

# Étude de la dynamique évolutive des espèces d'orchidées méditerranéennes

## 1. Résumé synthétique de la demande

La présente demande de dérogation « espèce protégée » entre dans le cadre d'une étude scientifique collaborative qui associe une Unité Mixte de Recherche de l'Université de Perpignan Via Domitia et la délégation régionale PACA de la Société Française d'Écologie. Cette collaboration consiste à échantillonner (de manière non-destructive) un maximum d'espèces différentes d'orchidées de la région PACA afin d'en extraire l'ADN et de construire une phylogénie moléculaire des orchidées de France. Les connaissances générées permettront également de mieux appréhender les limites entre taxa parfois très proches et de fournir des préconisations concernant la gestion de ces espèces.

## 2. Justification et présentation du projet

### A. Présentation du demandeur

Le demandeur (Joris Bertrand) exerce en tant que Maître de Conférences (enseignant-chercheur) au laboratoire Génome & Développement des Plantes (UMR 5096 UVPD/CNRS) de l'Université de Perpignan Via Domitia. Il est spécialiste dans l'étude des radiation évolutives : phénomènes de diversification intenses et rapides de la biodiversité dont les orchidées constituent un cas d'étude prometteur. En parallèle, il est impliqué dans diverses associations naturalistes dont la Société Française d'Orchidophilie avec laquelle il collaborerait sur ce projet de recherche, notamment sur ce qui a trait à l'échantillonnage en milieu naturel. A ce titre, une partie de l'échantillonnage en région PACA serait effectué par les personnes suivantes: Pierre-Michel BLAIS, Mikael BUSI, René FOUCHER, Jean-Pierre GUÉGAN, Michel HAMARD et Michel PINAUD, botanistes amateurs experts.

### B. Justification du projets selon les critères cumulatifs définis par l'art L411-2 CE

La Région PACA est un '*hotspot*' majeur de biodiversité des orchidées (Orchidaceae) méditerranéennes (principalement des espèces de la tribu des Orchideae) et constitue donc un territoire de choix pour étudier comment ces plantes ont pu à ce point se diversifier au cours des derniers millions d'années. En parallèle, compléter les connaissances sur leur écologie et leur évolution permettrait de proposer des mesures plus pertinentes en matière de conservation. Ces espèces, souvent inféodées à des habitats particuliers et nécessitant une relation très spécifique avec des champignons et des insectes sont par exemple particulièrement vulnérables à des menaces telles que la destruction des habitats, le changement climatique et le déclin généralisé des populations de pollinisateurs.

L'objectif de cette étude est double. Nous visons un échantillonnage le plus taxinomiquement exhaustif possible des espèces d'orchidées de la Région PACA afin i) de générer un jeu de données génétique satisfaisant dans le but de construire une phylogénie moléculaire inédite des orchidées méditerranéennes et ii) de constituer une base de données de la taille du génome de chaque espèce. Dans une certaine mesure, de telles données existent mais les objectifs des

études au cours desquelles elles ont été acquises diffèrent au point que les rassembler en un jeu de données homogènes pour tenter de répondre à une question globale concernant l'écologie et l'évolution de ces plantes est aujourd'hui encore bien délicat.

Des études ont été menées à l'échelle de la famille des Orchidaceae (Givnish *et al.*, 2015) ou de ses différentes sous-familles, mais s'avèrent en général incomplètes sur le nombre d'espèces incluses dans chaque genre. D'autres auteurs se sont plutôt focalisées sur le niveau du genre: avec un échantillonnage plus exhaustif en terme de taxons (e.g. pour le genre *Ophrys Soliva et al.*, 2001; Devey *et al.*, 2008 ; Breitkopf *et al.*, 2015 et Bateman *et al.*, 2018) mais ne permettent pas de faire le lien avec les genres voisins. Les références les plus appropriées pour notre étude seraient sans doute les quelques études menées à l'échelle de la tribu (voir Inda *et al.*, 2012 pour un exemple chez les Orchideae) ou de la sous-tribu (voir Jin *et al.*, 2017 pour un exemple chez les Orchidineae). Mais malheureusement, de telles études s'avèrent encore incomplètes soit sur le nombre de taxons inclus, soit sur le nombre de gènes séquencés. Il en est de même concernant les données sur la taille du génome qui en dépit de quelques études chez les orchidées (Leitch *et al.*, 2009; Jersáková *et al.*, 2013) demeurent très fragmentaires.

Cette étude, constituerait donc une première étape d'un projet de recherche scientifique sur le long terme pouvant trouver des applications futures dans les domaines de la biogéographie et la systématique moléculaire, de la génomique ou encore de la biologie de la conservation de ces espèces et des populations qui les composent.

Nous précisons qu'aucun prélèvement ne sera effectué sur une propriété privée sans l'accord préalable du propriétaire ou le cas échéant, du gestionnaire.

## Description de l'impact du projet sur la ou les espèces protégées concernées

Bien que ce projet propose la collecte de plusieurs espèces, l'échantillonnage ne nécessite d'être fait que sur un nombre limité d'individus par espèce (< 2 ind./sp). De plus, cet échantillonnage consiste au prélèvement d'un extrait d'une bractée ou de feuille caulinaire (pour l'extraction d'ADN) et des pollinies d'une seule fleur par pied (pour l'estimation de la taille du génome en cytométrie en flux). Cet échantillonnage n'est donc pas censé compromettre la survie de l'individu. Au demeurant, nous sommes conscients que certaines des espèces pour lesquelles nous demandons l'autorisation de collecter des échantillons sont légalement protégées sur le plan régional et/ou national (voir tableau ci-après).

Ce travail scientifique nécessite en revanche de potentielles actions de prospection et comme la période de floraison diffère suivant les espèces, il nous apparaît *a priori* peu réaliste de fournir des dates et des lieux précis concernant la collecte et le transport des échantillons.

Liste des espèces d'orchidées (Orchidaceae) faisant l'objet d'un statut de protection légal dans la Région PACA et/ou en France

Genre	Espèce	Protection départementale	Protection régionale	Protection nationale	Département de collecte potentiel	Nb. max. ind./dép.
<i>Chamorchis</i>	<i>alpina</i>		Oui		04, 05, 06	2

<i>Dactylorhiza</i>	<i>traunsteineri</i>		Oui		04, 05	2
<i>Gymnadenia</i>	<i>odoratissima</i>		Oui		04, 05, 06	2
<i>Herminium</i>	<i>monorchis</i>	Oui (05)			04, 05, 06	2
<i>Ophrys</i>	<i>aurelia</i>			Oui	06, 13, 83, 84	2
<i>Ophrys</i>	<i>drumana</i>			Oui	04, 05, 06, 13, 83, 84	2
<i>Ophrys</i>	<i>provincialis</i>		Oui		04, 06, 13, 83, 84	2
<i>Orchis</i>	<i>spitzelii</i>			Oui	04, 05, 06, 83	2
<i>Serapias</i>	<i>neglecta</i>			Oui	06, 83	2
<i>Serapias</i>	<i>olbia</i>		Oui		06, 13, 83	2

### Mesure d'atténuation et/ou de compensation

Dans la mesure où notre échantillonnage est non-destructif, nous n'avons *a priori* pas prévu de mesure d'atténuation et/ou de compensation. Bien sûr, nous nous tenons à la disposition des autorités pour tout mettre en œuvre pour faire en sorte que notre démarche n'altère pas l'aptitude à survivre et à se reproduire des populations, notamment pour les espèces les plus sensibles. Par ailleurs, nous nous engageons à ne pas divulguer les coordonnées géographiques précises des individus échantillonnés dans les publications scientifiques qui émaneront de ce travail. Notre action se fera également en coordination avec les gestionnaires et différents acteurs locaux. Nous avons déjà entamé un dialogue, et même une collaboration, avec la délégation PACA de la Société Française d'Orchidophilie.

### Présentation du projet, finalité et objectifs

Cette étude permettra de générer des séquences d'ADN sur plusieurs marqueurs génétiques nucléaires et plastidiques qui en plus de servir à l'élaboration d'une nouvelle phylogénie moléculaire, iront directement alimenter des bases de données publiques telles que GenBank. Elle fournira ainsi des références pour toute étude ultérieure se basant sur l'utilisation de code-barres ADN pour améliorer l'identification des espèces en présence dans un environnement donné. En plus de servir de références en matière de taxinomie, de systématique et d'analyses diagnostiques de biodiversité, ces séquences donneront un meilleur aperçu de la diversité génétique des orchidées méditerranéennes. Ces derniers éléments s'avèreront cruciaux pour le développement ultérieur d'études à mener au niveau populationnel.

En attendant, nous espérons publier les résultats de cette étude dans un journal scientifique international indexé de premier plan et nous nous engageons à vulgariser nos résultats auprès du grand public.

### Références

Bateman R.M., Sramkó G & Paun O. (2018) Integrating restriction site-associated DNA sequencing (RAD-seq) with morphological cladistics analysis clarifies evolutionary relationships among major species groups of bee orchids. *Annals of Botany*, in press.

- Breitkopf H., Onstein R.E., Cafasso D., Schlüter P.M. & Cozzolino S. (2015) Multiple shifts to different pollinators fuelled rapid diversification in sexually deceptive *Ophrys* orchids. *New Phytologist*, **207**, 377-389.
- Devey D.S., Bateman R.M., Fay M.F. & Hawkins J.A. (2008) Friends or relatives? Phylogenetic and species delimitation in the controversial European orchid genus *Ophrys*. *Annals of Botany*, **101**, 385-402.
- Givnish T.J., Spalink D., Ames M., Lyon S.P., Hunter S.J. *et al.*, (2015) Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. *Proceedings of the Royal Society B*, **282**: 201551553.
- Inda L.A., Pimentel M. & Chase M.W. (2012) Phylogenetics of tribe Orchidoideae (Orchidaceae: Orchidoideae) based on combined DNA matrices: inferences regarding timing of diversification and evolution of pollination syndromes. *Annals of Botany*, **110**, 71-90.
- Jersáková J., Trávníček P., Kubátová B., Krejčíková J., Urfus T. *et al.* (2013) Genome size variation in Orchidaceae subfamily Apostasioideae: filling the phylogenetic gap. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **172**, 95-105.
- Jin W.T., Schuiteman A., Chase M.W., Li J.-W., Chung S.-W., Hsu T.-C. & Jin X.-H. (2017) Phylogenetics of subtribe Orchidinae s.l. (Orchidaceae; Orchidoideae) based on seven markers (plastid *matK*, *psaB*, *rbcl*, *trnL-F*, *trnH-psba* and nuclear nrITS, *Xdh*): implications for generic delimitation. *BMC Plant Biology*, **17**: 222.
- 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. *Annals of Botany*, **104**, 469-481.
- Soliva M., Kocyan A. & Widmer A. (2001) Molecular phylogenetics of the sexually deceptive orchid genus *Ophrys* (Orchidaceae) based on nuclear and chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **20**, 78-88.