La fougère *Diplazium proliferoides* Bory, une espèce d'origine hybride (Polypodiales : Athyriaceae)

Yannis Robert[1], Hermann Thomas[2], Jean Maurice Tamon[1], Germinal Rouhan[3]

[1] Association des naturalistes de Bourbon, 18 rue des Capucines, 97431 La Plaine des Palmistes, La Réunion

[2] Parc national de La Réunion, 258 rue de la république, 97431 La Plaine des Palmistes, La Réunion.

[3] Muséum national d'Histoire naturelle, Institut Systématique Evolution Biodiversité (ISYEB), CNRS, Sorbonne Université, EPHE, Herbier national, 57 rue Cuvier, CP39, 75005, Paris, France

Résumé : Dans la Flore des Mascareignes, BADRÉ (2008) a traité le nom *Diplazium proliferoides* Bory en synonymie de *D. proliferum* (Lam.) Thouars, soulignant toutefois que la dissection des frondes de ces deux taxons est différente : *D. proliferum* a des frondes pennées alors que *D. proliferoides* a des frondes bipinnatifides à bipennées. Nous montrons dans cette étude, grâce à des données cytologiques et biométriques sur les stomates, que *D. proliferoides* est d'origine hydride, ayant *D. proliferum* et *D. arborescens* Bory (Sw.) pour parents putatifs. Nous confirmons également, grâce à nos mesures sur des échantillons provenant de l'Herbier national de Paris (P), la présence ancienne de *D. arborescens* et de *D. proliferoides* à l'île Maurice.

Abstract : In the Flore des Mascareignes, BADRÉ (2008) has treated the name *Diplazium proliferoides* Bory as synonymy of *D. proliferum* Lam. Thouars emphasized that the fronds dissection of both taxa were different : *D. proliferum* has pinnate fronds whereas *D. proliferoides* has bipinnatid to bipinnate fronds.

We show here, through cytological and biometric data on stomata, that *D. proliferoides* has an hybrid origin with *D. proliferum* and *D. arborescens* Bory (Sw.) as putative parents. We also confirm, using specimens from the Herbarium of Paris (P), the historical presence of both *D. arborescens* and *D. proliferoides* on Mauritius.

Mots clés : Hybride, cytologie, biométrie des cellules stomatiques, La Réunion, Maurice, Mascareignes, pteridophytes.

Key words: Hybrid, cytology, biometrics of stomatal guard cells, Reunion, Mauritius, Mascarene archipelago, pteridophyta.

recu le 09/07/2018 ; accepté le 28/11/2018

INTRODUCTION

Avec environ 350 espèces, *Diplazium* Sw. est le genre le plus diversifié de la famille de fougères des *Athyriaceae* (PPGI, 2016). Le genre a une répartition pantropicale, avec deux grands centres de diversité spécifique, en Malaisie (ca. 70%) et dans les Néotropiques (ca. 25 %), et le reste des espèces (ca. 5%) en Australie, Afrique et océan Indien (Wei et *al*., 2013).

Cinq espèces de *Diplazium* sont connues des Mascareignes (BADRÉ, 2008) : *D. arborescens* (Bory) Sw., *D. dilatatum* Blume, *D. proliferum* (Lam.) Thouars, *D. sylvaticum* (Bory) Sw., ainsi qu'une espèce introduite cultivée à Maurice, *D. esculentum* (Retz.) Sw. *D. sylvaticum* ne serait

présente qu'à l'île Maurice alors que *D. arborescens*, *D. dilatatum*, et *D. proliferum* sont connues de La Réunion et Maurice, bien que *D. arborescens* n'a plus été récoltée à Maurice depuis le vingtième siècle et *D. dilatatum* n'a plus été observée à La Réunion depuis une récolte de Bernier en 1852, conservée à l'Herbier de Paris (barcode : P01490381).

Dans la Flore des Mascareignes, BADRÉ (2008) a traité au sein de l'espèce *D. proliferum* des plantes montrant une importante variabilité morphologique inter-individuelle pour la dissection des frondes (simplement pennées jusqu'à bipinnatifides). Les plantes à dissection bipinnatifide ont été initialement décrites par Bory comme appartenant à l'espèce distincte, *D. proliferoides* Bory.

Dans cette étude, en se fondant sur des caractères morphologiques et cytologiques ainsi que sur la biométrie stomatique, nous avons recherché à caractériser les variations des plantes des Mascareignes traitées actuellement comme *D. proliferum*, et à tester l'hypothèse selon laquelle le morphotype '*D. proliferoides*' représente un taxon bien distinct de *D. proliferum*.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Aire de répartition et distribution altitudinale à La Réunion

Des prospections de terrain ont été réalisées à La Réunion à la recherche de stations de *D. proliferum*, '*D. proliferoides*' et de *D. arborescens*. La présence de ces différents taxons ainsi que les coordonnées géographiques et l'altitude ont été relevées pour chacune des stations.

Morphologie foliaire

Les individus observés sur le terrain ont été caractérisés pour l'architecture foliaire par trois mesures : longueur des frondes, longueur et largeur des pennes les plus grandes.

Comptages chromosomiques

Des comptages chromosomiques ont été réalisés sur cinq individus prélevés sur le terrain, et cinq en culture (Plaine des Palmistes, jardin privé de J.M. Tamon). La viabilité des spores a été vérifiée par une observation microscopique des spores et des sporanges sur ces mêmes individus. En suivant le protocole de ROBERT (2014), la cytologie a été réalisée sur des cellules mères de spores lors de la méiose, comme proposé par GIBBY (1985). Les jeunes sporanges sont fixés dans un mélange 3 : 1 d'éthanol et d'acide acétique glacial et conservé à - 18°C pendant au moins 24 heures. Ces jeunes sporanges sont ensuite squashés dans une goutte de carmin acétique.

Biométrie stomatique

Les cellules de garde des stomates ont été examinées et mesurées sur des échantillons pour lesquels nous avions également effectué les comptages chromosomiques, en plus d'échantillons d'herbier de l'Herbier national de Paris (P) (*Tab. I*). Les épidermes foliaires ont été préparés à partir de fragments de limbe réhydratés pendant une demi-heure dans de l'eau à température ambiante. L'épiderme de la face abaxiale a ensuite été décollé et prélevé à l'aide d'aiguilles et pinces fines, pour être monté entre lame et lamelles de microscope. Les épidermes ont été observés au microscope optique (grossissement x400), et les stomates photographiés. En suivant la méthode de BIZOT *et al.* (2016), nous avons mesuré la longueur de contact entre les deux cellules de garde. Etant donné qu'au moins 60 mesures par individus sont nécessaires pour obtenir une longueur

moyenne significative (BIZOT *et al.,* 2016), cent mesures ont été réalisées pour chaque individu de chacune des trois espèces.

Tableau I : Détermination des spécimens de l'herbier P à partir des données biométriques des stomates.

Spécimens provenant de l'herbier (P)	Pays d'origine du spécimen	Première détermination	Détermination de Badré	Détermination Robert basée sur la taille des stomates
P01455218 Partie en bas de la planche.	Maurice	*D. proliferoides* (Dét : Bélanger)	*D . proliferum*	*D. proliferum*
p01455218 Partie en haut de la planche.	Maurice	*D. proliferoides* (Dét : Bélanger)	*D . proliferum*	*D . proliferoides*
P01455213	Maurice		*D. proliferum*	*D. proliferum*
P01455224	Maurice		*D. proliferum*	*D. proliferum*
p01455235	Maurice	*D. proliferum* (Dét : Bory)	*D. proliferum*	*D. proliferum*
P01327026 Partie en haut à droite de la planche.	Maurice			*D. proliferum*
p01327026 Partie en bas au milieu de la planche.	Maurice			*D. proliferoides*
P01490447	Maurice		*D. arborescens*	*D. arborescens*
P01489144	Maurice	*D. arborescens* (Dét : Baudouin)		*D. arborescens*
P00483041	Maurice	*D. proliferoides* (Dét : Bélanger)	*D. proliferum*	*D. proliferoides*
P01455211	Maurice		*D. proliferum*	*D. proliferoides*
P01455278 Partie en haut de la planche	La Réunion	*D. proliferoides* (Dét : Boivin)	*D. proliferum*	*D. proliferoides*
P01455227	Maurice	*D. sp* (Dét : Bouton)	*D. proliferum*	*D. proliferoides*

RÉSULTATS

Les prospections de terrain sur l'ensemble de l'île de La Réunion ont permis de trouver 21 stations. Leur géoréférencement a abouti à dresser la carte de répartition (*Fig. 1*) et un diagramme altitudinal (*Fig. 2*) pour les trois taxons *D. arborescens*, *D. proliferum*, et '*D. proliferoides*'. *D. arborescens* montre la plus vaste aire de répartition incluant les forêts de basse, de moyenne et de haute altitude. *D. proliferum* ne se rencontre que dans la végétation de basse et de moyenne altitude. *D.*'*proliferoides*' se trouve à basse et à moyenne altitude à la limite des aires de répartition des deux autres espèces.

Les mesures de taille effectuées sur le terrain montrent que '*D. proliferoides'* a des frondes plus grandes que *D. proliferum* et qu'il en est de même pour la longueur et largeur de la penne la plus grande (*Tab. II)*.

Les comptages chromosomiques ont donné n = 80 bivalents pour *D. proliferum* (*Fig. 3*) et n = 90 (65 univalents, 20 bivalents et 5 trivalents) pour *D.* '*proliferoides*' (*Fig. 4*). ROBERT (2014) a montré que *D. arborescens* est une espèce diploïde avec n = 40 bivalents.

Les cellules de garde des stomates mesurent en moyenne 50 µm chez *D. proliferum*, 40 µm chez *D. proliferoides* et 30 µm chez *D. arborescens* (*Fig. 5*). Ces résultats sont en accord avec GOLDBLATT (1974), BARRINGTON *et al.* (1986) et BECK *et al*. (2003) qui ont montré pour plusieurs groupes de plantes que la longueur des cellules stomatiques augmente selon le niveau de

ploïdie. *D. proliferum* et *D. arborescens* ont des spores viables et peuvent se reproduire de façon sexuée ce qui n'est pas le cas de *D. proliferoides* puisque ses spores sont toutes avortées.

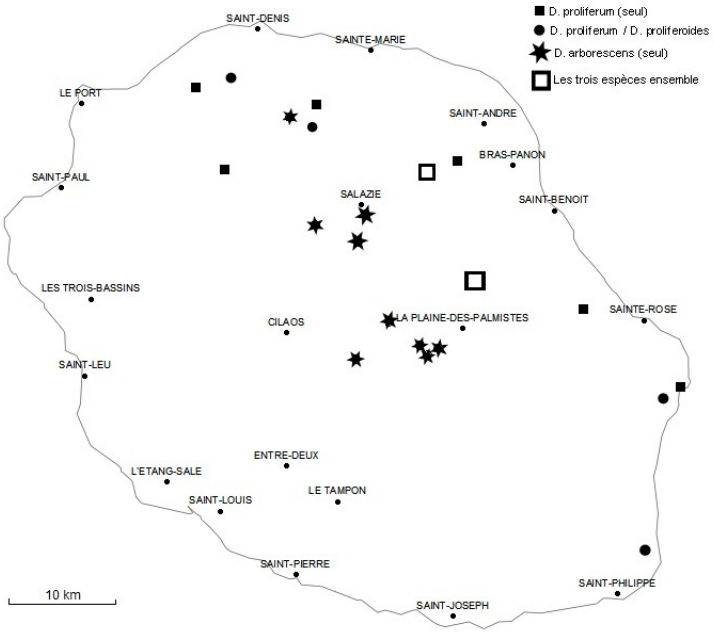


Figure 1. – Carte de répartition de *D. arborescens* (étoile noire), *D. proliferum* (carré noir), *D. proliferoides* et *D. proliferum* (rond noir) et les trois espèces ensemble (carré blanc) à La Réunion.

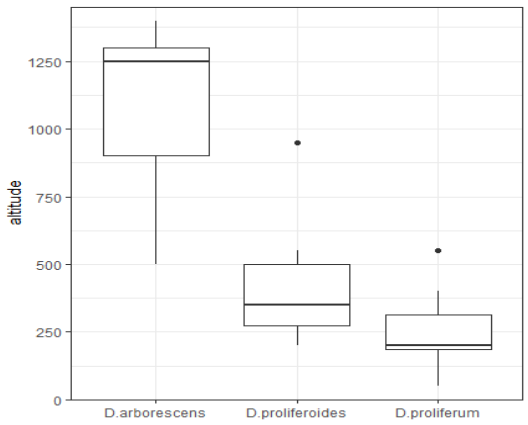
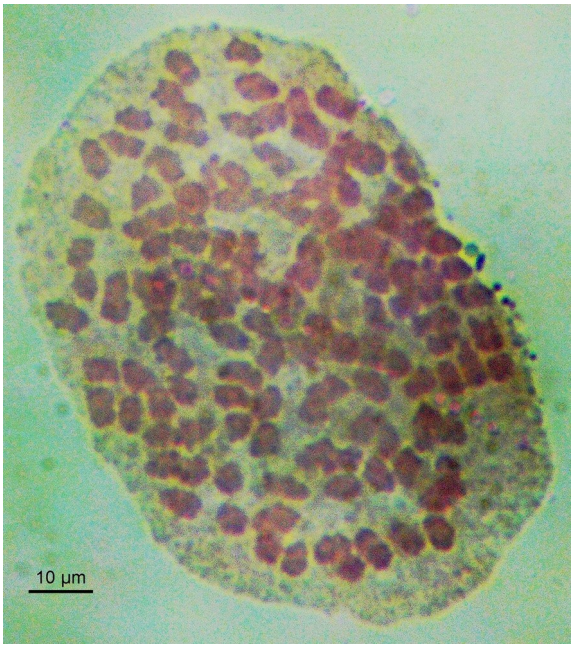


Figure 2. – Répartition altitudinale de *D. arborescens*, *D. proliferum* et *D. proliferoides* à La Réunion.

Tableau II : Comparaison des frondes de *D. proliferum* et *D. proliferoides.*

Caractères		*D. proliferoides*	*D. proliferum*
Longueur des frondes (en cm)		(165) 235 (310)	(128) 174 (220)
Taille de la plus grande penne	Longueur	(28) 43 (53)	(16,5) 23 (27)
	largeur	(5,5) 9,8 (15)	(4) 5,6 (6,5)
Division du limbe		Bipinnatitife à bipennée	pennée

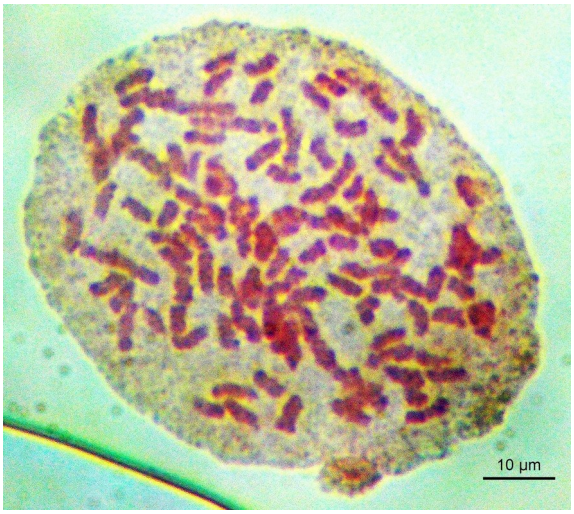


3a

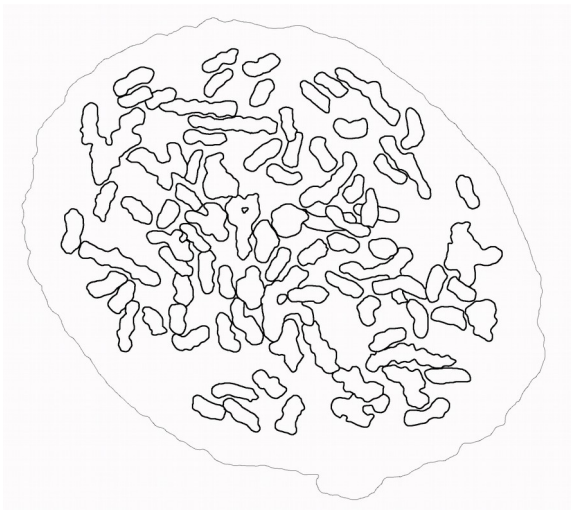


3b

Figure 3. – D. proliferum : *3a)* microphotographie d'une cellule mère de spore ; *3b)* dessin d'interprétation de méiose montrant 40 bivalents.



4a



4b

Figure 4 – *D. proliferoides* : ***4a)*** microphotographie d'une cellule mère de spore ; *4b)* dessin d'interprétation de méiose montrant 65 univalents, 20 bivalents et 5 trivalents.

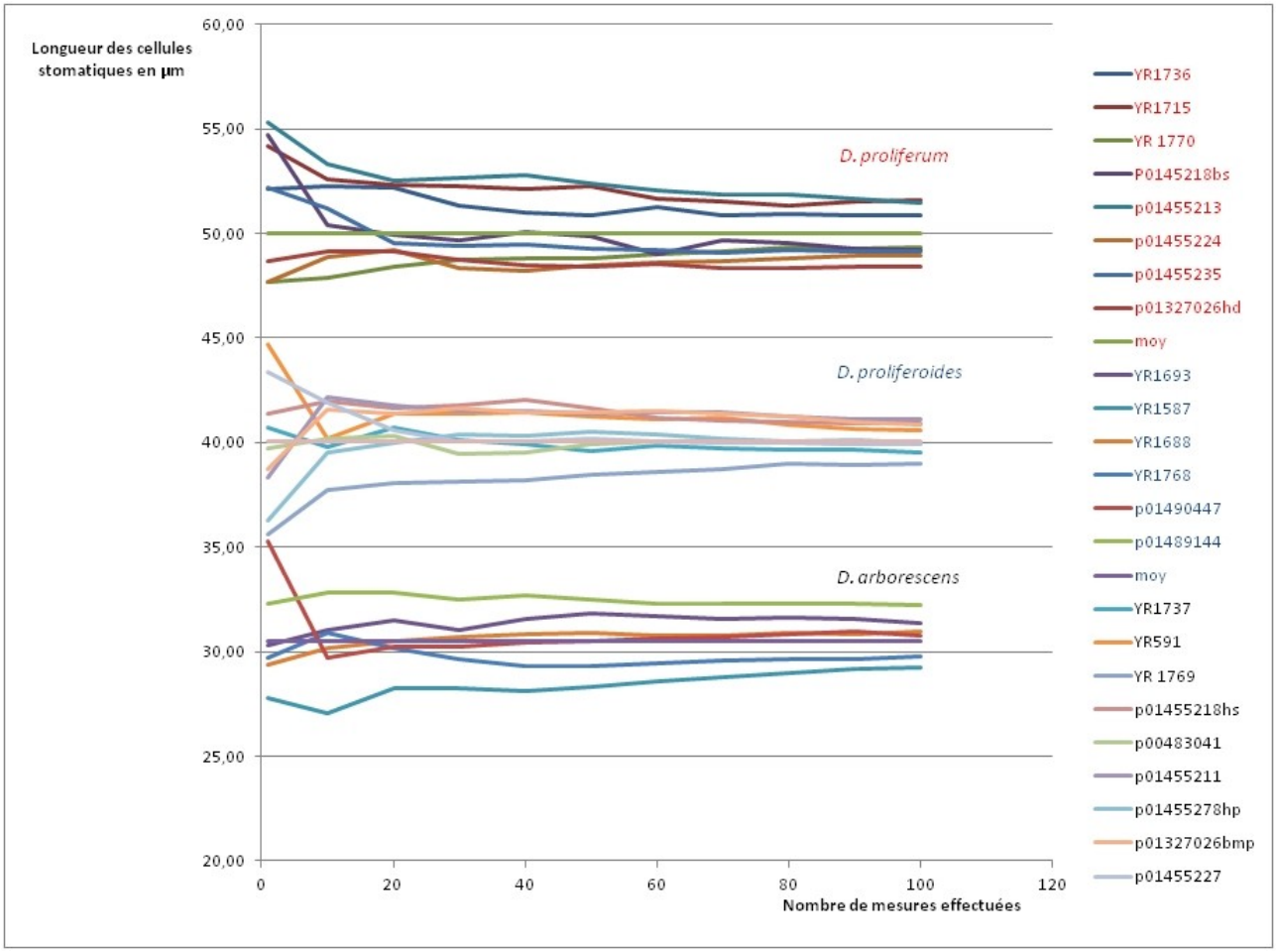


Figure 5. – Graphique montrant la longueur moyenne des cellules de garde des stomates de *D. arborescens*, *D. proliferum* et *D. proliferoides*.

DISCUSSION

Le morphotype '*D. proliferoides'* possède des frondes plus grandes que *D. proliferum* et l'architecture foliaire bipinnatifide est intermédiaire entre la forme pennée de *D. proliferum* et celle tripennée de *D. arborescens*.

L'étude de la répartition des trois espèces à La Réunion montre également une position intermédiaire de *D. proliferoides* qui se rencontre surtout à moyenne altitude, quand *D. proliferum* se rencontre à basse altitude et *D. arborescens* à moyenne et haute altitude.

En considérant que le nombre chromosomique de base est x = 40 pour les trois *Diplazium* étudiés, les résultats de cytologie montrent que *D. proliferoides* est triploïde avec 2n = 3x alors que *D. arborescens* est diploïde avec n = x et *D. proliferum* est tétraploïde avec n = 2x.

Les résultats de biométrie stomatique montrent également que *D. proliferoides* à une longueur moyenne des cellules de garde intermédiaire par rapport aux résultats obtenus pour ses deux parents putatifs.

L'ensemble de ces résultats semblent montrer que *D. proliferoides* est un hybride triploïde stérile (spores non viables), et que les deux parents putatifs sont *D. arborescens* et *D. proliferum*. Les individus de *D. proliferoides* peuvent se maintenir dans la nature grâce à une reproduction

végétative efficace par l'intermédiaire de nombreuses bulbilles sur le rachis des frondes (*Fig. 6*), qui en s'enracinant à proximité des pieds mères donnent de nouveaux individus. Cela explique que *D. proliferoides* ne se rencontre que dans les zones où les deux parents putatifs sont proches.



Figure 6. – Photographie du rachis de *D. proliferoides* montrant une bulbille.

TAXONOMIE

Diplazium × *proliferoides* Bory (*pro sp.*), in *Bél., Voy. Indes Or*. 2 : 38 (1833).

Typus : Maurice, C.P. Bélanger s. n. (holotype : P00483041!)

Athyrium accedens (Blume) Milde var. *proliferoides* (Bory) Tardieu-Blot, Bull. Mus. Hist. Nat. (Paris), sér. 2, 29 : 290 (1957).

Description

Rhizomes dressés pouvant former un tronc court. Frondes largement elliptiques, (165–) 235 (–310) cm, rétrécies au sommet et se terminant en une penne triangulaire. Pétiole vert (noirâtre à la base), canaliculé sur la face adaxiale, 2 cm de diamètre à la base, couvert à l'état juvénile de protubérances portant des écailles noirâtres, étroites et longuement acuminées, à dents furquées. Rachis et costae glabrescents ; bourgeons gemmifères sur le rachis. Limbe bipinnatifide à bipenné, environ 20 paires de pennes, les basales réduites et courtement pétiolées, les suivantes plus grandes,

(28–) 43 (–53) cm x (5,5–) 9,8 (–15,0) cm. Les pennes sont pennées à la base et pinnatifides au sommet avec le premier lobe basiscopique plus développé. Les lobes sont subentiers à dentés. Les nervures sont bien visibles sur les deux faces du limbe, pennées dans les lobes, bifides et libres dans la partie basale du lobe et se rejoignent près de la marge pour former des aréoles, au sommet du lobe. Sores présents sur toutes les nervures partant de la nervure principale mais n'atteignant pas la marge. Les premiers sores à la base du lobe sont diplazioïdes. Les spores sont avortées. Nombre chromosomique : 2n = 120 (triploïde).

Spécimens étudiés :

Echantillons de La Réunion *in* Herbier privé Yannis Robert utilisés pour la cytologie, les mesures morphométriques et la biométrie des stomates :

D. arborescens – Plaine des Palmistes, forêt de la Petite Plaine, 17/01/2013, Robert 1587 ; Salazie, Piton d'Anchain, 19/03/2014, Robert 1693.

D. proliferoides – Saint-Benoît, Berges du grand Etang, 14/10/2004, Robert 591 ; Plaine des Palmistes, Jardin de Jean Maurice Tamon, 15/02/2015, Robert 1737.

D. proliferum – Bras Panon, berges de la rivière du Mât, 01/07/2014, Robert 1715 ; Bras Panon, berges de la rivière du Mât, 15/02/2015, Robert 1736.

Echantillons provenant de l'Herbier de Paris (P) utilisés uniquement pour la biométrie stomatique :

D. arborescens – Maurice, Commerson s. n. [P01490477] ; Maurice, Herbier Baudouin [P01489144].

D. proliferoides – Maurice, 1832, Bélanger [P01455218] haut du spécimen ; Maurice, Bélanger [P00483041] Holotype ; Maurice, 1831, Bélanger [P01455211] ; Réunion, Boivin 876 [P01455278] haut de la planche ; Maurice, 1850, Vesco [P01327026] en bas à gauche de la planche.

D. proliferum - Maurice, 1832, Bélanger [P01455218] bas du spécimen ; D. Lorence 1381 [P01455213] ; Commerson [P01455224] ; 1800-1801, Bory [P01455235] ; Maurice, 1850, Vesco [P01327026] en haut à droite de la planche.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le MNHN – Herbier national (P) et plus précisément le Docteur Myriam Gaudeul qui nous a fourni les échantillons de *Diplazium* conservés dans l'herbier (P).

RÉFÉRENCES

BADRE F., 2008. – *Ptéridophytes. 1. Psilotacées à 26 Marsiléacées. In* BOSSER J., BADRE F. & GUEHO J. (eds), *Flore des Mascareignes - La Réunion, Maurice, Rodrigues.* Institut de Recherche pour le Développement, Paris ; Mauritius Sugar Industry Research Institute, Ile Maurice ; The Royal Botanic Gardens, Kew, 454 p.

BARRINGTON D. S., PARIS C. A. & RANKER T. A., 1986. – Systematic Inferences from spore and stomate size in the ferns. *American Fern Journal,* **76** (3): 149-159.

BECK S. L., DUNLOP R. W. & FOSSEY A., 2003. – Stoma length and frequency as a measure of ploidy level in black wattle, *Acacia mearnsii* de Wild. *Botanical Journal of the Linnean Society,* **141**: 177-181.

BIZOT A., HOLVECK P., THOMAS J-F. & VIANE R., 2016. – Biométrie stomatique dans le genre *Polystichum* en Europe : résultats, enseignements et intérêts. *Bullettin de la Société d'Histoire naturelle des Ardennes,* **105** Année 2015 (2016) : 44-69.

GIBBY M., 1985. – Cytological observations on Indian subcontinent and Chinese *Dryopteris* and *Polystichum* (Pteridophyta : Dryopteridaceae). *Bullettin of the British Museum Natural History (Botany),* **14** (1) : 1-42.

GOLDBLATT P., 1974. – Biosystematic studies in *Papave*r section *Oxytona*. *Annals of the Missouri Botanical Garden,* **61** (2): 264-296.

PPG I (THE PTERIDOPHYTE PHYLOGENY GROUP), 2016. – A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. *Journal of Systematics and Evolution,* **54** (6): 563–603.

ROBERT Y., 2014. – Nombre chromosomique des Ptéridophytes des Mascareignes : Première contribution (*Plantae : Pteridophyta*). *Cahiers scientifiques de l'océan Indien occidental,* **5** : 1-17.

WEI R., SCHNEIDER H. & ZHANG X-C., 2013. – Toward a new circumscription of the twinsorus-fern genus *Diplazium* (Athyriaceae) : A molecular phylogeny with morphological implications and infrageneric taxonomy. *Taxon,* **62** (3): 441-457.

View publication stats