

L'adaptation à la vie à l'ombre chez les orchidées : étude des orchidées non-chlorophylliennes dans les régions tropicales

Florent MARTOS^{1,2}, Thierry PAILLER¹, Jacques FOURNEL¹ & Marc-André SELOSSE²

- 1) UMR C53 Peuplements végétaux et bioagresseurs en milieu tropical, Université de La Réunion
- 2) UMR 5175 Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive, Equipe interactions biotiques, CNRS, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5

Abstract – Adaptation to shade in orchids: study in achlorophyllous orchids in tropical regions. Beside species diversity, tropical and temperate forests are expected to offer different biotic interactions. This especially applies to the mycoheterotrophic orchids which have adapted to shaded forest understorey by shifting to achlorophyly. In temperate forests, they specifically associate with some ectomycorrhizal fungi, and thereby exploit carbon from surrounding trees. But do these rules hold in tropical rainforests where ectomycorrhizal fungi are generally absent and such orchids abound? A study of two tropical achlorophyllous orchids shows unexpected mycorrhizal associations with diverse saprotrophic basidiomycetes, and divergence in mycorrhizal specificity. *Gastrodia similis* (Reunion; Mascarene) specifically associates with a *Resinicium* (Hymenochaetales), whereas *Wulfschlaegelia aphylla* (Guadeloupe; West Indies) associates with both *Gymnopus* and *Mycena* species. Moreover, analyses of natural ¹⁵N and ¹³C abundances support nutrient chains from dead wood to *G. similis* and from decaying leaf litter to *W. aphylla*. These findings widen the diversity of mycorrhizal fungi associating with orchids, and open new perspectives on orchid and mycorrhizal biology in the tropics.

Résumé – Les organismes peuvent avoir des interactions différentes dans les écosystèmes tempérés et dans les écosystèmes tropicaux. Les orchidées non-chlorophylliennes, adaptées à pousser à l'ombre dans les sous-bois forestiers, en sont un bon exemple. Dans les forêts tempérées, elles ont des associations très spécifiques avec des champignons ectomycorhiziens, et exploitent ainsi la photosynthèse des plantes avoisinantes. Or, les champignons ectomycorhiziens sont absents dans la plupart des forêts tropicales. Cela soulève la question du stratagème développé par les orchidées non-chlorophylliennes dans les régions tropicales. Dans cet article, deux espèces choisies dans des contextes taxonomiques et géographiques différents, révèlent des associations inattendues avec divers champignons saprophytes : *Gastrodia similis* (La Réunion), associée au genre *Resinicium*, obtient du carbone issu de la décomposition de bois mort; *Wulfschlaegelia aphylla* (Guadeloupe), associée aux genres *Mycena* et *Gymnopus*, reçoit du carbone issu de la décomposition de feuilles mortes. En élargissant le spectre taxonomique des basidiomycètes associés aux orchidées, cette étude démontre l'existence d'interactions fonctionnellement différentes entre les écosystèmes tempérés et tropicaux.

INTRODUCTION

Les plantes n'exploitent pas directement les ressources du sol, mais dépendent pour cette activité de champignons du sol avec lesquels elles échangent des nutriments dans leurs racines (Smith & Read, 2008). Dans les forêts tempérées, la plupart des plantes ont des symbioses ectomycorhiziennes avec des champignons appartenant aux ascomycètes et aux

basidiomycètes. Dans les forêts tropicales, où l'on rencontre une très grande diversité de plantes, les associations mycorhiziennes sont très peu connues (Alexander & Selosse, 2009).

Toutefois, la symbiose ectomycorhizienne semble absente dans la plupart des forêts tropicales (Smith & Read, 2008). Cela soulève la question du stratagème développé par les orchidées non-chlorophylliennes dans les écosystèmes tropicaux. Apparues indépendamment chez les orchidées (Molvray *et al.*, 2000), les 180 espèces non-chlorophylliennes décrites ne réalisent pas la photosynthèse et exploitent le carbone de leurs champignons mycorhiziens (mycohétérotrophie), s'adaptant ainsi à la vie à l'ombre dans les sous-bois forestiers (Leake, 1994, 2004). Dans les forêts tempérées, plusieurs espèces ont intéressé la recherche ces dix dernières années. Chacune révèle une association très spécifique avec un type de champignon, lui même impliqué dans des symbioses ectomycorhiziennes avec des racines de plantes voisines. Par exemple, la néottie nid d'oiseau (*Neottia nidus-avis*) des forêts tempérées obtient des sucres de la photosynthèse des plantes avoisinantes, transmis par des champignons ectomycorhiziens (Selosse *et al.* 2002).

Les espèces tropicales ne semblent pas s'associer à des glomeromycètes (Dearnaley, 2007), groupe de champignons qui forme des symbioses avec la plupart des plantes étudiées dans les régions tropicales. En revanche, certaines espèces asiatiques montrent des stratagèmes différents quant à l'écologie des champignons impliqués et l'origine du carbone obtenu, comme l'espèce *Gastrodia elata* chez laquelle a été isolé un champignon parasite du genre *Armillaria* (Kusano, 1911 ; Kikuchi *et al.*, 2008). Cependant, la spécificité chez les orchidées mycohétérotrophes reste une règle générale (Taylor *et al.*, 2002).

Cet article présente la synthèse d'une étude réalisée par nos deux équipes de recherches. Dans cette étude (Martos *et al.*, 2009), nous démontrons par différentes méthodes que des orchidées mycohétérotrophes tropicales ont des associations avec divers champignons saprophytes, de façon peu spécifique, et obtiennent ainsi du carbone provenant de la dégradation de la matière organique végétale morte.

MATERIEL ET METHODES

Deux orchidées non-chlorophylliennes, appartenant à des genres distincts dans la sous-famille des Epidendroideae (Molvray *et al.*, 2000), ont été étudiées dans deux régions tropicales distantes géographiquement : *Gastrodia similis* Bosser (Bossier, 2006) (figure 1) à La Réunion (Mascareignes) qui fleurit annuellement entre août et septembre, et *Wulfschlaegelia aphylla* (Sw.) Rchb. F. (Feldmann & Barré, 2001) (figure 2) à La Guadeloupe (Antilles) qui fleurit annuellement entre avril et juin. Toutes les populations connues en 2007 ont été étudiées, soit cinq et quatre populations respectivement, dans des forêts humides denses de basse altitude. Deux à dix individus par population ont été échantillonnés au niveau de leurs racines. Au laboratoire de l'Université de La Réunion, des coupes fines ont été réalisées dans les racines et observées en microscopie optique afin de retenir des zones présentant des colonisations par des champignons. Au niveau de ces zones, des tronçons de racines de 0,5 cm ont été réalisés et traités pour des analyses de génétique et pour des observations de microscopie électronique (non détaillé ici; Martos *et al.*, 2009). D'autre part, pour vérifier nos hypothèses sur l'origine du carbone obtenu indirectement par les orchidées, différents échantillons ont été collectés dans l'environnement proche de plantes étudiées, et analysés pour leurs teneurs naturelles en éléments ¹³C et en ¹⁵N (non détaillé ici; Martos *et al.*, 2009). Simplement, les concentrations de ces deux éléments lourds dans les tissus des organismes sont utilisés comme des indicateurs permettant de retracer indirectement les chaînes alimentaires dans les écosystèmes (Trudell *et al.*, 2003 ; Zeller *et al.*, 2007).

RESULTATS

Chez *G. similis*, espèce endémique de La Réunion, trois nouvelles populations ont été découvertes au cours de cette étude. Les nouvelles populations ont été observées dans les deux forêts naturelles du Tremblet (Saint Philippe) et du Brûlé Takamaka (Sainte Rose), ainsi que dans une forêt secondaire à la Rivière Sainte Suzanne envahie par *Syzygium jambos* (Myrtaceae). Une sixième population, non étudiée ici, a été découverte récemment dans la forêt naturelle de Sainte Marguerite (Saint Benoît).

G. similis présente dans ses parties souterraines, un rhizome très développé rempli de réserves en amidon et dépourvu de champignons mycorhiziens. Les racines partant du rhizome présentent des colonisations massives par des champignons mycorhiziens au niveau de renflements importants. Ces renflements sont souvent directement en contact avec des débris de bois mort appartenant souvent à l'espèce *Nuxia verticillata* (Loganiaceae) (figure 1). D'autre part, *W. aphylla* présente dans ses parties souterraines des racines tubéreuses remplies de réserves en amidon et dépourvues de champignons mycorhiziens. De très longues racines secondaires, colonisées massivement, sont connectées par zones à des débris de feuilles mortes et même indirectement par des faisceaux allongés de champignons (rhizomorphes) (figure 2). En microscopie électronique, l'épiderme des racines colonisées est souvent nécrosé chez les deux espèces, et des colonisations massives sont observées à ce niveau dans des zones plus internes à la racine. Les champignons observés au niveau de ces zones montrent certaines structures microscopiques des basidiomycètes.

L'analyse génétique des champignons a confirmé la présence de plusieurs basidiomycètes. Un champignon *Resinicium sp.* (Hymenochaetales) a été identifié chez *G. similis* dans toutes les populations et chez la majorité des plantes. Alors que plusieurs champignons *Mycena spp.* et *Gymnopus spp.* ont été identifiés chez *W. aphylla* au sein des mêmes populations et parfois des mêmes plantes. Tous les champignons identifiés ont été rattachés à des groupes de champignons saprophytes dans les sols forestiers.

Enfin, les teneurs naturelles en ¹³C et en ¹⁵N ont conforté nos hypothèses sur les chaînes alimentaires des deux espèces, soit bois mort > champignon saprophyte > orchidée chez *G. similis*, et feuilles mortes > champignons saprophytes > orchidée chez *W. aphylla*.

DISCUSSION

Les deux espèces *G. similis* et *W. aphylla* montrent plusieurs similarités dans leur morphologie et dans celles de leurs associations mycorhiziennes, bien que ces deux espèces aient des origines taxonomiques différentes (Molvray *et al.*, 2000). De plus, leurs particularités diffèrent en de nombreux points du scénario sur le fonctionnement de la mycohétérotrophie décrit chez les orchidées tempérées :

- (1) L'interaction au niveau des racines : notamment au niveau de l'épiderme, vivant chez la plupart des plantes, qui est souvent nécrosé dans les zones colonisées par des champignons. S'agit-il d'un mécanisme orchestré par la plante pour attirer les champignons saprophytes en libérant des substances organiques près des racines?
- (2) La morphologie des racines : les deux espèces présentent des systèmes souterrains plus développés que la plupart des espèces tempérées. Ces particularités anatomiques sont-elles liées à une adaptation aux conditions écologiques des forêts tropicales humides ou bien à certaines positions taxonomiques chez les espèces?
- (3) Les champignons basidiomycètes impliqués dans des associations mycorhiziennes : les genres *Resinicium*, *Mycena* et *Gymnopus* identifiés dans cette étude, démontrent l'existence d'une diversité encore sous-estimée de basidiomycètes mycorhiziens. Cette étude rejoint les hypothèses de plusieurs apparitions indépendantes de la mycohétérotrophie chez les orchidées (Molvray *et al.*, 2000 et de changements fréquents de partenaires mycorhiziens durant l'évolution des genres

mycohétérotrophes—comme le genre *Gastrodia* dont les différentes espèces ont des associations avec *Armillaria* (Kusano, 1911), *Mycena* (Ogura-Tsujita *et al.*, 2009) et *Resinicium*. Ces changements ont-ils un rôle dans la diversification des espèces mycohétérotrophes?

- (4) De la matière végétale dégradée comme unique source de carbone: les orchidées mycohétérotrophes considérées comme des espèces « parasites » dans les milieux tempérés, spécialisées dans l'exploitation de la photosynthèse des plantes voisines, montrent un stratagème très différent dans les régions tropicales. Elles obtiennent du carbone par divers associations avec des champignons saprophytes, comme le genre *Resinicium spp.* décrit comme un groupe saprophyte spécialisé dans la décomposition du bois mort (Nakasone, 2007)
- (5) La non-spécificité chez l'espèce *W. aphylla* : la spécificité dans les interactions entre organismes peut varier entre les types d'écosystèmes. L'orchidée *W. aphylla*, en s'associant à divers champignons dans les populations et même dans les plantes, présente une spécificité peu marquée dans son choix de partenaires. Récemment, les orchidées *Aphyllorchis spp.* d'Asie tropicale ont révélé des associations peu spécifiques avec des champignons ectomycorhiziens (Roy *et al.*, 2009).

CONCLUSION

Les orchidées mycohétérotrophes, longtemps appelées orchidées saprophytes, révèlent dans cette étude des associations inattendues avec divers champignons saprophytes dans leurs racines. Ces résultats appellent à de nouvelles recherches sur d'autres espèces mycohétérotrophes des régions tropicales afin de vérifier si les particularités observées ici sont liées à des adaptations indépendantes aux conditions écologiques tropicales ou bien à certaines positions taxonomiques chez les orchidées. Plus généralement, cette étude montre que les végétaux peuvent avoir des interactions différentes dans les écosystèmes tempérés et tropicaux, ces derniers abritant probablement une grande diversité de niches écologiques originales.

Bibliographie

- Alexander I.J. & Selosse M.-A. 2009. Mycorrhizas in tropical forest: a neglected research imperative. *New Phytologist* 182: 14-16.
- Bidartondo M.I. 2005. The evolutionary ecology of mycoheterotrophy. *New Phytologist* 167: 335-352.
- Bosser J. 2006. Contribution à l'étude des Orchidaceae de Madagascar, des Comores et des Mascareignes. XXXV. Description d'un *Oeceoclades* nouveau de Madagascar, et notes sur trois genres nouveaux pour les Mascareignes. *Adansonia* 28: 45-54.
- Dearnaley J.D.W. 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. *Mycorrhiza* 17: 475-486.
- Feldmann P. & Barré N. 2001. Atlas des orchidées sauvages de la Guadeloupe. Patrimoines Naturels 48, Paris, SPN/IEGB/MNHN/CIRAD.
- Kikuchi G., Higuchi M., Morota T., Nagasawa E. & Suzuki A. 2008. Fungal symbiont and cultivation test of *Gastrodia elata* Blume (Orchidaceae). *Journal of Japanese Botany* 83: 88-95.
- Kusano S. 1911. *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea*. *Journal of the College of Agriculture Imperial University of Tokyo* 4: 1-65.
- Leake J.R. 1994. The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants. *New Phytologist* 127: 171-216.
- Leake J.R. 2004. Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 422-428.

- Martos F., Dulormne M., Pailler T., Bonfante P., Faccio A., Fournel J., Dubois M.-P. & Selosse M.-A. 2009. Independent recruitment of saprotrophic fungi by tropical achlorophyllous orchids. *New Phytologist* 184: 668-681.
- Molvray M., Kores P.J. & Chase M.W. 2000. Polyphyly of mycoheterotrophic orchids and functional influence on floral and molecular characters. In: Wilson K.L., Morrison D.A., eds. *Monocots: systematics and evolution*. Melbourne: CSIRO, 441-447.
- Nakasone K.K. 2007. Morphological and molecular studies on *Resinicium* s. str. *Canadian Journal of Botany* 85: 420-436.
- Ogura-Tsujita Y., Gebauer G., Hashimoto T., Umata H. & Yukawa T. 2009. Evidence for novel and specialized mycorrhizal parasitism: the orchid *Gastrodia confusa* gains carbon from saprotrophic *Mycena*. *Proceedings of the Royal Society London B* 276: 761-767.
- Roy M., Whatthana S., Richard F., Vessabutr S. & Selosse M.-A. 2009. Mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical dipterocarpacean forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. *BMC Biology* 7:51.
- Selosse M.-A., Weiss M., Jany J.L. & Tillier A. 2002. Communities and populations of sebacinoid basidiomycetes associated with the achlorophyllous orchid *Neottia nidus-avis* and neighbouring tree ectomycorrhizae. *Molecular Ecology* 11: 1831-1844.
- Smith S.E. & Read D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Cambridge, UK: Academic Press.
- Taylor D.L., Bruns T.D., Leake J.R. & Read D. 2002. Mycorrhizal specificity and function in myco-heterotrophic plants. In: Van der Heijden M.G.A., Sanders I, eds. *Mycorrhizal Ecology*. Berlin, Germany: Springer-Verlag, 375-413.
- Trudell S.A., Rygielwicz P.T., Edmonds R.L. 2003. Nitrogen and carbon stable isotope abundances support the myco-heterotrophic nature and host-specificity of certain achlorophyllous plants. *New Phytologist* 160: 391-401.
- Zeller B., Brechet C., Maurice J.P., Le Tacon F. 2007. ¹³C and ¹⁵N isotopic fractionation in trees, soils and fungi in a natural forest stand and a Norway spruce plantation. *Annals of Science* 64: 419-429.



Figure 1. Photographies de l'orchidée *Gastrodia similis*, endémique de La Réunion, enracinée dans des débris de bois mort de l'espèce d'arbre *Nuxia verticillata* (Loganiaceae). Forêt de Mare Longue à Saint Philippe ; août 2006.



Figure 2. Photographies de l'orchidée *Wulfschlaegelia aphylla* à La Guadeloupe, dont les racines sont connectées à des feuilles mortes par des rhizomorphes de champignons (filaments noirs). Forêt de la Traversée ; juin 2007.

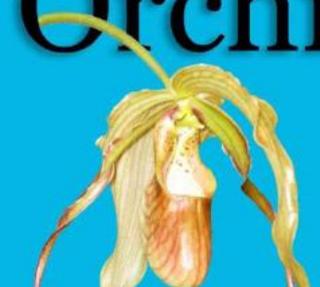
CAHIERS
DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ORCHIDOPHILIE

N°7 - 2010

Actes du

15^e colloque sur les Orchidées

Corum de Montpellier
30, 31 mai & 1 juin 2009





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

**du 30 mai au 1^{er} juin 2009
Montpellier, Le Corum**



Comité d'organisation :

**Daniel Prat, Francis Dabonneville, Philippe Feldmann, Michel Nicole,
Aline Raynal-Roques, Marc-Andre Seloisse, Bertrand Schatz**

Coordinateurs des Actes

Daniel Prat & Bertrand Schatz

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

Cahiers de la Société Française d'Orchidophilie, N° 7, Actes du 15^e Colloque sur les orchidées de la Société Française d'Orchidophilie.

ISSN 0750-0386

© SFO, Paris, 2010

Certificat d'inscription à la commission paritaire N° 55828

ISBN 978-2-905734-17-4

Actes du 15^e colloque sur les Orchidées de la Société Française d'Orchidophilie, D. Prat et B. Schatz, Coordinateurs, SFO, Paris, 2010, 236 p.

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