Il est de forme plane dans un coude du fossé.

Il est celui qui a donné les meilleurs résultats, idéalement placé, il a très vite donné un bon résultat. Le pic de *Liparis* fut atteint deux ans après sa création. Les *Liparis* visibles sont tous de petites tailles. Une plantule est restée plusieurs années au même endroit. Ce carré est l'un de ceux qui subit le plus fort piétinement. Faute de reproducteur, il a par la suite eut cesse de régresser, pour ne plus abriter un seul *Liparis* en 2012.

Créé en 2006, le carré B, se trouve dans la zone la plus humide, en limite la plus basse où a été vu des *Liparis*. Il connaît des temps d'immersion très long. Il est de forme très concave. Deux ans après sa création, des *Liparis* furent visibles. Mais leurs nombres n'ont jamais excédé les 3 plants. Depuis sa colonisation la présence en *Liparis* est en revanche continue. Il s'agit toujours de plantules extrêmement mobiles. Les localisations entre 2008 et 2012 sont toujours différentes.

Créé en 2006, le carré C est piqueté, au sein de FS1 dans une micro cuvette. Des *Liparis* furent visibles un an après. En revanche par la suite, aucun plant n'a été vu.

Créé en 2007, le carré D, est borné au centre de la station, mais hors concentration de plants florifères. Il est de forme peu concave. Il se trouve sur une petite butte ou se créé un goulot d'étranglement lors des inondations. Il se forme alors un petit courant lors de la montée ou de la descente de la nappe. Aucun plant n'a jamais été observé dans ce carré. Après le carré A, il s'agit de l'étrépage qui subit le plus de piétinement.

Créé en 2007, le carré E, se trouve dans la zone la plus sèche, à la limite la plus haute où ont été repérés des plants de *Liparis*. Il est de forme plane. Il connaît des temps d'immersion courts. Situé très loin des plants florifères, aucun plant n'a été vu pour l'instant.

Le cas de FS1

A coté des micro-étrépages, FS1 donne de biens meilleurs résultats. Sa taille bien plus conséquente, lui permet de moins subir les grattis, les pressions anthropiques et d'offrir une multitude d'habitats. Il faudra attendre 3 ans pour voir les premiers plants de *Liparis*

s'installer de façon pérenne, grâce aux graines et à la migration de pseudobulbes. Depuis 2011 un florifère émet des graines, renforçant la population à sa périphérie.



Photo 11. – Jeune plant émergeant de la mousse (S. Chaumont, juin 2008).

Autres observations

Le *Liparis* est souvent décrit comme une espèce pionnière qui va s'installer naturellement au sein d'une végétation naissante, rase et plutôt clairsemée. Il disparaît quand la végétation devient trop dense.

Lors de ce suivi j'ai toujours observé les jeunes plantules sur substrat nu.

Les plants plus âgés arrivent à pousser à travers la mousse, pouvant s'étioler sur plusieurs centimètres afin d'atteindre la lumière.

Si la mousse devient trop importante le pseudobulbe peut émettre un rhizome vertical d'une dizaine de centimètre afin de croître au dessus d'elle. Je n'ai jamais observé de plant poussant à même la mousse sans avoir de connexion avec le sol.

La mousse peut emmagasiner plus d'eau, créant des conditions propices pour le *Liparis*. Elle peut connaître un développement

important si l'inondation est importante. Elle se développe aussi avec l'augmentation de l'ombre. En revanche si elle sèche elle inhibe l'installation de jeune plant à sa surface.

Pour que les plantules et plants s'épanouissent, le substrat nu ne doit pas s'assécher. Sans protection ils deviennent également des proies faciles pour les gastéropodes. Car en plein soleil, en l'absence de toute végétation la surface du sable va avoir tendance à s'assécher fortement en été. Elle forme alors une "crouste" dure et sèche, incompatible avec le développement ou l'installation de plants et plantules à sa surface. Il faut attendre alors l'installation d'autres plantes (bryophytes, ...) qui maintiendront une certaine humidité et permettront l'implantation du *Liparis*.



Photo 12. – Plant émergeant de la mousse par un rhizome, émis d'un pseudobulbe situé au sol (S. Chaumont, juillet 2013).

En revanche, plus la végétation est haute, plus elle abritera les plants, elle permettra de garder une certaine humidité, mais limitera l'installation de jeunes sujets issus de graines.

Les plants âgés peuvent se maintenir dans une végétation assez haute à moyennement

dense pendant plusieurs années tant que la dynamique du milieu est faible (oligotrophie) en supportant la mi ombre.

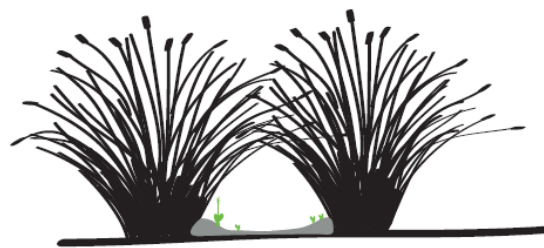


Figure 5. – Choins noirâtres protégeant les plants de *Liparis*.

Ils pousseront en lisière essentiellement au pied de *Schoenus nigricans* (Figure 5). Le choin noirâtre qui peut dominer le paysage avec sa morphologie forme des alcôves et des couloirs où les *Liparis* se développent. Ce réseau est potentiellement entretenu par de petits mammifères qui les utilisent dans leur déplacement.

En 2012, et pour la première fois, un nouveau pool de *Liparis* est trouvé à 150 mètres du premier. Il s'agit d'un fossé qui a été ré-ouvert en 2005 avec une création de trois micro-étrépages mais qui ne communiquent pas encore avec la station mère. C'est grâce au micro-étrépage que cette concentration fut découverte. Mais à la différence de la station mère qui abrite le *Liparis loeselii* var. *ovata*, celle-ci est composée uniquement de *Liparis loeselii* var. *loeselii*. Est-ce les prémisses d'un changement où les deux formes vont-elles cohabiter ?

DISCUSSION

Proposition de développement du *Liparis Loeselii*

On peut donc distinguer trois phases de développement pour le *Liparis* (Figures 6 et 7).

Le premier, le stade plantule, issu de la germination d'une graine; il est de très petite taille et est essentiellement visible entre août et octobre. Il ne porte qu'une feuille. Il s'agit de plant très mobile.

Le second, le stade plant, âgé d'au moins de 2 ans (?); il porte deux feuilles, il sera visible entre juin et fin octobre, rarement début novembre. Il a une mobilité relative.

Le dernier, le stade florifère, est un plant âgé de plusieurs années (5 ans ?); il porte deux

feuilles, très rarement 3 et est visible entre juin et octobre. Il est peu ou pas mobile.

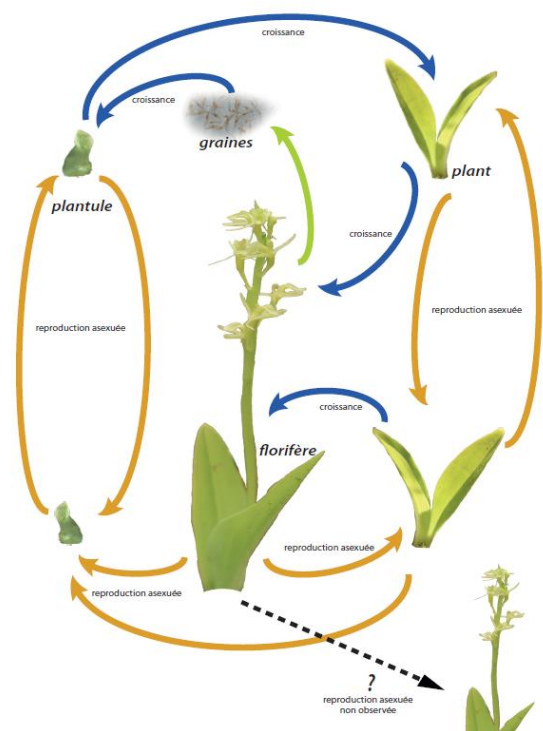


Figure 6. – Schéma de reproduction du *Liparis* de Loesel.

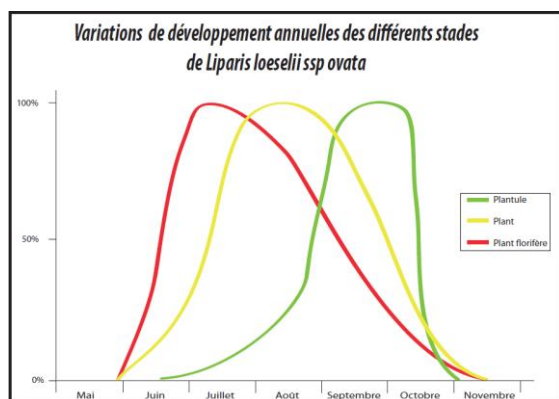


Figure 7. – Proposition de développement.

Mode de gestion

A. Connaître l'histoire du lieu et son évolution

B. Comprendre le fonctionnement de la nappe phréatique et suivre sa fluctuation

C. Identifier les individus (taille-nombre-juvénile/florifère), par mois

D. Si possible réaliser une analyse d'eau et un relevé phytosociologique

E. Identifier les menaces à court terme, moyen et long terme avec la fréquence de celles-ci

F. Comprendre la dynamique et la rapidité du milieu.

G. Ne jamais appliquer le même type de gestion sur l'ensemble de la station. Il est souhaitable de mettre en place sur un même secteur, de la non gestion, de l'étrépage et de la fauche et du pâturage.

H. Avant de procéder à des travaux d'étrépages il est impératif de connaître la constitution du sous sol car celui-ci peut être différent avec la surface. Il est également important de créer du relief et de connaître l'orientation des vents dominants.

A noter que sur la station historique des terrains du Conservatoire du littoral une décennie de pâturage et de fauche et plus récemment d'étrépage n'ont pas permis la réinstallation de l'espèce.

Pour l'actuelle station les travaux de suivis, de fauche, de ré-ouverture vont se poursuivre.

Le but est d'accroître les effectifs et d'étendre la population vers l'est du site.

Courant 2013 un piquetage des plantules, plants et florifères sur deux sites (Tréfléz et Guissény) a vu le jour. Un code couleur est attribué en fonction du stade phénologique de chaque individu. Il permettra de connaître au bout de plusieurs années comment cette espèce évolue (Figure 8).

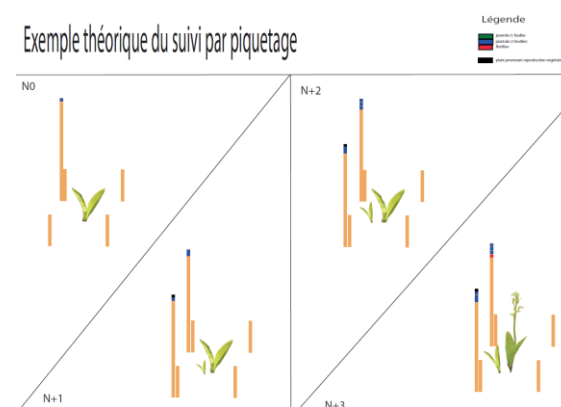


Figure 8. – Suivi débuté en 2013 sur l'évolution des différents stades phénologiques.

Références

- Bournérias M., Prat D. 2005. Les Orchidées de France, Belgique et Luxembourg (2e éd), SFO, Biotope, Mèze. 504 p.
- Delforge P. 1994. Guide des orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient. Les guides du naturaliste. Delachaux et Niestlé, Paris. 481 p.
- Destiné B. 2000. La germination et la croissance juvénile de *Liparis* de Loesel (L.) L.C.M en conditions de culture asymbiotique in vitro. Conservation ex situ des plantes menacées, CBN Bailleul. pp. 193-206.
- Dusak F., Prat D. 2010. Atlas des Orchidées de France, SFO, MNHN, Paris-Biotope, Mèze. 400 p.
- Elouard E, Guillevic Y., Loison P. 2006. Ouverture expérimentale d'un habitat de dépression humide à *Liparis* de Loesel en arrière dune mât Fenoux (Plouhinec) Expérimentation et résultats de 2 ans de suivi 2005 et 2006. CBN Bretagne. 20 p.
- Garnier M. 2002. Orchidées de Bretagne. *Penn ar Bed*, 186. 54 p.
- Gremillet X. 1993. Orchidées des zones humides littorales du Nord-Finistère. *ERICA*, 4: 43-52.
- Gremillet X. 1995. *Liparis loeselii* : comparaison de quelques populations du Pays de Galles, de la vallée du Rhône et de Bretagne. Propositions de gestion pour certaines stations armoricaines. *ERICA*, 6: 51-60.
- Gremillet X. 1997. Gestion expérimentale de quelques placettes au sein de stations de *Liparis loeselii* (résultats préliminaires). *ERICA*, 9: 15-16.
- Gremillet X. 2009- Bilan 2005, 2007, 2009; *Liparis loeselii* du marais du Curnic (Nord Finistère) Site Natura 2000 « Guissény » n° 53 00043. Société Française d'Orchidophilie. 31 p.
- Hendoux F., Aboucaya A., Bajon R., Delahaye T., Destiné B., Hoff M., Magnanon S., Petetin A., Seznec G., 2001. - Plan national de conservation du *Liparis* de Loesel (*Liparis loeselii* (L.) L.C.M. Rich.), pour le Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. 154 p.

Diversité phylogénétique des orchidées en Guyane Française

Mélanie ROY¹, Mélissande NAGATI¹, Wesley TOMAS¹, Raphaëlle GAREIL¹, Olivier CLAESSENS², Guillaume LEOTARD³, Aurélien SAMBIN⁴, Emmanuel RAVET⁵, Olivier TOSTAIN⁶

¹ Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, UMR 5174 UPS, ENFA, CNRS, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex, France
melanie.roy@univ-tlse3.fr

² 2710 route de Montabo, 97300 Cayenne, France.

³ PARAMANA, 97351 Matoury, France.

⁴ Orchidées Guyane Export Jardin botanique de Guyane, PK34, savane Césaire, 97355 Macouria, France.

⁵ 2 rue du lotissement Maripas, 97354 Remire-Montjoly, France

⁶ ECOBIOS Domaine du Mont Lucas, 97300 Cayenne, France

Abstract – Phylogenetic diversity of French Guiana orchids. French Guiana (FG) is a biodiversity hotspot for trees, insects and many taxonomic groups. Orchids are pretty diverse but still poorly studied in this department. Orchid identification relies on floral morphology, but unfortunately, it is far more frequent to observe only their leaves. Naturalist often face this practical problem and can solve it through two different approaches. First, orchid can be cultivated in greenhouse, until flowering. This solution leaded experts to collect and store living orchids in FG. Second, orchid DNA can be sequenced, and compared to reference samples. This solution leaded molecular biologists to produce barcode like ITS and matK to identify species. These two approaches were handled in FG, in order to produce a set of reference sequences for orchids in FG. A total of 203 ITS and 170 matK sequences was produce, adding 103 species and 7 genera to Genbank database. Phylogenetic analyses point out the genetic differences of orchid in FG, and putative new species for FG. However, orchid identification based on sequences remain limited by the lack of references in the Neotropics.

Résumé – La Guyane Française est un point chaud de la diversité des arbres, des insectes, et les orchidées y semblent aussi très diversifiées, mais trop peu étudiées. La connaissance des orchidées passe souvent par l'étude de leurs fleurs, et pourtant il est plus fréquent d'observer leurs feuilles. Ce problème est fréquemment rencontré par les naturalistes, et pour le résoudre, deux approches ont été utilisées. Tout d'abord, les orchidées peuvent être cultivées, et fleurir en jardin botanique. C'est ainsi que cinq experts naturalistes de Guyane Française ont constitué une collection vivante d'orchidées pour affiner leur détermination. Par ailleurs, le séquençage de deux marqueurs moléculaires (matK et ITS) a permis de comparer l'ADN des feuilles à celui d'échantillon de référence. Au total, 203 séquences ITS et 170 matK ont été produites, ce qui a permis d'ajouter 103 espèces et 7 genres aux bases de données génétiques publiques (Genbank). Les analyses phylogénétiques soulignent la diversité des orchidées de Guyane française, et suggèrent la présence d'espèces encore non décrites en Guyane. Cependant, leur identification à partir des séquences seules reste encore limitée par le manque de références moléculaires.

Mots-clés : Orchidées, Code barre ADN, Guyane

INTRODUCTION

La famille des Orchidaceae est reconnue comme l'une des plus riches en espèces, et compte près de 25000 espèces et 750 genres (Chase *et al.*, 2003). L'histoire de la diversité

des orchidées a été révolutionnée par la découverte de fossiles de Goodyerinae, vieux de 15 à 20 millions d'années. L'origine des orchidées a été repoussée au moins à 74 millions d'années, contredisant la prétendue jeunesse de cette famille (Ramirez *et al.*,

2007). Depuis, les orchidées se sont dispersées dans tous les biomes, tout en étant particulièrement diversifiées en région tropicale. Les études phylogénétiques qui retracent l'évolution des orchidées tentent de comprendre les mécanismes évolutifs ayant conduit à une telle diversité. Ainsi, plusieurs hypothèses sont avancées : l'interaction étroite avec les pollinisateurs (Cozzolino et Widmer, 2005) ou avec des champignons mycorhiziens (Otero et Flanagan, 2006) pourrait conduire à des spéciations, et tout comme la fragmentation des populations (Pinheiro et Cozzolino, 2013). En forêt tropicale humide, elles ont notamment colonisé l'habitat épiphyte, aux côtés des Bromeliaceae et des fougères. Les orchidées épiphytes constituent ainsi une part importante de la biodiversité et de la biomasse de la canopée (De Granville, 1984 ; Gehrig-Downie *et al.*, 2011). La colonisation de cette niche pourrait aussi avoir favorisé la diversification des orchidées (Gravendeel *et al.*, 2004), dont 80% sont épiphytes aujourd'hui (Chase *et al.*, 2003).

La diversité des orchidées n'échappe pas à l'érosion qui affecte les autres groupes taxonomiques et la plupart des biomes, et les études sur les populations d'orchidées menacées se multiplient. Les orchidées sont souvent réputées rares, et dispersées, ce qui peut les rendre plus sensibles à la fragmentation de leur habitat. Leur spécialisation vis à vis de leur(s) pollinisateur(s), ou de leur(s) champignon(s) symbiotique(s), peut aussi les rendre plus sensibles à des modifications de leur milieu. Ainsi, les orchidées sont fréquemment protégées, au moins régionalement. Leur spécialisation d'habitat, leur rareté, et leur statut de protection en font donc des indicateurs de choix pour les études d'impact sur la biodiversité, notamment en forêt tropicale (De Granville, 1984).

La Guyane Française est un territoire couvert de forêt, et a vu la création récente d'un parc Amazonien (depuis 1993). Par ailleurs, les inventaires sur la biodiversité font l'objet de programmes de recherches (<http://www.labex-ceba.fr>) et sont aussi menés par des bureaux d'études privés. Les orchidées font partie des groupes étudiés, mais les botanistes font face à plusieurs obstacles limitant l'identification de celles-ci. En effet, entre 78 à 85% des orchidées de Guyane sont épiphytes (Chiron, 2002), elles sont donc

inaccessibles en dehors des chablis. Par ailleurs, la floraison des orchidées peut être relativement rare, et en l'absence de fleurs, l'identification est limitée au niveau du genre. Enfin, les études précédentes qui dénombrent entre 300 et 391 espèces sur le territoire (Chiron, 2002 ; Funk *et al.*, 2007), soulignent aussi le manque d'étude et de révision de la flore des orchidées de Guyane.

La Guyane Française est plus généralement reconnue comme un point chaud de diversité (Myers *et al.*, 2000), notamment pour les arbres. Il est fort probable que les orchidées y soient aussi diversifiées, et les pays proches comme la Colombie ou le Brésil sont d'ailleurs réputés pour la richesse de leur flore en orchidées. Dans ce contexte, l'enjeu des inventaires n'est pas seulement de nommer des orchidées, indicatrices ou protégées, il est aussi de décrire la diversité des orchidées jusqu'à là peu explorée en Guyane Française.

L'objectif de notre projet n'a pas été de réviser la flore des orchidées de Guyane, mais plutôt de fournir des outils pour faciliter le travail de description des orchidées par les botanistes. En effet, face à des orchidées stériles, deux solutions peuvent permettre l'identification : la culture du spécimen sous ombrière, et l'identification par code barre ADN, comme déjà proposé pour le genre *Holcoglossum* (Xiang *et al.*, 2011).

Un code barre ADN est une séquence nucléotidique identique entre individus d'une même espèce et distincte entre deux espèces différentes (Hollingsworth *et al.*, 2011). Assez couramment, les codes barre ADN utilisés ne sont pas strictement identiques mais présentent une plus faible variabilité intraspécifique qu'interspécifique. Les codes barres nécessitent d'être testés (Hollingsworth *et al.*, 2011) et sont différents selon les groupes étudiés : l'ITS (espaceur intergénique de l'ADN ribosomal nucléaire) est utilisé chez les champignons (Schoch *et al.*, 2012), tandis que des marqueurs chloroplastiques sont utilisés chez les plantes (Hollingsworth *et al.*, 2011).

Cependant, l'identification à partir de l'ADN est souvent limitée par le manque de séquences de références sur les banques de données publiques. L'objectif de notre projet est donc de produire une banque de séquences de référence pour des orchidées de Guyane Française. Deux marqueurs ont été ciblés, l'ITS, et le gène chloroplastique codant pour la maturase K (*matK*). Ces deux marqueurs sont

reconnus comme de bons codes-barre ADN chez certaines orchidées comme le genre *Holcoglossum* (Xiang *et al.*, 2011). Par ailleurs, ces marqueurs pourront être utilisés pour reconstruire des phylogénies et ainsi avoir accès à l'histoire évolutive des orchidées de Guyane Française.

MATERIELS ET METHODES

Récolte des spécimens et identification

Les orchidées ont été récoltées entre 2009 et 2013, lors de missions effectuées par E. Ravet, O. Claessens, G. Leotard et O. Tostain. Une feuille a été prélevée pour l'ADN et stockée dans du silicagel. Les spécimens entiers ont été par ailleurs séchés et sont conservés à l'herbier de Cayenne (IRD). Pour une partie des collections, des spécimens vivants ont été déposés chez A. Sambin (jardin botanique). Par ailleurs, des feuilles d'orchidées conservées in vivo par E. Ravet depuis 20 ans ont été échantillonnées. Les orchidées ont été prélevées sur 17 sites localisés sur la Figure 1, essentiellement sur la borne frontière 4, la réserve de la Trinité, le

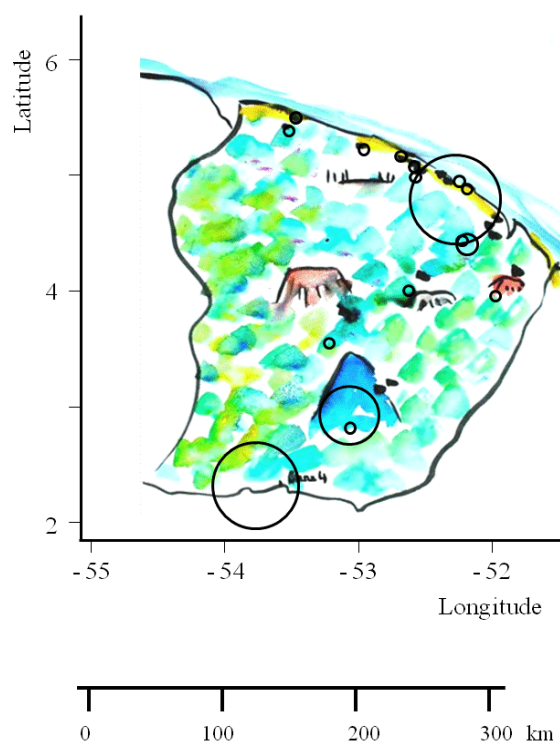


Figure 1. – Localisation des sites d'échantillonnage en Guyane Française. La taille des cercles est proportionnelle au nombre de spécimens récoltés.

Mont Itoupé, et la montagne de Kaw (Tableau 1). Les habitats représentés sont tant forestiers qu'ouverts comme des savanes ou même des savanes roches sur des Inselberg. L'altitude des sites varie entre 0 et 830 m.

Extraction d'ADN

L'ADN des feuilles a été extrait à l'aide du kit Promega suivant le protocole fourni et Rochet *et al.*, (2011). Le broyage a été réalisé à l'aide de billes de verres et d'un agitateur (2 minutes à 30 Hz). L'ADN a été suspendu dans 40 µL d'eau stérile puis dilué pour l'amplification des marqueurs génétiques. L'ADN a été stocké à -20 °C au laboratoire EDB.

Tableau 1. – Sites échantillonnés, position géographique et nombre de spécimens (N).

Site	N	Longitude	Latitude
Borne frontière 4	101	2° 22' 20" N	53° 46' 22" W
Tabulaire de la Trinite	101	4° 54' 11" N	52° 21' 51" W
Mont Itoupé (camp)	44	3° 01' 02" N	53° 05' 43" W
Montagne de Kaw	26	4° 34' 35" N	52° 14' 11" W
Saül (Limonade DZ4)	5	3° 36' 08" N	53° 14' 50" W
Réserve Naturelle Nouragues	2	4° 05' 17" N	52° 40' 47" W
Réserve Naturelle Trésor	2	4° 36' 01" N	52° 17' 37" W
Angoulême	1	5° 24' 40" N	53° 39' 21" W
APB des Sables blancs	2	5° 31' 16" N	53° 33' 54" W
Piste de Saint Elie	1	5° 17' 34" N	53° 03' 08" W
Pont du Larivot RN1	1	4° 54' 11" N	52° 21' 51" W
Régina RN2	1	4° 04' 30" N	52° 02' 25" W
Roche Nicolle CSG	1	5° 15' 27" N	52° 46' 47" W
Savane Carapa	1	5° 10' 13" N	52° 39' 44" W
Savane des Pères	1	5° 07' 21" N	52° 39' 09" W
Savane Malmaison (ZNIEFF)	1	4° 58' 28" N	52° 26' 18" W
Savane-roche Beeriana	1	2° 55' 15" N	53° 04' 47" W

Amplification et séquençage

Deux marqueurs ont été amplifiés, ITS et matK, à l'aide des amorces ITS1P-ITS4 (White *et al.*, 1990 ; Gardes et Bruns, 1993) et matK390F-matK1326R (Cuenoud *et al.*, 2002) respectivement. Les cycles d'amplification ont été réalisés avec des températures d'hybridation de 55 et 48 °C respectivement, suivant le protocole décrit dans Rochet *et al.*, (2011). Les produits PCR amplifiés ont été séquencés par l'entreprise Millegen (Toulouse, France) après purification.

Comparaison aux banques de données publiques par BLAST

Les séquences obtenues en double sens ont été corrigées ensemble de façon à obtenir un consensus, à l'aide du logiciel Geneious (www.geneious.com). Toutes les séquences ont ensuite été comparées aux banques de données publiques sur le site Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) à l'aide du programme BLAST (Basic Alignment Search Tool, Altschul *et al.*, 1990). Par ailleurs, des recherches sur Genbank ont permis de dénombrer le nombre de séquences déjà publiques pour chaque genre et chaque marqueur.

Similarité entre séquences après alignement

Toutes les séquences produites en Guyane ont été comparées entre elles par un alignement à l'aide du logiciel MAFFT (Katoh et Stanley, 2013). Pour le marqueur ITS, les alignements sont souvent mauvais au delà du genre, mais la variabilité de sa séquence permet de détecter des différences entre espèces. Le pourcentage de similarité entre les séquences a été calculé à partir de cet alignement, et la répartition de ces valeurs a permis de mesurer le seuil de similarité utilisable comme un critère de délimitation d'espèce. Pour les genres représentés par au moins 10 spécimens, des phylogénies ont été réalisées à partir de ces alignements pour rassembler nos échantillons entre eux. Les inférences phylogénétiques ont été réalisées en maximum de vraisemblance, en utilisant le modèle GTR+I pour tous les alignements. Les phylogénies ont été inférées à l'aide du logiciel RaxML (Stamatakis *et al.*, 2008) sur le site CIPRES (Miller *et al.*, 2010 ; <http://www.phylo.org>). La robustesse des phylogénies a été testée par la méthode de ré-échantillonnage « bootstrap » rapide du logiciel RaxML. Les phylogénies ont pu être visualisées et éditées avec le logiciel Figtree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>).

Position phylogénétique par genre

Une recherche sur Genbank a permis de rassembler l'ensemble des séquences de références pour chaque genre et pour les deux marqueurs. Ainsi, la suite des analyses a pu se faire par genre, de façon à identifier finement les spécimens séquencés. Pour chaque genre, les séquences de référence, les séquences

produites et un groupe externe ont été alignées à l'aide du logiciel MAFFT (Katoh et Stanley, 2013). L'alignement a été corrigé manuellement, de façon à retirer les séquences trop courtes et les bornes inégales. Des phylogénies ont ensuite été reconstruites par maximum de vraisemblance comme décrit précédemment.

RESULTATS

Récolte du matériel et identification

Au total, 387 spécimens ont été échantillonnés, appartenant à 71 genres, 17 sous-tribus, 11 tribus, et 4 des 5 sous-familles d'orchidées (Cypripedioideae, Vanilloideae, Orchidoideae et Epidendroideae). Parmi ces spécimens, tous ont été identifiés jusqu'au genre au préalable, 275 (71,0%) jusqu'à l'espèce, 41 (10,6%) étaient considérées comme proche d'une espèce connue, et enfin 71 (18,3%) ont été considérées comme possiblement nouvelles.

Amplification et séquençage

Tous les échantillons n'ont pas pu être amplifiés, probablement suite à la dégradation de l'ADN au séchage. Au total, 207 séquences ITS ont été produites et 170 pour matK. L'ensemble des séquences sera déposé sur genbank après une validation par les taxonomistes. Les séquences identifiées au niveau de l'espèce sans ambiguïté sont déjà déposées sous les numéros KJ472337-KJ472419 et KJ472421-KJ472426 sur genbank.

Comparaison aux banques de données publiques par BLAST

La seule identification par Blast ne peut pas être retenue, notamment à cause de la pauvreté des bases de données en séquences pour certains genres comme *Triphora*, *Tristella* ou *Mormodes* (Tableau S1). Au total, 7 genres n'étaient jusqu'alors pas séquencés pour aucun marqueur, et l'ITS et matK n'étaient pas connus pour 13 et 18 genres respectivement (Tableau S1). Parmi les espèces échantillonnées, 30 seulement étaient déjà séquencées, et auraient pu être rapprochées de nos spécimens. Néanmoins, seules 46,9% des séquences ITS sont similaires à plus de 97% d'une séquence déjà connue et identifiée (Tableau S2).

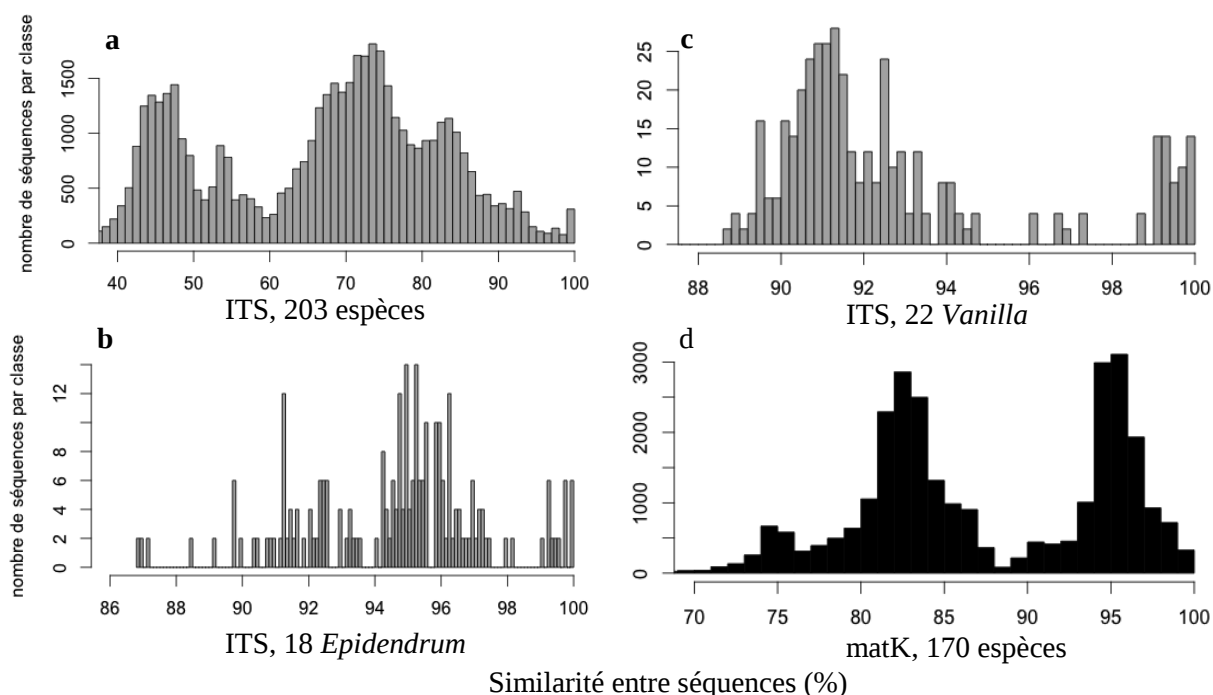


Figure 2. – Nombre de séquences par classe de similarité entre séquences pour les marqueurs ITS (a,b,c, en gris) et matK (d, en noir), pour l'ensemble des séquences (a) ou pour les genres *Epidendrum* (b) et *Vanilla* (c).

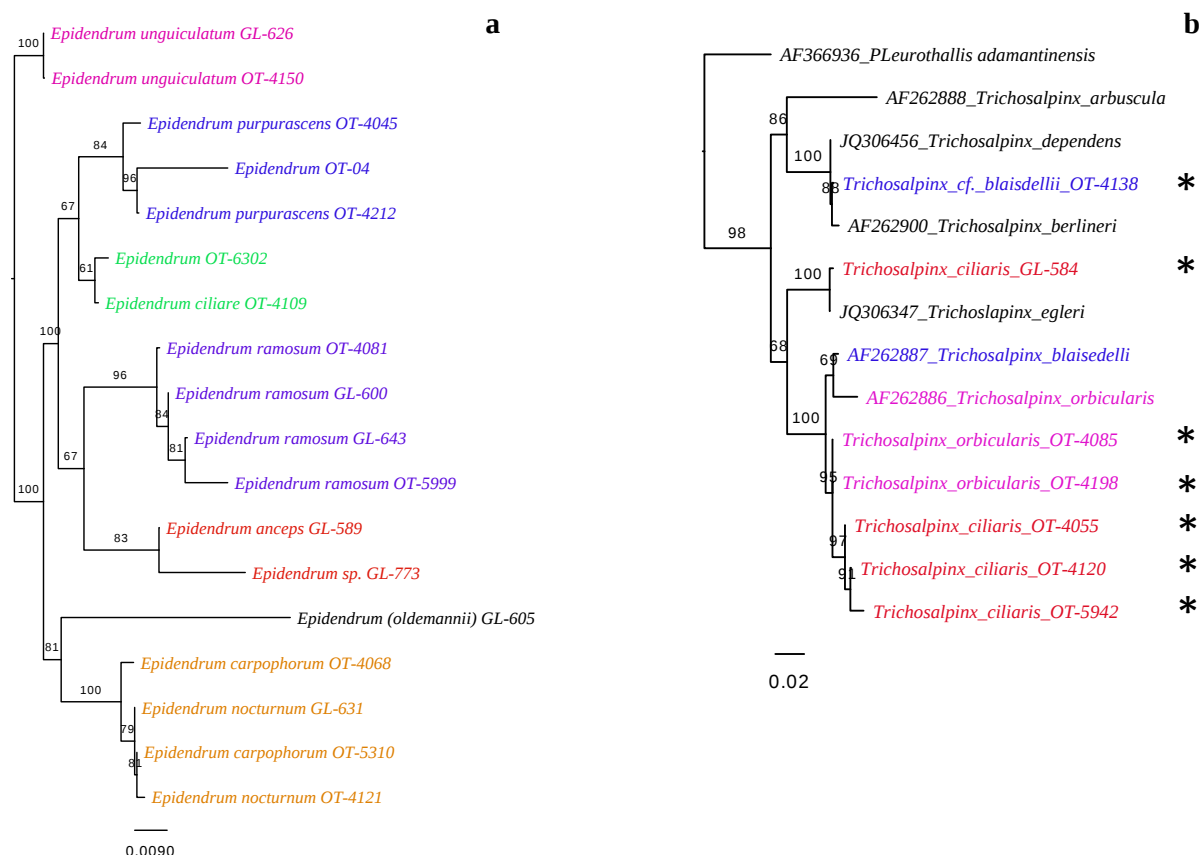


Figure 3. – Phylogénie des spécimens d'*Epidendrum* de notre étude (a) et du genre *Trichosalpinx* (b) inférée par maximum de vraisemblance à partir des marqueurs ITS+matK suivant un modèle d'évolution GTR+I et répliquée 1000 fois. Les étoiles indiquent les spécimens de notre étude parmi les références de *Trichosalpinx*.

Similarité entre séquences après alignement

Les alignements entre nos séquences ont permis de détecter le seuil de similarité permettant de distinguer la variabilité intra et interspécifique. Ainsi, sur l'ensemble des orchidées, le seuil de 97% de similarité sur l'ITS semble acceptable, mais aucun seuil n'a été détecté sur matK (Figure 2d). Par ailleurs, la variabilité intraspécifique de plusieurs genres est encore plus faible et les spécimens de *Vanilla* spp., d'*Epidendrum* spp. se ressemblent au moins à 98% (Figures 2b et 2c). La phylogénie permet cependant de regrouper les séquences, et révèle des rapprochements notamment d'échantillons non identifiés au niveau de l'espèce, par exemple pour le genre *Epidendrum* (Figure 3).

Position phylogénétique par genre

Compte tenu du faible nombre de spécimens par genre (Tableau S1), ou du petit nombre de marqueurs utilisés, nous n'avons pas cherché à résoudre la topologie des phylogénies. Il s'agit d'une approche de « barcoding » et non d'une étude fine des relations de parentés au sein de tous les genres étudiés. Nous ne présenterons dans cet article que quelques phylogénies, l'ensemble est disponible sur demande.

La phylogénie par genre à partir de l'ITS et de matK a permis ainsi de confirmer l'identité de 22,2 et 27,1% des séquences au niveau de l'espèce respectivement, et 69,1 et 62,9% au niveau du genre (Tableau 2). Ces derniers spécimens ne sont pas pour autant attribuables à une autre espèce connue, et il faudrait donc réviser leur position taxonomique, voire décrire de nouvelles espèces pour ces spécimens. Par ailleurs, les phylogénies ont permis de rassembler certains spécimens, notamment dans les genres, *Dichaea* (Figure 4), *Epidendrum* (Figure 3a), *Gongora*, et *Vanilla*. Les spécimens de ces genres ne sont que rarement déterminés jusqu'à l'espèce sans la morphologie florale. A l'inverse, les phylogénies ont permis de détecter une importante variabilité pour certaines espèces apparemment connues, comme dans le genre *Trichosalpinx* (Figure 3b). Dans ce cas, la phylogénie contredit toutes les identifications faites à partir de la morphologie. Il convient donc de retourner sur les spécimens, d'observer leur morphologie florale, et par ailleurs d'augmenter le nombre de spécimens inclus dans la phylogénie. Au

final, notre échantillonnage permet d'ajouter 103 espèces et 7 genres aux banques de données publiques.

DISCUSSION

Efficacité et limites de l'approche « code barre » chez les orchidées

Alors que la famille des Orchidées est l'une des plus riches parmi les plantes à fleurs, elles sont, comme beaucoup de plantes herbacées, exclues des inventaires standardisés en région tropicale. Leur rareté et le manque d'experts peuvent expliquer ce déficit, et pourtant elles constituent aussi d'excellents indicateurs de perturbation, et peuvent justifier la conservation de certains milieux. Le séquençage de code-barres pourrait faciliter le travail d'identification, notamment pour des spécimens stériles au moment de la récolte. Cette approche est couramment utilisée pour les insectes (Hollingsworth *et al.*, 2011) et a été validée chez les orchidées à partir des marqueurs ITS et matK (Xiang *et al.*, 2011).

Tableau 2. – Niveau d'identification à partir des phylogénies sur les marqueurs ITS et matK et proportion de spécimens identifiés par niveau de détermination.

Identification à partir des phylogénies	Détermination	ITS	% seq	matK	% seq
Sans séquence de référence pour le genre	famille	9	4,3	9	5,3
Sans séquence de référence pour l'espèce	genre	143	69,1	107	62,9
Similaire à une séquence de la même espèce	espèce	46	22,2	46	27,1
Sans séquence exploitable		180		217	

Notre échantillonnage a à la fois inclus plusieurs spécimens d'une même espèce, et couvre quatre des cinq sous-familles d'orchidées. Sur l'ensemble des séquences, il semble que le seuil de similarité puisse être fixé à 97% sur l'ITS (Figure 2). Par contre, l'étude par genre de cette similarité montre bien sa variabilité : les *Epidendrum* et les *Vanilla* de même espèce sont similaires à au moins 98% (Figures 2b et 2c). Chez les orchidées, dont la diversification est probablement récente, la similarité intraspécifique est probablement plus faible

que 97% (Xiang *et al.*, 2011). On observe d'ailleurs des espèces qui ne se distinguent que par une position nucléotidique du marqueur ITS, et qui sont particulièrement différenciées morphologiquement : *Heterotaxis villosa*, *violaceopunctata* et *H. discolor* (Figure 5), ou même *Stelis pygmaea*, *S. parvula*, *S. argentata* et *S. papaquerensis*. La variabilité de ce seuil et le manque de résolution pour certains genres soulignent bien que l'identification par des codes-barres ADN est limitée par la

connaissance des espèces proches des spécimens étudiés.

Richesse et enrichissement des bases de données publiques

L'identification par code-barre dépend aussi de la présence dans les bases de données de séquences identifiées de la même espèce. Or, en Guyane Française, avant le début de ce projet, seules quatre séquences d'orchidées avaient été produites. Par ailleurs, seules 30

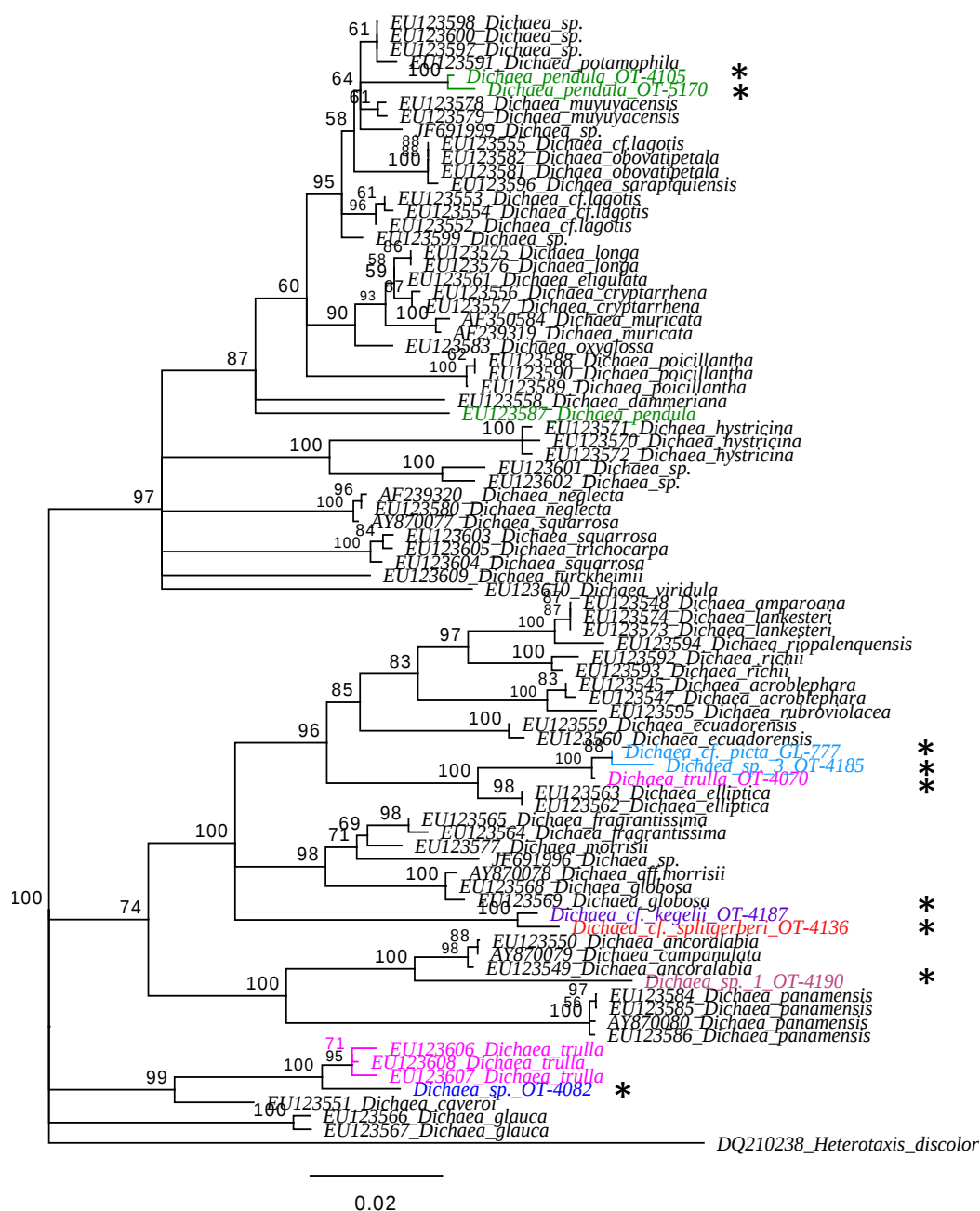


Figure 4. – Phylogénie du genre *Dichaëa* inférée par maximum de vraisemblance, modèle GTR+I à partir du marqueur ITS, robustesse testée par 1000 bootstrap. Les couleurs rassemblent les taxons regroupés sous le même nom avant l'analyse phylogénétique. Les spécimens de cette étude sont signalés par des étoiles.



Figure 5. – Différences morphologiques entre *Heterotaxis discolor* (a, b) et *H. violaceopunctata* (c, d). Clichés E. Ravet et A. Sambin.

des espèces échantillonnées ici avaient été séquencées au préalable. Pour des orchidées non identifiées de Guyane, il est donc difficile de déduire du séquençage l'identité, et nos échantillons ne comblent que partiellement ce déficit. Il est néanmoins essentiel de contribuer à enrichir les bases de données, d'autant plus qu'à l'heure actuelle de nouvelles techniques d'inventaire, uniquement basées sur la biologie moléculaire, sont mises au point. Par exemple, le séquençage d'ADN du sol du zoo de Copenhague a permis de retracer l'histoire de la fosse aux tigres, avec toutes les espèces animales qui ont pu y résider (Andersen *et al.*, 2011). Ce type d'étude, de « barcoding » (Taberlet *et al.*, 2012) de l'environnement repose complètement sur les séquences déjà existantes et de la connaissance des seuils de variabilité intraspécifique pour un marqueur et un groupe d'organisme donné. Notre étude souligne la nécessité d'une identification par des taxonomistes, et le besoin de connaissances des espèces proches, pour mieux exploiter les différences fines que le séquençage pourrait détecter. Par la suite, ces références pourraient être utilisées pour réaliser des inventaires jusqu'alors impossibles : par exemple identifier des orchidées à partir de leurs graines, et tester leur pouvoir de détection dans la canopée, ou sur les inselbergs de Guyane. Des pollinies pourraient aussi être séquencées pour étudier les réseaux d'interactions entre insectes et orchidées (Singer *et al.*, 2008).

La Guyane Française, un point chaud de diversité pour les orchidées ?

Les inventaires botaniques récents sur le plateau des Guyanes recensent 1046 espèces,

dont 391 en Guyane Française (Funk *et al.*, 2007). Ce recensement ne prend en compte que les espèces déjà décrites, et la détection d'une variabilité génétique importante pourrait rapidement augmenter la richesse des orchidées de Guyane. La faible similarité des séquences de nos spécimens avec des séquences de référence peut être due à des confusions entre espèce proches, qu'il s'agisse de nos spécimens ou de ceux déjà séquencés, ou au contraire à une véritable différenciation génétique des populations. Par exemple, les ITS des spécimens d'*Encyclia granitica* et d'*Epidendrum nocturnum*, deux espèces fréquentes sur les inselbergs de Guyane (Sarhou & Villiers, 1998 ; Sarhou *et al.*, 2003), ne ressemblent au maximum qu'à 97,1% et 95,8% respectivement à ceux de spécimens de ces espèces déjà séquencés. A l'inverse, la distance maximale entre les séquences d'*E. ramosum*, une espèce parfois epiphyte parfois terrestre, est de 98,6%. Les inselbergs pourraient tout à fait jouer le rôle de barrière géographique, comme observé chez *Epidendrum fulgens* (Pinheiro *et al.*, 2011). Chez cette espèce, qui colonise les savanes côtières et les inselbergs au Brésil, les populations sont isolées entre les différents massifs.

Pour 62,9% des séquences matK et 69,1% des ITS, nous n'avons pas pu les rapprocher d'espèces connues. Cependant, avant de conclure à une espèce nouvelle, il convient de séquencer les spécimens types déposés en herbier. Il est donc difficile de distinguer des espèces nouvelles à partir des séquences pour les genres jusqu'alors peu séquencés (Tableau S1). Dans le cas du genre *Dichaea*, les différences génétiques mises en évidence

confirment des différences morphologiques observées (Figure 4). Ce genre a fait l'objet de phylogénies récentes dans les Néotropiques (Neubig *et al.*, 2009) et la détection d'espèces nouvelles est d'autant plus intéressante. Pour ce genre, les regroupements phylogénétiques sont en accord avec les similarités morphologiques, ce qui conforte l'hypothèse d'espèces nouvelles pour la science en Guyane. Des observations similaires ont été faites dans les genres *Vanilla*, *Stelis* et *Pleurothallis*.

Il est d'ailleurs probable que certaines des espèces nouvelles soient endémiques de Guyane, bien que ce type de distribution soit rare chez les orchidées qui dispersent leurs graines par le vent. Ainsi, les études récentes sur les orchidées des Antilles n'ont pas révélé d'espèces endémiques sur toutes les îles (Ackerman *et al.*, 2007). De même, aux Antilles, seuls certains genres sont représentés par des espèces endémiques, notamment dans les genres *Encyclia*, *Epidendrum*, *Habenaria*, *Lepanthes*, *Malaxis*, *Maxillaria*, *Pleurothallis*, *Stelis* et *Vanilla* (Ackerman *et al.*, 2007), présents aussi en Guyane. Les inventaires sur le plateau des Guyanes ont recensé 45 espèces endémiques de Guyane, appartenant à 26 genres, notamment les genres *Pleurothallis*, *Vanilla*, *Octomeria* et *Epidendrum* (Funk *et al.*, 2007). C'est probablement dans ces genres qu'une étude approfondie permettrait de détecter de possibles endémiques guyanais. Pinheiro et Cozzolino (2013) soulignent d'ailleurs que le genre *Epidendrum* serait un excellent candidat pour étudier la phylogéographie des orchidées dans les Néotropiques.

CONCLUSION

Après avoir séquencé 387 spécimens d'orchidées de Guyane, 203 séquences du marqueur ITS et 170 du gène matK ont été produites. La comparaison de ces séquences aux données publiques a confirmé l'appartenance au genre, et la plupart des espèces échantillonnées n'avaient jamais été séquencées. Ainsi, ce premier effort de séquençage permettra d'enrichir les bases de données publiques de séquences de 103 espèces et de 7 genres, jusqu'alors absents de Genbank. L'ajout de spécimens aux bases de données ne peut que faciliter l'identification d'autres spécimens. Cependant, comme le

souligne Peakall (2007), nous ne pouvons identifier que ce que nous connaissons déjà, qu'il s'agisse d'une identification par la morphologie ou par l'ADN. Ainsi, dans des régions où la flore des orchidées est méconnue, il est essentiel de continuer à observer avant de séquencer, ou de mener les deux approches en parallèle.

Remerciements

Les auteurs remercient tout d'abord la Société Botanique de France et la Société Française d'Orchidophilie, qui ont financé ce projet, ainsi que P. Gaucher (CNRS Guyane), V. Pelletier, O. Chaline, T. Deville, les membres du bureau d'étude BIOTOPE (Guyane) qui ont participé aux échantillonnages, et J.T. Otero (Université Javeriana de Cali, Colombie) pour les discussions autour des phylogénies.

Références

- Ackerman J.D., Trejo-Torres J.C., Crespo-Chuy Y. 2007. Orchids of the West Indies: predictability of diversity and endemism. *J. Biogeog.*, 34: 779-786.
- Andersen K., Bird K.L., Rasmussen M., Haile J., Breuning-Madsen H., Kjaer K.H., Orlando L., Gilbert M.T.P., Willerslev E. 2012. Meta-barcoding of 'dirt' DNA from soil reflects vertebrate biodiversity. *Mol. Ecol.*, 21: 1966-1979.
- Chase M.W., Cameron K.M., Barrett R.L., Freudenstein J.V. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. *Orchid Conservation*, 69: 89.
- Chiron G. 2002. Orchidées épiphytes du bassin du Sinnamary (Guyane française). *Acta Botanica Gallica*, 149: 289-297.
- Cozzolino S., Widmer A. 2005. Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? *Trends Ecol. Evol.*, 20: 487-494.
- Funk V.A., Hollowell T., Berry P., Kelloff C., Alexander S.N. 2007. *Checklist of the plants of the Guiana Shield (Venezuela: Amazonas, Bolivar, Delta Amacuro; Guyana, Surinam, French Guiana)*. Department of Botany, National Museum of Natural History.
- Gardes M., Bruns T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for

- basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.*, 2: 113-118.
- Gehrig-Downie C., Obregón A., Bendix J., Gradstein S.R. 2011. Epiphyte biomass and canopy microclimate in the tropical lowland cloud forest of French Guiana. *Biotropica*, 43: 591-596.
- De Granville J.J. 1984. Monocotyledons and pteridophytes indicators of environmental constraints in the tropical vegetation. *Candollea*, 39: 265-269.
- Gravendeel B., Smithson A., Slik F.J., Schuiteman A. 2004. Epiphytism and pollinator specialization: drivers for orchid diversity? *Phil. Roy.Soc. Lond.B: Biol. Sci.*, 359: 1523-1535.
- Hollingsworth P.M., Graham S.W., Little D.P.. 2011. Choosing and using a plant DNA barcode. *PLoS one*, 6: e19254.
- Katoh K., Standley D.M. 2013. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Mol. Biol. Evol.*, 30: 772-780.
- Miller M.A., Pfeiffer W., Schwartz T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE). New Orleans, 1-8.
- Myers N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A., Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Neubig K.M., Williams N.H., Whitten W.M., Pupulin F. 2009. Molecular phylogenetics and the evolution of fruit and leaf morphology of *Dichaea* (Orchidaceae: Zygopetalinae). *Ann. Bot.*, 104: 457-467.
- Peakall R. 2007. Speciation in the Orchidaceae: confronting the challenges. *Mol. Ecol.*, 16: 2834-2837.
- Pinheiro F., de Barros F., Palma-Silva C., Fay M.F., Lexer C., Cozzolino S. 2011. Phylogeography and genetic differentiation along the distributional range of the orchid *Epidendrum fulgens*: a Neotropical coastal species not restricted to glacial refugia. *J. Biogeog.*, 38: 1923-1935.
- Pinheiro F., Cozzolino S. 2013. *Epidendrum* (Orchidaceae) as a model system for ecological and evolutionary studies in the Neotropics. *Taxon*, 62: 77-88.
- Ramírez S.R., Gravendeel B., Singer R.B., Marshall C.R., Pierce N.E. 2007. Dating the origin of the Orchidaceae from a fossil orchid with its pollinator. *Nature*, 448: 1042-1045.
- Rochet J., Moreau P.A., Manzi S., Gardes M. 2011. Comparative phylogenies and host specialization in the alder ectomycorrhizal fungi *Alnicola*, *Alpova* and *Lactarius* (Basidiomycota) in Europe. *BMC Evolutionary Biology*, 11: 40.
- Sarthou C., Villiers J.F. 1998. Epilithic plant communities on inselbergs in French Guiana. *J. Veget. Sci.*, 9: 847-860.
- Sarthou C., Villiers J.F., Ponge J.F. 2003. Shrub vegetation on tropical granitic inselbergs in French Guiana. *J. Veget. Sci.*, 14: 645-652.
- Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J.L., Levesque C.A., Chen W., Bolchacova E., Voigt K., Crous P.W. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 109: 6241-6246.
- Singer R.B., Gravendeel B., Cross H., Ramirez S.R. 2008. The use of orchid pollinia or pollinaria for taxonomic identification. *Selbyana*, 29: 16-19.
- Stamatakis A., Hoover P., Rougemont J. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. *Syst. Biol.*, 57: 758-771.
- Taberlet P., Coissac E., Pompanon F., Brochmann C., Willerslev E. 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.*, 21: 2045-2050.
- Tupac Otero J., Flanagan N.S. 2006. Orchid diversity—beyond deception. *Trends Ecol. Evol.*, 21: 64-65.
- Xiang X.G., Hao H., Wei W., Jin X.H. 2011. DNA barcoding of the recently evolved genus *Holcoglossum* (Orchidaceae: Aeridinae): a test of DNA barcode candidates. *Mol. Ecol. Res.*, 11: 1012-1021.

Tableaux supplémentaires

tableau S1

tableau S2

Tableau S1. – Nombre de séquences de référence sur Genbank (a), de séquences ITS (b), matK (c), nombre d'échantillons séquencés (d), de séquences ITS (e) et matK (f) obtenues. Les deux colonnes grisées représentent la proportion des séquences de cette étude parmi toutes les séquences disponibles pour un genre donné, pour le marqueur ITS (g) et matK (h). La teinte est d'autant plus foncée que le pourcentage est grand.

Genre	GB (a)	ITS (b)	matK (c)	ech (d)	ITS (e)	matK (f)	ITS (g)	matK (h)	Genre	GB (a)	ITS (b)	matK (c)	ech (d)	ITS (e)	matK (f)	ITS (g)	matK (h)
<i>Aspasia</i>	58	5	6	2	1	1	17	14	<i>Mapinguari</i>	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Aspidogyne</i>	8	0	2	1	0	0	0	0	<i>Masdevallia</i>	106	74	9	3	2	2	3	18
<i>Batemannia</i>	6	2	2	1	0	1	0	33	<i>Maxillaria</i>	1302	606	409	38	11	16	2	4
<i>Beloglottis</i>	4	1	1	1	1	0	50	0	<i>Maxillariella</i>	72	24	18	3	1	1	4	5
<i>Brassia</i>	65	11	18	5	4	0	27	0	<i>Mormodes</i>	0	0	0	1	0	0	0	0
<i>Bulbophyllum</i>	1135	293	73	1	1	0	0	0	<i>Mormolyca</i>	37	9	11	1	1	1	10	8
<i>Camardium</i>	104	29	27	2	0	0	0	0	<i>Notylia</i>	60	12	12	1	1	0	8	0
<i>Campylocentrum</i>	56	23	6	3	0	1	0	14	<i>Octomeria</i>	11	2	3	7	2	2	50	40
<i>Catasetum</i>	51	25	4	6	5	1	17	20	<i>Oncidium</i>	46785	225	233	1	1	1	0	0
<i>Chaubardiella</i>	15	4	4	2	1	1	20	20	<i>Ornithocephalus</i>	99	20	19	2	2	0	9	0
<i>Cheiradenia</i>	0	0	0	3	0	1	0	100	<i>Palmorchis</i>	14	0	2	6	3	1	100	33
<i>Christensonella</i>	177	51	44	4	2	0	4	0	<i>Paphinia</i>	12	3	3	3	2	1	40	25
<i>Cleistes</i>	238	30	2	3	1	2	3	50	<i>Peristeria</i>	7	2	2	1	1	1	33	33
<i>Cochleanthes</i>	17	5	6	1	1	1	17	14	<i>Platystele</i>	20	16	4	3	3	2	16	33
<i>Cranichis</i>	71	17	12	1	1	0	6	0	<i>Pleurothallis</i>	124	103	19	29	22	20	18	51
<i>Cryptarrhena</i>	25	5	7	2	0	0	0	0	<i>Polystachya</i>	853	114	144	7	2	1	2	1
<i>Cynoches</i>	42	15	9	1	1	1	6	10	<i>Prosthechea</i>	99	24	26	9	3	5	11	16
<i>Cyrtopodium</i>	473	51	12	11	6	7	11	37	<i>Psychopsis</i>	28	5	5	1	0	1	0	17
<i>Dichaea</i>	302	76	83	13	9	2	11	2	<i>Quekettia</i>	0	0	0	1	1	0	100	0
<i>Dimerandra</i>	6	1	3	3	1	0	50	0	<i>Rodriguezia</i>	70	11	14	1	1	1	8	7
<i>Elleanthus</i>	119	51	54	7	3	2	6	4	<i>Sarcoglottis</i>	35	6	5	2	2	2	25	29
<i>Encyclia</i>	92	20	24	6	4	3	17	11	<i>Scaphyglottis</i>	126	53	63	16	10	10	16	14
<i>Epidendrum</i>	2023	51	82	36	18	19	26	19	<i>Scuticaria</i>	16	3	2	2	1	1	25	33
<i>Galeandra</i>	90	19	3	2	2	1	10	25	<i>Selenipedium</i>	1	0	1	2	0	1	0	50
<i>Gongora</i>	203	52	20	3	3	1	5	5	<i>Sigmatostalix</i>	0	0	0	1	1	1	100	100
<i>Habenaria</i>	915	295	297	8	3	3	1	1	<i>Sobralia</i>	109	48	47	11	9	8	16	15
<i>Heterotaxis</i>	96	24	26	9	4	6	14	19	<i>Stelis</i>	186	121	56	8	8	8	6	13
<i>Jacquinella</i>	11	4	7	2	1	2	20	22	<i>Trichocentrum</i>	135	39	27	2	2	1	5	4
<i>Kefersteinia</i>	51	11	25	3	3	1	21	4	<i>Trichopilia</i>	88	13	18	1	1	0	7	0
<i>Kegeliella</i>	19	2	5	2	2	0	50	0	<i>Trichosalpinx</i>	12	6	3	9	7	5	54	63
<i>Koellensteinia</i>	10	3	3	3	2	2	40	40	<i>Triphora</i>	0	0	0	2	1	1	100	100
<i>Lepanthes</i>	22	7	13	2	2	1	22	7	<i>Trisetella</i>	0	0	0	2	2	2	100	100
<i>Liparis</i>	401	116	106	4	4	4	3	4	<i>Vanilla</i>	473	51	12	24	18	6	26	33
<i>Lycaste</i>	24	5	8	1	1	0	17	0	<i>Xylobium</i>	31	8	10	4	1	2	11	17
<i>Macradenia</i>	23	3	8	1	0	1	0	11									

Tableau S2. – Résultats de la comparaison aux séquences de références de Genbank. Longueur de la séquence du spécimen (pb), pourcentage d'identité à la séquence la plus proche sur Genbank (%), probabilité d'observer une ressemblance par erreur (E), identifiant (GB), binome latin de la séquence la plus similaire sur Genbank, Binome latin inféré par phylogénie. Les identifications possibles jusqu'à l'espèce à partir des phylogénies sont indiquées en gras, celles possible au niveau du genre sous soulignées, celles qui ont mis en évidence l'appartenance à un autre genre sont grisées, et aucune conclusion n'a été tirée pour celles sans séquence de référence (en blanc).

<i>Specimen</i>	<i>marqueur</i>	<i>pb</i>	<i>%</i>	<i>E</i>	<i>GB</i>	<i>Binome BLAST</i>	<i>Binome phylogénie</i>
<i>Aspasia variegata</i> OT-6295	ITS	726	95.3	0	EF079406	<i>Aspasia lunata</i>	<u><i>Aspasia</i> sp.</u>
<i>Beloglottis</i> sp. OT-4173	ITS	666	98.6	0	AJ539492	<i>Beloglottis costaricensis</i>	<u><i>Beloglottis</i> sp.</u>
<i>Brassia</i> cf. <i>caudata</i> GL-590	ITS	694	99.1	0	FJ565438	<i>Brassia signata</i>	<i>Brassia signata</i>
<i>Brassia</i> cf. <i>caudata</i> GL-651	ITS	702	99.4	0	FJ565438	<i>Brassia signata</i>	<i>Brassia signata</i>
<i>Brassia</i> sp.1 OT-4061	ITS	743	95.2	0	EF079374	<i>Artorima erubescens</i>	<i>Artorima</i> sp.
<i>Brassia</i> sp.2 OT-4073	ITS	727	99.3	0	AF350523	<i>Brassia caudata</i>	<i>Brassia caudata</i>
<i>Bulbophyllum</i> cf. <i>bracteolatum</i> GL-595	ITS	687	95.1	0	GQ339712	<i>Bulbophyllum meridense</i>	<u><i>Bulbophyllum</i> sp.</u>
<i>Catasetum barbatum</i> OT-5118	ITS	725	96.0	0	JF692010	<i>Catasetum</i> sp.	<u><i>Catasetum</i> sp.</u>
<i>Catasetum barbatum</i> OT-5121	ITS	726	98.8	0	JF691940	<i>Catasetum</i> sp.	<u><i>Catasetum</i> sp.</u>
<i>Catasetum</i> cf. <i>barbatum</i> GL-602	ITS	735	99.2	0	JF691940	<i>Catasetum</i> sp.	<u><i>Catasetum</i> sp.</u>
<i>Catasetum macrocarpum</i> OT-4107	ITS	574	94.2	0	JF692017	<i>Catasetum</i> sp.	<u><i>Catasetum</i> sp.</u>
<i>Catasetum</i> sp. GL-647	ITS	726	99.2	0	JF691940	<i>Catasetum</i> sp.	<u><i>Catasetum</i> sp.</u>
<i>Chaubardiella tigrina</i> OT-5948	ITS	738	100.0	0	AY870056	<i>Warczewiczella guianensis</i>	<i>Warczewiczella guianensis</i>
<i>Cleistes tenuis</i> OT-6297	ITS	726	97.9	0	EU498152	<i>Cleistes paranaensis</i>	<u><i>Cleistes</i> sp.</u>
<i>Cochleanthes guianensis</i> GL-657	ITS	684	100.0	0	AY870056	<i>Warczewiczella guianensis</i>	<i>Warczewiczella guianensis</i>
<i>Cranichis</i> cf. <i>muscosa</i> OT-4520	ITS	688	96.7	0	JQ045486	<i>Cyclopogon elatus</i>	<u><i>Cranichis</i> sp.</u>
<i>Cycnoches</i> cf. <i>haggii</i> GL-645	ITS	726	91.5	0	JF691997	<i>Cycnoches</i> sp.	<u><i>Cycnoches</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6306	ITS	531	78.0	1.1 e-84	JF691931	<i>Gongora</i> sp.	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6308	ITS	441	78.6	2.0 e-72	DQ091650	<i>Microcoelia macrantha</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6311	ITS	752	76.1	6.9 e-97	DQ210371	<i>Pityphyllum antioquiense</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6312	ITS	634	77.9	6.9 e-102	DQ210371	<i>Pityphyllum antioquiense</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6313	ITS	325	75.7	2.7 e-31	JQ306484	<i>Pabstiella castellensis</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Dichaea</i> cf. <i>kegelii</i> OT-4187	ITS	708	94.4	0	EU123577	<i>Dichaea morrisii</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea</i> cf. <i>picta</i> GL-777	ITS	699	99.6	0	EU123562	<i>Dichaea elliptica</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea</i> cf. <i>splitgerberi</i> OT-4136	ITS	703	94.0	0	EU123577	<i>Dichaea morrisii</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea pendula</i> OT-4105	ITS	639	99.2	0	JF691999	<i>Dichaea</i> sp.	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea pendula</i> OT-5170	ITS	703	99.4	0	EU123597	<i>Dichaea</i> sp.	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea</i> sp. 1 OT-4190	ITS	685	97.7	0	EU123550	<i>Dichaea ancoraelabia</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea</i> sp. 3 OT-4185	ITS	652	99.2	0	EU123562	<i>Dichaea elliptica</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea</i> sp. OT-4082	ITS	728	99.7	0	EU123608	<i>Dichaea trulla</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea trulla</i> OT-4070	ITS	727	99.6	0	EU123562	<i>Dichaea elliptica</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dimerandra</i> cf. <i>elegans</i> GL-588	ITS	711	96.6	0	AY174757	<i>Scaphyglottis</i> sp.	<i>Dimerandra emarginata</i>
<i>Elleanthus caravata</i> OT-4142	ITS	737	96.4	0	EU490666	<i>Elleanthus conifer</i>	<i>Elleanthus caravata</i>
<i>Elleanthus caravata</i> OT-4197	ITS	731	96.4	0	EU490666	<i>Elleanthus conifer</i>	<i>Elleanthus caravata</i>
<i>Elleanthus cephalotus</i> OT-4148	ITS	719	94.0	0	EU490664	<i>Elleanthus aurantiacus</i>	<u><i>Elleanthus</i> sp.</u>
<i>Encyclia</i> cf. <i>ionosma</i> OT-6002	ITS	686	98.1	0	EF079379	<i>Encyclia atropurpurea</i>	<u><i>Encyclia</i> sp.</u>
<i>Encyclia diurna</i> OT-4196	ITS	276	98.9	2.3 e-136	AY429405	<i>Encyclia randii</i>	<u><i>Encyclia</i> sp.</u>
<i>Encyclia granitica</i> OT-4094	ITS	398	97.4	0	AY429405	<i>Encyclia randii</i>	<u><i>Encyclia</i> sp.</u>

Specimen	marqueur	pb	%	E	GB	Binome BLAST	Binome phylogénie
<i>Encyclia granitica</i> OT-4462	ITS	739	99.5	0	EF079379	<i>Encyclia atropurpurea</i>	<u><i>Encyclia</i> sp.</u>
<i>Epidendrum</i> OT-6302	ITS	738	96.2	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<i>Epidendrum ciliare</i>
<i>Epidendrum cf. oldemannii</i> GL-605	ITS	709	93.1	0	EF079382	<i>Epidendrum medusae</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum anceps</i> GL-589	ITS	561	97.0	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum anceps</i> GL-613	ITS	736	96.1	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum carpophorum</i> OT-4068	ITS	756	95.9	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum carpophorum</i> OT-5310	ITS	740	95.8	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum ciliare</i> OT-4109	ITS	562	96.8	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<i>Epidendrum ciliare</i>
<i>Epidendrum nocturnum</i> GL-631	ITS	736	95.8	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum nocturnum</i> OT-4121	ITS	690	95.3	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum purpurascens</i> OT-4045	ITS	756	96.2	0	EF079380	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum purpurascens</i> OT-4212	ITS	554	96.6	0	EF079380	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum ramosum</i> GL-600	ITS	552	94.7	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<i>Epidendrum ramosum</i>
<i>Epidendrum ramosum</i> GL-643	ITS	556	94.6	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<i>Epidendrum ramosum</i>
<i>Epidendrum ramosum</i> OT-4081	ITS	559	94.8	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<i>Epidendrum ramosum</i>
<i>Epidendrum ramosum</i> OT-5999	ITS	672	92.9	0	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<i>Epidendrum ramosum</i>
<i>Epidendrum</i> sp. GL-773	ITS	266	93.6	1.9 e-107	EF079381	<i>Epidendrum schlechterianum</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum unguiculatum</i> OT-4150	ITS	740	95.8	0	EF079380	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Galeandra stylomisantha</i> OT-6032	ITS	745	99.5	0	EU877145	<i>Galeandra junceaoides</i>	<u><i>Galeandra</i> sp.</u>
<i>Galeandra stylomisantha</i> OT-6296	ITS	295	98.6	2.3 e-146	EU877145	<i>Galeandra junceaoides</i>	<u><i>Galeandra</i> sp.</u>
<i>Gongora cf. atropurpurea</i> OT-4162	ITS	277	98.9	1.8 e-137	JF692033	<i>Gongora</i> sp.	<u><i>Gongora</i> sp.</u>
<i>Gongora</i> sp. GL-612	ITS	612	96.9	0	JF692033	<i>Gongora</i> sp.	<u><i>Gongora</i> sp.</u>
<i>Gongora</i> sp. GL-644	ITS	630	99.0	0	JF692033	<i>Gongora</i> sp.	<u><i>Gongora</i> sp.</u>
<i>Habenaria amambayensis</i> OT-6293	ITS	698	99.6	0	HM777546	<i>Habenaria pratensis</i>	<u><i>Habenaria</i> sp.</u>
<i>Habenaria ecalcarata</i> OT-6027	ITS	699	99.9	0	HM777608	<i>Habenaria longicauda</i>	<u><i>Habenaria</i> sp.</u>
<i>Habenaria longicauda</i> OT-6026	ITS	698	99.9	0	HM777608	<i>Habenaria longicauda</i>	<i>Habenaria longicauda</i>
<i>Heterotaxis discolor</i> OT-4060	ITS	732	100.0	0	DQ210202	<i>Heterotaxis villosa</i>	<i>Heterotaxis discolor</i>
<i>Heterotaxis discolor</i> OT-4189	ITS	709	100.0	0	DQ210202	<i>Heterotaxis villosa</i>	<i>Heterotaxis discolor</i>
<i>Heterotaxis violaceopunctata</i> GL-620	ITS	729	100.0	0	DQ210146	<i>Heterotaxis violaceopunctata</i>	<i>Heterotaxis violaceopunctata</i>
<i>Heterotaxis violaceopunctata</i> OT-4191	ITS	718	100.0	0	DQ210146	<i>Heterotaxis violaceopunctata</i>	<i>Heterotaxis violaceopunctata</i>
<i>Jacquinella globosa</i> OT-4084	ITS	649	99.0	0	DQ210226	<i>Maxillaria camaridii</i>	<i>Jacquinella globosa</i>
<i>Kefersteinia lafontainei</i> OT-4103	ITS	739	99.9	0	JF691930	<i>Kefersteinia</i> sp.	<u><i>Kefersteinia</i> sp.</u>
<i>Kefersteinia lafontenei</i> GL-598	ITS	675	99.6	0	JF691930	<i>Kefersteinia</i> sp.	<u><i>Kefersteinia</i> sp.</u>
<i>Kegeliella houtteana</i> OT-4147	ITS	716	97.2	0	JF691906	<i>Polycynis</i> sp.	<u><i>Kegeliella</i> sp.</u>
<i>Kegeliella houtteana</i> OT-4161	ITS	707	92.1	0	JQ306415	<i>Zootrophion atropurpureum</i>	<u><i>Kegeliella</i> sp.</u>
<i>Koellensteinia graminea</i> OT-4130	ITS	687	92.3	0	AY870107	<i>Paradisanthus micranthus</i>	
<i>Koellensteinia graminea</i> OT-4207	ITS	281	96.8	1.1 e-129	GU556655	<i>Polystachya golungensis</i>	
<i>Lepanthes ruscifolia</i> GL-621	ITS	664	88.8	0	JQ306336	<i>Lepanthopsis floripecten</i>	<u><i>Lepanthes</i> sp.</u>
<i>Lepanthes ruscifolia</i> OT-4167	ITS	288	96.2	1.1 e-129	JF691948	<i>Polycynis</i> sp.	<u><i>Lepanthes</i> sp.</u>
<i>Liparis nervosa</i> GL-619	ITS	781	94.2	0	AB289482	<i>Liparis nervosa</i>	<u><i>Liparis</i> sp.</u>
<i>Liparis nervosa</i> OT-4134	ITS	742	94.4	0	AB289482	<i>Liparis nervosa</i>	<u><i>Liparis</i> sp.</u>

Specimen	marqueur	pb	%	E	GB	Binome BLAST	Binome phylogénie
<i>Liparis nervosa</i> OT-4206	ITS	307	93.2	6.7 e-122	JN114600	<i>Liparis nervosa</i>	<i>Liparis</i> sp.
<i>Liparis nervosa</i> OT-5712	ITS	769	94.7	0	KF589872	<i>Liparis pingxiangensis</i>	<i>Liparis</i> sp.
<i>Lycaste macrophylla</i> OT-5489	ITS	714	88.4	0	DQ461788	<i>Eriopsis biloba</i>	<i>Lycaste</i> sp.
<i>Masdevallia minuta</i> GL-461	ITS	727	97.0	0	DQ923775	<i>Masdevallia torta</i>	<i>Masdevallia</i> sp.
<i>Masdevallia minuta</i> OT-4049	ITS	720	96.9	0	DQ923775	<i>Masdevallia torta</i>	<i>Masdevallia</i> sp.
<i>Maxillaria acutifolia</i> OT-4052	ITS	735	99.9	0	DQ210521	<i>Maxillaria rufescens</i>	<i>Mormolyca</i> sp.
<i>Maxillaria alba</i> GL-594	ITS	153	93.5	7.3 e-57	DQ210559	<i>Maxillaria houtteana</i>	<i>Maxillaria alba</i>
<i>Maxillaria alba</i> OT-4072	ITS	283	98.9	8.4 e-141	DQ210488	<i>Maxillaria oreocharis</i>	<i>Maxillaria alba</i>
<i>Maxillaria alba</i> OT-5221	ITS	872	99.8	0	DQ210575	<i>Maxillaria alba</i>	<i>Maxillaria alba</i>
<i>Maxillaria camaridii</i> GL-642	ITS	659	99.2	0	DQ210226	<i>Maxillaria camaridii</i>	<i>Maxillaria</i> sp.
<i>Maxillaria camaridii</i> OT-4143	ITS	643	99.5	0	DQ210226	<i>Maxillaria camaridii</i>	<i>Maxillaria camaridii</i>
<i>Maxillaria parviflora</i> GL-658	ITS	734	100.0	0	DQ210302	<i>Maxillaria parviflora</i>	<i>Maxillaria parviflora</i>
<i>Maxillaria rufescens</i> OT-4135	ITS	748	99.9	0	DQ210521	<i>Maxillaria rufescens</i>	<i>Maxillaria rufescens</i>
<i>Maxillaria rufescens</i> OT-4186	ITS	714	99.9	0	DQ210521	<i>Maxillaria rufescens</i>	<i>Maxillaria rufescens</i>
<i>Maxillaria</i> sp. nov. OT-4102	ITS	689	99.7	0	DQ210146	<i>Heterotaxis violaceopunctata</i>	<i>Heterotaxis discolor</i>
<i>Maxillaria</i> sp. OT-5180	ITS	703	99.4	0	DQ210571	<i>Maxillaria mapiriensis</i>	<i>Maxillaria</i> sp.
<i>Maxillaria</i> sp. OT-6307	ITS	756	76.7	4.1 e-104	DQ210538	<i>Maxillaria stictantha</i>	<i>Cyrtopodium</i> sp.
<i>Maxillaria splendens</i> GL-465	ITS	726	100.0	0	DQ210387	<i>Heterotaxis villosa</i>	<i>Maxillaria splendens</i>
<i>Maxillaria uncata</i> OT-4124	ITS	297	99.2	1.1 e-149	DQ210459	<i>Maxillaria uncata</i>	<i>Maxillaria uncata</i>
<i>Maxillariella stenophylla</i> OT-4078	ITS	229	97.4	8.8 e-106	DQ210538	<i>Maxillaria stictantha</i>	<i>Maxillaria</i> sp.
<i>Notylia</i> cf. <i>angustifolia</i> GL-639	ITS	696	99.1	0	FJ565477	<i>Notylia ecuadorensis</i>	<i>Notylia</i> sp.
<i>Octomeria exigua</i> OT-4157	ITS	722	91.0	0	JQ306406	<i>Pleurothallis hatschbachii</i>	<i>Octomeria</i> sp.
<i>Octomeria surinamensis</i> GL-606	ITS	738	90.5	0	EF079371	<i>Pleurothallis josephensis</i>	<i>Octomeria</i> sp.
<i>Oncidium baueri</i> OT-4079	ITS	722	99.9	0	FJ565297	<i>Oncidium volvox</i>	<i>Oncidium</i> sp.
<i>Ornithocephalus</i> sp. GL-768	ITS	695	99.3	0	FJ565565	<i>Ornithocephalus polyodon</i>	<i>Ornithocephalus</i> sp.
<i>Ornithocephalus</i> sp. OT-4139	ITS	729	99.1	0	JF691940	<i>Catasetum</i> sp.	<i>Catasetum</i> sp.
<i>Palmorchis pabstii</i> OT-4046	ITS	640	81.3	3.9 e-134	EF079386	<i>Dickasonia vernicosa</i>	
<i>Palmorchis pabstii</i> OT-5643	ITS	633	81.5	3.0 e-135	EF079386	<i>Dickasonia vernicosa</i>	
<i>Paphinia cristata</i> OT-4054	ITS	279	92.8	4.1 e-109	DQ461788	<i>Eriopsis biloba</i>	<i>Eriopsis</i> sp.
<i>Paphinia cristata</i> OT-4122	ITS	729	93.8	0	EF079428	<i>Trevoria escobariana</i>	<i>Paphinia</i> sp.
<i>Peristeria cerina</i> OT-4131	ITS	743	95.8	0	DQ461788	<i>Eriopsis biloba</i>	<i>Peristeria</i> sp.
<i>Platystele ovalifolia</i> GL-776	ITS	476	91.4	0	EF079365	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Scaphosepalum</i> sp.
<i>Platystele ovalifolia</i> OT-4172	ITS	695	97.7	0	JQ306457	<i>Anathallis</i> aff.	<i>Platystele</i> sp.
<i>Platystele stenostachya</i> OT-4188	ITS	707	94.2	0	EF079365	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Platystele stenostachya</i>
<i>Pleurothallis archidiaconi</i> OT-4064	ITS	709	97.5	0	JF934814	<i>Pleurothallis ruscifolia</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis archidiaconi</i> OT-4064bis	ITS	724	98.3	0	EF079366	<i>Pleurothallis</i> sp.	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis aristata</i> GL-459	ITS	733	90.7	0	EF079365	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis aristata</i> GL-770	ITS	731	90.6	0	EF079365	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis barbulata</i> OT-4083	ITS	709	97.5	0	JQ306457	<i>Anathallis</i> aff.	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis dicoidea</i> OT-5901	ITS	725	97.8	0	EF079366	<i>Pleurothallis</i> sp.	<i>Pleurothallis discoidea</i>
<i>Pleurothallis floribunda</i> OT-5998	ITS	700	99.0	0	JF934772	<i>Stelis pulchella</i>	<i>Stelis</i> sp.
<i>Pleurothallis grobyi</i> OT-4170	ITS	688	99.9	0	JQ306485	<i>Specklinia</i> aff.	<i>Pleurothallis</i> sp.

Specimen	marqueur	pb	%	E	GB	Binome BLAST	Binome phylogénie
<i>Pleurothallis lanceana</i> OT-4053	ITS	756	91.8	0	EF079371	<i>Pleurothallis josephensis</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis picta</i> GL-585	ITS	721	90.6	0	EF079365	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis picta</i> GL-611	ITS	699	99.9	0	JQ306384	<i>Specklinia picta</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis picta</i> OT-4125	ITS	653	100.0	0	JQ306384	<i>Specklinia picta</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis polygonoides</i> GL-586	ITS	698	96.8	0	JQ306497	<i>Anathallis obovata</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis polygonoides</i> OT-4149	ITS	710	96.8	0	JQ306497	<i>Anathallis obovata</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis pruinosa</i> GL-610	ITS	708	98.2	0	JF934814	<i>Pleurothallis ruscifolia</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis pruinosa</i> OT-4169	ITS	702	98.3	0	JF934814	<i>Pleurothallis ruscifolia</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis semperflorens</i> OT-4156	ITS	736	91.0	0	EF079365	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis seriata</i> GL-460	ITS	685	98.7	0	JQ306465	<i>Pleurothallis seriata</i>	<i>Pleurothallis seriata</i>
<i>Pleurothallis</i> sp. (floribunda?) OT-5371	ITS	273	98.5	3.9 e-134	JF934772	<i>Stelis pulchella</i>	<i>Stelis</i> sp.
<i>Pleurothallis</i> sp. 4 GL-774	ITS	708	90.5	0	EF079365	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis suspensa</i> OT-4062	ITS	743	98.9	0	EU490672	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis uniflora</i> OT-4165	ITS	743	99.1	0	EF079446	<i>Campylocentrum</i> sp.	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Polystachya</i> cf. <i>amazonica</i> GL-648	ITS	735	98.9	0	EF079397	<i>Notylia venezuelana</i>	<i>Polystachya</i> sp.
<i>Polystachya</i> cf. <i>foliosa</i> GL-633	ITS	265	97.7	3.1 e-125	JN114697	<i>Polystachya concreta</i>	<i>Polystachya</i> sp.
<i>Prosthechea aemula</i> GL-630	ITS	737	100.0	0	DQ210274	<i>Maxillaria</i> cf.	<i>Prosthechea</i> sp.
<i>Prosthechea aemula</i> GL-649	ITS	714	94.3	0	EF079374	<i>Artorima erubescens</i>	<i>Prosthechea aemula</i>
<i>Prosthechea pygmaea</i> OT-4159	ITS	715	94.7	0	AY174740	<i>Scaphyglottis pulchella</i>	<i>Prosthechea</i> sp.
<i>Quekettia vermeleniana</i> GLâ€“652	ITS	670	99.7	0	FJ565438	<i>Brassia signata</i>	
<i>Rodriguezia lanceolata</i> OT-4211	ITS	602	98.3	0	EF595858	<i>Cucurbita pepo</i>	<i>Rodriguezia</i> sp.
<i>Sarcoglottis acaulis</i> GL-637	ITS	691	99.6	0	AJ539500	<i>Sarcoglottis acaulis</i>	<i>Sarcoglottis acaulis</i>
<i>Sarcoglottis acaulis</i> GL-638	ITS	694	98.8	0	AJ539500	<i>Sarcoglottis acaulis</i>	<i>Sarcoglottis acaulis</i>
<i>Scaphyglottis dunstervillei</i> OT-4050	ITS	249	100.0	1.8 e-127	AY174740	<i>Scaphyglottis pulchella</i>	<i>Scaphyglottis</i> sp.
<i>Scaphyglottis fusiformis</i> OT-4047	ITS	653	98.9	0	AY174758	<i>Scaphyglottis fusiformis</i>	<i>Scaphyglottis fusiformis</i>
<i>Scaphyglottis fusiformis</i> OT-4210	ITS	711	99.0	0	AY174758	<i>Scaphyglottis fusiformis</i>	<i>Scaphyglottis fusiformis</i>
<i>Scaphyglottis graminifolia</i> OT-5892	ITS	711	99.6	0	AY174732	<i>Scaphyglottis graminifolia</i>	<i>Scaphyglottis graminifolia</i>
<i>Scaphyglottis modesta</i> OT-5704	ITS	712	99.9	0	AY174723	<i>Scaphyglottis modesta</i>	<i>Scaphyglottis modesta</i>
<i>Scaphyglottis prolifera</i> GL-604	ITS	720	99.0	0	AY174723	<i>Scaphyglottis modesta</i>	<i>Scaphyglottis</i> sp.
<i>Scaphyglottis prolifera</i> GL-627	ITS	308	90.3	1.1 e-109	AY174758	<i>Scaphyglottis fusiformis</i>	<i>Scaphyglottis prolifera</i>
<i>Scaphyglottis prolifera</i> GL-641	ITS	724	99.0	0	AY174723	<i>Scaphyglottis modesta</i>	<i>Scaphyglottis</i> sp.
<i>Scaphyglottis stellata</i> GL-646	ITS	724	98.8	0	AY174731	<i>Scaphyglottis leucantha</i>	<i>Scaphyglottis stellata</i>
<i>Scuticaria steelei</i> OT-4171	ITS	733	95.4	0	EF079376	<i>Sophronitis mantiqueirae</i>	<i>Scuticaria</i> sp.
<i>Sigmatostalix amazonica</i> OT-4048	ITS	718	99.6	0	FJ565496	<i>Oncidium oxyceras</i>	
<i>Sobralia</i> cf. <i>suaveolens</i> GL-597	ITS	628	98.4	0	EU490672	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia</i> cf. <i>suaveolens</i> GL-628	ITS	489	99.2	0	EU490672	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia fragrans</i> GL-625	ITS	714	98.9	0	EU490672	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia fragrans</i> GL-640	ITS	492	99.0	0	EU490672	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia macrophylla</i> GL-635	ITS	745	98.5	0	EU490672	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia macrophylla</i> OT-4202	ITS	744	98.5	0	EU490672	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia sessilis</i> GL-599	ITS	739	96.8	0	EU490673	<i>Sobralia warszewiczii</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia sessilis</i> GL-632	ITS	741	96.6	0	EU490673	<i>Sobralia warszewiczii</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia suaveolens</i> GL-634	ITS	489	99.2	0	EU490672	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Stelis argentata</i> GL-660	ITS	690	99.5	0	JQ306421	<i>Stelis argentata</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis argentata</i> OT-4104	ITS	639	99.9	0	JQ306421	<i>Stelis argentata</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis</i> cf. <i>argentata</i> GL-624	ITS	690	99.4	0	JQ306421	<i>Stelis argentata</i>	<i>Stelis argentata</i>

Specimen	marqueur	pb	%	E	GB	Binome BLAST	Binome phylogénie
<i>Stelis cf. argentata</i> GL-653	ITS	682	99.8	0	JQ306421	<i>Stelis argentata</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis papaquerensis</i> OT-4043	ITS	693	99.9	0	JQ306421	<i>Stelis argentata</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis pygmaea</i> OT-4155	ITS	690	100.0	0	JQ306420	<i>Stelis parvula</i>	<i>Stelis cf. parvula</i>
<i>Stelis sp. GL-462</i>	ITS	688	99.8	0	JQ306421	<i>Stelis argentata</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis sp. GL-767</i>	ITS	690	99.9	0	JQ306421	<i>Stelis argentata</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Trichocentrum fuscum</i> GL-607	ITS	741	99.1	0	EF079446	<i>Campylocentrum sp.</i>	<i>Campylocentrum sp.</i>
<i>Trichocentrum fuscum</i> OT-4051	ITS	667	99.9	0	FJ565209	<i>Trichocentrum panduratum</i>	<i>Trichocentrum sp.</i>
<i>Trichopilia cf. mutica</i> OT-5873	ITS	695	99.7	0	FJ565550	<i>Trichopilia subulata</i>	<i>Trichopilia sp.</i>
<i>Trichosalpinx cf. blaisdellii</i> OT-4138	ITS	692	99.6	0	JQ306456	<i>Trichosalpinx dependens</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Trichosalpinx ciliaris</i> GL-584	ITS	689	98.8	0	JQ306347	<i>Trichosalpinx egleri</i>	<i>Trichosalpinx egleri</i>
<i>Trichosalpinx ciliaris</i> OT-4055	ITS	704	92.3	0	JQ306347	<i>Trichosalpinx egleri</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Trichosalpinx ciliaris</i> OT-4120	ITS	712	92.2	0	JQ306347	<i>Trichosalpinx egleri</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Trichosalpinx ciliaris</i> OT-5942	ITS	282	88.7	4.2 e-89	JQ306415	<i>Zootrophion atropurpureum</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Trichosalpinx orbicularis</i> OT-4085	ITS	702	93.4	0	JQ306347	<i>Trichosalpinx egleri</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Trichosalpinx orbicularis</i> OT-4198	ITS	701	93.4	0	JQ306347	<i>Trichosalpinx egleri</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Triphora surinamensis</i> GL-591	ITS	166	85.5	2.7 e-41	FJ753921	<i>Echeveria recurvata</i>	
<i>Trisetella triglochin</i> OT-4123	ITS	715	99.4	0	EF079368	<i>Trisetella triglochin</i>	
<i>Trisetella triglochin</i> OT-4160	ITS	722	99.4	0	EF079368	<i>Trisetella triglochin</i>	
<i>Vanilla grandiflora</i> GL-778	ITS	640	97.5	0	EU498164	<i>Vanilla pompona</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. 1 (lepreurii?)</i> GL-779	ITS	695	93.4	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. 1 de Manu</i> GL-615	ITS	695	93.5	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. 1</i> OT-4195	ITS	692	94.7	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-1227</i>	ITS	735	93.8	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-1228</i>	ITS	661	92.9	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-1229</i>	ITS	741	93.5	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-1231</i>	ITS	724	92.9	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-1232</i>	ITS	661	92.9	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-1233</i>	ITS	744	93.4	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-1238</i>	ITS	691	91.9	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-1262</i>	ITS	741	93.2	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-616</i>	ITS	725	93.9	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. GL-780</i>	ITS	693	91.6	0	EU498164	<i>Vanilla pompona</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. OT-4193</i>	ITS	696	94.3	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. OT-6051</i>	ITS	695	99.4	0	EU498164	<i>Vanilla pompona</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. OT-6317</i>	ITS	551	94.2	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. OT-6376</i>	ITS	730	93.7	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. OT-6380</i>	ITS	698	99.4	0	EU498164	<i>Vanilla pompona</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. OT-6381</i>	ITS	665	93.1	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp. OT-6382</i>	ITS	653	93.4	0	EU498163	<i>Vanilla bahiana</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Xylobium variegatum</i> OT-4548	ITS	277	97.5	2.4 e-131	EF079427	<i>Xylobium squalens</i>	<i>Xylobium sp.</i>
<i>Aspasia variegata</i> OT-6295	matK	794	99.5	0	FJ565128	<i>Brassia villosa</i>	<i>Aspasia sp.</i>
<i>Batemannia colleyi</i> OT-4141	matK	368	99.0	0	AY870006	<i>Acacallis fimbriata</i>	
<i>Campylocentrum micranthum</i> OT-4152	matK	728	99.6	0	AF506347	<i>Campylocentrum micranthum</i>	<i>Campylocentrum micranthum</i>
<i>Catasetum macrocarpum</i> OT-4107	matK	810	100.0	0	EF079266	<i>Catasetum planiceps</i>	<i>Catasetum sp.</i>
<i>Chaubardiella tigrina</i> OT-5948	matK	888	100.0	0	AY869957	<i>Warczewiczella guianensis</i>	<i>Warczewiczella guianensis</i>
<i>Cheiradenia cuspidata</i> OT-3065	matK	870	95.3	0	AY870004	<i>Koellensteinia boliviensis</i>	
<i>Cleistes rosea</i> OT-2310	matK	888	92.2	0	AJ310006	<i>Cleistes rosea</i>	<i>Cleistes sp.</i>
<i>Cleistes tenuis</i> OT-2304	matK	892	90.8	0	AJ310006	<i>Cleistes rosea</i>	<i>Cleistes sp.</i>

Specimen	marqueur	pb	%	E	GB	Binome BLAST	Binome phylogénie
<i>Cochleanthes guianensis</i> GL-657	matK	745	100.0	0	AY869957	<i>Warczewiczella guianensis</i>	Warczewiczella guianensis
<i>Cynoches cf. haggii</i> GL-645	matK	783	98.7	0	KF660297	<i>Cyrtopodium flavum</i>	<u><i>Cynoches</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium parviflorum</i> OT-6375	matK	822	99.4	0	KF660297	<i>Cyrtopodium flavum</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6306	matK	689	99.5	0	KF660297	<i>Cyrtopodium flavum</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6308	matK	815	99.5	0	KF660297	<i>Cyrtopodium flavum</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6311	matK	777	99.5	0	KF660297	<i>Cyrtopodium flavum</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6312	matK	769	99.5	0	KF660297	<i>Cyrtopodium flavum</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Cyrtopodium</i> sp. OT-6313	matK	777	99.5	0	KF660297	<i>Cyrtopodium flavum</i>	<u><i>Cyrtopodium</i> sp.</u>
<i>Dichaea ancoraelabia</i> OT-2952	matK	886	96.9	0	GQ917034	<i>Habenaria hieronymi</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Dichaea trulla</i> OT-4070	matK	889	100.0	0	EU123670	<i>Dichaea trulla</i>	<u><i>Dichaea</i> sp.</u>
<i>Elleanthus caravata</i> OT-4197	matK	799	99.9	0	EF079359	<i>Elleanthus</i> sp.	Elleanthus caravata
<i>Elleanthus graminifolius</i> OT-4200	matK	801	99.5	0	KF660268	<i>Galeandra devoniana</i>	<u><i>Elleanthus</i> sp.</u>
<i>Encyclia granitica</i> GL-614	matK	765	99.6	0	EF079318	<i>Encyclia atropurpurea</i>	<u><i>Encyclia</i> sp.</u>
<i>Encyclia granitica</i> OT-4094	matK	725	99.9	0	EF079318	<i>Encyclia atropurpurea</i>	<u><i>Encyclia</i> sp.</u>
<i>Encyclia granitica</i> OT-4462	matK	659	99.3	0	EU214163	<i>Encyclia cordigera</i>	<u><i>Encyclia</i> sp.</u>
<i>Epidendrum</i> OT-6302	matK	812	99.8	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	Epidendrum ciliare
<i>Epidendrum anceps</i> GL-589	matK	834	99.4	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum anceps</i> GL-613	matK	781	99.4	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum anceps</i> GL-618	matK	790	99.6	0	AY396124	<i>Prosthechea fragrans</i>	<i>Oerstedella</i> sp.
<i>Epidendrum carpophorum</i> OT-4068	matK	813	99.4	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum carpophorum</i> OT-5310	matK	855	99.3	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum ciliare</i> OT-4109	matK	351	99.0	6.8 e-177	FJ238564	<i>Epidendrum ciliare</i>	Epidendrum ciliare
<i>Epidendrum microphyllum</i> GL-603	matK	882	99.2	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<i>Oerstedella</i> sp.
<i>Epidendrum nocturnum</i> GL-631	matK	730	99.6	0	EU214167	<i>Epidendrum pseudepidendrum</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum purpurascens</i> OT-2292	matK	918	99.6	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum purpurascens</i> OT-4045	matK	856	97.1	0	EF079324	<i>Fronitaria</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum purpurascens</i> OT-4212	matK	864	99.9	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum ramosum</i> GL-600	matK	734	99.2	0	EU214349	<i>Epidendrum insulanum</i>	Epidendrum ramosum
<i>Epidendrum ramosum</i> GL-643	matK	733	99.1	0	EU214349	<i>Epidendrum insulanum</i>	Epidendrum ramosum
<i>Epidendrum ramosum</i> OT-4081	matK	857	99.3	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	Epidendrum ramosum
<i>Epidendrum ramosum</i> OT-5999	matK	836	99.4	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	Epidendrum ramosum
<i>Epidendrum</i> sp. GL-773	matK	817	99.5	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum unguiculatum</i> GL-626	matK	826	99.4	0	EF079312	<i>Oerstedella</i> sp.	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Epidendrum unguiculatum</i> OT-4150	matK	734	99.5	0	JQ588556	<i>Oerstedella centropetala</i>	<u><i>Epidendrum</i> sp.</u>
<i>Galeandra styllomisantha</i> OT-6032	matK	801	99.4	0	KF660268	<i>Galeandra devoniana</i>	<u><i>Galeandra</i> sp.</u>
<i>Gongora cf. atropurpurea</i> OT-4162	matK	738	99.6	0	KF660269	<i>Gongora sphaerica</i>	<u><i>Gongora</i> sp.</u>
<i>Habenaria macilenta</i> OT-2306	matK	838	98.3	0	AJ310036	<i>Habenaria repens</i>	<u><i>Habenaria</i> sp.</u>
<i>Habenaria schwackei</i> OT-2327	matK	825	98.3	0	AJ310036	<i>Habenaria repens</i>	<u><i>Habenaria</i> sp.</u>
<i>Habenaria sprucei</i> OT-2307	matK	841	98.5	0	AJ310036	<i>Habenaria repens</i>	<u><i>Habenaria</i> sp.</u>
<i>Heterotaxis discolor</i> OT-4060	matK	798	100.0	0	DQ209972	<i>Heterotaxis maleolens</i>	Heterotaxis discolor
<i>Heterotaxis discolor</i> OT-4189	matK	785	100.0	0	DQ209972	<i>Heterotaxis maleolens</i>	Heterotaxis discolor
<i>Heterotaxis villosa</i> OT-2751	matK	828	99.9	0	DQ209972	<i>Heterotaxis maleolens</i>	<u><i>Heterotaxis</i> sp.</u>
<i>Heterotaxis villosa</i> OT-4646	matK	882	100.0	0	DQ209972	<i>Heterotaxis maleolens</i>	<u><i>Heterotaxis</i> sp.</u>
<i>Heterotaxis violaceopunctata</i> GL-620	matK	717	100.0	0	DQ209972	<i>Heterotaxis maleolens</i>	Heterotaxis violaceopunctata
<i>Heterotaxis violaceopunctata</i> OT-4191	matK	735	100.0	0	DQ209972	<i>Heterotaxis maleolens</i>	Heterotaxis violaceopunctata

Specimen	marqueur	pb	%	E	GB	Binome BLAST	Binome phylogénie
<i>Jacquiniella globosa</i> OT-4084	matK	774	100.0	0	EF065588	<i>Jacquiniella globosa</i>	<i>Jacquiniella globosa</i>
<i>Jacquiniella globosa</i> OT-4203	matK	302	99.2	7.1 e-152	EF065588	<i>Jacquiniella globosa</i>	<i>Jacquiniella globosa</i>
<i>Kefersteinia lafontenei</i> GL-598	matK	740	100.0	0	EU214511	<i>Kefersteinia costaricensis</i>	<i>Kefersteinia</i> sp.
<i>Koellensteinia graminea</i> OT-4130	matK	752	99.9	0	AY870003	<i>Koellensteinia graminea</i>	
<i>Koellensteinia graminea</i> OT-4207	matK	790	99.9	0	GQ145143	<i>Polystachya golungensis</i>	
<i>Lepanthes ruscifolia</i> GL-621	matK	846	97.8	0	EF079324	<i>Fronitaria</i> sp.	<i>Lepanthes</i> sp.
<i>Liparis nervosa</i> GL-619	matK	727	100.0	0	AY907146	<i>Liparis elata</i>	<i>Liparis</i> sp.
<i>Liparis nervosa</i> OT-4134	matK	450	98.0	0	EU214176	<i>Kegeliella atropilosa</i>	<i>Liparis</i> sp.
<i>Liparis nervosa</i> OT-4206	matK	711	99.7	0	GQ145143	<i>Polystachya golungensis</i>	<i>Liparis</i> sp.
<i>Liparis nervosa</i> OT-5712	matK	775	100.0	0	AY907146	<i>Liparis elata</i>	<i>Liparis</i> sp.
<i>Macradenia lutescens</i> OT-4040	matK	751	99.9	0	FJ564896	<i>Macradenia tridentata</i>	<i>Macradenia</i> sp.
<i>Masdevallia minuta</i> GL-461	matK	109	98.2	1.1 6e-45	KF143741	<i>Flickingeria angustifolia</i>	<i>Masdevallia</i> sp.
<i>Masdevallia minuta</i> OT-4049	matK	805	98.1	0	AY368416	<i>Masdevallia floribunda</i>	<i>Masdevallia</i> sp.
<i>Maxillaria</i> OT-2838	matK	850	99.6	0	DQ210575	<i>Maxillaria alba</i>	<i>Maxillaria</i> sp.
<i>Maxillaria acutifolia</i> OT-4052	matK	795	99.9	0	DQ209943	<i>Maxillaria</i> cf.	<i>Mormolyca</i> sp.
<i>Maxillaria alba</i> GL-464	matK	806	99.9	0	DQ209931	<i>Maxillaria camaridii</i>	<i>Maxillaria alba</i>
<i>Maxillaria alba</i> GL-587	matK	852	100.0	0	DQ210575	<i>Maxillaria alba</i>	<i>Maxillaria alba</i>
<i>Maxillaria alba</i> GL-594	matK	782	99.9	0	DQ210575	<i>Maxillaria alba</i>	<i>Maxillaria alba</i>
<i>Maxillaria alba</i> OT-5221	matK	872	99.8	0	DQ210575	<i>Maxillaria alba</i>	<i>Maxillaria alba</i>
<i>Maxillaria camaridii</i> GL-642	matK	809	99.8	0	DQ209931	<i>Maxillaria camaridii</i>	<i>Maxillaria</i> sp.
<i>Maxillaria camaridii</i> OT-4143	matK	743	100.0	0	DQ209931	<i>Maxillaria camaridii</i>	<i>Maxillaria camaridii</i>
<i>Maxillaria desvauxiana</i> GL-659	matK	757	99.9	0	DQ210736	<i>Maxillaria desvauxiana</i>	<i>Maxillaria desvauxiana</i>
<i>Maxillaria parviflora</i> GL-658	matK	765	99.6	0	KF660269	<i>Gongora sphaerica</i>	<i>Maxillaria parviflora</i>
<i>Maxillaria rufescens</i> GL-617	matK	798	100.0	0	DQ209943	<i>Maxillaria</i> cf.	<i>Maxillaria rufescens</i>
<i>Maxillaria rufescens</i> OT-4186	matK	832	100.0	0	DQ209943	<i>Maxillaria</i> cf.	<i>Maxillaria rufescens</i>
<i>Maxillaria</i> sp. OT-6307	matK	808	99.5	0	KF660297	<i>Cyrtopodium flavum</i>	<i>Cyrtopodium</i> sp.
<i>Maxillaria splendens</i> GL-465	matK	827	100.0	0	DQ209972	<i>Heterotaxis maleolens</i>	<i>Maxillaria splendens</i>
<i>Maxillaria splendens</i> OT-5837	matK	810	100.0	0	DQ210684	<i>Maxillaria splendens</i>	<i>Maxillaria splendens</i>
<i>Maxillaria uncata</i> OT-2278	matK	886	99.9	0	DQ210943	<i>Maxillaria uncata</i>	<i>Maxillaria uncata</i>
<i>Maxillaria uncata</i> OT-2839	matK	828	99.9	0	DQ210943	<i>Maxillaria uncata</i>	<i>Maxillaria uncata</i>
<i>Maxillariella stenophylla</i> OT-4078	matK	898	99.6	0	DQ211013	<i>Maxillaria stictantha</i>	<i>Maxillaria</i> sp.
<i>Octomeria exigua</i> OT-4157	matK	827	98.9	0	AY368421	<i>Octomeria gracilis</i>	<i>Octomeria</i> sp.
<i>Octomeria surinamensis</i> GL-606	matK	826	99.4	0	AY368421	<i>Octomeria gracilis</i>	<i>Octomeria</i> sp.
<i>Oncidium baueri</i> OT-4079	matK	705	100.0	0	FJ563920	<i>Oncidium</i> aff.	<i>Oncidium</i> sp.
<i>Palmorchis pabstii</i> OT-2957	matK	910	98.1	0	GQ917034	<i>Habenaria hieronymi</i>	<i>Habenaria</i> sp.
<i>Paphinia cristata</i> OT-4122	matK	812	99.4	0	KF660273	<i>Houlletia brocklehurstiana</i>	<i>Paphinia</i> sp.
<i>Peristeria cerina</i> OT-4131	matK	751	99.1	0	EF065564	<i>Coeliopsis hyacinthosma</i>	<i>Peristeria</i> sp.
<i>Platystele ovalifolia</i> GL-776	matK	734	97.7	0	EF079326	<i>Platystele stenostachya</i>	<i>Scaphosepalum</i> sp.
<i>Platystele ovalifolia</i> OT-4172	matK	808	95.7	0	FR837537	<i>Stelis</i> sp.	<i>Platystele</i> sp.
<i>Pleurothallis archidiaconi</i> OT-4064	matK	802	99.3	0	AY396076	<i>Pleurothallis racemiflora</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis aristata</i> GL-459	matK	713	96.9	0	EF079325	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis aristata</i> GL-770	matK	756	97.0	0	EF079325	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis barbulata</i> OT-4083	matK	773	95.3	0	FR837537	<i>Stelis</i> sp.	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis dicoidea</i> OT-5901	matK	779	99.7	0	EU214428	<i>Pleurothallis phyllocardia</i>	<i>Pleurothallis discoidea</i>

<i>Specimen</i>	<i>marqueur</i>	<i>pb</i>	<i>%</i>	<i>E</i>	<i>GB</i>	<i>Binome BLAST</i>	<i>Binome phylogénie</i>
<i>Pleurothallis grobyi</i> OT-4170	matK	661	98.2	0	EU214488	<i>Specklinia microphylla</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis lanceana</i> OT-4053	matK	750	98.5	0	EF079330	<i>Pleurothallis josephensis</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis picta</i> GL-585	matK	613	96.9	0	EF079325	<i>Scaphosepalum ursinum</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis picta</i> GL-611	matK	770	98.6	0	EU214488	<i>Specklinia microphylla</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis picta</i> OT-4125	matK	849	97.9	0	EF079326	<i>Platystele stenostachya</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis polygonoides</i> GL-586	matK	808	96.9	0	FR837537	<i>Stelis</i> sp.	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis pruinosa</i> GL-610	matK	757	99.3	0	AY396076	<i>Pleurothallis racemiflora</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis pruinosa</i> OT-4169	matK	776	99.6	0	EU214430	<i>Pleurothallis ruscifolia</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis semperflorens</i> OT-2811	matK	830	97.5	0	FR837537	<i>Stelis</i> sp.	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis semperflorens</i> OT-4156	matK	818	97.7	0	FR837537	<i>Stelis</i> sp.	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis seriata</i> GL-460	matK	733	97.7	0	JF934866	<i>Stelis alta</i>	<i>Pleurothallis seriata</i>
<i>Pleurothallis</i> sp. (floribunda?) OT-5371	matK	770	99.6	0	FR837537	<i>Stelis</i> sp.	<i>Stelis</i> sp.
<i>Pleurothallis spiculifera</i> OT-4209	matK	792	98.1	0	AY368421	<i>Octomeria gracilis</i>	<i>Octomeria</i> sp.
<i>Pleurothallis suspensa</i> OT-4062	matK	748	98.5	0	AY396117	<i>Encyclia dichroma</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Pleurothallis uniflora</i> OT-4165	matK	664	98.9	0	EU214489	<i>Specklinia pyrsodes</i>	<i>Pleurothallis</i> sp.
<i>Polystachya foliosa</i> OT-3066	matK	888	99.9	0	GQ145143	<i>Polystachya golungensis</i>	<i>Polystachya</i> sp.
<i>Prosthechea aemula</i> GL-629	matK	790	99.6	0	AY396124	<i>Prosthechea fragrans</i>	<i>Prosthechea</i> sp.
<i>Prosthechea aemula</i> GL-630	matK	743	99.9	0	DQ209943	<i>Maxillaria</i> cf.	<i>Prosthechea</i> sp.
<i>Prosthechea aemula</i> GL-649	matK	759	99.7	0	AY396124	<i>Prosthechea fragrans</i>	<i>Prosthechea aemula</i>
<i>Prosthechea aemula</i> OT-2840	matK	901	98.4	0	AY396123	<i>Prosthechea chimborazoensis</i>	<i>Prosthechea</i> sp.
<i>Prosthechea pygmaea</i> OT-4159	matK	825	100.0	0	AY396128	<i>Prosthechea pseudopygmaea</i>	<i>Prosthechea</i> sp.
<i>Psychopsis versteegianum</i> OT-2853	matK	830	99.9	0	FJ564712	<i>Psychopsis sanderæ</i>	<i>Psychopsis</i> sp.
<i>Rodriguezia lanceolata</i> OT-4211	matK	747	100.0	0	FJ564976	<i>Rodriguezia</i> sp.	<i>Rodriguezia</i> sp.
<i>Sarcoglottis acaulis</i> GL-637	matK	841	100.0	0	EF079292	<i>Sarcoglottis neglecta</i>	<i>Sarcoglottis acaulis</i>
<i>Sarcoglottis acaulis</i> GL-638	matK	842	100.0	0	EF079292	<i>Sarcoglottis neglecta</i>	<i>Sarcoglottis acaulis</i>
<i>Scaphyglottis</i> cf. <i>sickii</i> OT-4158	matK	853	99.7	0	AY396084	<i>Scaphyglottis cuniculata</i>	<i>Scaphyglottis</i> sp.
<i>Scaphyglottis fusiformis</i> OT-4047	matK	865	99.9	0	AY396084	<i>Scaphyglottis cuniculata</i>	<i>Scaphyglottis fusiformis</i>
<i>Scaphyglottis fusiformis</i> OT-4210	matK	801	99.9	0	AY396084	<i>Scaphyglottis cuniculata</i>	<i>Scaphyglottis fusiformis</i>
<i>Scaphyglottis modesta</i> OT-4058	matK	811	99.7	0	AY396084	<i>Scaphyglottis cuniculata</i>	<i>Scaphyglottis modesta</i>
<i>Scaphyglottis modesta</i> OT-5704	matK	894	100.0	0	EU214446	<i>Scaphyglottis bilineata</i>	<i>Scaphyglottis modesta</i>
<i>Scaphyglottis prolifera</i> GL-604	matK	807	99.6	0	AY396084	<i>Scaphyglottis cuniculata</i>	<i>Scaphyglottis</i> sp.
<i>Scaphyglottis prolifera</i> GL-627	matK	820	99.9	0	EU214481	<i>Scaphyglottis violacea</i>	<i>Scaphyglottis prolifera</i>
<i>Scaphyglottis prolifera</i> GL-641	matK	735	99.5	0	AY396084	<i>Scaphyglottis cuniculata</i>	<i>Scaphyglottis</i> sp.
<i>Scaphyglottis stellata</i> GL-646	matK	788	100.0	0	EU214462	<i>Scaphyglottis leucantha</i>	<i>Scaphyglottis stellata</i>
<i>Scuticaria steelei</i> OT-4171	matK	665	99.0	0	AY396101	<i>Rhyncholaelia glauca</i>	<i>Scuticaria</i> sp.
<i>Selenipedium parvoflorum</i> OT-6320	matK	781	94.3	2.6 e-126	KF143740	<i>Epigeneium rotundatum</i>	<i>Selenipedium</i> sp.
<i>Sigmatostalix amazonica</i> OT-4048	matK	300	99.7	0	FJ564888	<i>Oncidium</i> sp.	
<i>Sobralia</i> cf. <i>suaveolens</i> GL-628	matK	760	99.9	0	EU214486	<i>Sobralia fragrans</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia fragrans</i> GL-625	matK	746	99.8	0	EF079318	<i>Encyclia atropurpurea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia fragrans</i> GL-640	matK	727	99.6	0	EU490709	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia macrophylla</i> GL-635	matK	907	99.6	0	EU214486	<i>Sobralia fragrans</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia macrophylla</i> OT-4202	matK	811	99.4	0	EU490709	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia sessilis</i> GL-599	matK	863	99.7	0	EU490710	<i>Sobralia warszewiczii</i>	<i>Sobralia</i> sp.
<i>Sobralia sessilis</i> GL-632	matK	768	99.8	0	EU490710	<i>Sobralia warszewiczii</i>	<i>Sobralia</i> sp.

<i>Specimen</i>	<i>marqueur</i>	<i>pb</i>	<i>%</i>	<i>E</i>	<i>GB</i>	<i>Binome BLAST</i>	<i>Binome phylogénie</i>
<i>Sobralia suaveolens</i> GL-634	<i>matK</i>	826	99.7	0	EU490709	<i>Sobralia crocea</i>	<i>Sobralia sp.</i>
<i>Stelis argentata</i> GL-660	<i>matK</i>	755	99.5	0	JF934858	<i>Stelis carpintera</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis argentata</i> OT-4104	<i>matK</i>	740	99.3	0	JF934837	<i>Stelis velaticaulis</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis cf. argentata</i> GL-624	<i>matK</i>	634	99.2	0	JF934858	<i>Stelis carpintera</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis cf. argentata</i> GL-653	<i>matK</i>	734	99.4	0	FR837537	<i>Stelis sp.</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis papaquerensis</i> OT-4043	<i>matK</i>	771	99.4	0	FR837537	<i>Stelis sp.</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis pygmaea</i> OT-4155	<i>matK</i>	855	98.8	1.0 e-75	EU490696	<i>Isochilus major</i>	<i>Stelis cf. parvula</i>
<i>Stelis sp.</i> GL-462	<i>matK</i>	163	99.4	0	FR837537	<i>Stelis sp.</i>	<i>Stelis argentata</i>
<i>Stelis sp.</i> GL-767	<i>matK</i>	831	99.4	0	FR837537	<i>Stelis sp.</i>	<i>Stelis sp.</i>
<i>Trichocentrum fuscum</i> GL-607	<i>matK</i>	856	99.9	0	AF506347	<i>Campylocentrum micranthum</i>	<i>Campylocentrum sp.</i>
<i>Trichosalpinx ciliaris</i> GL-584	<i>matK</i>	743	97.3	0	JF934866	<i>Stelis alta</i>	<i>Trichosalpinx egleri</i>
<i>Trichosalpinx ciliaris</i> OT-4055	<i>matK</i>	741	96.9	0	EU214374	<i>Lepanthes elata</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Trichosalpinx ciliaris</i> OT-4120	<i>matK</i>	464	97.3	0	EU214369	<i>Lepanthes atrata</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Trichosalpinx ciliaris</i> OT-5942	<i>matK</i>	767	97.4	0	EF079324	<i>Fronitaria sp.</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Trichosalpinx orbicularis</i> OT-6005	<i>matK</i>	837	97.3	0	EU214369	<i>Lepanthes atrata</i>	<i>Trichosalpinx sp.</i>
<i>Triphora surinamensis</i> GL-591	<i>matK</i>	768	98.0	0	EF065603	<i>Monophyllorchis maculata</i>	
<i>Trisetella triglochin</i> OT-4123	<i>matK</i>	813	99.6	0	EF065592	<i>Trisetella triglochin</i>	
<i>Trisetella triglochin</i> OT-4160	<i>matK</i>	797	100.0	0	EF065592	<i>Trisetella triglochin</i>	
<i>Vanilla</i> OT-2796	<i>matK</i>	730	98.0	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp.</i> GL-1229	<i>matK</i>	849	97.7	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp.</i> GL-1231	<i>matK</i>	820	98.2	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp.</i> GL-1232	<i>matK</i>	825	98.1	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp.</i> GL-1233	<i>matK</i>	825	98.1	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp.</i> GL-1262	<i>matK</i>	810	98.1	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp.</i> OT-6376	<i>matK</i>	840	98.1	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp.</i> OT-6380	<i>matK</i>	827	98.8	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Vanilla sp.</i> OT-6382	<i>matK</i>	835	97.9	0	AJ310079	<i>Vanilla planifolia</i>	<i>Vanilla sp.</i>
<i>Xylobium variegatum</i> OT-4106	<i>matK</i>	824	99.9	0	EF079255	<i>Xylobium squalens</i>	<i>Xylobium sp.</i>
<i>Xylobium variegatum</i> OT-4548	<i>matK</i>	742	99.9	0	EF079255	<i>Xylobium squalens</i>	<i>Xylobium sp.</i>

Conservation du Sabot de Vénus en France : bilan et préconisation

Bertrand SCHATZ¹, Anaïs LESEUR², Jocelyn FONDERFLICK¹,
Irène TILL-BOTTRAUD³, Jean-Christophe GATTUS⁴, Florence NICOLE²

¹ Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE), UMR CNRS 5175, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France

bertrand.schatz@cefe.cnrs.fr

² Laboratoire de biotechnologies végétales appliquées aux plantes aromatiques et médicinales, Faculté de Sciences et Techniques, 42023 Saint-Etienne Cedex 2, France

florence.nicole@univ-st-etienne.fr

³ Laboratoire d'Ecologie Alpine, UMR 5553, CNRS, Université J. Fourier, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France

⁴ Office National des Forêts, BP 96, 05007 Gap, France

Abstract – Conservation of Lady's slipper in France: assessment and recommendation. The lady's slipper is a terrestrial orchid with high patrimonial value. During the 20th century, an alarming decline was observed in Europe. We establish an assessment of 46 French populations for the first decade of the 21st century. Surveys were performed in 2012 and 2013 on sites previously investigated between 1999 and 2002. The statistical analysis of the data allows proposing recommendations for conservation management.

Résumé – Le Sabot de Vénus est une orchidée terrestre à forte valeur patrimoniale. Durant le 20^e siècle, un déclin alarmant a été observé en Europe. Nous avons cherché à établir un diagnostic pour 46 stations françaises de Sabots de Vénus pour la première décennie du 21^e siècle. Des suivis ont été menés sur des sites préalablement suivis entre 1999 et 2002. L'analyse statistique des données permet de proposer des mesures de gestion conservatoire.

Mots-clés : *Cypripedium calceolus*, Conservation

INTRODUCTION

Le Sabot de Vénus (*Cypripedium calceolus* L.) est une orchidée terrestre emblématique des régions tempérées. Malgré une large distribution à travers l'Eurasie, les populations sont souvent petites, isolées et en déclin. Le bilan effectué sur l'évolution des populations au cours du 20^e siècle en Europe était particulièrement alarmant (Terschuren, 1999). Par exemple, à des échelles locales, la diminution de la surface occupée était de l'ordre de 55 à 90% entre 1975 et 1995. Sa rareté et son déclin dans la majeure partie de l'Europe lui valent d'être protégé en France et en Europe (annexe II de la directive « Habitats-Faune-Flore », annexe I de la Convention de Berne et annexe II de la convention de Washington).

Actuellement, les principaux refuges de Sabot de Vénus se situent en Fennoscandie,

dans les Alpes, dans une partie des Carpates et sur le plateau podolien au sud-ouest de l'Ukraine. L'arc alpin français, limite occidentale de l'aire de répartition, constitue un de ses refuges. De nombreuses stations, dont certaines importantes, y ont été répertoriées et il apparaît primordial pour la préservation de l'espèce de suivre son évolution dans cette zone. Ailleurs en France, le Sabot de Vénus est moins fréquent. Il a été signalé dans le nord-est, le massif Jurassien, le massif Central et la chaîne Pyrénéenne.

Le Sabot de Vénus présente un fort intérêt patrimonial et constitue une espèce parapluie pour de nombreuses orchidées et d'autres espèces végétales avec lesquelles il s'associe. Plusieurs états des lieux ont été réalisés durant les dernières décennies qui ont permis de préciser les spécificités écologiques de l'espèce. La répartition s'échelonne généralement de l'étage collinéen à l'étage

subalpin (de 300 à 1600 mètres d'altitude). Les stations sont souvent liées au relief et se trouvent dans des combes ou sur les flancs des vallées entaillant les plateaux, avec une préférence marquée pour les versants orientés Nord, Nord-Est ou Nord-Ouest. L'espèce affectionne un climat local frais et humide, des sols riches en calcaire et un rapport ombre-lumière d'environ 50%. L'espèce paraît inféodée à des habitats en pleine phase dynamique et prospère tant que le couvert ligneux n'est pas trop dense. Une des menaces majeures à son maintien est la densification du couvert végétal. Il est donc important d'identifier les conditions de luminosité permettant le maintien des populations. Pour cela, il est nécessaire d'étudier la relation entre le couvert végétal, le nombre de tiges et le taux de floraison. Le vandalisme horticole constitue une autre menace importante. Il paraît donc primordial d'évaluer l'impact de l'accessibilité des sites et des niveaux de perturbations anthropiques sur le maintien des populations de Sabots de Vénus.

L'objectif de ce projet est d'établir un diagnostic sur l'évolution de 46 stations françaises de Sabots de Vénus au cours de la première décennie du 21^e siècle. La longévité d'une plante de Sabot de Vénus a été estimée de 110 à 350 ans et la dynamique intrinsèque des populations présentent extrêmement peu de variations à l'échelle de quelques années (Nicolè *et al.*, 2005). Il est donc pertinent de récolter des données sur des intervalles de temps longs (10 ans ici) pour observer une évolution des populations. D'autre part, le Sabot de Vénus présente une croissance végétative grâce à la présence d'un rhizome. La croissance du rhizome pourrait conduire à un « déplacement » théorique d'un individu de près de 3 mètres en 200 ans. De plus, la ramification et la fragmentation des rhizomes rendent l'identification de chaque individu extrêmement difficile. Pour éviter les confusions, il convient donc de dénombrer les tiges (ramets) plutôt que les individus (genets).

Le projet se décompose en trois étapes :

- évaluer l'évolution des 46 populations 10 ans après la mise en place des premiers suivis (entre 1999 et 2002) ;
- diagnostiquer les causes potentielles d'expansion ou de déclin des 46 stations au cours de la première décennie du 21^{ème} siècle, à l'aide de statistiques multivariées appliquées sur différentes variables

environnementales mesurées pour chaque station ;

- établir les conditions de luminosité / recouvrement favorables à l'espèce afin de proposer des mesures de gestion conservatoires.

Les aspects novateurs de ce projet sont :

- l'échelle d'étude large incluant différentes zones géographiques en France ;
- le nombre important de stations pour lesquelles nous pourrions obtenir un recul de 10 ans ;
- l'approche multivariée permettant de déterminer des paramètres stationnels importants pour le maintien des populations de Sabots de Vénus (conditions de luminosité, caractéristiques du sol, topographie, habitat, perturbations et menaces).

MATERIELS ET METHODES

Des données sur différentes localités et de différentes natures ont été regroupées pour répondre aux objectifs fixés. Dans l'arc alpin, deux types de données seront utilisés :

1) des suivis sur des individus marqués et localisés dans des quadrats permanents. Ce type de suivi vise à établir la dynamique fine des populations. Huit stations réparties dans 4 massifs des Alpes Françaises (Chartreuse, Bauges, Ecrins (Valbonnais), Boscodon (Embrunais)) ont été suivies annuellement de 2001/2002 à 2005. Les suivis ont été renouvelés en 2012 pour évaluer l'évolution des populations alpines. Ce type de suivi individu-centré est difficile à maintenir sur des durées importantes à cause de la difficulté à retrouver et délimiter les individus. Pour permettre la comparaison avec les autres suivis, seules les données de dénombrement des tiges ont été utilisées.

2) des suivis de populations sur station délimitée, avec dénombrements annuels des tiges. Dix stations ont été mesurées annuellement par l'ONF pour être mises en relation avec différentes pratiques de sylvicultures. Les suivis ont été renouvelés en 2013.

En Lozère, un inventaire des stations de Sabot de Vénus a été mené en 1999 par le Conservatoire Départemental des Sites Lozériens dans les gorges du Tarn et par le Parc national des Cévennes dans les gorges de la Jonte. Des suivis de populations sur stations délimitées ainsi que de nombreux paramètres

environnementaux ont été mesurés pour caractériser les 28 stations identifiées. En 2008 et en 2013, le dénombrement des tiges sur les 25 m² les plus denses par station a été renouvelé.

L'hétérogénéité des mesures des suivis anciens a nécessité un travail d'homogénéisation. Dans une première étape, les différents partenaires du projet se sont concertés sur le choix des critères pertinents à mesurer et pour l'établissement d'un protocole commun facile à mettre en œuvre et à maintenir dans le temps. Une fiche de suivi type a été établie. Les différentes informations récoltées sur le terrain sont les suivantes :

- informations générales et stationnelles : date, observateur, coordonnées géographiques, localisation et description, altitude, pente, exposition, topographie ;

- données environnementales : intensité lumineuse au sol, taux de recouvrement (mesure effectuée avec un appareil photo numérique classique, cf figure 4), humidité du sol, gradient hydrique, substrat géologique, pH, habitat, type de milieu ;

- perturbations et menaces : interventions de gestion, perturbations actuelles, fréquentation humaine, menaces ;

- données démographiques : nombre de tiges total, nombre de tiges non fleuries, nombre de tiges fleuries, nombre de fleurs, nombre de double fleuris, et si possible : nombre de fruits et nombre de jeunes plantules.

Une base de données a été créée pour regrouper les informations sur les différents sites suivis (géolocalisation précise, descriptif, photographies). Cette base de données constituera un outil pour pérenniser les suivis sur des échelles de temps longues. Un travail important de compilation, d'informatisation et d'homogénéisation des résultats a été nécessaire préalablement aux analyses statistiques. Les analyses statistiques ont été menées sous R version 2.15.2 (cran.r-project.org/).

Un taux de croissance a été calculé suivant la formule (nombre total de tiges au temps $n+x$ – nombre total de tiges au temps n) / nombre total de tiges au temps n . Un taux de croissance de 0 indique une stabilité des effectifs. Un taux de croissance de 1 signifie une augmentation de 100%, soit un doublement des effectifs.

Les différences entre années des proportions des différentes catégories ont été testées avec des analyses de variance après vérification de la normalité et de l'homoscedasticité des échantillons. Des tests a posteriori de Tukey permettent de comparer les moyennes deux à deux.

Des statistiques multivariées ont été appliquées sur l'ensemble des données pour déterminer des caractéristiques environnementales corrélées aux effectifs et à la croissance des populations de Sabot de Vénus. Une analyse en composante principale a été menée sur l'ensemble des variables quantitatives et semi-quantitatives. Le pourcentage de recouvrement et la quantité de lumière au sol ont été mis en relation avec le taux de croissance et analysés avec des statistiques non paramétriques.

RESULTATS

L'analyse des taux de croissance sur 10 ans montrent que 62% des populations sont en décroissance (taux de croissance < 0). On observe donc une diminution globale du nombre de tiges sur une majorité de sites, quelque soit leur localité (pas de différence significative entre Alpes et Lozère).

La proportion de tiges non fleuries varie de 23 à 71% dans les Alpes et de 15 à 93% dans les Causses (Figure 1). Des différences significatives existent entre années dans chaque région. Le nombre de tiges non fleuries s'avère stable dans les Alpes de 2002 à 2012 tandis qu'il a augmenté significativement dans les Causses. Le taux de floraison est défini par le rapport entre le nombre total de fleurs et le nombre total de tiges. Ce taux est très variable, de 0 à 100%, et paraît très dépendant des conditions climatiques. Dans les Alpes, les printemps et été secs, dont la canicule de 2003, se sont accompagnés d'une augmentation significative de la floraison atteignant le maximum observé localement de 89%. Dans les Causses, le taux de floraison a été divisé par deux en 10 ans. Ce résultat concorde avec l'augmentation de la proportion de tiges non fleuries.

Le taux de juvéniles ne présente aucune variation significative entre années tandis que le taux de fructification présente des variations interannuelles mais pas de variations significatives en dix ans (pas de différence significative entre 2001, 2002 et 2012).

L'analyse en composante principale, après élimination des variables redondantes et non structurantes, montre un bon pourcentage d'inertie de 50% sur les deux premiers axes. Alpes du Nord, Alpes du Sud et Causses sont bien différenciés grâce aux variables latitude, longitude et altitude. Le premier axe oppose les populations d'effectifs importants (variables nombre de tiges au temps n+10 et nombre de tiges au temps n à gauche) avec de grande surface, à des populations petites présentant peu de Sabots de Vénus (Figure 2). Ces grandes populations de Sabots de Vénus sont caractérisées par des habitats dynamiques avec une faible strate arborée, un recouvrement moyen faible et une pente importante. Ce sont majoritairement des populations des Alpes du Nord et certaines populations des Causses. Les petites populations sont retrouvées dans les Alpes du Sud en Forêt de Boscodon, sous des couverts arborés matures, avec un recouvrement important et un terrain peu pentu. L'axe 2 de l'ACP associe négativement la pente avec le niveau de fréquentation

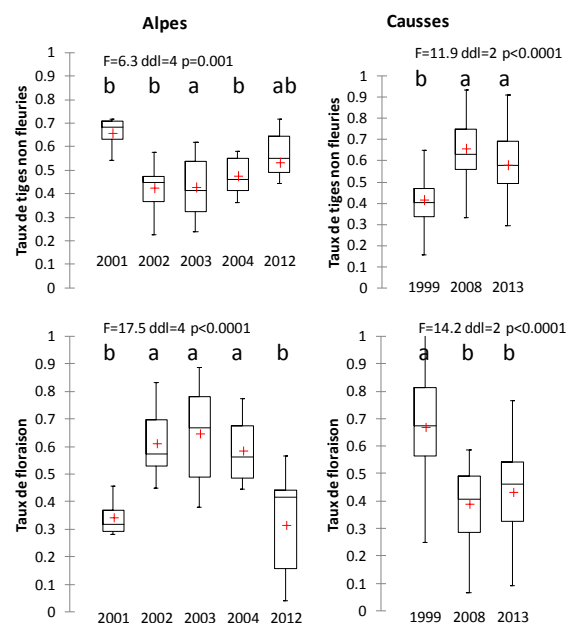


Figure 1. – Evolution des taux de tiges non fleuries et de floraison dans les Alpes et dans les Causses durant la première décennie du 21^e siècle.

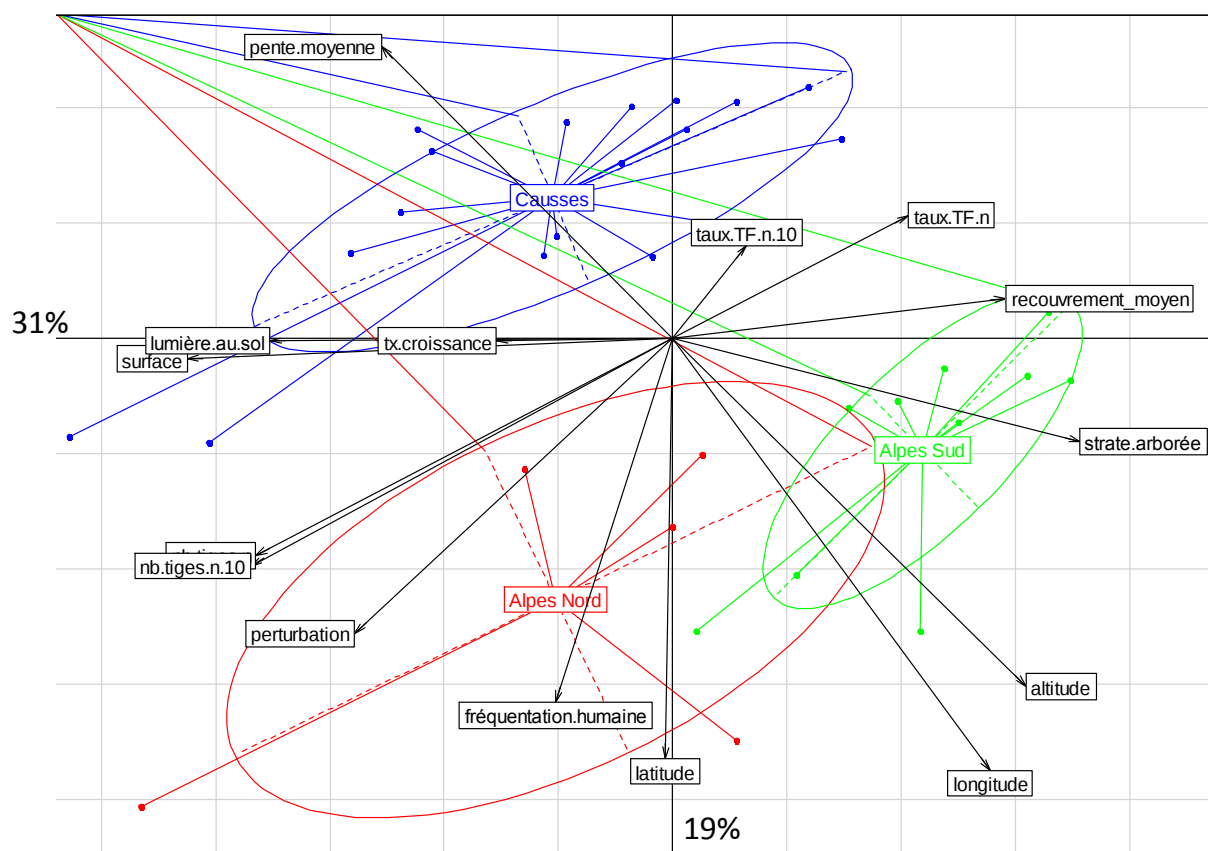


Figure 2. – Analyse en composante principale menée sur les variables quantitatives, après élimination des variables redondantes et peu structurantes (tx : taux ; TF : tiges fleuries ; n.10 : au temps n+10).

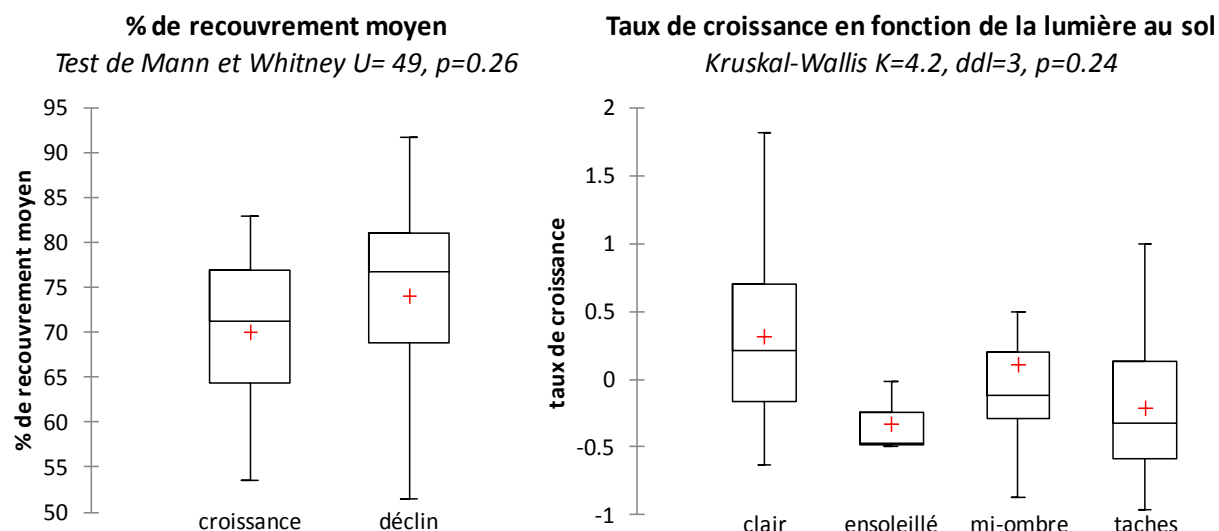


Figure 3. – Pourcentage de recouvrement et quantité de lumière au sol en fonction du taux de croissance des populations de Sabots de Vénus.

humaine et le niveau de perturbations. Plus la pente est faible, plus la fréquentation humaine et les perturbations sont fortes. Ces perturbations influencent peu la taille et la superficie des populations (orthogonalité du deuxième axe par rapport aux variables surface et taux de croissance). L'analyse multivariée montre l'importance du recouvrement et de la pente sur le maintien des populations de Sabots de Vénus. Si on analyse de manière plus fine le recouvrement végétal des différentes stations, on note que 50% des stations présentent un recouvrement végétal compris entre 62 et 79% par estimation photographique (min = 51% - max = 92% ; Figure 3). Le pourcentage de recouvrement moyen ne diffère pas significativement entre les sites en croissance et les sites en déclin (recouvrement moyen respectivement de 70 et 74%). Cependant, toutes les stations présentant un pourcentage de recouvrement supérieur à 81% sont en déclin. Le graphique de droite de la Figure 3 exploitant une mesure qualitative de l'ouverture du milieu indique une relation positive mais faible entre l'augmentation de la lumière au sol et le taux de croissance ($r^2=0,14$) et confirme qu'un ensoleillement trop faible est défavorable.

CONCLUSION

Pour conclure, cette étude a généré quatre retombées : i) la formation d'une étudiante en master qui a synthétisé les données

bibliographiques, participé au terrain, coordonné la collecte d'informations entre les différents partenaires et analysé les résultats ; ii) la mise en place de collaborations entre trois laboratoires de recherche (LBVpam, LECA et CEFÉ) et plusieurs acteurs de la conservation dont l'ONF, 3 parcs naturels régionaux (Chartreuse, Massif des Bauges, Queyras), 2 parcs nationaux (Ecrins et Cévennes), le conservatoire botanique national alpin de Gap-Charance, le conservatoire d'espaces naturels de Lozère et la fédération départementale des chasseurs de Lozère ; iii) la mise en place d'un protocole de suivi simple, facile à mettre en oeuvre et à maintenir sur des échelles de temps longues. Ce protocole sera maintenu dans les populations déjà suivies et sera étendu à de nouvelles localités : nouvelles stations en Aveyron observées par le PNR des Grands Causses, sites pyrénéens, élargissement à l'échelle nationale de l'étude ONF, extension à d'autres sites dans les Alpes françaises ; iv) l'identification des éléments favorables au maintien des populations de Sabots de Vénus : recouvrement proche de 70% (Figure 4), pente importante de 35° en moyenne et pourcentage de strate arborée modéré (37%). Ces éléments nous permettent de proposer deux types de recommandations :

- favoriser une action de réouverture du milieu sur certaines stations avec pour objectif de restaurer un pourcentage de recouvrement proche de l'optimum de 70% et dynamiser le milieu ;

- favoriser la diffusion d'informations sur cette orchidée pour sensibiliser et protéger les sites.

En perspective, les habitats du Sabot de Vénus apparaissent plus menacés que l'espèce elle-même. Il faut donc cibler la protection sur les habitats et inciter à une cohérence supranationale de la politique européenne pour la conservation du Sabot de Vénus.

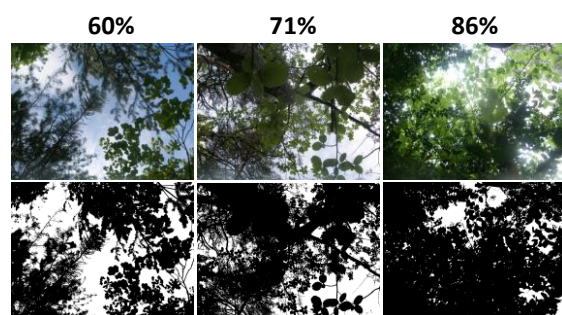


Figure 4. – Trois exemples de pourcentage de recouvrement. La mesure du couvert végétal s'effectue avec un appareil photo numérique classique. Une photo est prise au dessus des plantes à l'horizontal par rapport à la pente. Les prises de vue (en haut) sont ensuite postérisées en noir et blanc (en bas) avec un logiciel de traitement d'image qui détermine le pourcentage de pixels noirs. Cette valeur donne une estimation du taux de couverture végétale.

Remerciements

Nous remercions la SFO, la SBF et la région Rhône-Alpes d'avoir soutenu financièrement cette étude. Merci à tous ceux qui ont participé à la récolte des données sur les différents sites au fil du temps.

Références

- Nicolè F. 2001. Biologie de la conservation du Sabot de Vénus, *Cypripedium calceolus* L. (Orchidaceae). Aspects génétique, démographique et système de reproduction, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, Institut National Agronomique Paris-Grignon. Mémoire de D.E.A., Laboratoire de biologie et des populations d'altitude de Grenoble. 35 p.
- Nicolè F., Brzosko E., Till-Bottraud I. 2005. Population viability analysis of *Cypripedium calceolus* in a protected area: longevity, stability and persistence. *Journal of Ecology*, 93: 716-726.
- Terschuren J. 1999. Plan d'action en faveur de *Cypripedium calceolus* en Europe, Conseil de l'Europe, Sauvegarde de la Nature n°100, 59 p.

Evolution des Neottieae, apport de la cytométrie en flux

Daniel PRAT^{1,2}, Spencer C. BROWN³ et Alain GEVAUDAN¹

¹ SFO, Commission scientifique, 17 Quai de la Seine, 75019 Paris, France

² UMR 5023, Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés, Université Lyon 1, 6 rue Raphaël Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex, France
daniel.prat@univ-lyon1.fr

³ UPR 2355, Institut des Sciences du Végétal, IBiSA imagerie Gif, CNRS et Imagif, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France

Abstract – Evolution of Neottieae: insights from flow cytometry. The Neottieae have long been recognized as a group of orchids well separated one from another. Their taxonomy has been successively remodelled with the recent integration of genus *Listera* into genus *Neottia* and the exclusion of genus *Thaia*. After this, Neottieae consists of 6 genera of which 4 are growing on French territory, each one represented by several taxa. Among many questions concerning their biology, the evolution of these taxa is still awaiting clarification. Despite the large development of genome analyses, even the genome size of these species remains poorly documented. Almost all Neottieae species growing in France have been investigated here. At least one population represented by five separate individuals was collected for each taxon. The most largely distributed species of the genus *Epipactis* were represented by several populations. The genome sizes were determined by flow cytometry. Investigated genera showed different ranges of values: the mean DNA content of diploid genome (in pg DNA per 2C nucleus) was 11.4 in genus *Limodorum*, 26.8 in genus *Epipactis*, 35.4 in genus *Cephalanthera* and 35.3 in genus *Neottia*. The genus *Epipactis* represented by 20 taxa showed DNA content ranging from 24.8 pg of DNA per nucleus in *E. helleborine* var. *minor* to 30.4 pg of DNA per nucleus in *E. kleinii*. Based on available phylogenies for Neottieae and genus *Epipactis*, closely related taxa do not share close DNA content. Nor is DNA content related to chromosome numbers of these species. Two plants of the genus *Epipactis* were triploids. No other ploidy variation was detected.

Résumé – Les Neottieae ont été reconnues depuis longtemps comme un groupe d'orchidées bien individualisées. Leur taxonomie a été régulièrement remaniée avec l'intégration récente du genre *Listera* dans le genre *Neottia* et l'élimination du genre *Thaia*. Parmi les 6 genres reconnus actuellement de cette tribu, 4 sont présents sur le territoire français, représenté chacun par plusieurs taxons. Beaucoup de questions concernant la biologie, l'évolution de ces taxons attendent encore des réponses. En cette période où les analyses de génomes se développent, la taille même du génome de ces espèces reste mal documentée, d'où les travaux présentés ici. Les différentes espèces de Neottieae présentes en France, ont été étudiées. Au moins une population représentée par 5 individus distincts a été collectée pour chaque taxon. Les taxons les plus abondants du genre *Epipactis* ont été représentés par plusieurs populations. Les tailles de génome ont été déterminées par cytométrie en flux. Les genres étudiés présentent différentes gammes de valeurs : les tailles de génome diploïde, en pg d'ADN par noyau 2C sont en moyenne de 11,4 pour le genre *Limodorum*, 26,8 pour le genre *Epipactis*, 35,4 pour le genre *Cephalanthera* et 35,3 pour le genre *Neottia*. Le genre *Epipactis* représenté par 20 taxons montre des variations de 24,8 pg d'ADN par noyau chez *E. helleborine* var. *minor* à 30,4 pg d'ADN par noyau chez *E. kleinii*. Sur la base des phylogénies disponibles pour les Neottieae et le genre *Epipactis*, les proximités entre taxons ne rendent pas compte de l'ensemble des variations de taille de génome observées. Deux individus du genre *Epipactis* dans deux espèces différentes étaient triploïdes.

Mots-clés : *Cephalanthera*, *Epipactis*, *Limodorum*, *Neottia*, Neottieae, taille de génome

INTRODUCTION

Au sein des Orchidacées, les Neottieae constituent un groupe identifié depuis

[Retour sommaire](#)

[Vers index](#)

longtemps. Dès les premières classifications des Orchidacées, ce groupe est reconnu et Lindley (1830-1840) en fait l'une des 7 tribus de la famille, caractérisée par une anthère dorsale renfermant des masses polliniques sécables, poudreuses ou granuleuses. Cette tribu est maintenue dans de nombreuses classifications, y compris les plus récentes comme celle de Genera Orchidacearum (Pridgeon *et al.*, 2005) mais sa composition a été régulièrement remaniée (voir Burns-Balogh *et al.*, 1987). Ces Orchidacées classées dans la sous-famille des Epidendroideae (Pridgeon *et al.*, 2005) possèdent des caractères ancestraux qui les maintiennent à part : pollen souvent pulvérulent, absence de velamen, absence de pseudobulbe (Dressler, 1993). Leur labelle souvent articulé, des champignons symbiotiques particuliers (Sélosse *et al.*, 2004)... accentuent cette originalité. Depuis l'étude de Burns-Balogh *et al.* (1987), le genre *Rhizanthella* en a été exclu, les genres *Listera* et *Neottia* ont été regroupés sur la base d'approches phylogénétiques et le genre *Thaia* y a été inclut (Bateman *et al.*, 2005 ; Roy *et al.*, 2009) puis exclu par Xiang *et al.* (2012). La tribu comporte ainsi 6 genres dont quatre, *Cephalanthera*, *Epipactis*, *Limodorum* et *Neottia* présents en France et représentés par plusieurs taxons. Les deux autres genres, *Aphylorchis* et *Palmorchis* sont originaires, le premier d'Asie du sud-est et le deuxième d'Amérique du sud. Les relations évolutives de ces genres ont déjà été largement discutées (Burns-Balogh *et al.*, 1987 ; Bateman *et al.*, 2005 ; Xiang *et al.*, 2012 ; Barone Lumaga *et al.*, 2014) sur la base de la structure de la fleur, de la structure du pollen ou de données phylogénétiques. Parmi les quatre genres étudiés ici, *Cephalanthera* est considéré généralement comme le plus basal et *Neottia* comme le plus dérivé.

L'évolution des taxons peut être analysée au niveau chromosomique. La littérature signale une variabilité des nombres chromosomiques, même sur une même station (Bernardos *et al.*, 2003). La formation de gamètes aneuploïdes a été observée (Giuseppina *et al.*, 2010), ce qui peut conduire à de telles observations. Le caryotype des Neottieae révèle deux classes de taille de chromosomes, quelques grands et une majorité de petits (D'Emérico *et al.*, 1999). Les nombres chromosomiques sont plus élevés ($2n=56$) pour *Limodorum* et plus faibles

($2n=32$ à $2n=44$) pour les autres genres (D'Emérico *et al.*, 1999). Ces caryotypes varient aussi entre espèces d'un même genre. Dans le cas du genre *Cephalanthera* les variations du nombre de copies des séquences ribosomiques et de leur localisation entre espèces laissent penser à des remaniements importants avec des fusions et fissions de chromosomes (Moscone *et al.*, 2007). Des espèces du genre *Epipactis* peuvent être regroupées en fonction d'une similitude de leur caryotype et pas seulement en fonction des nombres de chromosomes observés, $2n=38$ et $2n=40$ (D'Emérico *et al.*, 1999). Ces changements de structure chromosomique des Neottieae devraient se traduire par des variations de la quantité d'ADN par noyau, donc de la taille du génome avec éventuellement des variations intraspécifiques. Or peu de données sont disponibles sur cette taille de génome chez les Neottieae. La base de données des tailles de génome (<http://data.kew.org/cvalues/>) ne fait apparaître que deux valeurs non publiées concernant le genre *Cephalanthera*. Cette taille de génome est corrélée à des paramètres biologiques comme les tailles de cellules et la vitesse de division cellulaire (Cavalier-Smith, 1978). Par ces propriétés, elle est reliée aux traits d'histoire de vie des espèces en influençant les dimensions des plantes et leur temps de génération (Knight *et al.*, 2005). Ces données de cytométrie peuvent apporter des informations sur l'écologie des espèces (Leitch et Bennett, 2007 ; Vesely *et al.*, 2012). Chez les Orchidacées, Leitch *et al.* (2009) ont montré l'intérêt de confronter des données de cytométrie aux données phylogénétiques. De plus, ces données seront utiles pour les analyses plus poussées du génome qui arriveront dans les prochaines années.

Dans cet objectif, nous avons mené une analyse sur le contenu en ADN du génome nucléaire afin de donner une estimation de sa taille et d'en préciser les variations. Cette étude s'est focalisée sur les quatre genres de Neottieae présents en France avec la plupart des taxons qu'ils comportent.

MATERIELS ET METHODES

Les espèces des genres *Cephalanthera*, *Epipactis*, *Limodorum* et *Neottia* ont été prospectées afin de disposer de la quasi totalité des taxons répertoriés et cartographiés en

France (Bournérias et Prat, 2005 ; Dusak et Prat, 2010). Les collectes ont été menées principalement dans la région Rhône-Alpes qui présente une large majorité de ces taxons. Les taxons plus largement répandus ont été collectés dans plusieurs stations. Les prélèvements ont été réalisés si possible sur 5 plantes par site (Tableau 1). La portion de feuille collectée sur chaque plant a été maintenue entre papiers filtre faiblement humecté pour éviter le dessèchement de l'échantillon et conservée autant que possible à 4 °C jusqu'à l'analyse. Dans le cas du genre *Limodorum*, ce sont des capsules immatures qui ont été collectées. Des capsules ont également été collectées pour quelques plantes en plus des feuilles.

Tableau 1. – Origine des échantillons prélevés pour la cytométrie en flux (N : nombre de plantes collectées).

Taxon	Commune	N
<i>Cephalanthera damasonium</i>	Sévrier (74)	6
<i>Cephalanthera longifolia</i>	Sévrier (74)	6
<i>Cephalanthera rubra</i>	Sablons (38)	5
<i>Epipactis atrorubens</i>	Allevard (38)	5
<i>Epipactis atrorubens</i>	Chamrousse (38)	5
<i>Epipactis atrorubens</i>	Le Monestier du Percy (38)	5
<i>Epipactis atrorubens</i>	Passy (74)	5
<i>Epipactis atrorubens</i>	Saint Etienne de Crossey (38)	6
<i>Epipactis atrorubens</i>	Saint François de Sales (73)	5
<i>Epipactis atrorubens</i>	Saint Gervais les Bains (74)	4
<i>Epipactis atrorubens</i>	Saint Nizier du Moucherotte (38)	5
<i>Epipactis atrorubens</i>	Saint Pierre de Chartreuse (38)	6
<i>Epipactis atrorubens</i>	Trept (38)	4
<i>Epipactis atrorubens</i>	Vertrieu (38)	11
<i>Epipactis atrorubens</i>	Viuz (74)	5
<i>Epipactis distans</i>	Dieulefit (26)	5
<i>Epipactis distans</i>	Lalley (38)	5
<i>Epipactis exilis</i>	Malors et L'Izi (30)	4

Taxon	Commune	N
<i>Epipactis fageticola</i>	Saint Romain en Gal (69)	4
<i>Epipactis fibri</i>	Ile de Chèvre (38)	7
<i>Epipactis helleborine</i>	Allevard (38)	6
<i>Epipactis helleborine</i>	Ordonnaz (01)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Chamrousse (38)	6
<i>Epipactis helleborine</i>	Chapareillan (38)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	La Chapelle Saint Maurice (74)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Lalley (38)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Saint François de Sales (73)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Saint Nizier du Moucherotte (38)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Saint-Pierre d'Allevard (38)	3
<i>Epipactis helleborine</i>	Saint-Pierre de Chartreuse (38)	6
<i>Epipactis helleborine</i>	Vertrieu (38)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Thônes (74)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Vif (38)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Malarce sur la Thines (07)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	Still (67)	5
<i>Epipactis helleborine</i>	var. <i>castanearum</i>	
<i>Epipactis helleborine</i>	var. <i>minor</i>	
<i>Epipactis kleinii</i>	Le Collet (64)	5
<i>Epipactis kleinii</i>	Montbolo (64)	5
<i>Epipactis kleinii</i>	Opoul (64)	7
<i>Epipactis kleinii</i>	Montner (64)	7
<i>Epipactis leptochila</i>	Parmilieu (38)	2
<i>Epipactis leptochila</i>	Saint Nizier du Moucherotte (38)	5
<i>Epipactis leptochila</i>	Siccieu-Saint-Julien-et-Carisieu (38)	2
<i>Epipactis leptochila</i>	Orgnac l'Aven (07)	5
<i>Epipactis microphylla</i>	Saint Nizier du Moucherotte (38)	5
<i>Epipactis muelleri</i>	Lalley (38)	5
<i>Epipactis muelleri</i>	Optevos (38)	5
<i>Epipactis muelleri</i>	Saint-Pierre d'Allevard (38)	3

Taxon	Commune	N
<i>Epipactis palustris</i>	Bernex (74)	5
<i>Epipactis palustris</i>	Chirens (38)	6
<i>Epipactis palustris</i>	Cras (38)	6
<i>Epipactis palustris</i>	La Salette	6
	Fallavaux (38)	
<i>Epipactis palustris</i>	Monestier du	5
	Percy (38)	
<i>Epipactis palustris</i>	Roybon (38)	5
<i>Epipactis palustris</i>	Saint-Paul en	6
	Chablais (74)	
<i>Epipactis palustris</i>	Saint-Pierre	5
	d'Allevard (38)	
<i>Epipactis palustris</i>	Saint-Pierre de	5
	Chartreuse (38)	
<i>Epipactis palustris</i>	Thônes (74)	5
<i>Epipactis palustris</i>	Vertrieu (38)	5
<i>Epipactis palustris</i>	Vertrieu (38)	5
<i>Epipactis palustris</i>	Villette	6
	d'Anthon (38)	
<i>Epipactis phyllanthos</i>	Irlande	5
<i>Epipactis placentina</i>	Saint-Pierre	8
	d'Allevard (38)	
<i>Epipactis</i>	Orgnac l'Aven	4
<i>provincialis</i>	(07)	
<i>Epipactis purpurata</i>	Hauteville-	5
	Lompnes (01)	
<i>Epipactis</i>	Saint-Maurice	5
<i>rhodanensis</i>	l'Exil (38)	
<i>Epipactis</i>	Vertrieu (38)	5
<i>rhodanensis</i>		
<i>Epipactis</i>	Crépieux (69)	5
<i>rhodanensis</i>		
<i>Epipactis tremolsii</i>	Roche fort en	5
	Valdaine (26)	
<i>Limodorum</i>	Optevoz (38)	4
<i>abortivum</i>		
<i>Neottia cordata</i>	Allevard (74)	6
<i>Neottia nidus-avis</i>	Saint Nizier du	5
	Moucherotte	
	(38)	
<i>Neottia ovata</i>	Albigny sur	6
	Saone (69)	
<i>Neottia ovata</i>	Sévrier (74)	7

Les feuilles prélevées ont été découpées en fines bandelettes avec une lame de rasoir en même temps que des fragments de feuille d'un échantillon de référence (armoïse et blé, de valeurs connues : respectivement 11,43 pg et 30,90 pg) dans un tampon d'isolement de noyaux complété par du métabisulfite de

sodium 10 mM et du polyvinylpyrrolidone 10000 à 1 %. La suspension est ensuite filtrée à travers un tissu en nylon à mailles de 50 µm. Les noyaux ont été colorés après traitement par de la RNase (2,5 U/mL) avec l'iodure de propidium (100 µg/mL) qui est un fluorochrome intercalant spécifique de l'ADN (Catrice *et al.*, 2006). La mesure de coloration a été effectuée après au moins 20 minutes d'incubation à l'aide d'un cytomètre en flux (CyFlow 532nm, Partec) qui mesure l'intensité de coloration des noyaux passant devant un capteur. Les quantités d'ADN par noyau, exprimées en pg, ont été obtenues à partir des mesures de plusieurs milliers de noyaux pour chaque échantillon et par comparaison avec les mesures d'intensité de coloration des noyaux de l'échantillon de référence mesurés en même temps et de valeur connue. La quantité d'ADN par noyau est reliée à la longueur du génome en paires de base d'ADN : 1 pg d'ADN de noyau diploïde correspond à une longueur de génome haploïde de 489 10⁶ paires de bases. Les valeurs des noyaux ayant dupliqué leur teneur en ADN ont servi à valider la bonne linéarité des mesures.

RESULTATS

Des valeurs ont été obtenues pour la plupart des échantillons, seulement quelques uns qui se sont dégradés lors des transports ou d'une conservation trop longue n'ont pas pu être analysés. Les analyses des capsules ou des feuilles d'une même plante n'ont pas montré de différences, ce qui a conforté l'utilisation des capsules pour le genre *Limodorum*.

Les tailles de génome (Figure 1) sont plus importantes pour les genres *Cephalanthera* (35,38 pg d'ADN) et *Neottia* (35,26 pg d'ADN) que pour le genre *Limodorum* (11,42 pg d'ADN). Le genre *Epipactis* montre des contenus en ADN (26,78 pg d'ADN) plus faibles que ceux de *Cephalanthera* et *Neottia*. A l'intérieur de ces genres, il existe des différences entre espèces. Les genres *Cephalanthera* et *Neottia* présentent des tailles de génome semblables.

L'analyse a révélé deux individus triploïdes, l'un pour *Epipactis atrorubens* (station de Saint-François de Sales), l'autre pour *E. rhodanensis* (station de Vertrieu).

Des différences faibles mais significatives de taille de génome sont notées entre stations différentes pour une même espèce.

Les tailles de génome exprimées en longueur de génome haploïde (Tableau 2) indiquent une variation de taille pour le genre *Epipactis* de 11 980 Mpb chez *E. helleborine* var. *minor* à 14 740 Mpb chez *E. kleinii*. Les

variations sont plus faibles pour le genre *Cephalanthera* avec la plus forte valeur chez *C. damasonium* et la plus faible chez *C. rubra*. Dans le genre *Neottia*, les valeurs observées pour *N. nidus-avis* sont intermédiaires entre

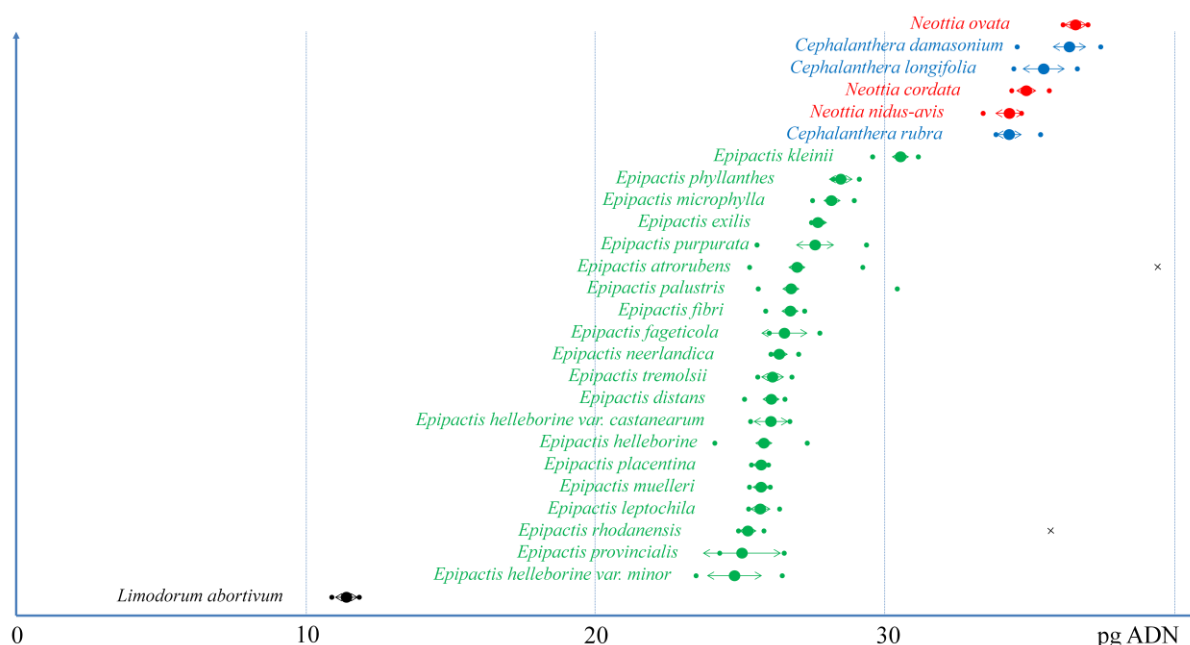


Figure 1. – Tailles de génome des différents taxons analysés classés par valeurs en pg d'ADN par noyau 2C. Les valeurs extrêmes observées sont mentionnées de part et d'autre de la valeur moyenne entourée par son intervalle de confiance calculé avec une probabilité de 95%. Les individus triploïdes observés sont signalés par le symbole x.

Tableau 2. – Taille de génome estimée par cytométrie flux de différents taxons de Neottieae, en millions de paires de bases.

Taxon	Taille de génome haploïde (Mpb) ^a
<i>Cephalanthera damasonium</i>	17 550 ± 280
<i>Cephalanthera longifolia</i>	17 120 ± 352
<i>Cephalanthera rubra</i>	16 540 ± 212
<i>Epipactis atrorubens</i>	13 000 ± 111
<i>Epipactis distans</i>	12 580 ± 101
<i>Epipactis exilis</i>	13 360 ± 19
<i>Epipactis fageticola</i>	12 800 ± 386
<i>Epipactis fibri</i>	12 900 ± 116
<i>Epipactis helleborine</i>	12 450 ± 87
<i>Epipactis helleborine</i> var. <i>castanearum</i>	12 570 ± 285
<i>Epipactis helleborine</i> var. <i>minor</i>	11 980 ± 468

<i>Epipactis kleinii</i>	14 740 ± 82
<i>Epipactis leptochila</i>	12 400 ± 145
<i>Epipactis microphylla</i>	13 580 ± 121
<i>Epipactis muelleri</i>	12 420 ± 68
<i>Epipactis neerlandica</i>	12 720 ± 135
<i>Epipactis palustris</i>	12 920 ± 101
<i>Epipactis phyllanthos</i>	13 750 ± 198
<i>Epipactis placentina</i>	12 420 ± 63
<i>Epipactis provincialis</i>	12 100 ± 671
<i>Epipactis purpurata</i>	13 310 ± 318
<i>Epipactis rhodanensis</i>	12 510 ± 63
<i>Epipactis tremolsii</i>	12 600 ± 188
<i>Limodorum abortivum</i>	5 510 ± 198
<i>Neottia cordata</i>	16 830 ± 169
<i>Neottia nidus-avis</i>	16 550 ± 236
<i>Neottia ovata</i>	17 650 ± 43

a : valeur ± intervalle de confiance calculé avec une probabilité de 95 %

celles des deux autres taxons. Le génome de *Limodorum abortivum* (5 510 Mpb) a une longueur inférieure à la moitié de celui des autres espèces analysées.

Le positionnement des valeurs de taille de génome sur la phylogénie la plus complète disponible des Neottieae ne fait pas apparaître de clade avec des valeurs particulières au sein d'un genre (Figure 2).

DISCUSSION

Taille de génome des Neottieae

Les Neottieae sont incluses dans la sous-famille des *Epipendroideae* qui est celle avec la plus forte variation de taille de génome chez les Orchidaceae (Leitch *et al.*, 2009). Les plus fortes valeurs de cette sous famille sont observées pour les plantes terrestres comme les Neottieae. Les autres sous-familles montrent de grandes tailles de génome, atteignant 55 pg d'ADN par noyau haploïde. Seule, la sous-famille des *Orchioideae* a une taille de génome inférieure à 18 pg d'ADN (Leitch *et al.*, 2009).

Les valeurs disponibles de taille de génome pour les Neottieae sont sensiblement différentes, surtout pour le genre *Limodorum* (Tableau 3). Dans le genre *Cephalanthera*, c'est *C. rubra* qui présente la plus faible valeur pour toutes les études et *C. damasonium* qui a le plus souvent la valeur la plus élevée. Les tailles de génome de la présente étude sont significativement supérieures à celles publiées. Le genre *Epipactis* a fait l'objet de moins d'analyses et seulement une valeur moyenne du genre est disponible, celle-ci est supérieure

à la valeur maximale observée dans le présent travail chez *E. kleinii*.

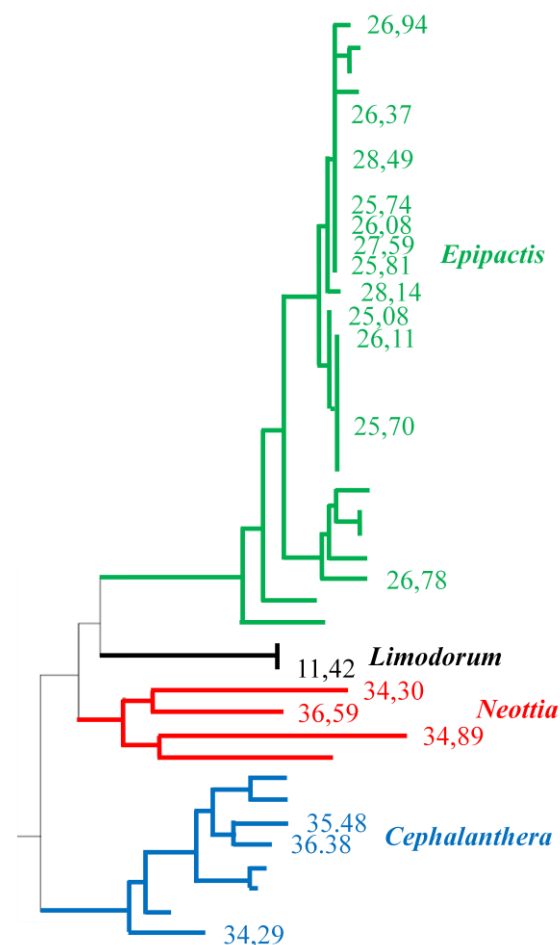


Figure 2. – Relations phylogénétiques entre taxons des Neottieae (d'après Bateman *et al.*, 2005) et valeurs des tailles de génomes (en pg d'ADN par noyau 2C).

Tableau 3. – Comparaison de différentes valeurs de taille de génome publiées (pg d'ADN par noyau haploïde).

Taxon	Présente étude	Base de données Kew	Leitch <i>et al.</i> , 2009	Vesely <i>et al.</i> , 2012
Genre <i>Cephalanthera</i>	17,70		16,6	
<i>C. damasonium</i>	18,19	16,4		17,33
<i>C. longifolia</i>	17,74	16,7		16,35
<i>C. rubra</i>	17,15	15,8		16,07
Genre <i>Epipactis</i>	13,38		19,82	
<i>Limodorum abortivum</i>	5,71			19,76
Genre <i>Neottia</i>	17,63		19,53	
<i>N. nidus-avis</i>	17,15			17,60

Les valeurs moyennes du genre *Neottia* données par (Leitch *et al.*, 2009) sont supérieures à celles observées dans cette étude. Les différences les plus importantes sont pour le genre *Limodorum* représenté par un seul taxon, *L. abortivum* pour lequel la valeur publiée par Vesely *et al.* (2012) est environ quatre fois plus élevée.

Taille de génome et nombres chromosomiques

Chez les Orchidacées, Leitch *et al.* (2009) mettent en évidence une relation positive entre nombre de chromosomes et taille de génome. Ici, cette relation est infirmée pour le genre *Cephalanthera* puisque c'est l'espèce *C. rubra* à $2n=44$ qui a la plus petite taille de génome. *C. damasonium* ($2n=36$) a toutefois un génome plus grand que *C. longifolia* ($2n=32$).

Les nombres chromosomiques varient probablement moins dans le genre *Epipactis* que ce qui est signalé dans la littérature. Les principaux nombres sont de $2n=38$ et $2n=40$, les différences ne sont pas significatives ici.

Considérant les tailles de génome obtenues dans cette étude pour le genre *Limodorum* ($2n=56$), la tendance à l'échelle de la tribu est là encore une relation négative entre taille de génome et nombre de chromosomes puisque les plus grandes tailles de génome des genres *Cephalanthera* et *Neottia* correspondent aux plus petits nombres chromosomiques, *C. rubra* excepté.

Les caryotypes à chromosomes plus nombreux et taille de génome réduite soutiennent des évolutions basées sur des fissions de chromosomes comme le supposent Moscone *et al.* (2007). L'évolution chromosomiques des Neottieae implique probablement différents processus qui en compliquent l'analyse. La présence potentielle de chromosomes B surnuméraires et de gamètes aneuploïdes conduisent à des plantes atypiques. Deux plantes seulement ont été identifiées comme triploïdes et aucun tétraploïde n'a été reconnu dans cette étude mais leur présence ne peut pas être exclue.

Taille de génome et phylogénie

Les données disponibles ne concernent que quatre genres de la tribu. Aucune information n'existe pour les genres *Aphyllorchis* et *Palmorchis* qui est positionné à la base des Neottieae.

Les différentes espèces du genre *Neottia* ont des génomes de taille similaire, ce qui est compatible avec le regroupement des genres *Listera* et *Neottia* basé sur des données moléculaires proposé par Bateman *et al.* (2005) qui a conduit à l'intégration du genre *Listera* dans le genre *Neottia*.

Les phylogénies des Neottieae publiées (Bateman *et al.*, 2005 ; Roy *et al.*, 2009 ; Xiang *et al.*, 2012) présentent une différence sur la position des genres dérivés : *Epipactis* et *Limodorum*, groupe frère du genre *Neottia* pour Bateman *et al.* (2005) et *Limodorum* et *Neottia* groupe frère du genre *Epipactis* pour Xiang *et al.* (2012). La plus forte similitude des génomes (nombres chromosomiques, tailles de génome) entre *Cephalanthera* et *Neottia* d'une part et les tailles de génome réduites pour *Epipactis* et surtout *Limodorum* d'autre part sont plus en faveur de la phylogénie publiée par Bateman *et al.* (2005)

Evolution des Neottieae

Une difficulté pour retracer l'évolution de cette tribu est le changement assez régulier des taxons qui la constituent. Les caractères floraux ont été utilisés par Burns-Balogh *et al.* (1987) pour reconstruire les événements successifs caractérisant les différents genres. La différenciation des genres établie sur ces caractères correspond à la phylogénie publiée par Bateman *et al.* (2005) mais le genre *Palmorchis* en était exclu et un autre genre difficile à classer morphologiquement était inclus par erreur dans cette tribu. C'est aussi le schéma évolutif le plus vraisemblable sur la base des tailles de génomes.

Les modes de reproduction, acquisition à plusieurs reprises de l'autogamie, influencent l'évolution des différents genres de Neottieae avec l'individualisation de nouveaux taxons.

CONCLUSION

La cytométrie en flux appliquée à diverses espèces des Neottieae a conduit à préciser leurs tailles de génome et à conforter un schéma évolutif de la tribu. Cette tribu est caractérisée par une grande taille de génome. Il apparaît des différences notables avec les valeurs déjà publiées, notamment pour le genre *Limodorum*. De nouveaux échantillons devront être étudiés pour expliquer cette situation. Les relations éventuelles avec des caractéristiques écologiques des espèces n'ont pas été abordées

ici. Un échantillonnage plus large de quelques taxons a été mené dans cet objectif et les résultats sont donnés par ailleurs.

Remerciements

Nous remercions très sincèrement la *Société botanique de France* et la *Société française d'Orchidophilie* qui grâce à leur soutien commun apporté aux recherches sur les Orchidacées nous ont permis de conduire ce travail. Nous sommes également très reconnaissants auprès du *Conseil Général de l'Isère* qui a aussi soutenu entre autres les travaux de cytométrie menés sur les échantillons prélevés dans le département de l'Isère. Nous remercions aussi Mickaël Bourge qui par sa contribution au bon fonctionnement de la plateforme Imagif du CNRS à Gif-sur-Yvette a permis cette étude.

Ce travail n'aurait pas pu être réalisé sans l'aide des orchidophiles de la SFO qui ont guidé les prospections ou même collecté des échantillons, ainsi nous sommes redevables entre autres à Jacques Bry, Sophie Daulmerie, Philippe Durbin, Olivier Gerbaud, Jean-Marc Lewin et Michel Seret pour leur aide précieuse.

Références

- Barone Lumaga M.R., Cozzolino S., Kocyan A., Menale B., Rudall P.J. 2014. Exine micromorphology and ultrastructure in Neottieae (Epidendroideae, Orchidaceae). *Plant Syst. Evol.*, 300: 505-515.
- Bateman R., Hollingsworth P.M., Squirrell J., Hollingsworth M.L. 2005. Tribe Neottieae. In: *Genera Orchidacearum. Vol. 4. Epidendroideae (Part one)*. Pridgeon A.M., Cribb P.J., Chase M.W. & Rasmussen F.N. (eds.), Oxford University Press, Oxford. pp. 487- 495.
- Bernardos S., Amich F., Crespi A. 2003. Karyological and Taxonomical Notes on Three Species of the Genus *Epipactis* (Neottioideae, Orchidaceae) in the Central-Western Iberian Peninsula. *Folia Geobotanica*, 38: 319-331.
- Bournérias M., Prat D. (eds.) 2005. Les orchidées de France, Belgique et Luxembourg. Biotope, Mèze. 504 p.
- Burns-Balogh P., Szlachetko D.L., Dafni A. 1987. Evolution, pollination, and systematics of the tribe Neottieae (Orchidaceae). *Plant Syst. Evol.*, 156: 91-115.
- Catrice O., Coba de la Peña T., Brown S.C. 2006. Applications en biologie végétale : contraintes, succès, espoirs. In: *La cytométrie en flux*. Ronot X., Grunwald D., Mayol J.F., Boutonnat J. (eds). Tec & Doc - Lavoisier, Paris. pp. 235-253.
- Cavalier-Smith T. 1978. Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. *J. Cell Sci.*, 34: 247-278.
- D'Emerico S., Grunangr P., Scrugli A., Pignone D. 1999. Karyomorphological parameters and C-band distribution suggest phyletic relationships within the subtribe Limodorinae (Orchidaceae). *Plant Syst. Evol.*, 217:147-161.
- Dressler R.L. 1993. Phylogeny and classification of the Orchid family. Dioscorides Press, Portland, Oregon. 330 p.
- Dusak F., Prat D. (eds.) 2010. Atlas des orchidées de France. Biotope, Mèze et MNHN, Paris. 400 p.
- Giuseppina B. Brullo C., Pulvirenti S., Scrugli A., Terrasi M.C., D'Emerico S. 2010. Advances in chromosomal studies in Neottieae (Orchidaceae): constitutive heterochromatin, chromosomal rearrangements and speciation. *Caryologia*, 63: 184-191.
- Knight C.A., Molinari N.A., Petrov D.A. 2005. The large genome constraint hypothesis: evolution, ecology and phenotype. *Ann. Bot.*, 95: 177-190.
- Leitch I.J., Bennett M.D. 2007. Genome size and its uses: the impact of flow cytometry. In: *Flow cytometry with plant cells: analysis of genes, chromosomes and genomes*. Dolezel J., Greilhuber J., Suda J. (eds.), Wiley, Weinheim. pp. 153-176.
- Leitch I.J., Kahandawala I., Suda J., Hanson L., Ingrouille M.J., Chase M.W., Fay M.F. 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.
- Moscone E.A., Samuel R., Schwarzacher T., Schweizer D. Pedrosa-Harand A. 2007. Complex rearrangements are involved in *Cephalanthera* (Orchidaceae)

- chromosome evolution. *Chrom. Res.*, 15: 931-943.
- 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.
- Roy M., Watthana S., Stier A., Richard F., Vessabutr S., Selosse M.A. 2009. Two mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical dipterocarpacean forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. *BMC Biology*, 7: 51.
- Selosse M.A., Faccio A., Scappaticci G., Bonfante P. 2004. Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla*, (Neottieae, Orchidaceae) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including truffles. *Microb. Ecol.*, 47: 416-426.
- Vesely P., Bures P., Smarda P., Pavlíček T. 2012. Genome size and DNA base composition of geophytes: the mirror of phenology and ecology? *Ann. Bot.*, 109: 65-75.
- Xiang X.G., Li D.Z., Jin W.T., Zhou H.L., Li J.W., Jin X.H. 2012. Phylogenetic placement of the enigmatic orchid genera *Thaia* and *Tangtsinia*: evidence from molecular and morphological characters. *Taxon*, 61: 45-54.

La pollinisation des orchidées européennes : une affaire de ruse et de tromperie

Jean CLAESSENS¹, Jacques KLEYNEN²

¹ Moorveldsberg 33, 6243 AW Geulle, Pays-Bas

² Kuiperstraat 7, 6243 NH Geulle aan de Maas, Pays-Bas

Abstract – Pollination of European orchids: a matter of cunning and deceit. The floral structure of the orchid flower determines the behavior and effectiveness of the pollinator. The conference speakers want to show some examples of adaptations of flowers to pollinators. We also discuss the different pollination mechanisms: outcrossing, selfing and geitonogamy and the influence of pollinators on gynostemium morphology.

Résumé – La structure florale de la fleur d'orchidée détermine le comportement et l'efficacité du pollinisateur. Dans la conférence les conférenciers veulent montrer quelques exemples d'adaptations des fleurs aux pollinisateurs. On discutera également les différents mécanismes de pollinisation : allogamie, géitonogamie et autogamie et l'influence des pollinisateurs sur la morphologie du gynostème.

Mots-clés : Fleur, Orchidées, Pollinisateurs

INTRODUCTION

Beaucoup de botanistes amateurs cherchent et photographient avec grand enthousiasme des orchidées européennes. Il en résulte une grande quantité de belles photos et de nombreuses données de répartition. Les observations des pollinisateurs d'orchidées sont plus rares. La relation plante-insecte est une relation inégale. Les insectes peuvent choisir librement quelles plantes ils visitent, mais les orchidées doivent attendre et, de plus, se montrer séduisantes pour l'insecte. Pour ces plantes l'attraction des insectes est vitale car la plupart dépendent d'eux pour le transport des pollinies. Donc les insectes assurent leur multiplication. Et pour réaliser cela les orchidées jouissent d'une boîte à malice.

LA POLLINISATION

La pollinisation est le transport des pollinies depuis l'anthère où elles sont enveloppées jusqu'au stigmate (organe femelle) d'une fleur. Pour transporter les pollinies les plantes florifères, dont les orchidées, ont besoin de transporteurs. Si la pollinisation est efficace, la fécondation a lieu et conduit à la production des graines. Pour la

plupart des orchidées, c'est un insecte qui véhicule le pollen d'une fleur à l'autre.

Il existe trois types de pollinisation :

1. La pollinisation croisée ou allogamie : le résultat est celui d'une fécondation croisée entre deux plantes de la même espèce.

2. La géitonogamie : le pollen d'une fleur est transporté sur le stigmate d'une fleur de la même inflorescence. La géitonogamie a les mêmes conséquences génétiques que l'autogamie.

3. L'autopollinisation : le pollen passe directement de l'anthère au stigmate de la même fleur. L'autogamie peut induire une perte de vigueur due à la consanguinité. Les populations autogames peuvent être très homogènes, par exemple : *Cephalanthera damasonium*, *Epipactis muelleri*. Chez les espèces autogames les fleurs ne s'ouvrent presque pas et la pollinisation s'effectue avant l'ouverture de la fleur et ne nécessite pas l'intervention des insectes, par exemple : *Epipactis phyllanthes*, *Epipactis confusa*.

Dans le cas d'espèces différentes on parle d'hybridation. L'hybride est dit intragénérique si les deux plantes appartiennent au même genre, par exemple : le genre *Epipactis*, le

genre *Ophrys*, le genre *Dactylorhiza*. L'hybride est dit intergénérique si les plantes appartiennent à deux genres différents. L'hybridation est généralement réalisée par un insecte pollinisateur qui n'est pas strictement spécifique puisqu'il visite des fleurs de deux espèces différentes.

RELATION INSECTES – ORCHIDEES

Une plante est dite entomogame quand la pollinisation est assurée par un insecte, ce qui est le cas général chez les orchidées européennes. C'est une relation de dépendance car elles ont besoin des insectes pour transporter le pollen.

On distingue trois types d'intervention des insectes :

1. Les pollinisateurs confirmés qui réalisent une séquence complète de pollinisation : le prélèvement des pollinies, leur transport et leur dépôt dans la cavité stigmatique d'une fleur de la même espèce.
2. Les pollinisateurs potentiels qui ne réalisent pas une séquence complète de pollinisation. Le prélèvement des pollinies peut être accidentel.
3. Les visiteurs observés sur les fleurs d'orchidées qui ne transportent pas le pollen. Ils utilisent les fleurs ou l'inflorescence comme un perchoir, un abri pendant la nuit ou lors de mauvaises conditions météorologiques (visiteurs des *Dactylorhiza* ou des *Orchis*). Mais ils peuvent polliniser occasionnellement.

TYPE DE POLLINISATEURS

1 : Pollinisateurs exclusifs : quelques insectes ne pollinisent qu'une seule espèce d'orchidée comme par exemple : *Argogorytes mystaceus* pour *Ophrys insectifera* et *Dasyscolia ciliata* pour *Ophrys ciliata*.

2 : Les pollinisateurs non exclusifs pollinisent plusieurs espèces d'orchidées comme par exemple : *Andrena nigroaena* qui pollinise entre autres : *Ophrys arachnitiformis*, *O. sphegodes*, *O. lupercalis*, *O. lutea*.

LES MODES D'ATTRACTION DES INSECTES PAR LES ORCHIDEES

Pour assurer le transport du pollen les insectes doivent être attirés par les orchidées.

Pour ce faire les orchidées utilisent des « outils » différents.

Orchidées nectarifères

Les orchidées de ce groupe offrent du nectar dans l'éperon, à la base ainsi que sur la partie centrale du labelle ou dans l'hypochile de la fleur, par exemple: *Anacamptis pyramidalis*, *Gymnadenia conopsea* et *G. odoratissima*, *Platanthera bifolia* et *P. chlorantha*, *Neottia ovata*, *Chamorchis alpina*, *Epipactis helleborine* et *E. purpurata*.

Orchidées leurres

La plus grande partie des orchidées européennes appartiennent à ce groupe. Elles trompent en imitant une source de nourriture (comme chez *Orchis*, *Himantoglossum*, *Dactylorhiza* ou *Traunsteinera*, tous des genres qui n'ont pas du nectar) ou une imitation de pollen (comme chez *Cephalanthera*).

Orchidées avec des fleurs tubulaires : elles offrent un logement pour la nuit, par exemple: toutes les espèces de *Serapias* ssp.

Orchidées mimétiques

Elles présentent un mode d'attraction très particulier. Leur labelle imite plus ou moins la forme, la pilosité et les couleurs de femelles d'insectes. Les mâles prennent ces labelles pour une partenaire. Par leur pseudocopulation ils deviennent en fait des pollinisateurs. Ajoutez à cela que les fleurs imitent aussi les phéromones sexuelles des femelles de pollinisateurs. Les orchidées du genre *Ophrys* appartiennent à ce groupe.

Le but de tous les modes d'attraction est de réaliser le contact entre l'insecte et le viscidium (le disque adhésif) pour transporter le pollen.

Les orchidées dépendent des insectes. Il existe un lien étroit entre orchidée et insecte, entre la morphologie de la fleur et celle du pollinisateur. Cela exige une précision rigoureuse. Pour la plante l'adaptation aux insectes est d'une importance vitale. La pollinisation est une affaire captivante.

La culture semi-hydroponique (S/H) des orchidées

Michel LE ROY

SFO, 17 Quai de la Seine, 75019 Paris, France

Abstract – The semi-hydroponic culture (S / H) of orchids. This method derived from the hydro-culture where plants grow roots in water. Orchids grown in semi-hydroponics do not have roots in water, but the plant roots are kept in a closed chamber which regularly receives water vapor and suitable fertilizers and oxygen. One of the weaknesses of the classic pot culture is the development of microorganisms in an organic substrate. To avoid this, the semi-hydroponics advocate the use of an inert non-decomposable material: clay pebbles or other inert material that can carry water and fertilizer absorption (horticultural rock wool for example). The S / H culture faithfully reproduces the natural environment orchids where it rains almost daily during the growth phase. Many kinds of orchids can benefit from the S / H culture. We show its application to Catasetinae, in particular the genus *Catasetum*.

Résumé – C'est une méthode dérivée de l'hydro-culture où les plantes poussent les pieds dans l'eau. Les orchidées cultivées en semi-hydroponie n'ont pas les pieds dans l'eau, mais la plante a ses racines dans une enceinte close qui reçoit régulièrement une vapeur d'un mélange eau et engrais adapté, ainsi que de l'oxygène. L'une des faiblesses de la culture classique en pots consiste en le développement de micro-organismes dans un substrat organique. Pour éviter cela, la culture semi-hydroponique préconise l'utilisation d'une matière inerte, non décomposable : billes d'argiles ou toute autre matière inerte pouvant transporter l'eau et l'engrais par capillarité (laine de roche horticoles, par exemple). La culture S/H reproduit fidèlement l'environnement naturel des orchidées où il pleut presque quotidiennement pendant la phase de croissance. De nombreux genres d'orchidées peuvent bénéficier de la culture S/H. Nous montrons son application aux Catasetinae, en particulier au genre *Catasetum*.

Ces champignons qui aident les orchidées, de la germination à la floraison

Marc-André SELOSSE

UMR 7205 ISYEB, Muséum national d'Histoire naturelle, Département Systématique et Evolution, CP 50, 45 rue Buffon, 75005 Paris, France

Abstract – These fungi that help orchids, from germination to flowering. Together with more than 90% of plants, orchids associate their roots with soil fungi to form a joint organ called a mycorrhiza. This close association with mutual benefits allows the nutrition of both partners: the fungus obtains sugars and vitamins from roots, while the orchid receives water and mineral salts collected by the fungus in soil. However, in the case of orchids, this association begins very early in development. Seeds indeed have no reserves and cannot germinate unless a fungus colonizes them, providing the sugars required for the development. The early stages of germination live underground and are unable to photosynthesis, forming the so-called protocorm. At protocorm stage, the plantlet receives sugar, water and mineral salt from the fungus! It only later becomes green, and the fungus then becomes a true mycorrhizal fungus confined within the roots. Several times in the evolution of orchids, some species became achlorophyllous at adulthood: these orchids are unable of photosynthesis, and actually fed by their mycorrhizal fungi. They extend into adulthood the seedlings' mode of nutrition! In the recent years, advances in the knowledge of fungi and physiology of mycorrhizal relationships helped understanding this underground but vital symbiosis for orchids, not only in temperate regions but also in the tropics.

Résumé – Comme plus de 90% des plantes, les orchidées s'associent, au niveau de leurs racines, avec des champignons du sol, pour former un organe mixte, qu'on appelle la mycorhize. Cette association étroite et à bénéfices réciproques permet la nutrition des deux partenaires : le champignon obtient des sucres et des vitamines de la racine tandis que l'orchidée reçoit de l'eau et des sels minéraux, que le champignon collecte dans le sol. Toutefois, dans le cas des orchidées, cette association commence très tôt dans le développement. Les graines sont en effet dépourvues de réserves et ne peuvent germer que si un champignon les colonise, apportant les sucres nécessaires au développement. Les premières étapes de la germination forment un protocorme souterrain incapable de photosynthèse. La plantule est donc à la fois receveuse de sucre, d'eau et de sel minéraux ! Ce n'est que par la suite que, devenant verte, la plante va établir avec ses champignons les échanges mycorhiziens habituels. À plusieurs reprises dans l'évolution des orchidées, certaines espèces sont devenues non chlorophylliennes à l'âge adulte : ces orchidées, incapables de photosynthèse, sont en fait nourries par leurs champignons, et prolongent à l'âge adulte le mode de nutrition des plantules en germination ! Ces dernières années, des progrès dans la connaissance des champignons et de la physiologie des relations mycorhiziennes ont permis de découvrir la diversité de cette symbiose souterraine mais vitale pour les orchidées, non seulement dans les régions tempérées mais aussi sous les tropiques.

***Phalaenopsis* : des orchidées méconnues ?**

David LAFARGE

SFO, 17 Quai de la Seine, 75019 Paris, France

Abstract – *Phalaenopsis* : unsung orchids ? Orchids of the genus *Phalaenopsis* are now one of the most potted plants sold worldwide. This is due to their variety and their aesthetic qualities but also for their ease of cultivation and easy reflowering under normal conditions in an apartment. Therefore, there is no reason not to adopt any of these plants!

Résumé – Les orchidées du genre *Phalaenopsis* sont aujourd'hui l'une des plantes en pot les plus vendues à travers le monde. Ceci s'explique par leur grande variété et leurs qualités esthétiques, mais aussi pour leur facilité de culture et leur refloweraison facile dans les conditions normales d'un appartement. Par conséquent, il n'y a aucune raison de ne pas adopter l'une de ces plantes !

Mots-clés : *Phalaenopsis*, Culture, Floraison

INTRODUCTION

Les orchidées sont l'une des familles les plus importantes parmi les plantes à fleurs, avec 25 000 à 30 000 espèces réparties dans environ 700 genres différents. Elles sont présentes sur la quasi-totalité des surfaces émergées du globe, de la Sibérie à la Terre de Feu, à l'exception de l'Antarctique.

Francis HALLÉ estime que si nous préférons les animaux aux plantes, c'est parce qu'ils nous ressemblent davantage. Les orchidées sont l'une des exceptions du monde végétal, avec des fleurs à symétrie bilatérale, caractère habituellement réservé aux animaux. Est-ce pour cela que nous les aimons tant ?

Si la plupart des espèces sont très discrètes et présentent un faible intérêt horticole (plantes souterraines, fleurs microscopiques, acclimatation impossible, taille démesurée...), certaines plantes ont, depuis le XIX^e siècle, enflammé l'imaginaire collectif et se sont entourées d'une aura de luxe et de prestige.

Pendant longtemps, les orchidées ont été réservées à une élite, qui pouvait se payer à la fois les serres et les jardiniers pour s'occuper des plantes prélevées (pour ne pas dire pillées) dans leur pays d'origine. Peu de plantes survivaient, et les prix pouvaient atteindre des sommets (l'équivalent de plusieurs dizaines de milliers d'euros pour un *Paphiopedilum sanderianum*). Progressivement, on a appris à cultiver correctement les orchidées tropicales

et les travaux de Georges MOREL et Noël BERNARD sur la reproduction ont permis de produire massivement des plantes qui sont alors devenues beaucoup plus abordables. Depuis les industries hollandaise, puis taiwanaise, assurent la fourniture de plusieurs millions de plantes en pot chaque année.

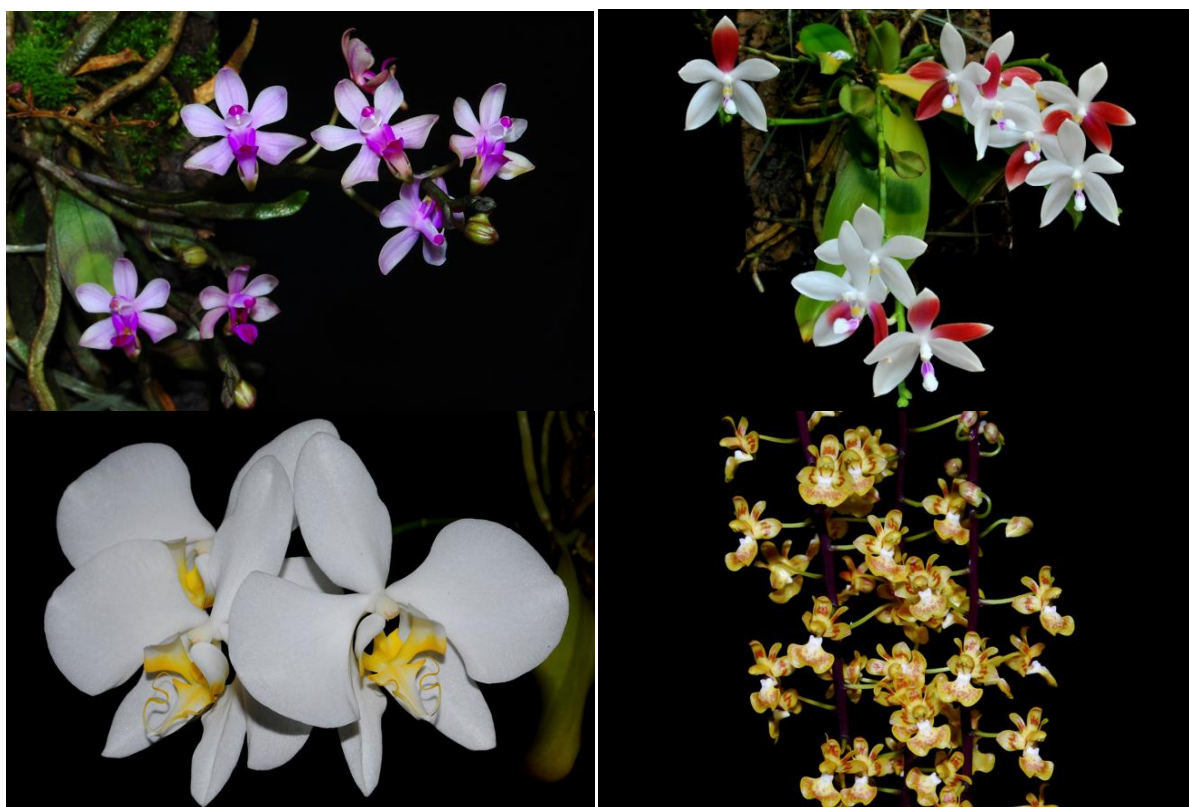
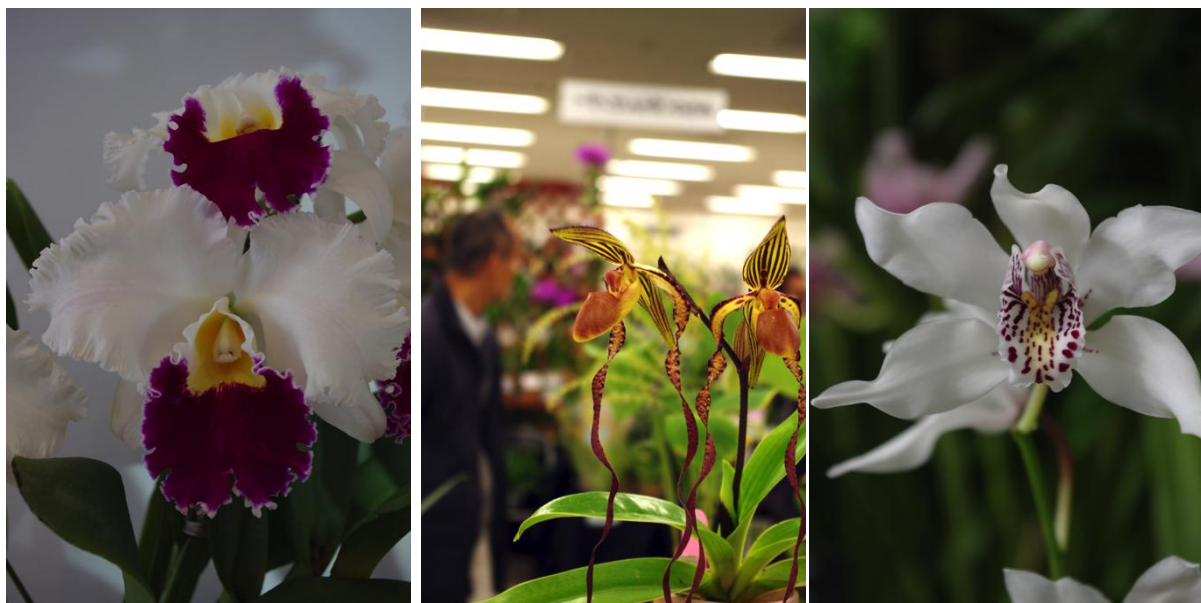
Parmi les orchidées, quelques genres sont au panthéon des plantes favorites des amateurs : *Cattleya*, *Paphiopedilum*, *Cymbidium* et, surtout, *Phalaenopsis*. C'est de ce dernier genre que nous allons parler ici.

GENERALITES

Phalaenopsis est un genre exclusivement asiatique, se développant de l'extrême sud de l'Inde au nord de l'Australie, principalement en Malaisie, Indonésie et Philippines.

Les fleurs sont très variables parmi les 65 à 70 espèces reconnues par les botanistes, mais la structure de base est très fortement conservée : trois sépales colorés, étalés en étoile et s'inscrivant plus ou moins dans un triangle équilatéral, deux pétales souvent un peu plus larges que les sépales et un labelle au cœur de la fleur.

Les plantes sont en général épiphytes, ce qui signifie qu'elles vivent accrochées à une autre plante, arbre ou arbuste, mais sans aucun parasitisme. L'arbre ne sert que de support à l'orchidée et ne lui apporte aucune nourriture. Les racines sont donc adaptées à des conditions très particulières, où l'eau n'est pas



dans le sol, mais ruisselle abondamment lors des averses tropicales. C'est un point important pour comprendre la culture de ces plantes.

APERÇU DE LA DIVERSITE DU GENRE

Les espèces qui composent le genre produisent des fleurs très variables en taille, forme, couleur, parfum... Elles durent toutes assez longtemps et sont fécondées, a priori, par

des insectes (guêpes, abeilles). Toutes les variations sont dues à une très grande adaptation des plantes à leur pollinisateur, ainsi qu'à leur environnement (plantes caduques, racines permettant d'accumuler des réserves). Quelques exemples sont montrés sur les photos suivantes pour illustrer la grande diversité du genre, bien loin de l'offre proposée dans les jardineries.

Les hybrides (plus de 30 000 enregistrés à ce jour) sont aujourd'hui principalement produits à Taïwan, de façon industrielle. C'est un marché estimé à 2 milliards de dollars en 2008 pour l'île asiatique. Les plantes arrivent prêtes à être vendues, ce qui explique parfois que la floraison soit écourtée ou que les boutons tombent, à la suite des différentes étapes du transport.

COMMENT CULTIVER LES PHALAENOPSIS ?

Le succès des phalaenopsis comme plantes d'intérieur réside dans la longue durée de leur floraison (jusqu'à 6 mois) et dans leur facilité de culture en appartement. Aucune inquiétude à avoir en suivant quelques conseils !

Substrat

Le point le plus important pour commencer : le substrat. Les phalaenopsis sont des orchidées épiphytes. Cela signifie que leurs racines ne sont pas adaptées à une vie terrestre. Dans un terreau classique, les racines sont asphyxiées, détrempées et meurent rapidement, entraînant des signes de déshydratation de la plante, ce qui encourage à arroser encore plus, accélérant le processus et la mort de l'orchidée. Il faut donc utiliser un substrat adapté à ces racines particulières. Il doit permettre de maintenir une bonne circulation d'air, drainer l'eau très rapidement tout en permettant aux racines de capter la quantité nécessaire de liquide et de sels minéraux pour assurer le

développement et la floraison des plantes. En général, on utilise des substrats à base d'écorces de pin, soit exclusivement, soit en mélange avec d'autres éléments comme l'argile expansée (qui stabilise le compost), la mousse de polyuréthane (pour retenir un peu plus d'humidité), le charbon de bois (pour purifier le milieu) ou le polystyrène (élément inerte qui aère le milieu sans se décomposer). Chaque cultivateur a plus ou moins son mélange favori. Les écorces se dégradant progressivement, sous l'effet des arrosages et des bactéries, il faut repotter régulièrement, tous les 2 ans (selon les conditions de culture).

D'autres substrats existent : billes d'argile expansée seules en culture semi-hydroponique, cubes de laine de roche, produits issus de la noix de coco... Chacun présente des avantages et des spécificités qu'il faut prendre en compte en fonction de ses propres habitudes et possibilités de culture.

Dans tous les cas, la chose importante à retenir, c'est qu'il faut un milieu aéré et bien drainant.

Lumière

Une lumière modérée, sans soleil direct (fenêtre exposée à l'est ou au sud, avec voilage en été) est suffisante pour assurer aux plantes une floraison généreuse et régulière. Attention, certains ouvrages expliquent que les Phalaenopsis se développent à l'ombre des forêts tropicales en conditions naturelles, mais l'ombre des tropiques n'est pas l'obscurité d'un appartement mal exposé !





CONCLUSION

Les orchidées du genre *Phalaenopsis* sont aujourd'hui l'une des plantes en pot les plus vendues à travers le monde. Ceci s'explique par leur grande variété et leurs qualités esthétiques, mais aussi pour leur facilité de culture et leur refloweraison facile dans les conditions normales d'un appartement. Par conséquent, il n'y a aucune raison de ne pas adopter l'une de ces plantes !

Références

- Bert-Lecoufle I. 2009. Orchidées : comment les cultiver et les faire fleurir facilement. Ulmer. 126 p.
- Descourvières P. 2012. Encyclopédie des orchidées tropicales. Ulmer. 312 p.
- Descourvières P., Lecoufle F., Lecoufle P. 2011. Traité Rustica des orchidées. Rustica. 400 p.
- Lafarge D. 2014. Phalaenopsis, orchidées méconnues ? Moorland, eBooks (livre numérique disponible sur toutes les plateformes habituelles), environ 500 p.
- Lecoufle F., Lecoufle P., Schmidt G., Barthélémy C., Barthélémy D. 2013. Petit Larousse des orchidées. Larousse. 384 p.
- Lecoufle M. 2004. Le traité des orchidées. Artémis. 384 p.
- Roguenant A., Raynal-Roques A., Sell Y. 2005. Un amour d'Orchidée : le mariage de la fleur et de l'insecte. Belin. 479 p.

Caractérisation, protection, usage durable et valorisation de la biodiversité de *Vanilla* dans les territoires tropicaux de l'Europe (projet VaBiome)

Pascale BESSE¹, Timeri ATUAHIVA², Mickaël BOURGE³, Spencer C. BROWN³, Denis DASILVA¹, Jean-Bernard DIJOUX¹, Michel DRON³, Isabelle FOCK-BASTIDE¹, Rodolphe GIGANT¹, Luc GIGORD⁴, Michel GRISONI¹, Katia JADE¹, Hippolyte KODJA¹, Sandra LEPERS-ANDRZEJEWSKI², Hervé MAGNIN⁵, Tachirifa M'SA⁴, Thierry PAILLER¹, Tony PALAMA¹, Chloé PELISSIER², Odile ROBIN³, Sonja SILJAK-YAKOVLEV³, Daniel SILVESTRE⁵, Roberto UFA², Guillaume VISCARDI⁴

¹ UMR 53 PVBMT Université de la Réunion – Cirad, BP 7151, 97715 St Denis, La Réunion

² Etablissement Vanille de Tahiti, Polynésie française

³ UMR 8618 UPSud11-CNRS IBP / UMR 8079 CNRS-UPSud11 ESE / UPR 2355 CNRS Institut des Sciences du Végétal et Imagif, Gif-sur-Yvette, France

⁴ CBNM / CPIE Mayotte et la Réunion, 97436 Saint-Leu, La Réunion

⁵ Parc National, Guadeloupe

Abstract – Characterisation, protection, sustainable use and valorisation of *Vanilla* biodiversity in tropical EU (VaBiome). *Vanilla* is an emblematic patrimonial and endemic resource for tropical EU regions, combining high socio-economic value with a natural image due to its traditional and sustainable mode of production and processing. Tropical EU regions offer a unique opportunity to study the genus in its global biodiversity. The challenge of vanilla sustainability relies on three capacities:

- protecting wild vanilla species through their conservation and study;
- using our knowledge of this biodiversity to diversify the quality of the vanilla product, and,
- improving cultivated vanilla (aroma, disease resistance, agronomy).

The five partners involved share *Vanilla* genetic resources, biodiversity management and development skills as well as scientific expertise in order to attain two objectives:

- scientifically-sound action for the preservation of vanilla wild genetic resources in tropical UE (both *ex situ* and *in situ*) and subsequently,
- to identify what traits wild species can offer for the improvement of cultivated species and the sustainability of vanilla production.

We are inventorying and characterising populations with respect to genetic and phenotypic properties and their mechanisms of evolution and diversification. These include a wide range of *Vanilla* material, both cultivated and natural in tropical EU. The need is to protect and evaluate endemic species and resources. We also assess important agronomical traits in these species (aroma, resistance to viruses and fusarioses), and how these traits might be combined through hybrid breeding (*V. xtahitensis* x *V. pompona*). Novel candidate-gene markers are available for improvement strategies. For each region, the stakeholders of biodiversity management and sustainable development are present as partners, key to implementation of these two aspects.

VaBiome will contribute to structuring the long-term international conservation of this diversity as well as the aromatic exploitation of this beloved product.

Résumé – La vanille est une ressource patrimoniale et endémique emblématique pour les régions tropicales de l'UE, combinant une valeur socio-économique élevée et une image naturelle en raison de son mode traditionnel de production et de transformation. Ces régions tropicales offrent une occasion unique d'étudier le genre à l'échelle mondiale de sa biodiversité. Le défi de la durabilité de la vanille repose sur trois capacités : (1) la protection des espèces sauvages de vanille ; (2) l'utilisation de notre connaissance sur cette biodiversité pour diversifier la qualité du produit et (3) l'amélioration de la vanille cultivée (arôme, résistance aux maladies, agronomie). Les cinq partenaires du projet VaBiome partagent leurs ressources génétiques et leurs compétences afin d'atteindre deux objectifs : une action scientifique solide pour préserver les ressources génétiques de la vanille ; et l'identification de

caractères dans les espèces sauvages pour améliorer les espèces cultivées et assurer la durabilité de la production de vanille. Des marqueurs de nouveaux gènes candidats sont disponibles pour leur utilisation en amélioration. VaBiome contribuera à la structuration de la conservation internationale de cette diversité ainsi qu'à l'utilisation aromatique de ce produit bien apprécié.

Références

- Besse P., Bory S., Brown S.C., Duval M.F. 2010. Evolutionary processes and diversification in the genus *Vanilla*. In: *Vanilla*. Chpt. 2, Odoux E., Grisoni M., (eds). Taylor & Francis Books CRC, Boca Raton. pp. 15-29.
- ERANET Netbiome ANR project Vabiome « *Characterization, protection, sustainable use and valorization of vanilla biodiversity in tropical EU* » #11-EBIM-005-01, #11-EBIM-005-05, #11-EBIM-005-04, #11-EBIM-005-06 et Région Réunion (#DGADD/PE/20120590, #DGADD/PE/20120589).

Stricte endoréplication partielle au cours du développement des orchidées

Spencer C. BROWN¹, Nicolas MAUNOURY¹, Mickaël BOURGE¹, Michele BIANCHI¹, Sandra LEPEERS-ANDRZEJEWSKI², Sonja SILJAK –YAKOVLEV³, Michel DRON⁴

¹ UPR 2355, Institut des Sciences du Végétal, IBiSA imagerie Gif, CNRS et Imagif, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France

² Etablissement Vanille de Tahiti, Polynésie française

³ Université Paris-Sud, UMR CNRS 8079, Laboratoire Ecologie, Systématique, Evolution, 91405 Orsay, France

⁴ UMR 8618 CNRS, IBP, Université Paris Sud11 - CNRS, 91405 Orsay, France

Abstract – Strict partial endoreplication during development in orchids. Endoreplication is widely present in the plant kingdom, a process of endonuclear chromosome duplication without intervening segregation and cytokinesis. The resulting increase in nuclear size may be followed by cell size increase, to generate huge cells as observed in fleshy fruits: tomato nuclei may be 512C (compared to the diploid 2C: Bourdon *et al.* 2012). A classic case of developmentally-regulated endoreduplication is *Arabidopsis thaliana* (Figure 1), where binary amplification leads to a perfect doubling from one endocycle to the next.

Surprisingly, orchids from various Sections display strict partial (asymmetric) endoreplication cycles, unknown in any other family. Thus, in *Vanilla spp.*, all somatic nuclei contain two copies of the holoploid genome, plus additional copies of one third of the genome in a binary series (Figure 2). In order to gain some perspective of this among orchids, a panel of 55 taxa has been analysed for partial endoreplication. The phenomenon was confirmed for all *Vanilla spp.* (Bory *et al.*, 2008, Lepers-Andrzejewski *et al.*, 2011), for *Ophrys fusca*, *Orchis anatolica* (and another *Orchis sp.*), *Platanthera bifolia*, *Sarcoglottis acaulis* and *Spiranthes spirali*. In contrast, all orchids from group Epidendroideae (tropical epiphytes) showed only simple linear endocycles.

Résumé – L'endoréplication est largement présente dans le règne végétal, un processus endonucléaire de duplication de chromosomes sans cytoténèse. Il s'en suit une augmentation de la taille du noyau des cellules qui peut conduire à des cellules énormes comme observé dans certains fruits charnus. Étonnamment, les orchidées de différentes sections montrent une endoréplication stricte et partielle, inconnue dans les autres familles. Ainsi, chez *Vanilla spp.* tous les noyaux somatiques contiennent deux copies du génome holoploïde, ainsi que des copies supplémentaires d'un tiers du génome. Afin d'acquérir une certaine connaissance de ce processus chez les orchidées, un ensemble de 55 taxons a été analysé. Le phénomène a été confirmé pour tous les taxons de *Vanilla spp.*, pour *Ophrys fusca*, *Orchis anatolica*, *Platanthera bifolia*, *Sarcoglottis acaulis* et *Spiranthes spiralis*. Ceci n'a pas été observé pour les orchidées du groupe des Epidendroideae.

Références

Bory S., Catrice O., Brown S., Leitch I., Gigant R., Chiroleu F., Grisoni M., Duval M.F., Besse P.P. 2008. Natural polyploidy in *Vanilla planifolia* (Orchidaceae). *Genome*, 51: 816-826.

Bourdon M., Pirrello J., Cheniclet C., Coriton O., Bourge M., Brown S.C., Moïse A., Peypelut M., Rouyère V., Renaudin J.P., Chevalier C., Frangne N. 2012. Evidence for karyoplasmic homeostasis during

endoreduplication and a ploidy-dependent increase in gene transcription during tomato fruit growth. *Development*, 139: 3817-3826.

Lepers-Andrzejewski S., Siljak-Yakovlev S., Brown S.C., Wong M., Dron M. 2011. Diversity and dynamics of plant genome size: an example of polysomaty from a cytogenetic study of Tahitian vanilla (*Vanilla ×tahitensis*, Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 98: 986-997.

ERANET Netbiome ANR project Vabiome
 #11-EBIM-005-01, #11-EBIM-005-
 05, #11-EBIM-005-04 and #11-EBIM-
 005-06.

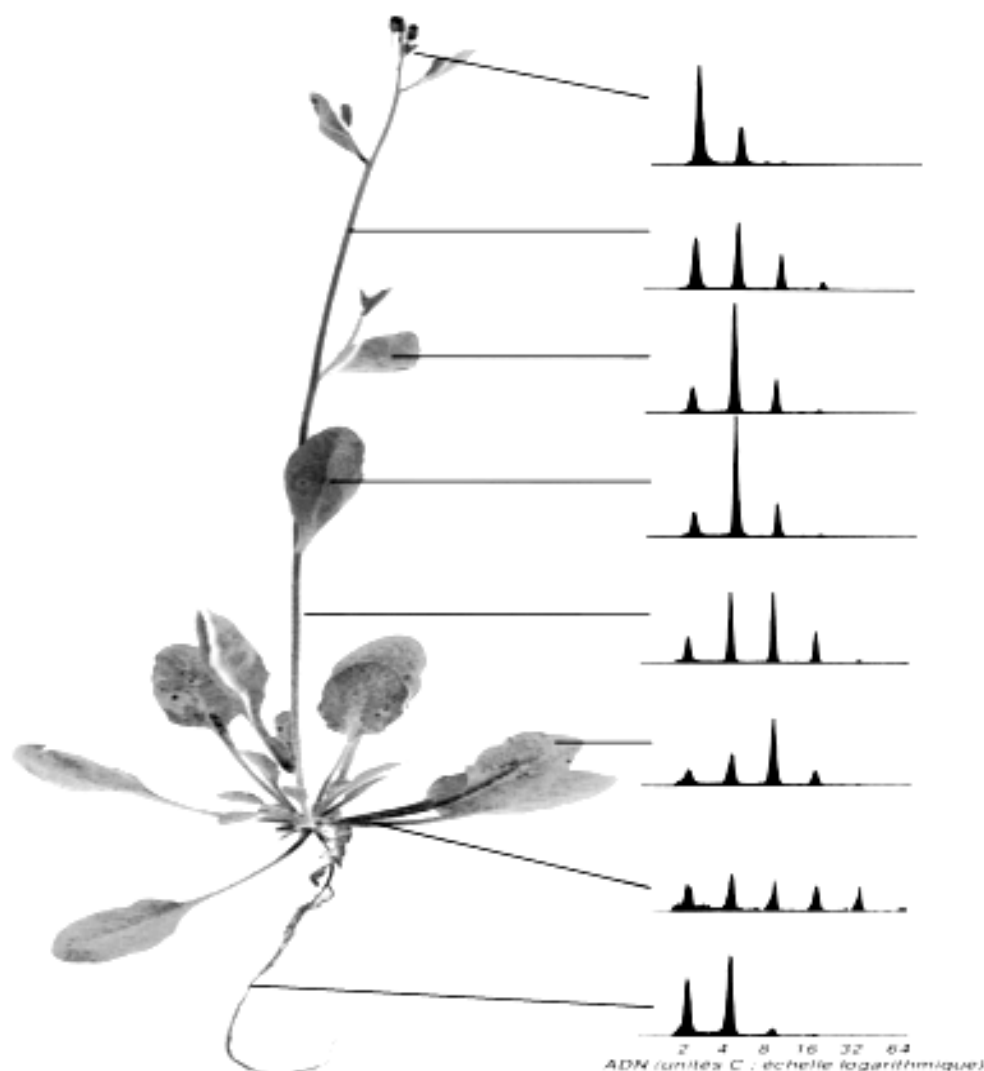


Figure 1. – Developmentally-regulated endoreplication in *Arabidopsis thaliana*, with perfect binary amplification observed on a log scale of nuclear DNA.

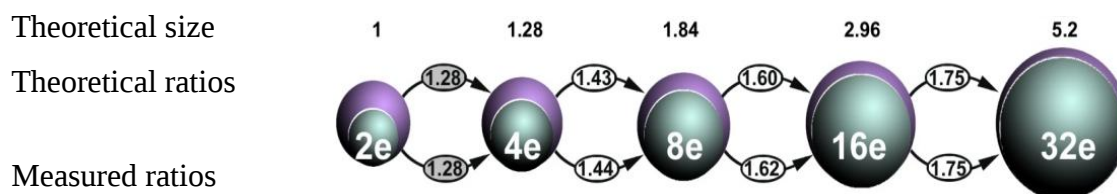


Figure 2. – Partial endoreplication model. *Vanilla* 2C nuclei are composed of a fixed (FIX) part and an endoreduplicatable part (EDR). In *Vanilla planifolia*, FIX:EDR proportions are 72:28. The FIX part is conserved during endocycles but unlike EDR (the 28%) does not undergo endoreplication. Considering 2C as 1.00, theoretical endocycle masses can be calculated and our observations are in tight agreement with this model.

Capacité d'adaptation des orchidées à différents biotopes : exemple de *Vanda coerulea*

Veronika CAKOVA¹, Patrick WEHRUNG², Frédéric BONTE³, Annelise LOBSTEIN¹

¹ Laboratoire de pharmacognosie et substances naturelles bioactives, UMR 7200, Université de Strasbourg, 67000 Strasbourg, France

² Service Commun d'Analyse, Faculté de pharmacie, Université de Strasbourg, 67400 Strasbourg, France

³ LVMH Recherche, 45800 Saint-Jean de Braye, France

Abstract – Adaptability to different habitats of orchids: *Vanda coerulea* example. Phytochemical analysis of tropical epiphytic orchid *Vanda coerulea* Griff ex. Lindl. led us to the identification of the specific secondary metabolites of its stems, considered as this orchid's phytochemical markers. To protect this botanical species, different specimens obtained from *in vitro* cultures were, after maturation, reintroduced in the wild (Southern Yunnan), or grown in an artificial biotope (in tropical farm or a greenhouse). To evaluate the ability of adaptation of *Vanda coerulea* not only based on physiological criteria (root or leaves development, flowering ability) but also on chemical ones (biosynthetic capacity), we studied the variation of the concentration of two markers by liquid chromatography hyphenated to high resolution mass spectrometry (HPLC-HRMS/MS). We focused our studies on imbricatin and methoxycoelonin, two major compounds present in a large number of samples in these habitats.

Résumé – Des études phytochimiques d'une orchidée épiphyte tropicale *Vanda coerulea* Griff ex. Lindl. nous ont conduits à identifier des constituants spécifiques des tiges, considérés comme des marqueurs de l'espèce botanique. Afin de protéger cette orchidée, différents spécimens obtenus par cultures *in vitro* ont été, après maturation, soit réintroduits dans un milieu sauvage (Sud du Yunnan), soit cultivés dans des milieux artificiels (ferme en milieu tropical ou serre). Pour apprécier la capacité d'adaptation de *Vanda coerulea* non seulement sur des critères physiologiques (développement racinaire, croissance des parties foliaires, capacité de floraison) mais également sur des critères chimiques (capacité biosynthétique), nous avons étudié par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-ESI-HRMS/MS) la variation de teneurs de deux marqueurs majoritaires, l'imbricatine et la méthoxycoelonine, présents dans un grand nombre d'échantillons prélevés dans ces différents biotopes.

Mots-clés : *Vanda coerulea*, Adaptation, Phytochimie

INTRODUCTION

Les orchidées ont fait l'objet de nombreuses études scientifiques concernant leur propagation, leur culture *in vitro*, leur pollinisation, leurs relations phylogénétiques ainsi que les aspects botaniques et évolutifs. Très peu d'études concernent leur composition phytochimique. C'est dans cette direction que travaille le Laboratoire de Pharmacognosie et Substances naturelles bioactives de l'Université de Strasbourg, dans le cadre d'une plateforme de recherche appelée **Orchidarium**, mise en place en 2007 par la Maison de parfums et

cosmétiques Guerlain avec le soutien scientifique de LVMH recherche, en vue de développer de nouveaux ingrédients cosmétiques (Bonté, 2011). Entièrement dédiée aux orchidées, cette plateforme a comme mission principale de découvrir, comprendre, étudier et protéger cette vaste famille botanique.

Guerlain s'est engagé dans la reforestation et réintroduction d'orchidées (« réorchidisation ») d'une réserve naturelle de 444 ha, située dans le Sud de la province de Yunnan, en Chine. Une des espèces faisant partie de ce programme de protection est

Vanda coerulea Griff ex. Lindl. Nous avons voulu suivre les populations des spécimens réintroduits dans leur milieu sauvage. Pour apprécier leur capacité d'adaptation non seulement sur des critères physiologiques (développement racinaire, croissance des parties foliaires, capacité de floraison) mais également sur des critères phytochimiques liés à leur capacité biosynthétique, nous avons étudié la variation des teneurs de ses marqueurs phytochimiques par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-ESI-HRMS/MS). Grâce à notre réseau de partenaires international, les études qualitatives et quantitatives ont pu être comparées avec les spécimens cultivés dans un milieu artificiel (en serre) ou dans leur climat naturel (ferme d'orchidées).

L'analyse des extraits hydro-alcooliques des tiges, feuilles et racines de *Vanda coerulea* a permis d'isoler et d'identifier des métabolites caractéristiques des tiges appartenant à la famille des stilbénoides. Cinq composés, la flavidine, l'imbricatine, la coelonine, la méthoxycoelonine et le gigantol, ont été identifiés pour la première fois ensemble dans une même espèce d'orchidée (Simmler, 2010). L'imbricatine et la méthoxycoelonine (Figure 1) sont les composés majoritaires et sont donc qualifiés de marqueurs phytochimiques de *Vanda coerulea*. Leur présence a été régulièrement relevée dans les échantillons prélevés dans les différents biotopes. En quantifiant ces deux marqueurs, nous allons suivre la capacité biosynthétique de cette espèce dans les différents milieux de prélèvement et donc sa capacité d'adaptation à son milieu sauvage.

MATERIELS ET METHODES

En fonction de leurs biotopes respectifs, les spécimens prélevés proviennent de trois lieux différents.

Prélèvement des spécimens en serre

Les échantillons ont été prélevés dans notre Orchidothèque située à côté de Genève, en Suisse. Elle contient une collection de plus de 3000 spécimens d'orchidées représentant plus de 150 espèces différentes. Les orchidées sont arrosées en fonction des conditions météorologiques extérieures, en été deux fois par jour (matin et soir), dans les périodes printanières quotidiennement et en hiver tous les deux jours. Elles sont cultivées dans des conditions d'humidité et de température contrôlées. Cette dernière est adaptée aux conditions du climat extérieur, de décembre à février, elle est maintenue entre 12 et 14 °C. A partir du mois de mars, la serre a moins besoin d'être chauffée et la température est quasi égale à celle à l'extérieur. C'est également le cas en été, où elle peut dépasser 30 °C. Les échantillons ont été prélevés en octobre 2012, où la température a été maintenue à environ 18 °C. L'humidité due à l'arrosage fréquent est d'environ 80% tout au long de l'année. Nous avons prélevé des lots de 1 à 3 spécimens ne portant aucun signe apparent d'une floraison proche.

Prélèvement des spécimens cultivés dans leur climat naturel

Les spécimens proviennent d'une orchid farm à Chiang Mai, en Thaïlande, à 316 m d'altitude. Les espèces y sont cultivées à l'air libre, dans des conditions naturelles de climat

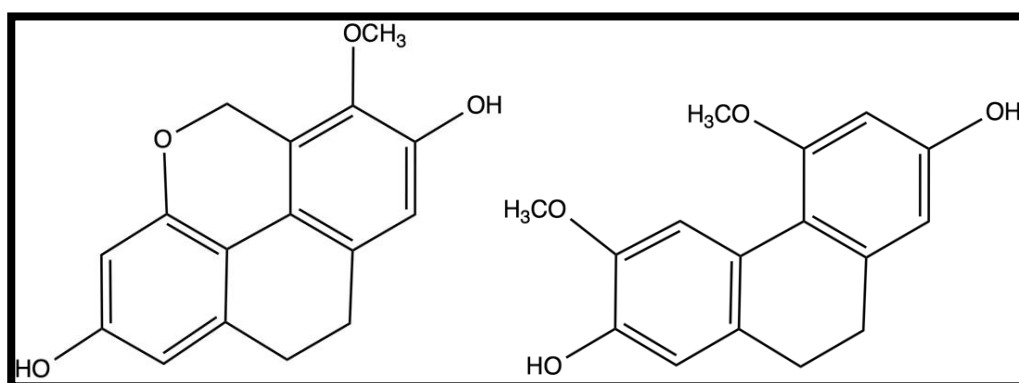


Figure 1. – Marqueurs phytochimiques de *Vanda coerulea* : imbricatine (à gauche) et méthoxycoelonine (à droite).

tropical et arrosées régulièrement pendant la période sèche, sans aucun apport d'engrais. Tous les échantillons ont été prélevés en avril 2012. Janvier était le mois le plus froid de l'année, avec une moyenne journalière basse de 17 °C. En mars, la température minimale était de 16 °C et maximale de 37 °C. En avril, le mois de prélèvement, la température maximale a atteint 40 °C. Mars 2012 était le mois le moins humide de l'année avec une moyenne journalière basse de 23%. Le mois d'avril était plus humide entre 30 et 40% [<http://weatherspark.com/history/33957/2012/Chiang-Mai-Thailand>]. Nous avons prélevé des lots de 4 à 10 spécimens ne portant aucun signe apparent d'une floraison proche.

Prélèvement des spécimens dans le milieu naturel sauvage

Les espèces cultivées au départ à la Joe's orchid farm ont été introduites dans la réserve naturelle de 444 ha située dans les montagnes du Bulangshan, dans la province de Yunnan, en Chine, à 1703 m d'altitude. Nous avons étudié des spécimens ayant été introduits dans le milieu depuis moins d'un an et ceux depuis trois ans.

Les orchidées introduites dans cette réserve vivent dans des conditions naturelles de climat et d'humidité. Elles ne sont ni arrosées, ni fertilisées. Tous les spécimens ont été prélevés en avril 2012. En mars 2012, il faisait en moyenne 22,5 °C avec un taux d'humidité relative de 59,3%. En avril, la température moyenne est montée à 25,9 °C et l'humidité a baissé à 50% [<http://www.tutiempo.net/en/Climate/JINGHO NG/04-2012/569590.htm>]. Nous avons analysé 3 lots de 10 spécimens chacun : des *Vanda coerulea* réintroduites dans le milieu sauvage depuis moins d'un an, depuis 3 ans et des spécimens sauvages jamais cultivés auparavant.

Nous avons prélevé de chaque spécimen environ 10 cm de tige portant des feuilles. Aucune plante n'a donc été sacrifiée dans cette étude. Les feuilles ont ensuite été séparées manuellement des tiges que nous avons étudiées par la suite.

Conditions de séchage et de broyage

En fonction de la provenance des échantillons, deux modes de séchage ont été employés. Les tiges d'orchidées de Genève ont été découpées et congelées dans notre

laboratoire, puis lyophilisées 48 heures à l'aide d'un lyophilisateur (Labonco freezone 2.5). Les échantillons de Chine et de Thaïlande ont été découpés et répartis dans des paniers qui ont été séchés au soleil direct pendant une semaine, dans des conditions naturelles de température et du climat tropical. Après séchage, les matières végétales (MVS) ont été broyées à l'aide d'un appareillage Retsch (ZM 200). Le broyage s'est fait en deux temps, d'abord grossier à travers un couteau de diamètre moyen, puis plus fin pour obtenir une poudre de granulométrie compatible avec une extraction optimale.

Extraction

160 mg de chaque échantillon sous forme de matière première sèche pulvérisée ont été extraits par passages successifs de solvants de polarité croissante afin d'enrichir les extraits en métabolites d'intérêt et d'effectuer une extraction totale. D'abord le dichlorométhane (CH₂Cl₂) (pour enrichir en stilbénoides), suivi du méthanol (MeOH) (pour épuiser la matière végétale). Le rapport masse de plante pulvérisée (g) / volume de solvant (mL) est de 1/15, donc 2,4 mL de solvant pour 160 mg de poudre de plante. La MVS est mise au contact avec le CH₂Cl₂ et macérée pendant une heure, puis le mélange est passé dans un bain à ultrasons (Fisher Scientifique FB 15060) pendant 10 minutes. L'extrait est filtré sous vide, le filtrat et le marc sont séparés, puis le dernier est récupéré pour refaire la manipulation une deuxième fois. Après la deuxième extraction au CH₂Cl₂, le marc est ré-extrait avec le MeOH en suivant la même procédure deux fois. Les deux extraits, dichlorométhanique et méthanolique, sont réunis et évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Analyse par HPLC-ESI-HRMS/MS

L'ensemble des analyses a été effectué sur un chromatographe liquide à haute performance 1200 RRLC (Agilent technologies) couplé à un spectromètre de masse 6520 QToF (Agilent technologies). La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne Zorbax Agilent C18 column (50 mm × 2.1 mm i.d.) avec la taille des particules de 1,8 µm, à 35 °C avec un gradient d'élution composé d'eau (A) and de méthanol (B), tous deux acidifiés à 0,05% d'acide formique dans les conditions suivantes : 0 min,

20% B; 7 min, 30% B; 8,5-16 min, 95% B. Le débit est de 0,5 mL/min. Afin d'identifier l'imbricatine et la méthoxycoelonine, la méthode inclut une liste des masses ciblées des ions $[M+H]^+$ des spectres HRMS et MS/MS, avec une énergie de collision définie (eV) et dans un temps de rétention précis ($TR \pm 1,5$ min) : *imbricatine* ($m/z = 271,10 \rightarrow 239,07$), 12 eV, $TR = 4,60 \pm 1,5$ min; *méthoxycoelonine* ($m/z = 273,10 \rightarrow 213,09, 241,09$), 11 eV, $TR = 5,00 \pm 1,5$ min. L'acquisition des spectres de masse est paramétrée en mode positif avec l'ionisation par electrospray (ESI). En premier lieu, une séparation chromatographique des extraits est effectuée. La méthode détecte les pics correspondant aux métabolites recherchés grâce à leur temps de rétention, leurs spectres de masse et MS² avec une énergie de collision définie. Si tous les paramètres du métabolite recherché correspondent, la méthode intègre son pic correspondant sur le chromatogramme HPLC-MS² (également MRM) qui est en fait le résultat d'un monitoring des ions ciblés (selected ion monitoring MS²). Sur ce dernier, la surface intégrée (aire du pic) est obtenue et sa quantité est calculée en fonction des courbes de calibrations établies à partir des témoins purifiés à l'aide du logiciel de traitement Mass Hunter quantanalysis B.05 (Agilent). Nous avons injecté 1 µL de chaque extrait en triplicata précédé d'une solution de blanc (MeOH de qualité HPLC sans extrait). Nous avons ainsi obtenu 3 valeurs pour chaque type d'échantillon et pour chaque métabolite. Les extraits de *Vanda coerulea* ont été injectés à concentration de 15 mg/mL.

Courbes de calibration

Afin de construire les courbes de calibration, nous avons injecté des quantités connues de chaque métabolite purifié à partir de *Vanda coerulea* disponibles en interne dans notre laboratoire. Les solutions de témoins purifiés ont été préparées à 0,5 mg/mL et différents volumes de 0,1 à 1 µL ont été injectés pour obtenir des points de la courbe allant de 50 à 500 ng. Nous avons donc obtenu 2 courbes de calibration avec une régression linéaire supérieure à $R^2=0,98$.

Interprétation des résultats

Les résultats obtenus pour chaque mesure donnent une valeur en nanogrammes (ng) (correspondant à la quantité de chaque métabolite calculée à partir des courbes de

calibration correspondantes) contenue dans 1 µL de chaque extrait injecté. Nous obtenons donc une concentration en ng/µL. Nous avons converti ces valeurs en mg/mL en les multipliant par un facteur de 10^{-3} . Cette valeur exprime la quantité de chaque métabolite en mg dans un mL d'une solution d'extrait concentrée à 15 mg/mL pour les échantillons de *V. coerulea*. Elle est donc divisée par 15 pour obtenir un résultat exprimé en mg de métabolite par mg d'extrait (mg/mg d'extrait). Les résultats seront exprimés dans cette unité. La moyenne des 3 injections de chaque type d'échantillon est calculée selon la formule :

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$
, c'est-à-dire la somme des valeurs numériques (exprimées en mg/mg d'extrait) divisée par le nombre de ces valeurs numériques (ici 3 valeurs). Pour chacune de ces valeurs, nous avons également calculé l'écart type à la moyenne selon la formule :

$$\sigma x = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}.$$

Limite de quantification (LOQ) et limite de détection (LOD)

Les limites de quantification et de détection ont été fixées à 10 fois et 3 fois le rapport signal/bruit (S/N ratio), respectivement. Si le $S/N < 10$, nous considérons que le métabolite contenu dans l'extrait est non quantifiable.

RESULTATS ET DISCUSSION

La méthode d'analyse que nous avons développée, connecte la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) à un spectromètre de masse (MS). La première étape de ce système couplé consiste à séparer des substances de l'échantillon sur une colonne chromatographique qui sont d'abord détectées par un détecteur classique, du type UV-DAD (ultra-violet et détecteur à barrette de diode). Certains spectres UV sont caractéristiques d'une famille chimique, mais ne suffisent pas pour une information structurale complète. La deuxième étape consiste donc à détecter ces substances par spectrométrie de masse, une technique physique d'analyse mesurant la masse du composé d'intérêt. En combinant les données obtenues par une détection DAD, la HPLC-MS fournit *on-line* une information structurale pour chaque pic du chromatogramme à partir de quelques

microgrammes d'échantillon et dans un temps d'acquisition très court (Wu *et al.*, 2013 ; Marston, 2007). Comparée à d'autres types de détection, la MS offre une excellente sensibilité et sélectivité. La HPLC-ESI-HRMS/MS est donc une technique adaptée à notre problématique de prélèvement d'une petite quantité d'échantillons, car la limite de détection pour une quantification se situe entre 0,01 et 100 ng/mL. La fragmentation MS/MS permet notamment de repérer les composés à doser (Wu *et al.*, 2013). Elle permet d'obtenir des fragments d'ions définis avec une haute précision de masse et donc de repérer l'imbricatine et la méthoxycoelonine sans ambiguïté. Nous avons étudié les échantillons de *Vanda coerulea* d'abord de façon qualitative pour confirmer simplement la présence de ces deux métabolites d'intérêt, puis quantitative pour évaluer leur teneur en fonction du milieu de prélèvement des spécimens. Aucune plante n'a été sacrifiée lors de cette étude. Seule une petite quantité de tiges a été nécessaire, grâce à cette technique de pointe.

Les deux marqueurs étaient présents dans l'ensemble des échantillons de *Vanda coerulea* analysés. En fonction de son biotope, nous

pouvons observer des quantités variables de chaque marqueur (Tableau 1 et Figure 2). En effet, les spécimens cultivés, que ce soit en serre ou dans leur milieu naturel, contiennent de façon générale une quantité plus importante des deux marqueurs. Les spécimens réintroduits contiennent jusqu'à 6,5 fois moins de méthoxycoelonine et jusqu'à 4,5 fois moins d'imbricatine. La capacité biosynthétique de ces deux métabolites semble être favorisée dans les spécimens cultivés, dans des conditions de culture, de température et d'humidité contrôlées. Les *Vanda coerulea* sauvages sont environ deux fois moins concentrées en métabolites que les plantes cultivées et jusqu'à 2 fois plus concentrées que les spécimens réintroduits, cultivés au départ. Cependant, la teneur en imbricatine est comparable dans les échantillons prélevés dans la réserve. Malgré les concentrations des marqueurs phytochimiques beaucoup plus faibles dans les spécimens du milieu sauvage que dans les plantes cultivées, nous ne pouvons pas tirer une conclusion sans équivoque. D'autres facteurs, tels que l'altitude, l'humidité, les températures nocturnes ou encore la luminosité durant la journée peuvent

Tableau 1. – Les teneurs en marqueurs phytochimiques de *Vanda coerulea* en fonction de leur biotope.

	Milieu sauvage (Chine)			Ferme d'orchidées (Thaïlande)	Serre (Genève)
	Echantillon				
Métabolite (Moyenne de la teneur en mg/mg d'extrait x10 ⁻³)	SPECIMENS INTRODUIITS DEPUIS UN AN	SPECIMENS INTRODUIITS DEPUIS TROIS ANS	SPECIMENS SAUVAGES	SPECIMENS CULTIVES EN MILIEU NATUREL	SPECIMENS CULTIVES EN SERRE
IMBRICATINE	6,05 ± 2,05	10,09 ± 2,26	6,95 ± 0,80	15,00 ± 0,49	27,02 ± 2,78
METHOXYCOELONINE	13,29 ± 5,97	8,34 ± 3,12	26,18 ± 2,52	52,41 ± 0,54	54,27 ± 7,21

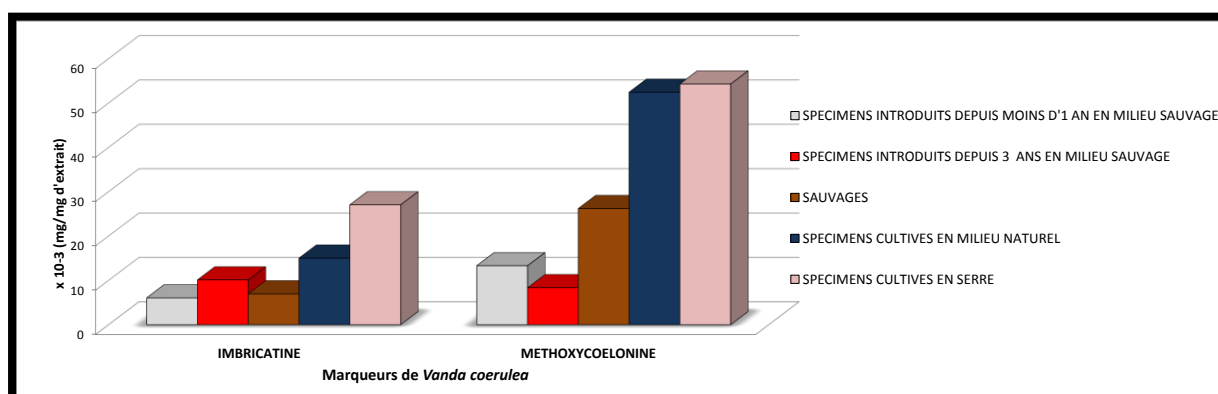


Figure 2. – Les teneurs en marqueurs phytochimiques de *Vanda coerulea* en fonction de leur biotope.

également influencer les teneurs en métabolites. En comparant seulement les spécimens vivant dans le même biotope et dans des conditions climatiques identiques, nos résultats suggèrent que les spécimens réintroduits semblent s'adapter progressivement à leur nouveau milieu.

CONCLUSION

Nous avons effectué une étude portant sur deux métabolites secondaires majoritaires. Cependant, les plantes contiennent une centaine de molécules qui constituent leur métabolisme. Cette étude ne reflète donc qu'un aperçu de la capacité biosynthétique de *Vanda coerulea* dans son milieu sauvage. Néanmoins, dans le souci d'évaluer notre programme de protection des orchidées, le critère biosynthétique est à prendre en considération en plus des observations des critères physiologiques.

Références

- Bonté F., Simmler C., Lobstein A., Pellicier F., Cauchard J.H. 2011. Action d'un extrait de *Vanda coerulea* sur la sénescence de fibroblastes cutanés. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 69: 177-181.
- Marston A. 2007. Role of advances in chromatographic techniques in phytochemistry. *Phytochemistry*, 68: 2785-2797.
- Simmler C., Antheaume C., Lobstein A. 2010. Antioxidant biomarkers from *Vanda coerulea* stems reduce irradiated HaCaT PGE-2 production as a result of COX-2 inhibition. *Plos One*, 5(10): e13713.
- Wu H., Guo J., Chen S., Liu X., Zhou Y., Zhang X., Xu X. 2013. Recent developments in qualitative and quantitative analysis of phytochemical constituents and their metabolites using liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 72: 267-291.

L'*Oncidium ornithorhynchum* (H.B.K.) : étude des cahiers de terrains de Bonpland et expertise micro-morphologique des fleurs

Claudia-Isabel NAVAS¹, Marpha TELEPOVA²

¹ Muséum national d'Histoire naturelle de Paris, France

enlacesartisticos@gmail.com

² Muséum national d'Histoire naturelle de Paris

telepova@gmail.com

Abstract – *Oncidium ornithorhynchum* (HBK): analysis of field notebooks from Bonpland and micro-morphological expertise of flowers. This essay will present an orchid from South America known as *Oncidium ornithorhynchum*, which was classified by Kunth. It was associated for over almost two hundred years to the area of Central America to another species of orchid the *Oncidium sotoanum* R. Jiménez & Hágsater. The main objective of this presentation is to demonstrate the importance of studying the historical archives and conducting research with modern technology on specimen sampled and the living collections. In this article, we will present the micro-morphological expertise.

Résumé – Nous présenterons ici l'étude d'une espèce, *Oncidium ornithorhynchum*, une orchidée d'Amérique du Sud de la région Andine, qui a été considérée par Kunth en Amérique Centrale. Celle-ci a été confondue pendant 200 ans avec une autre espèce d'orchidée d'Amérique Centrale, *Oncidium sotoanum* R. Jiménez & Hágsater (2010). Par cet exemple on a voulu montrer la nécessité de lier l'étude des documents historiques (carnets de terrain, dessins) avec les recherches modernes sur les spécimens d'herbiers historiques et de collections végétales vivantes. Dans cet article nous présenterons l'expertise micro-morphologique.

Mots-clés : *Oncidium*, Bonpland, Micro-morphologie

INTRODUCTION

Les récoltes botaniques abondantes, faites par Alexandre de Humboldt et Aimé Bonpland pendant leur voyage en Amérique septentrionale (1799-1804), ont été envoyées à Paris et à Berlin. Les cahiers de terrains, consignés par Bonpland, se trouvent au Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris ; ils constituent aussi une source d'informations peu exploitées, même par Bonpland. Il a remis à Humboldt ses échantillons et matériels des expéditions, avant son départ vers Rio de la Plata en 1815. Cependant, les carnets de voyage de Bonpland, qui contiennent des témoignages sans précédent sur la richesse de la flore et de la faune d'Amérique, ont servi à Humboldt, par l'intermédiaire de Kunth, pour décrire les collectes qui rassemblent plus de 3000 nouveaux spécimens. Bonpland lui-même a fait la majeure partie du travail botanique en réalisant une quantité

impressionnante de descriptions d'espèces nouvelles. Kunth a, quant à lui, fait le nécessaire pour assurer l'édition de ce travail colossal réalisé par les deux hommes.

CAHIERS DE TERRAINS DE BONPLAND

Le séjour d'Alexandre de Humboldt et d'Aimé Bonpland dans le Royaume de la Nouvelle Grenade en 1801 fut un véritable événement du fait que le Directeur de l'Expédition Botanique Royale à Santa Fe de Bogota, don José Celestino Mutis leur réserva une somptueuse et amicale réception. Aimé Bonpland était un médecin, un zoologiste et un botaniste de terrain. Il a suivi l'enseignement du Jardin des Plantes à Paris. Alors qu'Alexandre de Humboldt était un éminent baron Prussien francophile—sa mère était française. Alexandre de Humboldt finança leur voyage en Amérique méridionale. Par l'intermédiaire du frère aîné d'Alexandre,

Guillaume de Humboldt, ils reçurent une recommandation de la cour du Roi d'Espagne, Charles IV et partirent de la Corogne le 5 juin 1799 (Hamy, 1905, p. 242). À part les collectes que les deux savants firent en Amérique, l'attention qu'Humboldt et Bonpland portèrent à la vie scientifique et à la situation socio-politique de l'Amérique, atteste l'esprit hérité des Lumières de ces deux chercheurs (Navas 2010). Leurs observations et prises de notes (faites pour la plus grande partie par Aimé Bonpland) ont été publiées en français, sauf les sept volumes présentant les nouveaux genres et espèces qui ont été publiés en latin. L'œuvre sans égal qui a été constituée à partir de leurs collectes est intitulée «*Voyage aux régions équinoxiales du Nouveau Continent*» et comporte trente volumes in-folio et in-quarto publiés de 1807-1834 (Drouin & Lalande, 2003).



Figure 1. – Echantillon d'herbier d'*Oncidium ornithorhynchum* Kunth (P00437500 holotype, Muséum, Paris).

Carl-Sigismund Kunth (1788-1850) a, quant à lui, écrit les conclusions de toutes les découvertes scientifiques faites par Humboldt et Bonpland. La collecte d'orchidées a été

suffisamment prolifère pour qu'au total on puisse recenser environ 25 nouvelles espèces parmi les sept tomes dédiés aux *Nova Genera et species plantarum* (en latin donc).

Il faut encore comprendre pourquoi Kunth a placé *Oncidium ornithorhynchum* (Figure 1) dans la région du Mexique au «Puerto de Andaracuas entre Guanajuato et Valladolid, Michoacán», alors que le climat de cette région ne permet pas la croissance de cette espèce selon l'hypothèse de Jiménez et Hásater et d'un groupe de chercheurs en Colombie (Mazo *et al.*, 2014) qui disent que celle-ci est plutôt *Oncidium pyramidale* (fleur jaune et non violette) collecté par Humboldt et Bonpland entre 1801-1802 dans la région de Bogota (Cundinamarca, Colombie) et non au Mexique en 1803 (où le place Kunth). Il se pourrait bien, que la plante ait été localisée par erreur par Kunth, qui a fait son travail à partir des cahiers de Bonpland, étant à Berlin, alors que Bonpland était à ce moment-là à Rio de la Plata.

Une analyse plus détaillée des cahiers de terrain de Bonpland, conservés au Muséum national d'Histoire naturelle de Paris, constitue une partie importante de la recherche de Claudia-Isabel Navas, au niveau du Master en Muséologie: Sciences, Cultures et Sociétés (MNHN de Paris).

L'EXPERTISE MICRO-MORPHOLOGIQUE DES TAXONS DU GENRE *ONCIDIUM* SWARTZ

Matériel : pour cette étude, le matériel vient de la collection végétale vivante (cvv) et de l'Herbier historique du Muséum (P). On va comparer ici trois espèces : *Oncidium onustum* Lindl., *Oncidium ornithorhynchum* Kunth, *Oncidium sotoanum* R. Jiménez & Hásater et un hybride *Oncidium* Twinkle 'White Shower'.

Méthode : L'analyse du matériel a été faite au Microscope électronique à balayage (MEB) du MNHN (Paris).

Oncidium ornithorhynchum Kunth

Synonymes : *Oncidium pyramidale* Lindley 1854; *Oncidium chrysopyramis* Rchb. f. & Warsz. 1854; *Oncidium maderoi* Schltr. 1920.

Etymologie : La forme de l'opercule et sa disposition sur la colonne, ainsi que les

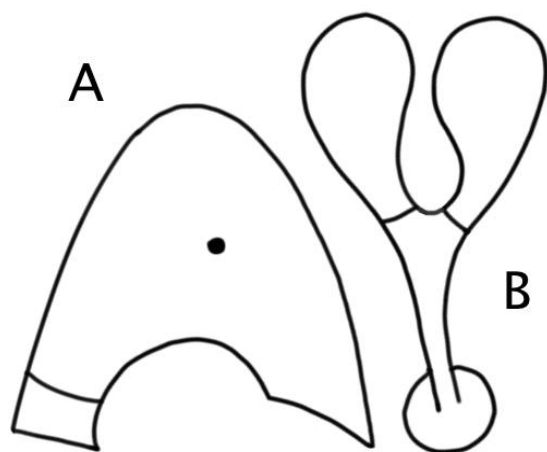
excroissances sur le callus du labelle ont évoqué à Humboldt, Bonpland et Künth une tête d'oiseau (Dessin 1A), par conséquent, *O. ornithorhynchum*!

Géographie, écologie et habitat : Espèce de Colombie (fleurit en été à Bogota), Ecuador, Pasto. Selon les notes de Bonpland, le climat de la région de récolte était plus chaud qu'au Mexique, et on ne peut la localiser qu'à la frontière mexicaine.

Description morphologique : Pseudobulbes ovoïdes-comprimés, bien allongés, portant 1-3 feuilles elliptiques-oblongues, acuminées ; inflorescence pendante de 50 cm de long ; fleurs (2,5 cm), «amarellus», parfumées et un peu intercalées. «Amarillo» c'est le mot espagnol pour la couleur jaune («amarillo» - masculin, singulier, du latin) ; le nom d'Amarillo dérive de la crique voisine du lac Amarillo, nommée pour le sol jaune de ses rives).

Particularités de l'espèce : Peu d'inflorescences, portant de nombreuses fleurs jaunes, qui sont un peu intercalées.

Micro-morphologie florale : Le pollinaire d'*Oncidium ornithorhynchum* est typique de ce genre (Dressler, 1981). Deux pollinies en forme d'ampoule (1 mm de long) sont attachées par l'intermédiaire de leurs caudicules sur le côté apical du stipe, qui est assez court pour le genre (1,8 mm), et du côté basal du stipe, on trouve le viscidium bien collant (Dessin 1B).



Dessin 1 – A, B – *Oncidium ornithorhynchum*.

La colonne de la fleur porte au bout un rostellum de 1,8 mm et elle est toujours de même taille que le stipe du pollinaire. Le

capuchon de l'anthère ou opercule est ici triangulaire, ayant le bec court, pointu et incurvé (Dessin 1A). En fait, l'opercule est presque symétrique du côté dorsal (1,7 mm) et du côté ventral (2 mm). En plus, l'opercule a des stomates sur les deux côtés (dorsal et ventral).

***Oncidium sotoanum* R. Jiménez & Hágsater**

Etymologie : Cette espèce d'orchidée aux fleurs roses pour la plupart était connue comme *Oncidium ornithorhynchum* (par exemple, Lecoufle *et al.*, 2013), mais suite aux études botaniques récentes elle se retrouve comme un «doublon». Un nouveau nom a été nécessaire, c'est maintenant *Oncidium sotoanum* R. Jiménez & Hágsater (Machorro & Hágsater, 2010).

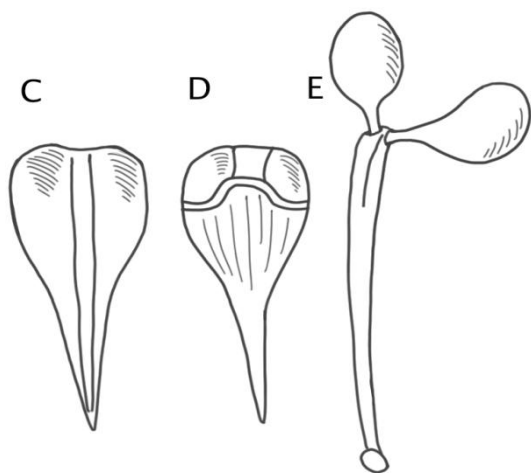
Géographie, écologie et habitat : Espèce d'Amérique centrale: Équateur, Mexique, Pérou, ouest de la Cordillère orientale. Espèce épiphyte, poussant dans les forêts humides à des altitudes de 1000 m et allant jusqu'à 3000 mètres.

Description morphologique : Plante d'*O. sotoanum* (ex. *ornithorhynchum*) à taille petite, compacte et touffue ; pseudobulbes ovales groupés sur le rhizome et en partie apicale, forment 1-2 feuilles lancéolées et courbées ; inflorescence pendante de 50 cm de long, ramifiée, qui développe plusieurs fleurs (2 cm) de couleur violacée, ayant le labelle orné de papilles jaunes. Cette espèce, bien connue par son parfum chocolaté, a servi pour créer plusieurs hybrides, qui conservent l'odeur des parents

Micro-morphologie florale : *Oncidium sotoanum* montre une structure bien différente de l'espèce précédente. La fleur a un rostellum et un stipe de 3 mm, les pollinies de 1,0 mm, l'opercule a un bec long de 2 mm et pointu. En somme, l'opercule est long de 3 mm (Dessin 1C, D). Le viscidium est juste au bout du stipe, n'ayant que 0,1 mm en diamètre (Dessin 1 E).

***Oncidium* Twinkle 'White Shower'**

Oncidium Twinkle 'White' est un hybride primaire (1958) issu du croisement d'ex. *Oncidium ornithorhynchum* X *Oncidium cheiroporum*. Il a une odeur forte et très agréable de cacao et de vanille. Dans cet hybride on retrouve la taille, la forme



Dessin 1. – C, D, E - *Oncidium sotoanum* : 1C – Opercule du côté dorsal, 1D – Opercule du côté ventral et 1E – masses polliniques (en face).

étranglée du labelle et l'abondance des fleurs d'*Oncidium sotoanum*.

Dans la cvv du Muséum, il est considéré comme une plante d'intérêt horticole ; et il est présent sous deux formes (fleurs blanches ou roses). D'après les données récentes, il est décrit comme le croisement d'*Oncidium sotoanum* X *Oncidium cheirophorum*. Que faire ? La taxonomie oblige de corriger les noms des parents, tandis que la dénomination fantaisiste d'*Oncidium* Twinkle 'White Shower' reste intouchable, ce qui est commode pour le commerce et les horticulteurs.

Description morphologique : En règle générale, les hybrides sont plus volumineux que les parents, la couleur des fleurs change (ici du violacé au rose ou blanc), mais aussi l'intensité de la floraison est très développée : une cascade abondante de fleur roses.

Micro-morphologie florale : L'opercule d'*Oncidium* Twinkle 'White Shower' est de 3 mm de long comme chez *Oncidium sotoanum*, et il a un bec long de 2 mm. Sur la surface de l'opercule il n'y a ni stomates, ni poils (Fig. 2 C). En somme, il n'y a pas de différence ni dans la taille minuscule du viscidium (0,1 mm), ni dans la longueur des stipe (3 mm). Par contre, les pollinies sont de 0,5 mm, cela fait deux fois plus petits que chez les parents. Est-ce que c'est une particularité du spécimen, appartenant à la cvv du Muséum ? Il n'y a pas de fruits non plus.

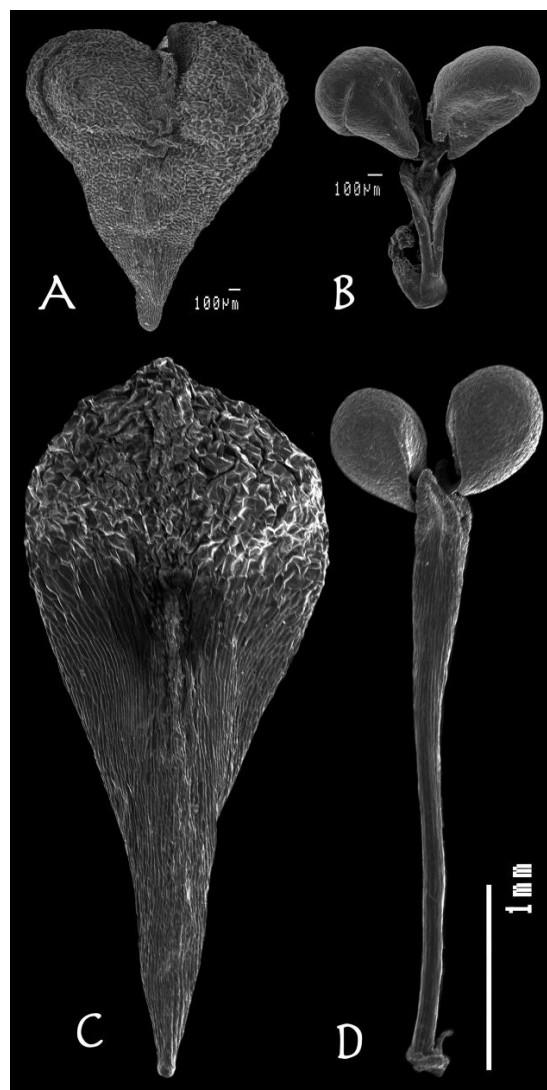


Figure 2. – *Oncidium onustum* Lindl. (A, B) et *Oncidium* Twinkle 'White Shower' (MEB).

Oncidium onustum Lindl.

Oncidium onustum Lindl. a les fleurs d'une jolie couleur jaune-amarillo, comme *Oncidium ornithorhynchum*, et c'est pourquoi on l'a choisi pour l'expertise et la comparaison de la micro-morphologie florale.

Description morphologique : Pseudobulbe conique-ovoïde portant sur son apex une seule feuille dressée, très coriace tachetée de brun. L'inflorescence sort de la partie basale du pseudobulbe, en grappe assez laxiste, peu ou beaucoup de fleurs (de 3 cm) jaunes, non parfumées, labelle blanc aux taches orangées.

Micro-morphologie florale : L'opercule d'*Oncidium onustum* est de 2,0 mm en largeur et de 2,5 mm en longueur, le bec pointu est 0,5 mm de longueur (Figure 2A). Donc, il n'est pas si long, que celui d'*Oncidium sotoanum* (3 mm). Les pollinies sont de 1,3 mm de long ; le stipe de 1,5 mm de long ; le viscidium est large de 0,2 mm et il se trouve sous l'angle du stipe (Figure 2 B). Cela rend le pollinaire plus compacte. Enfin, sur la nervure centrale de l'opercule se trouve une dizaine de stomates odorifères (Telepova-Textier 2009).

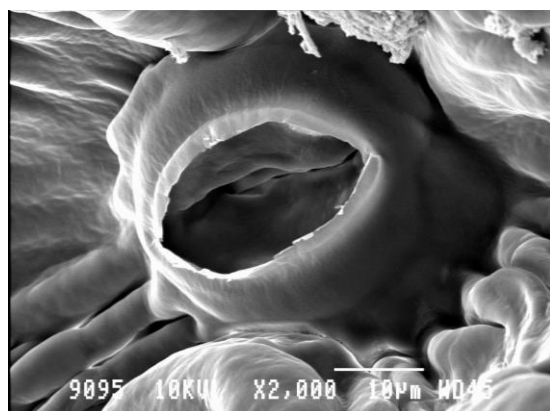


Figure 3. – *Oncidium onustum* Lindl. : Stomate sur la nervure centrale de l'opercule (MEB).

CONCLUSIONS

1. On sépare *Oncidium ornithorhynchum* H.B.K. d'*Oncidium sotoanum* R. Jiménez & Hágsater par la longueur du côté ventral de l'opercule, 2 mm chez *O. ornithorhynchum* et 3 mm chez *O. sotoanum*.
2. Ce qui donne une structure particulière à l'opercule d'*Oncidium ornithorhynchum* H.B.K. ce sont la forme triangulaire de son opercule, le bec incurvé et les stomates.
3. On s'est rendu compte que chez les taxons hybrides où la taille des pollinies est variable, les fruits ne se forment pas.
4. L'efficacité de l'expertise micro-morphologique a encore des perspectives pour la prochaine étude d'autres espèces de Colombie, car il nous reste à confirmer la confusion entre *Oncidium ornithorhynchum* H.B.K. et *Oncidium pyramidale* Lindl., qui n'ont pas de fleurs parfumées, mais dont l'opercule porte des stomates odorifères.

Remerciements

Nous remercions Madame Alice Lemaire directrice de la Bibliothèque centrale du Muséum national d'histoire naturelle (MNHN), Madame Cecile Aupic de l'Herbier Historique du MNHN, Mr Jean-Luc Petit des Serres tropicales de Chèvreloup du MNHN et Dominique Storez pour ses dessins et Olga Euler pour l'infographie. Un merci tout particulier au service de la plate-forme de Microscopie électronique du MNHN (Paris).

Références

- Dressler R. 1981. The orchids, London.
- Drouin J. M. & Lalande T. 2003. La boussole et l'orchidée. *Musée des arts et métiers*, 39/40: 58.
- Jiménez & Hágsater E. 2010. *Oncidium sotoanum* R. Jiménez & Hágsater. *Lankesteriana*, 9: 415.
- Hamy E.T. 1905. Lettres américaines d'Alexandre de Humboldt.
- Lecoufle P., Lecoufle F., Schmidt G., Barthélémy D. 2013. Petit Larousse des orchidées.
- Machorro R.J., Hágsater E. 2010. *Oncidium ornithorhynchum*, una especie mal interpretada y un nombre para una vieja especie: *Oncidium sotoanum* (ORCHIDACEAE). *Lankesteriana*, 9: 411-422.
- Mazo L.C., Gómez-Gutiérrez A., Quintanilla S.R., Bernal J.E., Ortiz-Valdivieso P. 2014. Consideraciones sobre la historia de la prioridad taxonómica de *Oncidium ornithorhynchum*. *Lankesteriana*, 313: 337-351.
- Navas C.I. 2010. Bonpland et les indépendances latino américaines. Colloque international Franco-Argentin «Aime Bonpland, naturaliste rochelais aux Amériques : De l'orchidée à la yerba mate.
- Telepova-Textier M. 2009. Le rôle de l'opercule dans l'identification des orchidées de la tribu Vandeeae. *Culture et Protection des Orchidées*, 78: 14-15.

Hybridations contrôlées chez quelques *Epipactis*

Daniel PRAT^{1,2}, Marina CIMINERA¹, Alain GEVAUDAN²

¹ Université Claude Bernard - Lyon 1, UMR5023 Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés, 6 rue Raphaël Dubois, F-69622 Villeurbanne Cedex, France

² Société Française d'Orchidophilie, Commission scientifique, 17 Quai de la Seine, F-75019 PARIS, France

Abstract – Controlled hybridization in *Epipactis*. In *Epipactis*, species are considered either allogamous or autogamous according to the possibility of the pollen to fall spontaneously on stigma. Autogamy can have dramatic consequences on population dynamics. In order to test the influence of mating system on reproductive success, we have compared effects of selfing and outcrossing on fruit set, fruit weight and embryo size in several allogamous species. Flowers of *Epipactis helleborine*, *E. palustris*, *E. atrorubens* and *E. purpurata* have been emasculated, and then selfed or outcrossed. Flowers were individually protected by a net. Whatever the species, flowers did not produce fruits when they were protected from pollinators by a net. No significant difference in fruit set was recorded between selfing and outcrossing (including local or distant pollen source and interspecific hybridization). Fruit weights were not significantly affected by the type of pollination. Embryo size did not vary significantly according to the pollen source. In these presumed allogamous species, no effect of selfing has been recorded. Further studies are needed to determine if selfing could have late influence on seed and plant development.

Résumé – Des fleurs des espèces *Epipactis helleborine*, *E. palustris*, *E. atrorubens* et *E. purpurata* ont été pollinisées de façon contrôlée un ou quelques jours après castration et ensachage des fleurs dans l'objectif de mettre en évidence une éventuelle dépression de consanguinité induite par les régimes de reproduction chez ces espèces considérées comme allogames. Le pollen utilisé provenait de la même plante ou d'une plante distante de la même station, voire d'une autre station. Les fleurs ont été à nouveau ensachées ainsi que l'inflorescence. Les capsules et des graines matures ont été observées. La taille des embryons a été déterminée en microscopie optique. Quelle que soit l'espèce testée, les fleurs ne produisent pas de fruits quand elles restent protégées. Aucune différence significative dans la mise à fruit n'a été enregistrée entre autofécondation et allofécondations. Ni le poids des fruits ni la taille des embryons ne sont significativement affectés par le type de pollinisation. Aucun effet défavorable de l'autofécondation n'a été noté. D'autres études sont nécessaires pour déterminer si l'autofécondation peut avoir des effets sur les semences et les plantes.

Mots-clés : *Epipactis*, Allofécondation, Autofécondation, Croisement contrôlé

INTRODUCTION

Les espèces d'*Epipactis* sont considérées comme allogames ou autogames en fonction de la présence du rostellum qui empêche le pollen d'atteindre le stigmate et de la structure plus ou moins compacte des pollinies. Plusieurs taxons autogames sont probablement apparus localement à partir de taxons allogames dont *E. helleborine*. L'autogamie impose une forte homozygotie des individus et donc une adaptation à cet état. C'est pourquoi nous voulons tester l'incidence de l'autofécondation

et de l'allofécondation sur la reproduction des espèces présumées allogames.

MATERIELS ET METHODES

Des fleurs des espèces *Epipactis helleborine*, *E. palustris*, *E. atrorubens* et *E. purpurata* ont été castrées (Figure 1), puis protégées par un sachet en tissu à maille fine contre toute pollinisation non contrôlée avant le dépôt d'une pollinie sur le stigmate 1 ou quelques jours après provenant de la même plante ou d'une plante distante de la même

station, voire d'une autre station. Les fleurs ont été ensuite ensachées individuellement par un filet (maille du tissu d'environ 0,7 mm. L'inflorescence est également recouverte par un filet semblable. Les capsules et des graines matures ont été observées. La taille des embryons a été déterminée en microscopie optique.



Figure 1. – Fleurs ensachées d'*Epipactis helleborine*.

RESULTATS

Aucune fleur ensachée, même non émasculée, n'a donné spontanément de fruit. Aucune différence significative dans la formation des capsules n'a été enregistrée entre autofécondation et allofécondation. Les graines ont la même apparence pour les différents croisements. La qualité du pollen a pu réduire le succès des croisements pour *E. purpurata*. Les croisements interspécifiques et allofécondations avec des plantes d'une autre population ont donné le même succès pour *E. atrorubens* (Tableau 1). Aucun effet défavorable de l'autofécondation n'a été noté. D'autres études sont nécessaires pour déterminer si l'autofécondation peut avoir des effets ultérieurs sur le développement des protocormes et des plants.

Remerciements

Nous remercions la *Société Française d'Orchidophilie Rhône-Alpes* pour son aide à cette étude.

Tableau 1. – Succès de pollinisations contrôlées menées sur *E. atrorubens* (149 fleurs pollinisées) : autofécondation (AF), allofécondation (plante du même site : Local ; plante d'une autre station : Distant) et hybridation interspécifique (pollinisation par *E. palustris*).

Type de croisements	AF	Local	Distant	<i>E. palustris</i>
Succès (%)	68	70	69	70

Variations de la taille du génome au sein du genre *Epipactis*

Daniel PRAT^{1,2}, Spencer C. BROWN,³ Alain GEVAUDAN²

¹ Université Claude Bernard - Lyon 1, UMR5023 Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés, 6 rue Raphaël Dubois, 69622 Villeurbanne Cedex, France

² Société Française d'Orchidophilie, Commission scientifique, 17 Quai de la Seine, 75019 PARIS, France

³ UMR 8618, UPSud11-CNRS IBP / UMR 8079 CNRS-UPSud11 ESE / UPR 2355 CNRS Institut des Sciences du Végétal et Imagif, 91198 Gif-sur-Yvette, France

Abstract – Genome size variation within genus *Epipactis*. Genome size can be related to plant ecology or adaptative traits. In *Epipactis*, plants grow at various elevations and genome size is not well documented. Thus, we have assessed genome size by flow cytometry in various species and also in various stands within species in *Epipactis*. The values found for *Epipactis* species are grouped distinct to other species of Neottieae. A significant variation was also found within species, but no cline related to this variation was identified.

Résumé – La taille de génome peut être reliée à des traits d'histoire de vie des espèces et à leurs conditions écologiques. Peu d'informations sont disponibles sur ce paramètre chez *Epipactis*, c'est pourquoi nous avons mené cette étude afin de préciser les variations éventuelles entre espèces et de connaître l'influence éventuelle de leur environnement (altitude) sur ce paramètre. Les espèces présentes en France ont été collectées et trois espèces ont été plus largement échantillonnées dans une zone géographique limitée et sur un gradient d'altitude. Les tailles de génome sont mesurées par cytométrie en flux. Les espèces du genre *Epipactis* se distinguent par leur contenu en ADN de leur noyau des autres espèces de Neottieae. Des variations de taille de génome existent au sein de ce genre. Une première analyse en 2012 a mis en évidence une diminution significative de la taille du génome avec l'altitude des stations chez *E. atrorubens* et *E. palustris*. Un échantillonnage complémentaire a été réalisé en 2013 pour vérifier cette relation qui n'a pas été confirmée. Les différences significatives révélées entre stations indiquent des adaptations locales pour lesquelles les relations avec les paramètres écologiques ou biologiques n'ont pas été établies. Ceci montre que des populations géographiquement proches peuvent posséder des caractéristiques génétiques différentes qui devront être considérées dans la préservation des stations.

Caractérisation par cytogénétique moléculaire de différentes accessions de *Vanilla pompona* : cartographie physique des séquences d'ADNr et de l'hétérochromatine

Sonja SILJAK –YAKOVLEV¹, Sandra LEPERS-ANDRZEJEWSKI², Odile ROBIN¹, Michel GRISONI³, Spencer C. BROWN¹, Michel DRON¹, Pascale BESSE³

¹ UMR 8618, UPSud11-CNRS IBP / UMR 8079 CNRS-UPSud11 ESE / UPR 2355 CNRS
Institut des Sciences du Végétal et Imagif, 91198 Gif-sur-Yvette, France
sonia.yakovlev@u-psud.fr

² Etablissement Vanille de Tahiti, Polynésie française

³ UMR 53 PVBMT Université de la Réunion – Cirad, BP 7151, 97715 St Denis, La Réunion

Abstract – Molecular cytogenetic characterisation of some *Vanilla pompona* accessions: physical mapping of rDNA and heterochromatin. *Vanilla pompona*, a wild aromatic species, has been studied for its rDNA and heterochromatin patterns. The physical mapping of two rRNA gene families 5S and 18S-5.8S-26S (45S) and the distribution of GC-rich regions in the chromosomes have been established by means of fluorescence *in situ* hybridization (FISH) and fluorochrome banding with chromomycin A₃ (CMA). All accessions are maintained in a shade-house in the BRC Vatel collection (Cirad), St Pierre, Reunion Island. Among five studied accessions, two ploidy levels were observed: $2n=2x=32$ and $2n=4x=64$. In tetraploid accessions, hypo-aneuploidy was also detected. The number and position of rDNA loci corresponded to chromomycin positive regions (GC-rich DNA). One to two loci of 45S (two to four chromosome sites) and the same number of CMA⁺ bands were observed for diploid accessions. Tetraploid accessions display four to six sites (two to three loci) of 45S and CMA⁺ bands. In addition to this variability in number, rDNA sites and CMA⁺ bands showed differences in the intensity of fluorescent signals. In one tetraploid accession, six chromosomes were completely labelled with both 45S probe and chromomycin, which is a rare situation in plants. Our results highlight the clear genome differentiation among *V. pompona* accessions from different geographical origins, both at the rDNA and at the heterochromatin level. Classifying and understanding these differences are pertinent to the use of *V. pompona* as a source of agronomic traits for the improvement of *Vanilla planifolia*, the most widely cultivated species. Evolutionary aspects and dynamics of the *Vanilla pompona* genome are discussed in the light of these cytogenetic data.

Résumé – Vanille pompona, une espèce aromatique sauvage, a été étudiée pour la cartographie physique des séquences d'ADNr et de l'hétérochromatine. La cartographie physique des deux familles de gènes ARNr 5S et 18S - 5.8S - 26S (45S) et la répartition des régions riches en GC dans les chromosomes ont été établies au moyen de l'hybridation de fluorescence *in situ* (FISH) par la chromomycine A3 (banding). Les résultats montrent une nette différenciation géographique entre les accessions aussi bien pour les ARNr que pour l'hétérochromatine. L'identification et la compréhension de ces différences montrent la pertinence de l'utilisation de *V. pompona* comme source de traits agronomiques pour l'amélioration de *V. planifolia*, l'espèce la plus largement cultivée.

Patrons de diversité des Orchidées de France ; valorisation des données d'Atlas

Isabelle WITTE, Julien TOUROULT, Laurent PONCET

SPN, MNHN, rue Buffon, Paris, France

Abstract – Diversity patterns of Orchids in France; an exploitation of Atlas data. Atlases are regarded as a source of data of good quality regarding the presence of species in regular geographic grids. These data are commonly used to describe the distribution of individual species in France, but were rarely assembled in a global study to reflect biodiversity as a whole. This paper is intended as a first step towards the valuation of data from atlases on French territory and concerns the Atlas of *Orchids in mainland France* that was published in 2010 (Dusak et Prat). This work is based on a descriptive approach of the distribution patterns of orchids. The biogeographic domains based on orchid species associations were determined using an ordination method (CAH). The complementarity of species assemblages in diversity “hotspots” was evaluated thanks to a software for spatial optimization (Marxan) (Ball *et al.*, 2009) that allows us to measure the irreplaceability of sites according to their species composition. Our work is the result of a preliminary approach to exploit Atlases data and is suggested as a methodological starting point for the valorization of species distribution data. We do not provide an ecological interpretation of our results but we strongly encourage the experts of orchid taxa to send us their comments and interpretation of our results.

Résumé – Les atlas de distribution des espèces, notamment ceux disponibles dans l'INPN constituent une base de données importante et d'une excellente fiabilité pour les points de présence d'espèces grâce au travail de validation des données réalisé par les experts des différents taxons. Ces données ont jusqu'à présent été utilisées pour la description de la répartition spatiale de chaque espèce individuellement, mais ont rarement été rassemblées dans une étude globale pour synthétiser les patrons de diversité des différents groupes en France. Le travail présenté dans ce poster est extrait de ce travail de valorisation des données d'Atlas à l'échelle de la France métropolitaine et concerne l'Atlas des *Orchidées de France métropolitaines* publié en 2010 (Dusak et Prat). Le travail présenté est basé sur une approche descriptive des patrons de distribution des Orchidées. Les patrons de distribution des grands groupes biogéographiques d'espèces d'orchidées ont été définis par une méthode d'ordination (CAH) et la complémentarité des assemblages entre « hotspots » de biodiversité a été évaluée grâce à un logiciel d'optimisation spatial permettant de déterminer l'irremplaçabilité des sites en fonction de leur composition spécifique (Marxan) (Ball *et al.*, 2009). Ce travail constitue une approche préliminaire de la valorisation des données d'Atlas et est proposé comme un point de départ méthodologique pour la valorisation des connaissances sur la distribution des espèces. Nous ne proposons pas d'interprétation écologique de nos observations, mais nous encourageons fortement les experts des différents taxons d'orchidées ou des techniques d'analyse spatiale à nous transmettre leurs interprétations et commentaires.

16^e Colloque SFO 1-2 mars 2014 – Blois

La Halle aux Grains Programme du colloque

SAMEDI 1^{er} MARS MATIN

Accueil des participants (9h – 10h))

Ouverture du colloque 10h

Quelles connaissances pour la protection : taxonomie, inventaires (10h30-12h00)

Daniel Tyteca, Manon Ceinos, Rein Brys, Jean-Louis Gathoye, Hans Jacquemyn.
Systématique, phylogénie et isolement reproductif des sous-genres *Orchis* et *Masculae* (Orchidaceae, Orchidinae, *Orchis*).

Pascal Descourvières. **Révision taxonomique des *Diaphananthe* au sens large : de la plante dans la nature, à la plante en tant que sujet d'étude.**

Marpha Telepova. **Diversité des orchidées selon la zone bio-géographique du Cambodge.**

DEJEUNER (12h30-14h00)

SAMEDI 1^{er} MARS APRES-MIDI

Visite de la ville de Blois (château, vieux quartiers) 14h00-16h00

Visite de l'exposition (visite libre)

Conférences grand public (15h00-16h00)

Michel LeRoy. **La culture semi-hydroponique des orchidées.**

Jean Claessens, Jacques Kleynen. **La pollinisation des orchidées européennes : une affaire de ruse et de tromperie.**

Quelles connaissances pour la protection : inventaire (16h00-18h30)

Hélène Vogt, François Munoz, Franck Richard, Bertrand Schatz. **Apparitions et disparitions départementales des orchidées en France.**

Bertille Valentin. **Agir pour le *Liparis* de Loesel : le plan National d'Actions.**

François Munoz, Hélène Vogt, Franck Richard, Bertrand Schatz. **L'écologie des orchidées au travers de l'Atlas SFO : les stratégies de reproduction et de nutrition dépendent étroitement de l'environnement.**

Philippe Feldmann, Sophie Daulmerie, Alain Gévaudan, Olivier Hirschy, Jean Koenig, Michel Nicole, Daniel Prat. **ORCHISAUVAGE.fr : un projet ambitieux de science participative en appui à la connaissance et à la conservation des orchidées sauvages.**

David Lafarge. **Diffuser la connaissance des orchidées à l'ère des réseaux sociaux.**

Session posters (18h30-19h30)

Pascale Besse, Timeri Atuahiva, Mickaël Bourge, Spencer C. Brown, Denis Dasilva, Jean-Bernard Dijoux, Michel Dron, Isabelle Fock-Bastide, Rodolphe Gigant, Luc Gigord, Michel Grisoni, Katia Jade, Hippolyte Kodja, Sandra Lepers-Andrzejewski, Hervé Magnin, Tachirifa M'Sa, Thierry Pailler, Tony Palama, Chloé Pelissier, Odile Robin, Sonja Siljak-Yakovlev, Daniel Silvestre, Roberto Ufa, Guillaume Viscardi. **Caractérisation, protection, usage durable et valorisation de la biodiversité de Vanilla dans les territoires tropicaux de l'Europe (projet VaBiome).**

Spencer C. Brown, Nicolas Maunoury, Mickaël Bourge, Michele Bianchi, Sandra Lepers-Andrzejewski, Sonja Siljak-Yakovlev, Michel Dron. **Stricte endoréplication partielle au cours du développement des orchidées.**

Veronika Cakova, Patrick Wehrung, Frédéric Bonté, Annelise Lobstein. **Capacité d'adaptation des orchidées à différents biotopes : exemple de *Vanda coerulea*.**

Claudia-Isabel Navas, Marpha Telepova. **L'*Oncidium ornithorhynchum* (H.B.K.) : étude des cahiers de terrains de Bonpland et l'expertise micro-morphologique des fleurs.**

Daniel Prat, Marina Ciminera, Alain Gévaudan. **Hybridations contrôlées chez quelques *Epipactis*.**

Daniel Prat, Spencer C. Brown, Alain Gévaudan. **Variations de la taille du génome au sein du genre *Epipactis*.**

Sonja Siljak-Yakovlev, Sandra Lepers-Andrzejewski, Odile Robin, Michel Grisoni, Spencer C. Brown, Michel Dron, Pascale Besse. **Caractérisation par cytogénétique moléculaire de différentes accessions de *Vanilla pompona* : cartographie physique des séquences d'ADNr et de l'hétérochromatine.**

Isabelle Witté, Julien Touroult, Laurent Poncet. **Patrons de diversité des Orchidées de France ; valorisation des données d'Atlas.**

SFO Poitou-Charente. **Orchidées et petite faune associée.**

ASSEMBLEE GENERALE DE LA SFO (19h30)

DIMANCHE 2 MARS MATIN

Recherches sur les orchidées soutenues par la SBF et la SFO (9h00-10h30)

Mélanie Roy, Mélissande Nagati, Wesley Thomas, Raphaëlle Gareil, Olivier Claessens, Guillaume Léotard, Aurélien Sambin, Emmanuel Ravet, Olivier Tostain. **Diversité phylogénétique des orchidées en Guyane Française.**

Bertrand Schatz, Anaïs Leseur, Jocelyn Fonderflick, Irène Till-Bottraud, Jean-Christophe Gattus, Florence Nicolè. **Conservation du Sabot de Vénus en France : bilan et préconisation.**

Daniel Prat, Spencer C. Brown, Alain Gévaudan. **Evolution des Neottieae, apport de la cytométrie en flux.**

Quelles connaissances pour la protection : évolution, communication (11h00-12h30)

Marc-André Selosse, F. Martos. **Les mystères de la nutrition des orchidées mixotrophes : nouveaux travaux sur *Cephalanthera damasonium*.**

Bertrand Schatz, Roxane Delle-Vedove, Jean-Marie Bessière, Laurent Dormont. **La couleur comme communication entre orchidées et insectes pollinisateurs.**

François Gérard, Veronika Cakova, Minguo Li Margraf, Frédéric Bonté, Annelise Lobstein. **Protection d'une orchidée tropicale, *Vanda coerulea*, dans son milieu naturel : impact sur la protection locale de la biodiversité.**

DIMANCHE 2 MARS APRES-MIDI

Comment conserver les milieux à orchidées (14h00-17h00)

Jordane Cordier. **La Liste rouge régionale de la flore vasculaire du Centre. Quel bilan pour les Orchidées.**

Bertrand Schatz, Perrine Gauthier, Max Debussche, John D. Thompson. **Proposition d'une méthode pour réviser les statuts de protection des orchidées en France aux échelles nationale et régionale.**

Nathalie Machon, Philippe Bardin. **Exemple de populations de *Spiranthes spiralis*, déplacées puis replacées sur l'aqueduc de la Vanne avec constitution d'une population de sauvegarde.**

Stéphane Chaumont. **Le *Liparis* de Loesel var. *ovata*, *Liparis loeselii* var. *ovata* (L.) L.C.M Rich, dans le site du Conservatoire du littoral, les dunes de Keremma en Tréfléz Bilan de neuf années de gestion et de suivi (2005-2013).**

Table ronde « **Quels besoins ? Quelles gestions ? pour la protection des orchidées.** »

Participation de : Veronika Cakova, Stéphane Chaumont, Jordane Cordier, Nathalie Machon

Conférences grand public (15h30-16h30)

Marc-André Selosse. **Ces champignons qui aident les orchidées, de la germination à la floraison.**

David Lafarge. ***Phalaenopsis* : des orchidées méconnues ?**

Clôture du colloque (17h00-17h15)

Index des auteurs

Atuahiva Timeri	142	Lepers-Andrzejewski Sandra	142 , 144 , 160
Bardin Philippe	74	LeRoy Michel	136
Besse Pascale	142 , 160	Leseur Anaïs	119
Bessière Jean-Marie	45	Lobstein Annelise	52 , 146
Bianchi Michele	144	M'Sa Tachirifa	142
Bonté Frédéric	52 , 146	Machon Nathalie	74
Bourge Mickaël	142 , 144	Magnin Hervé	142
Brown Spencer ..	125 , 142 , 144 , 159 , 160	Margraf Minguo Li	52
Brys Rein	1	Martos Florent	31
Cakova Veronika	52 , 146	Maunoury Nicolas	144
Ceinos Manon	1	Munoz François	19 , 26
Chaumont Stéphane	79	Nagati Mélissande	99
Ciminera Marina	157	Navas Claudia-Isabel	152
Claessens Jean	134	Nicolè Florence	119
Claessens Olivier	99	Nicole Michel	27
Cordier Jordane	58	Pailler Thierry	142
Dasilva Denis	142	Palama Tony	142
Daulmerie Sophie	27	Pelissier Chloé	142
Debussche Max	73	Poncet Laurent	161
Delle-Vedove Roxane	45	Prat Daniel	27 , 125 , 157 , 159
Dijoux Jean-Bernard	142	Ravet Emmanuel	99
Dormont Laurent	45	Richard Franck	19 , 26
Dron Michel	142 , 144 , 160	Robin Odile	142 , 160
Feldmann Philippe	27	Roy Mélanie	99
Fock-Bastide Isabelle	142	Sambin Aurélien	99
Fonderflick Jocelyn	119	Schatz Bertrand	19 , 26 , 45 , 73 , 119
Gareil Raphaëlle	99	Selosse Marc-André	31 , 137
Gathoye Jean-Louis	1	Siljak-Yakovlev Sonja	142 , 144 , 160
Gattus Jean-Christophe	119	Silvestre Daniel	142
Gauthier Perrine	73	Telepova Marpha	14 , 152
Gérard François	52	Thompson John	73
Gévaudan Alain	27 , 125 , 157 , 159	Till-Bottraud Irène	119
Gigant Rodolphe	142	Tomas Wesley	99
Gigord Luc	142	Tostain Olivier	99
Grisoni Michel	142 , 160	Touroult Julien	161
Hirschy Olivier	27	Tyteca Daniel	1
Jacquemyn Hans	1	Ufa Roberto	142
Jade Katia	142	Valentin Bertille	20
Kleynen Jacques	134	Viscardi Guillaume	142
Kodja Hippolyte	142	Vogt Hélène	19 , 26
Koenig Jean	27	Wehrung Patrick	146
Lafarge David	28 , 138	Witté Isabelle	161
Léotard Guillaume	99		

Publications de la Société Française d'Orchidophilie

L'Orchidophile

200 fascicules publiés depuis 1970

4 fascicules par an

Cahiers de la Société Française d'Orchidophilie

N° 1 (1993) : *Synopsis des orchidées européennes*, par Pierre Quentin

N° 2 (1995) : *Synopsis des orchidées européennes*, deuxième édition, par Pierre Quentin

N° 3 (1996) : *Actes du 13^{ème} 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-1^{er} 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 14^e colloque de la SFO, Paris, 20-21 novembre 1999*

N° 7 (2010) : *Actes du 15^e colloque sur les orchidées de la Société Française d'Orchidophilie, Montpellier, 30 mai - 1^{er} juin 2010*

N° 8 (2014) : *Actes du 16^e colloque sur les orchidées de la Société Française d'Orchidophilie, Quel avenir pour les orchidées dans leur milieu ? Blois, 1-2 mars 2014*

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 Luxembourg. 2005. (M. Bournérias et D. Prat, coordinateurs)

Atlas des orchidées de France. 2010. (F. Dusak et D. Prat, coordinateurs)

Sabots de Vénus, orchidées fascinantes. 2013. (Collectif SFO, supplément à l'Orchidophile)

La Société Française d'Orchidophilie, fondée en 1969, a pour objectifs majeurs :

- d'étudier la répartition et l'écologie des Orchidées en France et dans d'autres pays ;
- de protéger les espèces sauvages les plus menacées ;
- de favoriser la culture des espèces horticoles ;
- d'encourager les études sur la biologie des orchidées.

Ces objectifs sont atteints grâce :

- à des réunions et colloques ;
- à des voyages d'étude ;
- au réseau de cartographes ;
- aux activités régionales menées dans les associations locales affiliées ;
- aux publications (bulletin, cartographies, ouvrages).

The “Société Française d'Orchidophilie” (French Orchid Society), formed in 1969, aims the main following activities:

- studying orchid distribution and ecology in France and everywhere else;
- protecting most endangered wild species;
- promoting cultivation of horticultural species;
- encouraging studies on orchid biology.

These goals are reached through:

- meetings and symposiums;
- field trips;
- network of cartographers;
- local activities of regional affiliated associations;
- publications (bulletin, cartographies, books).