



CONSORTIUM DE RECHERCHE « ÎLES ÉPARSES 2017-2021 »



Projet RECOFFIE (2019-2021) Rapport de fin de projet - Juin 2021



Table des matières

CONTEXTE	- 4 -
DESCRIPTION DU PROJET.....	- 5 -
OBJECTIFS DU PROJET	- 7 -
Flore vasculaire	- 7 -
Lichens	- 8 -
BILAN DES ACTIVITES SCIENTIFIQUES	- 9 -
Missions de terrain : récoltes de matériel	- 9 -
Flore vasculaire.....	- 9 -
Lichens	- 11 -
Gestion du matériel récolté et coordination des partenariats	- 13 -
Flore vasculaire.....	- 13 -
Lichens	- 15 -
Analyses et résultats préliminaires	- 17 -
Analyses moléculaires de la flore	- 17 -
Analyses chimiques des lichens.....	- 29 -
Etude biostatistique et moléculaire	- 32 -
Perspectives	- 35 -
Flore vasculaire.....	- 35 -
Lichens	- 36 -
Bibliographie	- 41 -
Productions réalisées	- 41 -
Productions en cours de revue	- 41 -
BILAN FINANCIER.....	- 43 -
Bilan des dépenses attribuées par le Consortium de Recherche	- 43 -
Co-financements.....	- 44 -
REMERCIEMENTS.....	- 44 -

Table des figures

Figure 1 : campagne de terrain organisée grâce aux moyens maritimes mis à disposition. Vue de Tromelin et du Marion Dufresne en arrière-plan.	- 4 -
Figure 2 : Carte des lieux étudiés. Les territoires en minuscules non italiques correspondent aux îles Éparses, ceux marqués d'un * ont été étudiés ; les territoires en minuscules italiques correspondent aux autres territoires français d'outre-mer ; les pays sont indiqués en majuscules.....	- 7 -
Figure 3. Pressage des échantillons de flore collectés sur l'Île du Lys (gauche), et photographie d'un échantillon collecté sur le terrain (<i>Bidault et al. 4665, Evolvulus alsinoides</i>), à droite.....	- 10 -
Figure 4 : diversité des phorophytes inventoriés par territoire.....	- 12 -
Figure 5 : récurrence des phorophytes inventoriés dans les territoires (en nombre d'espèces).....	- 12 -
Figure 6 : <i>Roccella montagnei</i> collecté dans les îles Éparses et dont la composition chimique a été comparée entre Europa, Juan de Nova, Gorieuse et São Tomé et Príncipe.....	- 15 -
Figure 7 : <i>Stigmatodiscus</i> sp. dont la position taxonomique va être confirmée par analyses moléculaires.....	- 16 -
Figure 8. Gauche : <i>Euphorbia mertonii</i> (échantillon <i>Bidault et al. 4596</i> , collecté à Europa), droite : <i>Euphorbia stenoclada</i> (échantillon <i>Bidault et al. 4583</i> , collecté à Europa).....	- 22 -
Figure 9. Arbres de consensus majoritaire issus des analyses de maximum de vraisemblance pour les matrices ITS et matK combinées pour un échantillonnage représentatif (A) de la diversité du sous-genre <i>Chamaesyce</i> (<i>Euphorbia</i>) de l'Ancien Monde, et (B) de la section <i>Tirucalli</i> (<i>Euphorbia</i> sous-genre <i>Euphorbia</i>). Les échantillons provenant des îles Éparses sont en rouge.....	- 23 -
Figure 10. Arbres de consensus majoritaire issus des analyses de maximum de vraisemblance pour les matrices ITS et matK combinées pour un échantillonnage représentatif (A) de la diversité du genre <i>Lycium</i> (Solanaceae), et (B) pour les espèces proches de <i>S. americanum</i> (Solanaceae). Les échantillons provenant des îles Éparses sont en rouge.....	- 24 -
Figure 11. <i>Lycium elliotii</i> , échantillon <i>Bidault et al. 4597</i> , collecté à Europa.....	- 25 -
Figure 12. Arbre de consensus majoritaire issu des analyses de maximum de vraisemblance pour les données IITS et ETS combinées pour un échantillonnage le plus exhaustif possible des <i>Achyranthes</i>	- 26 -
Figure 13. Arbre de consensus majoritaire issu des analyses de maximum de vraisemblance pour les données ITS et ETS combinées pour un échantillonnage des <i>Achyranthes</i> de l'ouest de l'océan Indien.....	- 27 -
Figure 14. <i>Achyranthes aspera</i> var. <i>fruticosa</i> , échantillon <i>Bidault et al. 4668</i> , collecté à Grande Glorieuse.....	- 28 -
Figure 15 : <i>Roccella applanata</i> provenant d'Europa dont le profilage chimique a été réalisé.....	- 30 -
Figure 16 : <i>Ramalina dumeticola</i> collecté à Juan de Nova.....	- 31 -
Figure 17 : <i>Hexagonia hydroides</i> collecté à Europa.....	- 32 -
Figure 18 : Modèle de distribution cartographique d' <i>Hexagonia hydroides</i>	- 33 -
Figure 19 : Distance écologique entre <i>Hexagonia hydroides</i> et ses arbres hôtes.....	- 34 -
Figure 20 : Chronogramme de l'estimation de la date de divergence entre les taxons étudiés.....	- 34 -

Référence conseillée du rapport

HIVERT, J., PONCET, R., BIDAULT, E., AUBRIOT, X., LE DEVEHAT F., FERRON S., MCCAULEY, R., FONTAINE, C., PICOT, F., BOULLET, V. & MULLER, S. (2021). Consortium de recherche « îles Éparses 2017-2021 » : Projet RECOFFIE (2019-2021), rapport de fin de projet. CBN-CPIE Mascarin, Missouri Botanical Garden, Muséum national d'Histoire naturelle, UMS PatriNat, 44 p.

Projet RECOFFIE (2019-2021), rapport de fin de projet Consortium de recherche « îles Éparses 2017-2021 »

Contexte

Le projet RECOFFIE (Renforcement des COnaissance sur la Flore et la Fonge des îles Éparses) a été réalisé dans le cadre du Consortium de recherche des îles Éparses. Ce Consortium établi sur la période 2017-2020 regroupe le CNRS-Inee, l'Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer (Ifremer), l'Institut de Recherche et Développement (IRD), l'Office français de la Biodiversité (OFB, ex. Agence française pour la Biodiversité), l'Université de La Réunion, le Centre Universitaire de formation à la Recherche (CURF) de Mayotte et les Terres Australes et Antarctiques françaises (TAAF). Il a permis la réalisation de 14 projets recouvrant diverses thématiques allant des géosciences à l'étude de l'évolution du Climat et de la biodiversité, sélectionnés lors d'un appel à projets lancé le 17 mai 2017. Les TAAF, en qualité de coordinateur du Consortium, ont été chargées d'assurer la bonne mise en œuvre des projets sur la période 2018-2020, notamment d'organiser les missions de terrain associées à ces projets : plus d'une vingtaine entre 2018 et 2019, une campagne dédiée du Marion Dufresne organisée en 2019 (Fig. 1) et une dizaine de missions complémentaires en 2020 par voie maritime ou aérienne.



Figure 1 : campagne de terrain organisée grâce aux moyens maritimes mis à disposition. Vue de Tromelin et du Marion Dufresne en arrière-plan.

Description du projet

Titre du projet : Renforcement des COonnaissances sur la Flore et la Fonge des îles Éparses

Acronyme : RECOFFIE

Résumé : Le projet pluridisciplinaire RECOFFIE, mené conjointement par l'UMS PatriNat, le CBN-CPIE Mascarin et le Missouri Botanical Garden et plusieurs partenaires associés (Tableau 1), s'inscrit dans une thématique globale d'amélioration des connaissances de la biodiversité terrestre des îles Éparses. Un premier volet est dédié à la détermination fine de certains taxons de la flore vasculaire terrestre dont la taxonomie reste problématique malgré les observations morphologiques menées jusqu'alors (morphes non rapportables en nos connaissances actuelles à des concepts taxonomiques connus ou taxons faisant partie de groupes d'espèces présentant un haut degré de variabilité). Le CBN-CPIE Mascarin et le MBG ont procédé à de nouvelles récoltes in situ pour disposer du matériel nécessaire à la réalisation d'analyses moléculaires en vue de statuer sur le positionnement taxonomique de certaines espèces et de mieux connaître leurs affinités phytogéographiques notamment avec la flore du sud-ouest de l'océan Indien. Le second volet du projet concerne les lichens (champignons lichénisés et lichénicoles), organismes encore largement méconnus à l'échelle mondiale, et en particulier dans l'Ouest de l'Océan Indien. L'UMS PatriNat (OFB – CNRS – MNHN) et le CBN-CPIE Mascarin, ont réalisé une campagne de prospections ciblées en vue d'inventorier pour la première fois la diversité lichénologique et d'étudier la composition de la lichénofonge des îles Éparses notamment d'un point de vue biogéographique. L'ensemble des récoltes menées au cours de ce projet permettent de compléter deux collections de référence institutionnelles (herbier de cryptogames du CBN-CPIE Mascarin à La Réunion et herbier de cryptogames du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris (PC)), de disposer du matériel nécessaire à la réalisation d'études portant sur la diversité taxonomique, génétique et chimique des lichens des Îles Éparses, et d'entamer une première 'checklist' des lichens de ces territoires.

Mots clés : flore vasculaire terrestre, lichens (champignons lichénisés et lichénicoles), identification, analyses morphologiques et moléculaires, inventaire, collection de référence, herbiers institutionnels.

Responsable scientifique du projet :

Nom : Serge MULLER

Titre / Fonction : Docteur es Sciences / Professeur au Museum National d'Histoire Naturelle et responsable scientifique de l'herbier (phanérogames et cryptogames)

Organisme / Laboratoire d'appartenance : Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité - UMR 7205 - MNHN

Adresse postale : Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité - UMR 7205 - MNHN, 16 Rue Buffon-CP39-75005 Paris

Tel. / e-mail : 01.40.79.30.53 / serge.muller@mnhn.fr

Nom du directeur : Philippe GRANDCOLAS

Tel. : 01.40.79.30.53

Tableau 1 : personnes ayant contribué au projet.

Prénom NOM	Laboratoire	Domaine d'intervention	Type d'intervention
Jean HIVERT	CBN-CPIE Mascarin	Botanique	Terrain ; Organisation mission ; Expertise post-mission ; Coordination
Ehoarn BIDAULT	MBG (Département Afrique et Madagascar)	Botanique	Terrain ; Expertise post-mission ; Coordination
Rémy PONCET	UMS PatriNat (OFB- CNRS-MNHN)	Lichénologie	Terrain ; Expertise post-mission ; Coordination
Christian FONTAINE	CBN-CPIE Mascarin	Botanique	Terrain
Frédéric PICOT	CBN-CPIE Mascarin	Botanique	Terrain
Françoise LE DEVEHAT	Institut des Sciences chimiques de Rennes	Chimie	Laboratoire ; Expertise post- mission
Solenn FERRON	Institut des Sciences chimiques de Rennes	Chimie	Laboratoire ; Expertise post- mission
Vincent BOULLET	Université de Bretagne Occidentale	Botanique	Expertise post-mission
Xavier AUBRIOT	CNRS, AgroParisTech (UMR 8079)	Génétique	Laboratoire
Ross McCAULEY	Fort Lewis College Herbarium, Colorado	Génétique	Laboratoire
Gilberto OCAMPO ACOSTA	Université Autonome de Aguascalientes, Mexique	Génétique ; Morphologie	Laboratoire

Objectifs du projet

Le projet RECOFFIE est pluridisciplinaire, il porte sur la flore vasculaire terrestre et des lichens des Îles Éparses (Fig. 2). Il concerne prioritairement les territoires suivants : Europa (EUR), Juan de Nova (JDN), les Glorieuses (GLO) et Tromelin (TRO).

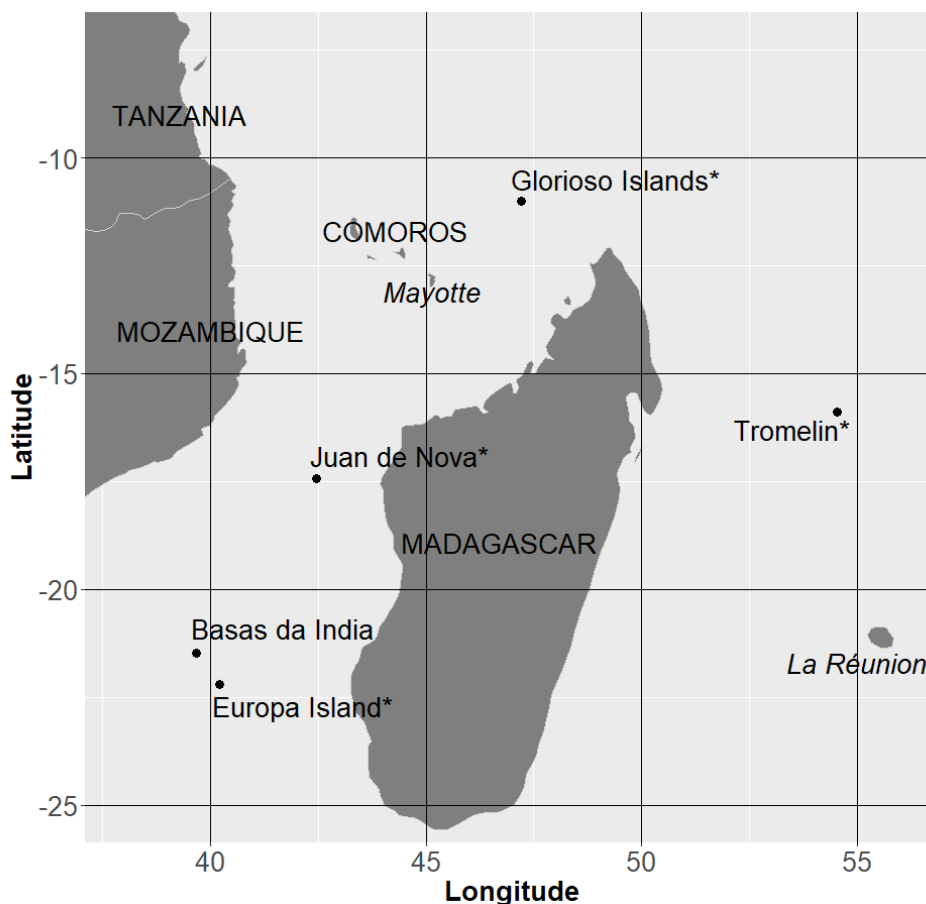


Figure 2 : Carte des lieux étudiés. Les territoires en minuscules non italiques correspondent aux îles Éparses, ceux marqués d'un * ont été étudiés ; les territoires en minuscules italiques correspondent aux autres territoires français d'outre-mer ; les pays sont indiqués en majuscules

Flore vasculaire

Dans le cas de la flore vasculaire, malgré des avancées significatives récentes en matière de connaissance et d'inventaire ces dernières années, certains taxons recensés sur les îles Éparses font partie de complexes taxonomiques encore difficiles à appréhender selon les critères morphologiques classiques. Tel que précisé dans le « Formulaire de réponse à l'appel à projets Îles Éparses » ainsi que dans les « Éléments de réponse aux recommandations du Comité scientifique du Consortium de recherche des Îles Éparses », 16 taxons sont concernés par cette problématique : taxon inconnu (JDN), *Achyranthes aspera* var.1 (JDN), *Achyranthes aspera* var.2 (JDN), *Achyranthes* sp.3 (EUR), *Achyranthes* cf. *talbotii* Hutch. & Dalziel (EUR), *Euphorbia* sp.1 (EUR), *Ficus* cf. *grevei* (GLO), *Ficus* sp.2 (GLO), *Boerhavia* sp.1 (JDN, GLO), *Boerhavia* sp.2 (TRO), *Phyllanthus maderaspatensis* L. s. l. (EUR, JDN, GLO), *Phyllanthus* sp.2 (EUR), *Phyllanthus* sp.3 (EUR), *Portulaca* aff. *tuberosa* Roxb. (EUR), *Lycium elliotii* Dammer s. l. (EUR) et *Solanum* sp.1 (GLO). Pour ces taxons, une analyse moléculaire est nécessaire pour déterminer leur position phylogénétique par rapport aux autres taxons appartenant aux mêmes genres. Les autres taxons appartenant à l'un des 7 genres étudiés feront également l'objet de récoltes en vue de disposer de matériel comparatif (morphologie et modéculaire) qui auront lieu prioritairement sur les îles Éparses et si possible à La Réunion et à

Mayotte. En parallèle (objectif secondaire), la phase de terrain permettra également de compléter l'ensemble des collections végétales des îles Éparses du CBN-CPIE Mascarin (herbier, silicathèque, alcoothèque et carpothèque) ainsi que des institutions partenaires (herbiers du Missouri Botanical Garden [MO], du Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris [P], du Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève [G], du Parc Botanique et Zoologique de Tsimbazaza d'Antananarivo [TAN], de l'antenne de Mayotte du CBN-CPIE Mascarin [MAO] ; collections de l'Université Libre de Bruxelles[BRLU]).

Lichens

Concernant l'étude des lichens, deux objectifs principaux sont identifiés :

- collecter le matériel utile à l'inventaire des lichens et champignons lichénicoles de chaque territoire des îles Éparses (la majorité des déterminations doit être réalisée ex-situ au laboratoire eu égard à la nécessité d'utiliser divers réactifs chimiques, de réaliser des observations microscopiques et d'analyser la composition chimique de certaines espèces) ;
- collecter des « échantillons de référence » qui rejoindront (i) l'herbier cryptogamique du CBN-CPIE Mascarin à La Réunion et (ii) la collection de cryptogames du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris (PC).

Bilan des activités scientifiques

Missions de terrain : récoltes de matériel

Que ce soit pour la flore ou les lichens, les phases de récolte de terrain se sont déroulées sur l'ensemble des îles Éparses grâce à la rotation 2019 du Marion Dufresne (du 4 au 30 avril ; Europa, Juan de Nova, la Grande Glorieuse et l'île du Lys, Tromelin), soit un total cumulé de 15 jours de terrain ayant permis de consacrer 29 jours-Homme à l'étude de la flore et 29 jours-Homme à l'inventaire des lichens.

De plus, des récoltes de matériel végétal de La Réunion ont été effectuées en amont de la rotation du Marion Dufresne (début avril 2019), tandis que celles de Mayotte ont été faites juste après (mai-juin 2019). Enfin, des récoltes supplémentaires ont été réalisées entre le 13 mai et le 14 juin 2019 lors d'une mission du CBN-CPIE Mascarin à Juan de Nova.

Flore vasculaire

Les récoltes de matériel végétal ont consisté en 4 types :

- **des parts d'herbier (Fig.3)** : idéalement au nombre de 6 par taxon récolté (selon état phénologique et quantité du matériel disponible) ; conditionnées in situ dans une presse à herbier puis mises à sécher grâce à une chaufferie soufflante ; à destination des herbiers du CBNM-îles Éparses (CBNM), du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris (P), du Missouri Botanical Garden (MO), de Genève (G), d'Antananarivo (TAN) et du CBNM-Mayotte (MAO) ;
- **des parts en silicagel** : accompagne systématiquement une récolte en herbier ; au nombre de 2 parts par taxon ; généralement des feuilles découpées et conditionnées in situ dans des enveloppes stockées dans des zip-lock contenant des billes de gel de silice ; à destination des collections végétales de l'Herbier de l'Université Libre de Bruxelles (BRLU) et du CBNM-îles Éparses. Ces parts seront alors mises à disposition des laboratoires en vue de leurs analyses chimiques et/ou moléculaires ;
- **des parts en alcool** : en complément aux parts d'herbier ; conditionnées in situ dans des piluliers de rhum à 40°, puis au laboratoire dans des piluliers d'alcool à 70° ; à destination des collections végétales de l'Herbier de l'Université Libre de Bruxelles (BRLU) et du CBNM-îles Éparses ;
- **des parts en carpothèque** : en complément aux parts d'herbier et de manière systématique pour les taxons du genre *Portulaca* ; à destination des collections végétales de l'Herbier de l'Université Libre de Bruxelles (BRLU) et du CBNM-îles Éparses

Des photographies ont été réalisées *in situ* pour chaque récolte effectuée. Elles seront liées aux récoltes dans les différentes bases de données internationales, afin de fournir une iconographie la plus complète possible sur la flore des îles Éparses.



Figure 3. Pressage des échantillons de flore collectés sur l'Île du Lys (gauche), et photographie d'un échantillon collecté sur le terrain (*Bidault et al. 4665, Evolvulus alsinoides*), à droite.

Le Tableau 2 présente le bilan synthétique des récoltes floristiques effectuées sur 6 territoires dans le cadre du projet RECOFFIE (soit 137 stations échantillonnées) entre le 3 avril et le 14 juin 2019 (inclus *Solanum* sp.1 de l'île du Lys, récoltes en herbier et en silicagel d'août 2017 par défaut de prélèvement plus récent).

Tableau 2 : bilan synthétique des récoltes floristiques effectuées sur 6 territoires dans le cadre du projet RECOFFIE.

Territoire	Nb de récolte	Nb parts d'herbier	Nb de taxons (herbier)	Nb parts en silicathèque	Nb de taxons (silicathèque)	Nb parts en alcoothèque	Nb taxons (alcoothèque)	Nb parts en carpothèque	Nb taxons (carpothèque)
Europa	39	206	37	41	37	26	20	6	6
Juan de Nova	38	192	37	74	37	33	24	6	6
Glorieuses	45	214	38	86	38	25	16	8	6
Tromelin	8	43	8	15	8	3	2	3	3
Réunion	4	21	4	4	4	1	1	1	1
Mayotte	3	18	3	6	3	0	0	0	0
TOTAL	137	694	97	226	97	88	54	24	15

Parmi les 137 évènements de récolte, 59 concernent 31 taxons candidats aux analyses moléculaires (objectif prioritaire) tandis que 87 concernent 66 taxons prélevés uniquement dans le but de compléter les collections végétales (objectif secondaire).

De manière générale, les phases de récolte de matériel végétal jugé prioritaire pour le projet RECOFFIE sont satisfaisantes tant en termes qualitatifs que quantitatifs. Seuls deux taxons n'ont pu être récoltés car non présents ou non vus lors des phases de terrain de 2019 : *Portulaca nitida* (Grande Glorieuse et île du Lys) et *Solanum americanum* (Grande Glorieuse). Ces lacunes sont peu problématiques sachant que ces taxons ne sont pas directement ciblés par les analyses moléculaires à venir et qu'ils ont été récoltés sur d'autres territoires.

Lichens

Les récoltes de matériel ont été réalisées selon deux méthodologies :

- **un inventaire protocolé des lichens épiphytes (Ppho) :** les îles Éparses sont des territoires qui abritent une diversité lichénologique exceptionnelle favorisée par le degré de naturalité élevé de certains de ses écosystèmes. La petite taille et la relative faible diversité de conditions stationnelles offertes par ces territoires ont permis de déployer un protocole d'étude de la diversité lichénologique centrée sur les phorophytes puisque ces derniers constituent les habitats d'espèces qui abritent le plus de biomasse et de diversité lichénologique dans les îles Éparses. Ainsi, dans chaque territoire, les lichens poussant sur trois individus de chaque espèce ligneuse (arbre, arbuste, liane, etc.) ont été inventoriés. Chaque phorophyte a fait l'objet d'une pression d'inventaire équivalente : 2 observateurs (un lichénologue et un botaniste formé à l'inventaire des lichens), inventaires réalisés entre zéro et deux mètres de hauteur, temps d'inventaire compris entre 10 et 15 minutes par phorophyte. Les phorophytes inventoriés ont été sélectionnés selon leur richesse apparente en lichens et selon leur emplacement géographique, l'objectif étant de sélectionner trois individus le plus éloigné possible les uns des autres. L'intérêt de cette démarche est qu'elle permet de collecter des informations particulièrement utiles sur les relations phorophytes-lichens, qui sont généralement très peu documentées dans la bande intertropicale, et de réaliser un inventaire intensif des lichens dits « épiphytes » ou « lignicoles » ;
- **un inventaire non protocolé opportuniste dit « à vue » des lichens poussant sur tous types de substrats (Pdiv) :** écorce, bois, sol, roche, etc. en vue de compléter le matériel collecté via le protocole décrit plus haut. Cet inventaire a été réalisé principalement lors des trajets entre les phorophytes recherchés lors du protocole précédent.

Les récoltes lichénologiques effectuées lors de la rotation du Marion Dufresne (du 3 au 27 avril 2019) ont permis d'échantillonner 279 stations et de récolter 347 échantillons de lichens sur cinq territoires (Europa, Juan de Nova, la Grande Glorieuse, l'île du Lys, Tromelin).

Le protocole portant sur l'inventaire des lichens épiphytes (Ppho) a permis d'inventorier 235 phorophytes. La diversité spécifique des phorophytes est de 58 taxons, distribués comme suit : 104 sur Europa, 95 sur Juan de Nova, 77 sur la Grande Glorieuse, 14 sur l'île du Lys et 7 sur Tromelin (Fig. 4).

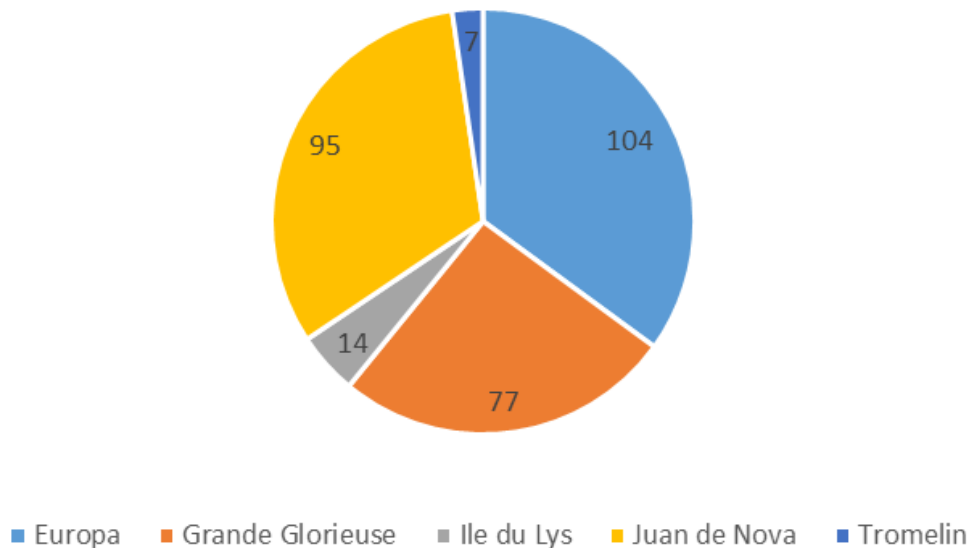


Figure 4 : diversité des phorophytes inventoriés par territoire.

Un des objectifs du protocole d'étude de la diversité des lichens épiphytes des Iles Éparses étant de comparer entre les territoires les taxons présents sur les mêmes phorophytes, les inventaires ont porté autant que possible sur des taxons phorophytes communs à plusieurs territoires. La Figure 5 présente la récurrence et/ou l'unicité des taxons phorophytes inventoriés :

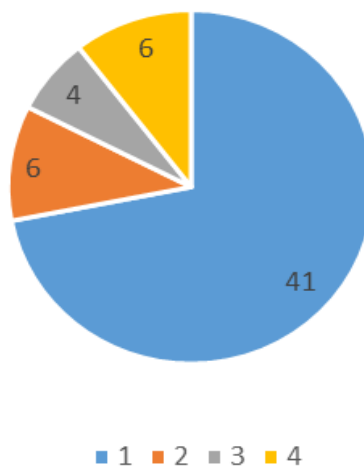


Figure 5 : récurrence des phorophytes inventoriés dans les territoires (en nombre d'espèces).

41 phorophytes n'ont pu être inventoriés que dans un seul territoire ; 6 phorophytes ont été inventoriés dans deux territoires (*Delonix regia*, *Euphorbia stenoclada*, *Perrierophytum glomeratum*, *Psiadia altissima*, *Rhizophora mucronata*, *Scaevola taccada*) ; 4 phorophytes ont été inventoriés dans trois territoires (*Casuarina equisetifolia*, *Guetarda speciosa*, *Suriana maritima*, *Terminalia catappa*) ; et 6 phorophytes ont été inventoriés dans quatre territoires (*Cocos nucifera*, *Cordia subcordata*, *Heliotropium foertherianum*, *Pemphis acidula*, *Pisonia grandis*, *Thespesia populneoides*).

Des informations plus détaillées sur les récoltes de la flore et des lichens (description des opérations de terrain, listes et cartes des stations échantillonnées, listes des échantillons prélevés) sont disponibles dans le rapport de campagne de la rotation du Marion Dufresne dans les îles Éparses du 4 au 30 avril 2019 (HIVERT et al. 2019). Disponible en téléchargement sur le site ['Flore et végétations des îles Éparses'](#) du CBN-CPIE Mascarin.

Gestion du matériel récolté et coordination des partenariats

Durant des phases de terrain, l'ensemble du matériel récolté (flore et lichens) a été conditionné et les informations ont été bancarisées. De retour de mission, les parts ont été réparties entre selon les domaines d'expertise en vue d'intégrer divers processus d'étude et de valorisation.

Flore vasculaire

Échantillons nécessitant des analyses moléculaires

Un important travail de prise de contacts et de coordination a été réalisé à travers les réseaux du MBG et du CBN-CPIE Mascarin afin de trouver des laboratoires partenaires et leur faire parvenir les échantillons :

- les échantillons en silicagel des familles des Euphorbiaceae (12 récoltes, 6 taxons du genre *Euphorbia*), des Phyllanthaceae (5 récoltes, 3 taxons du genre *Phyllanthus*) et des Solanaceae (7 récoltes, 2 taxons du genre *Solanum* et 2 taxons du genre *Lycium*) ont été transmis à Xavier AUBRIOT (Équipe Évolution des Angiospermes, laboratoire Écologie, Systématique et Évolution, UMR 8079, Université Paris-Saclay, CNRS, AgroParisTech) en juin 2020 ;
- les échantillons en silicagel de la famille des Amaranthaceae (13 récoltes, 8 taxons du genre *Achyranthes*) ont été envoyés à Ross McCauley (Fort Lewis College Herbarium, Colorado, Etats-Unis) en juillet 2020 ;
- pour la famille des Portulacaceae, un partenariat devrait débuter courant 2022 avec Gilberto OCAMPO ACOSTA (Université Autonome de Aguascalientes, Mexique) sur les 4 taxons du genre *Portulaca* présents dans les îles Éparses sur la base de l'ensemble du matériel récolté *in situ* (26 parts en silicagel, 23 parts en carpothèque, 32 parts en herbier et 41 parts en alcoothèque). Cette collaboration a été retardée du fait de la pandémie de COVID, qui a largement empêché les chercheurs d'accéder à leurs institutions et d'effectuer des manipulations de laboratoire ;
- le taxon 'inconnu' de Juan de Nova a pu être déterminé en juin 2019 par Vincent BOULLET. Il s'agit d'*Opilia amentacea* Roxb. (Opiliaceae), une espèce présente en Afrique tropicale, à Madagascar, en Australie et en Asie tropicale considérée comme cryptogène sur Juan de Nova.

Grâce aux contacts initiés à travers le projet RECOFFIE, le CBN-CPIE Mascarin a monté d'autres projets en partenariat avec des instituts de recherche en vue d'améliorer la connaissance floristique des îles Éparses (cas des taxons dont la détermination reste confuse et non prévus initialement dans le projet RECOFFIE) :

- des échantillons en herbier et en silicagel de deux Malvacées prélevées sur Juan de Nova (*Cheirolaena linearis* et *Dombeya greveana* var. *metameropsis*) ont été envoyés à Timothée LE PÊCHON (Meise Botanic Garden, Belgique) ;
- une collaboration a été engagée courant 2020 entre Vincent BOULLET, le CBN-CPIE Mascarin et Mats THULIN (Université d'Uppsala, Suède) sur les *Paramollugo* d'Europa, de Juan de Nova et des Glorieuses (envoi de 12 parts en silicagel) ;

- fin 2020, un partenariat a été initié avec Germinal ROUHAN (MNHN, Paris, France) afin de compléter prochainement une vaste étude morphologique et moléculaire du genre *Ophioglossum* en intégrant les échantillons d'Europa, de Juan de Nova et de la Grande Glorieuse (*O. polyphyllum* et *O. lancifolium*).

Par rapport aux objectifs prioritaires du volet 'Flore', seuls les échantillons des deux espèces de *Ficus* (Moraceae) de la Grande Glorieuse et ceux des 5 espèces de *Boerhavia* (Nyctaginaceae) n'ont pas encore trouvé de laboratoire pour être analysés.

Collections végétales

Au niveau de la destination des parts d'herbier (694 au total), 133 et 102 parts ont été intégrées en 2019 aux herbiers respectifs du CBN-CPIE Mascarin à La Réunion (CBNM-IE) et à Mayotte (MAO). Les autres parts ont été ramenées à Paris suite à la mission de terrain et elles ont été transmises aux herbiers partenaires (soit 128 parts à MO, 128 à P, 105 à G et 98 à TAN), à qui la charge de mise en collection revient. Dans la plupart des institutions, le processus de mise en collection a en outre été grandement ralenti par la pandémie de COVID 19, et certaines institutions fonctionnent encore de façon très limitée. Le fait de collecter chaque numéro de récolte en 6 parts permet de déposer des doubles dans les institutions partenaires, et maximise les chances d'être étudiées par les spécialistes actuels ou futurs. Ce processus, largement utilisé par toutes les institutions scientifiques faisant des inventaires de terrain, permet de valoriser le travail accompli et la visibilité des efforts entrepris pour inventorier la flore des Iles Éparses.

Toutes les informations de récolte de spécimens d'herbier et les photographies associées ont été reversées sur la base de données en ligne TROPICOS du Missouri Botanical Garden. Cette base de données est publique et accessible à tous, et permet de procéder à la gestion des spécimens sur le long terme (voir par exemple : <http://legacy.tropicos.org/Specimen/101141288>). De plus, l'intégration de ces données dans TROPICOS permet une meilleure visibilité internationale des données collectées, et une valorisation du travail effectué par l'équipe du projet avec le soutien des TAAF. Le partenariat du Missouri Botanical Garden avec le GBIF (Global Biodiversity Information Facility) permet un versement automatique des données de TROPICOS dans la base de données GBIF, et augmente encore cette visibilité. La base de données GBIF est largement utilisée par la communauté scientifique internationale (voir par exemple <https://www.gbif.org/occurrence/2302242439>).

Les échantillons destinés aux collections en alcoothèque (88 parts au total, 54 taxons) et en carpothèque (24 parts au total, 15 taxons) ont été répartis entre le CBN-CPIE Mascarin et BRLU (l'Herbier de l'Université Libre de Bruxelles).

Les parts en silicagel (226 parts au total, 97 taxons) ont également été réparties entre les collections du CBN-CPIE Mascarin et celles de BRLU.

Lichens

Profilages chimiques

Une collaboration avec l'Institut des Sciences chimiques de Rennes (UMR 6226, CNRS, Université de Rennes) a permis de réaliser deux premières études ciblées sur les macrolichens fruticuleux des îles Éparses : le genre *Roccella* et le genre *Ramalina*. Cette collaboration a permis d'améliorer les connaissances portant sur la chimie et la taxonomie des espèces des îles Éparses appartenant à ces deux genres. Concernant les *Roccella* (Fig. 6) une analyse biogéographique de la distribution des composés chimiques a été réalisée, notamment par comparaison avec du matériel provenant de São Tomé et Príncipe et de France métropolitaine.



Figure 6 : *Roccella montagnei* collecté dans les îles Éparses et dont la composition chimique a été comparée entre Europa, Juan de Nova, Gorieuse et São Tomé et Príncipe.

Analyses moléculaires

Une collaboration avec le Department of Botany and Biodiversity Research de l'Université de Vienne (Autriche) est en cours en vue de statuer sur la position taxonomique et la description d'une espèce d'Ascomycète non lichénisé (*Stigmatodiscus* sp. (Fig. 7)) collecté à Juan de Nova. L'objectif est de confirmer la position taxonomique de ce taxon dont on suppose qu'il est rattaché à un Ordre décrit en 2016, et qui pourrait être nouveau pour la science.

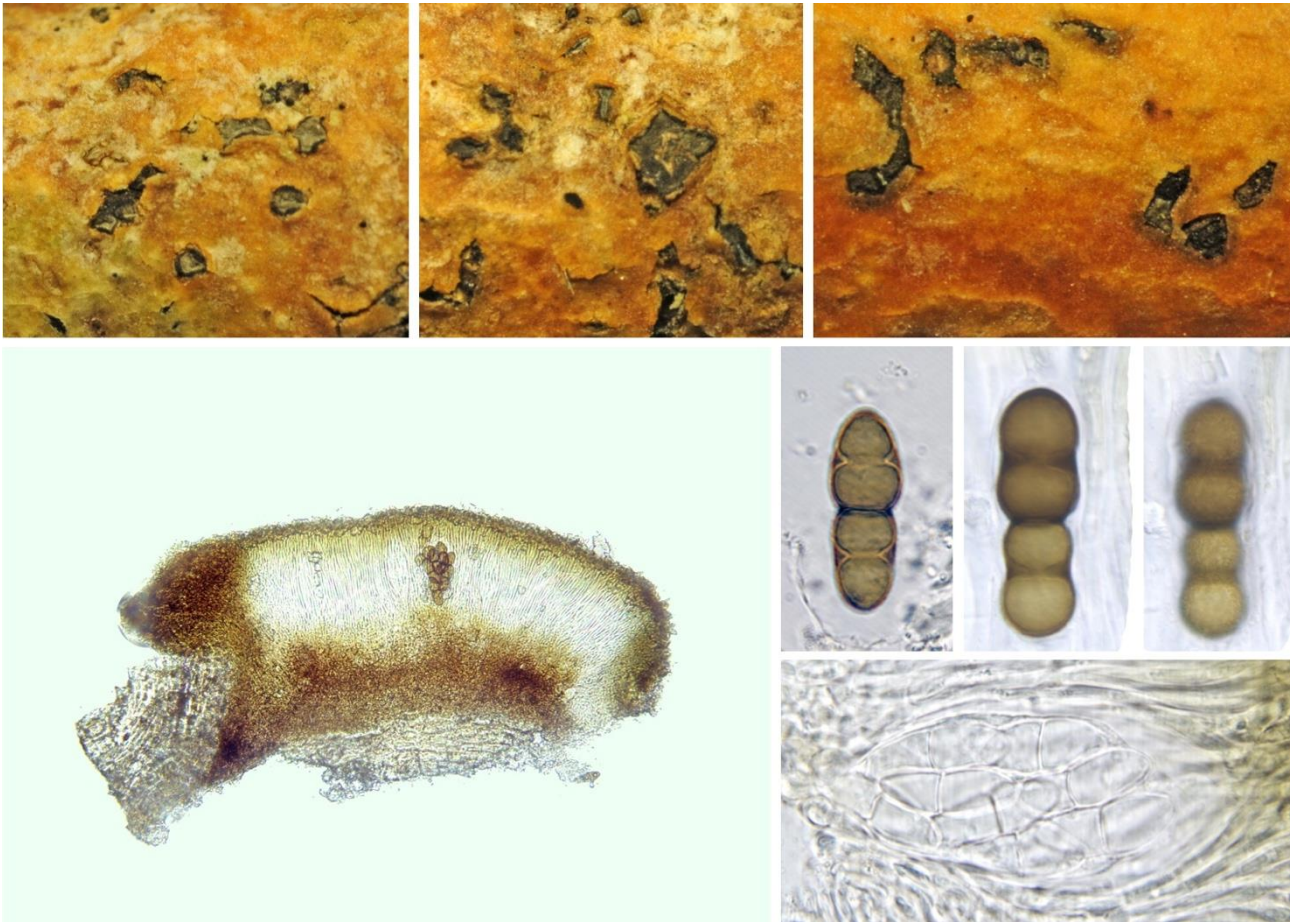


Figure 7 : *Stigmatodiscus* sp. dont la position taxonomique va être confirmée par analyses moléculaires.

Collections de référence et données

Les premières parts de champignons et lichens ont été déposées à l'Herbier de cryptogames du Muséum national d'Histoire naturelle (PC, ex : [pc0763940](#) ; [pc0739883](#)). La majorité des échantillons collectés durant la campagne de terrain est actuellement dans la collection personnelle de Rémy PONCET car les travaux d'identification des espèces sont en cours. L'ensemble des échantillons a vocation à être reversé au fur et à mesure de l'avancée des déterminations et des analyses dans la collection de cryptogames du Muséum national d'Histoire naturelle (PC), ainsi que dans l'herbier du CBN-CPIE de Mascarin. Des doublons seront proposés à d'autres institutions internationales.

Les données afférentes aux échantillons mis en collection ou qui ont déjà fait l'objet de publication scientifiques sont accessibles en libre-accès sur le portail GBIF (ex : [2464589679](#) ; [3308953301](#)). Les données nouvelles pour les territoires concernés ayant fait l'objet de publication ou étant sur le point de l'être ont aussi été intégrées à TAXREF et sont visibles sur l'INPN (ex : [804701](#)). Une synthèse générale portant sur la diversité taxonomique des lichens des îles Éparses et les jeux de données issus des inventaires sera remise à la Réserve naturelle nationale et à l'administration des TAAF lorsque les identifications et valorisations scientifiques seront terminées.

Analyses et résultats préliminaires

Analyses moléculaires de la flore

Solanaceae / Euphorbiaceae / Phyllanthaceae (X. AUBRIOT)

Chez les plantes à fleurs certains genres sont particulièrement diversifiés et c'est notamment le cas des trois grands genre *Euphorbia* L. (Euphorbiaceae), *Solanum* L. (Solanaceae) et *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae), riches d'environ 2000, 1500 et 1000 espèces respectivement. Sur le terrain, les botanistes ont souvent du mal à appréhender la diversité de ces genres et notamment à identifier à l'espèce les échantillons ou à reconnaître des taxons potentiellement nouveaux. Les outils de la biologie moléculaire peuvent alors venir compléter les premières identifications réalisées sur le terrain. En fonction des séquences déjà présentes dans la base de données globale GenBank, les données moléculaires produites permettent de confirmer (ou infirmer) les identifications et de révéler éventuellement une diversité cryptique (populations très divergentes les unes des autres, nouvelles espèces, etc.). Si l'espèce n'est visiblement pas présente dans GenBank, les données produites permettent d'enrichir cette base de données mondiale et ainsi de contribuer à fournir des données moléculaires pour des espèces souvent méconnues par ailleurs.

Afin de confirmer les identifications effectuées pour les spécimens d'Euphorbiaceae, Phyllanthaceae et Solanaceae échantillonnés en 2019 lors des différentes campagnes de récolte aux îles Éparses, des séquences d'ADN (ADN nucléaire et chloroplastique) ont été générés pour chaque échantillon. Les séquences obtenues ont été comparées à celles disponibles sur GenBank. Ceci a permis de valider les identifications mais aussi d'identifier à l'espèce des spécimens qui étaient restés indéterminés pour les genres *Euphorbia*, *Phyllanthus*, *Lycium* et *Solanum*.

Matériel et méthodes

Les 23 échantillons en silicagel récoltés pour les familles Euphorbiaceae (Fig. 8), Phyllanthaceae et Solanaceae (Tableau 3) ont été broyés à température ambiante à l'aide d'un Mixer Mill MM 300, en utilisant un mélange de billes de carbure de tungstène (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA) et de sable de Fontainebleau. Pour chaque échantillon, l'ADN génomique total a ensuite été extrait en utilisant le kit d'extraction commercial NucleoSpin® Plant II (Macherey-Nagel, Strasbourg, France).

Les régions matK (portion génique de l'ADN chloroplastique codant pour une protéine de type maturase) et ITS (espaceur interne transcrit de l'ADN ribosomique) ont ensuite été amplifiées pour les 23 échantillons. Ces deux régions ont été sélectionnées car elles correspondent aux marqueurs traditionnellement utilisés lors des études de barcoding ADN chez les plantes terrestres ; ainsi, ce seront ces régions qui seront a priori présentes en plus grande quantité et pour le plus grand nombre d'espèces dans GenBank. En outre, la région ITS est particulièrement variable au niveau spécifique pour les genres *Euphorbia* et *Solanum* (AUBRIOT et al. 2013, AUBRIOT et al. 2016) et devrait donc permettre d'identifier précisément les échantillons. La composition des amorces et le détail des conditions de PCR utilisées pour amplifier les régions matK et ITS suivent celles décrites par AUBRIOT et al. (2013). La purification et le séquençage des produits de PCR ont été effectués par la société GENEWIZ (Leipzig, Allemagne), en utilisant les mêmes amorces que celles utilisées pour les réactions d'amplification. Les séquences obtenues ont ensuite été assemblées et éditées à l'aide du logiciel Geneious v.7.1.9 (Biomatters Ltd., Auckland, Nouvelle-Zélande). Toutes les séquences obtenues ont été archivées dans GenBank (Tableau 3).

Afin de valider les identifications et identifier de potentielles contaminations, l'ensemble des séquences obtenues ont été comparées à celles présentes dans GenBank (algorithme BLAST). Les séquences de GenBank qui étaient les plus semblables aux séquences obtenues pour les échantillons des îles Éparses ont été identifiées et les espèces correspondantes ont été listées.

Dans le cas où plusieurs espèces étaient également probables et où l'identification restait ambiguë, des arbres phylogénétiques basées sur les régions matK et ITS ont été reconstruits. Ces reconstructions permettent en effet de visualiser la distance évolutive qui sépare les échantillons des îles Éparses de ceux présents dans GenBank ; il est ainsi possible d'émettre des hypothèses sur l'appartenance de ces échantillons à une espèce éventuellement absente de GenBank. Pour assembler les échantillonnages pour chacun des groupes étudiés, des publications de référence ont été utilisées (SÄRKINEN et al. 2015 pour les *Solanum* apparentées à *Solanum nigrum* L. ; YANG & BERRY 2011 pour le sous-genre *Chamaesyce* Raf. dans le genre *Euphorbia*), ainsi que des données non publiées (AUBRIOT et al. unpub. pour la section *Tirucalli* Boiss. du genre *Euphorbia* sous-genre *Euphorbia*) et l'ensemble des données disponibles dans GenBank (pour le genre *Lycium*). Pour chaque espèce échantillonnée, les séquences matK et ITS ont été concaténées afin d'obtenir des matrices combinées. Au total cela représente quatre matrices différentes :

1. une matrice regroupant 10 échantillons des îles Éparses identifiés comme appartenant au sous-genre *Chamaesyce* (*Euphorbia*) et 30 espèces de *Chamaesyce* communes dans l'ancien monde (l'espèce *E. peplis* L. sert de groupe externe pour l'analyse) ;
2. une matrice regroupant 2 échantillons des îles Éparses identifiés comme appartenant à la section *Tirucalli* (*Euphorbia* sous-genre *Euphorbia*) et 23 taxons représentatifs de la diversité spécifique de cette section (données publiées et non publiées ; l'espèce *E. intisy* Drake sert de groupe externe pour l'analyse) ;
3. une matrice regroupant 3 échantillons des îles Éparses identifiés comme appartenant au genre *Lycium* et 23 espèces de *Lycium* représentatives de la diversité des séquences disponibles dans GenBank pour le genre (ainsi que deux espèces de *Nolana* L.f. et *Hyoscyamus niger* L. qui servent de groupe externe pour l'analyse) ;
4. une matrice regroupant 3 échantillons des îles Éparses identifiés comme appartenant au clade de la morelle dans le genre *Solanum* ('Morelloid Clade' sensu SÄRKINEN et al. 2015) et 10 taxons directement apparentées à *Solanum americanum* Mill.

Chacune des matrices moléculaires a été alignée en utilisant l'algorithme L-INS-i du logiciel MAFFT v.7.221 et les reconstructions phylogénétiques ont été réalisées en maximum de vraisemblance avec le logiciel RaxML-HPC v.8.1.24 en partitionnant les matrices en fonction de la taille relative des régions matK et ITS. Un modèle GTR + G a été attribué à chaque partition et 1000 répétitions de bootstrap ont été implémentées afin d'estimer la robustesse des liens de parentés.

Résultats

Recherche des similarités avec les séquences dans GenBank

Tableau 3 : Liste des 23 échantillons d'Euphorbiaceae (12 premiers), Phyllanthaceae (5 suivants) et Solanaceae (6 derniers) séquencés pour cette étude. Les premières identifications effectuées sur le terrain, les données de récoltes, les identifiants des séquences dans GenBank, les résultats des analyses de type BLAST (espèces correspondantes aux meilleurs scores BLAST et pourcentage d'identité correspondants) et les identifications finales sont fournies pour chaque échantillon.

IDENTIFICATION SUR LE TERRAIN	VOUCHER	LOCALITÉ	DATE	GENBANK BLAST						IDENTIFICATION FINALE (noms utilisés pour les phylogénies)
				ITS			matK			
				Identifiant GenBank	Meilleurs scores BLAST	% identité	Identifiant GenBank	Meilleurs scores BLAST	% identité	
Euphorbia mertonii	Bidault et al. 4621 (MO)	Juan de Nova - Sentier sud	13/04/2019	MZ476870	E. inaequilatera E. tettensis	96.39	MZ476892	E. glyptosperma E. inaequilatera E. neopolycnemoides E. serpyllifolia	99.45	Euphorbia stoddartii - Juan de Nova
Euphorbia prostrata	Bidault et al. 4600 (MO)	Europa - Camp militaire	11/04/2019	MZ476871	E. prostrata	100	MZ476893	E. prostrata	100	Euphorbia prostrata - Europa
Euphorbia prostrata	Bidault et al. 4626 (MO)	Juan de Nova - Maison Patureau	14/04/2019	MZ476872	E. prostrata	100	MZ476894	E. prostrata	100	Euphorbia prostrata - Juan de Nova
Euphorbia prostrata	Bidault et al. 4650 (MO)	Les Glorieuses : Grande Glorieuse - Camp militaire	20/04/2019	MZ476873	E. atoto E. forsskalii E. makinoi E. thymifolia	100	x	x	x	Euphorbia forsskalii - Grande Glorieuse
Euphorbia prostrata	Bidault et al. 4680 (MO)	Tromelin - Camp TAAF	26/04/2019	MZ476874	E. prostrata	100	MZ476895	E. prostrata	100	Euphorbia prostrata - Tromelin
Euphorbia sp. 1	Bidault et al. 4589 (MO)	Europa - Lagune de l'Euphorbaie	09/04/2019	MZ476875	E. mertonii	99.86	MZ476896	E. chamissonis E. atoto	100	Euphorbia mertonii - Europa (Lagune de l'Euphorbaie)
Euphorbia sp. 1	Bidault et al. 4596 (MO)	Europa - Sentier sud	10/04/2019	MZ476876	E. mertonii	99.86	MZ476897	E. chamissonis E. atoto	100	Euphorbia mertonii - Europa (Sentier sud)
Euphorbia stenoclada	Bidault et al. 4583 (MO)	Europa - Secteur nord	09/04/2019	x	x	x	MZ476898	E. tirucalli	100	Euphorbia stenoclada - Europa

Euphorbia stenoclada	Bidault et al. 4642 (MO)	Juan de Nova - Station TAAF	15/04/2019	MZ476877	E. gummifera	99.2	MZ476899	E. gummifera	100	Euphorbia stenoclada - Juan de Nova
Euphorbia stoddartii	Bidault et al. 4666 (MO)	Les Glorieuses : Grande Glorieuse - Piste d'aviation	22/04/2019	MZ476878	E. inaequilatera E. tettensis	96.39	x	x	x	Euphorbia stoddartii - Grande Glorieuse
Euphorbia stoddartii	CBNM-IE et al. 971 (CBNM)	Les Glorieuses : île du Lys - Littoral sud	23/04/2019	MZ476879	E. inaequilatera E. tettensis	96.25	MZ476900	E. glyptosperma E. inaequilatera E. neopolycnemoides E. serpyllifolia	99.45	Euphorbia stoddartii - Ile du Lys
Euphorbia thymifolia	Bidault et al. 4615 (MO)	Juan de Nova - Sentier du phare	13/04/2019	MZ476880	E. atoto E. forsskalii E. makinoi E. thymifolia	100	MZ476901	E. dioeca E. forsskalii E. makinoi	100	Euphorbia forsskalii - Juan de Nova
Phyllanthus maderaspatensis	Bidault et al. 4577 (MO)	Europa - Secteur nord	08/04/2019	MZ476881	P. maderaspatensis	98.16	MZ476902	P. maderaspatensis P. magudensis	99.77	Phyllanthus maderaspatensis - Europa (Secteur nord)
Phyllanthus maderaspatensis	Bidault et al. 4618 (MO)	Juan de Nova - Sentier sud	13/04/2019	MZ476882	P. maderaspatensis	97.86	x	x	x	Phyllanthus maderaspatensis - Juan de Nova
Phyllanthus maderaspatensis	Bidault et al. 4655 (MO)	Les Glorieuses : Grande Glorieuse - Piste d'aviation	21/04/2019	MZ476883	P. maderaspatensis	98.17	MZ476903	P. maderaspatensis P. magudensis	99.78	Phyllanthus maderaspatensis - Grande Glorieuse
Phyllanthus sp. 2	Bidault et al. 4590 (MO)	Europa - Lagune de l'Euphorbaie	09/04/2019	MZ476884	P. maderaspatensis	98.16	MZ476904	P. maderaspatensis P. magudensis	99.78	Phyllanthus maderaspatensis - Europa (Lagune de l'Euphorbaie)
Phyllanthus sp. 3	Bidault et al. 4591 (MO)	Europa - Steppe salée	09/04/2019	MZ476885	P. maderaspatensis	98.16	MZ476905	P. maderaspatensis P. magudensis	99.78	Phyllanthus maderaspatensis - Europa (Steppe salée)

Lycium elliotii	Bidault et al. 4587 (MO)	Europa - Lagune de l'Euphorbaie	09/04/2019	MZ476886	L. ferocissimum	97.16	MZ476906	12 species	99.84	Lycium elliotii - Europa (Lagune de l'Euphorbaie)
Lycium elliotii	Bidault et al. 4597 (MO)	Europa - Steppe salée	10/04/2019	MZ476887	L. ferocissimum	97.3	MZ476907	L. ferocissimum L. barbarum	99.78	Lycium elliotii - Europa (Steppe salée)
Lycium mascarenense	Bidault et al. 4571 (MO)	île de La Réunion - Saint-Leu, Mascarin Jardin Botanique de La Réunion	03/04/2019	MZ476888	L. ferocissimum	97.3	MZ476908	L. ferocissimum L. barbarum	99.89	Lycium mascarenense - Ile de la Réunion
Solanum americanum	Bidault et al. 4576 (MO)	Europa - Secteur nord	08/04/2019	MZ476889	S. americanum	100	MZ476909	S. americanum	99.78	Solanum americanum - Europa
Solanum americanum	Traclet et al. 3 (CBNM)	Mayotte	06/06/2019	MZ476890	S. nigrum	100	MZ476910	S. americanum	99.78	Solanum americanum - Mayotte
Solanum sp.	CBNM-IE et al. 812 (CBNM)	Ile du Lys	x	MZ476891	S. villosum	99.85	MZ476911	S. americanum S. nigrum	100	Solanum villosum - Ile du Lys

Les résultats obtenus en comparant les séquences des échantillons des îles Éparses à celles disponibles sur GenBank permettent de préciser l'identification des échantillons du genre *Phyllanthus* (Cf. Tableau 3). Les cinq échantillons de *Phyllanthus* récoltés sur Europa, Juan de Nova et Grande Glorieuse appartiennent vraisemblablement tous à l'espèce *Phyllanthus maderaspatensis* L. Les séquences ITS et *matK* des spécimens des îles Éparses sont très identiques (% d'identité compris entre 98 et 100 %) à celles disponibles sur GenBank pour *P. maderaspatensis* – *P. magudensis* Jean F. Brunel étant un synonyme de *P. maderaspatensis*.

Trois des échantillons attribués à *Euphorbia prostrata* Aiton ainsi que les spécimens identifiés comme *S. americanum* semblent aussi confirmés dans leur identification – la séquence ITS identifiée comme *S. nigrum* dans GenBank et rapprochée de l'échantillon de *Solanum* de Mayotte (Traclet et al. 3) est probablement une séquence de *S. americanum*, les deux espèces étant très difficiles à différencier morphologiquement et les deux noms étant souvent utilisés de manière arbitraire dans GenBank.

Les échantillons correspondant aux euphorbes indéterminées récoltées à Europa (Bidault et al. 4589 & 4596) sont très probablement des représentants de l'espèce *E. mertonii* Fosberg (% d'identité d'environ 100 % pour les séquences ITS) et le spécimen non-identifié de *Solanum* provenant de l'île du Lys (CBNM-IE et al. 812) appartient vraisemblablement à l'espèce *S. villosum* Mill. Néanmoins, vu que le marqueur *matK* présente des résultats plus équivoques, ce sont les analyses phylogénétiques qui permettront de statuer sur l'identité de ces échantillons.

Il est difficile de conclure quant à l'identification de l'ensemble des autres échantillons vu que (i) les résultats des analyses comparatives de type BLAST ne pointent pas vers une seule espèce, ou (ii) que GenBank ne contient pas des données assez nombreuses et fiables pour le groupe (section *Tirucalli* du genre *Euphorbia*). Pour tous ces échantillons, les analyses phylogénétiques fournissent des informations supplémentaires.

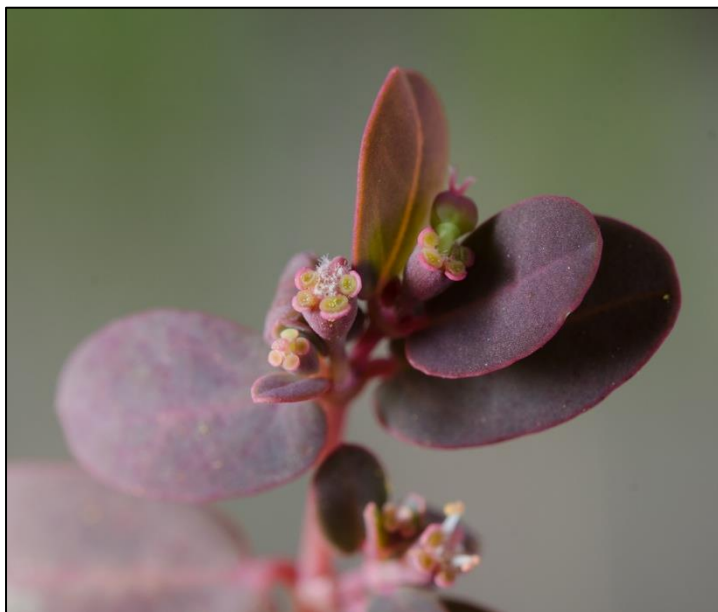


Figure 8. Gauche : *Euphorbia mertonii* (échantillon Bidault et al. 4596, collecté à Europa), droite : *Euphorbia stenoclada* (échantillon Bidault et al. 4583, collecté à Europa).

Analyses phylogénétiques ciblées

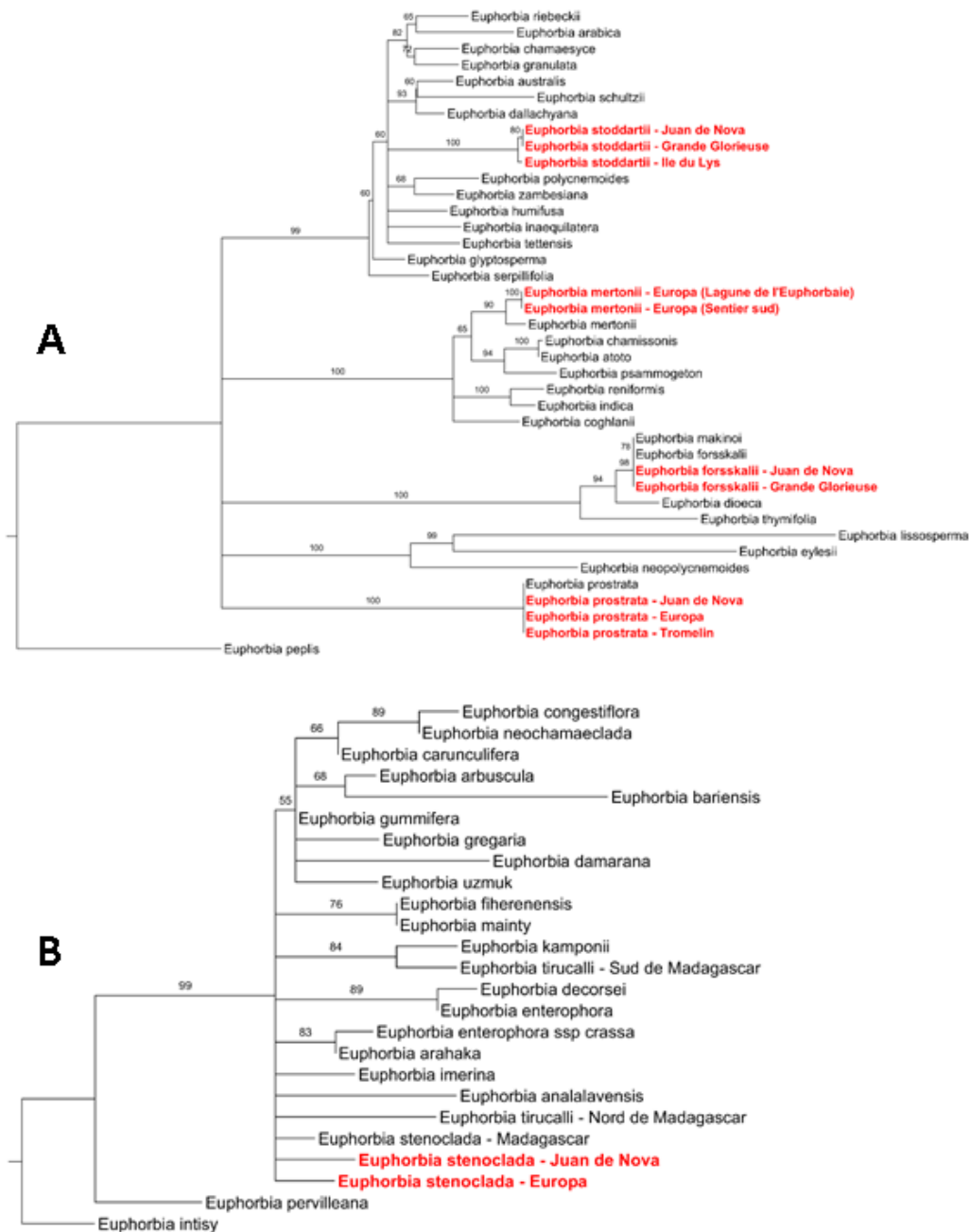


Figure 9. Arbres de consensus majoritaire issus des analyses de maximum de vraisemblance pour les matrices ITS et matK combinées pour un échantillonnage représentatif (A) de la diversité du sous-genre *Chamaesyce* (*Euphorbia*) de l’Ancien Monde, et (B) de la section *Tirucalli* (*Euphorbia* sous-genre *Euphorbia*). Les échantillons provenant des îles Éparses sont en rouge.

Les arbres de consensus majoritaires obtenus pour *Euphorbia* (Fig. 9AB) valident ce qui avait déjà été observé lors de l’étude comparative : trois échantillons appartiennent à l’espèce *E. prostrata* (Bidault et al. 4600, 4626 & 4680) et deux autres échantillons correspondent à *E. mertonii* (Bidault et al. 4589 & 4596). Néanmoins, un échantillon de Grande Glorieuse identifié comme *E. prostrata* appartient vraisemblablement en fait à l’espèce *E. forsskalii* J.Gay (Bidault et al. 4650) ; c’est aussi le cas d’un échantillon qui avait été identifié comme un spécimen d’*E. thymifolia* L. En effet, ces deux spécimens se retrouvent groupés de manière soutenue (bootstrap = 98 %) avec un échantillon de GenBank correspondant à *E. forsskalii*, une espèce à large répartition géographique (du Cap Vert à l’Ouest à l’Afrique de l’Est et jusqu’en Inde à l’Est). Deux échantillons identifiés comme *E. stoddartii* Fosberg (Bidault et al. 4666 et CBNM-IE et al. 971), une espèce absente de GenBank, ainsi

qu'un autre identifié précédemment comme *E. mertonii* (Bidault et al. 4621), se retrouvent groupés dans un clade bien soutenu (bootstrap = 100 %) et porté par une longue branche. Il est très probable que ces trois spécimens correspondent bien à des représentants d'*E. stoddartii*, espèce séquencée ici pour la première fois.

La topologie obtenue pour la section *Tirucalli* (Fig. 9B) ne permet pas de valider de manière sûre l'identification des échantillons Bidault et al. 4583 & 4642. Ils font partie de la large polytomie basale et dans l'état actuel, rien ne permet d'exclure qu'il s'agisse bien d'échantillons d'*E. stenoclada* Baill. Des données moléculaires complémentaires seront nécessaires afin d'éclaircir ce point.

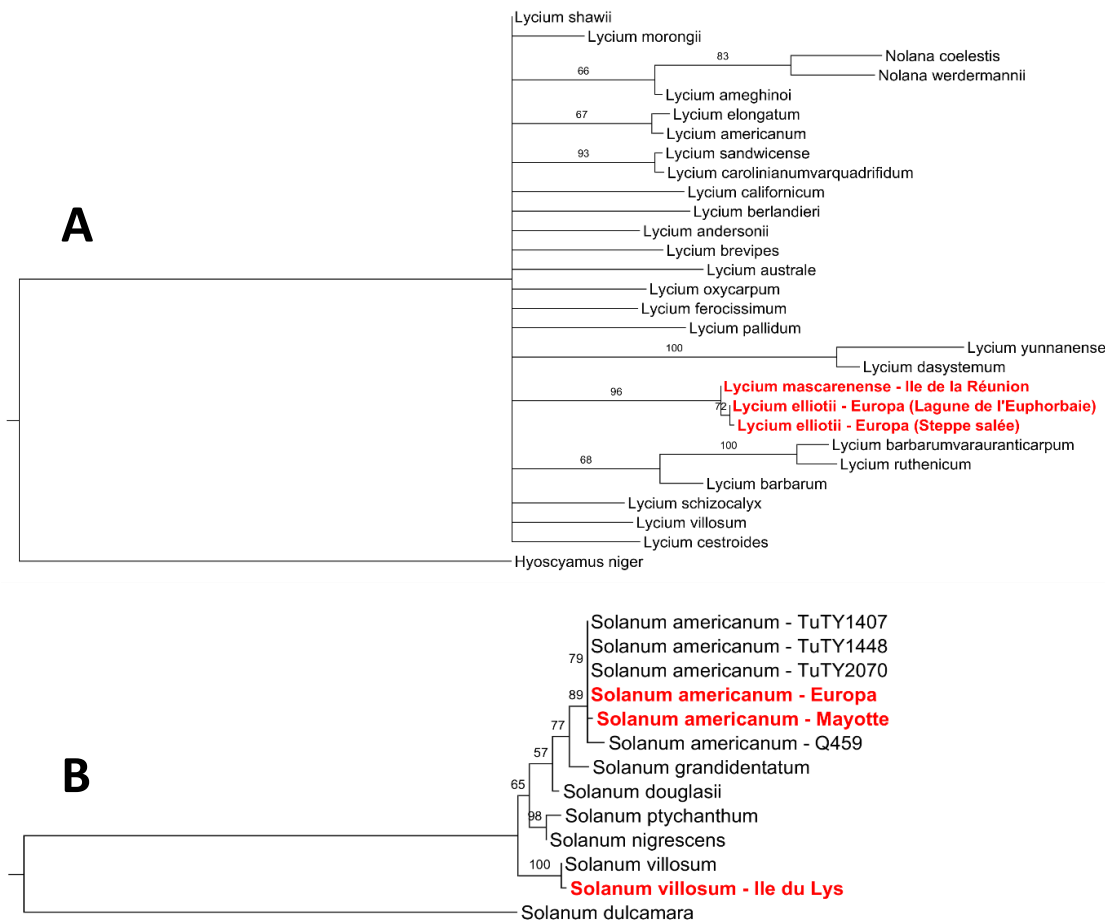


Figure 10. Arbres de consensus majoritaire issus des analyses de maximum de vraisemblance pour les matrices ITS et matK combinées pour un échantillonnage représentatif (A) de la diversité du genre *Lycium* (Solanaceae), et (B) pour les espèces proches de *S. americanum* (Solanaceae). Les échantillons provenant des îles Éparses sont en rouge.

Les échantillons de *Lycium* récoltés dans les îles Éparses forment un clade bien soutenu au sein du genre (bootstrap = 96 %), ce dernier étant porté par une longue branche (Fig. 10A). Les deux échantillons d'Europa identifiés comme *L. elliotii* Dammer (Bidault et al. 4587 & 4597, Fig. 11) groupent ensemble et sont directement apparentés à l'échantillon identifié comme *L. mascarenense* A.M.Venter & A.J.Scott (Bidault et al. 4571). Vu la longueur de la branche qui porte ce clade et vu que ni *L. elliotii* ni *L. mascarenense* ne sont représentés dans GenBank, il est probable que l'identification faite sur le terrain soit exacte ; ces deux espèces seraient alors séquencées pour la première fois. Néanmoins, vu l'absence de résolution phylogénétique à l'intérieur du genre, il est à l'heure actuelle impossible de faire des hypothèses sur l'affinité phylogénétique de ces deux espèces.

Enfin, ces analyses permettent de confirmer l'attribution des échantillons Bidault et al. 4576 et Traclet et al. 3 (Fig. 10B) à *S. americanum* et surtout confirment le fait que le *Solanum* non identifié de l'île du Lys est un spécimen de *S. villosum*, une espèce à très large zone de répartition (du bassin Méditerranéen à l'Afrique de l'Est et l'Asie centrale).



Figure 11. *Lycium elliotii*, échantillon Bidault et al. 4597, collecté à Europa.

Amaranthaceae (R. McCAULEY)

Matériel et méthodes

L'ADN génomique a été extrait de divers échantillons d'*Achyranthes* des îles de l'océan Indien, que ce soit à partir d'échantillons conditionnés en silicagel ou en parts d'herbier (succès moindre sachant que certains échantillons d'herbier n'ont pu être correctement amplifiés, tel que *A. aspera* var. *sicula* en provenance de l'île de La Réunion).

Sachant que les régions ITS (espaceur interne transcrit de l'ADN ribosomique) amplifiées, bien qu'instructives, n'avaient pas beaucoup de divergence, un travail supplémentaire a été réalisé sur le développement de la région ETS (espaceur transcrit externe, adjacent à la région ITS et qui présente généralement un niveau de substitutions plus élevé) dans le genre. Ces données sont cependant difficiles d'accès car il n'existe pas d'amorces universelles. Un ensemble d'amorces spécifiques à *Achyranthes* pour ETS a donc été développé en laboratoire, puis utilisées en combinaison avec les séquences ITS.

L'ensemble des séquences obtenues ont été comparées et parfois complétées avec celles présentes dans GenBank.

A ce jour, deux phylogénies (en cours d'amélioration et de validation) ont été construites :

1/ un arbre concerne une analyse de maximum de vraisemblance des données ITS et qui inclut tous les échantillons de l'océan Indien ainsi qu'une grande variété d'*Achyranthes* déjà référencés dans GenBank (Fig. 12) et complétés par quelques variétés du Pacifique issues de précédents travaux effectués par McCAULEY et al. (l'espèce *A. leubnitziae* de Namibie sert de groupe externe pour l'analyse).

2/ un arbre combine les données ETS et ITS, et il traite uniquement des *Achyranthes* de l'océan Indien (îles Éparses, La Réunion et Mayotte) (Fig. 13) auxquels a été ajouté *A. talbotii* du Libéria afin de voir s'il existe des différences avec un échantillon d'Europa.

Résultats préliminaires

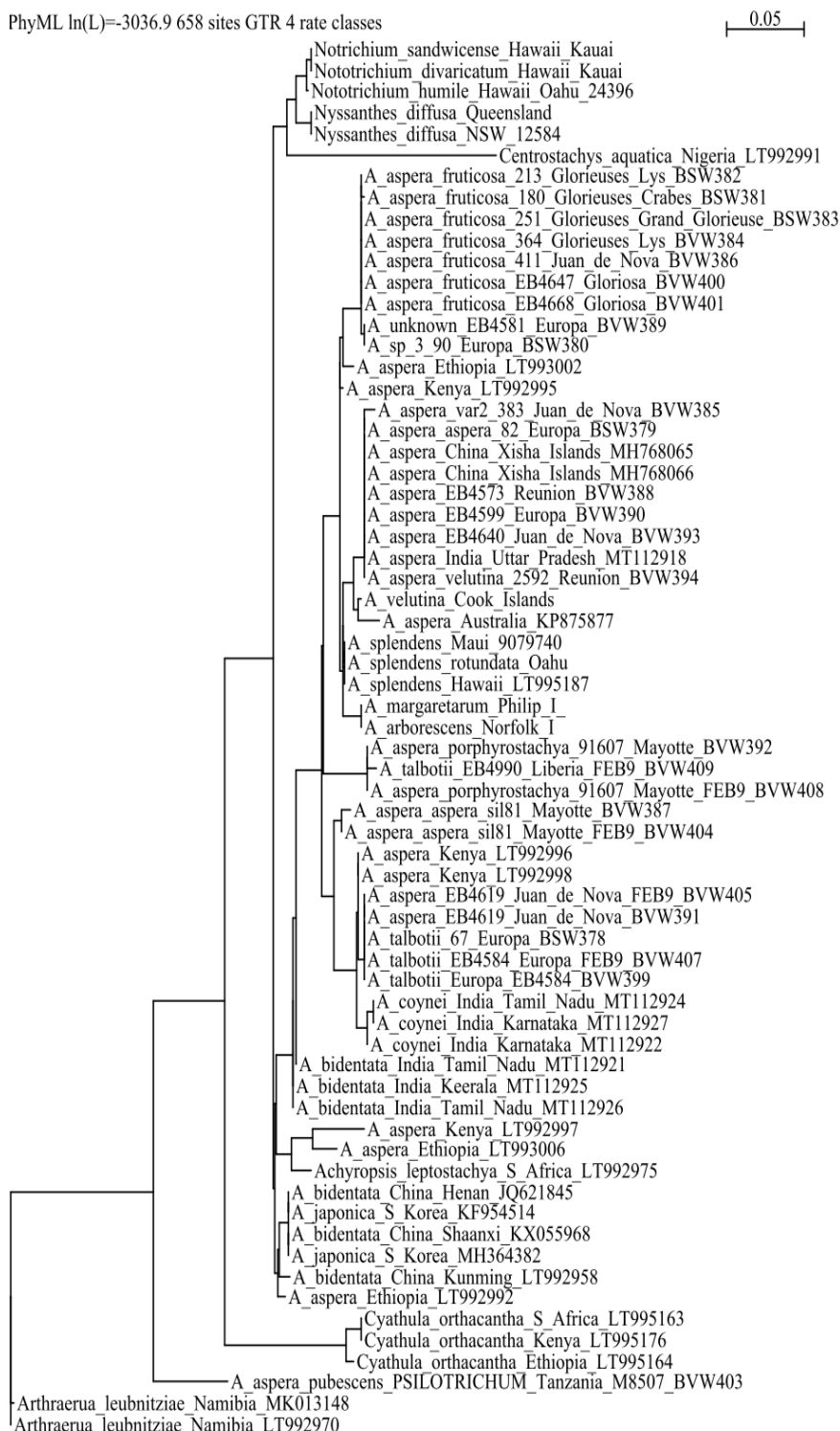


Figure 12. Arbre de consensus majoritaire issu des analyses de maximum de vraisemblance pour les données IITS et ETS combinées pour un échantillonnage le plus exhaustif possible des *Achyranthes*.

Un premier constat concerne *A. aspera* dont les diverses variétés se retrouvent éclatés en divers groupes. Ce résultat est en partie dû au fait que la plupart des échantillons d'herbier utilisés

dans cette étude n'ont pas été déterminés au rang de variété. D'autre part, il confirme le fait que certaines variétés d'*A. aspera* devraient être traitées au rang d'espèce. Cela confirme également le fait que le genre *Achyranthes* a vraiment besoin d'une révision monographique complète intégrant également les variations morphologiques.

Cet arbre met également en évidence la faible divergence de séquences, sachant que cette étude ne prend en compte qu'un seul gène, la région ITS. Bien que de nombreuses séquences soient disponibles dans GenBank, leur variabilité reste faible. Afin de pallier à ça, il serait intéressant d'ajouter la région ETS aux analyses.

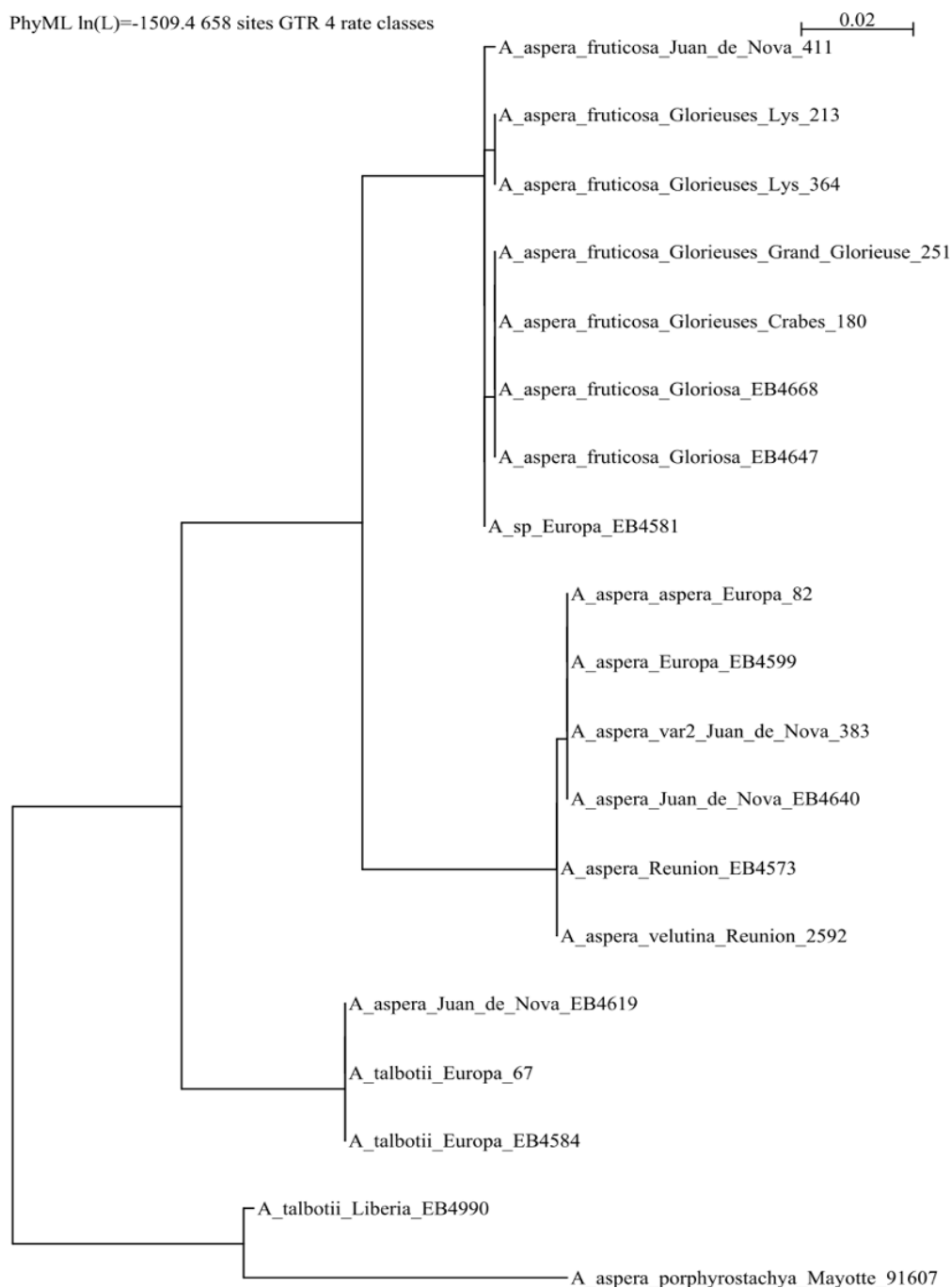


Figure 13. Arbre de consensus majoritaire issu des analyses de maximum de vraisemblance pour les données ITS et ETS combinées pour un échantillonnage des *Achyranthes* de l'ouest de l'océan Indien.

Une interprétation rapide de cet arbre plus discriminant que le premier - la méthode combinant ETS et ITS semble donc plus pertinente - montre qu'il existe quatre clades distincts dans la région :

1. *A. aspera* var. *fruticosa* (Fig. 14) qui inclut le nouveau taxon potentiel (*A. sp.* Europa) qui semble donc bien être un nouveau taxon pour la science au vu des différences morphologiques et moléculaires avec *A. aspera* var. *fruticosa* ;
2. *A. aspera* var. *aspera* originaires de plusieurs îles y compris la variété 2 (indéterminée) de Juan de Nova qui constitue un morphotype très particulier car toujours stérile (aucune inflorescence n'a jamais été observée, sa multiplication est uniquement végétative) et dont la morphologie présente des caractères intermédiaires entre *A. aspera* var. *aspera* et *A. aspera* var. 1 (EB4619) de Juan de Nova. Ces observations laissent penser que ce morphotype (var. 2) pourrait correspondre à un hybride ;
3. Le taxon provisoirement appelé *A. cf. talbotii* d'Europa est clairement différent du véritable *A. talbotii* d'Afrique continentale, dont un échantillon du Libéria a pu être inclus dans cette étude, ce qui était déjà pressenti au vu de leurs situations écologiques bien différentes. Ce résultat laisse penser que le *A. cf. talbotii* d'Europa est bien un taxon distinct, probablement nouveau pour la science ;
4. *A. aspera* var. *porphyrostachya* qui montre une connexion à une longue branche avec un taxon d'Afrique continentale (*A. talbotii*).



Figure 14. *Achyranthes aspera* var. *fruticosa*, échantillon *Bidault et al.* 4668, collecté à Grande Glorieuse.

Analyses chimiques des lichens

Diversité chimique de cinq espèces de Roccella côtières provenant de métropole, des îles Éparses et de São Tomé et Príncipe (FERRON et al. 2020)

L'étude de la diversité chimique des lichens appartenant au genre *Roccella* issues des îles Éparses et d'autres localités a permis d'améliorer les connaissances sur ces espèces (premiers profilages chimiques pour deux espèces : *R. applanata* (Fig. 15) et *R. belangeriana*), de statuer sur la taxonomie de deux taxons considérés comme synonymes par certains auteurs (*R. montagnei* et *R. belangeriana* ; dont nous pensons qu'il s'agit bien d'espèces distinctes) et de réaliser une analyses de la composition chimique de *R. montagnei* selon les territoires et la latitude. Ces travaux ont donné lieu à une publication :

Ferron S., Berry O., Olivier-Jimenez D., Rouaud I., Boustie J., Lohézic-Le Dévéhat F. & Poncet R., 2020. Chemical diversity of five coastal *Roccella* species from mainland France, the Scattered Islands, and São Tomé and Príncipe. *Plant and Fungal Systematics* **65**(2): 247–260. <https://doi.org/10.35535/pfsyst-2020-0021>

Résumé de la publication

Les espèces appartenant au genre *Roccella* constituent des modèles intéressants pour aborder les questions relatives à la diversité des métabolites des lichens à travers des gradients taxonomiques, écologiques et géographiques. En effet, en raison de leur large distribution, de leur diversité taxonomique et de la niche écologique étroite qu'elles occupent, les espèces de *Roccella* sont de bons candidats pour étudier les moteurs de la chimie des lichens. Cette étude se concentre sur le profilage chimique de cinq espèces : *R. applanata*, *R. belangeriana*, *R. fuciformis*, *R. montagnei* et *R. phycopsis*. Ces cinq espèces ont été échantillonnées dans une zone assez étroite (1°51'W à 47°17'E) couvrant les zones de l'Atlantique oriental et de l'océan Indien occidental Océan Indien le long d'une gamme latitudinale étendue (48°49'N à 22°23'S). La chromatographie liquide à haute pression liquide à haute pression (HPLC) suivie d'une spectrométrie de masse de 31 thalles de *Roccella* a révélé un certain nombre de modèles intéressants à travers une analyse multivariée (ACP), y compris les premiers profils chimiques détaillés pour deux espèces des îles Éparses : *R. applanata* et *R. belangeriana*. La ségrégation des métabolites parmi toutes les espèces de *Roccella* étudiées, y compris *R. montagnei* et *R. belangeriana*, a donné un aperçu de la taxonomie de ces deux dernières espèces, que nous avons étudiées, nous les interprétons comme des espèces distinctes. Une analyse supplémentaire se concentrant sur les échantillons de *R. montagnei* a révélé des différences chimiques le long d'un gradient latitudinal (de l'Europe à l'Amérique du Nord) et écologique (de l'île Europa à São Tomé et Príncipe). Trois bases de données de spectres de masse de masse ont été construites pour dérépliquer les ions, ce qui a permis d'avoir une vue d'ensemble des facteurs qui peuvent déterminer la composition quantitative et qualitative des métabolites. En outre, plusieurs nouveaux enregistrements d'espèces de *Roccella* sont signalés pour les îles Éparses, ainsi que pour São Tomé et Príncipe.



Figure 15 : *Roccella applanata* provenant d'Europa dont le profilage chimique a été réalisé.

Le genre Ramalina des îles Éparses avec la description de trois nouvelles espèces (PONCET et al., in prep)

Le profilage chimique à haute résolution réalisé par l'Institut des Sciences Chimiques de Rennes a fourni des données essentielles pour améliorer les connaissances taxonomiques de plusieurs taxons du genre *Ramalina* appartenant à des complexes d'espèces à distribution pantropicale ou australasienne. En complément de l'étude morphologique (macroscopique et microscopique), les données portant sur la composition chimique des *Ramalina* des îles Éparses ont permis d'identifier deux espèces qui sont nouvellement citées pour les territoires d'étude : *R. dumeticola* (Fig. 16) et *R. ovalis*, et trois espèces nouvellement décrites pour la science : *R. gloriosensis*, *R. hivertiana* et *R. marteau*. Les résultats obtenus à l'occasion de ces analyses ont été résumés dans un manuscrit qui a été soumis pour publication :

Poncet R., Lohézic – Le Dévéhat F., Ferron S., Hivert J., Fontaine C., Picot F., Bidault E., Kervran L. in prep. The genus *Ramalina* Ach. (Ascomycota, Lecanoromycetes, Ramalinaceae) from the Scattered Islands (French Southern and Antarctic Lands), with description of three new species. *Manuscrit soumis à Plant and Fungal Systematics le 29 juin 2021.*

Résumé de la publication

Une étude systématique des lichens a été réalisée en 2019 dans quatre des cinq territoires constituant les îles Éparses françaises (Europa, Juan de Nova, îles Glorieuses et Tromelin), en se concentrant sur le genre *Ramalina*. Les espèces ont été identifiées et décrites à l'aide de

caractéristiques morphologiques (macroscopiques et microscopiques) et d'une méthode de profilage chimique précise basée sur la chromatographie liquide à haute performance couplée à la détection par barrette de diodes et à la spectrométrie de masse en tandem par ionisation électrophorétique (HPLC-DAD-MS). Cinq espèces sont répertoriées à partir de ces territoires, dont deux déjà décrites : *Ramalina dumeticola* et *Ramalina ovalis*, et trois nouveautés décrites ici : *Ramalina gloriosensis*, *Ramalina hivertiana*, et *Ramalina marteau*. Une clé d'identification d'une sélection d'espèces similaires, corticoles, (avec un thalle solide, tout au plus arbustif ou subpendulaire, et des branches plates à canaliculées) est fournie.



Figure 16 : *Ramalina dumeticola* collecté à Juan de Nova.

Etude biostatistique et moléculaire

*Approches biostatistiques et moléculaires pour étudier la distribution des champignons saprotrophes à l'échelle mondiale : une étude de cas utilisant *Hexagonia hydnoïdes* (Polyporaceae) comme espèce modèle (PONCET et al., in prep)*

Lors des prospections de terrain un seul champignon dit « supérieur » (par opposition aux lichens, ascomycètes non lichénisés, levures, etc.) a été observé dans les territoires étudiés : *Hexagonia hydnoïdes* (Fig. 17) à Europa. La présence à Europa de cette espèce qui est très majoritairement présente dans les néotropiques (Caraïbes, Amérique centrale, Nord de l'Amérique du Sud) pose plusieurs questions concernant son origine géographique, la distribution mondiale de l'espèce et ses capacités de dispersion. Le cas d'étude offert par la présence de cette espèce, considérée comme rare à très rare en Afrique de l'Est a permis le développement d'un procédé analytique basé sur la modélisation cartographique, le calcul de la distance écologique entre espèces et l'horloge moléculaire pour adresser les questions relatives à la distribution des champignons saprotrophes. La méthodologie développée à cette occasion a été résumée dans un manuscrit qui a été soumis à publication :

Poncet R., Hivert J., Fontaine C., Picot F., Bidault E., Reyjol Y. in prep. Biostatistical and molecular approaches using open-access data to address saprotrophic fungi distribution at a global scale: a case study using *Hexagonia hydnoïdes* (Polyporaceae) as a model species. *Manuscrit soumis à Fungal ecology le 29 juin 2021.*



Figure 17 : *Hexagonia hydnoïdes* collecté à Europa.

Résumé de la publication

Les modèles de répartition des espèces (SDM), le calcul de la proximité écologique et l'estimation du temps de divergence basée sur l'horloge moléculaire sont des approches puissantes qui ont fait leurs preuves dans le domaine de la biogéographie, de l'histoire de l'évolution ou de la conservation de la biodiversité. Cependant, la combinaison de ces trois approches pour aborder la distribution des espèces à l'échelle mondiale et les facteurs qui la façonnent reste peu étudiée. Un processus en trois étapes entièrement basé sur des données en libre accès et des logiciels libres, combinant des approches biostatistiques (SDM et calcul de la proximité écologique) et moléculaires (estimation du temps de divergence), a été développé pour répondre aux questions courantes concernant la distribution des champignons saprotrophes, en utilisant *Hexagonia hydroides* (Sw.) M. Fidalgo comme espèce modèle. Ce polypore bien connu présente un schéma de distribution peu clair avec quelques populations fortement déconnectées et une dépendance bien documentée aux espèces d'arbres hôtes, ainsi que des données moléculaires en libre accès. Le SDM d'ensemble a été réalisé à l'aide d'une forêt aléatoire et d'un modèle d'entropie maximale (Figure 18). Le calcul de la proximité écologique a été effectué grâce à une simulation de Monte Carlo (Figure 19). L'estimation du temps de divergence a été basée sur une approche bayésienne de l'horloge moléculaire utilisant trois ensembles de données moléculaires : 28S, ITS1+5.8S+ITS2+LSU, et SSU+ITS1+5.8S+ITS2+LSU, et des points de calibration des fossiles. Les estimations du temps de divergence étaient cohérentes avec les travaux précédents, notamment pour les taxons les plus récents (Polyporales, Polyporaceae, et Trametes). Les résultats suggèrent que *H. hydroides* est une espèce néotropicale qui a évolué assez récemment ($30,37 \pm 2,29$ millions d'années) au cours de la période éocène (Figure 20). Il ne semble pas y avoir de limitation climatique ou édaphique à sa présence dans l'ensemble de la zone pantropicale, ce qui suggère que les populations fortement déconnectées de sa zone d'origine (c'est-à-dire en Afrique de l'Est) sont certainement dues à de rares événements de dispersion à longue distance.

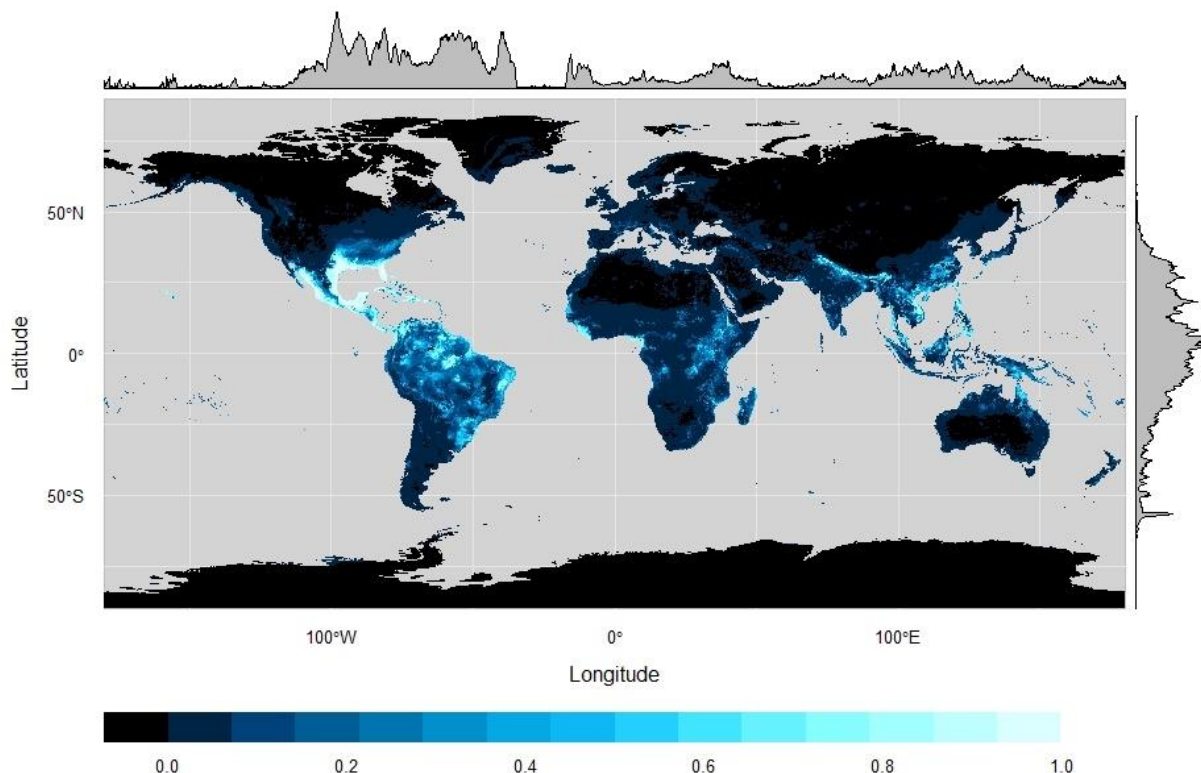


Figure 18 : Modèle de distribution cartographique d'*Hexagonia hydroides*.

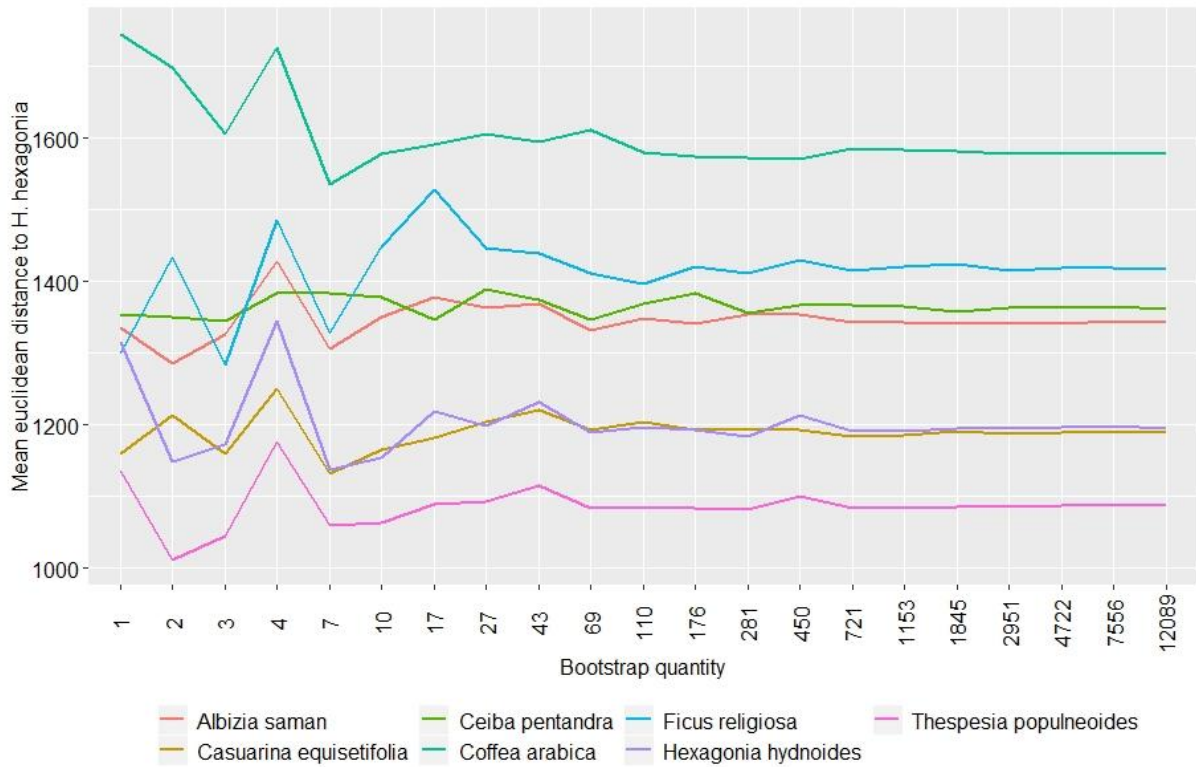


Figure 19 : Distance écologique entre *Hexagonia hydroides* et ses arbres hôtes.

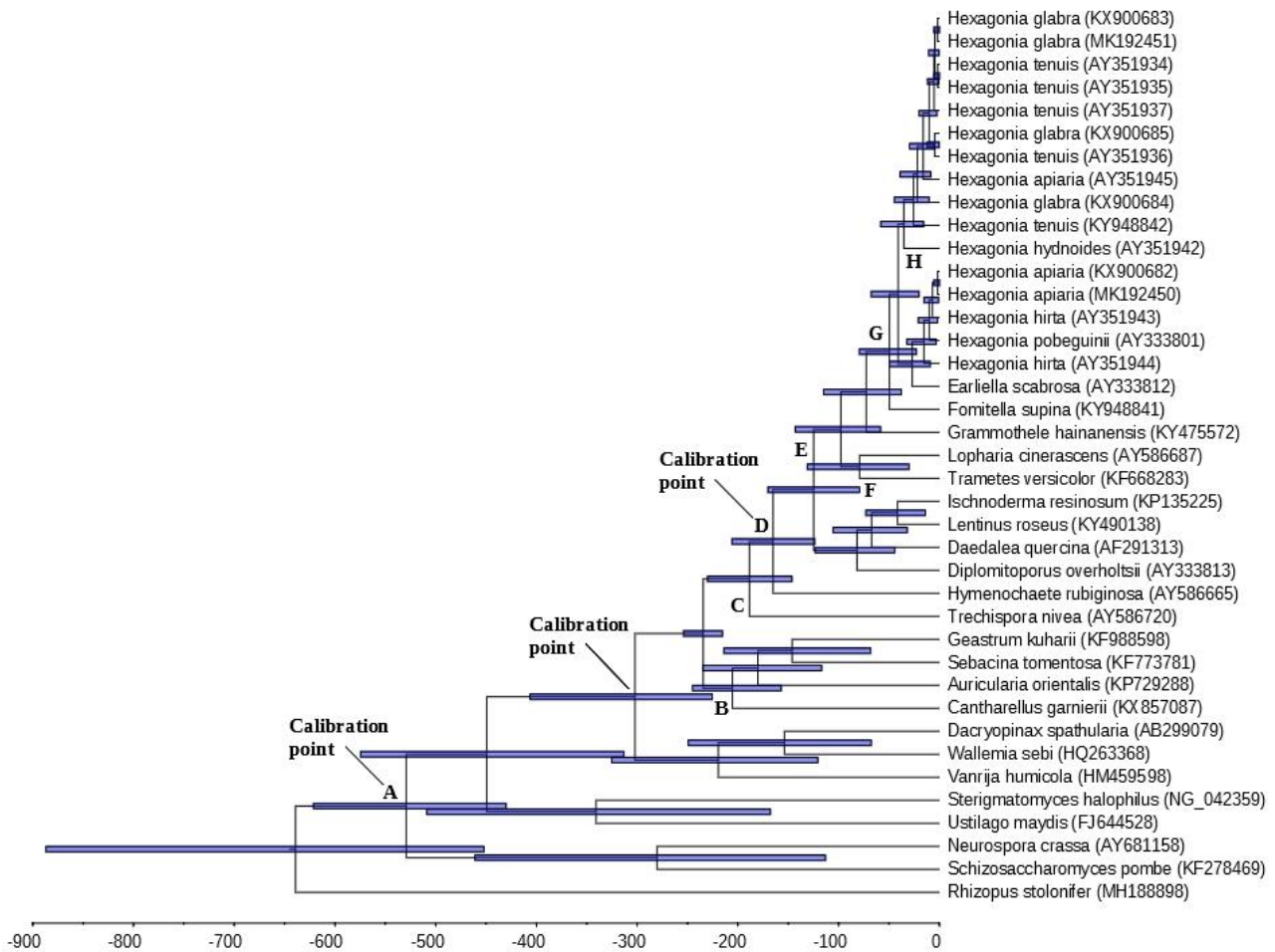


Figure 20 : Chronogramme de l'estimation de la date de divergence entre les taxons étudiés.

Perspectives

Flore vasculaire

Une collaboration a été établie avec R. McCAULEY sur le sujet des Amaranthaceae, dans le but de produire une phylogénie du genre *Achyranthes* au niveau mondial. Cette étude profitera de l'expérience de R. McCAULEY sur le genre dans l'océan Pacifique, et des collectes effectuées par le Missouri Botanical Garden en Afrique continentale, et vise, à terme, à permettre une meilleure compréhension des relations interspécifique. *In fine*, ces résultats pourront permettre de préciser l'identité des taxons présents sur les Iles Éparses, dans un genre pantropical à la taxonomie encore largement irrésolue. Cette collaboration, établie sur le long terme, se poursuivra après le terme du projet.

Concernant les Solanaceae, Euphorbiaceae et Phyllanthaceae, l'apport de X. AUBRIOT a permis de confirmer l'identité des *Solanum americanum* des Iles Éparses, ainsi que des *Lycium*, et de les replacer dans leur contexte phylogénétique. Les résultats moléculaires semblent donc confirmer les observations morphologiques. Les données génétiques sont désormais mises à disposition de la communauté scientifique sur GenBank, et de futurs travaux pourront inclure les échantillons des Iles Éparses. Néanmoins, des travaux additionnels sur ces taxons ne sont pas prévus (et dépasseraient du cadre de ce projet).

Les séquences des Phyllanthaceae et Euphorbiaceae problématiques collectés sur les Éparses sont également mises à disposition sur GenBank. L'inclusion de ces séquences dans un travail phylogénétique étendu représente une perspective importante, mais qui devra être conduite sur le long terme par une équipe experte, et faire l'objet de financements spécifiques, ce qui dépasse le cadre de ce projet. En effet, les genres *Euphorbia* et *Phyllanthus* sont très divers, en particulier dans l'ouest de l'Océan Indien, et plusieurs équipes travaillent depuis des années à produire des phylogénies robustes. La mise à disposition des séquences dans le domaine public assure une visibilité scientifique des échantillons produits dans le cadre de ce projet, et permettront à de futures études de les prendre en compte, ce qui aboutira, *in fine*, à une meilleure compréhension des taxons des Éparses.

Les travaux moléculaires sur les Portulacaceae potentiellement menés dans le futur par l'équipe de G. OCAMPO ACOSTA représentent des perspectives importantes pour la connaissance de ce genre complexe et bien représenté aux Éparses. Néanmoins, il s'agit d'un cas similaire au genre *Achyranthes*, c'est à dire un genre pantropical à la taxonomie peu claire du fait de caractères morphologiques difficiles à appréhender. La perspective d'une phylogénie à l'échelle mondiale du genre *Portulaca* est encore plus lointaine que pour le genre *Achyranthes*, car *Portulaca* est bien plus divers. Néanmoins, la prise de contact positive avec l'équipe de G. OCAMPO ACOSTA, bien que retardée du fait de la pandémie, représente une opportunité importante et une étape essentielle vers la meilleure compréhension de ce genre dans les Éparses, et, au final, une conservation plus efficace et ciblée.

A ce jour, aucune équipe n'a pu être identifiée pour permettre le séquençage des échantillons des genres *Ficus* et *Boerhavia*, et leur inclusion dans des études phylogénétiques en cours. Néanmoins, la mise à disposition de ces échantillons en silicagel et la visibilité accrue des données collectées sur GBIF et TROPICOS permettront aux futures équipes de solliciter le CBN-CPIE Mascarin et le MBG pour les inclure dans de futurs travaux. C'est aussi le cas de tous les autres taxons non prioritaires qui ont pu être collectés sur les Iles Éparses lors de la campagne de terrain.

Lichens

Checklist et valorisations scientifiques

Les travaux d'identification taxonomique des lichens et champignons non lichénisés collectés dans les îles Éparses sont actuellement en cours et vont être poursuivis afin d'établir la checklist pour les îles Éparses, avec des précisions (statut de présence, abondance, phorophyte, etc.) pour chaque territoire. L'ensemble des données réalisées à cette occasion sera transmis à la RNN et à l'administration des TAAF et reversé dans l'INPN afin que les résultats soient librement accessibles aux communautés naturalistes et scientifiques. Le temps de la taxonomie étant généralement long, en particulier pour les groupes d'espèces mal connus tels que les lichens, il est difficile d'indiquer la date précise à laquelle l'ensemble des collectes aura pu faire l'objet d'une étude. Toutefois, nous pensons que d'ici fin 2022 les principales déterminations seront terminées.

Au regard des premiers résultats obtenus à l'occasion des travaux d'identification taxonomique des espèces, nous prévoyons qu'un nombre relativement élevé d'espèces nouvelles pour la science seront décrites (actuellement 6 taxons parmi les collectes sont considérés comme potentiellement nouveaux). Ainsi, nous prévoyons de soumettre à publication d'autres articles tels que celui portant sur les *Roccella* ou les *Ramalina*, qui traitent d'un genre ou d'un groupe d'espèces en particulier.

Enfin, une fois la majorité du matériel identifié, un travail de valorisation scientifique portant sur les relations phorophytes-lichens sera réalisé (protocole Ppho décrit précédemment). Ces analyses devraient permettre de mieux connaître les facteurs qui conditionnent la présence et la diversité des lichens corticoles dans les écosystèmes insulaires.

Flore des lichens des îles Éparses

En parallèle des travaux de détermination du matériel collecté, nous rédigeons les fiches espèces des taxons présents dans les îles Éparses. Ce matériel, une fois compilé et assorti de clés de détermination sera proposé à publication et mis à disposition des communautés scientifiques et naturalistes. Cette flore, bien que réalisée sur la base de quelques journées d'inventaires devrait inclure la grande majorité des lichens des îles Éparses et contribuera à combler le manque de connaissance et d'ouvrage traitant des lichens de l'ouest de l'Océan Indien. Pour faciliter son utilisation par la communauté internationale elle est rédigée en anglais. L'extrait suivant illustre le type de contenu (fiches espèces) qui est actuellement rédigé et assemblé dans le cadre de ce projet.

Lichens flora of the Scattered Islands (French Southern and Antarctic Lands) [Extrait : exemples de fiche espèce]

Granulopyrenis Aptroot

Granulopyrenis macrocarpoides (Zahlbr.) Aptroot (Fig. X)

Description. Thallus lignicolous, crustose, endophloeodal, dull, very thin, not corticate, continuous, smooth, whitish-grey, without crystals. Prothallus absent. Photobiont absent. Perithecia scattered more or less evenly over the thallus, hemispherical, distinctly flattened, superficial on the substratum, exposed, but completely covered by the thallus when young, 0.5-0.7 mm diam., 0.1-0.4 mm high. Wall completely carbonized, with distinct clypeus, up to 90 µm thick. Ostiole black, obconical, apical, forming an internet channel, 150 µm high, 50-100 µm diam. Hamathecium hyaline, not inspersed, gelatinized, I-, K/I+ pale blue. Pseudoparaphyses present, mostly simple or only branched at the tips, 1.5-2.5 µm wide. Periphyses absent. Periphysoids present, heading downwards, in ostiole channel and walls' upper parts, simple or sometimes anastomosing. Hypothecium hyaline, thin, I-, K/I-. Asci cylindrical, 8-spored, with rounded ocular chamber, 50-60 x 10-14 µm, I-, K/I-. Ascospores brown, irregularly arranged in the ascus, ellipsoidal with rounded ends, symmetrically septate, not constricted at the septa, 16-20 x 7-11 µm, with 1 median euseptum, 2 µm thick, endosporium up to 3 µm thick, wall smooth but giving the impression of an ornamentation when old, with granules 3-4 µm thick, no perispore. Pycnidia present, 80-120 µm diam, wall completely carbonized, up to 15 µm thick. Conidia agrogenous, filiform, 6-9 x 0.2-0.4 µm.

Chemistry. Spot tests: thallus P-, K-, KC-, C-, UV-.

Distribution and ecology. Coastal lignicolous species only known from Juan de Nova, growing on wood of *Psiadia altissima*. Species also known from South Africa, where it is growing on exposed trees, including *Olea*, at elevation below 200 m asl.

Specimens examined. JUAN DE NOVA, S 17°03'20.6546", E 42°43'40.1665", 3 m asl, lignicolous on *Psiadia altissima* (DC.) Drake, leg. R. Poncet, C. Fontaine, J. Hivert, E. Bidault, 14 April 2019, Poncet 180 (PCXXXXXXXX).

Useful references:

Aptroot, A. 1991. *A Monograph of the Pyrenulaceae (Excluding Anthracothecium and Pyrenula) and the Requiellaceae, with Notes on the Pleomassariaceae, the Trypetheliaceae and Mycomicrothelia (Lichenized and Non-lichenized Ascomycetes)*. Bibliotheca Lichenologica, Berlin, Stuttgart.

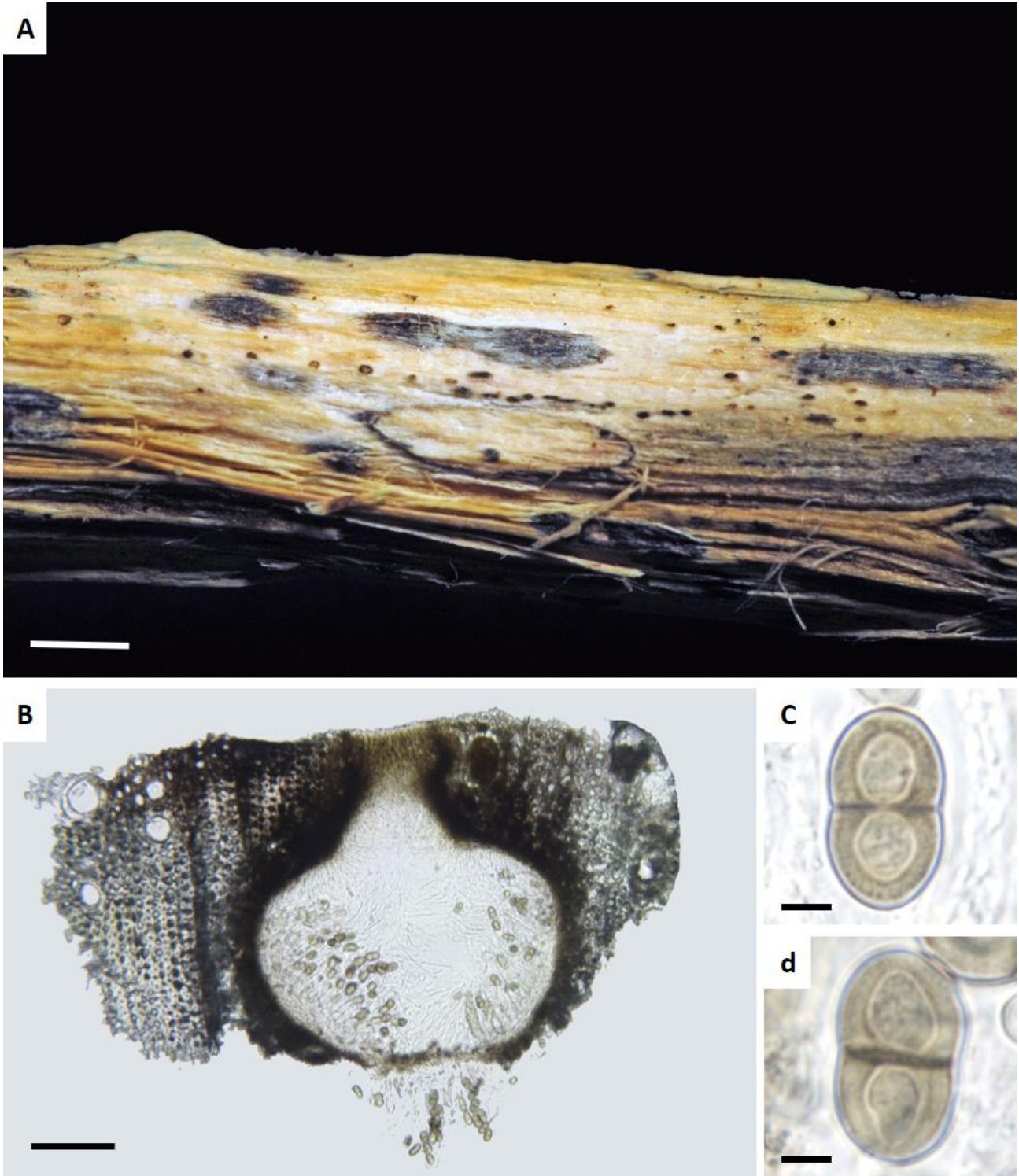


Figure X. *Granulopyrenis macrocarpoides* (Zahlbr.) Aptroot, **PCXXXXXXX** (Poncet 180). A, habitus, B. perithecia section in water, C-D, 1-septate ascospore in water. Scales: A = 2 mm; B = 100 μ m; C = 10 μ m.

Opegrapha Ach.

Opegrapha trochodes Coppins, F. Berger & Ertz (Fig. X)

Description. Thallus corticolous-lignicolous, crustose, epiphloeodal, dull, very thin, not corticate, continuous to finely cracked, smooth to finely warted, dark green to brownish. Prothallus blackish, 0.8-0.15 mm wide. Photobiont trentepohlioid, of rounded to ellipsoid cells. Ascomata scattered more or less evenly over the thallus, rounded or more or less square or pentagonal, or shortly elongated (frequent on material from Scattered Islands, generally aligned with wood fibers), never branched, sessile, black, not pruinose, 150-330 µm in diam., margin c. 60-140 µm wide, comprising (3-)4-5 segments, hymenial disc slit-like or narrowly exposed, up to 275-300 µm wide, black, not pruinose. Excipulum black, continuous below the hymenium and frequently dividing the hymenium in 2(-4) loculi in vertical section, 25-45 µm wide laterally, 15-40 wide basally. Hymenium hyaline, not interspersed, 60-75 µm high, I+ orange/red, K/I+ blue. Paraphysoids richly branched and anastomosing, 1-1.5 µm wide, not distinctly enlarged at the apex. Epihymenium hyaline to brown (often at least by place in material from the Scattered Islands), I+ directly red, sometimes partly blue. Hypothecium hyaline to pale brown, 15-25 µm high, I+ blue turning quickly orange. Asci cylindrical to narrowly clavate, 8-spored, with an apical K/I+ blue ring, (45-)50-60 x 11-12 µm. Ascospores hyaline, narrowly ellipsoid to fusiform, 3-septate (septation starts with one median septum), straight or slightly curved, not constricted at the septa, distal cells slightly longer, (11-)14-18(-21) x (3-)4-5 µm, no distinct perispore. Pycnidia not observed.

Chemistry. Spot tests: thallus P-, K-, KC-, C-, UV-.

Distribution and ecology.

Specimens examined. EUROPA ISLAND, S 22°20'49.5784", E 40°20'23.9018", 2 m asl, corticolous and lignicolous on *Thespesia populneoides* (Roxb.) Kostel., leg. R. Poncet, C. Fontaine, J. Hivert, E. Bidault, 11 April 2019, Poncet 132 (PCXXXXXXXX). JUAN DE NOVA, S 17°03'41.8796", E 42°43'50.7964", 2 m asl, corticolous and lignicolous on *Guettarda speciosa* L., leg. R. Poncet, C. Fontaine, J. Hivert, E. Bidault, 14 April 2019, Poncet 176 (PCXXXXXXXX).

Useful references:

Coppins, B.J., Berger, F., Ertz, D. 2008. *Opegrapha trochodes*, a new widely distributed corticolous species. *Sauteria* 15: 195-204.

Ertz, D. 2009. *Revision of the corticolous Opegrapha species from the paleotropics*. Bibliotheca Lichenologica No. 102. J. Cramer in der Gebrüder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, Berlin and Stuttgart.

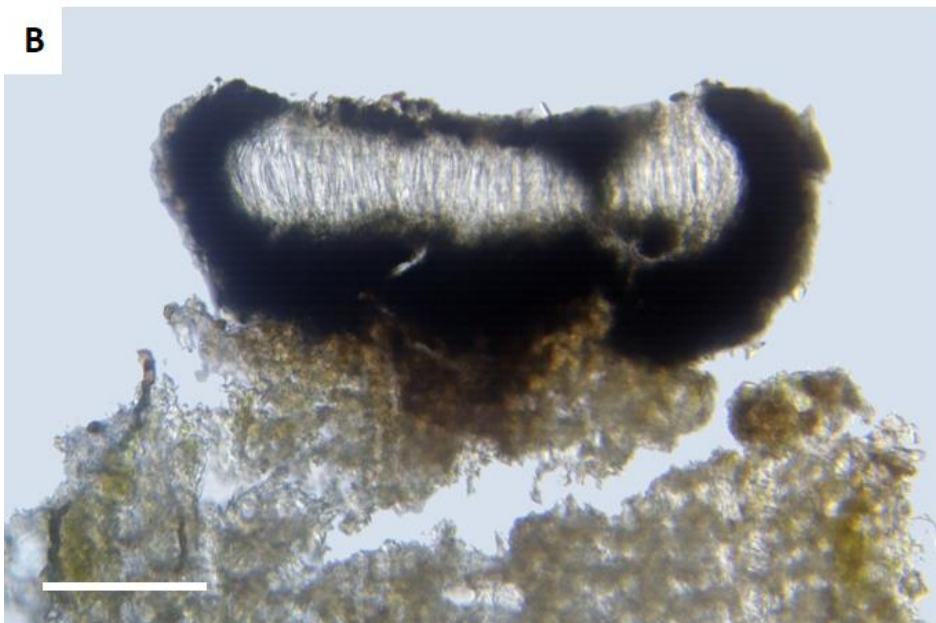


Figure X. *Opegrapha trochodes*, PCXXXXXXX (Poncet 176). A, habitus, B, ascomata section in water, C, 3-septate ascospore in water. Scales: A = 2.5 mm; B = 100 μ m; C = 2.5 μ m.

Bibliographie

- YANG Y. & BERRY P. E., 2011. Phylogenetics of the Chamaesyce clade (*Euphorbia*, Euphorbiaceae): Reticulate evolution and long-distance dispersal in a prominent C4 lineage. *American Journal of Botany* 98: 1486–1503.
- AUBRIOT X., LOWRY P. P., CRUAUD C., COULOUX A. & HAEVERMANS T., 2013. DNA barcoding in a biodiversity hot spot: potential value for the identification of Malagasy *Euphorbia* L. listed in CITES Appendices I and II. *Molecular Ecology Resources* 13: 57–65. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12028>
- SÄRKINEN T., BARBOZA G. E. & KNAPP S., 2015. True black nightshades: Phylogeny and delimitation of the Morelloid Clade of *Solanum*. *Taxon* 64: 945–958. <https://doi.org/10.12705/645.5>
- AUBRIOT X., SINGH P. & KNAPP S., 2016. Tropical Asian species show the Old World clade of “spiny solanums” (subgenus *Leptostemonum* Bitter, the *Leptostemonum* Clade: Solanaceae) is not monophyletic. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 199–223. <https://doi.org/10.1111/boj.12412>
- BERRY O., 2019. Profilage métabolique comparatif des spécimens de *Roccella*. Rapport de Stage Recherche, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Rennes 1, Laboratoire COInt, 64 pages.

Productions réalisées

- HIVERT J., PONCET R., BIDAULT E., FONTAINE C. & PICOT F., 2019. Projet RECOFFIE, rapport de campagne de la rotation du Marion Dufresne dans les îles Éparses du 4 au 30 avril 2019. Consortium de recherche “îles Éparses 2017-2020”. Conservatoire Botanique National et Centre Permanent d'Initiatives pour l'Environnement de Mascarin, UMS PatriNat (AFB - CNRS - MNHN), Missouri Botanical Garden, Terres Australes et Antarctiques Françaises, 99 pages.
- HIVERT J., PONCET R., BIDAULT E., FONTAINE C. & PICOT F., 2020. Projet RECOFFIE, rapport d'activités 2019. Consortium de recherche “îles Éparses 2017-2020”. Conservatoire Botanique National et Centre Permanent d'Initiatives pour l'Environnement de Mascarin, UMS PatriNat (AFB - CNRS - MNHN), Missouri Botanical Garden, Terres Australes et Antarctiques Françaises, 12 pages.
- FERRON S., BERRY O., OLIVIER-JIMENEZ D., ROUAUD I., BOUSTIE J., LOHEZIC-LE DEVEHAT F. & PONCET R., 2020. Chemical diversity of five coastal *Roccella* species from mainland France, the Scattered Islands, and São Tomé and Príncipe. *Plant and Fungal Systematics* 65(2): 247–260. <https://doi.org/10.35535/pfsyst-2020-0021>

Productions en cours de revue

- PONCET R., HIVERT J., FONTAINE C., PICOT F., BIDAULT E., REYJOL Y. *in prep.* Biostatistical and molecular approaches using open-access data to address saprotrophic fungi distribution at a global scale: a case study using *Hexagonia hydnoides* (Polyporaceae) as a model species. *Manuscrit soumis à Fungal ecology le 29 juin 2021.*

PONCET R., LOHEZIC – LE DEVEHAT F., FERRON S., HIVERT J., FONTAINE C., PICOT F., BIDAULT E., KERVRAN L. *in prep.* The genus *Ramalina* Ach. (Ascomycota, Lecanoromycetes, Ramalinaceae) from the Scattered Islands (French Southern and Antarctic Lands), with description of three new species. *Manuscrit soumis à Plant and Fungal Systematics le 29 juin 2021.*

Bilan financier

Bilan des dépenses attribuées par le Consortium de Recherche

Le budget prévisionnel de RECOFFIE estimé en début de projet prévoyait des dépenses globales de 8 280 euros.

En juin 2019, Les TAAF ont reversé 6 624 euros (soit 80% du montant global) au MNHN (porteur du projet). Le MNHN a conservé 1 088 euros (correspondant aux dépenses de son personnel au cours de la mission de terrain) et reversé 5 536 euros au CBNM.

Fin juin 2021, le CBNM et le MNHN ont respectivement dépensé 5 335 euros (Cf. Tableau 4) et 1 088 euros sur le projet, soit un montant global de 6 423 euros.

Tableau 4 : Dépenses de fonctionnement du CBN-CPIE Mascarin sur le projet RECOFFIE de 2019 à 2021

Année	Dépenses de fonctionnement			Recettes
	Postes de dépenses	Détail	Montant	
2018	Missions (moyens de déplacement entre le laboratoire d'origine et le lieu d'embarquement pour les îles Éparses)			
	Coûts opérationnels (location de matériel par exemple)			
	Consommables, petit équipement			
	Analyses			
	Équipement			
	Autres coûts directs			
	Sous-total 2018			0,00 €
2019	Missions (moyens de déplacement entre le laboratoire d'origine et le lieu d'embarquement pour les îles Éparses)	<i>Billets d'avion : aller-retour Métropole-Réunion x 2 ; aller simple Mayotte-Réunion x 2 + Hotel à La Réunion (4 nuits) + Restauration (12 repas) ; frais kilométrique; assurances</i>	1 708,20 €	
	Coûts opérationnels (location de matériel par exemple)			
	Consommables, petit équipement	<i>Matériel de terrain (conditionnement des échantillons) : silicagel, boîtes hermétiques, ventilateur, radiateur électrique, papeterie, piluliers, ciseaux, gants en latex, pipette, alcool à 90°, buvard, tôles en alu, sangles, VHF marine, papier kraft</i>	1 622,60 €	5 536,00 €
	Analyses			
	Équipement			
	Autres coûts directs	<i>envois postaux MNHN</i>	75,80 €	
	Sous-total 2019			3 406,60 €
2020	Missions (moyens de déplacement entre le laboratoire d'origine et le lieu d'embarquement pour les îles Éparses)			
	Coûts opérationnels (location de matériel par exemple)			
	Consommables, petit équipement			
	Analyses	<i>kit d'extraction ADN / Dreamtag serum albumine / bovine / DNTP mix</i>	796,61 €	
	Équipement			
	Autres coûts directs	<i>envois postaux MNHN</i>	40,66 €	
	Sous-total 2020			837,27 €
2021	Missions (moyens de déplacement entre le laboratoire d'origine et le lieu d'embarquement pour les îles Éparses)			
	Coûts opérationnels (location de matériel par exemple)			
	Consommables, petit équipement			
	Analyses	<i>produits et réactifs chimiques</i>	145,63 €	1 384,00 €
	Équipement	<i>matériel de chromatographie</i>	924,30 €	
Autres coûts directs	<i>envois postaux MNHN</i>	20,53 €		
	Sous-total 2021			1 090,46 €
	TOTAL SUR TROIS ANS			5 334,33 €
				6 920,00 €

Co-financements

Les salaires des personnels impliqués dans le projet entre 2019 et 2021 ainsi que de l'équipement sont fournis par les structures partenaires (CBN-CPIE Mascarin, MBG et UMS PatriNat).

Le co-financement apporté par le Missouri Botanical Garden est estimé à 8220 €, essentiellement sous forme de :

- salaire de E. BIDAULT : 6960 € sur une base estimée de 58 jours à temps plein consacrés au projet RECOFFIE (36 jours de mission et 22 jours consacrés à l'organisation, l'analyse des données, la gestion des échantillons, le travail scientifique) ;
- mise en collection des échantillons en herbier : 640 €, sur une base de 5 € par échantillon (salaire du technicien inclus) ;
- mise en collection des échantillons en silicagel : 300 €, incluant une journée de salaire d'un technicien ;
- mise en collection des échantillons en alcool : 320 €, incluant une journée de salaire d'un technicien.

Remerciements

Les auteurs remercient tout particulièrement Sophie Marinesque (TAAF), Jonathan Grand (TAAF) et Cédric Marteau (TAAF) qui ont coordonné le Consortium et les campagnes de terrain, et ont investi une énergie et un temps incalculables pour améliorer la connaissance et la conservation du patrimoine naturel des îles Eparses.

RP remercie également Sylvie Chevalier (UMS 2006 PatriNat), Mélanie Hubert (UMS 2006 PatriNat), Laurent Poncet (UMS 2006 PatriNat), Julien Touroult (UMS 2006 PatriNat) et Serge Muller (ISYEB - MNHN) pour leur confiance et surtout pour leur aide précieuse dans ce projet et sans qui rien de tout cela n'aurait été possible.

EB remercie le Missouri Botanical Garden, et plus particulièrement Porter P. Lowry II (responsable du département Afrique et Madagascar) et Tariq Stévant (coordinateur du programme Afrique de l'Ouest et Centrale) pour avoir soutenu financièrement ses activités dans l'Océan Indien occidental.



CONSORTIUM DE RECHERCHE
« ÎLES ÉPARSES 2017-2021 »

Projet RECOFFIE (2019-2021)
Rapport de fin de projet - Juin 2021

HIVERT, J., PONCET, R., BIDAULT, E., AUBRIOT, X., LE DEVEHAT F., FERRON S., MCCAULEY, R., FONTAINE, C., PICOT, F., BOULLET, V. & MULLER, S. (2021). Consortium de recherche « îles Éparses 2017-2021 » : Projet RECOFFIE (2019-2021), rapport de fin de projet. CBN-CPIE Mascarin, Missouri Botanical Garden, Muséum national d'Histoire naturelle, UMS PatriNat, 41 p.