

ÉTUDES EMBRYOLOGIQUES DANS LE GENRE *CYNORKIS* (ORCHIDACEAE)

par Yvonne VEYRET

RÉSUMÉ : Les *C. ridlei* Dur. et Schinz., *C. ampullacea* H. Perr. et l'hybride présumé *C. lilacina* × *C. ridlei* H. Perr. sont apomictiques autonomes absolus. L'archéspore est la CMM; elle avorte ou dépasse rarement le stade dyade suivant les espèces. Ses produits ne sont pas fonctionnels. L'embryonie est soit nucellaire, soit omnisaccale diploïde; ce dernier mode est nouveau.

SUMMARY : *C. ridlei* Dur. et Schinz., *C. ampullacea* H. Perr. and the presumed hybrid *C. lilacina* × *C. ridlei* H. Perr. are obligate autonomous apomicts. Archespore is the MMC; generally is aborts or give rise to dyad cells according to the species. Its products are not functional. Embryony is nucellar or omnisaccal diploid; this last modality is new.

Le genre *Cynorkis* groupe actuellement environ 140 espèces; l'une d'elles est asiatique, un petit nombre se rencontrent en Afrique tropicale et australe, les autres sont spéciales à la région malgache : Madagascar, Comores, Mascareignes, Seychelles; mais la majorité sont endémiques de la Grande Ile.

Ces espèces sont réparties dans 6 sections suivant le nombre de viscidiées et diverses caractéristiques du rostellum. Les espèces présentement étudiées appartiennent toutes à la première section du genre, qui rassemble plus de la moitié des *Cynorkis*, mais elles y sont classées dans des groupes différents : le *C. ridlei* Dur. et Schinz. dans le premier, le *C. ampullacea* H. Perr. dans le troisième, l'hybride présumé *C. lilacina* × *C. ridlei* a le premier de ses parents dans le deuxième groupe.

Chez toutes ces espèces le mode de reproduction asexué était évident avant d'en avoir la preuve microscopique; en effet le pollen peut être avorté ou les pollinies rester en place et le stigmate ne porter aucune trace de pollen; malgré cela elles développent des ovules pourvus d'embryons. Dans tous les cas l'apomixie est autonome et absolue mais les modalités de la reproduction apomictique présentent des différences suivant ces espèces et en conséquence nous examinerons celles-ci successivement.

C. ridleyi Dur. et Schinz

Le *C. ridleyi* est décrit par H. PERRIER DE LA BATHIE comme étant « très variable quant à la forme du lobe médian du labelle qui peut être orbiculaire, largement flabelliforme, obréniforme, largement ovale ou même étroitement oblong, et denté-crénelé ou échancré-apiculé au bord antérieur ».

Le mode de développement apomictique de l'embryon dans les 4 formes que nous avons observées, est particulièrement évident lorsque le pollen est avorté, ce qui est le cas dans 2 de celles-ci. Parmi ces 4 formes, 3 poussent côte à côte en sous-bois d'Eucalyptus dans la réserve de l'Angavokely, près de Tananarive; nous les numéroterons de 1 à 3; la 4^e provient de la forêt primaire de la Montagne d'Ambre, au nord de l'île. Pour toutes la floraison a lieu en septembre.

Le n° 1 a une feuille petite, courte, résillée de vert plus clair, à limbe horizontal. Le lobe médian du labelle est cordiforme; l'appareil pollinaire est apparemment normal.

Le n° 2 présente 1 à 2 petites feuilles d'un vert foncé en-dessus, pourpre en-dessous. Le lobe médian du labelle est plus large que long, tronqué-crénelé à son extrémité; les pollinies sont entières.

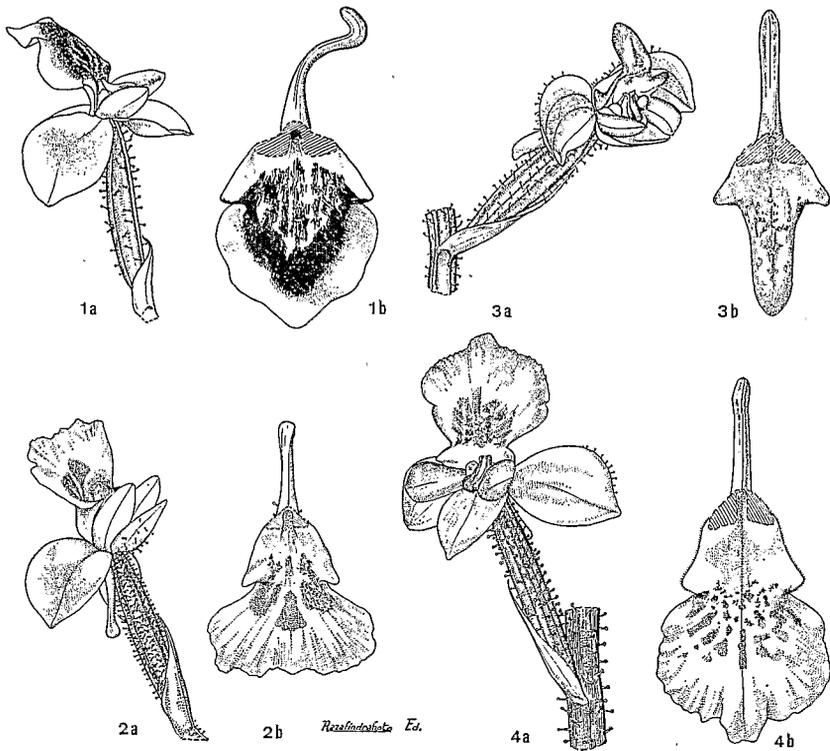
Le n° 3 ne possède qu'une feuille, finement maculée de blanc, principalement de part et d'autre de la nervure médiane sur la face supérieure de la feuille, dressée. Le lobe médian du labelle est de forme générale triangulaire, à extrémité obtuse, 2,5 fois plus long que large en son milieu. Le pollen est avorté.

Le n° 4 est une plante beaucoup plus grande que les précédentes, à 2 feuilles dressées, régulièrement et finement tachetées de blanc. Le lobe médian du labelle est arrondi-crénelé, pourvu lui-même d'un court lobe médian tronqué-crénelé. Le pollen est avorté.

La planche 1 représente la fleur et le labelle de ces différentes formes.

Nos examens microscopiques ont plus spécialement porté sur le n° 3 et la majorité des microphotographies se rapportent à cette forme (Pl. 2 et 3, fig. 1 à 5).

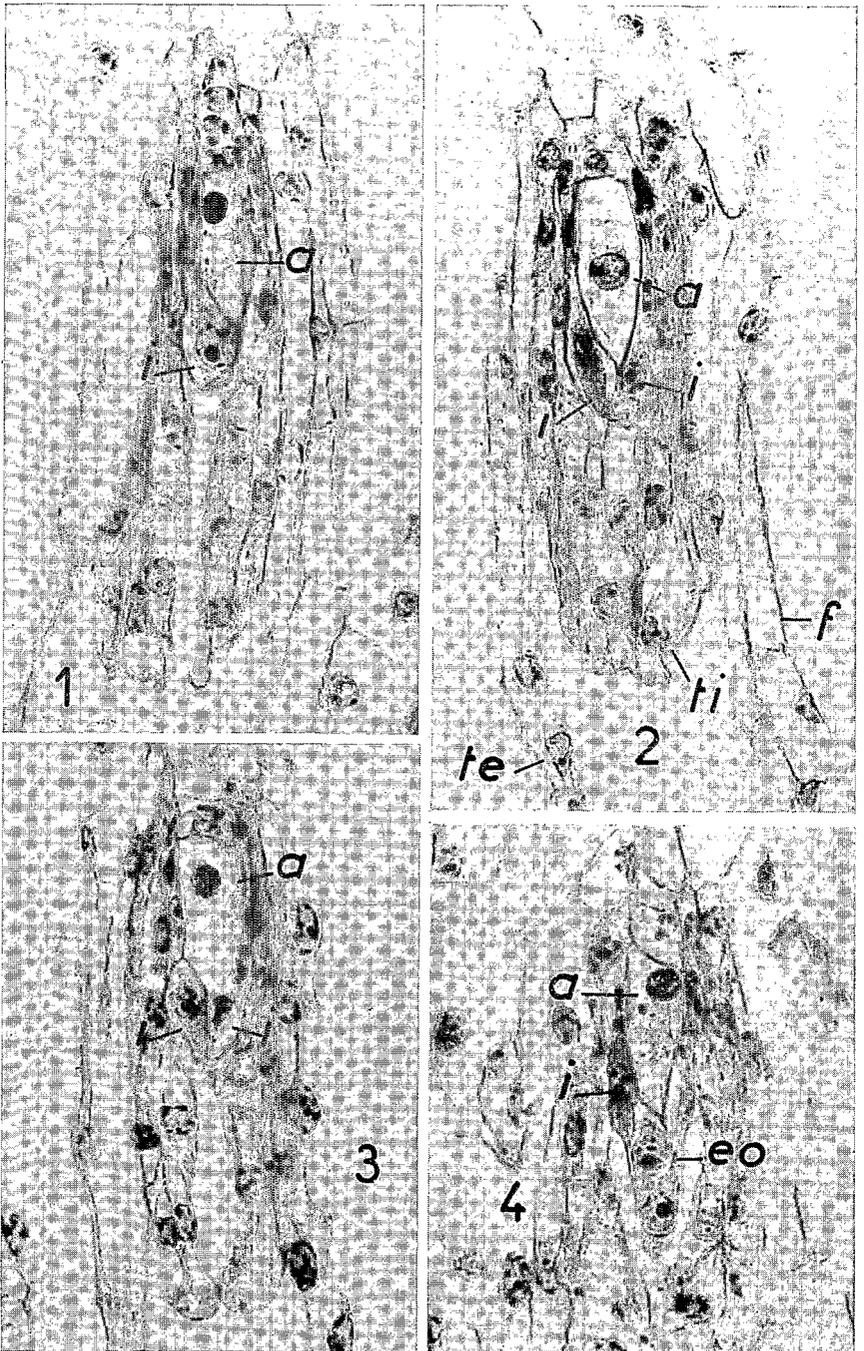
La cellule archésporiale atteint une certaine taille, mais elle ne se divise pas et présente très rapidement des signes de dégénérescence. Pendant ce temps 1 ou 2 cellules de l'épiderme nucellaire s'accroissent considérablement de taille et l'on pourrait penser que ce sont les initiales d'embryons adventifs nucellaires comme on l'a déjà constaté chez diverses plantes depuis fort longtemps, parmi elles les *Orchidaceae*: *Nigritella nigra* Reichb. f. (K. AFZÉLIUS), *Zeuxine sulcata* Lindl. (K. N. SESHAGIRIAH, B. G. L. SWAMY) et *Cynorkis lilacina* Ridley (Y. VEYRET); mais les embryons développés aux dépens de ces initiales ne sont pas orientés comme des embryons nucellaires qui se fixent par leur suspenseur sur l'organe dont ils sont issus. Au contraire c'est leur sommet qui se différencie sur le bord de cet organe; et la polarité de ces embryons est ainsi la même que celle des embryons sexuels. En conséquence, nous pensons que les initiales de ces embryons doivent en réalité être considérées comme les initiales de sacs embryonnaires



Pl. 1. — *C. ridleyi* Dur. et Schinz : 1, 2, 3, 4, se rapportent aux formes décrites sous les mêmes numéros (fleur \times 2,4; labelle \times 3).

somatiques virtuels. Le gamétophyte demeure unicellulaire et participe en totalité à l'édification de l'embryon. L'évolution de cellules somatiques — généralement de la chalaze, parfois du nucelle — en initiales de sacs embryonnaires se produit fréquemment dans les cas d'apogamogonie présentés par les Graminées, les Composées, les Rosacées. Un tel phénomène est très souvent précédé de la dégénérescence de l'archéspore ou de ses produits (dyade ou tétrade), et l'initiale somatique du sac embryonnaire engendre un gamétophyte à 4 ou 8 noyaux suivant les cas. On dit qu'il y a aposporie somatique. Chez le *C. ridleyi* on retrouve la même initiale somatique, mais elle évolue directement en embryon. Nous proposons pour désigner ce phénomène le terme d'embryonie omnisaccale diploïde.

Les microphotographies que nous avons sélectionnées représentent la formation de l'embryon aux dépens d'une cellule de l'épiderme nucellaire, par l'intermédiaire d'un gamétophyte virtuel. A cet effet, après l'important accroissement de taille déjà signalé, la première segmentation est transversale (fig. 4). La différenciation de l'embryon proprement dit semble



Pl. 2. — *C. ridleyi* Dur. et Schinz : 1-4, formation d'initiales de gamétophytes virtuels à partir de l'épiderme nucléaire (*a* : archéspore; *eo* : embryon omnisacal diploïde; *f* : funicule; *i* : initiale; *te* : tégument externe; *ti* : tégument interne). G × 565.

se faire après le stade tétracellulaire par un premier cloisonnement longitudinal de la cellule apicale voisine de l'archéspore (fig. 6). Bien que très fréquemment 2 cellules du nucelle semblent évoluer en initiales de gamétophytes on ne trouve généralement qu'un seul embryon dans la graine et même dans l'ovule; ce qui prouverait qu'une seule des initiales soit normalement fonctionnelle.

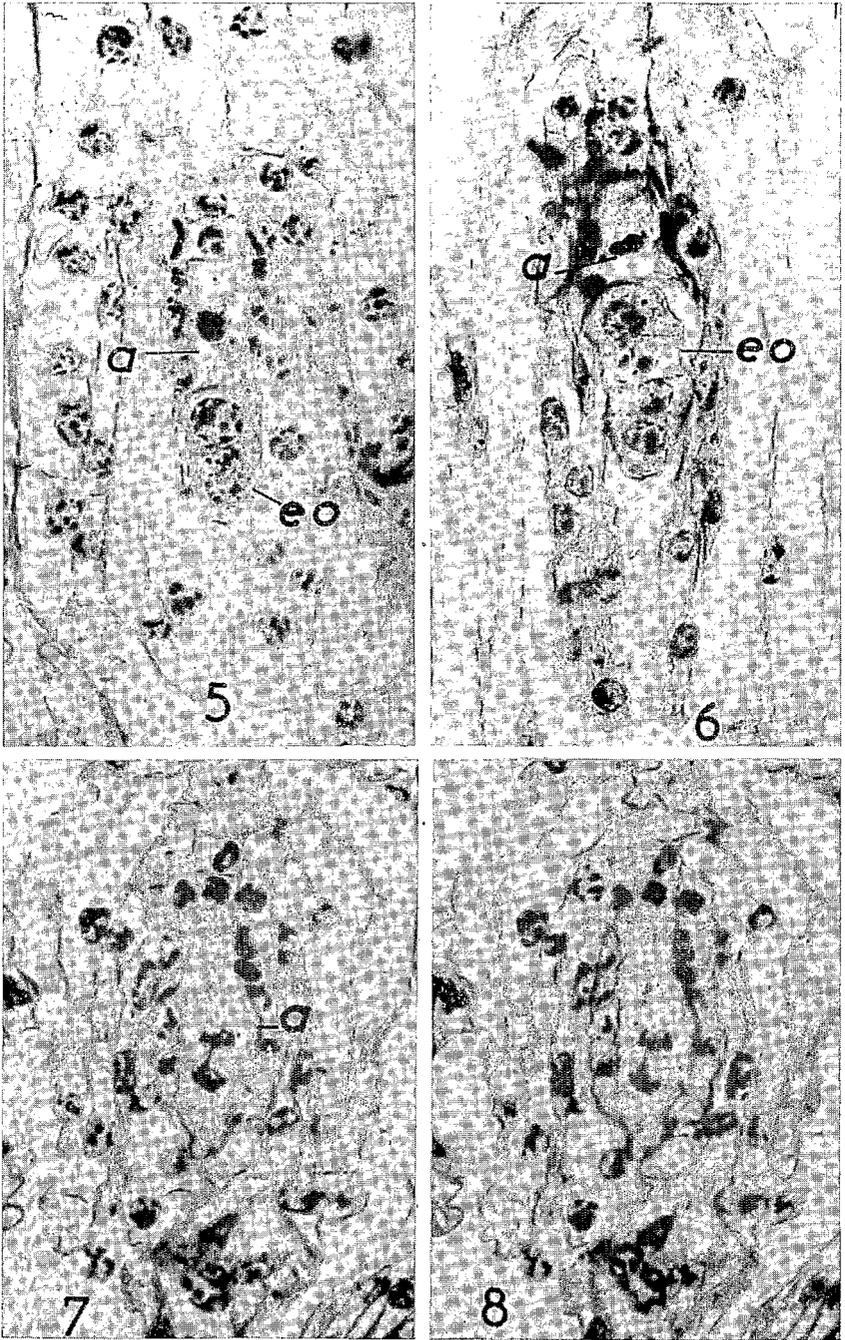
Ce phénomène est semblable dans les 4 formes examinées; cependant il peut arriver dans la forme n° 4 que des embryons nucellaires se développent également, soit concurremment avec l'embryon omnisaccal, dans un même ovule, soit isolément.

C. *ampullacea* H. Perr.

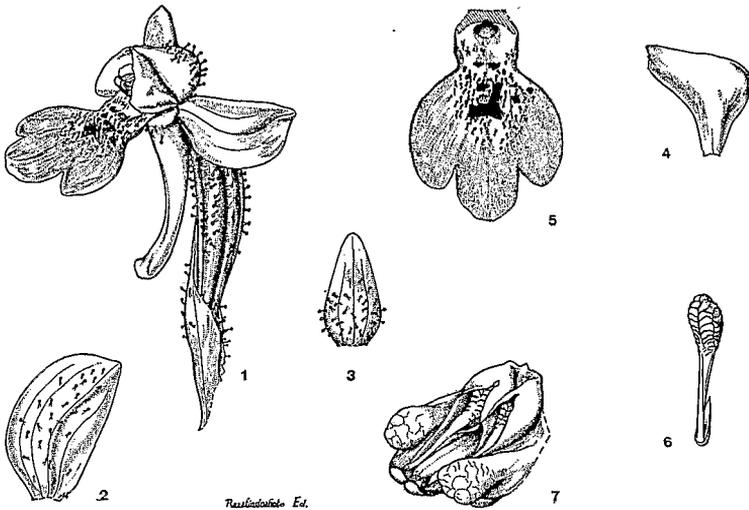
La forme du *C. ampullacea* examinée provient d'un lambeau forestier du massif de l'Itremo¹. Elle diffère du type décrit par H. PERRIER DE LA BATHIE par une feuille relativement plus large et des fleurs environ 2 fois plus grandes, morphologiquement un peu différentes. C'est ainsi que le labelle n'est pas courtement trisinué ou trilobulé, mais à lobes bien nets, le lobe central étant plus grand que les lobes latéraux; la présence de glandes pédiculées s'étend, de plus, sur la partie inférieure de la face supérieure du labelle, la base de l'éperon et la face inférieure des sépales. Cette espèce varie dans sa morphologie dans les diverses stations de l'île où nous l'avons rencontrée; chaque variété y fleurit également à une époque de l'année qui lui est propre. La planche 4 représente la fleur et les pièces florales de la forme étudiée.

L'ovule de ce *C. ampullacea* est légèrement ébauché au moment de l'anthèse, c'est-à-dire que l'archéspore est individualisée et que le tégument interne commence à se former. L'ovaire continu de grossir sans qu'il y ait pollinisation; si même on supprime les pollinies les ovules n'en poursuivent pas moins leur développement. Dans le jeune ovule le nucelle est représenté par une rangée axiale comportant en général 4 cellules enveloppées par l'épiderme nucellaire. La dernière cellule de cette rangée sera l'archéspore qui fonctionne directement comme cellule-mère des macrospores. Il semblerait qu'au cours de la méiose de la CMM l'asynèse soit totale et que la répartition des chromosomes se fasse un peu au hasard, d'une manière assez semblable à ce qui se produit dans certains ovules d'*Antennaria*, d'après les observations de G. L. STEBBINS, et où tous, ou la majeure partie des gamétophytes issus des macrospores réduites, périssent. Chez le *C. ampullacea* les chromosomes retardataires sont fréquents et ils peuvent parfois simuler un pont (Pl. 3, fig. 7-8, Pl. 5, fig. 9 et 10); le premier cloisonnement de l'archéspore se produit souvent avant que les chromosomes aient achevé leur migration vers les pôles (Pl. 3, fig. 7-8).

1. Nous remercions nos collègues F. FRIEDMAN qui a découvert cette forme du *C. ampullacea* au col d'Itremo et en a récolté des pieds à notre intention, et J. BOSSER qui a bien voulu se charger de sa détermination.



Pl. 3. — *C. ridleyi* Dur. et Schinz : 5-6, développement d'embryons omniscaxaux diploïdes (*eo*). — *C. ampullacea* H. Perr. : 7-8, microphotographies de la même préparation sur des plans différents représentant un aspect de la méiose de la CMM. G \times 565.

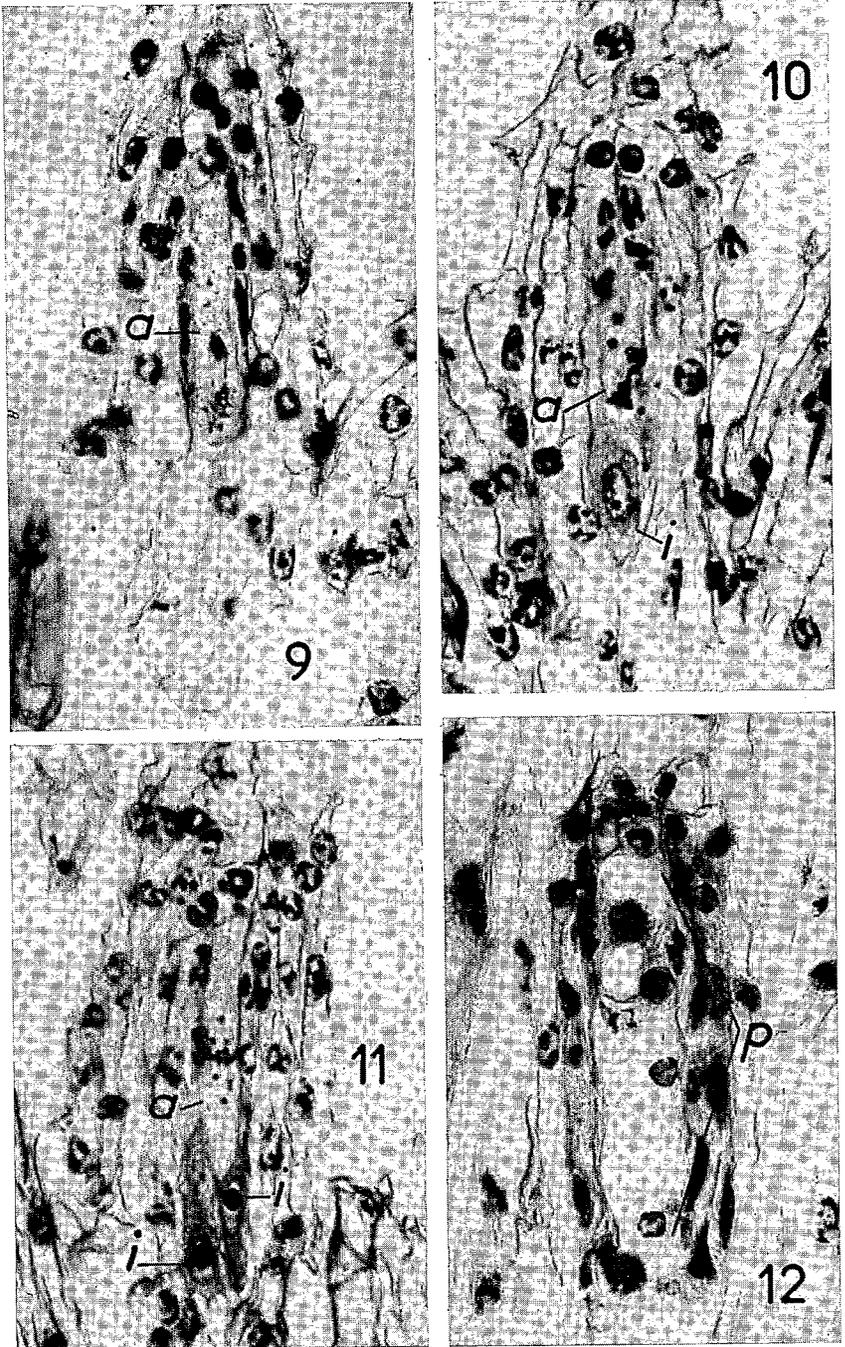


Pl. 4. — *C. ampullacea* H. Perr. : 1, fleur $\times 2$; 2, sépale latéral; 3, sépale médian; 4, pétale latéral; 5, labelle $\times 2,5$; 6, pollinaire; 7, gynostème $\times 5$.

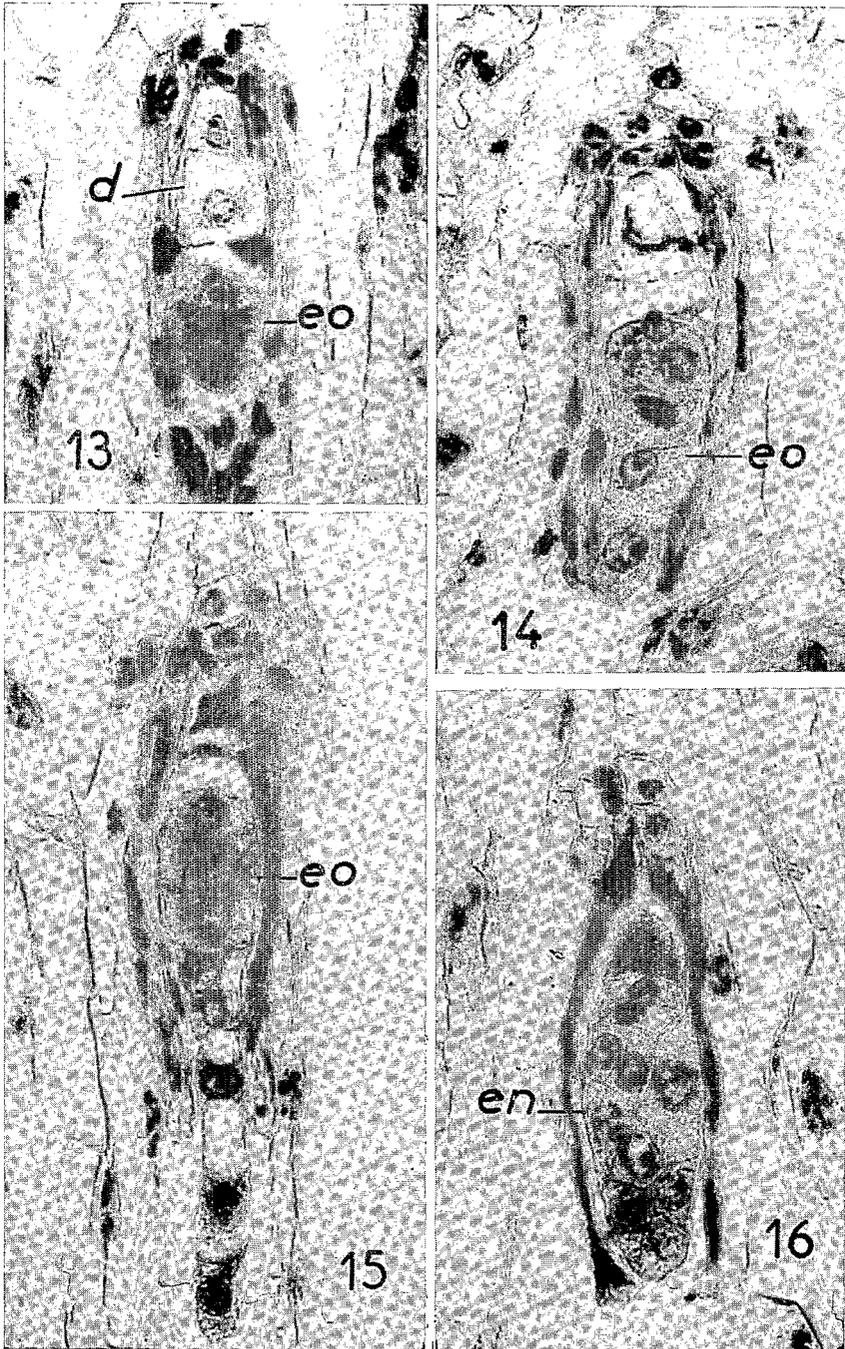
En fin de première division des chromosomes se trouvent isolés en dehors des noyaux télophasiques (fig. 7 à 10). Nous avons pu compter jusqu'à 60 chromosomes au cours de la première division de l'archéspore, mais nous préférons écrire $2n = ca60$ au cas où quelques-uns de ces chromosomes petits et nombreux auraient échappé à notre observation. L'espèce serait donc tétraploïde par rapport à quelques espèces sexuées où $2n = ca30$.

Le plus souvent une cloison sépare les noyaux engendrés par l'archéspore; ce sont alors de véritables dyades; parfois ces 2 noyaux se disposent chacun à une extrémité de la cellule simulant un sac embryonnaire binucléé (Pl. 6, fig. 13). Par la suite, ces noyaux ne se divisent plus et dégèrent assez rapidement (Pl. 6, fig. 14 à 16), sauf si l'ovule n'est pas embryonné. Dans ce cas, les produits de l'archéspore peuvent s'accroître d'une manière relativement importante et former une polyade ayant jusqu'à 6 noyaux, en partie cloisonnée (Pl. 5, fig. 12).

Tous les embryons développés dans les ovules de ce *Cynorkis* le sont à partir d'une cellule nucellaire épidermique qui peut évoluer de deux manières différentes, soit qu'elle se transforme en initiale d'un proembryon adventif nucellaire, soit qu'elle devienne l'initiale d'un gamétophyte virtuel comme nous l'avons déjà décrit plus haut chez le *C. ridleyi*, initiale qui se transforme directement en embryon omnisaccal diploïde. Par la suite les embryons omnisaccaux seront munis d'un suspenseur filamenteux comme dans les embryons sexués des *Ophrydoideae* (Pl. 6, fig. 13 à 15), tandis que les embryons nucellaires auront un aspect plus globuleux avec un court suspenseur passant insensiblement à l'embryon proprement dit (Pl. 6, fig. 16). Il n'est pas toujours aisé de prévoir le devenir d'une initiale, sauf



Pl. 5. — *C. ampullacea* H. Perr. : 9-11, autres aspects de la méiose de la CMM; en 10 et 11, formation respective d'une et de deux initiales (*i*) de gamétophytes virtuels; 12, polyade (*p*).
G × 565.



Pl. 6. — *C. ampullacea* H. Perr. : 13-15, développement d'embryons omnisaccaux diploïdes (*eo*); 16, embryon nucellaire (*en*); en 13, l'archéspore a engendré deux cellules dyades (*d*) qui ont dégénéré dans les autres figures, G. \times 565.

lorsque sa forme préfigure l'orientation de l'embryon qui en tirera son origine soit directement, soit indirectement. Dans la figure 10 de la Planche 5, l'initiale est sans aucun doute celle d'un gamétophyte virtuel comme le laisse penser sa forme arrondie au sommet et en pointe à son extrémité. Par contre, dans la figure 11 on ne peut encore savoir quel sera le sort des initiales.

Du côté des microspores on peut noter la présence assez fréquente de tétrades aberrantes à plus de 5 noyaux, généralement de 5 à 6, plus rarement 7, de taille irrégulière, certains à l'état de micronoyaux. Les pollinies semblent d'ailleurs peu fonctionnelles; d'autre part, les sécrétions des stigmates sont faibles et lorsqu'on tente la pollinisation peu de pollen y adhère, dont la germination est particulièrement rare et peu vigoureuse.

Hybride présumé *C. lilacina* × *C. ridleyi* H. Perr.

Cette plante est l'ancien *Microtheca madagascariensis* R. Schlechter. H. PERRIER DE LA BATHIE lui a donné ce nouveau statut car il pensait que cet état hybride et cette parenté devaient être attribués à l'ancien *Microtheca* parce que ses fleurs sont « toujours stériles, à anthères avortées » d'une part, et qu'il cohabite avec ses 2 parents présumés en quelques stations d'autre part. Cette plante est, en effet, remarquable par l'avortement de son appareil pollinaire; cependant, il peut arriver que quelques fleurs présentent une pollinie plus ou moins bien développée. Un si faible pourcentage de pollen serait insuffisant pour assurer une fertilisation régulière et pourtant le *Microtheca* fructifie régulièrement et abondamment.

Les plantes qui ont fait l'objet de nos observations embryologiques proviennent d'un sous-bois clair d'Eucalyptus situé en bordure du chemin qui relie la RN 2 à Ambatomena, à 30 km environ de Tananarive. Parmi les fleurs d'une dizaine de pieds examinés aucune ne présentait de pollinies et les examens microscopiques ont montré, ou mieux confirmé notre opinion que cette espèce était apomictique. Elle l'est, de plus, et forcément, d'une manière autonome et absolue.

L'apomixie se présente soit sous forme d'embryonie adventive nucellaire, soit sous forme d'embryonie omnisaccale diploïde, celle-ci paraissant plus fréquente que la première. Les embryons ainsi formés suppléent au manque de fonctionnement des spores. En effet, l'archéspore, provenant directement d'une cellule nucellaire sous-épidermique (Pl. 7, fig. 17), n'engendre jamais plus de 2 cellules dyades (Pl. 7, fig. 20) dont aucune ne sera à l'origine d'un gamétophyte femelle, et qui dégèneront avant la fin de l'embryogenèse. Ici aussi l'avenir des initiales est parfois difficile à prévoir, par exemple pour celles des figures 18 et 22 des planches respectives 7 et 8. Par contre, dans la figure 20 (Pl. 7), l'embryon unicellulaire est indiscutablement nucellaire et dans la figure 19 (Pl. 7) les initiales paraissent être celles de gamétophytes virtuels avec leur extrémité distale en pointe. Dans un même ovule les deux sortes d'initiales peuvent se former puisque l'on peut y rencontrer les deux formes d'embryons; en effet dans la figure 26 (Pl. 8), on peut voir un embryon adventif nucellaire et un embryon omnisaccal diploïde opposés par leur sommet.

Quant à l'origine de cette plante, si elle est de nature hybride, elle ne peut l'être entre les espèces présumées par H. PERRIER DE LA BATHIE, puisque toutes les formes des *C. ridleyi* et *C. lilacina* que nous avons eu l'occasion d'examiner se sont révélées être apomictiques autonomes absolues et que l'apomixie paraît donc caractéristique de ces espèces. Comme tous les autres *Cynorkis* apomictiques elle nous paraît devoir mériter un nom d'espèce qui lui soit propre; son ancien nom devrait lui être restitué ou plus probablement une combinaison faisant état de ses autres dénominations¹ lui être attribuée.

Chez tous ces *Cynorkis* apomictiques : *C. ridleyi*, *C. ampullacea*, l'hybride présumé *C. lilacina* × *C. ridleyi*, la sexualité est très dégradée puisque nous avons constaté des anomalies polliniques ou l'avortement du pollen, et une gamétogenèse femelle anormale par la méiose de l'archéspore, tout au moins chez le *C. ampullacea*, et incomplète puisque le sac embryonnaire n'est jamais formé, la CMM ne dépassant généralement pas le stade dyade.

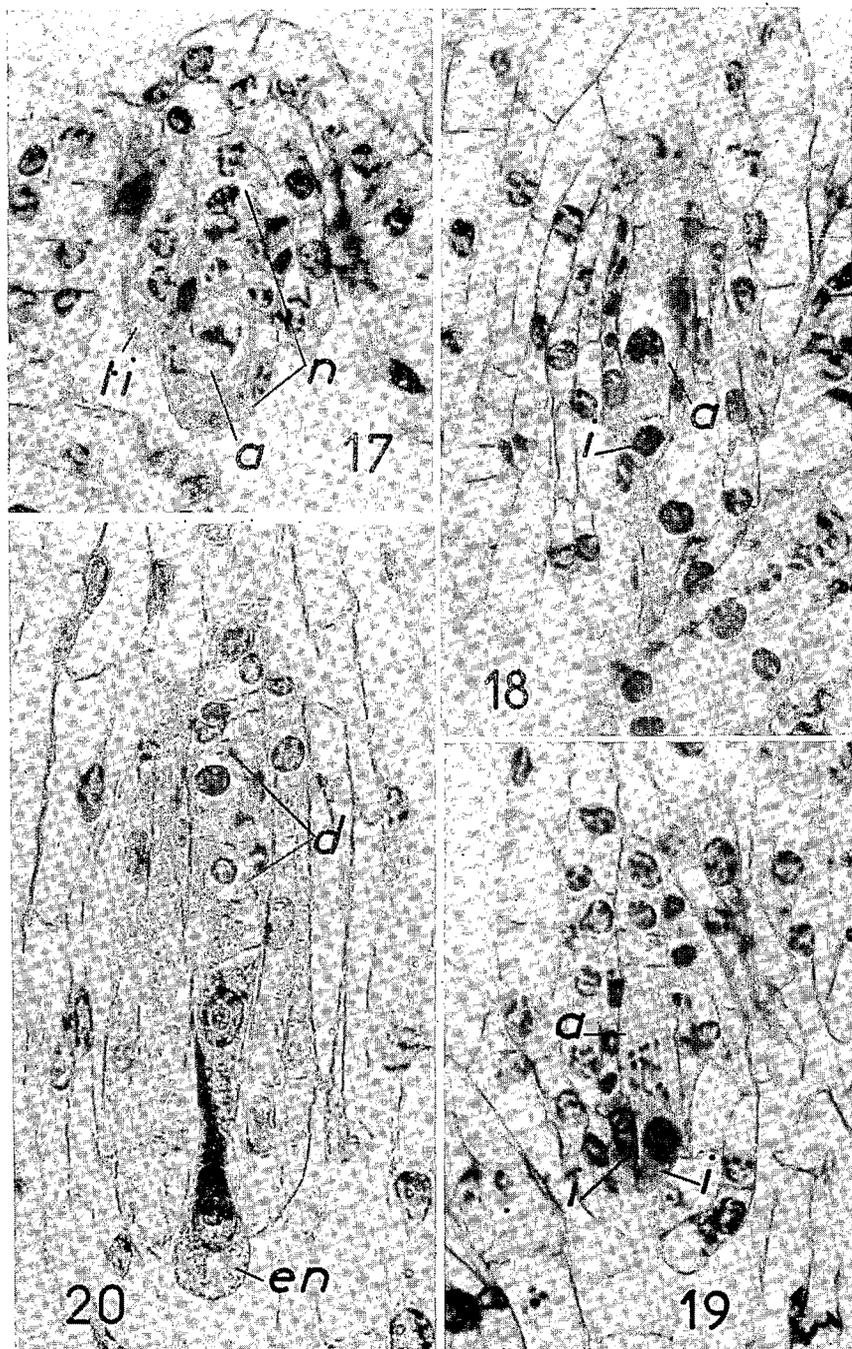
Chez le *C. lilacina* nous avons vu, il y a quelques années, que la sexualité était légèrement moins dégradée puisqu'il peut se former 4 spores femelles ou un sac embryonnaire bien que celui-ci atteigne rarement le stade trinué. Cependant, nous ignorons la nature de la première division de l'archéspore. Chez tous les *Cynorkis* apomictiques, en plus des embryons adventifs nucellaires, on trouve soit des embryons sporiques, c'est-à-dire formés aux dépens d'éléments issus de l'archéspore, chez le *C. lilacina*, soit omnisaccaux diploïdes chez les autres connus à ce jour. La présence des embryons sporiques pourrait, peut-être, être en rapport avec cet état moins dégradé de la sexualité du *C. lilacina*.

Néanmoins il y a de fortes présomptions pour que le *C. lilacina* comme les autres *Cynorkis* apomictiques soit de nature hybride comme peuvent le suggérer les anomalies dans les gamétogenèses ou l'état du pollen et le devenir de l'archéspore.

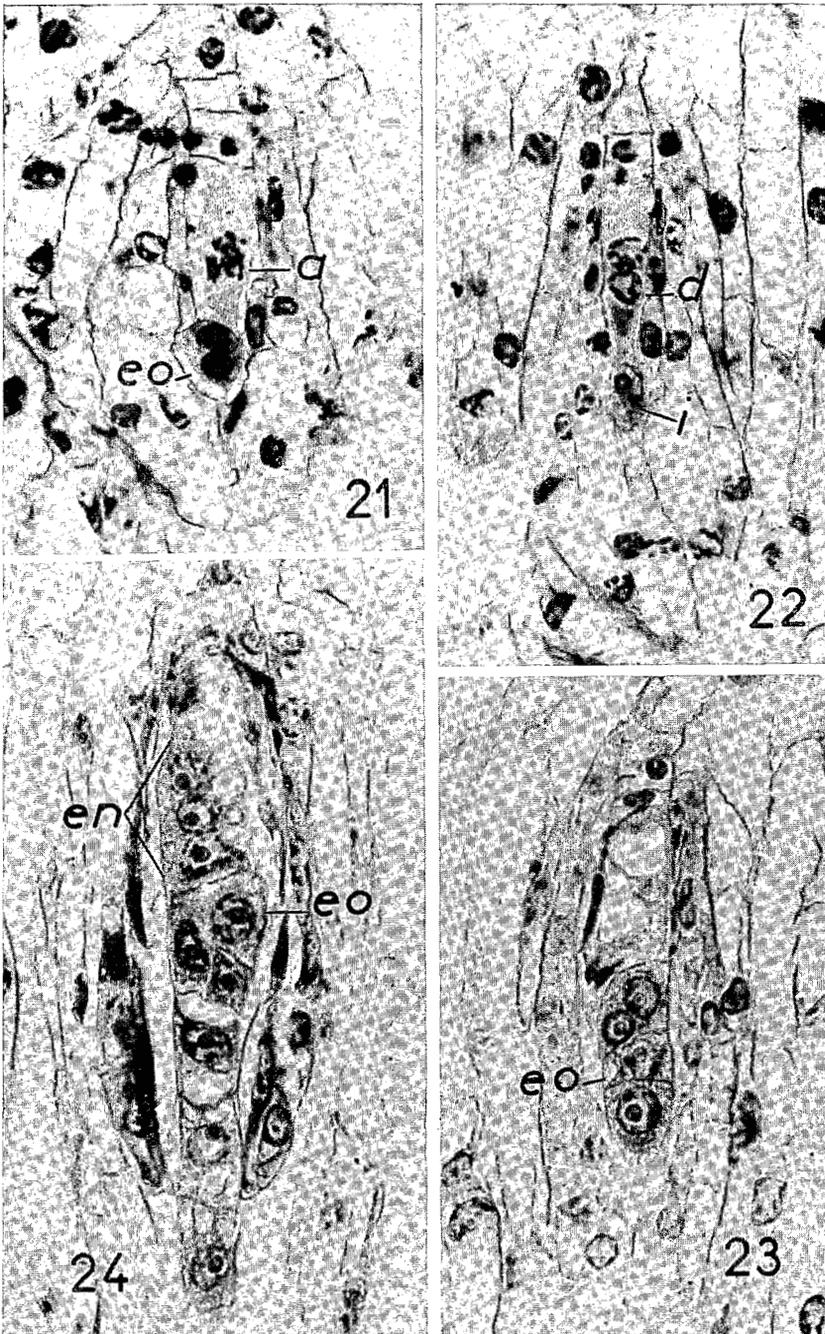
Si donc nous supposons une origine hybride pour ces *Cynorkis* la variation morphologique interspécifique qu'ils présentent — il ne s'agit pas de microformes écologiques — peut s'expliquer par ce phénomène d'hybridation où plusieurs espèces ont pu intervenir et se croiser. Il n'est pas improbable aussi que les espèces aient varié avant de se croiser comme pourrait le laisser penser la présence de diverses formes chez des espèces sexuées comme les *C. fastigiata* Thou. ou *C. angustipetala* Ridley.

Hybridité et polyploïdie semblent donc dans le cas des *Cynorkis* être les facteurs favorables à l'induction de leur état apomictique. Si l'hybridité a favorisé le rassemblement des gènes nécessaires à l'apparition de ce phénomène, la polyploïdie a pu modifier la physiologie de l'ovule si bien que l'action première du pollen qui, chez les *Orchidaceae*, est celle d'un stimulus auxinique indispensable pour parfaire le développement de l'ovule, est ici inutile.

1. J. BOSSER pense que cette espèce existe aussi à la Réunion où elle est connue sous le nom d'*Acrostylia paradoxa* Frapp., lequel est l'ancien *Hemiperis fissirostris* Frapp. Mais ceci a besoin d'être confirmé.



Pl. 7. — Hybride présumé *C. lilacina* × *C. ridleyi* H. Perr. : 17, jeune ovule (*a* : archéspre; *n* : nucelle; *ti* : tégument interne); 18, ovule un peu plus âgé dans lequel une cellule de l'épiderme nucellaire commence à se différencier en initiale d'embryon (*i*) ou de gamétophyte virtuel; 19, deux initiales (*i*) bien développées et méiose de la CMM; 20, l'archéspre a formé les dyades (*d*); bon développement d'un embryon nucellaire unicellulaire (*en*); entre la dyade inférieure et l'embryon nucellaire on distingue un autre embryon dont l'origine ne peut être précisée. G × 565.



Pl. 8. — Hybride présumé *C. lilacina* × *C. ridleyi* H. Perr. : 21, méiose de la CMM et embryon bicellulaire omnisaccal diploïde (*eo*); 22, formation des dyades (*d*); 23, embryon omni saccal diploïde (*eo*) et dyade présentant des signes de dégénérescence; 24, ovule avec deux embryons, l'un nucellaire (*en*), l'autre omnisaccal diploïde (*eo*). G × 565.

BIBLIOGRAPHIE

- AFZELIUS, K. — Die Embryobildung bei *Nigritella nigra*; Svensk Bot. Tidskr. **22**, 1-2 : 82-91 (1928).
- GUSTAFSON, Å. — Apomixis in higher plants Part I. The mechanism of apomixis; Lunds Univ. Årsskrift. NF2, **42**, 3 : 3-66 (1946).
- PERRIER DE LA BÂTHIE, H. — in H. HUMBERT, Flore de Madagascar, 49^e famille, Orchidées, **1** (1939).
- SCHLECHTER, R. — Systematischer Teil; Fedde Repert. **33** : 76-78 (1925).
- SESHAGIRIAH, K. N. — Morphological studies in *Orchidaceae*; I. *Zeuxine sulcata* Lindley, J. Indian bot Soc. **20** : 357-365 (1941).
- STEBBINS, G. L. — Cytology of *Antennaria*. II. Parthenogenetic species, Bot. Gaz. **94** : 322-344 (1932) (d'après GUSTAFSON, 1946).
- SWAMY, B. G. L. — The embryology of *Zeuxine sulcata* Lindl., New Phytol. **45**, 1 : 132-136 (1946).
- VEYRET, Y. — L'apomixie chez le *Cynosorchis lilacina* Ridley (Orchidacées), C. R. Acad. Sci., sér. D, **265** : 1713-1716 (1967).

Centre O.R.S.T.O.M. de Tananarive
et Institut de Botanique, 91405-ORSAY.