

Découverte de l'hybride *Asplenium ×contrei* (Pteridophyta, Aspleniaceae) dans le département de la Vienne (France)

Romain BISSOT
(CBNSA)
F-86550 MIGNALOUX-BEAUVOIR
r.bissot@cbnsa.fr

Michel BOUDRIE
(SBCO)
F-87000 LIMOGES
michelboudrie@orange.fr

Patrick GATIGNOL
(SBCO)
F-86440 MIGNÉ-AUXANCES
patrick.gatignol@free.fr

Ronald L.L. VIANE
(Université de Gand, Belgique)
B-9000 GAND
ronnie.viane@ugent.be

Résumé : Non revu en France depuis 1975, un pied du très rare hybride *Asplenium ×contrei* Callé, Lovis & Reichst. (*Asplenium adiantum-nigrum* × *A. septentrionale*) vient d'être récemment découvert dans le département de la Vienne (France). Après un historique des mentions européennes connues du taxon, les auteurs apportent des éléments morphologiques, cytométriques et écologiques relatifs au spécimen découvert.

Mots clés : *Asplenium ×contrei*, *A. adiantum-nigrum*, *A. septentrionale*, cytométrie de flux, Vienne, France

Abstract : Not found again in France since 1975, one plant of the very rare hybrid *Asplenium ×contrei* Callé, Lovis & Reichst. (*Asplenium adiantum-nigrum* × *A. septentrionale*) has recently been discovered in the department of Vienne (France). After the review of the data on the knowledge of this taxon in Europe, the authors present morphological, cytometric and ecological data on the discovered specimen.

Key words : *Asplenium ×contrei*, *A. adiantum-nigrum*, *A. septentrionale*, flow cytometry, Vienne, France

Avertissement : En raison du pillage récemment constaté de plusieurs stations de fougères rares en divers endroits de France, les mentions de la localité (tout comme les aspects sitologiques) ont, *in fine*, été supprimées du présent article.

Introduction

Le remarquable travail de Callé *et al.* (1975) a permis, par des études cytologiques détaillées, par comptages chromosomiques, de régler quelques problèmes de confusions anciennes sur matériel d'herbier entre plusieurs hybrides d'*Asplenium* à morphologie proche, comme *Asplenium ×souchei* et *A. ×costei*. Ainsi, l'ascendance de ces hybrides a pu être clairement établie. Il en a découlé la caractérisation de l'hybride entre *Asplenium adiantum-nigrum* et *A. septentrionale* qui a été décrit sous le nom d'*Asplenium ×contrei* Callé, Lovis & Reichst.

Jusqu'à présent et à notre connaissance, cet hybride, fort rare et, donc, de formation exceptionnelle malgré la concomitance fréquente des deux parents, n'a été observé, en Europe, qu'en France, en Grande-Bretagne et en Espagne.

1. Historique

Pour la France, les données correspondant à des spécimens dûment vérifiés sont les suivantes.

Hautes-Pyrénées : roches siliceuses, schisteuses à environ 200 m à l'est du sommet du col d'Aspin, alt. 1 470 m, *leg.* H. Kunz & T. Reichstein, 3 août 1961, *Reichstein TR-459* [holo-BM (BM 001045159 !)] (photo 3) ; iso- G (non retrouvé), K (non retrouvé), P (P01547457 !), herbier T. Reichstein *in* herbier privé R. Viane, herbier J. Vivant *in* herbier CBNPMP (Conservatoire botanique national des Pyrénées et de Midi-Pyrénées, F-65200 Bagnères-de-Bigorre) !] ; roches siliceuses, schisteuses à environ 200 m à l'est du sommet du col d'Aspin, alt. 1 470 m, *leg.* H. Kunz & T. Reichstein, 3 août 1961, deuxième plante, *Reichstein TR-456* [para- herbier T. Reichstein *in* herbier privé R. Viane !, G (G00349580 !, G00349581 !), K (non retrouvé), P (non retrouvé)]. Selon Callé *et al.* (1975), une plante a été revue le 25 mai 1964 par A. & C. Nieschalk, mais non revue en 1973 par J. Callé, H. & K. Rasbach et T. Reichstein. Recherché

et non revu également par l'un de nous (M.B.) en août 1985 (Boudrie & Lazare, 1998), ni par P. Holveck en juillet 2017 (comm. pers. P. Holveck).

Des photosilhouettes de frondes de la plante de cette localité ont aussi été présentées par Reichstein (1981, 1984).

Note : un carton appartenant aux archives de J.D. Lovis a été retrouvé en 2016 à BM par M. Gibby et A. Paul (*comm. pers.*, 2016). Ce carton contient plusieurs chemises avec des frondes isolées correspondant à des doubles du spécimen TR-459, mais récoltées par J.D. Lovis en 1963, 1964, 1965 et 1973 sur le pied qu'il avait en culture à Leeds (issu du pied d'origine que T. Reichstein avait en culture à Bâle et qui a constitué l'holotype déposé à BM). Ce matériel de J.D. Lovis, ayant été récolté par un autre récolteur que T. Reichstein et à une date différente de celle de l'holotype, ne peut être considéré comme isotype. Il existe également des frondes isolées du spécimen TR-456 récoltées par J.D. Lovis en 1964 et 1965 qui ne sont pas des types.

Corrèze : Saint-Martin-la-Méanne, à Lafarge, une touffe sur un vieux mur, au sud du village, avec *Asplenium adiantum-nigrum* et à 30-40 cm d'*Asplenium septentrionale* et d'*A. trichomanes* (*A. foresiacum* croît aussi tout près sur d'autres murs), *leg.* E. Contré, 6 août 1971, *in* herbier H. Bouby n° 10.357 (P01441048 !) ; vieux mur, Saint-Martin-La-Méanne, *leg.* E. Contré, 9 août 1972 (*in* herbier Contré) ; vieux mur, La Farge, entre Saint-Martin-la-Méanne et La Roche-Canillac, *leg.* H. Bouby, 9 août 1972, Bouby n° 10.358 (P01441047 !).

Le fichier « Contré » a été consulté au siège de la SBCO à Saint-Sulpice-de-Royan, en 1987 (M.B. et R. Prelli), et les informations, de la main d'E. Contré, concernant cette station d'*Asplenium ×contrei*, sont les suivantes : « Lafarge, près de St-Martin-la-Méanne, Corrèze : une très belle touffe sur le mur de clôture d'un jardin, à env. 60 cm du sol, tout au sud du village, côté nord de la RD 29 (route de St-Martin-la-Méanne à La Roche-Canillac), à 4 pas seulement à l'ouest de

l'embranchement du chemin sud-nord qui traverse le village (avec *Asplenium adiantum-nigrum*, *A. septentrionale* et *A. trichomanes*) ».

Cet hybride a disparu de ce site entre le 16 août 1975 (récoltes de deux frondes par R. Maisonneuve, ce jour-là, conservées dans l'herbier de ce dernier, et *in litt.* R. Maisonneuve à M. Boudrie du 8 novembre 1989 ; cf. Boudrie, 1990) et le 5 septembre 1978 (date de la visite effectuée par E. Contré et R. Maisonneuve qui ont constaté sa disparition ; Contré & Maisonneuve, 1978). Il a été recherché à nouveau en août 1986 (M.B., A. Vilks & L. Brunerye), grâce aux indications précises ci-dessus et non revu (Boudrie, 1988 : 73), le mur sur lequel il se trouvait ayant été détruit et remplacé par une clôture assortie d'une haie de thuyas. La dernière observation d'*A. ×contrei* à cet endroit remonte donc au 16 août 1975 (frondes récoltées par R. Maisonneuve).

Note : pour le département de l'Hérault, l'hybride *Asplenium* × *contrei* a été cité de Saint-Gervais-sur-Mare avec « ? » par Badré & Deschâtres (1979). L'origine de ce « ? » provient des parts suivantes que nous avons retrouvées dans l'herbier P (P01441049 ! et P01441050 !) :

Planche P01441049 (plusieurs récoltes sur la même planche, toutes les frondes provenant d'un seul et unique pied, comme indiqué sur les étiquettes) : Hérault, environs de Saint-Gervais-sur-Mare, *E. Pagès s.n.*, 1914 (ex herbier L. de Vergnes) ; Hérault, environs de Saint-Gervais-sur-Mare, *E. Pagès s.n.*, 3 décembre 1916 ; Hérault, Saint-Gervais-sur-Mare, dans les anfractuosités d'un piton schisteux, alt. 400 m env., *E. Pagès & L. de Vergnes s.n.*, 27 août 1919 (ex herbier L. de Vergnes).

Planche P01441050 : Hérault, Saint-Gervais-sur-Mare, tènement dit « Merle », rochers schisteux, *E. Pagès s.n.*, décembre 1916 (ex herbier R. de Litardière).

Deux d'entre nous (M.B. et R.V.) ont eu l'occasion, en mars et août 2016, d'étudier plus précisément les frondes de ces deux planches en question et ont conclu à leur détermination comme *Asplenium* × *costei* Litard. qui est l'hybride entre *Asplenium foreziense* et *A. septentrionale*, déjà connu dans la région de Saint-Gervais-sur-Mare.

Grande-Bretagne : cité par Lovis & Reichstein (1968) et par Callé *et al.* (1975), d'après les spécimens d'herbier suivants : [Pays-de-Galles], Pass of Llanberis, *leg. Rev. T. Butler*, ca. 1865 [BM, K (K001235142 !), LDS] ; [Pays-de-Galles], Pass of Llanberis, *leg. Rev. T. Butler*, June 1871, *Butler 1610* [K (K001235140 !)]. Non revu depuis.

Espagne : signalé par Salvo Tierra (1990) comme très rare et localisé dans le nord-est de la péninsule Ibérique. Découvert également en 1996 dans la région de Burgos (Mateo Sanz & Marín Padellano, 1997).

2. Nouvelle localité française

C'est au cours d'une mission dans le cadre des inventaires du Conservatoire botanique national Sud-Atlantique (CBNSA) dans le département de la Vienne qu'un pied de l'hybride *Asplenium* × *contrei* a été découvert le 11 juin 2015 par l'un d'entre nous (R.B.).

La consultation des photos envoyées aussitôt ne nous a laissé guère de doutes sur l'intérêt de l'observation et sur l'identité probable de cet *Asplenium*, de toute évidence hybride. Aussi, une visite commune du site l'accueillant a été réalisée le 6 septembre 2015, à l'occasion de laquelle les rochers alentours ont été prospectés pour voir quelles autres espèces d'*Asplenium* croissaient dans ses environs immédiats.

Un pied de l'hybride, vigoureux et sans doute ancien, pousse dans une fissure verticale de rochers granitiques (Photo 1) et comprend une bonne vingtaine de frondes dont les plus longues atteignent 15-20 cm. Le limbe est largement triangulaire (Photo 2), porté par un long pétiole deux à trois fois plus long que le limbe, brun-noir dans sa partie basale sur le premier tiers de sa longueur, la coloration brune montant très légèrement plus haut du côté adaxial que du côté abaxial



Photo 1. Aspect général du pied d'*Asplenium* × *contrei*, Vienne (86) - 6 septembre 2015, © M. BOUDRIE



Photo 2. Détail d'une fronde d'*Asplenium* × *contrei*, Vienne (86). Spécimen MB-4678 (échelle : 5 cm) - 6 septembre 2015, © M. BOUDRIE

(environ 1 cm de différence). Sur chaque côté du rachis, on compte trois à quatre pennes alternes, les basales triangulaires et pennées, à segments étroits et allongés de 1 à 1,5 cm de long environ. Les sores sont, comme typiquement chez les hybrides d'*Asplenium*, d'une couleur rouge-orangé.

Plusieurs pieds d'*A. adiantum-nigrum* sont présents dans cette même fissure au-dessus de l'hybride, alors qu'*A. septentrionale* est bien présent dans des fissures des environs. Par contre, dans une autre fissure, quelques mètres au-dessus de l'hybride, nous avons observé quelques pieds d'*Asplenium billotii* (ici considéré au rang d'espèce ; = *Asplenium obovatum* subsp. *billotii* selon *Flora Gallica*, Tison & de Foucault, 2014). La présence de ce dernier taxon à proximité a donc créé le doute sur l'identité de l'hybride d'*Asplenium*... De quel hybride s'agissait-il donc..., d'*A. ×contrei* ou bien d'*A. ×souchei* ? Callé et al. (1975) avaient déjà très justement signalé la forte ressemblance entre ces deux hybrides et mis en évidence leur différenciation par la cytologie.

De ce fait, le 6 septembre 2015, nous avons dû procéder au prélèvement de quatre frondes auxquelles a été attribué un numéro de récolte de la séquence de l'un d'entre nous (M.B.), n° MB-4678. Deux de ces frondes ont été pressées et séchées pour être mises en herbier comme témoin et seront déposées à l'herbier du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris (P). Les deux autres frondes, placées dans du papier essuie-tout humidifié et mises dans un sac plastique, ont été envoyées au département de ptéridologie de l'Université de Gand, en Belgique, où l'un d'entre nous (R.V.) les a réceptionnées deux jours après en parfait état et a procédé à des analyses de cytométrie de flux (*flow cytometry* ou FCM). L'une des frondes a également été pressée et séchée pour être déposée, comme témoin, dans l'herbier privé de R. Viane à Gand.

3. Analyses d'ADN en cytométrie de flux

3.1. Méthode

Concernant la préparation du matériel prélevé comme indiqué ci-dessus, la fronde fraîche a été découpée à l'aide d'une lame de rasoir en petits fragments qui ont été placés dans une boîte de Petri contenant une solution tamponnée pour l'isolation des noyaux. Cette solution (Otto I buffer) est composée de 2,1 % (v/v) d'acide citrique monohydraté, 0,5 % (v/v) du détergent « Tween 20 » qui est un agent tensio-actif de type polysorbate, et de l'eau distillée. Cette suspension a ensuite été passée sur un filtre en nylon à maille de 50 µm. À cette suspension nucléaire a été ajouté un réactif dit « DAPI » composé de 6,5 % d'hydrogénophosphate de sodium dihydraté (Na₂HPO₄·2H₂O), de 40 µl de solution initiale de DAPI (5 mg de DAPI par millilitre d'eau distillée) et d'eau distillée. Chaque échantillon sélectionné a été analysé trois fois. Les échantillons ont été analysés à l'aide d'un cytomètre de flux (analyseur de ploïdie PA 1, Partec GmbH, Münster, Allemagne), selon les instructions du fournisseur. Pour calculer le contenu d'ADN nucléaire relative et pour calibrer les mesures, un standard interne composé d'*Agave striata* (2n = 2x = 60, 2C = 7,8 picogrammes ; Zonneveld et al., 2005) a été utilisé.

3.2. Résultats

Grâce aux analyses FCM déjà effectuées depuis plus de dix années sur les *Asplenium* européens et par comparaison aux valeurs obtenues à partir du standard diploïde, l'un de nous (R.V.) a pu définir le contenu relatif d'ADN des espèces d'*Asplenium* présentes à proximité de l'hybride. Toutefois, alors que nous avions souhaité procéder à des analyses ADN des espèces d'*Asplenium* présentes à proximité de l'hybride, il s'est avéré que, à cause d'une forte sécheresse au cours de l'été 2016 qui a endommagé les frondes, la méthode n'a malheureusement pas permis d'obtenir de résultats fiables ou exploitables. Les valeurs relatives aux autres espèces d'*Asplenium* présentes sur le site (ou à certains hybrides) font donc référence à des analyses effectuées sur du matériel provenant d'autres régions de France ou d'Europe. Bien qu'*Asplenium foreziense* n'ait pas été identifié sur le site, les données relatives à cette espèce sont indiquées.

Ces nombreuses analyses FCM ont permis d'établir des moyennes des valeurs du contenu relatif d'ADN en picogrammes (pg) qui sont comme suit (rappelons qu'il s'agit de valeurs relatives établies à partir d'un standard diploïde, *Agave striata*) :

Asplenium adiantum-nigrum (4x) : 15,0 pg
Asplenium foreziense (4x) : 14,6 pg
Asplenium billotii (4x) : 13,5 pg
Asplenium septentrionale (4x) : 10,2 pg

Et pour les hybrides :

Asplenium ×costei (*A. foreziense* × *A. septentrionale*) : 11,9 pg
Asplenium ×souchei (*A. billotii* × *A. septentrionale*) : 12,1 pg

Les analyses FCM effectuées sur les frondes de l'hybride en question donnent **12,5 pg**. Ce résultat fait apparaître les éléments suivants :

- la valeur obtenue se situe de façon tout à fait intermédiaire entre les valeurs d'*A. adiantum-nigrum* et d'*A. septentrionale* ;
- la valeur obtenue confirme, de plus, que l'hybride en question n'est pas *Asplenium ×souchei*, mais est bien *Asplenium ×contrei*.

4. Écologie et phytosociologie

La station se trouve dans une fissure verticale entaillée dans un bloc rocheux granitique, en situation éclairée. Le sol est très peu épais et se limite à une toute petite accumulation de terre au fond de celle-ci. Ainsi définie, elle appartient à la végétation des rochers siliceux (CORINE-biotopes 62.212, EUNIS H3.112 et DH 8220). Ce groupement est composé de *Asplenium adiantum-nigrum*, *A. septentrionale*, *A. trichomanes* subsp. *trichomanes*, *A. ×contrei*, *Umbilicus rupestris*.

Sur le plan phytosociologique, on se situe dans la classe des *Asplenetia trichomanis* (Braun-Blanq. in H. Meier & Braun-Blanq. 1934) Oberd. 1977 qui rassemble les végétations chasmophytiques des parois européennes et l'ordre des *Androsacetalia vandellii* Braun-Blanq. in H. Meier & Braun-Blanq. 1934 nom. corr. qui correspond aux végétations des parois rocheuses siliceuses. Au niveau de l'alliance, nous sommes, dans ce secteur, au cœur de l'*Asplenetia billotii-Umbilicion rupestris* B. Foucault 1988 qui se limite aux végétations planitiales, atlantiques et mésothermophiles. Cette alliance est principalement représentée par l'*Umbilico rupestris-Asplenetium billotii* B. Foucault 1979 qui est une association hygrophile et sciaphile que l'on trouve dans les parois adjacentes. La communauté à *Asplenium ×contrei* possède, quant à elle, des caractéristiques mésoxérophiles et héliophiles.

Le groupement représenté ici peut être rattaché à l'*Asplenetium septentrionali-adianti-nigri* Oberd. 1938, race occidentale à *Umbilicus rupestris* dont le type appartient à l'alliance continentale de l'*Asplenium septentrionalis* Oberd. 1938 mais la race à *Umbilicus rupestris* représentée ici constitue déjà une forme de passage vers l'alliance précédente.

5. Statut, menaces

Comme il s'agit d'un taxon hybride, *Asplenium ×contrei* ne bénéficie d'aucun statut de protection réglementaire. Sa protection peut passer par celle de son habitat, en vertu de l'application de la directive européenne, même si sa portée réglementaire reste plus limitée.

Quoiqu'elle s'avère délicate à mettre en œuvre, la limitation de la fréquentation du site accueillant la station est donc nécessaire à sa conservation. Celle-ci passerait essentiellement par une meilleure canalisation du public éventuel.

L'exceptionnelle sécheresse qui a touché la région de juillet à octobre 2016 a mis à mal l'unique individu connu, dont l'ensemble des frondes matures a été grillé. Néanmoins, la présence d'une dizaine de crosses (frondes en formation), constatée le 3 octobre 2016, alors que la sécheresse sévissait

encore, montre une remarquable résistance à un tel épisode climatique.

Discussion - Conclusions

La sauvegarde d'un hybride comme *A. xcontrei*, même si elle n'est pas encadrée par la loi, présente un réel intérêt en termes de conservation de la biodiversité. L'hybridation étant un moteur de la spéciation, il apparaît primordial de préserver ce jalon dans l'évolution.

Toutes les stations françaises historiques de ce taxon ayant, à notre connaissance, disparu, il convient de préserver cette station, en particulier des récolteurs compulsifs. Ainsi, les auteurs s'engagent à ne pas communiquer la localisation précise de cette station, sauf à des fins scientifiques ou conservatoires.

Ailleurs, la prospection de sites accueillant les deux parents (*Asplenium septentrionale* et *A. adiantum-nigrum*) pourrait permettre de découvrir de nouvelles stations d'*Asplenium xcontrei* et ainsi de mieux cerner sa biologie et son écologie, ainsi que de comprendre les causes de sa rareté.

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos très sincères remerciements aux personnes suivantes : Mme Michelle Price et M. Laurent Gautier (herbier G, Genève, Suisse), Mme Alison Paul (herbier BM, Londres, G.B.), Mme Laura Pearce (herbier K, Kew, G.B.), M. Gérard Largier (CBNPMP, Bagnères-de-Bigorre-65) pour la transmission de scans des spécimens des herbiers les concernant, M. Germinal Rouhan (MNHN, Paris) pour l'accès aux herbiers du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris (P), ainsi que MM. Pascal Holveck (Rauwiller-67) et Santiago Pajarón (Universidad Complutense, Madrid, Espagne) pour la transmission d'informations.

Bibliographie

- Badré F. & Deschâtres R., 1979 - Les Ptéridophytes de France, liste commentée des espèces (taxinomie, cytologie, écologie et répartition générale). *Candollea* **34** : 379-457.
- Boudrie M., 1988 - Les Ptéridophytes de l'Herbier Charles Le Gendre : une mise au point de la ptéridoflore limousine. *Bull. Soc. Bot. Centre-Ouest*, NS, **19** : 65-96.
- Boudrie M., 1990 - Apports et précisions sur les Ptéridophytes de la région Limousin. *Bull. Soc. Bot. Centre-Ouest*, NS, **21** : 131-141.
- Boudrie M. & Lazare J.-J., 1998 - Observations ptéridologiques dans le département des Hautes-Pyrénées. *Monde Pl.* **463** : 7-9.
- Callé J., Lovis J.D. & Reichstein T., 1975 - *Asplenium xcontrei* (*A. adiantum-nigrum* × *A. septentrionale*) *hybr. nova* et la vraie ascendance de l'*Asplenium xsouchei* Lit. *Candollea* **30** :

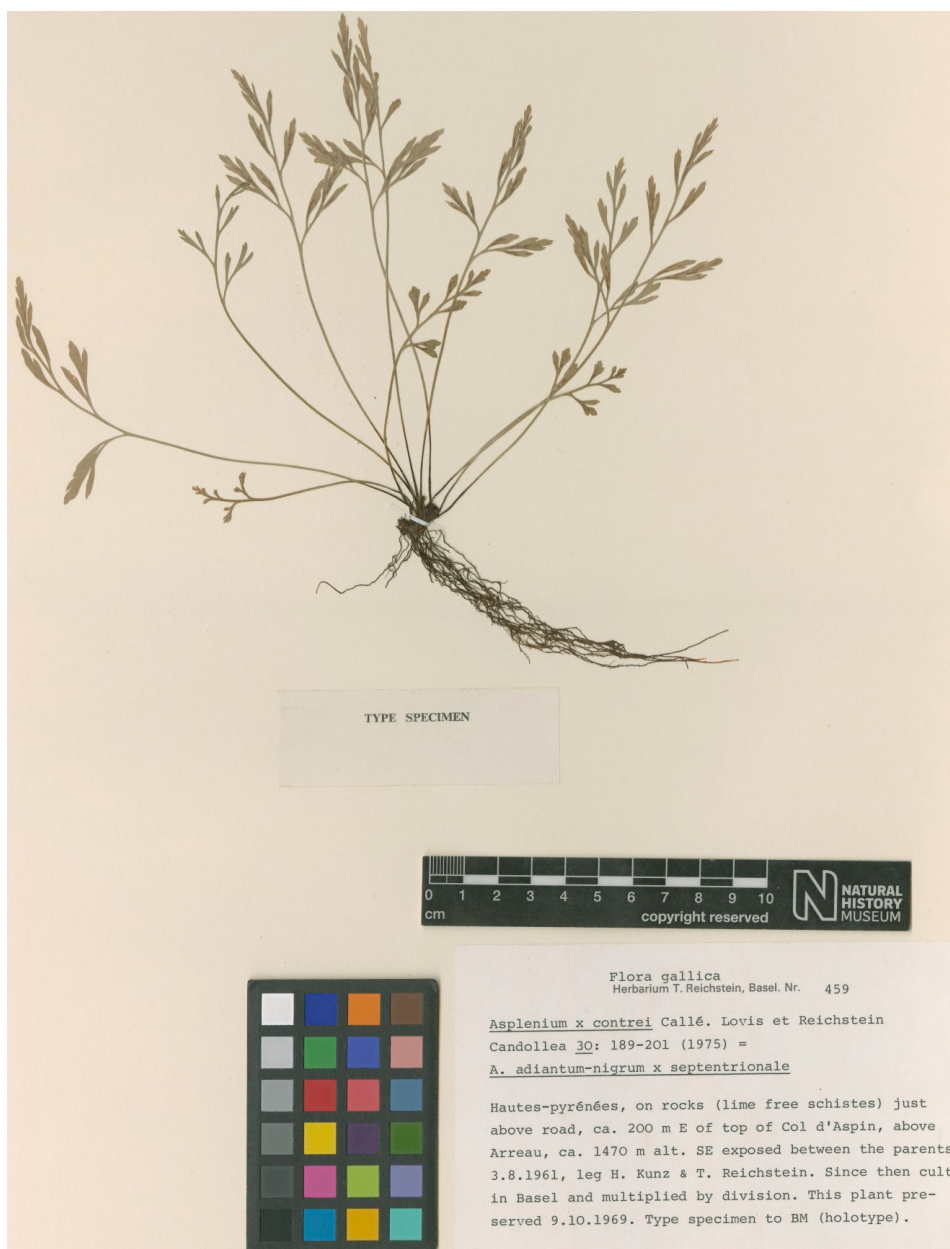


Photo 3. *Asplenium xcontrei* Callé, Lovis & Reichst., col d'Aspin, Hautes-Pyrénées, France, *Reichstein 459* (holotype - BM). - © Natural History Museum, London (2014). Dataset: Collection specimens. Natural History Museum Data Portal (data.nhm.ac.uk).

189-201.

Contré E. & Maisonneuve R., 1978 - Espèces intéressantes du département de la Corrèze ; II - Aspléniacées. *Bull. Soc. Bot. Centre-Ouest*, NS, **9** : 290.

Lovis J.D. & Reichstein T., 1968 - *Asplenium adiantum-nigrum* × *septentrionale*: a hybrid new to Britain. *Brit. Fern Gaz.* **10** : 37.

Mateo Sanz G. & Marín Padellano L., 1997 - Aportaciones a la flora burgalesa, II. *Flora Montib.* **5** : 7.

Reichstein T., 1981 - Hybrids in European *Aspleniaceae* (Pteridophyta). *Bot. Helv.* **91** : 89-139.

Reichstein T., 1984 - Aspleniaceae: 257-258. In G. Hegi, *Illustrierte Flora von Mitteleuropa*, Pteridophyta 1 (1). 3^e éd., K.U. Kramer (ed.) Berlin, Hambourg, 310 p., 275 fig.

Salvo Tierra E., 1990 - *Guía de helechos de la Península Ibérica y Baleares*. Ed. Pirámide, Madrid, 377 p.

Zonneveld B.J.M., Leitch I.J. & Bennett M.D., 2005 - First Nuclear DNA Amounts in more than 300 Angiosperms. *Ann. Bot.* **96** (2) : 229-244.