

SIGNIFICATION BIOGEOGRAPHIQUE DES PROCESSUS D'ADAPTATION PHOTOSYNTHETIQUE. II : L'EXEMPLE DES ORCHIDEES MALGACHES

Manfred KLUGE ¹, Jeanne BRULFERT ², & Bettina VINSON ¹

¹ Institut für Botanik der Technischen Hochschule, D-64287, Darmstadt, ALLEMAGNE

² CNRS / URA 1128, Institut de Biotechnologie des Plantes, Université de Paris-Sud, 91405 Orsay, FRANCE

ABSTRACT.- The abundance of Crassulacean Acid Metabolism (CAM), a water-saving mode of photosynthesis, was screened among orchids of Madagascar by estimation of stable carbon isotope ratios ($\delta^{13}\text{C}$ values). Both in the higher cool and lower warm montane forests, about 50% of the epiphytic orchids were found to represent CAM plants, whereas all terrestrial species of these habitats are C_3 -plants. This finding supports the view that CAM provides ecophysiological advantage under the conditions of epiphytic life. Among the epiphytic CAM orchids are the well-known *Angraecum sesquipedale* and all the leaf less orchids tested. CAM was found also in orchids growing in shallow soils on the dry inselbergs, for instance in *Angraecum sororium* and *A. eburneum*. *Bulbophyllum* species growing at the same sites perform C_3 photosynthesis, because these plants can store water in their pseudo-bulbs thus do not depend on water-saving modes of photosynthesis.

KEY-WORDS.- Crassulacean Acid Metabolism (CAM), Orchids, Photosynthesis

RESUME.- La fréquence du fonctionnement photosynthétique de type CAM (Métabolisme Acide des Crassulacées) parmi les Orchidées malgaches a été étudiée par analyse de composition isotopique pour le carbone ($\delta^{13}\text{C}$) des tissus. Dans les forêts chaudes de basse altitude aussi bien que dans les forêts de montagnes plus fraîches, environ 50% des orchidées épiphytes fonctionnent comme des plantes CAM. Par contre, toutes les espèces terrestres dans ces habitats montrent une photosynthèse de type C_3 . Ces résultats sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle le CAM, mode photosynthétique assurant aux plantes une économie d'eau, procure un avantage écologique aux espèces vivant en situation épiphytique. Parmi les orchidées épiphytes CAM se trouvent l'espèce très connue *Angraecum sesquipedale* et toutes les orchidées dites « aphyllées ». Le fonctionnement CAM a aussi été détecté chez les orchidées poussant sur les sols superficiels des inselbergs secs, par exemple *Angraecum sororium* et *A. eburneum*. Les espèces de *Bulbophyllum* poussant sur les mêmes sites fonctionnent « en C_3 », probablement parce qu'elles sont capables de stocker de l'eau dans leurs pseudo-bulbes et ainsi ne dépendent pas d'une adaptation de leur type de photosynthèse.

MOTS-CLES.- Métabolisme Acide des Crassulacées, Orchidées, Photosynthèse

INTRODUCTION

La répartition géographique des espèces végétales dépend de leurs potentialités de production primaire, c'est-à-dire de leur capacité de photosynthèse dans les conditions

d'environnement de leur micro- ou macro-habitat. Ceci est évident lorsque l'on observe la distribution des espèces d'orchidées. Ces plantes ont conquis des sites terrestres arides ou humides, dans des conditions d'ombre ou d'ensoleillement maximal, aussi bien que des habitats épilithiques ou épiphytiques. C'est dire qu'elles sont capables de répondre à des demandes écophysiologicals très différentes. Devant l'extrême diversité des conditions d'environnement naturel auxquelles les orchidées doivent faire face, on devrait donc s'attendre à ce que l'ensemble de la famille soit caractérisé par une grande diversité de comportement photosynthétique, tant au plan génotypique que phénotypique. Cependant, en dépit de quelques travaux précis, les connaissances actuelles sur l'écophysiological de la photosynthèse chez les orchidées sont peu fournies (voir les revues par ARDITTI, 1979, GOH & KLUGE, 1989). L'étude des orchidées malgaches paraît particulièrement intéressante pour combler cette lacune. Madagascar montre en effet non seulement une grande diversification des formes de vie des espèces appartenant à cette famille (espèces dont beaucoup sont en outre endémiques) (RAUH, 1973), mais possède également une extrême diversité de climats et de gradients climatiques (GUILLAUMET, 1984), forçant les plantes à développer des processus adaptatifs à des niveaux structurels ou physiologiques. Ainsi, les orchidées malgaches constituent un terrain expérimental très riche pour des études d'écophysiological comparative. Nous décrivons ci-après des travaux entrepris sur certaines de ces orchidées, dans le but d'une meilleure compréhension du rôle joué par les mécanismes d'adaptation photosynthétique, pour la répartition géographique des espèces considérées.

TYPES DE PHOTOSYNTHESE PRESENTES PAR LES ORCHIDEES

Comme précédemment décrit (BRULFERT *et al.*, ce volume), il existe 3 types de photosynthèse, spécifiquement dits, en « C₃ », en « C₄ » et « Métabolisme Acide des Crassulacées » (CAM). La photosynthèse en C₄ et le CAM sont considérés comme « adaptatifs » car permettant aux cormophytes terrestres de diminuer les pertes transpiratoires, fréquentes chez la plupart des plantes supérieures au moment où s'effectue l'absorption de CO₂ externe (substrat photosynthétique) par les stomates ouverts. On sait que les orchidées ne montrent jamais le type photosynthétique C₄ (EARNSHAW *et al.*, 1987; WINTER *et al.*, 1983; GOH & KLUGE, 1989); les modes C₃ et CAM sont donc les seules options adaptatives à considérer pour ces plantes. L'article précédent, dans ce volume, décrit les voies métaboliques concernées ainsi que l'intérêt des mesures de composition isotopique des tissus (valeurs de $\delta^{13}\text{C}$) comme critère de distinction entre les différentes options photosynthétiques par lesquelles le CO₂ externe est absorbé par les plantes au cours de leur croissance.

LE METABOLISME ACIDE DES CRASSULACEES (CAM), CHEZ LES ORCHIDEES EPIPHYTES

Les orchidées épiphytes, comme tous les végétaux épiphytes, lorsque qu'elles ne prennent pas racine dans des micro-habitats à réserves d'eau (par exemple, en cas d'humus accumulé dans les bifurcations de la tige du phorophyte), ont peu de disponibilité en eau (GOH & KLUGE, 1989). La pluie et la rosée nocturne sont les seules sources d'eau dont elles disposent. Ces espèces sont donc les plus abondantes et les plus diversifiées dans les zones tropicales humides, où l'évaporation est faible et où les pluies

fréquentes permettent aux plantes de remplacer très rapidement l'eau perdue par transpiration. Cependant, même en climat humide, les chutes de pluie sont plus ou moins fréquemment interrompues et ces interruptions peuvent mettre en danger l'équilibre hydrique des tissus, principalement pour les plantes directement enracinées sur l'écorce du phorophyte. Les orchidées épiphytes surmontent cette contrainte de l'environnement, non seulement par le développement de caractéristiques xéromorphes (succulence, présence d'organes de réserve, pseudo-bulbes, réduction des surfaces foliaires) (ARDITTI, 1979; DRESSLER, 1981), mais aussi par leur option photosynthétique, c'est-à-dire un comportement de type CAM (GOH & KLUGE, 1989). Basés sur des valeurs de ^{13}C , (BRULFERT *et al.*, ce volume), nos résultats ont montré que dans les forêts sempervirentes de montagne (près de Manankazo), et dans les forêts de pluies de l'est de Madagascar, environ 30% des espèces étudiées ont un fonctionnement CAM extrême, avec une absorption de CO_2 externe uniquement nocturne; 20% des espèces montrent un CAM modéré avec fixation de CO_2 mixte, nuit et jour, tandis que 50% peuvent être considérées comme des plantes « en C_3 ». Cette proportion de comportement CAM parmi les orchidées épiphytes est très proche de ce qui a été trouvé dans les forêts tropicales de Papouasie (EARNSHAW *et al.*, 1987) et d'Australie (WINTER *et al.*, 1983). Ces résultats sont en faveur de l'importance du CAM en tant que mécanisme aidant à la stabilisation de l'équilibre hydrique des orchidées épiphytes (GOH & KLUGE, 1989; KLUGE *et al.*, 1995; KLUGE & VINSON, 1995).

EXTREME SPECIALISATION CHEZ LES EPIPHYTES: LES ORCHIDEES DITES

« APHYLLES »

De nombreuses orchidées épiphytes présentent une tige et des feuilles extrêmement réduites, à tel point que les plantes semblent ne comporter que des racines aériennes et des inflorescences. La photosynthèse, dans ce cas, s'effectue dans les cellules du cortex racinaire qui contiennent des chloroplastes (DRESSLER, 1981). Ce type de spécialisation est fréquent chez les orchidées épiphytes malgaches en particulier pour les espèces des forêts de pluie de l'est du pays. Des analyses ont été effectuées sur des échantillons récoltés *in situ* de 8 espèces des genres *Microcoelia* et *Solenangis*. Toutes les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ indiquent que ces plantes fonctionnent selon un type CAM extrême, caractérisé par une fixation de CO_2 externe uniquement nocturne (KLUGE *et al.*, 1995). Ces résultats ont été en outre confirmés par des analyses d'échanges de CO_2 entre la plante et l'atmosphère effectuées en laboratoire sur *Solenangis aphylla*, espèce des forêts côtières près de Fort-Dauphin. Les profils journaliers d'échanges gazeux obtenus ont montré que, même arrosées de façon optimale, les plantes fixaient le CO_2 externe uniquement la nuit. Du fait de l'absence de stomates sur le velamen cortical recouvrant les organes aériens, on ne peut considérer que c'est par régulation du flux transpiratoire que le CAM contrôle l'état hydrique des tissus. L'avantage écologique semble plutôt provenir, dans ce cas, de l'accumulation nocturne du malate dans les cellules (processus lié au CAM) qui créerait temporairement un « puits » permettant une résorption de la rosée ou de l'eau de pluie dont les cellules mortes superficielles du velamen sont imbibées.

OPTIONS PHOTOSYNTHETIQUES DES ESPECES D'*ANGRAECUM*

Parmi les 10 espèces d'*Angraecum* récoltées dans les forêts proches de Manankazo et d'Andasibe, 4 ont montré des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ indiquant un comportement CAM, les autres pouvant être considérées comme des plantes « en C₃ ». La plus spectaculaire (et la plus connue) des espèces d'*Angraecum* malgaches est certainement *A. sesquipedale*, « l'Orchidée Etoile », qui croit aussi bien en épiphyte dans les forêts de basse altitude, que en épilithe sur les « inselbergs » que ces forêts entourent, par exemple, dans la région côtière nord de Fort-Dauphin. Des échantillons prélevés sur cette espèce et provenant de 16 sites différents sur le territoire malgache ont tous montré des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ caractéristiques du CAM avec une fixation de CO₂ importante pendant la nuit (KLUGE & VINSON, 1995). Aucune différence significative n'a été détectée dans le comportement des plantes en situation épiphytique ou épilithique en ce qui concerne le mode de fixation photosynthétique du CO₂ externe. Cependant les travaux en laboratoire ont établi que *A. sesquipedale*, lorsqu'il est arrosé de manière optimale montre un CAM comportant une forte fixation de CO₂ aussi pendant le jour. Sur ces mêmes plantes, un seul jour d'arrêt dans l'arrosage suffit à supprimer la partie diurne de la fixation de CO₂. La contrainte hydrique semble donc pouvoir moduler l'option photosynthétique de cette plante, aussi activement (sinon plus) que pour certaines espèces du genre *Kalanchoe* (BRULFERT *et al.*, ce volume). Cette hypothèse est largement assurée par la comparaison de tous les résultats obtenus sur *A. sesquipedale*, à la fois *in situ* et en conditions de laboratoire. Il semble bien que, dans les conditions naturelles, les plantes doivent faire face, pendant une grande partie de leur développement, à une contrainte hydrique qui est responsable du déclenchement d'un comportement de type CAM extrême.

Des informations complémentaires sur les réactions photosynthétiques d'*A. sesquipedale in situ* ont pu être obtenues en utilisant la technique de mesure de fluorescence chlorophyllienne sous différentes densités de flux quantique (KLUGE & VINSON, 1995). Il est remarquable que les *A. sesquipedale* en situation épiphytique, (en fait ombragée), présentent, lorsque la densité de flux quantique augmente, un flux d'électrons à travers le photosystème II, et un niveau final de rendement quantique significativement plus faibles que les plantes se développant dans des habitats plus « ouverts » ou en situation épilithique pour lesquels l'éclairement est proche du niveau de saturation. De plus, les plantes épiphytes montrent une chute considérablement plus prononcée de rendement quantique en réponse à une augmentation de l'intensité lumineuse. En d'autres termes, la capacité par *A. sesquipedale* de conquérir des sites ombragés ou à fort ensoleillement semble être **moins liée à une capacité de moduler qualitativement le type de photosynthèse (C₃ à CAM) qu'à une adaptabilité de l'appareil photosynthétique proprement dit** responsable des réactions lumineuses. Ceci suggère que pour tous les sites naturels où cette espèce effectue son développement, le degré de contrainte hydrique pourrait être similaire mais que **la pression de sélection viendrait du paramètre intensité lumineuse**. Une question intéressante reste cependant actuellement sans réponse, celle de savoir si la capacité montrée par *A. sesquipedale* de coloniser des sites soumis à des niveaux si différents d'éclairement est le résultat d'une flexibilité phénotypique ou bien provient d'une adaptation génotypique c'est-à-dire de l'existence d'écotypes occupant des niches écologiques adéquates.

Des études de comportement photosynthétique ont également été effectuées sur *Angraecum sororium*, espèce occupant un habitat très ouvert, sur des inselbergs du Plateau Central malgache (Angavokely) (KLUGE & VINSON, 1995). Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$

des échantillons prélevés sur ces plantes, ont été trouvées significativement plus négatives que celles trouvées pour *A.sesquipedale*, rendant compte d'un fonctionnement photosynthétique de type CAM modéré, avec une contribution importante de la fixation diurne de CO₂ au gain total journalier de carbone. Considérant le microclimat chaud et sec des inselbergs, ceci apparaît à première vue comme un paradoxe. Cependant, une investigation plus approfondie révèle que au contraire des *A.sesquipedale* épilithes, *A.sororium* ne pousse pas directement sur la surface des rochers mais plutôt là où ces derniers sont recouverts d'une couche d'humus d'au moins 15 cm d'épaisseur. Cela signifie que contrairement aux racines d' *A.sesquipedale*, celles d' *A.sororium* sont entourées par un substrat spongieux capable de stocker suffisamment d'eau pour que les plantes subissent moins de contrainte hydrique sévère. L'absorption de CO₂ est donc possible par des stomates restant ouverts le jour. Une étude plus approfondie en laboratoire est maintenant nécessaire pour juger de la flexibilité photosynthétique de cette espèce. Il est concevable que la capacité de moduler le mode de photosynthèse vers le type CAM extrême soit, dans cette espèce, génotypiquement limité. Ainsi, la plante ne peut survivre que dans des habitats où la disponibilité en eau est meilleure ou plus longue.

OPTIONS PHOTOSYNTHETIQUES DES ORCHIDEES TERRESTRES

Il a été également expérimentalement mis en évidence que le mode de photosynthèse était pour les orchidées terrestres malgaches, un mécanisme adaptatif important par lequel les plantes pouvaient pénétrer dans des habitats arides et y survivre. Ainsi, dans la forêt humide entourant Andasibe, des analyses ont été effectuées sur des orchidées poussant sur les sols humides forestiers à l'ombre. Ces orchidées appartenaient aux genres *Cynorchis*, *Habenaria*, *Jumellea*, *Lissochilus* et *Liparis*. Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ trouvées indiquaient un fonctionnement photosynthétique de type C₃ (KLUGE *et al.*, 1995). Par contre, les mêmes analyses effectuées sur *Lissochilus decaryi* dans la zone du bush semi-aride du sud de Madagascar où cette espèce est abondante, ont montré une photosynthèse de type CAM. Ce résultat s'applique également à d'autres espèces de *Lissochilus* provenant d'autres régions de Madagascar. Enfin, plus récemment, nous avons pu démontrer, par des mesures d'échanges gazeux en conditions de laboratoire, l'existence d'un fonctionnement CAM chez *Lissochilus decaryi*.

L'observation d'un comportement CAM dans le genre *Lissochilus* est intéressante; elle constitue une première constatation que ce processus photosynthétique est opérationnel chez une orchidée sympodiale terrestre. L'opinion plus ancienne de la non-existence d'orchidées sympodiales terrestres CAM avait en effet donné naissance à l'hypothèse que le CAM chez les orchidées était apparu par évolution à partir des formes sympodiales épiphytes (GOH & KLUGE, 1989). Les résultats présents permettent maintenant d'affirmer que les orchidées sympodiales terrestres de type CAM ont évolué directement à partir des sympodes terrestres CAM et non pas secondairement à partir des formes épiphytiques.

CONCLUSION

Nos résultats sont en faveur de l'idée que, également pour les orchidées, un des avantages écophysiological majeurs du CAM est d'offrir aux plantes la possibilité d'économiser de l'eau pendant la période d'absorption photosynthétique du CO₂ externe. Ainsi, le CAM facilite pour ces plantes la conquête d'habitats arides terrestres, épilithiques ou épiphytiques. D'autre part, on ne doit cependant pas oublier que les processus photosynthétiques adaptatifs ne sont pas, pour les orchidées, les seuls facteurs de distribution biogéographique. Des particularités dans l'écologie de la pollinisation, de la dispersion des graines, des symbioses mycorrhiziennes, sont autant d'exemples d'autres mécanismes d'adaptation; les orchidées malgaches offrent certainement pour cela un terrain d'études de première importance. Par contre, si l'on considère la rapidité avec laquelle la flore et la faune natives malgaches sont dévastées (principalement sous la pression de l'homme) nous devons prendre conscience de l'intérêt, de l'ampleur mais aussi de l'urgence de l'étude, dans tous ses détails, de la fascinante diversité des mécanismes d'adaptation écologique de tous les organismes malgaches. Plus que jamais, les recherches en écologie fondamentale sont nécessaires à Madagascar.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARDITTI, J., 1979. Aspects of the physiology of orchids. *Adv. Bot. Res.*, 7:421-655.
- BRULFERT, J., D. RAVELOMANANA, H. GEHRIG & M. KLUGE, 1996. Signification biogéographique des processus d'adaptation photosynthétique I: l'exemple des *Kalanchoe* malgaches. *In*: W.R. Lourenço (éd.). *Biogéographie de Madagascar*, pp. 147-156. Editions de l'ORSTOM, Paris.
- GUILLAUMET, J-L., 1984. The vegetation: an extraordinary diversity. *In*: A. Jolly, P. Oberlé & R. Albignac (éds.). *Key environments: Madagascar*. Pergamon Press. Oxford, New York, 1-26.
- KLUGE, M. & B. VINSON, 1995. Der Crassulaceen- Säurestoffwechsel bei Orchideen Madagaskars: Analyse einer ökologischen Anpassung der Photosynthese. *Rundgespräche der Kommission für ökologie*, 10 « Tropenforschung », Verlag Dr. Dietrich Pfeil, München, 163-157.
- DRESSLER, R.L., 1981. *The orchids. Natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, pp 332.
- EARNSHAW, J., K. WINTER, H. ZIEGLER, W. STICHLER, E.G. CRUTTWELL, K. KERENGA, P.J. CRIBB, J. WOOD, J.R. CROFT, K.A. CARVER & T.C. GUNN, 1987. Altitudinal changes in the incidence of crassulacean acid metabolism in vascular epiphytes and related life forms in Papua New Guinea. *Oecologia*, 73:566-572.
- GOH, C.J. & M. KLUGE, 1989. Gas exchange and water relations in epiphytic orchids. *In*: U.Lüttge (ed.) *Vascular plants as epiphytes*. *Ecological Studies*, 76, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 139-166.
- KLUGE, M., J. BRULFERT, W. RAUH, D. RAVELOMANANA & H. ZIEGLER, 1995. Ecophysiological studies on the vegetation of Madagascar: a $\delta^{13}\text{C}$ and δD survey for incidence of crassulacean acid metabolism (CAM) among orchids from montane forests and succulents from the xerophytic thornbush. *Isotopes, Environ. Health Stud.*, 31:1-20.

- KLUGE, M. & I.P. TING, 1978. Crassulacean Acid Metabolism. Analysis of an ecological adaptation. Ecological Studies, 30, Springer Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, pp 207.
- RAUH, W., 1973. Ober die Zonierung und Differenzierung der Vegetation Madagaskars (Tropische und Subtropische Pflanzenwelt 1). Akad.d.Wiss.u.Lit.Mainz (publ.). Steiner Verlag, Wiesbaden, 7-146.
- WINTER, K., B.C. WALLACE, G.C. STOCKER & Z. ROKSANDIC, 1983. Crassulacean acid metabolism in australian vascular epiphytes and some related species. Oecologia, 57: 129-141.