

Parenté entre les *Ophrys* des types « bertolonii » et « lunulata »

Je viens de m'amuser à écrire un court texte sur des *Ophrys* apparentés

Suite aux balades maltaises de Philippe, avec cet *Ophrys melitensis* que je connais peu, cela a déclenché les commentaires qui vont suivre.

Sur la base du débat entre les orchidophiles qui multiplient le nombre d'espèces (splitters) et ceux qui tentent d'en réduire le nombre (lumpers), les orchidées du genre *Ophrys* sont classées d'un côté dans une trentaine de groupes morphologiques (Delforge, 2016), ou de l'autre dans neuf entités monophylétiques suffisamment distinctes génétiquement pour être reconnues comme d'authentiques espèces (Bateman et al., 2018). D'où la question : comment déterminer à quelle entité appartiennent les *Ophrys* des potentiels groupes « lunulata » et « bertolonii » de Delforge (2016) ? Le groupe « lunulata » comprend les *Ophrys lunulata*, *panattensis*, *promontorii* et *tarentina*, mais nous ne disposons de données génétiques (ADN nucléaire) que pour *lunulata* et *promontorii*, et pour l'ADN chloroplastique uniquement pour *O. lunulata*. Pour ce qui concerne le groupe « bertolonii », un peu plus important, il comporte les *Ophrys balearica*, *benacensis*, *bertolonii* / *aurelia*, *bertoloniiformis*, *catalaunica*, *drumana* / *saratoi*, *explanata*, *flavicans*, *magniflora*, et *melitensis*. Nous disposons de données ADN nucléaire (ITS) pour *benacensis*, *bertolonii*, *bertoloniiformis*, *catalaunica*, *drumana*, *explanata*, ainsi que de données ADN chloroplastique (*psbA-trnH* et *trnD-trnT*) pour *bertoloniiformis*, *catalaunica*, *drumana*, *explanata*.

Bon nombre d'orchidophiles ont bien du mal à comprendre et accepter le fait que les orchidées de l'ensemble « bertolonii » puissent être considérées comme des membres à part entière de la « macroespèce » *sphegodes* (pour ne pas dire de l'espèce *sphegodes*). C'est ce point qui sera discuté ici.

Que savons-nous de l'*Ophrys lunulata* et de ses proches ?

Les séquences ITS des *Ophrys promontorii* (*O* x *promontorii*) et *lunulata*, respectivement AY014538 et AM711712, sont identiques. Toutes deux sont également identiques à la séquence ITS de l'*Ophrys sphegodes* (AJ973254), séquence présente chez 26 des 47 *Ophrys* de la macroespèce *sphegodes* pour lesquels une séquence ITS a été identifiée : *O. aesculapii*, *O. aranifera* / *sphegodes*, *O. argolica*, *O. ariadnae*, *O. biscutella*, *O. bertoloniiformis*, *O. catalaunica*, *O. cilicica*, *O. cretica*, *O. drumana*, *O. exaltata*, *O. explanata*, *O. ferrum-equinum*, *O. garganica*, *O. gortynia*, *O. helenae*, *O. incubacea*, *O. litigiosa* / *araneola*, *O. lunulata*, *O. mammosa*, *O. morisii*, *O. passionis*, *O. promontorii*, *O. reinholdii*, *O. splendida*, *O. spruneri*.

Cette séquence ITS « *sphegodes* » se retrouve donc à la fois chez deux *Ophrys* du groupe « lunulata » : *lunulata* et *promontorii*, et d'autre part chez quatre *Ophrys* du groupe « bertolonii » (*bertoloniiformis*, *catalaunica*, *drumana*, *explanata*). Par ailleurs, lorsque l'on s'intéresse à l'ADN chloroplastique de l'*Ophrys lunulata*, avec ses deux séquences *psbA-trnH* (AM711680) et *trnD-trnT* (AM711944), nous notons l'identité de ces deux séquences, avec celles de l'*Ophrys catalaunica* (AM711658 et AM711922). Autrement dit ces deux *Ophrys* possèdent le même ancêtre maternel. Dans la mesure où ces *Ophrys drumana* et *lunulata* possèdent également la même séquence ITS (celle de *sphegodes*), il est



très vraisemblable qu'ils puissent être apparentés.

Que savons-nous de l'*Ophrys bertolonii* et de ses proches ?

Nous venons de voir que les séquences ITS de plusieurs *Ophrys* de l'ensemble « bertolonii » (*bertoloniiformis*, *catalaunica*, *drumana*, *explanata*) sont totalement identiques à la séquence ITS de l'*Ophrys sphegodes*. Par ailleurs, comme cela a été démontré par Devey et al. (2008), certains *Ophrys* possèdent une (1) ou deux (2) autres séquences ITS en plus de celle de *sphegodes*, comme les *Ophrys benacensis* (1), *catalaunica* (1), *drumana* / *saratoi* (1), *bertolonii* / *aurelia* (2). En ce qui concerne *catalaunica*, la seconde séquence ITS (AY699968) est identique à l'ITS des *Ophrys castellana* et *riojana*, tous deux appartenant à l'ensemble « sphegodes ». De même, une des deux séquences ITS de *bertolonii* / *aurelia* est présente chez l'*Ophrys araneola* également inclus dans l'ensemble « sphegodes » et chez l'*Ophrys cornuta* chez lequel elle aurait été introgressée. Que dire des autres séquences, si ce n'est qu'elles présentent de très faibles différences avec les séquences déjà connues, indiquant de très probables mutations. La séquence additionnelle de l'*Ophrys benacensis* (AM711804) est très proche des séquences ITS *garganica* et *drumana*. De même, pour la séquence de l'*Ophrys bertolonii* (AM711805) très voisine de celles des *Ophrys garganica* et *incubacea* (tous deux inclus dans l'ensemble « sphegodes ») et *drumana*. Enfin, la séquence ITS additionnelle (AM711824) de l'*Ophrys drumana*, ne diffère que par un nucléotide de la séquence ITS (AM711825) de l'*Ophrys drumana*, qui est identique à la séquence ITS de l'*Ophrys sphegodes*.

Pour ce qui est des séquences chloroplastiques *psbA-trnH* et *trnD-trnT*, nous ne disposons que des séquences des *Ophrys drumana*, *bertoloniiformis*, *catalaunica* et *explanata*. toutes très proches (identiques, ou avec 1, 2 ou 3 différences sur près de 2000 nucléotides) des séquences chloroplastiques des autres membres de la macroespèce *sphegodes*. La constatation importante est la suivante, aucun des *Ophrys* mentionnés dans ces lignes ne possède une séquence chloroplastique *psbA-trnH* totalement identique à celle de l'*Ophrys sphegodes*. Cependant, faute d'une identité totale avec *sphegodes*, ces *Ophrys* présentent des séquences chloroplastiques très voisines (au sens de ne différant que très peu, par un, deux ou trois nucléotides de celles des *Ophrys* de l'ensemble « sphegodes », comme *mammosa*, *ferrum-equinum*, *panormitana*, *incubacea*, etc...).



Philippe Burnel

Les pollinisateurs

Les *Ophrys* du groupe « lunulata » sont pollinisés par différentes abeilles *Osmia*. Par contre les *Ophrys* du groupe « bertolonii » font appel à différentes abeilles du genre *Chalicodoma*. Cependant, l'*Ophrys bertolonii* peut être pollinisé par la guêpe *Campsoscolia* ou par des abeilles *Chalicodoma* et *Eucera*.



Osmia Image internet

Que nous disent les phylogénies ?

En premier lieu, il faut mentionner le fait que les séquences chloroplastiques des *Ophrys drumana*, *bertoloniiformis*, *catalaunica*, *explanata* et *lunulata* appartiennent bien à l'ensemble nommé macroespèce *sphegodes*. Ceci est conforme à l'analyse de l'ADN chloroplastique effectuée par Devey et al. (2008) chez *O. bertoloniiformis*, *catalaunica*, *drumana*, *explanata* et *lunulata*, résultat que nous avons confirmé ultérieurement (Henry, 2015). Ajoutons à cela que l'*Ophrys lunulata* présent dans la phylogénie réalisée par Bateman et al. (2018), se trouve être très proche de l'*Ophrys sphegodes*. Il en va de même pour l'*Ophrys benacensis* (Bateman et al., 2018). Ces deux *Ophrys* appartiennent à la macroespèce « *sphegodes* » dans cette phylogénie basée sur l'ADN, mais probablement cent fois plus puissante que les phylogénies antérieures, puisqu'elle repose non plus sur une seule séquence (ITS), mais sur un très grand nombre (voir ci-dessous dans le paragraphe "quelques remarques"). Par ailleurs, il est important de noter que l'*Ophrys bertolonii* appartient à la macroespèce « *sphegodes* », dans la phylogénie réalisée à l'aide de 43 caractères morphologiques par Bateman et al. (2018). De plus, les *Ophrys lunulata*, *promontorii* et *bertolonii* sont classés au sein des « *sphegodes* » dans la phylogénie de Breitkopf et al. (2015). Enfin, si l'on consulte la phylogénie de Devey et al. (2008), on note que l'*O. lunulata* est membre de la macroespèce « *sphegodes* », ainsi que les *Ophrys benacensis*, *bertolonii*, *bertoloniiformis*, *catalaunica*, *drumana* et *explanata*.

Ces données constituent un ensemble cohérent (ADN nucléaire, ADN chloroplastique, morphologie). A l'évidence, les deux groupes « *lunulata* » et « *bertolonii* », peuvent être regroupés, dans la mesure où aucune donnée génétique ne permet de penser que ces soi-disant groupes puissent être distincts. Tout va dans le sens d'*Ophrys balearica*, *benacensis*, *bertolonii* / *aurelia*, *bertoloniiformis*, *catalaunica*, *drumana* / *saratoi*, *explanata*, *flavicans*, *lunulata*, *magniflora*, *melitensis*, *panattensis*, *promontorii* et *tarentina*, appartenant à l'ensemble « *sphegodes* », sans que pour le moment il soit possible d'indiquer un rang, si rang il y a. Il ne me semble donc plus nécessaire de polémiquer sur l'appartenance de ces *Ophrys* au vaste ensemble « espèce *sphegodes* ».

Mais cela ne signifie pas que désormais tout est dit. Une seule chose est claire, nous ne disposons à ce jour d'aucune donnée génétique susceptible de modifier cette conclusion, et nous ne disposons pas non plus de données morphologiques permettant de réviser les phylogénies actuelles.

Reste à effectuer un gros travail avec le même outil que viennent de développer Bateman et al. (2018), c'est-à-dire obtenir une phylogénie d'une part pour le vaste ensemble « *sphegodes* » (c'est en cours), et d'autre part pour l'énorme ensemble « *fuciflora* / *scolopax* » (c'est également en cours). Ces analyses permettront, s'ils existent, de mettre en évidence divers rangs ou divers groupements. Une autre hypothèse est que la majorité des *Ophrys* de chacun de ces deux ensembles (*sphegodes* et *fuciflora* / *scolopax*) ne se regroupent en aucun sous-ensemble particulier, mais composent un fatras de formes ne permettant pas de distinguer de rangs.

Quelques remarques

- NB : 1) Les données ITS et ADN chloroplastique indiquées dans les banques de données pour l'*Ophrys balearica* sont erronées, puisqu'elles correspondent en fait à des séquences concernant un *Ophrys* proche de *scolopax*.
2) La nomenclature n'accepte ni *O x tarentina*, ni *O x melitensis*. Par contre elle accepte *O x promontorii* (*bertolonii x sphegodes*) et *O x panattensis* (avec pour ce dernier une peu vraisemblable origine *fuciflora x sphegodes*).
3) Le nouvel outil développé par Bateman et al. (2018) a permis de mettre en évidence 4159 snp (single nucleotide polymorphism) pour 34 accessions du genre *Ophrys* (122 en moyenne), là où la seule séquence ITS de 25 *Ophrys* différents n'en révèle que 25 (donc 1 snp en moyenne).

Bibliographie

Bateman RM, Sramko G, Paun O, 2018.- Integration restriction site-associated DNA sequencing (RAD-seq) with morphological cladistic analysis clarifies evolutionary relationship among major species groups of bee orchids. *Annals of botany* 121(1) : 85-105.

Breitkopf H, Onstein RE, Cafasso D, Schlüter PM, Cozzolino S, 2015.- Multiple shifts to different pollinators fuelled rapid diversification in sexually deceptive *Ophrys* orchids. *New Phytologist* 207(2): 377-389.

Delforge O, 2016.- Guide des orchidées d'Europe, d'Afrique du nord et du proche-orient. 4th ed., Delachaux et Niestlé, pp. 640

Devey DS, Bateman RM, Fay MF, Hawkins JA, 2008.- Friends or relatives ? Phylogenetics and species delimitation in the controversial European orchid genus *Ophrys*. *Annals of Botany* 101: 385-402.

Henry Y, 2015.- Autour de l'ADN chloroplastique du genre *Ophrys*. *L'Orchidophile* 206 46 (3): 299-317

HY

12 avril 2018, sur ophrys.bbactif.com

PHOTOS DU FORUM OPHRYS.BBACTIF.COM

Et surtout aiguissez votre sens critique (examen, appréciation, jugement).