



HAL
open science

Diversité et évolution de la microsporogenèse chez les palmiers (Arecaceae) en relation avec la détermination du type apertural

Julie Sannier

► **To cite this version:**

Julie Sannier. Diversité et évolution de la microsporogenèse chez les palmiers (Arecaceae) en relation avec la détermination du type apertural. Biologie végétale. Université Paris Sud - Paris XI, 2006. Français. NNT: . tel-00469659

HAL Id: tel-00469659

<https://theses.hal.science/tel-00469659>

Submitted on 2 Apr 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE PARIS XI
UFR SCIENTIFIQUE D'ORSAY**

THESE

présentée pour obtenir

le diplôme de docteur en sciences

Par JULIE SANNIER

TITRE

**DIVERSITE ET EVOLUTION DE LA MICROSPOROGENESE CHEZ
LES PALMIERS (ARECACEAE) EN RELATION AVEC LA
DETERMINATION DU TYPE APERTURAL**

Soutenue le 1^{er} décembre 2006 devant le jury composé de :

Sophie NADOT, Maître de Conférences, Université Paris Sud
Jean-Yves DUBUISSON, Professeur, Université UPMC
Irène TILL-BOTTRAUD, Directrice de Recherches, CNRS
Michel DRON, Professeur, Université Paris Sud
Fred STAUFFER, Assistant Conservateur, Genève
Pierre-Henri GOUYON, Professeur, MNHN

Directrice de thèse
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur

**DIVERSITE ET EVOLUTION DE LA MICROSPOROGENESE CHEZ LES PALMIERS (ARECACEAE) EN RELATION AVEC LA
DETERMINATION DU TYPE APERTURAL**

Résumé de la thèse :

La microsporogénèse ou méiose mâle des plantes à graines mène une cellule mère diploïde, appelée microsporocyte, à quatre microspores haploïdes disposées en tétrade et séparées par des parois de callose. Chacune de ces microspores devient ensuite un grain de pollen, le gamétophyte mâle des plantes à graines qui produit les gamètes indispensables à la reproduction sexuée. C'est au cours de la microsporogénèse qu'est déterminé le type apertural des grains de pollen, défini par la forme, le nombre et l'arrangement des ouvertures à la surface pollinique. Les caractéristiques de la microsporogénèse sont sujettes à variation chez les Angiospermes ; comprendre leur évolution permettrait de mieux appréhender l'évolution du type apertural au sein de ce groupe.

Nous avons choisi d'étudier la diversité de la microsporogénèse ainsi que son évolution au sein de la famille des palmiers (*Arecaceae*). Cette famille d'Angiospermes présente une grande diversité de types polliniques, on s'attend donc à y rencontrer une diversité comparable de la microsporogénèse. Des phylogénies moléculaires récemment publiées et bien soutenues sont disponibles pour cette famille et fournissent le cadre historique nécessaire à l'étude de l'évolution des caractères choisis.

Nous avons échantillonné des espèces de palmiers présentant un type pollinique très majoritaire, le pollen monosulqué (une ouverture en forme de sillon et localisée au pôle distal du grain de pollen), mais la microsporogénèse s'est avérée très variable entre les espèces et même au sein d'une même espèce. En effet, la cytokinèse peut être successive ou simultanée, voire mixte chez certaines espèces, les parois intersporales se forment de manière centrifuge ou centripète et les tétrades adoptent une grande variété de formes, en proportions variables au niveau interspécifique comme intraspécifique. Ainsi, un même type de pollen peut être produit par diverses voies de développement. Nous avons reconstruit l'évolution de différents caractères de la microsporogénèse susceptibles d'intervenir dans la détermination du type apertural par la méthode du maximum de parcimonie et la méthode du maximum de vraisemblance. Pour cette dernière méthode, deux modèles d'évolution ont été utilisés, le modèle symétrique (taux de transition uniforme) et le modèle asymétrique (taux de transition \neq taux de réversion). Les caractères de la microsporogénèse étant très variables, l'inférence des états de caractères aux nœuds les plus ancestraux est incertaine. Il semblerait tout de même que la cytokinèse ancestrale à l'ensemble des espèces de palmier échantillonnées soit successive et que les tétrades formées soient tétraogonales. Aucune relation entre les différentes composantes de la microsporogénèse n'a pu être soulignée, bien qu'il soit couramment admis dans la littérature que la cytokinèse successive est généralement associée à une formation centrifuge des parois intersporales et à des tétrades tétraogonales, tandis que la cytokinèse simultanée est associée à une formation centripète des parois et à des tétrades tétraédriques. Les causes de la remarquable diversité rencontrée chez les palmiers, tant au niveau de la morphologie pollinique que du développement pollinique précoce, restent à élucider.

Chez les *Arecaceae*, la relation suggérée par Ressayre *et al.* (2002a) entre le type apertural et la microsporogénèse n'a pas pu être mise en évidence, en particulier en raison de l'existence de tétrades tétraédrique irrégulières et de dépôts additionnels de callose variables et asymétriques.

Mots clés : Cytokinèse - Evolution - Grain de pollen - Microscopie - Microsporogénèse - Tétrade - Type apertural

Laboratoire : Ecologie, Systématique et Evolution
Université Paris-Sud, Bât 360
91 405 Orsay cedex

DIVERSITY AND EVOLUTION OF MICROSPOROGENESIS IN PALMS (ARECACEAE) IN RELATION TO THE APERTURE PATTERN DETERMINATION

Thesis outline:

Microsporogenesis or male meiosis in seed plants is the process leading to a tetrad of four haploid microspores separated by callose walls from a diploid mother cell, or microsporocyte. Each microspore then matures into a pollen grain, the male gametophyte of seed plants that produces the gametes necessary to achieve sexual reproduction. The aperture pattern of pollen grains, defined as the form, number and position of apertures on the pollen surface, is determined during microsporogenesis. The features of microsporogenesis vary among angiosperms and studying the evolution of these features would help to understand the evolution of aperture pattern in this group.

We have chosen to examine the diversity and evolution of microsporogenesis in palms (Arecaceae), a family of angiosperms. A large diversity of pollen types is found in this family: a comparable diversity in microsporogenesis can therefore reasonably be expected. Well-supported phylogenies of the family have been recently published and provide the historical framework that is necessary to study the evolution of the characters examined.

We have sampled palm species that present one major aperture type, the monosulcate type (a single aperture furrow-shaped and located at the distal pole of the pollen grain) but microsporogenesis was found unexpectedly variable: cytokinesis can be of the simultaneous or successive type or even mixed in some species; intersporal wall formation can be either centripetal or centrifugal; tetrads present a wide range of different forms varying in proportion among and within species. Different developmental pathways can then lead to the production of only one pollen type. We have reconstructed the evolution of the characteristics of microsporogenesis likely to play a role in aperture pattern determination using both Maximum Parsimony and Maximum Likelihood methods. In the case of the Maximum Likelihood method, two different models of evolution were tested: the symmetrical model (one transition rate) and the asymmetrical model (forward transition rate different from backward transition rate). Due to the high variability found in the characters examined, the inference at the ancestral nodes was often equivocal. However, we suggest that the ancestral type of microsporogenesis involved a cytokinesis of the successive type and resulted in tetragonal tetrads. Although it is commonly admitted in the literature that successive cytokinesis is associated with centrifugal cell wall formation whereas simultaneous cytokinesis is associated with centripetal wall formation, no such relationship was found in palms. The reasons underlying the remarkable diversity occurring in pollen morphology and pollen early development are still unclear.

In Arecaceae, the relationship suggested by Ressayre *et al.* (2002a) between the aperture pattern and microsporogenesis could not be highlighted, in particular in consequence of the presence of irregular tetrahedral tetrads and of variable and asymmetrical additional callose deposits.

Key words : Cytokinesis - Evolution - Pollen Grain - Microscopy - Microsporogenesis - Tetrad - Aperture pattern

Laboratory : Ecologie, Systématique et Evolution
Université Paris-Sud, Bât 360
91 405 Orsay cedex

REMERCIEMENTS

Je remercie avant tout Sophie NADOT et Béatrice ALBERT, mes deux directrices de thèse successives pour m'avoir accueillie chaleureusement, pour leur encadrement et toutes les discussions que nous avons eues, scientifiques ou non d'ailleurs. Merci à elles de m'avoir apporté leurs connaissances sur le pollen, la microsporogénèse et surtout les plantes en général ! Grâce à Sophie, je pense pouvoir dire que le brouillard commence à se lever sur la systématique végétale. Merci également à Pierre-Henri GOUYON d'avoir créé le groupe pollen sans lequel je n'aurais pas pu trouver de sujet de thèse et d'avoir bien voulu accepter ma modeste contribution au projet « Microsporogénèse et type apertural chez les Angiospermes ». Sans Adrienne RESSAYRE et sa vision claire du monde en trois dimensions, le travail que j'ai effectué aurait sans doute été beaucoup plus laborieux et embrumé. Merci à elle pour toute l'aide qu'elle a pu m'apporter, en particulier concernant l'orientation des ouvertures au sein des tétrades de microspores. Bien entendu, je remercie Arlette FORCHIONI pour son aide inestimable, que ce soit pour la microscopie ou sa dextérité dans la dissection des boutons floraux. Merci d'avoir toujours été disponible et d'avoir bien voulu m'accompagner de l'autre côté de l'Océan Atlantique, dans ce pays où ils ne parlent même pas français. Je n'oublie pas non plus Christian RAQUIN qui sans compter qu'il a dû partager son bureau avec moi pendant une bonne partie de mon séjour au laboratoire, a tenté de me faire partager les joies de l'expérimentation *in vitro*, sans grand succès malheureusement, les *Viola* n'étant finalement pas le modèle que je recherchais. Je n'ai pas partagé beaucoup de temps avec Laurent PENET, le doctorant précédant trop vite parti mais, ce temps a suffi à l'échange productif d'informations sur notre travail respectif. Merci à lui de ne pas nous avoir complètement oublié et de me conseiller encore activement. Enfin, bravo à Florian JABBOUR de nous avoir rejoint et d'apporter du sang neuf au groupe pollen qui devient donc « Evolution, Systématique et Développement des plantes ».

Je tiens à remercier également Odile JONOT pour avoir partagé son bureau avec Christian et moi, d'avoir supporté l'étalage de mes affaires et mon absence totale de main verte. Merci aussi à Jean-Michel GUILLON, Emmanuelle GERARD et Thierry ROBERT pour m'avoir accueilli pendant diverses périodes dans leur bureau respectif. Je n'oublie pas bien sûr de remercier l'ensemble de la population du laboratoire « Ecologie, Systématique et Evolution » pour l'accueil chaleureux, les discussions animées dans la salle café et tous les barbecues et autres pots organisés si efficacement. Une mention spéciale aux secrétaires Betty GASCARD et Monique DEBEST sans qui l'administratif serait si compliqué. Un grand merci affectueux à tous les thésards que j'ai pu croiser, à nos fêtes de Pâques, nos goûter crêpes et surtout à nos réunions si instructives. Lucie, Pauline, Sarah et Vincent, merci de m'avoir si souvent accompagné à la piscine ; sans eux je n'aurais sans doute pas fait preuve d'autant de motivation. Je tiens également à féliciter tous les doctorants récents du bâtiment 360 car la rédaction simultanée des manuscrits de thèse renforce les liens qui nous unissent ; félicitations à Sarah TRIKI-TEURTROY, Sandrine PIVARD, Saranya SRISUWAN et Auréli GARNIER.

Merci également à Virginie DELMAS qui a su me faire partager son expérience de l'enseignement à Versailles, ainsi qu'à Sibylle MOULIN sans qui les TD et les TP n'auraient sans doute pas été si drôles. Il est important de ne pas oublier non plus Florence RICHARD qui après m'avoir donné goût à la recherche par son encadrement dynamique lors de mon DEA a su également me faire découvrir les richesses de l'enseignement.

Mes séjours en Floride n'auraient pas été possibles sans Larry NOBLICK, Jack FISHER et Barry TOMLINSON. Merci à eux de m'avoir accueilli, fait découvrir quelques coins sympathiques des Everglades et de Miami et surtout, merci d'avoir été si patient lors de nos discussions. Merci aux membres de EUNOPS qui ont su montrer de l'intérêt à mes travaux et qui ont suivi leur évolution au cours de ces trois années. Sans les congrès que nous avons partagé, je n'aurais pas non plus découvert les coins merveilleux où ils ont eu lieu. L'aide de Madeline HARLEY et de Conny ASMUSSEN-LANGE que j'ai rencontré lors de ces conférences s'est révélée inestimable pour la rédaction de mes articles et je les en remercie profondément.

La rédaction de mon manuscrit n'aurait sans doute pas été aussi aisée sans le sentiment que ma famille me soutenait quoiqu'il arrive et sans les fêtes et les vacances que j'ai pu passer avec tous mes amis. Merci à ma maman, à mon papa, à mes deux frères et à toute la HFI family ! Un merci tout particulier à Guillaume qui bien que lui-même empêtré dans la rédaction de sa thèse a toujours été là tout simplement. Merci aussi à sa famille pour avoir montré de l'intérêt à mon avenir.

Je tiens finalement à remercier tous les membres du jury qui ont bien voulu consacrer un peu de leur temps pour venir assister à l'exposé de mes travaux de thèse et je m'excuse tout particulièrement pour tous ceux que j'ai sans doute oubliés.

TABLE DES MATIERES

PREAMBULE	11
INTRODUCTION GENERALE	13
CHAPITRE I : LA MICROSPOROGENESE ET LE GRAIN DE POLLEN	19
<i>A. Du microsporocyte aux microspores</i>	<i>21</i>
1. Localisation de la microsporogénèse chez les Angiospermes.....	21
2. Déroulement de la microsporogénèse.....	22
a. La méiose.....	22
b. La cytokinèse.....	24
c. Le mode de formation des parois.....	26
d. La forme des tétrades.....	27
3. Evolution de la microsporogénèse au sein des Angiospermes.....	27
<i>B. Le grain de pollen</i>	<i>29</i>
1. Description morphologique.....	29
a. La paroi.....	31
b. Les apertures.....	34
c. L'ontogénèse de la paroi et des apertures.....	38
d. Évolution des caractères polliniques au sein des Angiospermes.....	43
2. Fonction du grain de pollen.....	46
a. De l'anthere au stigmate.....	46
b. La fécondation.....	48
<i>C. Relation entre grain de pollen et microsporogénèse</i>	<i>50</i>
CHAPITRE II : LA FAMILLE DES ARECACEAE	53
<i>A. Botanique : diversité morphologique</i>	<i>55</i>
1. Appareil végétatif.....	55
2. Appareil reproducteur.....	58
<i>B. Ecologie et Conservation</i>	<i>60</i>
1. La répartition des palmiers dans le monde.....	60
2. Les biotopes colonisés par les palmiers.....	61
3. Ecologie des palmiers.....	61
4. Les palmiers en danger.....	63
<i>C. La classification des palmiers du XVIIIème siècle à nos jour</i>	<i>65</i>
CHAPITRE III : LA MICROSPOROGENESE ET LE GRAIN DE POLLEN CHEZ LES ARECACEAE	69
<i>A. Le grain de pollen</i>	<i>71</i>
1. Diversité morphologique du pollen chez les palmiers.....	71
a. Morphologie générale.....	71
b. Structure de l'exine.....	73
c. Diversité des types aperturaux.....	73
2. Evolution du type pollinique chez les palmiers.....	74
<i>B. Diversité de la microsporogénèse</i>	<i>85</i>
1. Matériel et méthodes.....	85
2. Résultats.....	86
a. Type pollinique.....	92
b. Type de cytokinèse.....	92
c. Formation des parois.....	93
d. Forme des tétrades.....	93
e. Dépôts additionnels de callose.....	94

f. Structures particulières.....	94
3. Discussion.....	95
Article 1. Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen.....	99

CHAPITRE IV : EVOLUTION DE LA MICROSPOROGENESE CHEZ LES ARECACEAE 111

A. <i>Matériel et méthodes</i>	115
1. Phylogénie.....	115
2. Test du signal phylogénétique.....	115
3. Modèles de reconstruction de l'évolution des caractères.....	116
4. Codage des caractères.....	116
B. <i>Résultats</i>	116
1. Phylogénie.....	117
2. Test du signal phylogénétique.....	119
3. Reconstruction de l'évolution des caractères de la microsporogénèse.....	119
a. Type de cytokinèse.....	121
b. Sens de formation des parois intersporales.....	122
c. Dépôts additionnels de callose.....	123
d. Forme des tétrades.....	124
e. Anneau de callose.....	125
C. <i>Discussion</i>	128
1. Phylogénie.....	128
2. Inférence des états de caractère ancestraux.....	129
Article 2. Evolution of microsporogenesis in palms (Arecaceae).....	133

CHAPITRE V : VARIATION DU TYPE APERTURAL EN RELATION AVEC LA MICROPOROGENESE CHEZ LES ARECACEAE 163

A. <i>Cytokinèse simultanée + formation centrifuge des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse</i>	166
1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre <i>et al.</i> (2002a).....	166
2. Types aperturaux réellement observés.....	166
a. Tétrades tétraogonales.....	166
b. Tétrades rhomboïdales.....	167
c. Tétrades tétraédriques.....	169
B. <i>Cytokinèse simultanée + formation centripète des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse</i>	170
1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre <i>et al.</i> (2002a).....	170
2. Types aperturaux réellement observés.....	170
a. Tétrades tétraogonales.....	170
b. Tétrades rhomboïdales.....	171
c. Tétrades tétraédriques.....	172
C. <i>Cytokinèse simultanée + formation centripète des parois intersporales par rapport à la tétrade</i>	174
1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre <i>et al.</i> (2002a).....	174
2. Types aperturaux réellement observés.....	175
a. Tétrades rhomboïdales.....	175
b. Tétrades tétraédriques.....	176
D. <i>Cytokinèse simultanée et successive + formation centrifuge des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse</i>	176
1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre <i>et al.</i> (2002a).....	176
2. Types aperturaux réellement observés.....	177
a. Tétrades tétraogonales.....	177
b. Tétrades rhomboïdales.....	177

c. Tétradés tétraédriques.....	178
E. <i>Cytocinèse simultanée et successive + formation centripète des parois intersporales par rapport aux plans de cytotinèse</i>	178
1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre <i>et al.</i> (2002a).....	178
2. Types aperturaux réellement observés.....	179
a. Tétradés tétraédriques.....	179
b. Tétradés tétraédriques.....	179
F. <i>Discussion sur les types aperturaux des tétradés tétraédriques</i>	180
G. <i>Conclusion</i>	183
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	185
Conclusion Générale	187
A. <i>Diversité de la microsporogénèse chez les Angiospermes</i>	187
B. <i>Evolution de la microsporogénèse chez les Angiospermes</i>	189
C. <i>Relation entre microsporogénèse et type apertural</i>	191
Perspectives	194
Article 3. <i>Links between early pollen development and aperture pattern in monocots</i>	197
REFERENCES	209
GLOSSAIRE	223
LISTE DES EXPOSANTS	227
LISTE DES FIGURES, TABLEAUX, ENCADRES ET ANNEXES	229
ANNEXES	233

PREAMBULE

Le premier chapitre de cette thèse introduit les notions fondamentales nécessaires à la bonne compréhension de mon travail dont les résultats sont exposés dans les chapitres 3, 4 et 5. Le deuxième chapitre peut être lu indépendamment du reste et concerne un travail bibliographique effectué sur le groupe de plantes qui a fait l'objet de mon étude, les *Arecaceae* ou palmiers. Ce chapitre n'est pas indispensable à la compréhension de mon travail mais je souhaitais le traiter afin de mieux connaître ce groupe atypique. J'espère qu'il contient des informations nouvelles pour vous et que vous prendrez plaisir à le lire. Les différents articles publiés ou soumis et reprenant les résultats sont présentés à la fin des chapitres auxquels ils sont associés.

Je vous souhaite une bonne lecture.

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'évo-dévo ou « evolutionary developmental biology » est une discipline récente qui a vu le jour dans le milieu des années 1990 et plus particulièrement en 1999, quand elle s'est vue attribuer sa propre division dans la SICB (Society for Integrative and Comparative Biology). Cette discipline réunit deux communautés scientifiques importantes : les biologistes évolutionnistes, qui cherchent à comprendre comment les organismes ont évolué, en particulier dans leur morphologie, et les biologistes du développement qui étudient la manière dont les gènes contrôlent la croissance des individus, de leur conception à leur maturité. Il était donc naturel que ces deux approches se rejoignent pour étudier comment le patron d'expression des gènes du développement d'un individu peut expliquer l'évolution d'un groupe d'organismes.

Une problématique soulevée par Gould et Lewontin (1978) est à l'origine de cette discipline. En effet, ce sont les premiers à formuler clairement une critique aux explications adaptationnistes largement utilisées depuis le milieu du XX^{ème} siècle et la diffusion de la synthèse néo-darwinienne de l'évolution. Jusqu'alors, la sélection naturelle était souvent invoquée comme facteur explicatif de l'évolution des espèces, de préférence à tout autre. Avec la publication de leur article, Gould et Lewontin évoquent le rôle que pourrait revêtir le développement dans l'évolution des espèces. Certes, dès la fin du XIX^{ème} siècle Ernst Haeckel établissait une théorie aujourd'hui fortement discréditée, qui établissait des relations entre le développement et les processus évolutifs : la théorie de la récapitulation embryonnaire (l'ontogenèse résume la phylogenèse). Mais il faut pourtant attendre les années 1970 et le développement des techniques de biologie moléculaire pour voir enfin apparaître une véritable discipline entièrement consacrée à l'étude de ces relations, la génétique du développement. La localisation et l'analyse des gènes du développement (gènes homéotiques) découverts par Bateson en 1894 n'ont pu effectivement se faire que dans les années 1970 et 80. Ces gènes déterminent le destin des cellules lors du développement. Des expériences de transgénèse menées dans les années 1990 (Gruss en 1991 et Capecchi en 1993) ont montré que certains de ces gènes, trouvés chez diverses lignées animales, étaient homologues, hérités d'un ancêtre commun. Il existe donc des gènes contrôlant le développement des organismes et pouvant par conséquent contraindre leur évolution. On parle alors de contraintes du développement. Gould et Lewontin (1978) sont partisans d'accorder une plus grande importance à ce type de contraintes comme facteur explicatif de l'évolution. Maynard-Smith *et al.* (1985) ont donné une définition de ces contraintes de développement : « Developmental constraints are defined as biases on the production of variant phenotypes or limitations on phenotypic variability caused by the structure, character, composition, or dynamics of the developmental system ». Dans cet article, les auteurs mettent en évidence deux sens principaux aux contraintes du développement : 1) elles empêchent la production de certains phénotypes qui, s'ils existaient, pourraient être ou non soumis à la sélection et 2) elles entraînent un biais vers la production de

phénotypes qui ne sont pas nécessairement optimaux mais sub-optimaux. En d'autres termes, les contraintes du développement peuvent aboutir au maintien de certaines formes en l'absence de sélection.

En 1989, Seilacher a établi un modèle pouvant expliquer l'existence d'un morphe particulier au temps t en fonction de différentes contraintes évolutives. Ce modèle, connu sous le nom de triangle de Seilacher accorde ainsi de l'importance à trois types de contraintes susceptibles d'intervenir dans les processus évolutifs menant à un morphe donné :

- 1) Les contraintes historiques : elles sont dues au passé commun partagé par un groupe d'espèces. Ces contraintes expliquent pourquoi deux taxons se ressemblent plus lorsqu'ils sont proches que deux taxons éloignés.
- 2) Les contraintes adaptatives : ces contraintes correspondent à tout ce qui est lié à la sélection naturelle. Si plusieurs phénotypes présentant des valeurs sélectives différentes apparaissent dans une même population, la sélection naturelle entraîne la disparition du moins « adapté » au profit de l'autre.
- 3) Les contraintes de développement : nous avons vu qu'elles expliquent l'existence de phénotypes sub-optimaux.

Encore très récemment, Brakefield (2006) souligne l'étroite relation existant entre les contraintes de développement et la sélection. Il précise que l'évolution ne peut sans doute se faire sans l'un et l'autre de ces mécanismes. Afin d'illustrer ses propos, il présente un exemple d'évolution parallèle chez des Cichlidées, des poissons peuplant les lacs Africains. La figure 1 montre clairement que des espèces de deux lacs séparés par plusieurs milliers de kilomètres et ayant évolué à partir de populations fondatrices différentes peuvent adopter des morphologies tout à fait ressemblantes. La question se pose alors sur la part relative prise par la sélection naturelle et par les contraintes de développement dans cette évolution. Les conditions environnementales similaires ont sans doute entraîné des adaptations par sélection naturelle comparables mais il se pourrait également qu'en

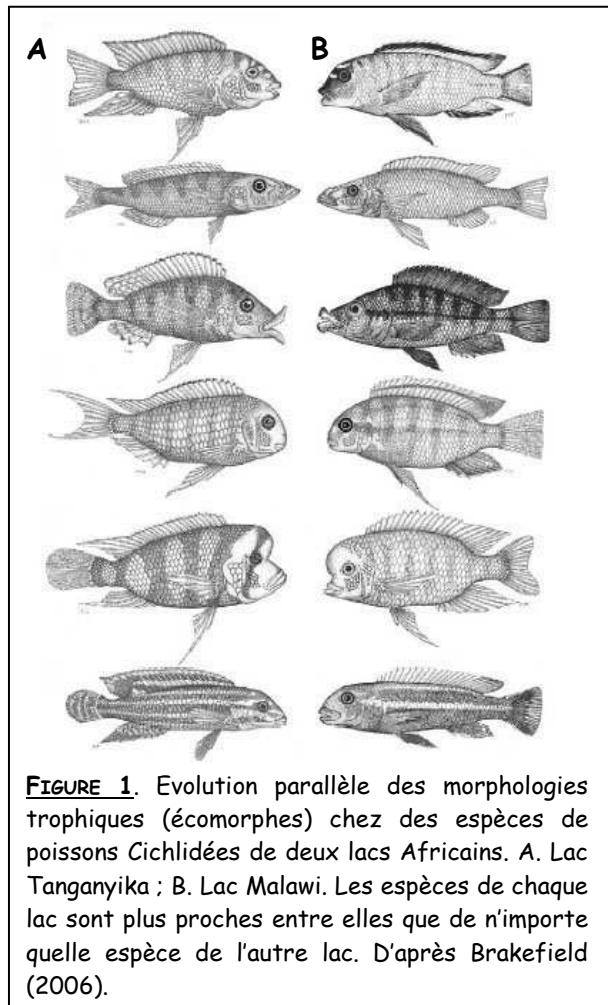


FIGURE 1. Evolution parallèle des morphologies trophiques (écomorphes) chez des espèces de poissons Cichlidées de deux lacs Africains. A. Lac Tanganyika ; B. Lac Malawi. Les espèces de chaque lac sont plus proches entre elles que de n'importe quelle espèce de l'autre lac. D'après Brakefield (2006).

raison de contraintes de développement, la manière dont est produite la variation phénotypique conduit toujours aux mêmes types de morphes. Même si les contributions relatives de ces deux types de contraintes restent peu claires, il semblerait que la manière dont la variation phénotypique est produite orchestre l'évolution adaptative le long de certaines trajectoires.

L'évo-dévo s'efforce de déterminer la part de chacune de ces contraintes dans l'évolution des organismes vivants. Il s'avère que le résultat seul étant accessible (c'est-à-dire le phénotype et le génotype des espèces actuelles), il est difficile de déterminer la manière dont s'est déroulée l'évolution d'un organisme et en particulier d'identifier les « causes » de cette évolution.

Notre équipe de recherche a entrepris depuis quelques années de chercher à comprendre les rôles respectifs de la sélection naturelle et des contraintes de développement dans l'évolution de la morphologie des grains de pollen chez les Angiospermes* et en particulier dans l'évolution du type apertural (forme, nombre et arrangement des ouvertures à la surface des grains de pollen). Le grain de pollen a été choisi comme modèle d'étude pour plusieurs raisons : 1) c'est un organisme simple présentant une diversité morphologique importante (Erdtman 1952), 2) il est présent chez tous les Angiospermes, ce qui permet de travailler sur une grande échelle taxonomique et temporelle, 3) il existe une relation entre sa morphologie et certaines étapes de son développement (Ressayre *et al.* 2002a), 4) il est relativement aisé d'avoir accès au processus de développement menant à sa formation et 5) il est manipulable *in vitro* ce qui facilite les tests de valeur sélective.

Notre travail repose donc sur l'ontogenèse elle-même et non pas sur le rôle des gènes du développement. Effectivement, si à l'origine l'évo-dévo se limitait à l'exploration de ces gènes, elle tend progressivement à élargir son domaine d'application.

Dans le cadre de ma thèse, je me suis efforcée de comprendre comment l'ontogenèse précoce des grains de pollen avait pu évoluer chez un groupe d'Angiospermes, les palmiers. Je me suis principalement focalisée sur les relations pouvant exister entre l'ontogenèse précoce des grains de pollen et le type apertural. Je n'ai pas du tout abordé la question du rôle joué par la sélection naturelle.

Dans une première partie, je présenterai les notions indispensables à la compréhension de mon travail : qu'est-ce qu'un grain de pollen et en quoi consiste précisément son ontogenèse précoce.

Dans une deuxième partie, je donnerai un aperçu de la famille d'Angiospermes sur laquelle j'ai travaillé : les *Arecaceae* ou palmiers.

La troisième partie décrira la diversité des types de grains de pollen observés chez les palmiers ainsi que la variation de la microsporogenèse que j'ai pu observer dans cette famille.

* Les mots soulignés sont définis dans le glossaire, p.223.

La quatrième partie traitera plus précisément de l'évolution de l'ontogenèse pollinique précoce chez les *Arecaceae*.

Enfin, la cinquième partie mettra en relation cette ontogenèse précoce et le type apertural observé chez les espèces étudiées.

La conclusion finale concernera l'existence ou non de contraintes de développement chez les espèces de palmier échantillonnées et mettra l'accent sur le rôle joué par les palmiers dans la compréhension de l'évolution du type apertural chez les Angiospermes.

CHAPITRE PREMIER

LA MICROSPOROGENÈSE ET LE GRAIN DE POLLEN

I. LA MICROSPOROGENÈSE ET LE GRAIN DE POLLEN

Dans ce chapitre, nous allons traiter une étape fondamentale dans la reproduction des Angiospermes, la **formation du gamétophyte mâle*** ou grain de pollen, unité de dispersion des gamètes mâles. Nous allons plus particulièrement nous intéresser aux mécanismes cellulaires impliqués dans l'étape de méiose (= microsporogénèse), qui est la première étape intervenant dans la formation des grains de pollen. Nous verrons ensuite les caractéristiques de ce gamétophyte, à la fois morphologiques et fonctionnelles. Nous replacerons à chaque fois ces descriptions dans le contexte évolutif des Angiospermes.

B. Du microsporocyte aux microspores

1. Localisation de la microsporogénèse chez les Angiospermes

Chez les Angiospermes, la microsporogénèse (du grec micro : petit ; sporo : spore ; genèse : formation) ou méiose mâle se déroule au sein de l'appareil reproducteur mâle, l'androcée. Ce dernier est composé d'une ou plusieurs étamines constituées d'une anthère et d'un filet s'insérant généralement sur le réceptacle floral ou sur la corolle (Figure 2).

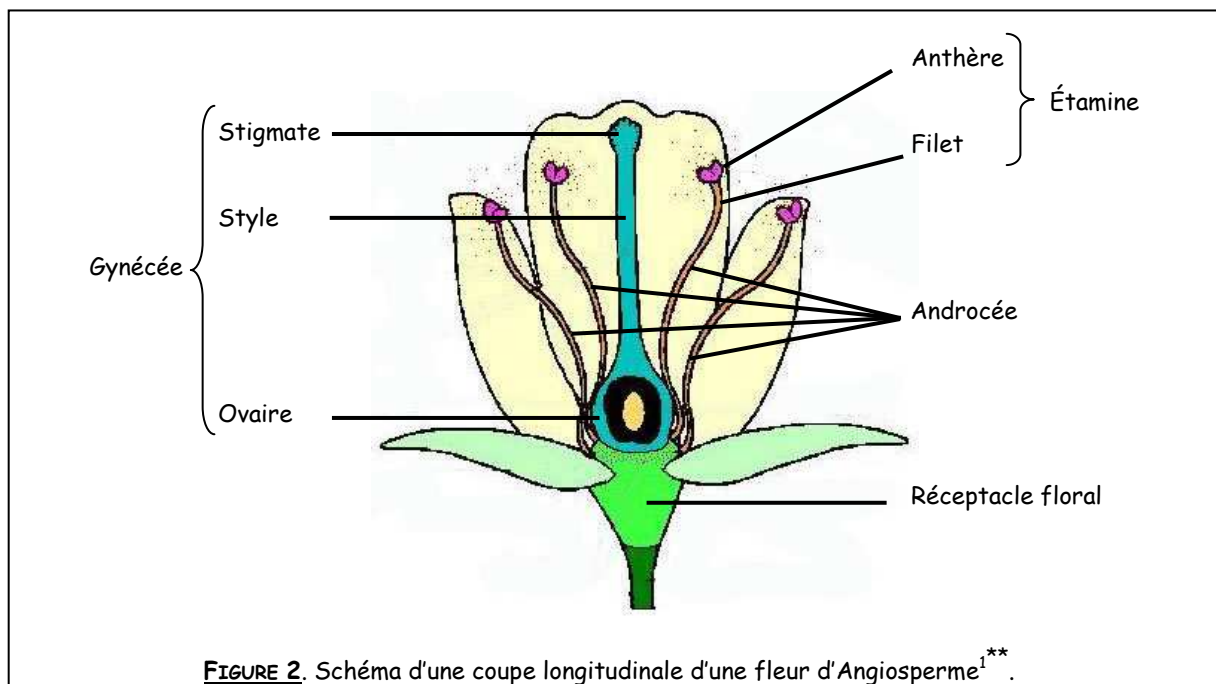


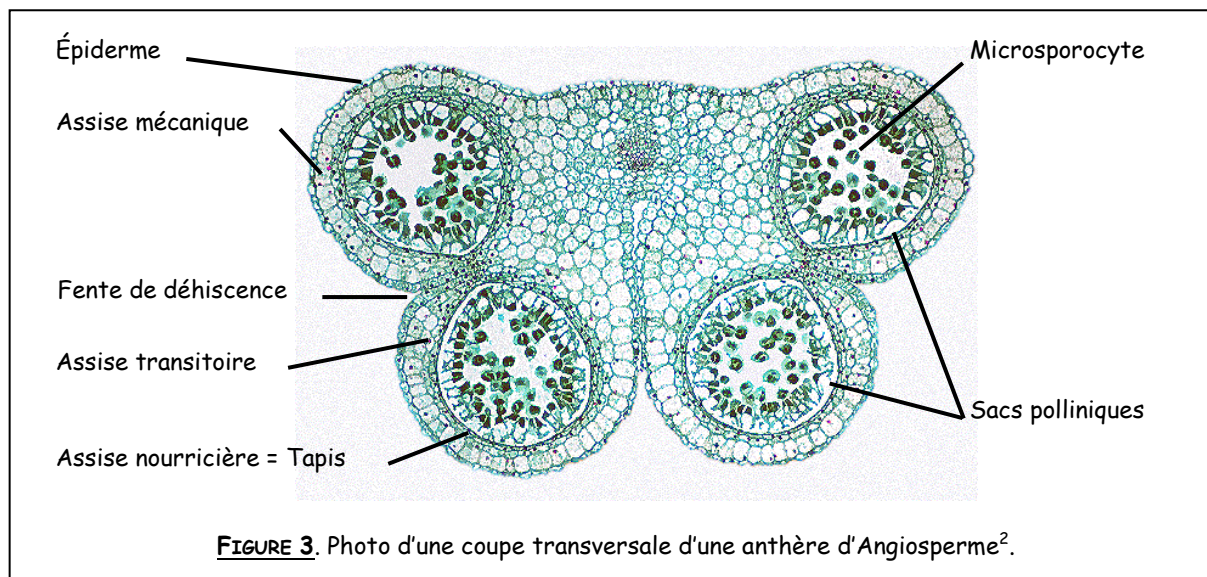
FIGURE 2. Schéma d'une coupe longitudinale d'une fleur d'Angiosperme^{1**}.

La paroi de l'anthère est différenciée en plusieurs assises cellulaires : un épiderme, une assise mécanique, une assise transitoire et une assise nourricière ou tapis (Figure 3). L'épiderme isole l'anthère du milieu extérieur. Il est interrompu au niveau de certaines zones précises appelées fentes de déhiscence. Ces zones sont les futurs points de rupture de la paroi de l'anthère, au moment de la libération du grain de pollen arrivé à maturité. L'assise mécanique, inexistante au niveau des zones de déhiscence, est formée d'une couche de cellules particulières situées directement sous l'épiderme et

* Les notions importantes seront signalées en gras.

** Les références liées aux exposants figurent dans une liste à la fin de ce manuscrit, p.227.

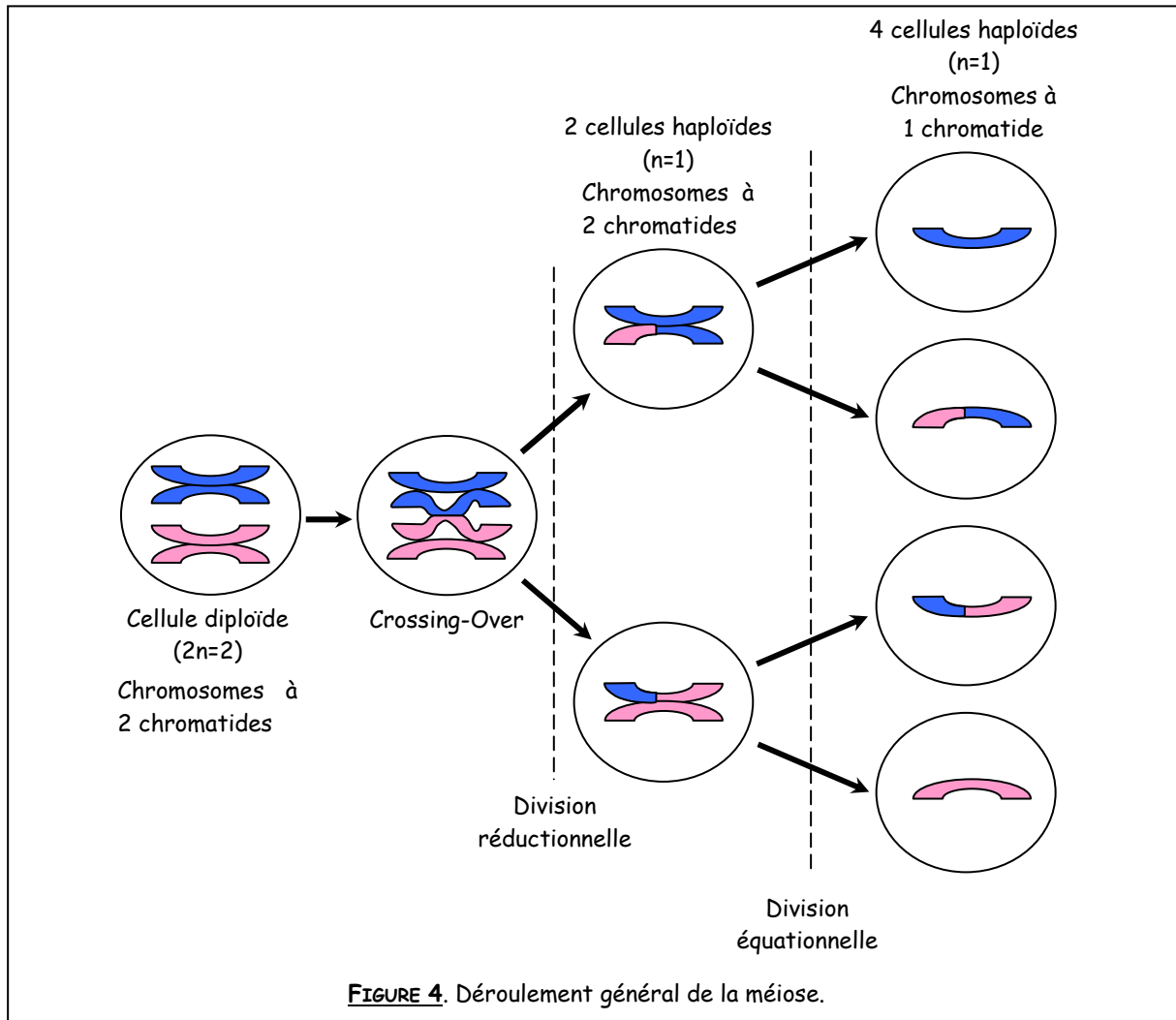
permettant la rupture de l'anthère à maturité. L'assise transitoire correspond à la majorité du tissu constituant l'anthère. L'anthère des Angiospermes comporte généralement quatre sacs polliniques, cernés d'une couche de cellules appartenant à l'assise nourricière (Meyer *et al.* 2004) et au sein desquels se forment les grains de pollen (Figure 3). Cette assise nourricière nourrit les grains de pollen en formation et sécrète la sporopollénine entrant dans la composition de leur paroi (Meyer *et al.* 2004).



2. Déroulement de la microsporogénèse

a. La méiose

Le déroulement général de la microsporogénèse est relativement conservé chez l'ensemble des végétaux puisqu'il s'agit d'une simple méiose, mécanisme fondamental de la reproduction sexuée. La microsporogénèse consiste en la succession de deux divisions nucléiques à partir d'une cellule mère diploïde. Une première division réductionnelle qui engendre deux cellules haploïdes dont les chromosomes comportent deux chromatides est suivie d'une seconde division équationnelle, équivalente à une mitose puisqu'elle sépare les chromatides de chaque chromosome (Figure 4) (Campbell 1995, Meyer *et al.* 2004). Lors de la division réductionnelle, des échanges de matériel génétique peuvent survenir entre paires de chromosomes homologues (crossing-over) permettant un brassage génétique intrachromosomique. Ce brassage génétique complète celui engendré par les recombinaisons aléatoires des chromosomes homologues (brassage interchromosomique) (Campbell 1995, Meyer *et al.* 2004). Les quatre cellules obtenues à la fin de la méiose sont appelées ici microspores.



Chez les Angiospermes, la microsporogénèse débute lorsque toutes les cellules mères, appelées microsporocytes, sont au même stade (première phase de croissance de la cellule au cours de l'Interphase). Cette synchronisation n'est possible que grâce aux ponts cytoplasmiques (plasmodesmes) existant entre les microsporocytes (Heslop-Harrison 1966). Peu avant la prophase I de la méiose, les microsporocytes amorcent la **production d'une paroi de callose**. Par la suite, au cours de la prophase I, certains des plasmodesmes (fibrilles protoplasmiques) qui reliaient les cytoplasmes des microsporocytes deviennent des ponts cytomictiques, bien plus larges et pouvant laisser passer des organites ou des chromosomes : on parle alors de cytomixie (Heslop-Harrison 1966, Pacini & Cresti 1978). Ces ponts sont ensuite cloisonnés, plus ou moins tardivement, isolant totalement les microsporocytes les uns des autres. A l'issue de la méiose, les quatre microspores obtenues sont séparées les unes des autres par des parois de callose (polymère du β 1,3-glucose) dont la formation présente des variations temporelles et spatiales (voir la section suivante « b. La cytocinèse »). Au cours de la méiose, les noyaux sont reliés par des faisceaux de microtubules extrêmement denses, irradiant à partir de chacun des noyaux et délimitant ainsi ce qu'on appelle les **NCDs** (Nuclear

Cytoplasmic Domains) (Otegui & Staehelin 2000). C'est aux **frontières de ces NCDs, dans des plans orthogonaux aux réseaux de microtubules, que se placent les plans de cytokinèse** (Heslop-Harrison 1966, Brown & Lemmon 1988, 1992, 1996, Otegui & Staehelin 2000, Ressayre 2000) (Figure 5). Les parois formées vont ainsi constituer une tétrade de microspores qui, selon le nombre et la disposition des noyaux au cours de la méiose, peut adopter différentes formes (Wodehouse 1935).

Malgré une certaine stabilité du déroulement général de la microsporogénèse, la mise en place des parois de callose présente quelques variations intéressantes.

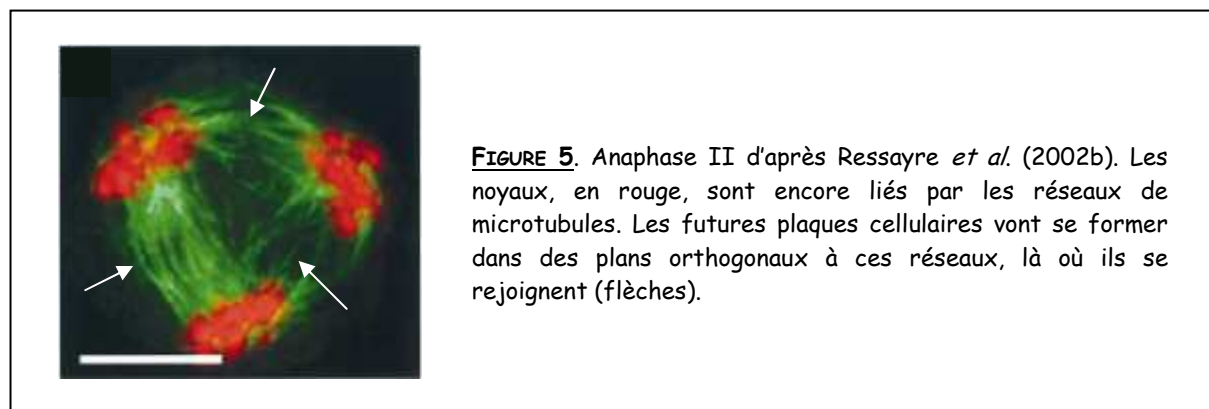


FIGURE 5. Anaphase II d'après Ressayre *et al.* (2002b). Les noyaux, en rouge, sont encore liés par les réseaux de microtubules. Les futures plaques cellulaires vont se former dans des plans orthogonaux à ces réseaux, là où ils se rejoignent (flèches).

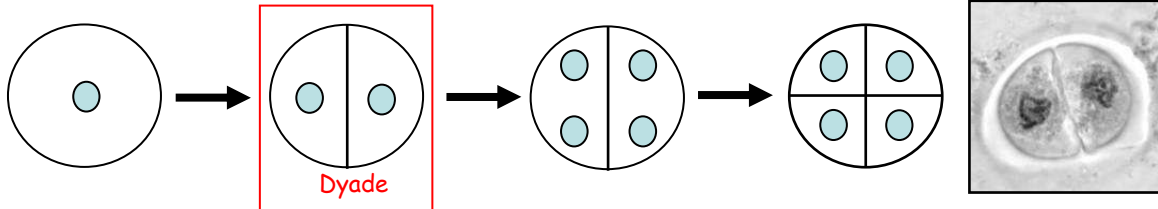
b. La cytokinèse

La mise en place et le déroulement précis de la cytokinèse ont fait l'objet de nombreuses études au cours des quarante dernières années, principalement au cours de la mitose (Alberts *et al.* 1990, Heese *et al.* 1998, Otegui & Staehelin 2000, Nishihama & Machida 2001, Xu *et al.* 2002, Mayer & Jürgens 2004), mais aussi au cours de la méiose (Heslop-Harrison 1966, Traas *et al.* 1989, Brown & Lemmon 1992, 1996, Ressayre *et al.* 2002b, Ressayre *et al.* 2003). Ainsi, le rôle important des microtubules et des filaments d'actine dans la détermination des plans de cytokinèse, a pu être mis en évidence plusieurs fois (Traas *et al.* 1989, Alberts *et al.* 1990, Heese *et al.* 1998). Bien que la méiose suive toujours le même processus de karyocinèse (division nucléaire), il n'en est pas de même pour la cytokinèse (division cytoplasmique). Ainsi, chez les plantes à fleurs, il existe deux types principaux de cytokinèse : la cytokinèse successive et la cytokinèse simultanée. Dans le premier cas, il y a formation successive des parois après chacune des divisions de la méiose ; le stade intermédiaire est appelé dyade. Dans la seconde situation, les parois se forment de manière simultanée à la fin de la méiose, sans stade intermédiaire et on peut observer les quatre noyaux issus de la méiose au sein d'un même cytoplasme (Figure 6). L'existence de types intermédiaires entre cytokinèse successive et simultanée a été relevée ; chez certaines espèces, des plaques cellulaires transitoires sont observées (Sampson 1963, 1970, Prakash *et al.* 1992) alors que chez d'autres, la division équationnelle se produit alors que la cytokinèse séparant les cellules issues de la division réductionnelle n'est pas encore

FIGURE 6. Description des différents types de cytokinèse.

La cytokinèse ou division du cytoplasme lors de la méiose peut se dérouler de deux façons différentes chez les Angiospermes :

(1) de manière **SUCCESSIVE** : suite à chaque division nucléaire, le cytoplasme se divise en deux. On passe alors par un stade dyade.



(2) de manière **SIMULTANÉE** : le cytoplasme ne se divise qu'une fois les deux divisions nucléaires effectuées, à la fin de la méiose. Le stade caractéristique est alors une cellule à quatre noyaux dans un même cytoplasme.

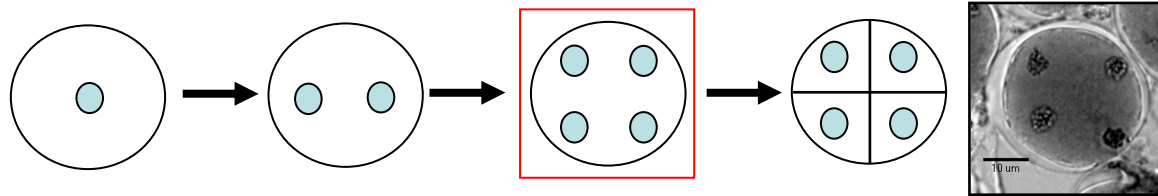
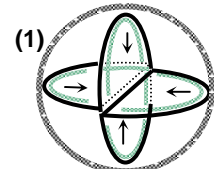


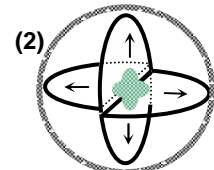
FIGURE 7. Description des différents modes de formation des parois.

La formation des parois peut se dérouler de quatre manières différentes selon Ressayre et al. (2000, 2002a) :

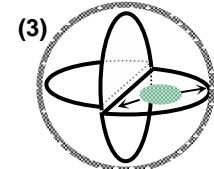
(1) de manière **CENTRIPETE** par rapport à la **TÉTRADE** : les parois se forment à partir de la paroi extérieure de la tétrade vers son centre.



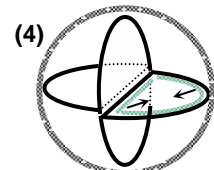
(2) de manière **CENTRIFUGE** par rapport à la **TÉTRADE** : les parois se forment à partir du centre de la tétrade vers la paroi extérieure.



(3) de manière **CENTRIFUGE** par rapport aux **PLANS DE DIVISION** : les parois se forment à partir du centre de chaque plan vers leur périphérie.



(4) de manière **CENTRIPETE** par rapport aux **PLANS DE DIVISION** : les parois se forment à partir du bord de chaque plan vers leur périphérie.



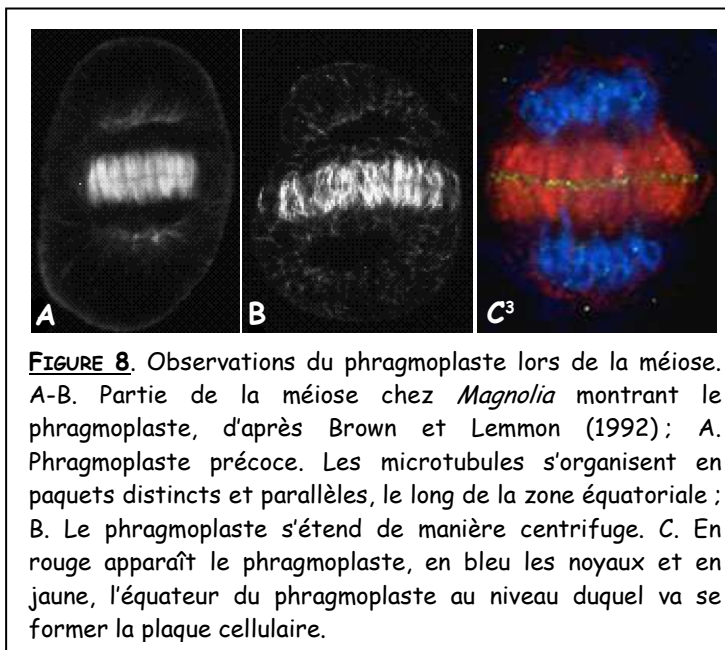
..... Tétrade — Plans de cytokinèse ■ Zones d'initiation de la formation des plaques cellulaires

achevée (Hotchkiss 1958, Hayashi 1960, Sampson 1969).

c. Le mode de formation des parois

C'est au niveau des plans de cytokinèse que les parois de callose vont se former. Ressayre *et al.* (2002a) ont répertorié précisément **quatre modes de formation des parois callosiques** séparant les futures microspores : 1) de manière centripète par rapport à la tétrade, 2) de manière centrifuge par rapport à la tétrade, 3) de manière centrifuge par rapport aux plans de division et 4) de manière centripète par rapport aux plans de division (Figure 7).

Le troisième mode de formation des parois ressemble à ce qui est observé pendant la mitose. Les plaques cellulaires apparaissent dans un plan situé entre les noyaux et en association avec les microtubules polaires résiduels du fuseau, qui forment une structure cylindrique appelée phragmoplaste. Cette structure contient deux jeux de microtubules orientés tête-bêche et organisés en une rangée parallèle (Figure 8). Au fur et à mesure que la partition progresse, le phragmoplaste s'étend de façon centrifuge dans le plan de cytokinèse (Figure 8). Des vésicules de Golgi contenant de la callose sont acheminées au contact du phragmoplaste puis transportées le long des microtubules jusqu'à ce qu'elles atteignent la région équatoriale. Là, elles fusionnent pour former la plaque cellulaire en forme de disque et limitée par une membrane (Alberts *et al.* 1990). Cette dernière progresse dans les mêmes directions que le phragmoplaste, de manière centrifuge, jusqu'à rencontrer la paroi de l'ancienne cellule mère (Heslop-Harrison 1966, Longly & Waterkeyn 1979a, Brown & Lemmon 1992, Otegui & Staehelin 2000).



Le deuxième mode de formation des parois n'a actuellement été décrit que chez *Pontederia cordata* (Pontederiaceae, Commelinales) (Ressayre 2001, Ressayre *et al.* 2002a).

La cytokinèse centripète se déroule très différemment car il n'y a pas de phragmoplaste lié à la formation des plaques cellulaires (Brown & Lemmon 1992). La séparation des microspores se fait par constriction centripète du cytoplasme à partir du bord de la tétrade, le long des zones frontières entre les réseaux de microtubules (Heslop-Harrison 1966, Longly & Waterkeyn 1979a, Brown &

Lemmon 1992, Heese *et al.* 1998, Otegui & Staehelin 2000). La plupart du temps, il y a formation simultanément au centre du microsporocyte d'un amas callosique progressant de manière centrifuge vers le centre des plans. Dans ce cas, les parois se forment de manière centripète par rapport aux plans de division. Lorsque cet amas callosique ne se forme pas, le cloisonnement est centripète par rapport à la tétrade. Cette dernière situation n'a en fait été relevée que chez une Magnoliace, *Pseudowintera* (Winteraceae) (Periasamy & Swamy 1959).

Il arrive qu'une fois les plaques cellulaires formées, elles soient ensuite recouvertes progressivement de **dépôts de callose additionnels**. Chez *Laurelia novae-zelandiae* (Monimiaceae) par exemple, la progression des plaques cellulaires est centrifuge mais les plaques sont ensuite recouvertes de dépôts de callose progressant de manière centripète (Sampson 1969). Dans ce cas, la paroi callosique se forme en deux temps : une plaque cellulaire initiale recouverte ensuite de callose additionnelle.

d. La forme des tétrades

Les variations décrites précédemment ainsi que le nombre et l'organisation des noyaux au cours de la méiose ont un impact sur la forme de la tétrade obtenue à l'issue de la microsporogénèse. **Trois grandes catégories de formes de tétrades** peuvent être observées : 1) les tétrades tétraogonales ou décussées, définies par trois ou quatre plans de division, 2) les tétrades rhomboïdales qui comptent cinq plans de division et 3) les tétrades tétraédriques définies par six plans de division (Longly & Waterkeyn 1979b, Ressayre *et al.* 2002a) (Figure 9).

Toutefois, ces trois grandes catégories sont, en réalité, reliées entre elles par un continuum de formes intermédiaires. Ainsi, les tétrades tétraédriques n'ont pas toujours six plans de division égaux et adoptent par conséquent des formes très variables qui peuvent s'apparenter à des tétrades décussées par exemple. De même les tétrades à trois ou quatre plans de divisions ne se limitent pas aux tétrades tétraogonales et décussées. Il existe aussi des tétrades de type linéaire, en T ou en Z (Figure 10).

3. Evolution de la microsporogénèse au sein des Angiospermes

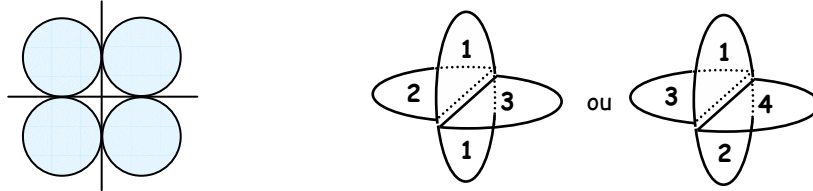
La microsporogénèse dans son ensemble a été très peu étudiée. Seule l'évolution du type de cytokinèse a suscité l'intérêt de quelques auteurs.

En 1997, Rudall et Furness ont choisi de retracer l'évolution du type de cytokinèse chez un groupe de Monocotylédones, les Asparagales. Par la suite, elles ont élargi leur étude à l'ensemble des Monocotylédones (Furness & Rudall 1999a) puis aux Angiospermes, en ajoutant des données recueillies

FIGURE 9. Description des différentes formes de tétrade.

Il existe trois grandes catégories de forme de tétrade :

(1) les tétrades **TÉTRAGONALES** et associées (en T, en Z, décussées, linéaires...) avec 3 ou 4 plans de division.



(2) les tétrades **RHOMBOÏDALES** avec 5 plans de division.



(3) les tétrades **TÉTRAÉDRIQUES**, régulières ou non avec 6 plans de division.

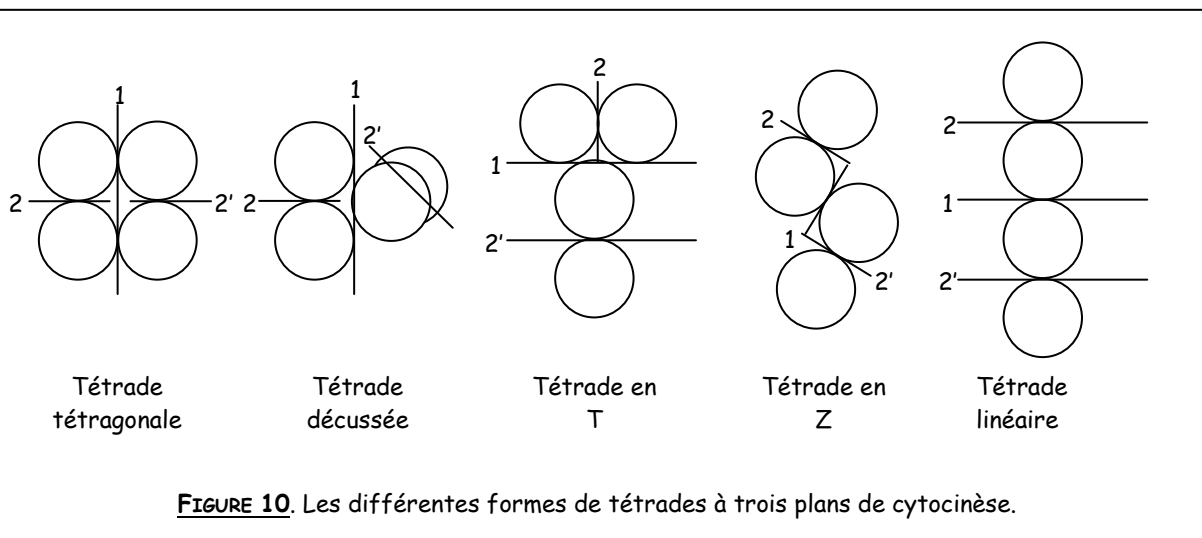


FIGURE 10. Les différentes formes de tétrades à trois plans de cytokinèse.

principalement sur des Angiospermes basales (Furness *et al.* 2002). Les principaux résultats trouvés sont les suivants :

- La cytokinèse ancestrale aux Angiospermes serait simultanée et non pas successive contrairement à ce qui a longtemps été envisagé (Heslop-Harrison 1971, Rudall *et al.* 1997).
- La cytokinèse ancestrale aux Monocotylédones serait successive.
- La cytokinèse ancestrale aux Magnoliidées et aux Eudicotylédones serait simultanée.
- La transition d'une cytokinèse simultanée vers une cytokinèse successive se serait produite plusieurs fois et la réversion équivalente également.

La microsporogénèse chez les Angiospermes ne se déroule pas de manière uniforme et présente d'importantes variations dans ses principales composantes : le type de cytokinèse, le sens de formation des plaques cellulaires et la forme des tétrades produites. D'un point de vue évolutif, il semblerait que selon de récents travaux la cytokinèse ancestrale aux Angiospermes soit de type simultané et qu'elle aurait évolué plusieurs fois vers un type successif, en particulier chez les Monocotylédones.

C. Le grain de pollen

Les microspores, une fois séparées les unes des autres mais encore entourées de l'ancienne paroi du microsporocyte, vont ensuite se différencier en grains de pollen, gamétophyte mâle des plantes à fleurs. Les cellules du tapis de l'anthere vont alors sécréter de la callase, une enzyme digérant la callose, libérant ainsi les microspores dans la loge pollinique. Les microspores vont emmagasiner les réserves nécessaires à leur futur rôle dans la fécondation, et leur paroi accumule de la sporopollénine produite par les cellules du tapis. Ensuite, les microspores subissent une ou deux mitoses asymétriques donnant naissance à deux types de cellules au devenir très différent : la cellule végétative, la plus grande, et la ou les cellules génératrices (Meyer *et al.* 2004). La déshydratation des grains de pollen au sein de l'anthere marque leur maturité et leur entrée en vie ralentie. Le moment de la dissémination des grains de pollen est arrivé.

1. Description morphologique

Le grain de pollen est donc constitué de deux cellules haploïdes : une grande **cellule végétative** et une **cellule génératrice**, incluse dans la cellule végétative (figure 11). C'est la cellule génératrice à la paroi très mince qui, après division, donnera les deux gamètes mâles indispensables à la double fécondation et donc à la reproduction. La cellule végétative possède au contraire une paroi très épaisse qui caractérise le grain de pollen des Angiospermes. Cette paroi a fait l'objet de très

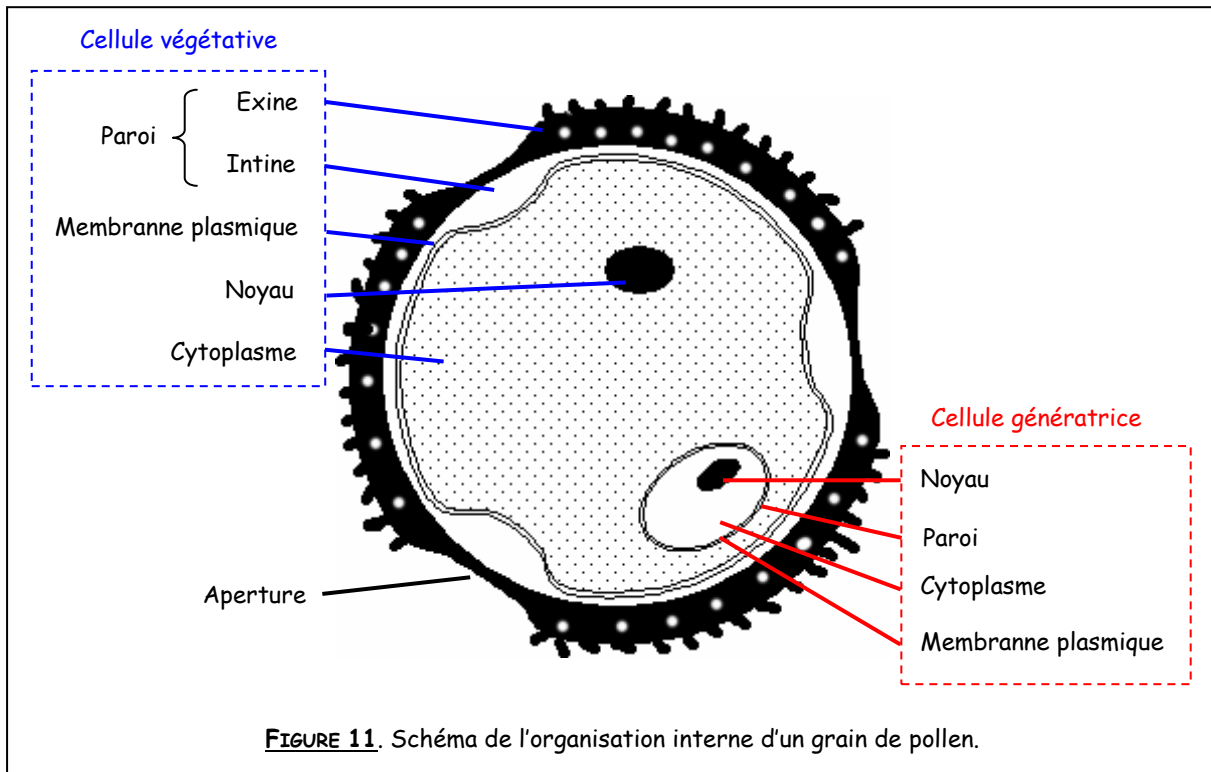
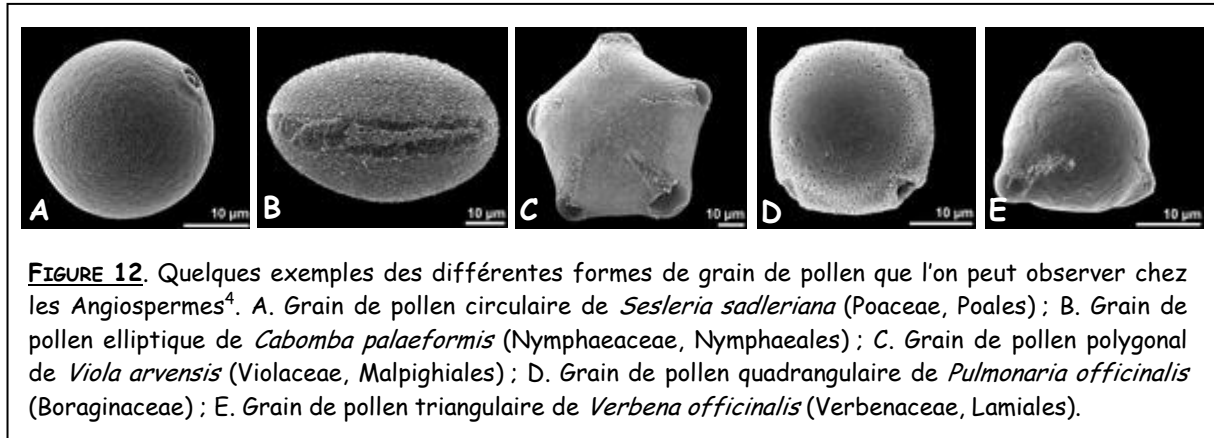


FIGURE 11. Schéma de l'organisation interne d'un grain de pollen.

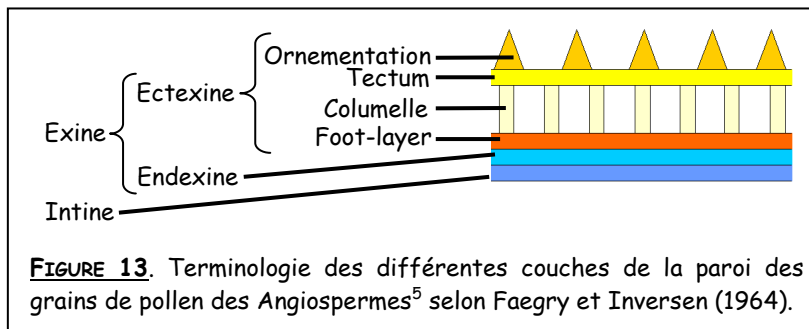
nombreuses études, en grande partie en raison de sa composition : sa couche externe (l'exine) est en effet constituée d'un des matériaux les plus résistants du monde vivant, la **sporopollénine**. La composition chimique de cette substance n'est pas encore totalement élucidée. Toutefois, les travaux déjà effectués dans ce domaine (Wiermann & Gubatz 1992) expliquent ses propriétés particulières. Elle est hydrophobe et surtout imputrescible, ce qui la rend résistante à toute forme d'hydrolyse enzymatique, comme aux acides concentrés (Meyer *et al.* 2004). Grâce à la sporopollénine, les spores et les grains de pollen sont très bien protégés lors de leur dissémination en milieu aérien et leur exine peut même rester intacte après leur mort, se conservant pendant des millions d'années. Les paléobotanistes peuvent ainsi reconstituer la composition floristique des écosystèmes passés en étudiant les spores et les grains de pollen fossilisés. **La forme et la taille des grains de pollen sont très variables.** Les grains peuvent être symétriques (à symétrie bilatérale ou radiale) ou non et dans ce dernier cas, Erdtman (1952) propose de classer les formes de pollen en fonction du rapport entre l'axe polaire et la largeur maximale au niveau de l'axe équatorial. Pour simplifier cette classification, on peut considérer trois grandes catégories de formes, (1) lorsque l'axe polaire est plus court que le plus grand axe équatorial (grain de pollen oblate), (2) lorsque qu'il est plus long (grain de pollen prolate) et (3) lorsqu'ils sont égaux (grain de pollen sphérique). Au sein de ces catégories, les grains de pollen peuvent encore être polygonaux, quadrangulaires ou encore triangulaires (Figure 12). Erdtman (1952) a également proposé un système de classification en fonction de la taille des grains de pollens allant de minuscule à gigantesque. La taille peut en effet varier de 2 à 5 microns chez *Myosotis* (Boraginaceae,

Euasteridées I), à plus de 300 microns chez *Cymbopetalum* (Annonaceae, Magnoliales) (Walker & Doyle 1975). La taille moyenne d'un grain de pollen est de 25 à 30 microns.



a. La paroi

Elle est constituée de deux couches non cellulaires. L'intine, interne, est continue et secrétée par le gamétophyte. Elle est perméable et souple et est présente sur tout le pourtour du grain de pollen en épaisseur plus ou moins importante. Elle est composée de cellulose (polymère β 1-4 de glucose) et de pectines. L'exine, externe, est constituée de sporopollénine, qui est secrétée en partie par le sporophyte. Contrairement à l'intine, elle est imperméable et peu flexible et se différencie en deux couches chimiquement différentes, l'endexine et l'ectexine (Faegry & Inversen 1994). L'endexine forme une couche continue alors que l'ectexine présente une structure plus complexe. Elle est formée de columelles dont les bases et les sommets sont soudés formant ainsi des cavités entre la couche



basale (foot-layer) et le TECTUM, ce dernier pouvant présenter des ornements (Figure 13) (Muller 1979). Chez certaines espèces, il existe à la surface du grain de pollen ce que l'on appelle un

manteau pollinique ou pollenkitt. Il consiste en un matériau collant composé de molécules variables et secrétées par le tapis des anthères. La terminologie des couches de l'exine d'Erdtman (1952), basée sur des critères morphologiques est aujourd'hui encore utilisée par certains auteurs. Elle sépare l'exine sculptée (sexine) de la couche non sculptée, plus interne (nexine). Les correspondances entre les deux types de terminologies sont données dans le tableau 1.

TABLEAU 1. Terminologies les plus utilisées pour décrire les différentes couches de la paroi des grains de pollen.

Terminologie d'Erdtman (1952)		Terminologie de Faegry et Inversen (1964)		
Tegilum	Sexine	EXINE	Ectexine	Tectum
Bacula				Columelles
Nexine 1	Nexine		Endexine	Foot-layer
Nexine 2				
Nexine 3				
INTINE				

Comme le souligne Walker (1974), il est très important de bien différencier et de ne pas confondre la structure et les sculptures de l'exine.

En fonction de la structure de l'exine, les grains de pollen sont souvent classés en **trois catégories différentes** (Figure 14) :

(1) l'exine tectée possédant un tectum bien différencié se divise en deux sous-groupes, l'exine tectée-perforée et l'exine tectée-imperforée.

(2) Lorsque les perforations deviennent trop importantes, on parle d'exine semitectée.

(3) Enfin, lorsque la columelle est entièrement exposée suite à la disparition du tectum, l'exine est intectée.

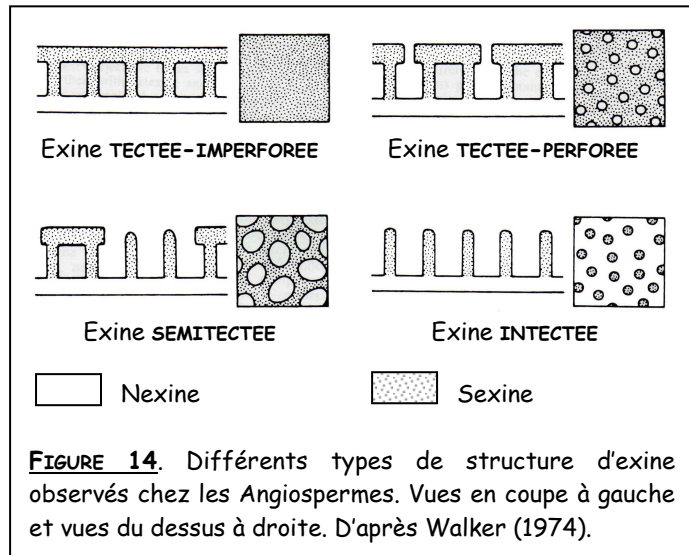
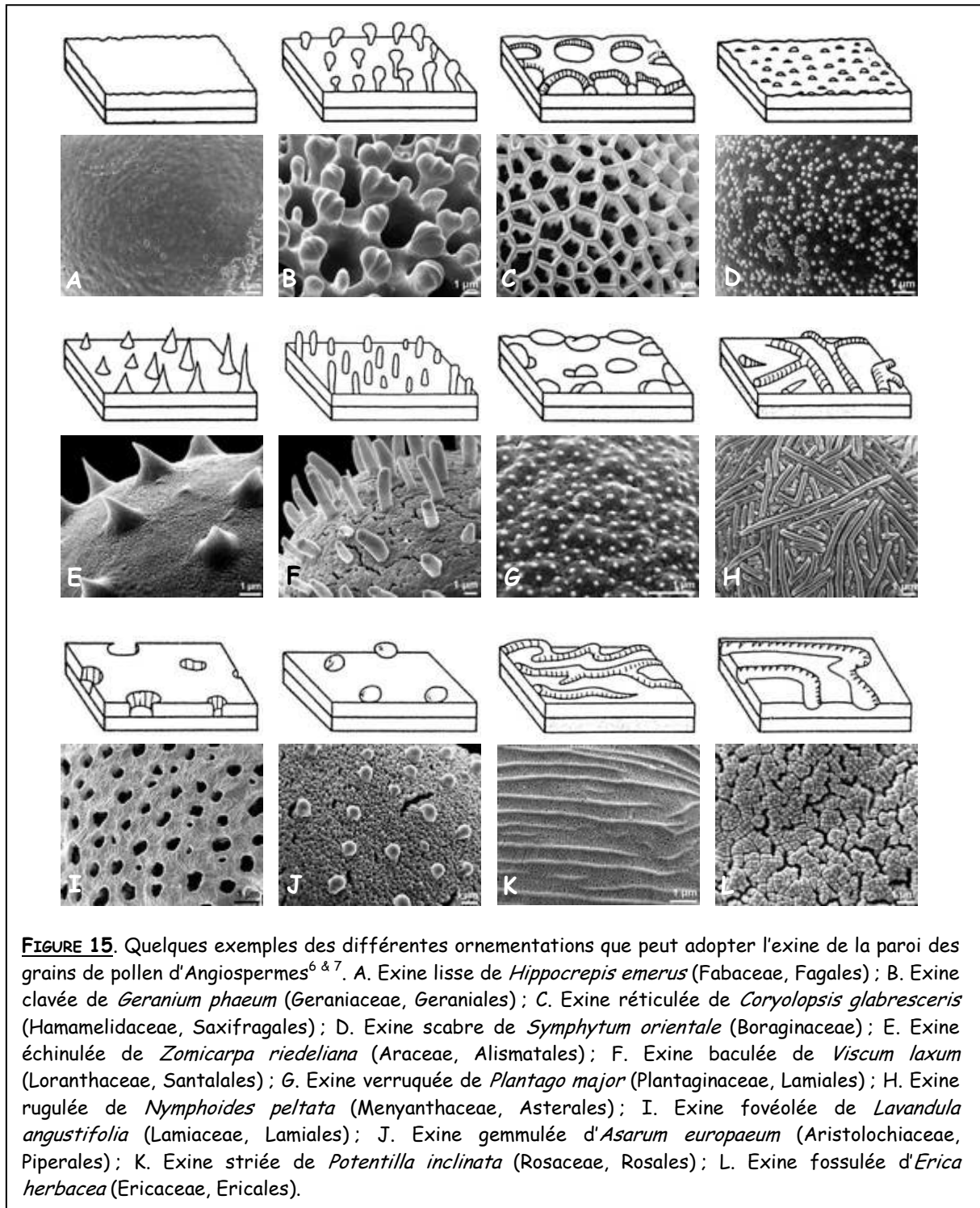


FIGURE 14. Différents types de structure d'exine observés chez les Angiospermes. Vues en coupe à gauche et vues du dessus à droite. D'après Walker (1974).

On ne peut parler véritablement de sculptures que dans le cas d'exine tectée mais, lorsque l'exine est semitectée, elle peut tout de même présenter un aspect sculpté (Walker 1974). Dans la littérature, lorsque l'exine est tectée, le préfixe "supra-" précède le type de sculpture alors que le préfixe "per-" est utilisé lorsque l'exine est semitectée ou intectée.

Les types de sculpture observés chez les Angiospermes sont les suivants : exine lisse, clavée, réticulée, scabre, échinulée, baculée, verruquée, rugulée, fovéolée, gemmulée, striée ou encore foveolée (Walker & Doyle 1975) (Figure 15). Les raisons d'une telle **variation morphologique** au sein des Angiospermes ont suscité de nombreuses interrogations. **Une relation entre l'ornementation de l'exine et le type de pollinisation** est souvent évoqué et a été démontré dans certaines situations (Ferguson & Skvarla 1982). Généralement, le pollen lisse est associé à l'anémophilie (pollinisation par le vent) ou à l'hydrophilie (pollinisation par l'eau) alors que le pollen échinulé ou réticulé est plutôt associé à l'entomophilie (pollinisation par les insectes) (Whitehead 1969, Walker 1974, Chaloner 1976, Muller 1979, Tanaka *et al.* 2004, Lumaga *et al.* 2006). Le vent ou l'eau ne nécessiteraient aucune



structure particulière pour disséminer efficacement le pollen alors que les sculptures présentées par les grains de pollen transportés par les insectes faciliteraient leur agrégation entre eux, ainsi que leur adhésion aux insectes eux-mêmes (Tanaka *et al.* 2004). D'autre part, concernant ce dernier aspect, Hesse (2000) montre que la composition du manteau pollinique joue un rôle primordial chez les espèces entomophiles. Ainsi, il pourrait y avoir une relation entre les sculptures de l'exine, sa structure et la

composition du manteau pollinique (Muller 1979, Dickinson *et al.* 2000). Grayum (1986) a démontré l'existence de corrélations chez des Araceae entre (1) l'exine lisse et verruquée et la pollinisation par les coléoptères et (2) l'exine échinulée et la pollinisation par les mouches. Par contre, dans cet article, aucun lien entre l'exine réticulée et fovéolée et un type de pollinisation particulier n'a pu être mis en évidence. Les travaux de Taylor et Levin (1975) chez les Polemionaceae ou de Page (1977) chez les Poaceae ne mettent pas non plus en évidence de telles corrélations. Par contre, il a été démontré que les molécules conservées dans le pollenkitt interviennent dans les processus d'interaction avec les organes femelles, lors de la fécondation (Dickinson *et al.* 2000). Or, l'ensemble de ces molécules variant en fonction des sculptures et de la structure de l'exine, certains auteurs ont émis l'hypothèse que l'ornementation de l'exine pouvait être mise en relation avec les systèmes d'auto-incompatibilité sporophytiques et gamétophytiques (Heslop-Harrison 1975, Zavada 1984). Cette hypothèse est cependant contestée par Gibbs et Ferguson (1987).

Les variations de la structure et des sculptures de l'exine peuvent donc être parfois mises en relation avec la pollinisation mais pas toujours. En fait, il est nécessaire de garder à l'esprit que ces **composantes de l'exine doivent assurer un compromis entre différentes fonctions** (Muller 1979, Crane 1986). La première, la plus importante et la plus évidente, consiste à **protéger le contenu du grain de pollen** des agressions extérieures telles que la dessiccation ou la lumière ultra-violette (Wodehouse 1935, Zavada 1984, Thanikaimoni 1986). La deuxième de ces fonctions, décrite pour la première fois par Wodehouse (1935), réside dans la capacité du grain de pollen à réguler son volume en fonction des conditions hygrométriques extérieures (**harmomégaie**). Le grain de pollen peut se gonfler et se rétracter en fonction des pressions osmotiques du milieu, sans pour autant que sa paroi se rompe (Zavada 1984, Blackmore & Barnes 1986, Fernández *et al.* 1992). Enfin, la dernière propriété de l'exine consiste à tenir lieu de **réservoir pour toutes les molécules du manteau pollinique**, indispensables à la production d'une surface adhésive et aux systèmes d'interaction avec les organes femelles au moment de la fécondation (Heslop-Harrison 1976, Zavada 1984, Dickinson *et al.* 2000).

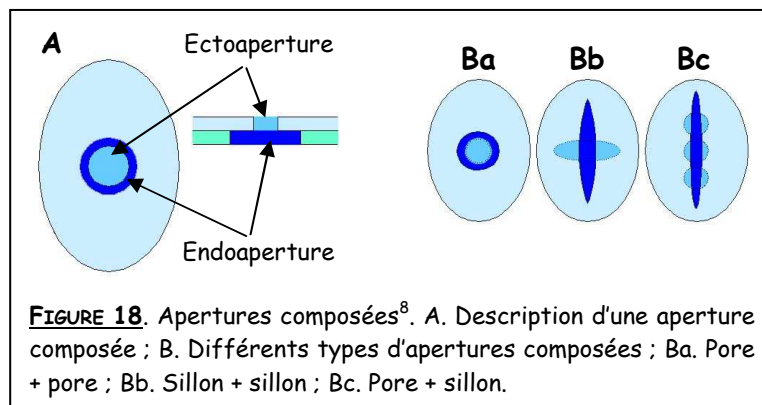
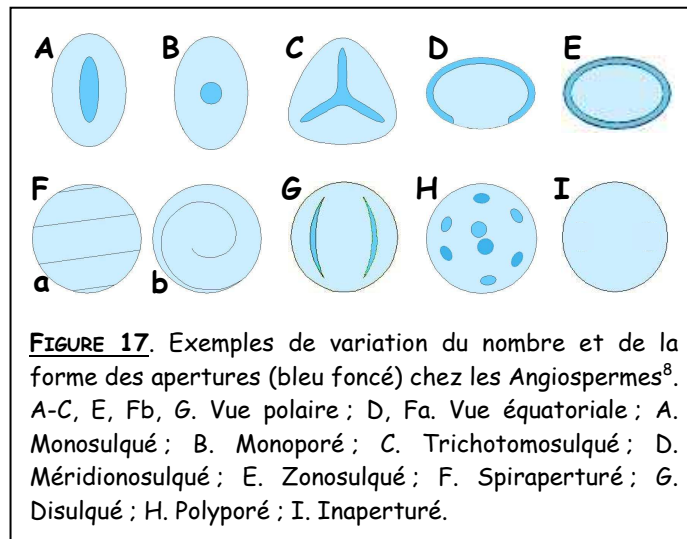
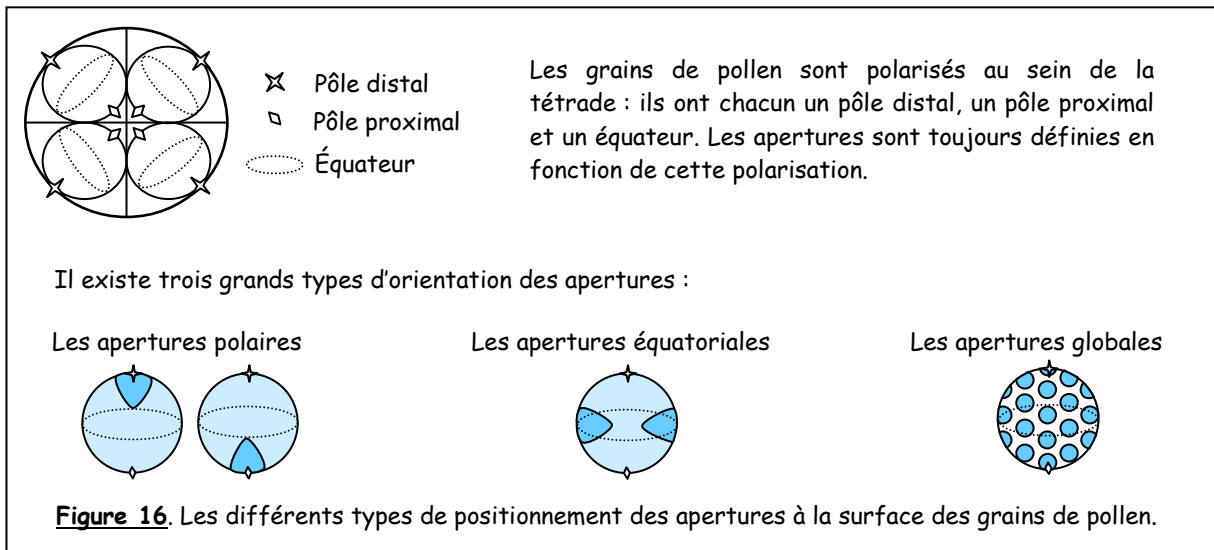
Les grains de pollen présentent des propriétés variables qui dépendent du nombre, de l'architecture et de l'origine des différentes couches de l'exine (Crane 1986), mais aussi des apertures.

b. Les apertures

Les apertures sont des zones de la paroi des grains de pollen présentant un fort amincissement voire une disparition de l'exine, associé à un épaissement de l'intine (Thanikaimoni 1986). Ces apertures jouent plusieurs rôles fondamentaux pour le grain de pollen. Elles constituent ainsi des **zones d'échange avec le milieu extérieur** et permettent par exemple le passage d'ions et de

substances particulières des cellules du tapis vers le cytoplasme, dans les premiers stades du développement (Fernández & Rodríguez-García 1989). Par ailleurs, ce sont les ouvertures qui confèrent les **propriétés d'harmomégaie** au grain de pollen. En effet, l'exine étant très réduite dans ces régions, la résistance de la paroi y est moindre. Les ouvertures représentent donc des points de souplesse et permettent des variations de volume du grain de pollen en évitant des ruptures de parois (Crane 1986, Thanikaimoni 1986, Fernández *et al.* 1992). Ces variations de volume via les ouvertures reflètent les échanges d'eau se produisant entre le milieu extérieur et la vacuole du grain de pollen. En effet, toujours en raison de l'amincissement de l'exine, ces régions se trouvent plus perméables à l'eau que le reste de la paroi et constituent donc des voies privilégiées de transit de l'eau (Crane 1986). Le dernier rôle des ouvertures, et non le moindre, a son importance au moment de la fécondation (Wodehouse 1935, Crane 1986, Thanikaimoni 1986, Fernández & Rodríguez-García 1995). Lorsque le pollen se retrouve sur le stigmate d'une fleur, il se réhydrate, gonfle, et l'intine bourgeonne à l'extérieur, au niveau des ouvertures, se retrouvant directement en contact avec le stigmate. C'est ce contact qui déclenche la germination du grain de pollen (Kuprianova 1967), par l'intermédiaire de substances particulières de reconnaissance, localisées au niveau de l'intine (Muller 1979). **Les ouvertures sont donc impliquées à la fois dans la survie et dans les processus de germination du pollen.** Cependant, Crane (1986) a montré que selon les espèces, et plus particulièrement le type de pollen, l'investissement des ouvertures dans chacune de ces fonctions, est très variable. Ainsi, les ouvertures ayant une forme de pore ne joueraient un rôle important qu'au niveau de la germination ; les fonctions d'harmomégaie et d'échange d'eau se feraient principalement par les régions non-aperturales. Selon le même auteur, les propriétés de résistance du grain de pollen aux forces de compression et de traction s'exerçant au cours des phases de déshydratation et de réhydratation varient grandement selon la forme du grain de pollen et le nombre d'ouvertures à sa surface.

Les propriétés du grain de pollen sont donc différentes selon le nombre, la forme et la répartition des ouvertures à la surface du grain de pollen. Or, chez les Angiospermes ces caractéristiques sont très variables (Figure 16). En effet, même si les types aperturaux les plus courants sont monosulqués (un sillon unique) chez les Monocotylédones et tricolpés chez les Eudicotylédones centrales (Rudall *et al.* 1997, Harley 2004), il existe de nombreuses autres alternatives. En ce qui concerne la forme des ouvertures, le pore et le sillon sont les formes les plus répandues mais l'on peut également trouver des sillons à trois ou quatre branches (tri- et tétrachotomosulqué) ou encore des ouvertures sillonnant toute la surface du grain de pollen (spiraperturé) (Figure 17). Les ouvertures peuvent être simples ou composées (Figure 18). Lorsqu'elles sont composées, on parle d'endo- et d'ectoouverture, les endoouvertures désignant les structures aperturales de l'endexine et les ectoouvertures, celles de l'ectexine (Van Campo 1961).



Le nombre d'ouvertures peut varier de zéro (grain de pollen inaperturé) à une multitude (grain de pollen polyporé) (Figure 17). L'absence d'ouverture ne semble pas, à priori, être très optimale pour la survie et la germination des grains de pollen. En réalité, il existe **trois catégories de pollen identifiées comme inaperturé** :

- 1) Les véritables grains de pollen **inaperturés** sont stériles car incapables de germer (Zavada & Anderson 1997).
- 2) Les grains de pollen cryptoaperturés présentent une ou plusieurs endoouvertures, par lesquelles la germination du tube pollinique est possible, mais qui restent invisibles au premier abord en raison de l'absence d'ectoouverture. La présence d'endoouvertures est attestée par des épaississements locaux de l'intine ; en revanche, l'exine présente une épaisseur uniforme sur toute la surface du grain de pollen (Furness & Rudall 1999b, 2000b).
- 3) Les grains de pollen omniaperturés ont toute leur surface qui représente une unique ouverture, l'intine étant très épaisse en tous points de la paroi alors que l'exine y est très mince, voire inexistante. Le tube pollinique peut ainsi germer en n'importe quel point de la surface (Thanikaimoni 1986, Furness & Rudall 1999b, 2000b, Harley & Zavada 2000).

Dans les deux derniers cas identifiés par Harley et Zavada (2000), aucune ouverture différenciée n'est visible à la surface du grain de pollen, mais les fonctions germinatives sont pourtant présentes. Il existe également des grains de pollen chez lesquels la couche d'exine forme des plaques séparées les unes des autres par des sortes de fissures qui laissent apparaître l'intine lorsque le pollen est gonflé. Dans ce cas, il n'y a pas vraiment de zone dite aperturale mais le tube pollinique peut germer par ces fissures (Zavada & Anderson 1997).

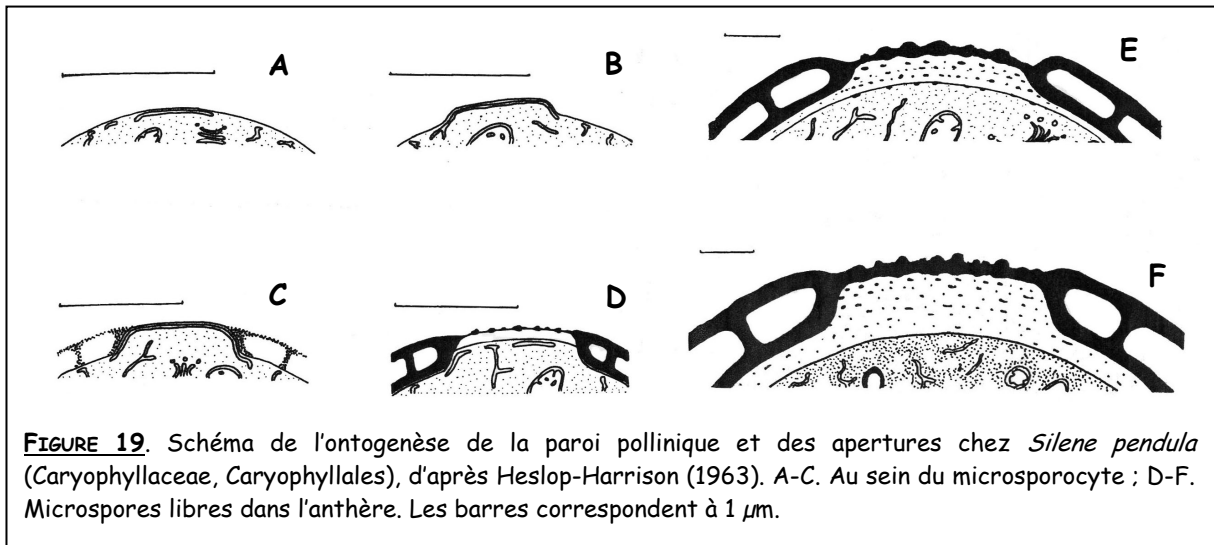
Les raisons d'une telle variation de forme et de nombre, au sein des Angiospermes, ne sont pas encore très claires. On peut tenter d'expliquer l'existence de certains types polliniques. Ainsi, les grains de pollen de type inaperturé sont fréquemment rencontrés chez des espèces aquatiques ou à pollinisation hydrophile (Furness & Rudall 1999b, 2000b). En effet, protégés par les propriétés de l'eau, les grains de pollen ne sont pas soumis aux mêmes contraintes qu'en milieu aérien. Ils ne peuvent pas être, par exemple, victimes de déshydratation et ne nécessitent donc pas une exine très épaisse. De plus, le potentiel de germination du tube pollinique est sans doute augmenté par la multiplication des points de sortie potentiels (Furness & Rudall 1999b, Hesse 2000). Très peu de travaux ont réellement cherché à tester les valeurs sélectives de différents grains de pollen, la grande difficulté étant de disposer de grains de pollen morphologiquement différents mais possédant une base génétique commune. Il existe pourtant des espèces dites hétéromorphes qui produisent, au sein d'une même anthère, plusieurs types polliniques différant généralement par leur nombre d'ouvertures. Or, l'exine ayant pour une bonne part une origine sporophytique (Heslop-Harrison 1971, Blackmore & Barnes 1990), les ouvertures des différents grains de pollen sont en partie déterminées par un

génotype commun, celui de la plante mère. Chez *Viola diversifolia* (Violaceae, Malpighiales), une espèce hétéromorphe produisant des grains de pollen à trois et à quatre ouvertures, des expériences ont mis en évidence des différences significatives dans le taux de survie et la vitesse de germination des grains de pollen en conditions *in vitro* (Dajoz *et al.* 1991, Dajoz *et al.* 1993). Les pollens tétra-ouverturés germent plus rapidement que les tri-ouverturés mais vivent moins longtemps. D'autres expériences réalisées sur *V. calcarata*, une espèce également hétéromorphe pour les mêmes types de pollen, ont montré des résultats similaires concernant les vitesses de germination : les grains de pollen à cinq ouvertures germent plus précocément que les grains de pollen à quatre ouvertures (Till-Bottraud *et al.* 1999). Chez cette espèce, une hypothèse intéressante a pu être suggérée suite à des analyses faites sur des populations vivant à des altitudes différentes. Les populations de basse altitude produisent une proportion plus importante de pollen à cinq ouvertures que de pollen tétra-ouverturé et ce rapport est inversé dans les populations de haute altitude. Or, il se trouve que l'activité des pollinisateurs décroît de manière conséquente avec l'altitude. L'hypothèse émise est la suivante : en présence de peu de pollinisateurs, il est plus intéressant pour la plante de produire des grains de pollen aux capacités de survie plus importante afin que ces derniers puissent "attendre" les pollinisateurs. Lorsque les pollinisateurs ne sont pas limitants, la production des grains de pollen à germination rapide et par conséquent les plus compétitifs est favorisée (Till-Bottraud *et al.* 1999). Cette relation séduisante n'a toutefois pas été trouvée à ce jour chez d'autres espèces ; il n'existe aucun autre article soulignant de telles relations entre le nombre d'ouvertures et des paramètres de valeur sélective. D'autre part, il n'existe à ma connaissance, aucune étude démontrant un rôle particulier de la **forme** de l'ouverture dans les propriétés germinatives ou de survie des grains de pollen.

c. L'ontogénèse de la paroi et des ouvertures

L'ontogénèse de la paroi des grains de pollen et de ses ouvertures se déroule en plusieurs étapes clés très bien décrites (Heslop-Harrison 1963, 1971, Blackmore & Barnes 1990) (Figure 19). Juste avant la fin de la microsporogénèse, lorsque la paroi individuelle des microspores n'est pas encore tout à fait terminée, des **plaques de réticulum endoplasmique** (RE) se retrouvent localisées à la périphérie du cytoplasme des microspores, à intervalles réguliers, délimitant les zones des futures ouvertures. Au niveau de ces dépôts de RE, le plasmalemme dépasse légèrement pour former des sortes de bosses aplaties. Par la suite, le **précurseur de l'exine appelé primexine** et composé principalement de cellulose se dépose sur tout le pourtour de la paroi des microspores, à l'exception des zones d'accumulation du RE. Les étapes suivantes concernent la mise en place progressive des différentes couches de l'exine. La primexine croît uniformément en épaisseur mais elle n'est pas de composition homogène ; des colonnes apparaissent à intervalles réguliers, ce sont des probacules. Ces probacules

produisent des expansions latérales qui, se rejoignant, forment la couche basale continue ou foot-layer. Au sommet des probacules se forme le tectum, plus ou moins continu. Ce n'est qu'une fois les microspores libérées de la tétrade que les étapes suivantes de la formation de la paroi du grain de pollen se mettent en place. La sporopollénine, sécrétée par les cellules du tapis, se dépose à la surface des microspores et l'ornementation externe commence à apparaître. Simultanément se forment l'endexine et l'intine. L'endexine résulte d'une participation combinée des cellules tapétales et des microspores. L'intine au contraire est entièrement synthétisée par la microspore. Elle se dépose de manière irrégulière en lamelles concentriques et est particulièrement épaisse au niveau des futures ouvertures.



Ce mode de formation des ouvertures au niveau des amas de RE est le plus répandu chez les Angiospermes mais il existe toutefois quelques variantes. Chez *Ipomopsis purpurea* par exemple, le RE est remplacé par la formation de boucliers callosiques au niveau des sites de formation des futures ouvertures (Barnes & Blackmore 1986). Chez *Epilobium angustifolium*, ce sont des corps interstitiels (disques mucilagineux formés de polysaccharides et de protéines) qui déterminent la localisation des futures ouvertures (Rowley 1975). Enfin, chez *Liriodendron tulipifera* les ouvertures ne sont mises en place qu'au moment de la libération de la tétrade, par des cassures de l'exine (Guzzo *et al.* 1994).

A l'issue de ces processus physiologiques, les ouvertures sont en place. **Leur nombre, leur forme et leur arrangement à la surface des grains de pollen sont déterminés chez chaque espèce et définissent le type apertural.** Ces sites aperturaux sont identifiables au cours du développement par la mise en place des boucliers de RE mais la détermination du type apertural se fait selon d'autres facteurs de la microsporogénèse. Wodehouse (1935) montre que chez les dicotylédones, les ouvertures sont localisées au niveau des derniers **points de contact** entre les microspores au sein des tétrades. Par la suite, Ressayre *et al.* (1998, 2002a) ont réalisé un modèle reliant le type apertural et certaines composantes de la microsporogénèse (Figure 20). Ce modèle, établi à partir de données de la

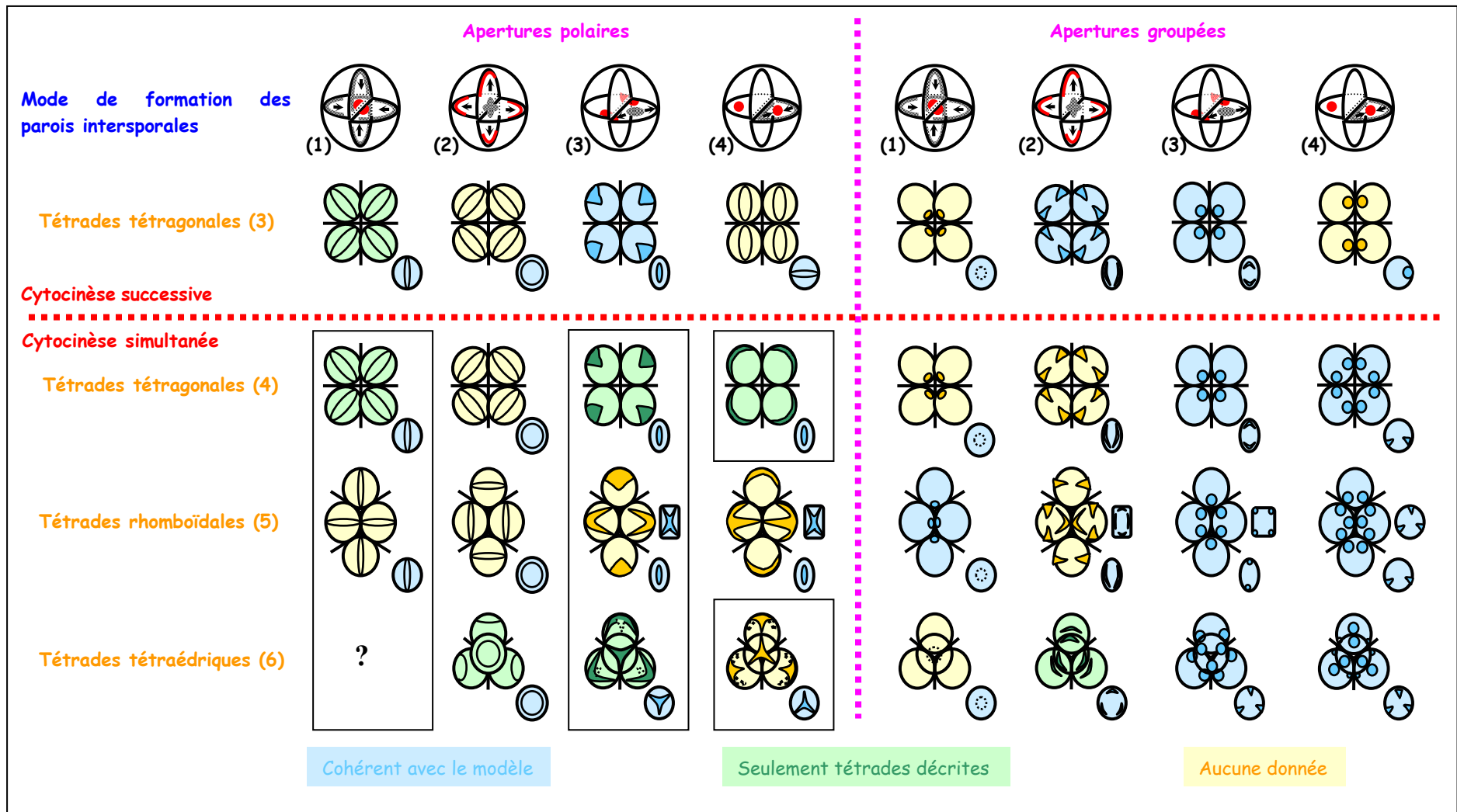


FIGURE 20. Modèle établissant une relation entre composantes de la microsporogénèse et type apertural, d'après Ressayre et al. (2002a).

La détermination du type apertural dépend de la **polarisation des apertures**, du **type de cytocinèse**, de la **forme des tétrades** et plus particulièrement du nombre de plans de cytocinèse (indiqué entre parenthèses) et du **mode de formation des parois intersporales**. Les différentes voies de formation de ces parois sont détaillées dans la figure 7. Les cas nouvellement validés chez les Asparagales (Penet, 2005) et les Commelinales (Ressayre, 2001 ; Nadot, 2006) sont encadrés.

littérature et d'observations personnelles, se propose de prédire certaines étapes de la méiose en fonction d'un type apertural observé. Il est fondé sur l'hypothèse selon laquelle le type apertural, lorsque les ouvertures sont en faible nombre (de 1 à 3), dépend entièrement de la localisation des **derniers points de dépôt de la callose** lors de la formation des parois intersporales. Ces points, désignés par le terme de **zones de convergence aperturale (ZCA)**, sont **directement liés au type de cytokinèse (successif ou simultané), au mode de formation des parois (centrifuge ou centripète par rapport à la tétrade ou aux plans de cytokinèse) et à la forme des tétrades**. En fonction des combinaisons entre ces trois composantes, les ZCA vont différer et générer par conséquent un type apertural différent (Figure 21). La **polarisation des ouvertures** intervient également dans la détermination du type apertural. En effet, l'arrangement des ouvertures à la surface du grain de pollen est forcément dépendant de leur position polaire ou groupée (Figure 22). Le paramètre directement responsable de la polarisation des ouvertures reste encore inconnu à ce jour.

A l'origine, seules quelques-unes des situations prédites par le modèle étaient effectivement décrites dans leur ensemble. Dans la plupart des cas, seules les tétrades ou éventuellement le type de cytokinèse étaient décrits. Mais ces dernières années, quelques autres cas ont été validés grâce à des observations menées en particulier chez les Asparagales (Penet *et al.* 2005), mais aussi chez des Commelinales (Nadot *et al.* 2006) (Figure 20). D'autre part, il s'est avéré que lorsqu'ils existaient, les **dépôts additionnels de callose** décrits précédemment p.27 étaient également susceptibles d'intervenir dans la définition du type apertural. En effet, chez *Pontederia cordata* (Pontederiaceae, Commelinales), de la callose additionnelle se dépose progressivement sur les parois intersporales une fois celles-ci formées, et modifient ainsi la localisation des derniers points de dépôt de la callose, influençant par conséquent le type apertural (Ressayre 2001).

Pour les espèces produisant des grains de pollen à plus de trois ouvertures, la situation est plus compliquée. Ressayre *et al.* (1998) expliquent la présence d'une quatrième ouverture chez certaines Eudicotylédones par une duplication des ZCA, duplication résultant d'une variation dans la distribution des réseaux de microtubules lors de la cytokinèse. Il semblerait que les pollens ayant jusqu'à six ouvertures soient obtenus par un processus comparable (Ressayre *et al.* 2002a). Il devient par contre plus difficile d'expliquer un nombre d'ouvertures supérieur. Pozhidaev (2000) a montré qu'il existait un continuum entre les différents types de pollen colpores et que les ouvertures ne sont jamais distribuées au hasard sur la surface du grain de pollen. Ainsi, il existe des cas où les ouvertures, toujours centrées sur l'équateur, peuvent être présentes en très grand nombre (jusqu'à trente) mais sont toujours groupées par paires dans la tétrade (Thanikaimoni 1966, Huynh 1968). Dans d'autres cas, l'augmentation du nombre d'ouvertures entraîne l'apparition d'ouvertures non méridiennes (non

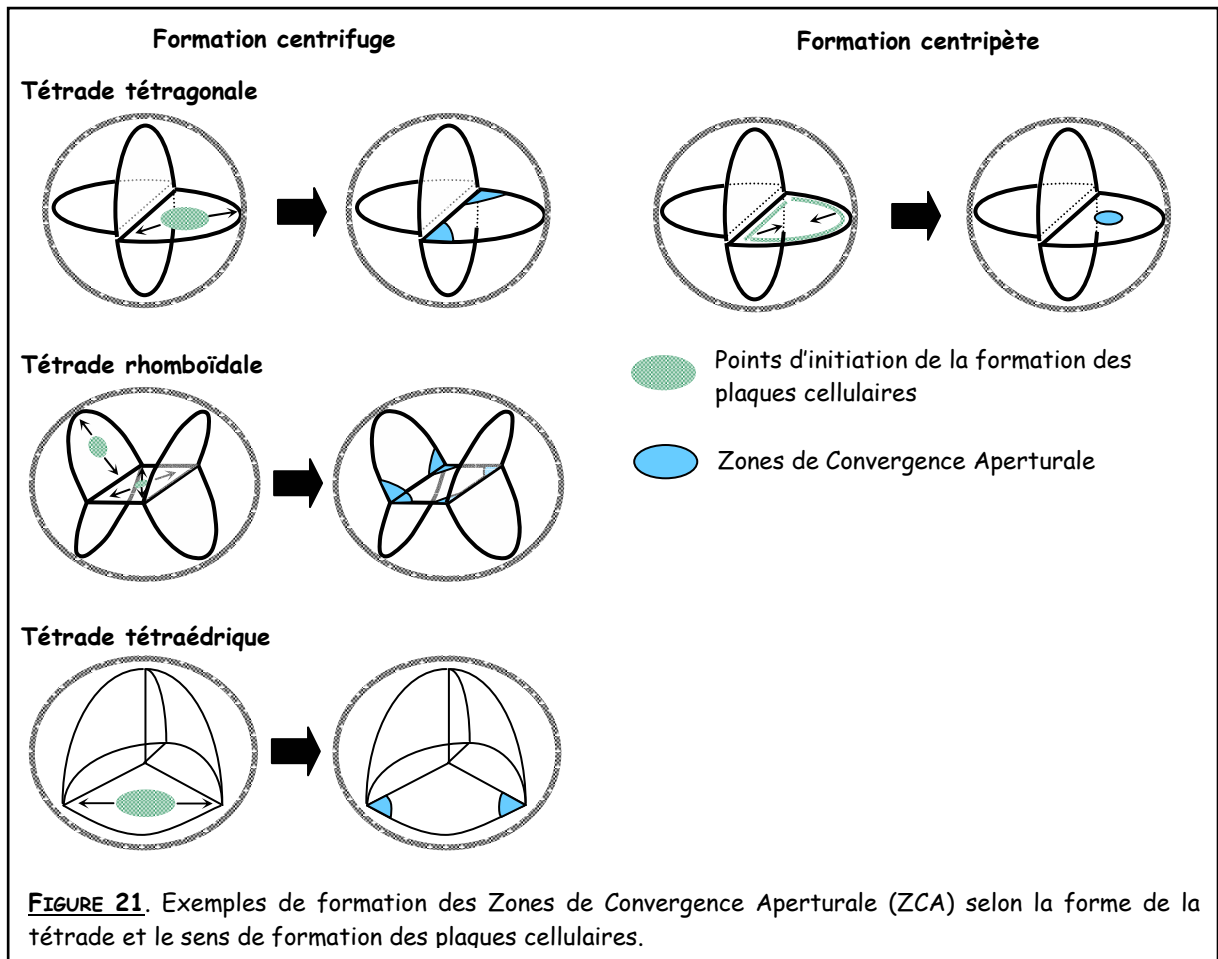
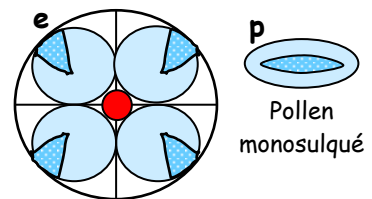


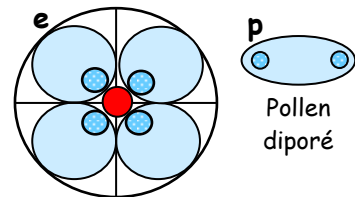
FIGURE 22. Arrangement des apertures dans la tétrade.

Il existe deux grands groupes d'arrangement des apertures à la surface des grains de pollen, toujours en relation avec les ZCA (Zones de Convergence Aperturale), ici en rouge :

(1) les apertures POLAIRES : les apertures (en bleu) se trouvent au pôle distal du grain de pollen et les extrémités de l'aperture sont orientées vers les derniers points de dépôt de la callose.

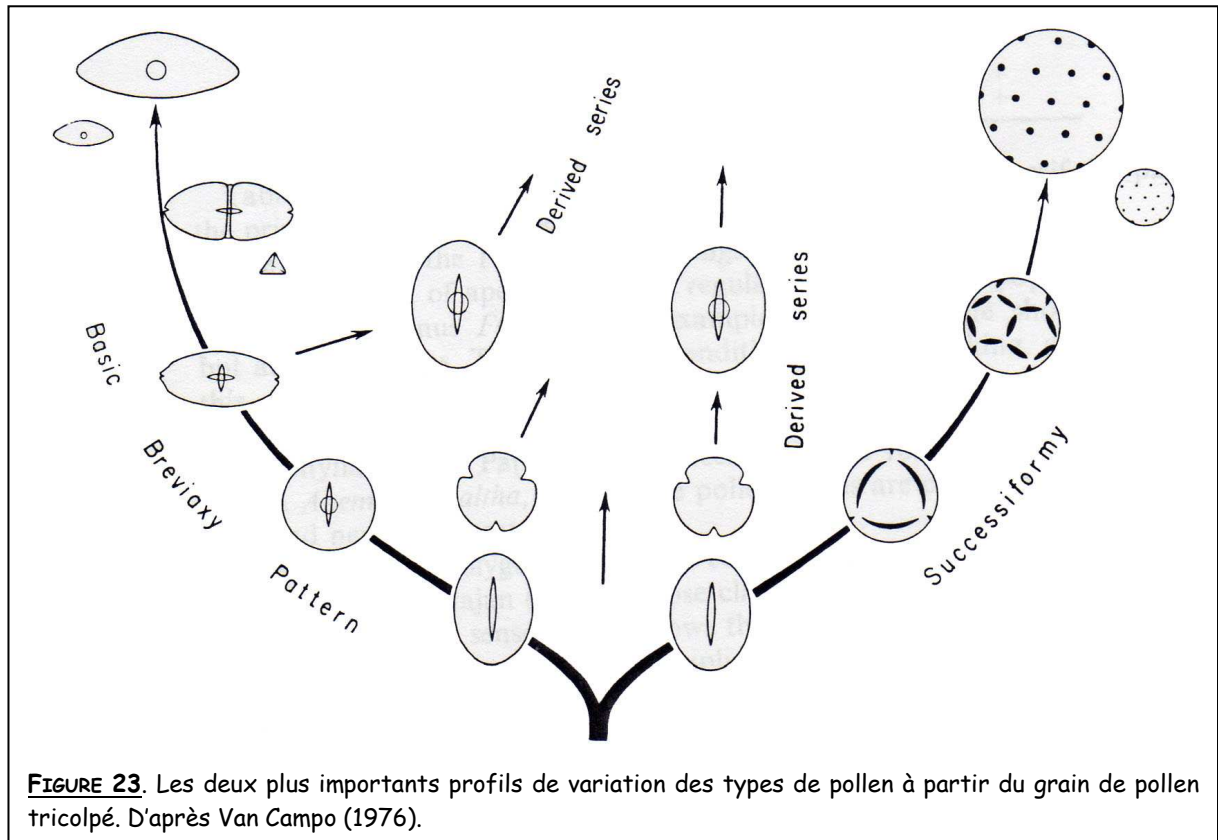


(2) les apertures GROUPEES : les apertures sont directement localisées au niveau des derniers points de dépôt de la callose. Les apertures des différentes microspores se retrouvent donc groupées au niveau de ces points.



Grains de pollen en vue polaire (p) et en vue équatoriale (e).

centrées sur l'équateur). Elles sont alors disposées en polygones réguliers à trois, quatre ou six arêtes. Ce genre de pollen est très fréquemment rencontré et Van Campo (1976) présente ainsi une succession de morphes où l'augmentation du nombre d'apertures se fait par sauts de multiples de trois ou quatre (Figure 23). Manifestement, quel que soit le nombre d'apertures à la surface d'un grain de pollen, leur distribution ne semble pas aléatoire. Toutefois, il n'existe à l'heure actuelle aucune étude expliquant précisément les paramètres de détermination de ces types aperturaux.



d. Evolution des caractères polliniques au sein de Angiospermes

Nous avons vu qu'il existe chez les Angiospermes de nombreux caractères polliniques sujets à variation. Seuls un certain nombre de ces caractères ont pu être traités ici et sont résumés dans l'encadré p.44, inspiré du travail de Walker et Doyle (1975). De nombreux travaux ont tenté de comprendre comment les différents caractères polliniques, en particulier le nombre d'apertures, ont pu évoluer au sein des Angiospermes. Ainsi, le pollen des Alismataceae (Alismatales), majoritairement pantoporé, aurait évolué à partir d'un pollen monosulqué, peut-être via un pollen inaperturé (Argue 1976). Wilson (1964) interprète la présence de pollens trichotomosulqués chez les Canellaceae (Canellales) comme une étape dans l'évolution du pollen monosulqué vers le pollen tricolpé. Kuprianova (1967) décrit trois niveaux évolutifs dans la position des apertures : 1) les apertures proximales observées chez les Monocotylédones et les dicotylédones (Monocotylédones + Angiospermes basales)

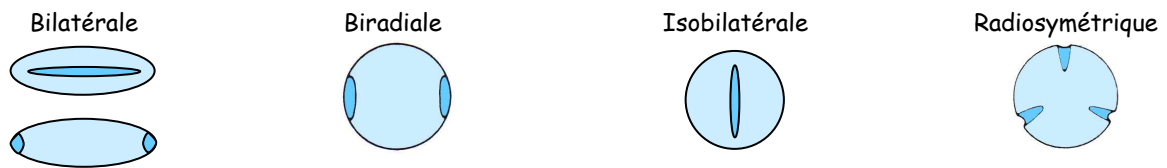
QUELQUES CARACTERES POLLINIQUES SUJETS A VARIATION CHEZ LES ANGIOSPERMES

Grain de pollen

Taille : minuscule, petit, moyen, grand, très grand et gigantesque.

Forme : sphérique, elliptique, triangulaire, quadrangulaire et pentagonale (Figure 12).

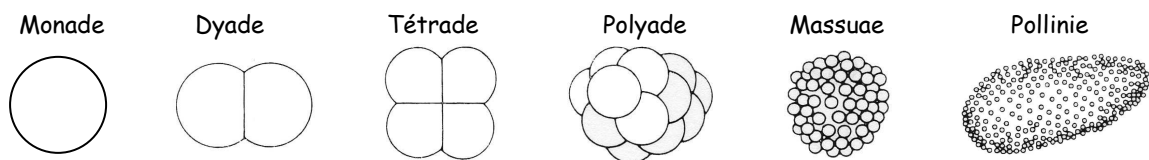
Symétrie : asymétrique, bilatérale, biradiale, isobilatérale et radiosymétrique.



Polarité : hétéropolaire, isopolaire, subisopolaire et apolaire



Unité de dispersion : grain de pollen solitaire (monade), en dyade, en tétrade, en polyade, en massuae ou en pollinie.



Aperture

Nombre : 0, 1, 2, 3, N (Figure 17).

Forme : sillon, pore et anneau (Figure 17).

Position : polaire, équatoriale et globale (Figure 16).

Structure : simple ou composée (Figure 18).

Exine

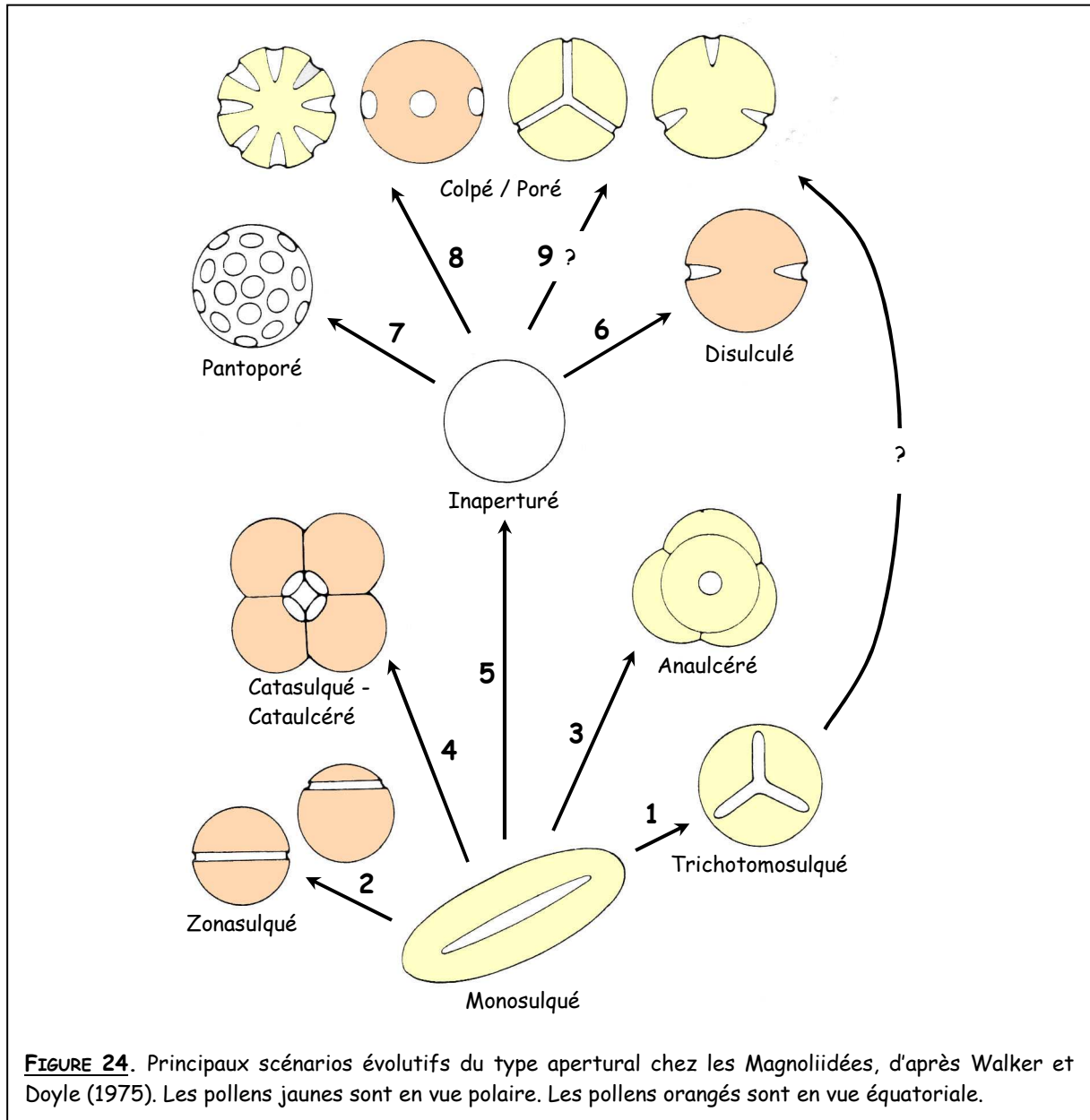
Ornementation : lisse, clavulée, réticulée, scabrée, échinulée, baculée, verruquée, rugulée, fovéolée, gemmulée, striée et fassulée (Figure 15).

Stratification de la paroi : particularités diverses des couches de l'exine.

mais aussi chez les spores des bryophytes, des ptéridophytes et chez les grains de pollen de quelques Gymnospermes, 2) les apertures distales observées chez les Monocotylédones et quelquefois chez les dicotylédones primitives, mais aussi chez les Gymnospermes et 3) les apertures équatoriales uniquement observées chez les Eudicotylédones. Le stade 1 serait typique du Paléozoïque (-540 à -250 millions d'années), le stade 2 du Mésozoïque (-251 à -65.5 millions d'années) et le stade 3, du Cénozoïque (-65.5 millions d'années à nos jours). Par la suite, Taylor et Levin (1975) ont suggéré que chez les Polemoniaceae (Ericales, Eudicots), le pollen zonosulqué aurait évolué vers une forme pantoporée. Van Campo (1976) utilise différents modèles (modèle 'successiforme', modèle de spiralisation et modèle « bréviaxe ») afin d'expliquer certaines transitions entre les types d'apertures (Figure 23). Elle explique ainsi le passage des pollens monosulqués aux pollens à multiples apertures ou encore à des pollens tricolpés. En 1985, Furness propose que les grains de pollen spiraperturés dériveraient de pollens trisulqués. Tous ces travaux concernent principalement le type apertural et seuls Walker et Doyle (1975) ont proposé des voies d'évolution, à l'échelle des Angiospermes, pour d'autres types de caractères polliniques. Ils ont également étudié l'évolution du type apertural, mais seulement à l'échelle des Magnoliidées (Figure 24). On retrouve certaines tendances déjà évoquées précédemment comme le passage du pollen monosulqué au pollen tricolpé par l'intermédiaire du pollen trichotomosulqué. Le pollen inaperturé ressort également comme un intermédiaire important entre le pollen monosulqué et les formes polliniques à multiples apertures. Le grain de pollen monosulqué est ici considéré comme la forme ancestrale aux Magnoliidées. Il est par contre difficile de savoir si ces tendances évolutives se retrouvent à l'échelle des Angiospermes. Finalement, la seule tendance communément admise concernant l'évolution du type apertural est une **augmentation du nombre d'apertures au cours de l'évolution des Angiospermes** (Chaloner 1976).

Walker et Doyle (1975) ont également effectué un énorme travail sur l'évolution chez les Angiospermes de la forme, de la symétrie et de la polarité du grain de pollen ainsi que sur l'évolution de l'exine et de son unité de dispersion. Nous ne retiendrons de ce travail que les états de caractères supposés ancestraux : selon les auteurs, le grain de pollen ancestral aux Angiospermes était allongé, en forme de bateau, hétéropolaire et à symétrie bilatérale. Son exine était sans doute de type tectée-imperforée et sa dispersion s'effectuait isolément des autres grains de pollen. Ces travaux ont permis de mieux comprendre l'évolution des caractères polliniques au sein des Angiospermes. Cependant, datant de 1975, ils sont fondés sur les classifications des Angiospermes de Takhtajan (1966) et Cronquist (1968). Ces classifications, quoique d'une importance capitale au moment de leur publication, ont depuis, été grandement remaniées. En particulier, les Magnoliidées étaient considérées comme les Angiospermes les plus basales or, selon l'APG (Stevens, 2001), ce sont les Amborellales, les Nymphaeales et les Austrobaileyales qui occupent cette place. Il serait intéressant de revoir les

tendances évolutives des caractères polliniques proposées par Walker et Doyle (1975) à la lumière de la phylogénie des Angiospermes telle qu'elle est connue aujourd'hui.



2. Fonction du grain de pollen

a. De l'anthère au stigmate

Le grain de pollen une fois mature passe par les différentes phases du processus de pollinisation : (1) déshydratation, (2) libération, (3) transport, (4) atterrissage et adhésion et (5) réhydratation (Crane 1986) (Figure 25). Avant d'être déshydraté, le grain de pollen subit une ou deux mitoses. La seconde, qui concerne la cellule génératrice et donne les deux spermatozoïdes ou gamètes mâles, se produit chez tous les Angiospermes mais peut intervenir à différents moments de la reproduction. Lorsqu'elle se produit juste avant la déshydratation, les pollens libérés par l'anthère

sont trinuéclés. Lorsqu'elle a lieu juste après la germination du grain de pollen, les pollens disséminés sont binuéclés. Les mitoses que subit le grain de pollen dans l'anthere lui permettent d'atteindre jusqu'à cinq fois sa taille initiale. Ce n'est que par la suite qu'il entre en phase de déshydratation et peut perdre, en conditions normales de température et d'humidité, 20 à 35% de sa masse (Heslop-Harrison 1979). Cette perte d'eau se fait en général par les ouvertures, ce qui peut expliquer que les pollens transportés par le vent dans des milieux secs présentent un rapport faible de surface aperturale sur surface non aperturale (Crane 1986). Le pollen entre alors en vie ralentie. La libération des grains de pollen par les anthères peut se produire de différentes façons selon le mode de pollinisation. Les insectes, le vent et l'eau sont les principaux agents de dissémination des grains de pollen mais il existe des espèces pollinisées par des oiseaux ou même des petits mammifères comme des chauves-souris. Selon le type de pollinisateur, les grains de pollen pourraient présenter différentes structures de l'exine et des types aperturaux adaptés. Le grain de pollen est ensuite déposé sur le stigmate d'une fleur et les substances contenues dans l'exine du grain de pollen peuvent

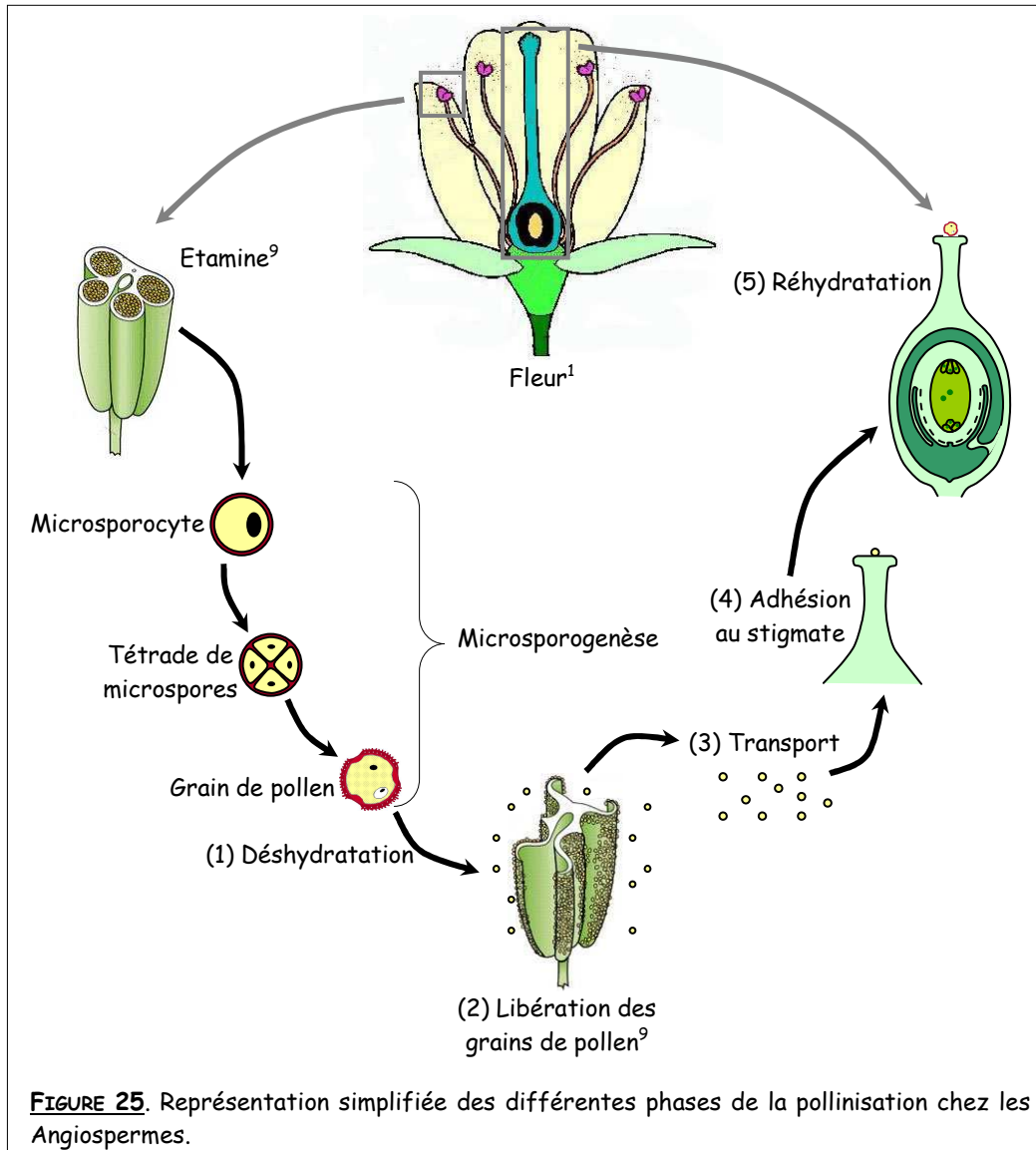


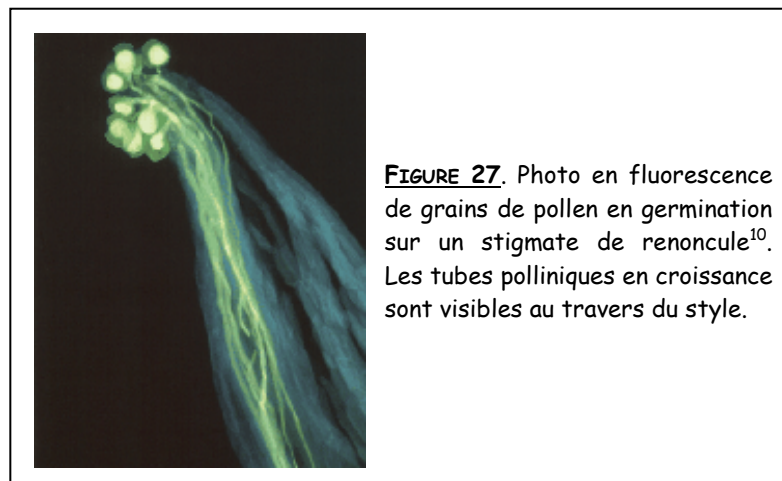
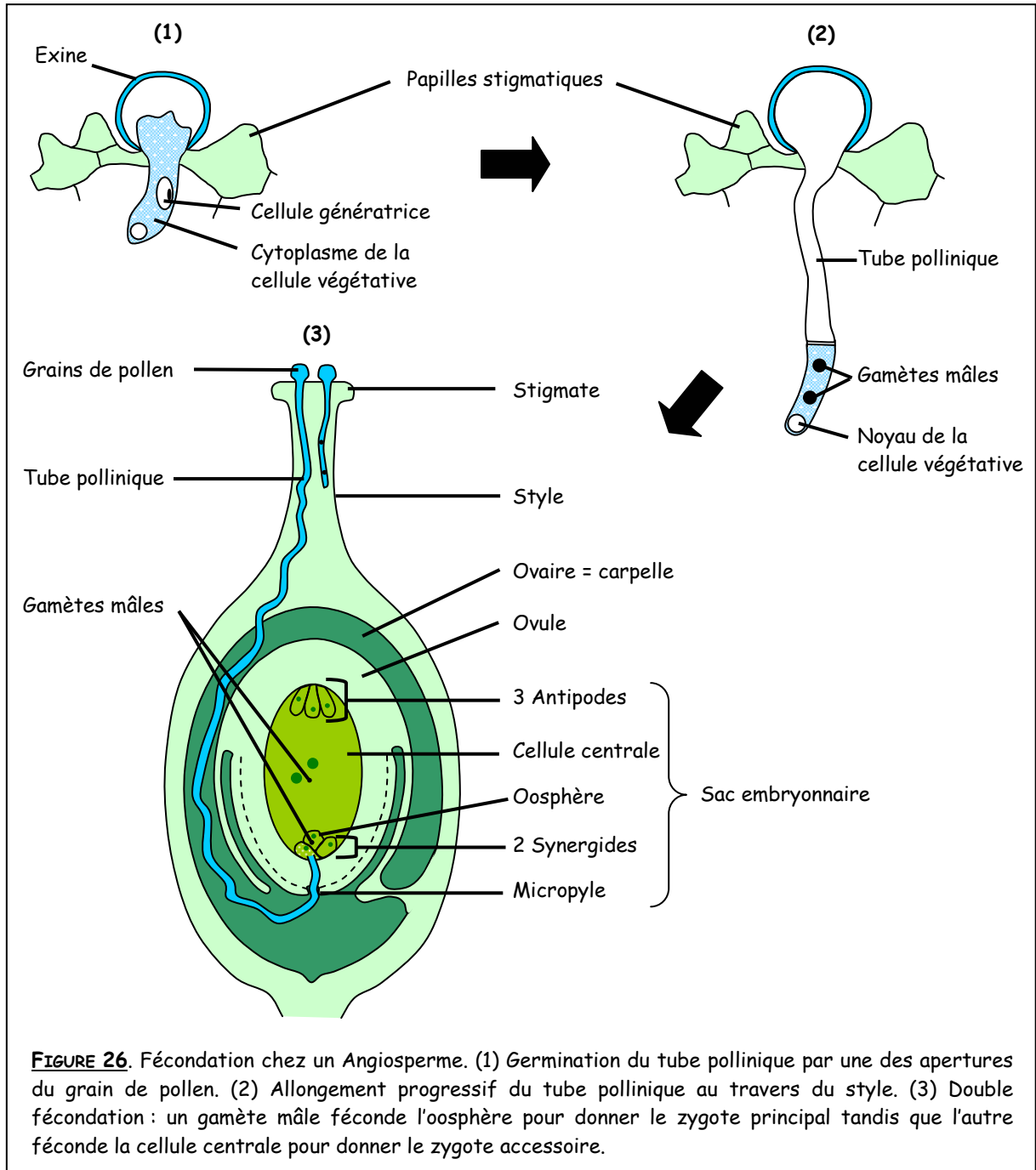
FIGURE 25. Représentation simplifiée des différentes phases de la pollinisation chez les Angiospermes.

alors jouer leur rôle : elles interviennent dans les processus de reconnaissance et permettent l'adhésion du pollen au stigmate, empêchant qu'il puisse être à nouveau disséminé (Crane 1986). Il est alors nécessaire que le pollen sorte de sa vie ralentie. C'est pourquoi suit une phase de réhydratation par échange d'eau avec le stigmate, à l'issue de laquelle le grain de pollen retrouve sa taille initiale. En gonflant, l'intine se situant au niveau des ouvertures entre en contact avec la surface du stigmate et déclenche le processus de germination.

b. La fécondation

Une fois la germination enclenchée, un tube pollinique va s'extraire du grain de pollen via une de ses ouvertures. Ce tube pollinique correspond au cytoplasme de la cellule végétative qui va lentement s'allonger dans le gynécée (ensemble des organes femelle, Figure 2). Il constitue un siphon qui achemine les gamètes mâles, issus de la division de la cellule génératrice, vers le sac embryonnaire (Figure 26). Au cours de sa croissance, le tube pollinique prélève des métabolites issus de l'exsudat stylaire pour édifier sa paroi et ses membranes (Meyer *et al.* 2004). La croissance du tube est apicale et fait avancer vers l'ovule la cellule végétative ainsi que la cellule génératrice. Au fur et à mesure de sa progression, le tube pollinique forme des plaques de callose qui le compartimentent, permettent de maintenir constant le volume de la cellule végétative et fournissent un support rigide sur lequel s'appuie le cytoplasme apical (Meyer *et al.* 2004). Le tube pollinique pénètre dans l'ovule par le micropyle et déverse ses deux gamètes mâles dans une des synergides. L'un des spermatozoïdes fusionne avec l'oosphère, à l'origine du zygote principal, diploïde. L'autre gamète mâle fusionne avec les deux noyaux de la cellule centrale à l'origine d'un zygote accessoire, triploïde. Les gamètes n'étant jamais au contact du milieu extérieur, on parle de fécondation par **siphonogamie**. Chez les Angiospermes la fécondation implique deux gamètes mâles ; on parle de double fécondation. Le rôle du grain de pollen se termine une fois la fécondation réussie. Toutefois, il ne suffit pas au grain de pollen de se trouver sur un stigmate pour féconder un gamète femelle. En effet, les grains de pollen se retrouvent toujours en très grande quantité sur une même fleur (Figure 27) et un ovule ne peut être fécondé que par un unique grain de pollen : la compétition entre gamétophytes mâles peut donc souvent intervenir à ce niveau.

En résumé, les grains de pollen d'Angiospermes, bien que présentant une certaine uniformité dans leur organisation générale, présentent une diversité morphologique importante, résultat d'une longue évolution. Cette diversité concerne principalement le nombre, la forme et la répartition des ouvertures à la surface du grain de pollen mais aussi la structure de l'exine et les sculptures que celle-ci peut présenter. Malgré ces variations, le rôle du grain de pollen reste



toujours le même : assurer le transport des gamètes mâles, indispensables à la reproduction sexuée.

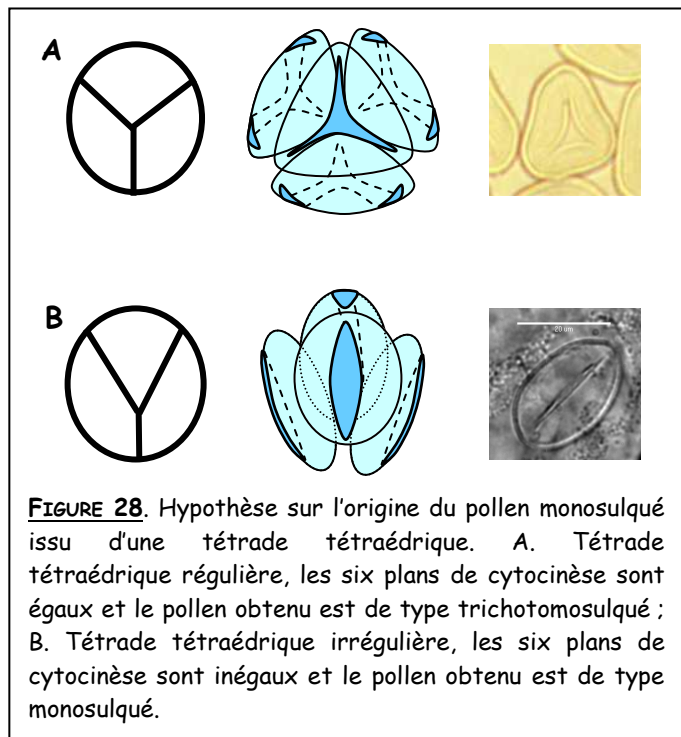
D. Relation entre grain de pollen et microsporogénèse

Nous avons vu précédemment que la détermination du type apertural intervenait durant la microsporogénèse et serait liée au type de cytokinèse, à la forme des tétrades, au sens de formation des parois et à la polarisation des ouvertures à la surface du grain de pollen (Ressayre *et al.* 2002a). Les données permettant de justifier l'existence d'une telle relation sont dispersées dans la littérature et il existe peu de documents traitant à la fois du déroulement complet de la microsporogénèse et du type apertural.

Certains auteurs tels que Rudall *et al.* (1997) et Penet *et al.* (2005) chez les Asparagales, Caddick *et al.* (1998) chez les Dioscoreales, Furness et Rudall (1999b, 2002) chez les Angiospermes ou Sowunmi (1968), Harley (1999a) et Harley et Baker (2001) chez les Arecaceae, ont observé à la fois le type de cytokinèse et le type apertural. Parfois la forme de la tétrade est également indiquée. Certains de ces auteurs ont tenté d'en tirer des conclusions quant à l'existence d'une relation entre le type de cytokinèse et le type apertural.

Dès 1968, Sowunmi, remarque que les pollens trichotomosulqués des Arecaceae sont étroitement liés aux tétrades tétraédriques, elles-mêmes obtenues uniquement lorsque la cytokinèse est simultanée. Cette relation s'est confirmée par la suite grâce en particulier au travail d'Harley (1993) et de Rudall *et al.* (1997). Non seulement ces auteurs ont montré une **relation entre pollen trichotomosulqué et cytokinèse**

simultanée mais ils ont également émis l'hypothèse selon laquelle le pollen formé serait différent selon le type de tétrade tétraédrique. **Le pollen trichotomosulqué serait issu de tétrades tétraédriques régulières** tandis que le pollen monosulqué proviendrait de **tétrades tétraédriques irrégulières** (Figure 28). Les deux types de tétrades diffèrent par la taille relative de leurs six plans. Ils confirment également que les tétrades tétraédriques ne peuvent être obtenues que lorsque la cytokinèse est simultanée. En 1999a, Harley distingue les pollens



monosulqués symétriques des asymétriques et considère que les premiers sont liés aux tétrades tétragonales ou tétraédriques alors que les seconds sont produit par des tétraédriques exclusivement. Dans le même ordre d'idée, Harley et Baker (2001) associent les dix-sept types aperturaux qu'ils décrivent chez les *Arecaceae* avec l'un ou l'autre type de cytotinèse. On retrouve la relation décrite précédemment entre pollen trichotomosulé et cytotinèse simultanée. Tous ces travaux ont servi de base à l'élaboration du modèle de Ressayre *et al.* (2002a). Par la suite, l'accent ayant été mis sur l'étroite corrélation entre type apertural et microsporogénèse, Penet *et al.* (2005) ont observé les différentes composantes de la microsporogénèse chez les *Asparagales*. Ils ont confirmé l'existence de tétrades tétraédriques irrégulières produisant du pollen monosulé. La co-occurrence de ces deux types de tétrades au sein d'un même individu pourrait expliquer l'hétéromorphisme pollinique observé chez certaines espèces.

Le déroulement complet de la microsporogénèse et le type apertural ont jusqu'à ce jour été étudiés conjointement chez quelques groupes d'Angiospermes seulement. Le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) reste donc encore à valider pour de nombreuses situations. Toutefois, quelques travaux ont proposé une hypothèse pour expliquer certaines formes d'hétéromorphisme pollinique, en particulier par la mise en évidence des tétrades tétraédriques irrégulières (Harley 1993 ; Rudall 1997 ; Penet 2005).

J'ai choisi d'étudier conjointement le type apertural et le déroulement complet de la microsporogénèse chez un groupe de Monocotylédones, les *Arecaceae*, afin de mieux comprendre l'évolution de ces deux caractères et leur étroite relation. Je présenterai dans un premier temps le groupe des palmiers (*Arecaceae*) puis les résultats que j'ai obtenus.

CHAPITRE DEUXIÈME

LA FAMILLE DES ARECACEAE

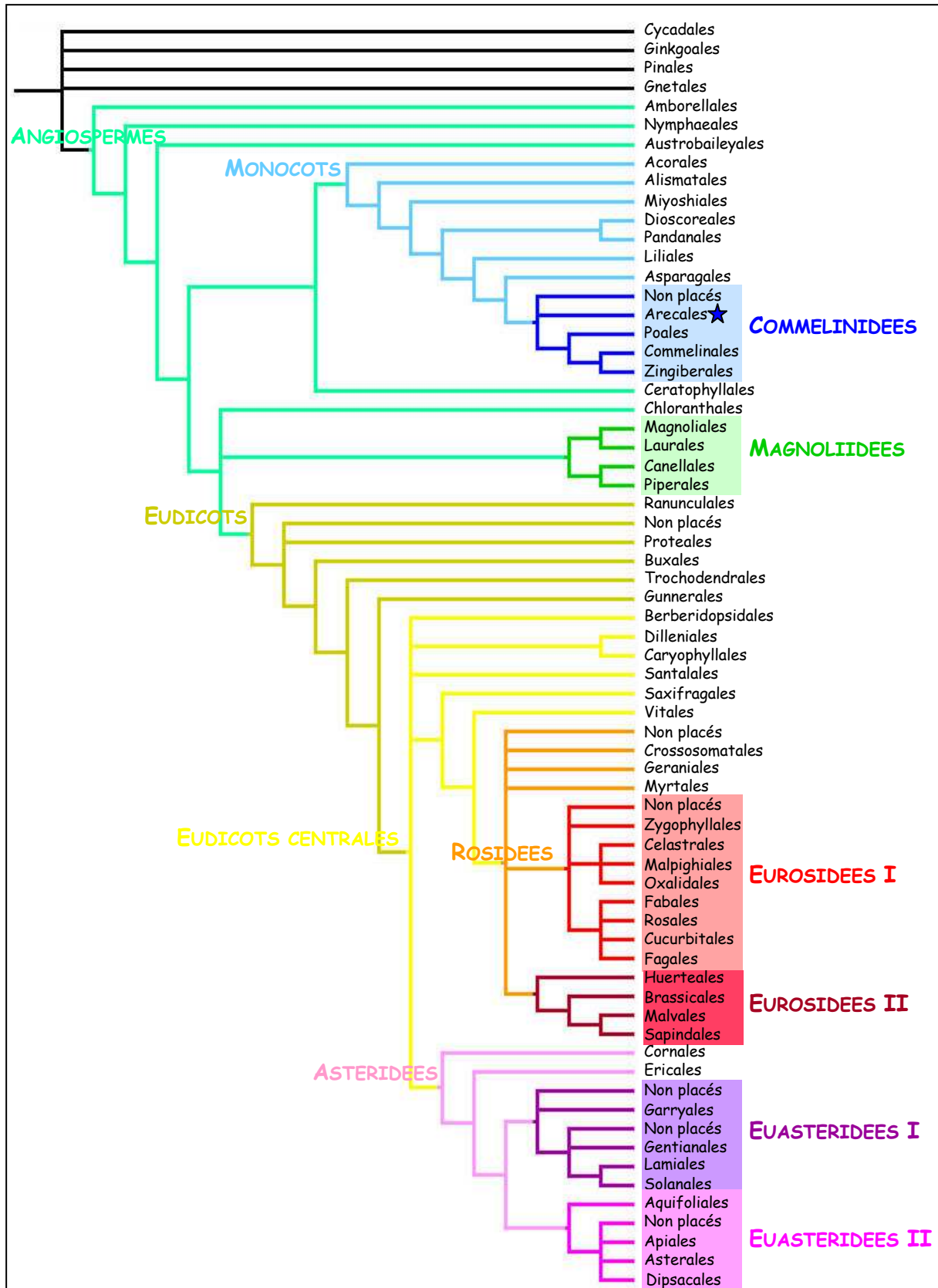


FIGURE 29. Phylogénie des Angiospermes selon l'Angiosperm Phylogeny Group (APG) (Stevens 2001). Les Arecaceae appartiennent à l'ordre des Arecales, indiqué par une étoile.

II. LA FAMILLE DES ARECACEAE

La famille des Arecaceae, mieux connue sous le nom de palmiers, présente une diversité spécifique bien souvent insoupçonnée. Près de 2400 espèces (Fernández-Palacios & Morici 2004, Thomas *et al.* 2005) sont actuellement décrites et classées dans 187 genres (Dransfield *et al.* 2005). De nouvelles espèces sont encore découvertes régulièrement. Cette diversité en fait une des plus importantes familles de la classe des Monocotylédones, même si elle reste loin derrière celle des Orchidaceae (18 000-24 500 espèces) ou des Poaceae (10 000 espèces) (Stevens 2001).

Position des Arecaceae dans la classification de l'Angiosperm Phylogeny Group (APGII 2003) :

Règne	VEGETAL
Embranchement	SPERMATOPHYTES (Plantes à graines)
Sous-Embranchement	ANGIOSPERMES (Plantes à fleurs)
Classe	MONOCOTYLEDONES
Ordre	ARECALES
Famille	ARECACEAE (Seule famille des Arecales)

La figure 29 indique la position phylogénétique de l'ordre au sein des Angiospermes selon l'APG (Stevens 2001).

E. Botanique : diversité morphologique

L'identification des 2400 espèces est principalement basée sur des critères morphologiques. En effet, depuis les premières véritables classifications botaniques au XVIII^{ème} siècle, la grande majorité des déterminations s'est faite sur l'observation de caractères morphologiques. L'identification des espèces se fait principalement sur les caractères suivants : le stipe, les feuilles, les inflorescences, les fruits et les graines. D'autres critères peuvent être pris en compte comme le type de germination, de croissance ou encore la taille des individus. Ce n'est que récemment que les données moléculaires ont pu apporter des informations complémentaires à l'élaboration des classifications.

1. Appareil végétatif

Le système racinaire, bien que très conservé chez les palmiers, mérite une description succincte. En effet, il est comparable à celui des autres Monocotylédones et diffère donc profondément de celui des autres Angiospermes au port arborescent, dont l'appareil racinaire dérive généralement de la radicule de l'embryon. Les palmiers présentent un système racinaire dit fasciculé,



FIGURE 30. Palmier présentant des racines échasses¹¹.

constitué d'une multitude de petites racines adventives à croissance définie. Ainsi, chaque année, le palmier émet de nouvelles racines, la base du "tronc" étant parfois renflée par leur nombre toujours croissant. Chez certaines espèces, les racines émergent au-dessus du niveau de la terre donnant l'impression que le palmier ne tient que sur ses racines (Figure 30). Ce système de racines échasses peut refléter une adaptation aux milieux humides ou peu stables (Corner 1966) mais aussi permettre un accès plus rapide à la lumière (Schatz *et al.* 1985).

Malgré les dimensions gigantesques que peuvent atteindre les palmiers (jusqu'à 60m de haut pour certains), ce ne sont pas des arbres comme on l'entend habituellement et certains les considèrent comme des herbes géantes. En effet, comme chez toute Monocotylédone, la tige principale ne présente pas les formations secondaires issues du cambium subéro-ligneux et responsables du port arborescent classique des espèces appartenant aux Eudicotylédones, Angiospermes basales et Gymnospermes (Tomlinson & Zimmermann 1967, Waterhouse & Quinn 1978, Dahlgren *et al.* 1985, Schatz *et al.* 1985, Rich 1987, Dubois *et al.* 1999, Meyer *et al.* 2004). C'est pourquoi le "tronc" des palmiers porte le nom de stipe. L'arborescence des palmiers s'obtient par une multiplicité de faisceaux conducteurs primaires qui persistent durant toute la vie de la plante, ainsi que par une sclérification importante du parenchyme qui assure la rigidité (Waterhouse & Quinn 1978, Dahlgren *et al.* 1985, Rich 1987). Il y a une formation continue de faisceaux supplémentaires qui viennent progressivement s'ajouter aux anciens (Figure 31). Grâce à ces particularités, ce sont les palmiers qui détiennent le record des plus hautes Monocotylédones (Dahlgren *et al.* 1985, Meyer *et al.* 2004). L'absence de formations secondaires empêche la croissance en épaisseur des stipes. La seule augmentation du diamètre se produit au stade juvénile, lorsque le méristème apical croît progressivement en circonférence jusqu'à atteindre sa taille finale.



FIGURE 31. Coupe transversale d'un stipe de palmier¹².

Les principaux caractères morphologiques concernant le stipe et utilisés pour l'identification des espèces de palmiers sont les suivants :

- Le diamètre. Celui de *Jubaea chilensis* peut atteindre jusqu'à 1 m (Uhl & Dransfield 1987) alors que celui de certains *Chamaedorea* ne dépasse pas quelques millimètres (Fernández-Palacios & Morici 2004).

- La taille. *Ceroxylon quindiuense* atteint jusqu'à 60 m de haut (Dubois *et al.* 1999) alors que *Syagrus lilliputiana*, qualifié de palmier-nain, ne mesure pas plus de 15 cm (Fernández-Palacios & Morici 2004). La tige principale la plus longue du règne végétal appartient à certains palmiers lianescents du genre *Calamus* et peut atteindre près de 250 m (Dubois *et al.* 1999, Albano 2002) (Figure 32).

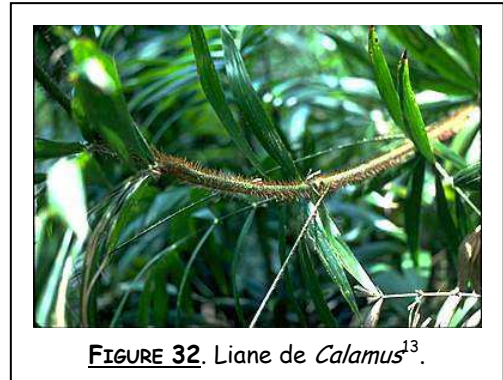


FIGURE 32. Liane de *Calamus*¹³.

- L'aspect général. Les ramifications du stipe sont extrêmement rares et résultent le plus souvent d'une blessure du bourgeon terminal. Il existe toutefois quelques espèces naturellement dichotomiques et d'autres qui produisant spontanément des rejets à la base de leur stipe finissent par former de véritables bouquets. Ces espèces sont qualifiées de cespiteuses.

- La surface du stipe. D'une manière générale, un bouquet de feuilles pousse régulièrement au sommet du palmier, laissant au moment de leur chute des cicatrices foliaires, caractéristiques de leur forme et de leur mode d'insertion sur le stipe. Ces cicatrices foliaires sont très diverses et souvent

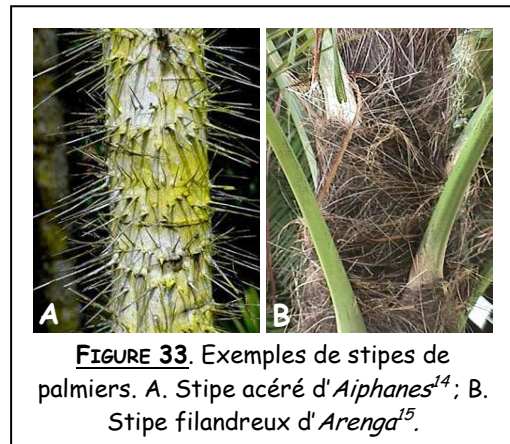
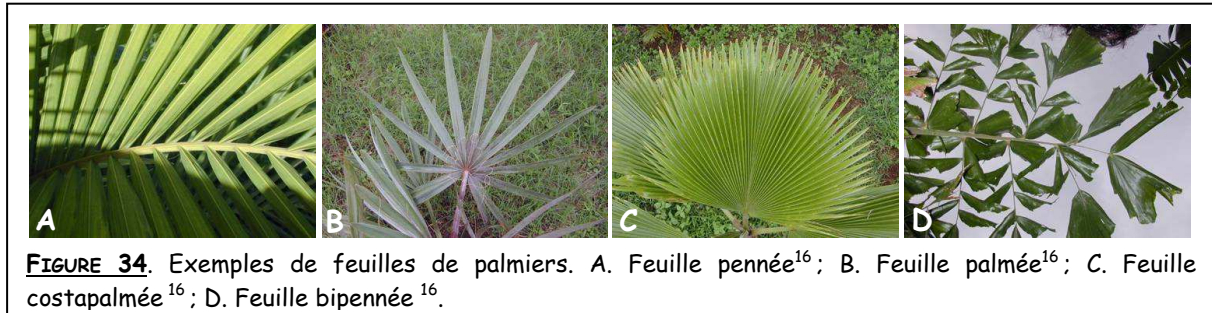


FIGURE 33. Exemples de stipes de palmiers. A. Stipe acéré d'*Aiphanes*¹⁴; B. Stipe filandreux d'*Arenga*¹⁵.

spécifiques de l'espèce ou du genre. La vitesse de croissance des palmiers influe également sur l'aspect général du stipe : un individu à croissance lente présentera des cicatrices foliaires beaucoup plus serrées qu'un individu à croissance plus rapide. Parfois, les stipes présentent d'autres particularités spécifiques telles que des épines acérées (*Aiphanes*, Figure 33A) ou des fibres très denses (*Arenga*, Figure 33B).

L'âge des individus ne peut pas se mesurer au nombre de cernes du tronc comme pour un arbre classique. Il existe cependant une alternative : dénombrer les cicatrices foliaires, à condition de bien connaître le cycle foliaire de l'espèce. D'autre part, la période juvénile au cours de laquelle le palmier ne croît pas en hauteur est difficile à déterminer car elle ne laisse aucune trace (Kiew 1972), ce qui ne facilite pas l'estimation. Le plus vieux palmier jamais répertorié serait un spécimen de *Livistona eastonii* trouvé en Australie et dont l'âge estimé s'élève à 720 ans (Hnatiuk 1977). La croissance des palmiers pouvant être assez lente (Waterhouse & Quinn 1978, Zona & Maidman 2000), un palmier de seulement 2 m de haut (*Iguanura geonomaeformis*) peut être âgé d'une centaine d'années

(Kiew 1972, Uhl & Dransfield 1987). Il reste difficile d'estimer l'espérance de vie des palmiers, celle-ci pouvant varier énormément d'une espèce à l'autre.



Les feuilles de palmier sont souvent utilisées comme critère d'identification. Quatre grands types peuvent être distingués :

- les feuilles pennées qui ressemblent à des peignes ou à des plumes (*Archontophoenix alexandrae*^{*}) (Figure 34A)
- les feuilles palmées qui ressemblent à des éventails (*Bismarckia nobilis*) (Figure 34B)
- les feuilles costapalmées qui sont un intermédiaire entre les deux formes précédentes (*Pritchardia pacifica*) (Figure 34C)
- les feuilles bipennées qui sont pennées à la fois sur l'axe principal et les axes secondaires (*Caryota urens*) (Figure 34D).

Le limbe peut être découpé ou entier et peut prendre une coloration rougeâtre (souvent aux stades juvéniles) ou grisâtre. Cette dernière couleur est souvent la conséquence de la présence d'une couche de cire sur les feuilles (*Bismarckia nobilis*). Les feuilles sèches persistent parfois sur le palmier, formant ce que l'on appelle une jupe de feuilles. C'est le cas par exemple chez *Washingtonia filifera* (Figure 35). La plus petite feuille de palmier mesure environ 15 cm (*Chamaedorea tenella*) alors que la plus grande, qui détient là encore le record du règne végétal, peut atteindre jusqu'à 25 m de longueur pour 3 m de large (*Raphia regalis*) (Uhl & Dransfield 1987, Dubois *et al.* 1999, Fernández-Palacios & Morici 2004).



2. Appareil reproducteur

Chez la plupart des palmiers, une fois l'âge de la maturité sexuelle atteint, les inflorescences apparaissent tous les ans et peuvent parfois être très impressionnantes. Morphologiquement,

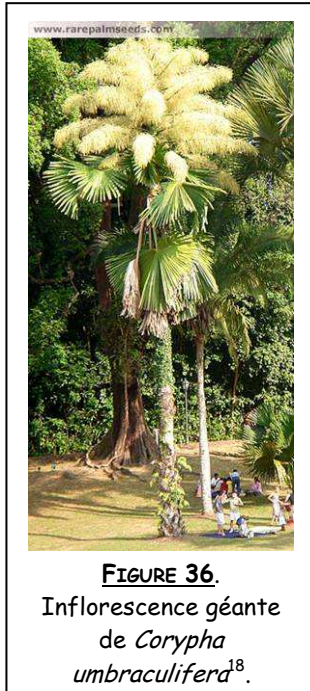


FIGURE 36.
Inflorescence géante
de *Corypha umbraculifera*¹⁸.

l'inflorescence va du simple épi non ramifié jusqu'aux grappes extrêmement ramifiées composées de fleurs très productives. Elle est toujours protégée au début de sa formation par une bractée d'inflorescence appelée spathe (Dahlgren *et al.* 1985). Certaines espèces monocarpiques ne fleurissent qu'à la fin de leur vie et investissent dans des inflorescences de taille remarquable. Ainsi, les inflorescences de *Corypha umbraculifera*, par exemple, atteignent 10 m de hauteur et portent des milliers de fleurs, ce qui constitue les plus grandes inflorescences du règne végétal (Dubois *et al.* 1999, Albano 2002) (Figure 36).

Quatre types de systèmes de reproduction peuvent être décrits :

- des inflorescences mâles et femelles sur des pieds différents \Rightarrow espèces dioïques (*Chamaedorea elegans*)
- des inflorescences mâles et femelles séparées mais se trouvant sur un même pied \Rightarrow espèces monoïques (*Elaeis guineensis*)
- des inflorescences présentant à la fois des fleurs mâles et des fleurs femelles \Rightarrow espèces monoïques (*Jubaea chilensis*)
- des inflorescences portant des fleurs à la fois mâle et femelle \Rightarrow espèces hermaphrodites (*Brahea dulcis*).

Contrairement aux inflorescences, les fleurs proprement dites ne sont jamais spectaculaires. Elles sont très souvent petites et rarement colorées.

Les infrutescences peuvent également atteindre des tailles remarquables. Ainsi, c'est encore un palmier qui détient le record de la plus grosse infrutescence végétale : celle d'*Elaeis guineensis* peut peser jusqu'à 25 kg (Dubois *et al.* 1999). Les fruits sont des drupes, comme la noix de coco, ou des baies, comme la datte, et sont très souvent consommés par les populations locales, voire commercialisés dans le monde entier. Cependant, tous les fruits de palmiers ne sont pas comestibles. En effet, les fruits de nombreuses espèces de palmier contiennent des cristaux d'oxalate de calcium qui peuvent entraîner de graves réactions dermiques au-dessus d'une certaine concentration ($6000 \mu\text{g.g}^{-1}$) (Broschat & Latham 1994).

Il n'y a généralement qu'une graine par fruit, deux des ovules initiaux de la fleur ayant avorté. Cependant, certains fruits peuvent contenir trois graines (*Borassus*), et certaines graines renfermant deux à trois embryons (*Orbignya*) peuvent engendrer autant de plantules (Albano, 2002). Les graines peuvent parfois réserver quelques surprises. Ainsi, *Lodoicea maldivica*, aussi appelé "coco de mer" produit des graines à la forme très particulière qui leur vaut le nom de "coco-fesse" et pouvant peser une vingtaine de kilos (Harper *et al.* 1970, Dubois *et al.* 1999) (Figure 37). Ces "coco-fesse" sont les plus grosses graines du monde. Les plus petites graines de palmier quant à elles ne mesurent que quelques millimètres et sont produites par une espèce du genre *Geonoma* (Uhl & Dransfield 1987).



FIGURE 37. Graine Coco-fesse¹⁹.

Les palmiers présentent une grande diversité morphologique, tant au niveau de l'appareil végétatif (taille et apparence du stipe, feuilles) que de l'appareil reproducteur (taille et apparence des inflorescences, des fruits et des graines).

F. Ecologie et Conservation

1. La répartition des palmiers dans le monde

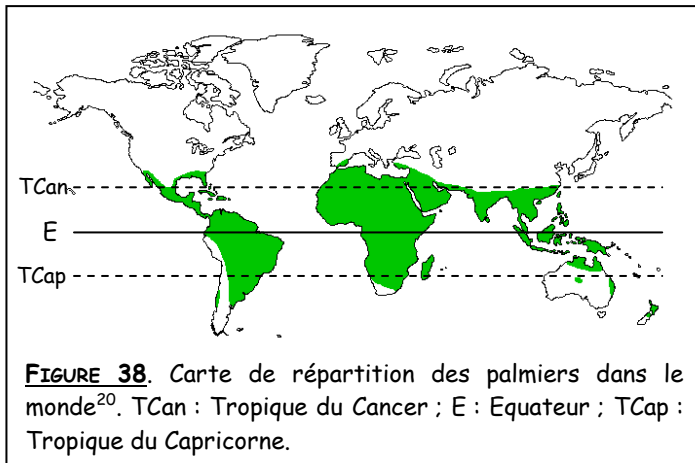


FIGURE 38. Carte de répartition des palmiers dans le monde²⁰. TCan : Tropicque du Cancer ; E : Equateur ; TCap : Tropicque du Capricorne.

La grande majorité des palmiers (75%) est présente sur la surface du globe située entre les deux tropiques (Moore 1973, Dubois *et al.* 1999), mais il existe certaines espèces un peu plus excentrées par rapport à l'équateur (Figure 38). *Trachycarpus fortunei* est l'espèce la plus septentrionale et l'on peut trouver des individus de cette espèce cultivés jusqu'à 58° de latitude

Nord (Ecosse). Le palmier que l'on trouve le plus au sud, *Rhopalostylis sapida*, se trouve en Nouvelle-Zélande jusqu'à 44° de latitude sud (Uhl & Dransfield 1987, Dubois *et al.* 1999). Plus de la moitié des genres de palmiers ne contiennent que cinq espèces ou moins. Il n'est donc pas surprenant de trouver un très fort endémisme dans cette famille (Tomlinson 1979, Uhl & Dransfield 1987, Dubois *et al.* 1999, Albano 2002). Les palmiers se trouvent sur de nombreuses îles ; cet isolement entraîne des difficultés de dispersion des graines, ce qui peut expliquer en partie le fort endémisme observé. A l'inverse,

Cocos nucifera poussant sur les plages, et dont la graine est flottante, a pu coloniser toute la planète. Il existe également quelques genres cosmopolites comme *Phoenix* en Afrique, en Europe et en Asie ou *Raphia* et *Elaeis* qui sont les seuls à pousser à la fois en Afrique et en Amérique (Albano 2002).

2. Les biotopes colonisés par les palmiers

Les forêts équatoriales et tropicales humides du monde entier constituent près de 75% des biotopes peuplés par les palmiers (Dransfield 1978). La diversité spécifique peut y être très importante ; dans le parc national de Sarawak, sur l'île de Bornéo, 111 espèces appartenant à une vingtaine de genres ont été recensées sur une surface de seulement 53 ha (Uhl & Dransfield 1987). Cependant, les palmiers sont capables de coloniser des biotopes présentant d'autres conditions que les forêts tropicales, et même parfois des conditions vraiment particulières. On peut par exemple les trouver dans des zones marécageuses ou bordant des cours d'eau (*Nypa fruticans*, Figure 39A), des zones sèches, sur des plages de sable (*Cocos nucifera*) ou encore dans des régions montagneuses (*Prestoea montana*, Figure 39B) (Bannister 1970, Uhl & Dransfield 1987). Quelques espèces de palmiers sont même capables de croître sur des sols riches en métaux lourds (rotins des îles des Philippines), très basiques ou très pauvres (*Johannesteijsmannia altifrons*).

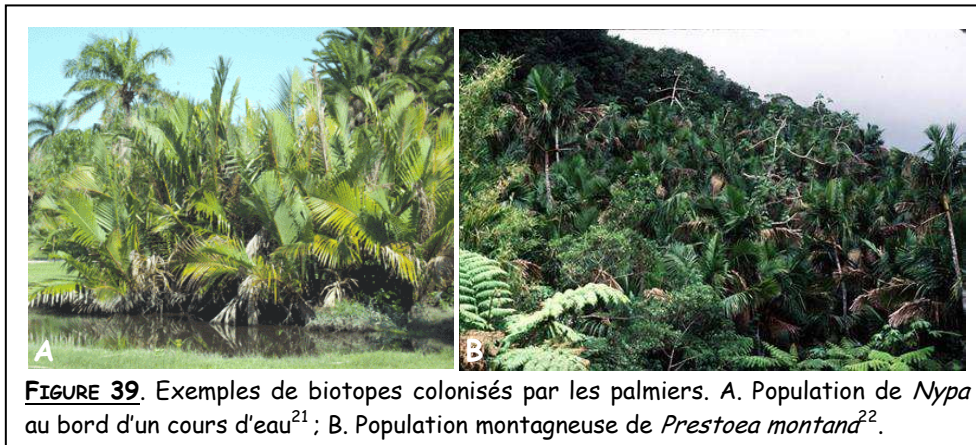


FIGURE 39. Exemples de biotopes colonisés par les palmiers. A. Population de *Nypa* au bord d'un cours d'eau²¹ ; B. Population montagneuse de *Prestoea montana*²².

3. Ecologie des palmiers

La pollinisation chez les palmiers a été très longtemps considérée comme anémophile (par le vent). Cette hypothèse était fondée sur l'impressionnante production de pollen de la grande majorité des espèces. En effet, l'émission d'une grande quantité de pollen est souvent associée à une pollinisation par le vent. De récentes études tendent à démontrer que cette production massive chez les palmiers serait un moyen de contrebalancer les effets d'une surprédation des fleurs (Uhl & Dransfield 1987). Selon les dernières études (Henderson 1986, Silberbauer-Gottsberger 1990, Listabarth 2001), la pollinisation serait majoritairement entomophile (Figure 40). Toutefois, la pollinisation anémophile serait apparue plusieurs fois indépendamment dans différentes lignées (Uhl &



FIGURE 40. Inflorescence de palmier visitée par un insecte²³.

Moore 1977, Henderson 1986, Silberbauer-Gottsberger 1990). Quelques espèces du genre *Calyptrigyne* sont pollinisées par des chauves-souris (Henderson 1986, Tschapka 2003). Les coléoptères sont impliqués dans la pollinisation de la majorité des palmiers ((Henderson 1986, Silberbauer-Gottsberger 1990) comme par exemple chez *Chamaerops* (Dufaÿ *et al.* 2003). Il existe deux autres groupes d'insectes intervenant de manière importante dans la pollinisation des palmiers : les abeilles (*Calamus* (Bogh 1996)) et les mouches, Syrphides ou Drosophiles (*Nypa* (Essig 1973, Uhl & Moore 1977)). Toutefois, la plupart du temps, les espèces de palmier sont pollinisées par plusieurs types de pollinisateurs (Küchmeister *et al.* 1997, Listabarth 2001, Barfod *et al.* 2003). Il est souvent difficile de déterminer quels sont réellement les insectes responsables de la plus importante part de la pollinisation car les fleurs de palmier font souvent l'objet d'une forte prédation. Parfois, ces prédateurs sont aussi les pollinisateurs (Essig 1971, 1973). D'autre part, des espèces se nourrissant des prédateurs des fleurs se trouvent également souvent sur les inflorescences de palmiers (Küchmeister *et al.* 1997). Il est intéressant de noter que les pollinisateurs peuvent également être considérés comme des parasites, établissant leur cycle de vie au sein des inflorescences et se nourrissant de ses tissus (Silberbauer-Gottsberger 1990). Quelques travaux ont tenté de mettre en relation le type de pollinisation et la phénologie ou la morphologie florale (Uhl & Moore 1977, Silberbauer-Gottsberger 1990, Listabarth 2001) mais aucune conclusion ne peut être encore tirée.

La dispersion des palmiers s'effectue le plus souvent par l'intermédiaire d'espèces animales, que les unités de dispersion soient les fruits ou directement les graines. C'est pourquoi les fruits, souvent comestibles, sont généralement assez colorés afin d'attirer les vertébrés disperseurs (souris, singes, calaos ou autres oiseaux, écureuils, chauves-souris, coyotes, éléphants, agoutis...). Un autre moyen de dispersion est utilisé par *Nypa fruticans* et *Cocos nucifera* : leurs graines sont constituées de telle façon qu'elles peuvent flotter et par conséquent être dispersées sur de très longues distances.

Il semblerait que de nombreuses espèces soient « parasitées » par des mycorhizes racinaires (St. John 1988, Zona 1996, Smith & Smith 1997, Fisher & Jayachandran 1999, 2005). En réalité ces champignons ne parasiteraient pas les palmiers sur lesquels on les trouve, mais seraient en étroite collaboration avec eux. D'autres relations entre palmiers et autres espèces ont pu être parfois mises en évidence. Il se trouve que quelques rotins présentent des renflements, au niveau de l'insertion des feuilles sur le stipe, qui forment des chambres idéales pour accueillir les fourmis qui y vivent (Way &

Bolton 1997). *Livistona chinensis* semble présenter, quant à lui, une étroite relation avec certaines chauves-souris qui trouvent un abri sous les feuilles de ce palmier, et en contrepartie produisent un engrais efficace (Barbour 1932, Timm 1984).

4. Les palmiers en danger



FIGURE 41.
*Pritchardiopsis jeanneneyi*²⁴, le palmier le plus rare de Nouvelle-Calédonie.

Conséquence du fort taux d'endémisme des palmiers, certaines espèces sont menacées ; les espèces endémiques étant présentes seulement sur de petites régions, en général des îles, une simple modification du biotope peut entraîner un dérèglement important de l'écosystème et causer la disparition d'espèces (Figure 41). Depuis les 20 dernières années, la biologie de la conservation est un domaine en plein essor et quelques études ont été menées sur les palmiers menacés (Ratsirarson *et al.* 1996, Svenning 1998, Maunder *et al.* 2002, Pizo & Vieira 2004, Bernal & Galeano 2006). Plusieurs facteurs interviennent dans le déclin des espèces : la déforestation, la fragmentation des habitats, les feux, le pâturage (Ratsirarson *et al.* 1996) et l'introduction d'espèces invasives, végétales ou animales (Maunder *et al.* 2002), sans parler de la surexploitation de certaines espèces pour leur valeur économique comme *Euterpe edulis* pour son cœur de palmier (Pizo & Vieira 2004). Il y a une dizaine d'années, près de 33% des espèces de palmiers étaient considérées comme menacées (Smith & Smith 1997). Dans les îles Mascareignes, plusieurs espèces (*Dictyosperma album*, *Hyophorbe amaricaulis* ou *H. verschaffeltii*) ne comptent plus aujourd'hui que quelques spécimens sauvages (Maunder *et al.* 2002). Il existe toutefois quelques espèces qui semblent trouver un avantage dans un environnement modérément perturbé. C'est le cas par exemple d'espèces du genre *Chamaedorea* qui produisent un surplus de graines dans de tels milieux (Svenning 1998).

Les palmiers peuplent majoritairement les forêts tropicales et sont parfois menacés d'extinction, en particulier les espèces insulaires. Ils entrent en interaction avec de nombreuses autres espèces, à la fois pour la pollinisation des fleurs et la dispersion des graines mais aussi en servant de nourriture ou d'hôtes à certaines espèces animales et/ou parasites.

USAGES DES PALMIERS, IMPORTANCE ECONOMIQUE

Le cocotier (*Cocos nucifera*) présent dans toutes les régions tropicales du monde, est une plante dont toutes les parties sont utilisables. Les racines, le stipe, les feuilles, la sève, les fruits et les graines trouvent une application dans tous les domaines : artisanat, architecture, alimentation, pharmacie, vêtements, rites religieux (Essig & Dong 1987, Kinnaird 1992, Haynes & McLaughlin 2000, Mollet *et al.* 2000). La noix de coco peut même parfois constituer la seule ressource en eau potable. Tous les palmiers ne participent pas de la même manière à l'économie mondiale mais, dans de nombreuses régions du globe, ils entrent toutefois pour une part importante dans l'économie du pays, que ce soit pour leurs propriétés alimentaires, ornementales ou utilitaires.

- Propriétés alimentaires

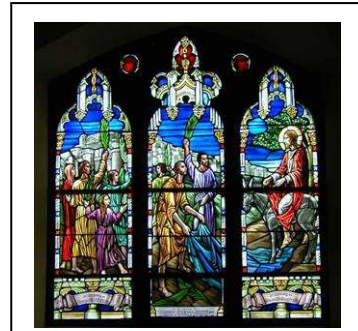
- **La sève de palmier** : destinée principalement à devenir du sucre dans le Sud-Est asiatique (Dubois *et al.* 1999, Albano 2002), elle peut également être transformée en miel, en vin de palme par fermentation (Eze & Ogan 1988) ou en vinaigre (Mollet *et al.* 2000). La récolte nécessite une incision du bourgeon terminal et doit se faire très régulièrement au risque de voir la sève fermenter et l'infection s'installer. Les palmiers ne possédant qu'un unique bourgeon apical, une destruction de ce dernier peut entraîner la mort de l'individu. Ainsi, *Jubaea chilensis* étant actuellement fortement menacé au Chili, son exploitation et la fabrication de miel de palmier y est interdite depuis 1971 (Chamaud-Boutin 1999).
- **Le sagou** : sorte de farine, il est issu de la moelle fibreuse des stipes du sagoutier (*Metroxylon sagu*), palmier d'Océanie (Dubois *et al.* 1999). L'extraction de la moelle entraîne l'abattage de l'individu mais *M. sagu* étant une espèce cespiteuse à croissance rapide, la destruction des vieux individus, les plus riches en moelle, ne met pas l'espèce en danger (Albano 2002).
- **Les fruits** : Leur production reste un des rôles les plus importants des palmiers dans l'alimentation de certaines populations. Nous connaissons bien sûr la noix de coco et les dattes mais, d'autres fruits sont également exploités plus localement, le plus souvent pour leur goût sucré. Il existe aussi des fruits oléagineux dont l'huile, une fois extraite, peut être utilisée dans l'alimentation. *Elaeis guineensis*, le palmier à huile, fournit ainsi la deuxième huile végétale du monde après l'huile de soja (Dubois *et al.* 1999).
- **Les graines** : certaines sont directement comestibles comme par exemple les "coquitos" de *Jubaea chilensis* (Chamaud-Boutin 1999) et d'autres fournissent de jeunes pousses tendres pouvant être très appréciées. Enfin, une substance oléagineuse peut parfois être extraite des graines et utilisée dans l'industrie cosmétique.
- **Le bourgeon apical** : appelé également cœur de palmier, il est fortement exploité et commercialisé pour ses propriétés gustatives (Pizo & Vieira 2004). Son extraction entraînant la mort des individus s'ils ne sont pas cespiteux, il existe actuellement dans de nombreux pays des lois régissant son exploitation.

- Propriétés ornementales et utilitaires

- **L'artisanat** : Les rotins, palmiers lianescents aux longues tiges flexibles, sont les plus couramment utilisés dans la fabrication de mobilier. Des récipients peuvent être extraits de la moelle très dense et très dure du stipe de certains palmiers. Les fibres produites par le stipe, les feuilles ou les fruits de certaines espèces peuvent également permettre la fabrication de vêtements, de chaussures, de cordages, de matelas ou de brosses. Les feuilles peuvent être tressées et servir à la fabrication de paniers, hottes, ou chapeaux. Enfin, l'albumen blanchâtre et très résistant de certaines graines, appelé ivoire végétal, est souvent utilisé pour la fabrication de petits objets décoratifs (Dubois *et al.* 1999, Albano 2002).
- **L'architecture** : les stipes de palmiers sont souvent utilisés dans la construction des habitations des populations locales, que ce soit dans l'établissement de la structure extérieure ou à l'état de poutres ou de planches. De même, les feuilles de palmier pouvant atteindre de très grandes tailles, se retrouvent fréquemment comme élément de toiture ou de cloisons.
- **Autres utilisations** : La cire produite par les feuilles de certains palmiers entre dans la composition de divers produits dragéifiés ou cosmétiques. *Serenoa repens* et *Areca catechu* sont les deux plus importantes espèces utilisées à des fins thérapeutiques mais les populations indigènes utilisent souvent d'autres espèces dans leur pharmacopée traditionnelle (*Trachycarpus fortunei* en Chine, Essig (1987)). Enfin, les palmiers ont actuellement une place importante dans l'industrie horticole pour leur propriétés décoratives en particulier.

LA SYMBOLIQUE DU PALMIER

Dans la religion quelle qu'elle soit, le palmier a souvent une importance non négligeable. Dans la religion chrétienne, c'est entouré de feuilles de palmiers que Jésus serait entré dans Jérusalem et le dimanche des rameaux, qui célèbre ce jour, se dit en latin « *dominica palmarum* » (Burolet 1999, Albano 2002) (Figure). Chez les musulmans, Mahomet aurait utilisé le palmier dattier pour construire la première mosquée et ce dernier est considéré dans le Coran comme l'arbre sacré par excellence. Les dattes sont consommées symboliquement à la fin du Ramadan pour fêter la fin du jeûne (Albano 2002). Dans la mythologie, le palmier était considéré comme un symbole de fécondité et dans la religion hébraïque, il abrite le peuple d'Israël lors de sa fuite d'Égypte (Burolet 1999).



Vitrail représentant l'arrivée de Jésus à Jérusalem²⁵.

Au temps des Romains, la feuille de palmier était un symbole de victoire. Quand la Judée fut conquise, le palmier devint son emblème et de nombreuses pièces furent frappées à son image. Encore aujourd'hui la feuille de palmier symbolise certains succès : récompenses attribuées aux meilleurs films, acteurs (palme d'or etc...), professeurs (palmes académiques).

On retrouve également des représentations des palmiers sur de nombreux drapeaux (Haïti, état de Floride) et pièces (Philippines, Seychelles) et il représente l'emblème de certaines villes (Nîmes) et même d'une équipe de rugby (îles Fidji). Le palmier a souvent été utilisé comme représentation architecturale, en particulier à l'état de colonne s'épanouissant vers le haut (Burolet 1999).

G. La classification des palmiers du XVIIIème siècle à nos jours

Ce n'est qu'au XVIIIème siècle, avec le développement de la botanique naturaliste que les palmiers commencent à être décrits précisément et classifiés. Ainsi, Rumphius, entre 1741 et 1755, décrit dans son herbier 50 différents taxons de palmier. Linné en 1753 ne décrit que neuf genres. Il reconnaît leurs similarités et les considère comme faisant partie d'un même ensemble, séparé du reste des plantes à fleurs. Dès le début du XIXème siècle, la connaissance du groupe des palmiers s'accroît énormément et Martius, en 1824, publie ainsi une première classification des palmiers qui rend compte d'une grande partie des espèces actuellement répertoriées. Au milieu du XIXème siècle, deux botanistes, Griffith et Blume, ont également beaucoup contribué à l'avancement des travaux sur les palmiers. C'est à Griffith par exemple que l'on doit les noms de Calamoideae, Coryphoideae et Nypoideae, qui sont actuellement les noms de trois sous-familles d'Arecaceae. La première classification phylogénétique des palmiers est publiée en 1887 par Drude qui reconnaît les groupes précédents établis par Griffith. Le début du XXème siècle est marqué par la publication de l'ouvrage de Beccari en plusieurs volumes représentant un travail considérable sur ce groupe atypique. Ces travaux sont poursuivis par l'un de ses brillants élèves, Burret, jusque dans les années 1950. Toutes ces classifications sont basées bien évidemment sur des caractères morphologiques (forme de la feuille, type de germination) ou géographiques. Les dernières classifications morphologiques sont celle

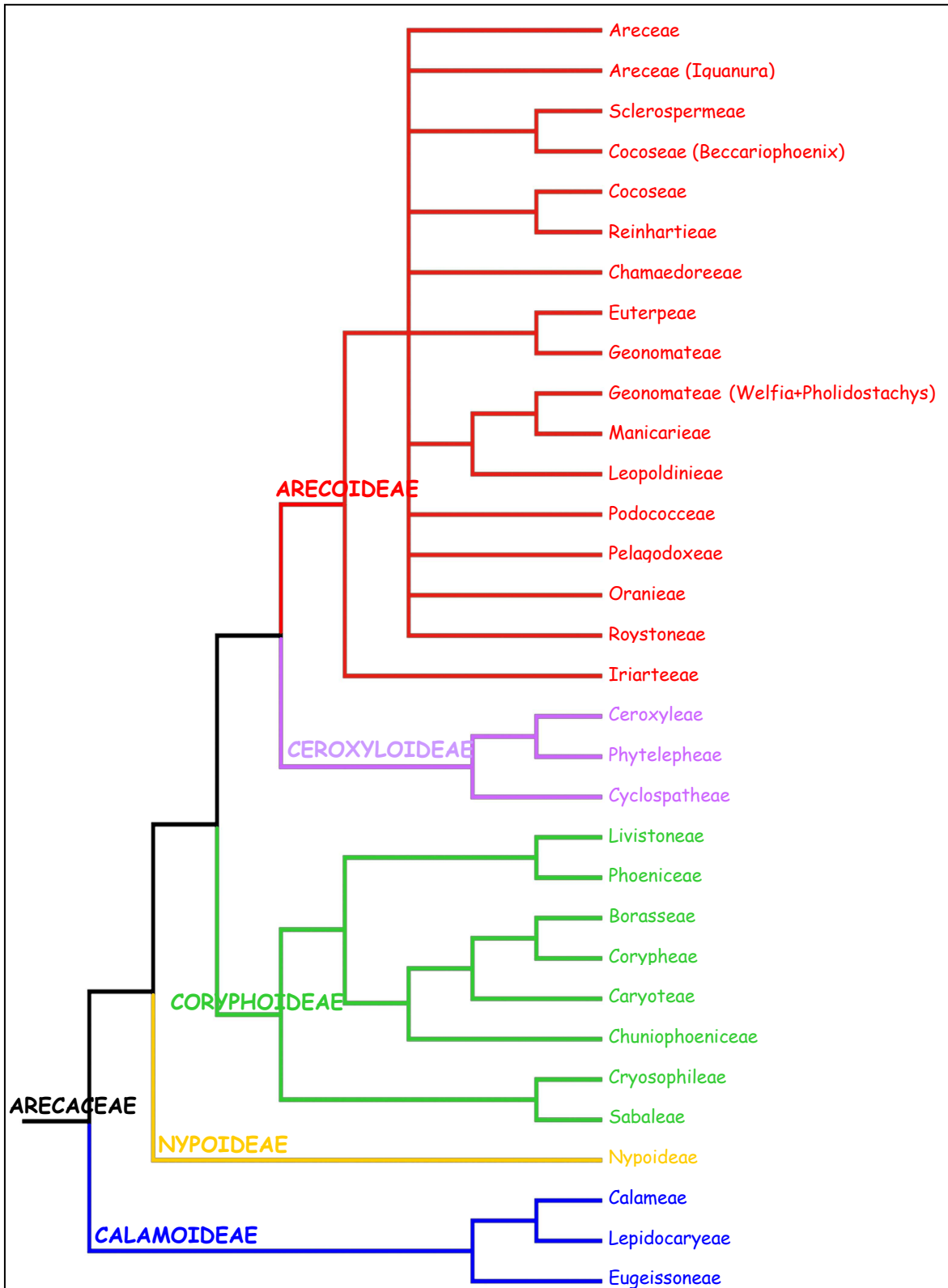


FIGURE 42. Phylogénie moléculaire des tribus d'Arecaceae selon Asmussen *et al.* (2006). Les sous-familles définies par Dransfield *et al.* (2005) ont été reportées sur la phylogénie.

de Moore en 1973, et celle de Uhl et Dransfield en 1987. Quelques-unes de ces classifications sont présentées en annexe A. Au cours des 20 dernières années, l'essor de la biologie moléculaire a permis d'établir des classifications phylogénétiques non plus fondées sur des critères morphologiques mais sur des données moléculaires. Il est dorénavant admis que les phylogénies moléculaires, qui sont en réalité des phylogénies de gènes, sont plus susceptibles de refléter les relations phylogénétiques entre espèces. En effet, le travail est effectué directement sur l'ADN, en général sur des caractères à évolution supposée neutre dans la majorité des cas. Au contraire, certains critères morphologiques peuvent s'avérer très sensibles au phénomène de l'adaptation et ainsi entraîner des rapprochements artificiels d'espèces. La première phylogénie moléculaire de la famille des palmiers a été publiée en 2001 par Asmussen et Chase. Elle comprenait 94 espèces et était fondée sur le gène chloroplastique *rbcl* et sur les régions chloroplastiques situées au niveau du gène *trnL-trnF* et de l'intron du gène *rps16*. Cette phylogénie confortait partiellement la classification de Uhl et Dransfield dans la mesure où les sous-familles Phytelphantoideae, Coryphoideae, Nypoideae et Calamoideae formaient des groupes monophylétiques. A ce jour, plusieurs phylogénies moléculaires ont été publiées, concernant l'ensemble des palmiers (Lewis & Doyle 2001, Hahn 2002, Lewis & Doyle 2002) ou des groupes particuliers (Baker *et al.* 2000a, 2000b, Stauffer *et al.* 2003, Thomas *et al.* 2005). La dernière en date inclus 161 genres sur les 189 actuellement reconnus (Asmussen *et al.* 2006) et la nouvelle classification très complète de Dransfield *et al.* (2005) s'en inspire en grande partie. Selon ces deux travaux, les palmiers seraient divisés en cinq clades, auxquels on attribue le rang de sous-familles : les Calamoideae, les Nypoideae, les Coryphoideae, les Ceroxyloideae et les Arecoideae. Seuls les tribus Areceae, Coceseae et Geonomateae ne seraient pas monophylétiques selon la phylogénie moléculaire (Figure 42).

Longtemps fondées sur des critères morphologiques, la classification et les relations phylogénétiques des palmiers reposent actuellement sur la biologie moléculaire (Asmussen *et al.* 2006) et les travaux de Dransfield *et al.* (2005). Il est actuellement reconnu que les Arecaceae sont subdivisés en cinq sous-familles : les Calamoideae, les Nypoideae, les Coryphoideae, les Ceroxyloideae et les Arecoideae.

Le chapitre suivant traite de la diversité du type apertural observé chez les palmiers ainsi que des résultats que j'ai obtenus concernant la diversité de la microsporogenèse dans cette famille.

CHAPITRE TROISIÈME
LA MICROSPOROGENÈSE ET LE GRAIN DE
POLLEN CHEZ LES ARECACEAE

III. LA MICROSPOROGENÈSE ET LE GRAIN DE POLLEN CHEZ LES ARECACEAE

A. Le grain de pollen

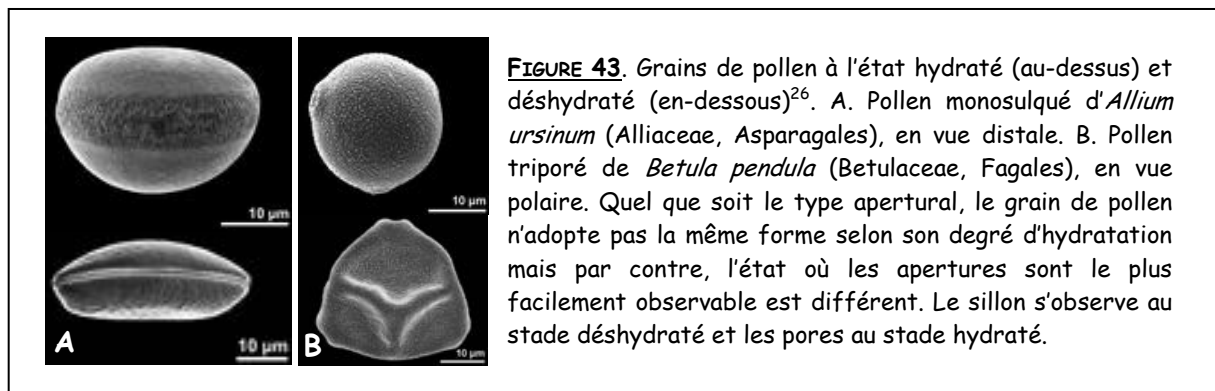
Ce sont les travaux d'Ertman (1952) qui ont révélé la **diversité des types de pollen** rencontrés dans la famille des Arecaceae. De nombreux auteurs se sont alors lancés dans l'étude de ces types polliniques, à la fois sur leur morphologie générale, sur la structure de l'exine et sur les types aperturaux. Les palmiers ont permis de comprendre un peu mieux l'évolution des types aperturaux et en particulier les étapes qui auraient jalonné cette évolution.

1. Diversité morphologique

Thanikaimoni, a réalisé le plus important travail jamais effectué sur la morphologie des grains de pollen de palmiers, et ceci, dès 1970. Son livre offre une description détaillée du pollen de très nombreuses espèces, en particulier en ce qui concerne la taille et l'ornementation de l'exine.

a. Morphologie générale

La description complète de la morphologie d'un grain de pollen nécessite de disposer de matériel à différents stades. La taille, la forme et les caractéristiques de l'exine sont les mieux visibles lorsque le pollen est hydraté. En revanche, les apertures seront plus évidentes sur un grain de pollen déshydraté (Figure 43). Lors de ce genre de description, il est important de tenir compte du fait que les différents modes de traitement utilisé pour fixer les grains de pollen peuvent entraîner de grandes variations de taille (Thanikaimoni 1970).



Les grains de pollen de palmier adoptent des **formes très variables**. Harley et Baker (2001) parlent de pollens elliptiques ou piriformes symétriques et asymétriques (Figure 44A), de pollens en forme de cerf-volant (Figure 44B) ou allongés et parfois oblongs (Figure 44C). Ils citent également des pollens triangulaires oblates, symétriques ou non (Figure 44D), sphériques (Figure 44E et F) ou oblates (Figure 44G). De même, la taille présente une grande gamme de variation que Thanikaimoni (1970) a largement exploré (Tableau 2). Ainsi, le plus petit grain de pollen appartient à *Maxburretia*

rupicola (Coryphoideae) et ne mesure qu'une dizaine de micromètres de long alors que le plus grand, appartenant à *Phytelephas* sp. (Ceroxyloideae) atteint jusqu'à une centaine de micromètres de long.

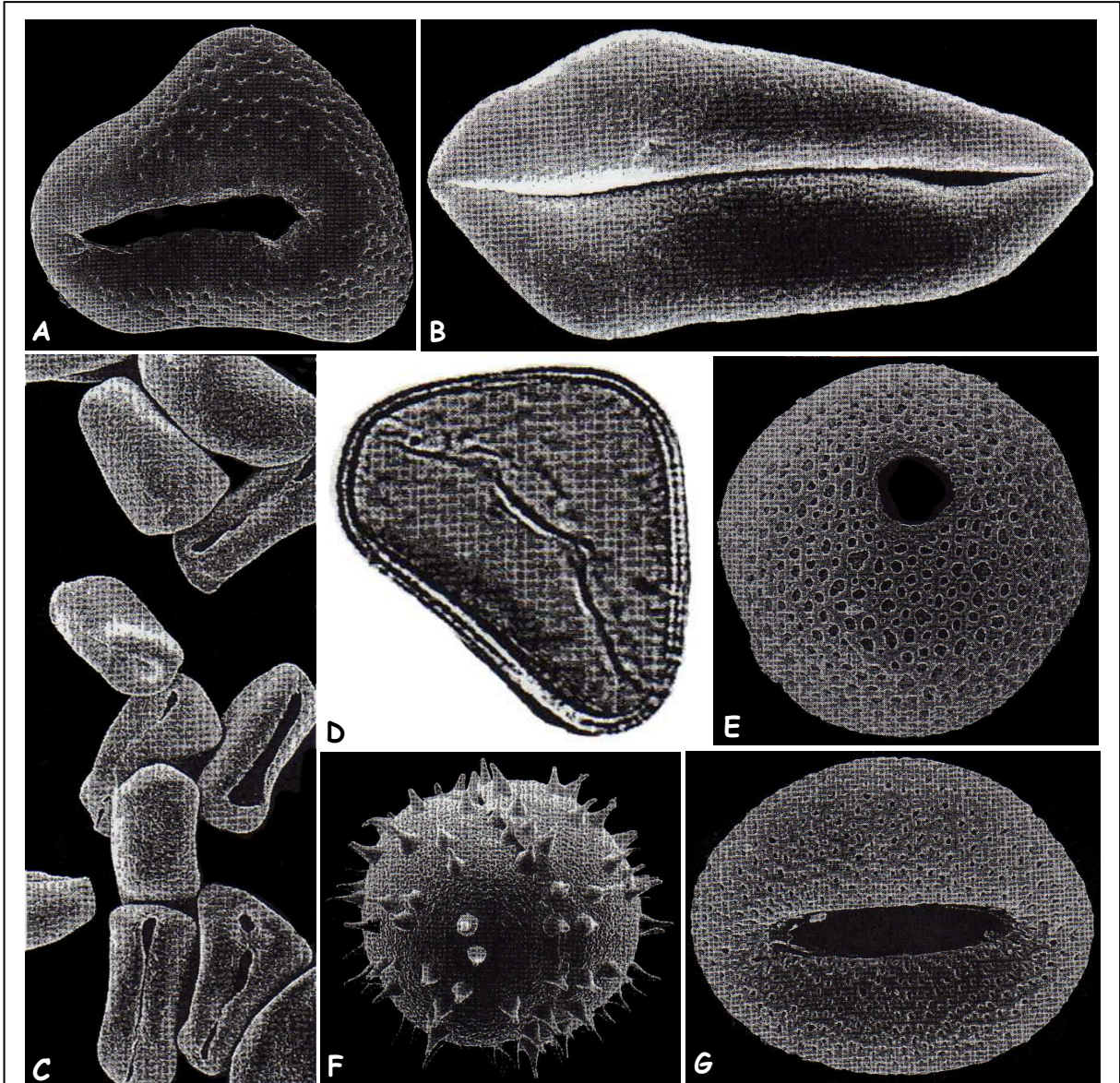


FIGURE 44. Les différentes formes de grain de pollen rencontrées chez les Arecaceae, d'après Harley et Baker (2001). A. Pollen piriforme en vue polaire d'*Attalea maripa* (Arecoideae) ; B. Pollen en forme de cerf-volant en vue polaire de *Syagrus sancona* (Arecoideae) ; C. Pollens oblongs de *Ptychosperma* sp. (Arecoideae) ; D. Pollen triangulaire en vue polaire de *Brahea dulcis* (Coryphoideae) ; E. Pollen sphérique en vue polaire de *Ravenea albicans* (Ceroxyloideae) ; F. Pollen sphérique de *Nypa fruticans* (Nypoideae) ; G. Pollen ovale en vue polaire d'*Areca whitfordii* (Arecoideae).

TABLEAU 2. Quelques exemples de dimensions de grains de pollen chez les Arecaceae, d'après Thanikaimoni (1970). L : grand axe du pollen mesuré en vue polaire ; l : petit axe du pollen mesuré en vue polaire ; h : l'axe polaire du pollen mesuré en vue méridienne. Les espèces produisant les plus petits et les plus grands grains de pollen sont représentées en gras.

Sous-famille	Espèce	L (µm)	l (µm)	h (µm)
CALAMOIDEAE	<i>Raphia pycnosticha</i>	22 - 25	17 - 18	14 - 16
	<i>Korthalsia laciniosa</i>	33 - 38	30 - 33	32 - 38
CORYPHOIDEAE	<i>Maxburretia rupicola</i>	14 - 16	10 - 12	10 - 12
	<i>Cryosophyla albida</i>	27 - 30	26 - 28	20 - 22
	<i>Sabal parviflora</i>	45 - 55	35 - 40	30 - 35
CEROXYLOIDEAE	<i>Ravenea amara</i>	24 - 26	22 - 24	21 - 22
	<i>Ceroxylon quindiuense</i>	42 - 50	33 - 45	25 - 40
	<i>Phytelephas sp.</i>	92 - 110	54 - 77	48 - 54
ARECOIDEAE	<i>Areca mammillata</i>	30 - 34	22 - 26	15 - 18
	<i>Acanthophoenix crinita</i>	68 - 77	33 - 42	30 - 33

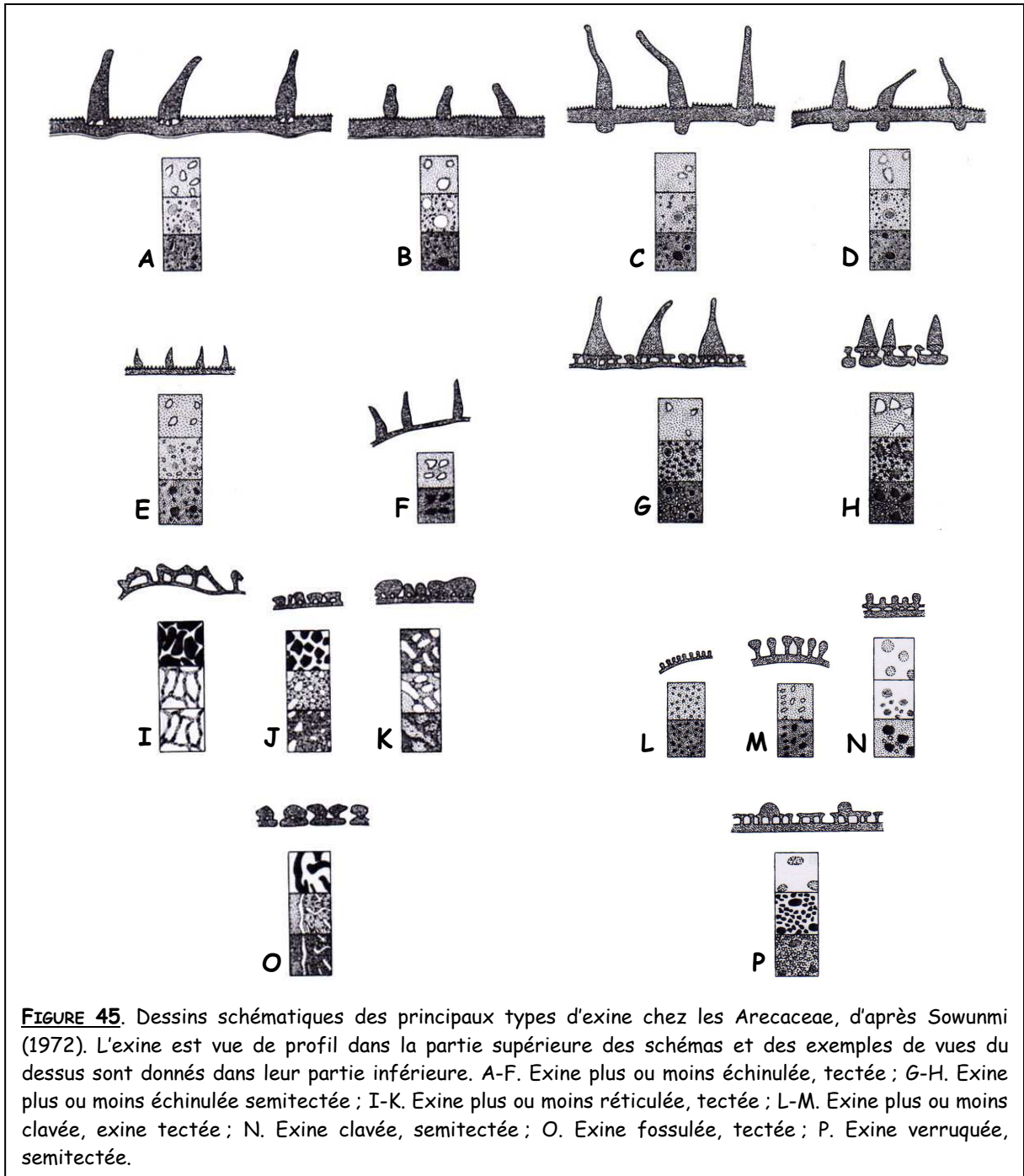
b. Structure de l'exine

Chez les palmiers, Thanikaimoni (1970) classe les types d'exine en deux groupes : (1) les exines lisses, scabres, fossulées et réticulées qui s'observent chez les Ceroxyloideae, les Coryphoideae et les Borasseae et (2) les exines échinulées, clavées et verruquées qui se rencontrent particulièrement chez les Lepidocaryeae. Pour Sowunmi (1972), les différents types d'exine rencontrés chez les Arecaceae vont de l'exine plus ou moins réticulée à l'exine clavée en passant par l'exine fossulée, verruquée et plus ou moins échinulée (Figure 45).

c. Diversité des types aperturax

Sowunmi (1972), a classé les pollens qu'il avait pu observer chez les Arecaceae en 25 types différents, en s'appuyant à la fois sur le type apertural, la forme du grain de pollen et la structure et l'ornementation présentées par l'exine. Par la suite, Ferguson et Harley (1993) ont décrit quatorze types de pollen différant par leur forme et leur type apertural. Harley (1999b) et Harley et Baker (2001) ont précisé cette classification. **Dix-sept types aperturax** sont actuellement répertoriés chez les palmiers, certains de ces types étant eux-mêmes subdivisés en classes (Figure 46 et annexe B).

Chez les palmiers, **l'hétéromorphisme est assez répandu** et concerne essentiellement la co-occurrence des pollens monosulqués et trichotomosulqués. Cependant, la proportion de formes trichotomosulquées est très variable selon les espèces. Certaines produisent en grande majorité des pollens trichotomosulqués (*Pinanga kuhlii*) alors que chez d'autres ils n'apparaissent qu'en très faible proportion (*Veitchia merrillii*).



2. Evolution du type pollinique chez les palmiers

Sowunmi (1968) est le premier à avoir publié une étude concernant l'évolution du type pollinique au sein des *Arecaceae*. Il propose cinq évolutions possibles du pollen à partir d'une forme monosulquée, considérée comme ancestrale aux palmiers (Figure 47) :









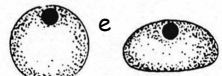








Types aperturaux	Dessins de grain de pollen	Exemples
(1) Monosulqué symétrique		CAL ; COR ; CER ; <i>Chamaedorea elegans</i> , ARE
(2) Monosulqué asymétrique		<i>Pritchardia minor</i> , COR ; CER ; <i>Attalea maripa</i> , ARE
(3) Monosulqué étendu		<i>Eremospatha macrocarpa</i> , CAL ; <i>Licuala</i> sp., COR ; <i>Hydriastele</i> sp., ARE
(4) Brévisulqué		<i>Borassodendron borneense</i> , COR ; <i>Eugeissona tristis</i> , CAL ; <i>Ammandra decasperma</i> , CER
(5) Dicolpé		<i>Calamus elopurensis</i> , CAL
(6) Disulqué = pontoperculé		<i>Iriartella setigera</i> , ARE
(7) Trichotomosulqué symétrique		<i>Bactris concinna</i> , ARE
(8) Trichotomosulqué asymétrique		COR ; CER ; <i>Reinardtia simplex</i> , ARE
(9) Monoporé symétrique		CAL ; <i>Ravenea albicans</i> , CER ; <i>Areca caliso</i> , ARE
(10) Monoporé asymétrique		<i>Pogonotium ursinum</i> , CAL
(11) Diporé		<i>Korthalsia merillii</i> , CAL
(12) Diporé sub-équatorial		<i>Eleiodoxa conferta</i> , CAL
(13) Triporé apical		<i>Areca klingkangensis</i> , ARE
(14) Triporé sub-apical		<i>Sclerosperma mannii</i> , ARE
(15) Incomplètement zonosulqué		<i>Areca abdulrahmanii</i> , ARE
(16) Zonosulqué		CAL ; <i>Nypa fruticans</i> , NYP
(17) Inaperturé		<i>Pigaffeta elata</i> , CAL

FIGURE 46. Présentation des différents types aperturaux rencontrés chez les palmiers selon Harley et Baker (2001). Les groupes taxonomiques au sein desquels ces types aperturaux sont rencontrés sont donnés selon la classification de Dransfield *et al.* (2005) ainsi que quelques espèces, à titre d'exemple. CAL : Calamoideae ; COR : Coryphoideae ; NYP : Nypoideae ; CER : Ceroxyloideae ; ARE : Arecoideae. p=vue polaire ; e=vue équatoriale.

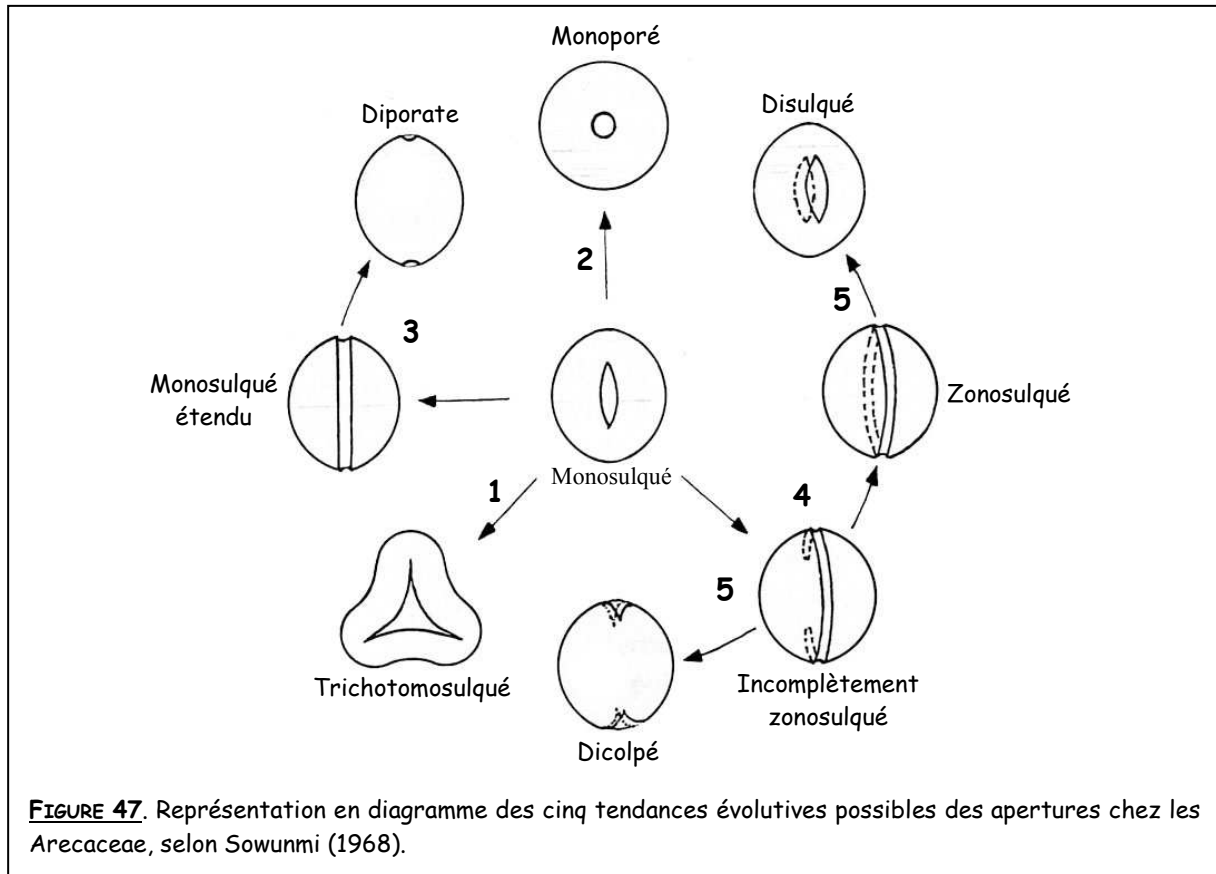


FIGURE 47. Représentation en diagramme des cinq tendances évolutives possibles des apertures chez les Arecaceae, selon Sowunmi (1968).

1) Vers une forme trichotomosulquée. Un changement dans la forme de la tétrade serait responsable de ce scénario évolutif : les tétrades décussées ou tétraogales donneraient des pollens monosulqués alors que les tétrades tétraédriques donneraient des pollens trichotomosulqués. Il est intéressant de constater que c'est effectivement la situation prévue par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) (Figure 48).

2) Vers une forme monoporée via un raccourcissement de l'aperture.

3) Vers une forme diporée. Les deux apertures en position équatoriale seraient en réalité les extrémités d'un sillon étendu dont la majeure partie aurait disparue.

4) Vers une forme zonosulquée via un allongement progressif de l'aperture.

5) Vers une forme dicolpée ou disulquée par l'intermédiaire de pollens zonosulqués ou incomplètement zonosulqués qui auraient perdu une partie de leur sillon.

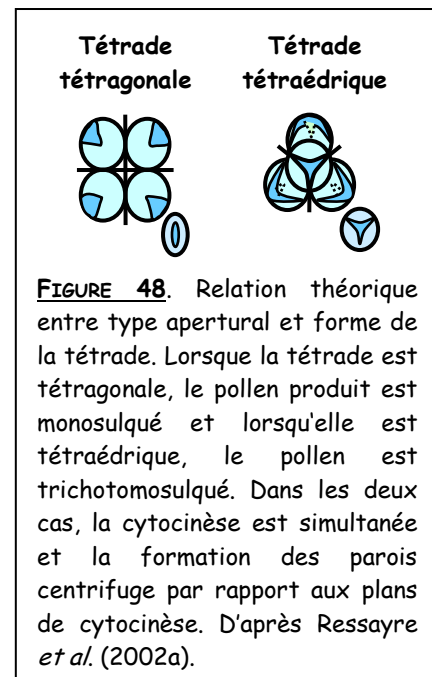


FIGURE 48. Relation théorique entre type apertural et forme de la tétrade. Lorsque la tétrade est tétraogale, le pollen produit est monosulqué et lorsqu'elle est tétraédrique, le pollen est trichotomosulqué. Dans les deux cas, la cytokinèse est simultanée et la formation des parois centrifuge par rapport aux plans de cytokinèse. D'après Ressayre *et al.* (2002a).

A partir de leurs observations personnelles, Harley, d'abord en 1999a puis en 2001 avec Baker, proposent plusieurs solutions pour expliquer l'évolution de la diversité des types aperturaux observée chez les Arecaceae (Figure 49) :

- Les tétrades tétraédriques sont issues de cytokinèses simultanées alors que les tétrades tétraogales sont issues de cytokinèses successives. Cette distinction entre types de cytokinèse et donc formes des tétrades engendre deux tendances évolutives principales.
- Les pollens trichotomosulqués sont considérés comme issus directement de pollen monosulqués mais, contrairement à Sowunmi (1968), les auteurs ne considèrent pas cette transition comme le résultat du passage de tétrades décussées ou tétraogales vers des tétrades tétraédriques. En effet, ici, les deux types de pollens peuvent être obtenus via des tétrades tétraédriques.
- Les pollens monoporés sont le résultat d'un raccourcissement progressif du sillon des pollens monosulqués. Un stade intermédiaire existe, représenté par les pollens brévisulqués. Ce type de transition se serait produit à la fois chez les espèces à cytokinèse simultanée et chez les espèces à cytokinèse successive.
- Les pollens dicolpés ne sont peut-être pas dérivés de pollens monosulqués contrairement à l'hypothèse de Sowunmi (1968). Selon Harley et Baker (2001) ils pourraient être à l'origine de plusieurs autres types aperturaux : le pollen diporé serait obtenu par raccourcissement des sillons et le pollen monosulqué étendu par allongement et fusion des deux sillons au pôle distal. Dans ce dernier

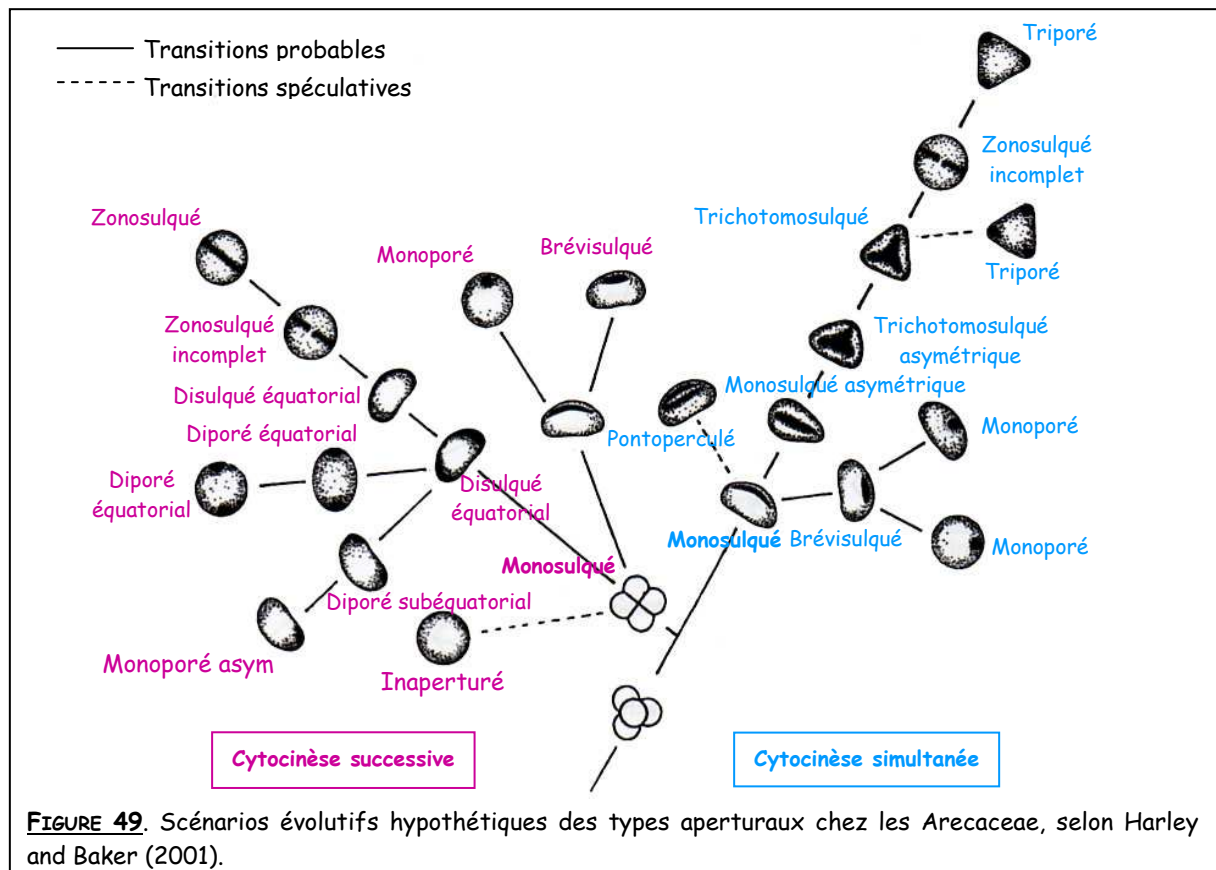


FIGURE 49. Scénarios évolutifs hypothétiques des types aperturaux chez les Arecaceae, selon Harley and Baker (2001).

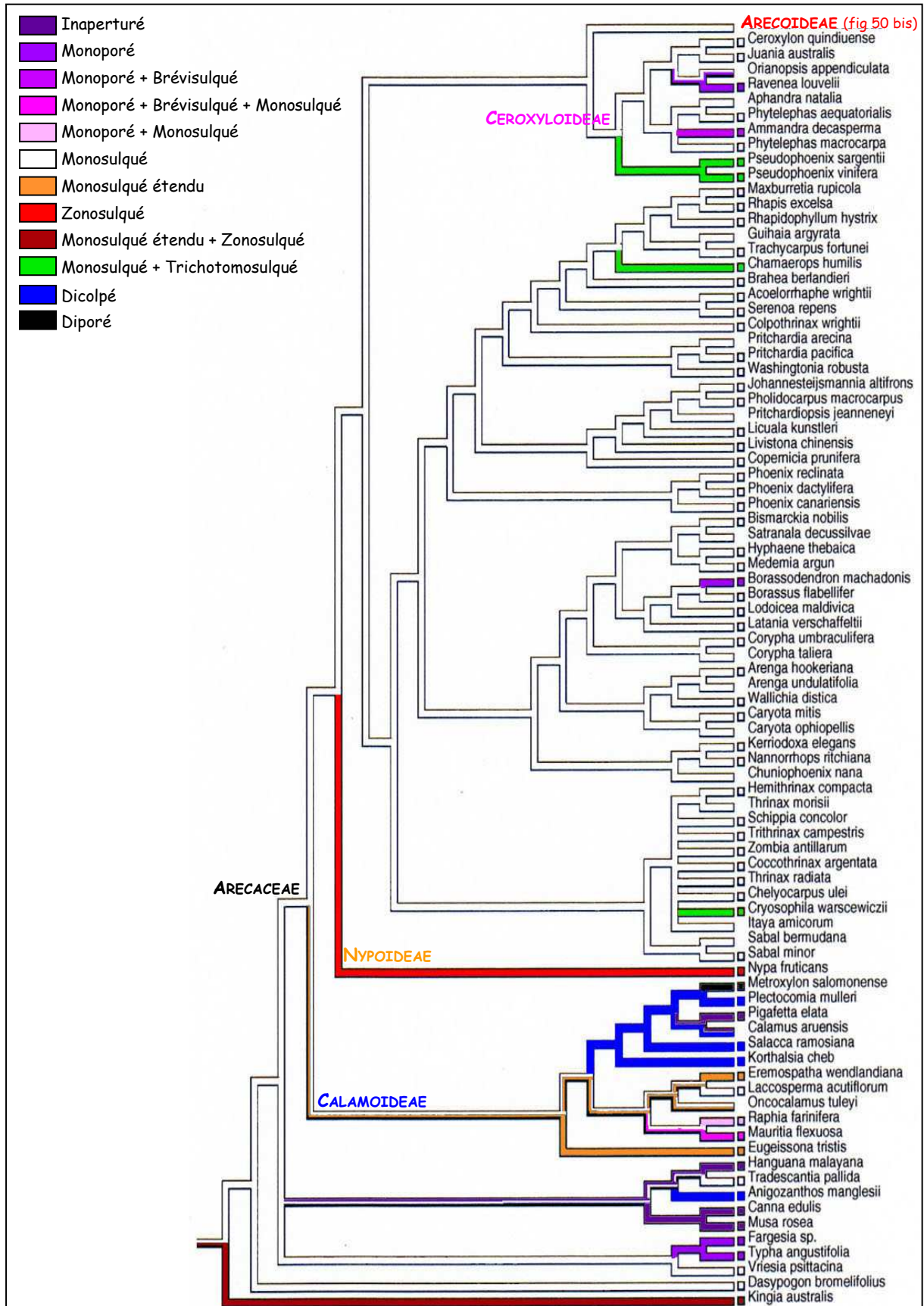


FIGURE 50. Reconstruction de l'évolution du caractère type d'aperture chez les Arecaceae. La reconstruction a été faite à l'aide du logiciel Mesquite (Maddison 2003) selon le principe du maximum de parcimonie. La phylogénie est dérivée d'Asmussen *et al.* (2006). L'état de caractère pour certaines espèces n'est pas connu (absence de).

cas, le sillon poursuivant son allongement, le pollen pourrait avoir évolué vers une forme incomplètement puis complètement zonosulquée.

- L'origine du pollen triporé et inaperturé reste floue mais, le premier pourrait être issu du pollen trichotomosulqué. L'origine du pollen inaperturé serait par contre indépendante des autres formes de pollen.

Afin de tester le scénario proposé par Harley et Baker (2001), j'ai reconstruit l'évolution du type pollinique chez les *Arecaceae* en utilisant les catégories polliniques qu'ils avaient déterminées. Les Figures 50 et 50 bis représentent ce travail, réalisé à partir de la phylogénie d'Asmussen *et al.* (2006) et en utilisant le logiciel Mesquite (Maddison & Maddison 2003) et la méthode du maximum de parcimonie. Les informations concernant les types polliniques ont été extraites de divers articles (Erdtman 1952, Sowunmi 1968, Thanikaimoni 1970, Sowunmi 1972, Ferguson *et al.* 1983, Ferguson *et al.* 1987, Mendis *et al.* 1987, Ferguson *et al.* 1987-1988, Barfod 1988, Dransfield *et al.* 1990, Harley 1990, Ferguson & Harley 1993, Harley & Morley 1995, González-Cervantes *et al.* 1997, Harley 1999a, 1999b, Harley & Baker 2001, Harley & Dransfield 2003) et sont explicitées dans l'annexe C. Les données n'étant pas disponibles pour toutes les espèces de la phylogénie, j'ai parfois utilisé le type pollinique produit par des espèces congénériques. Parfois, plusieurs types de pollen peuvent être observés au sein d'un même genre (c'est le cas par exemple pour le genre *Areca*). Dans ce cas, j'ai choisi de tenir compte de tous les types polliniques rencontrés dans le genre et de coder l'état de caractère pour l'espèce en question comme de l'hétéromorphisme pollinique.

La classification d'Harley et Baker (2001) a été simplifiée ; aucune distinction n'a été faite entre les formes symétriques et asymétriques. Il n'existe donc qu'une classe de pollens monosulqués, de pollens trichotomosulqués et de pollens monoporés. La position des pores des pollens diporés ou triporés n'est pas non plus prise en compte. Enfin, les pollens incomplètement et complètement zonosulqués sont inclus dans la même catégorie. Il est important de préciser que les auteurs aboutissent parfois à des conclusions différentes pour l'identification du type pollinique chez une même espèce. Lorsque c'était le cas, j'ai considéré qu'il pouvait y avoir co-occurrence de plusieurs types polliniques au sein de la même espèce. Les informations que l'on peut retirer de l'évolution et de la répartition des types polliniques chez les palmiers sont brièvement décrites ci-dessous et résumées sur la figure 51 :

- **La forme pollinique monosulquée la plus répandue chez les *Arecaceae* serait aussi la forme ancestrale à la famille.**
- Seules deux espèces produisent exclusivement du pollen trichotomosulqué : *Carpoxylon macrospermum* et *Hydriastele microspadix* (*Arecaceae*, *Arecoideae*). Ce type pollinique est relativement

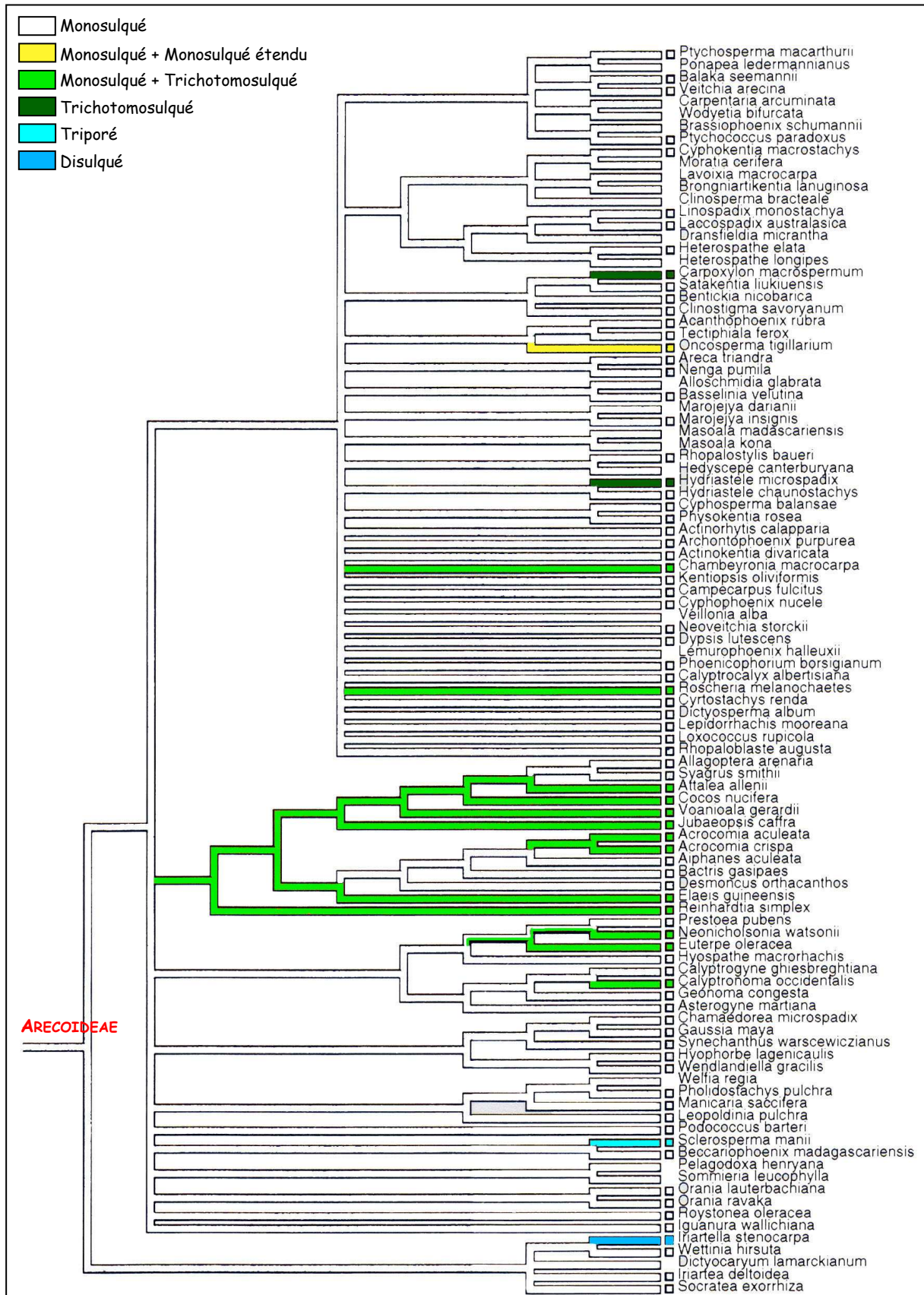


FIGURE 50 BIS. Reconstruction de l'évolution du caractère type d'ouverture chez les Arecaceae (suite). La reconstruction a été faite à l'aide du logiciel Mesquite (Maddison 2003) selon le principe du maximum de parcimonie. La phylogénie est inspirée d'Asmussen *et al.* (2006). L'état de caractère pour certaines espèces n'est pas connu (absence de).

répandu chez les palmiers mais il est très généralement rencontré en association avec du pollen monosulqué, donc en situation d'hétéromorphisme. Ce type d'hétéromorphisme se rencontre fréquemment chez les Arecoideae mais reste ponctuel chez les Ceroxyloideae (*Pseudophoenix*) et les Coryphoideae (*Chamaerops* et *Cryosophila*). Chez les Arecoideae, cet hétéromorphisme serait ancestral dans le groupe formé d'une partie des Cocosaeae et des Reinhardtiaeae. Cette situation suggère que le passage du pollen monosulqué au

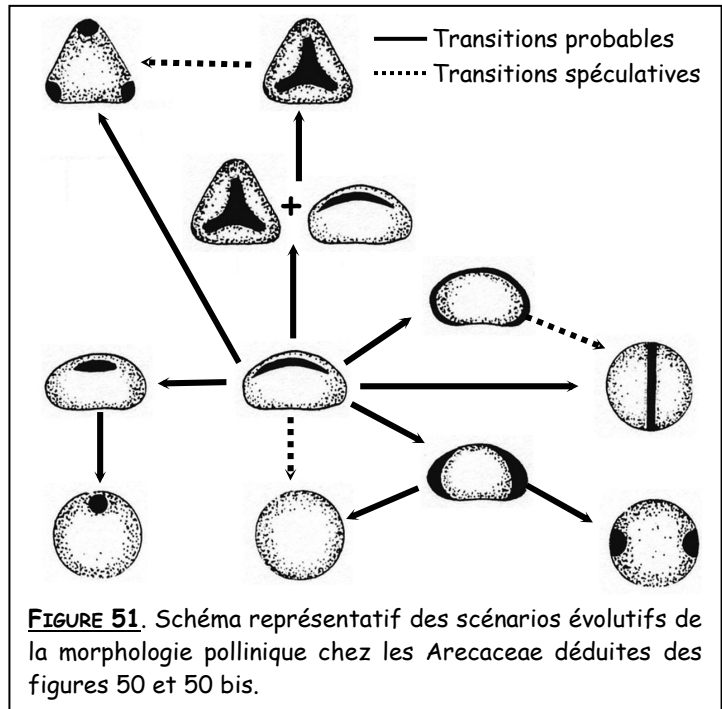


FIGURE 51. Schéma représentatif des scénarios évolutifs de la morphologie pollinique chez les Areceaceae déduites des figures 50 et 50 bis.

pollen trichotomosulqué est effectivement possible et que l'hétéromorphisme représenterait une **étape transitoire** entre ces formes polliniques. Il est intéressant de noter cependant que des réversions sont possibles puisque certaines espèces de ce clade sont monomorphes.

- L'hétéromorphisme concerne également la longueur du sillon. *Oncosperma tigillarum* (Areceae, Arecoideae) produit par exemple du pollen monosulqué et monosulqué étendu. Chez *Ammandra decasperma* (Phytelepheaee, Ceroxyloideae), Thanikaimoni (1970) et Barfod (1988) ont observé du pollen monosulqué alors qu'Harley (1999a) et Harley et Baker (2001) ont noté du pollen brévisulqué. Chez *Raphia farinifera* (Lepidocaryeae, Calamoideae), Thanikaimoni (1970) a observé à la fois du pollen monosulqué et monopore. Enfin, chez *Mauritia flexuosa* (Lepidocaryeae, Calamoideae), Erdtman (1952), Sowunmi (1968, 1972) et Thanikaimoni (1970) ont noté la présence de pollen monosulqué mais aussi parfois de pollens monopores et brévisulqués.
- Les pollens à deux ouvertures en position équatoriale sont particulièrement fréquents chez les Calamoideae. **Le pollen dicolpé serait même ancestral aux Calameae** (Calamoideae).
- Le pollen tripore n'est apparu qu'une fois dans la phylogénie, chez *Sclerosperma manii* (Sclerospermeae, Arecoideae). Toutefois, Harley et Dransfield (2003) indiquent que l'espèce *Areca klingkangensis* (Areceae, Arecoideae), produit également ce type de pollen. Malheureusement, cette espèce très rare n'a jamais pu être ré-échantillonnée pour vérification. Le pollen tripore est donc très peu fréquent chez les Areceaceae. Sur la phylogénie, il apparaît directement dérivé de la forme monosulquée, ce qui est légèrement différent de la situation prédite par Harley et Dransfield (2003). En effet, pour ces auteurs, le pollen tripore de *Sclerosperma manii* dériverait d'une forme monosulquée via une forme intermédiaire trichotomosulquée dont on ne dispose pas. En revanche, le

pollen triporé d'*Areca klinkangensis* dériverait d'une forme zonosulquée, ce qui est tout à fait envisageable si l'on considère que les formes monosulquée, trichotomosulquée mais aussi monosulquée étendue et zonosulquée sont produites par différentes espèces appartenant à ce genre.

- On peut constater que le pollen inaperturé est apparu au moins une fois chez les *Arecaceae*, chez *Pigafetta elata* (*Calameae*, *Calamoideae*) où il semblerait issu de pollen dicolporé, ce qui n'apparaissait pas évident selon Harley et Baker (2001). Au contraire, chez trois des espèces choisies comme groupes extérieurs, le pollen inaperturé semble dérivé du pollen monosulqué. Le problème dans ce dernier cas, c'est que ces espèces sont censées être représentatives de familles entières différentes dont les membres ne produisent peut-être pas tous du pollen inaperturé. Dans ces conditions, et l'occurrence de ce type de pollen étant très rare chez les *Arecaceae*, il est difficile de conclure quoi que ce soit quant à l'origine de la forme inaperturée.
- Linder (2000) trouve une corrélation entre la réduction de la taille de l'aperture et la pollinisation par le vent chez les Angiospermes. Plus précisément, il semblerait que l'apparition de la pollinisation par le vent soit suivie d'un raccourcissement du sillon. C'est le cas par exemple chez les *Poaceae*. Ici, chez les *Arecaceae*, quelques espèces produisent du pollen monoporé ou brévisulqué qui semble toujours dérivé d'une forme monosulquée. Je me suis alors interrogée sur le mode de pollinisation adopté par ces espèces. Malheureusement, peu de données sur ce dernier trait sont disponibles dans la littérature. Les seuls genres de palmier répertoriés dont la pollinisation serait anémophile sont *Zombia*, *Coccothrinax*, *Thrinax* et *Raphia* (Henderson 1986). Excepté pour le genre *Raphia* où du pollen monoporé est effectivement produit, toutes les autres espèces produisent du pollen monosulqué. D'autre part, les genres *Ammandra* et *Borassodendron* qui produisent du pollen monoporé sont plutôt pollinisés par des insectes (Henderson 1986, Ferguson *et al.* 1987) et les modes de pollinisation des genres *Ravenea* et *Mauritia* produisant également ce type de pollen restent inconnus à ce jour. J'ai également cherché à savoir quel était le type de pollinisation rencontré chez les espèces *Metroxylon salamonense* (*Calamoideae*) et *Sclerosperma manii* (*Arecoideae*). La première produit du pollen diporé dont les apertures se seraient raccourcies à partir de la forme disulquée et la seconde présente du pollen triporé. Malheureusement, je n'ai pas pu là encore obtenir d'information sur leur mode de pollinisation. Au vu de ces informations, il est impossible de conclure quoique ce soit sur des relations pouvant exister entre mode de pollinisation et type pollinique.

Ces résultats doivent être modérés par le fait que nous ne disposons pas de toutes les informations nécessaires ; certains genres ne sont pas encore inclus dans la phylogénie des *Arecaceae*, et même parmi les espèces prises en compte, le type de pollen produit par beaucoup reste inconnu à ce

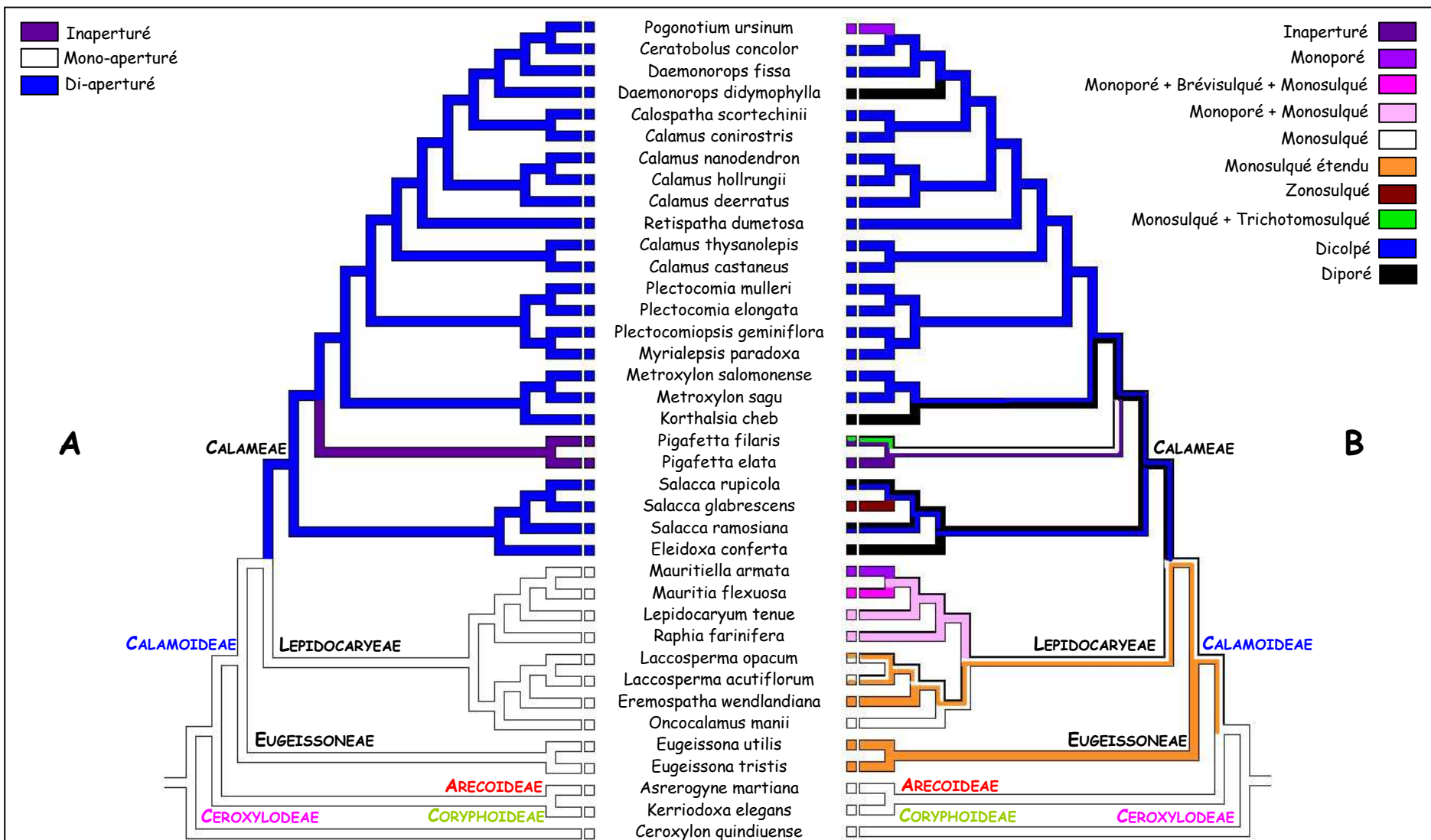


FIGURE 52. Reconstruction de l'évolution du type pollinique chez les Calamoideae. A. Evolution du nombre d'ouvertures selon Harley et Baker (2001) ; B. Evolution du type apertural selon les catégories polliniques établies par Harley et Baker (2001) et à partir de données de la littérature. La reconstruction a été faite à l'aide du logiciel Mesquite (Maddison 2003) selon le principe du maximum de parcimonie. Les noms des sous-familles et des tribus sont indiqués.

jour. D'autre part, la variation intra-générique, parfois très importante, n'est quasiment pas représentée dans cette étude.

Harley et Baker (2001) ont reconstruit l'évolution du nombre d'ouvertures dans le groupe des Calamoideae par maximum de parcimonie (Figure 52A), sans tenir compte des catégories polliniques plus précises qu'ils avaient établies. J'ai donc repris la même phylogénie et j'ai reconstruit l'évolution du type apertural selon ces catégories polliniques et en utilisant les données que j'ai pu trouver dans la littérature (Figure 52B). Les principaux résultats sont décrits ci-dessous :

- Les pollens monosulqués et monosulqués étendus sont souvent rencontrés au sein d'une même espèce et il apparaît difficile de savoir lequel est à l'origine de l'autre. Les deux solutions sont sans doute possibles et même probables. D'autre part, ces deux types polliniques sont particulièrement difficiles à différencier et lorsqu'un auteur décrit un pollen comme monosulqué étendu, un autre auteur peut très bien le décrire comme simplement monosulqué. On peut donc simplement constater que les Eugeissoneae et une partie des Lepidocaryeae produisent un pollen à l'ouverture clairement en forme de sillon.
- Chez le reste des Lepidocaryeae, on observe une réduction de l'ouverture qui devient un pore. Les genres *Mauritia* et *Mauritiella* présentent même de l'hétéromorphisme avec production de pollen monoporé et monosulqué, voire même brévisulqué. Ces résultats indiqueraient les passages réciproques de l'une à l'autre de ces formes.
- Les Calameae présentent majoritairement du pollen à deux ouvertures, qu'il soit diporé ou dicolpé. Comme pour les pollens monosulqué et monosulqués étendus, il est difficile de conclure quant au type de pollen à l'origine de l'autre. Là encore, les passages réciproques d'une forme pollinique à l'autre semblent possibles. L'un ou l'autre de ces pollens dériverait même vers une forme méridionosulquée (ouverture en forme d'anneau le long de l'équateur) chez *Salacca glabrescens* (Calameae). Il semblerait plus logique dans ce cas que la forme diporée en soit à l'origine, les sillons des pollens dicolpés étant orientés vers les pôles.
- Enfin, il pourrait y avoir eu transition de la forme dicolpée vers la forme monoporée chez *Pogonotium ursinum* (Calameae).

Malgré la prédominance de la forme monosulquée, les palmiers présentent une grande diversité du type apertural qui concerne à la fois le nombre et la forme des ouvertures. Le type pollinique ancestral aux palmiers serait monosulqué et aurait évolué dans diverses directions, en particulier selon le type de cytotinèse et selon la forme de la tétrade. L'hétéromorphisme est également assez répandu dans cette famille. La signification fonctionnelle des variations du nombre et de la taille des ouvertures reste encore inexpliquée.

B. Diversité de la microsporogénèse

Le type apertural et la microsporogénèse sont sans aucun doute étroitement liés (voir chapitre II). Au vu de la remarquable diversité des types polliniques produits chez les Arecaceae, nous pourrions raisonnablement nous attendre à observer dans cette famille une **diversité comparable de la microsporogénèse**. Mon travail a donc consisté dans un premier temps à échantillonner quelques espèces de palmiers, à observer et à décrire les différentes composantes de leur microsporogénèse.

1. Matériel et méthodes

❖ Le matériel a été principalement échantillonné en Floride (USA), au Montgomery Botanical Center (MBC), mais aussi aux serres d'Auteuil du Jardin Botanique de la Ville de Paris (JBVP), aux serres de Chèvreloup du Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) en région parisienne et au jardin botanique de Kew (GB). Au total, 24 espèces appartenant à 17 genres, sept tribus et deux sous-familles ont pu être échantillonnées (Tableau 3). La liste des espèces accompagnée de leur lieu d'origine et de leur numéro de collection est également donnée dans l'annexe D.

TABLEAU 3. Liste des espèces de palmiers échantillonnées. Les sous-familles et les tribus auxquelles elles appartiennent sont spécifiées selon la classification de Dransfield *et al.* (2005).

Sous-famille	Tribu	Genre	Espèce	
Coryphoideae	Sabaleae	<i>Sabal</i>	<i>maritima</i>	
		Livistoneae	<i>Serenoa</i>	<i>repens</i>
			<i>Copernicia</i>	<i>hospita</i>
			<i>Trachycarpus</i>	<i>fortunei</i>
	Caryoteae	<i>Caryota</i>	<i>mitis</i>	
	Borasseae	<i>Hyphaene</i>	<i>coriacea</i>	
		<i>Bismarckia</i>	<i>nobilis</i>	
	Arecoidaeae	Cocoseae	<i>Allagoptera</i>	<i>arenaria</i>
			<i>Butia</i>	sp.
		Chamaedoreae	<i>Chamaedorea</i>	<i>ernesti-augustii</i>
<i>Chamaedorea</i>			<i>macrospadix</i>	
<i>Chamaedorea</i>			<i>microspadix</i>	
<i>Chamaedorea</i>			<i>plumosa</i>	
<i>Chamaedorea</i>			<i>radicalis</i>	
<i>Chamaedorea</i>			<i>seifrizii</i>	
<i>Gaussia</i>			<i>attenuata</i>	
<i>Hyophorbe</i>			<i>lagenicaulis</i>	
<i>Synechanthus</i>			<i>fibrosus</i>	
Areceae			<i>Areca</i>	<i>catechu</i>
			<i>Ptychosperma</i>	<i>elegans</i>
			<i>Ptychosperma</i>	<i>microcarpum</i>
	<i>Ptychosperma</i>	sp.		
	<i>Dypsis</i>	<i>decaryi</i>		
	<i>Veitchia</i>	<i>spiralis</i>		

❖ De manière à disposer de toutes les étapes de la microsporogénèse, les boutons floraux ont été récoltés à différents stades de développement. Les étamines ont alors été écrasées entre lame et lamelle et une goutte de colorant y a été ajoutée. Le **Carmin acétique** colorant les noyaux est utilisé pour déterminer le type de cytotinèse ; le **Bleu d'Aniline** rendant la callose fluorescente sous un éclairage UV permet d'observer le sens de formation des parois de callose, les dépôts additionnels de callose ainsi que la forme des tétrades matures ; le **Rouge Congo** colorant l'exine permet l'observation des apertures, parfois dès la fin du stade tétrade. Chez les palmiers, ce type de coloration ne nous a presque jamais permis d'observer les apertures au stade tétrade, excepté chez *Chamaedorea macrospadix* et *C. microspadix*. Toutefois, il s'est avéré que les apertures étaient généralement visibles dans les tétrades colorées au Bleu d'Aniline et observées avec un filtre FITC au lieu du filtre DAPI généralement utilisé. Les observations ont été réalisées en microscopie à transmission directe pour le Carmin acétique et le Rouge Congo, et à épifluorescence pour le Bleu d'Aniline. Dans ce dernier cas, différents filtres ont été utilisés : filtre **DAPI** (Di Aminido Phenyl Indol), filtre **FITC** (Fluoresceine IsoThioCyanate) et filtre **IP** (Iodure de Propidium). La microscopie confocale a également été utilisée pour compléter ou confirmer certaines observations.

❖ Pour de plus amples informations sur les techniques utilisées, se référer aux sections « Material and Methods » des articles suivants : Sannier *et al.* (2006) p.99, Sannier *et al.* (soumis) p.133 et Nadot *et al.* (2006) p.197, ainsi qu'à l'annexe E.

2. Résultats

Les résultats obtenus sont en partie décrits et discutés dans les différents articles suivants, présentés à la fin de ce chapitre, p.99 pour le premier et à la fin de la conclusion générale, p.197 pour le second :

- **Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen.** 2006.

Sannier J., Nadot S., Forchioni A., Harley M. et Albert B. *Botanical journal of the Linnean Society* 151 : 93-102.

- **Links between early pollen development et aperture pattern in monocots.** 2006.

Nadot S., Forchioni A., Penet L., Sannier J. et Ressayre A. *Protoplasma* 228 : 55-64.

Je vais résumer l'ensemble de ces résultats dans la suite de ce chapitre, à l'aide du tableau 4 et des figures 53, 54, 55 et 56 qui présentent des résultats non publiés. Lorsque nous ferons référence à des résultats déjà publiés, la figure ou le tableau de l'article concerné seront cités.

TABLEAU 4. Liste des états de caractère concernant le type de cytokinèse, la forme de la tétrade, le sens de formation des parois séparant les microspores, les dépôts additionnels de callose et l'anneau de callose pour chaque espèce étudiée. SUCC : cytokinèse successive ; SIM : cytokinèse simultanée ; Cp/Plans : Centripète par rapport aux plans de cytokinèse ; Cp/Tétrade : Centripète par rapport à la tétrade ; Cf/Plans : Centrifuge par rapport aux plans de cytokinèse ; + : Présence ; - : Absence ; L'hétéromorphisme pollinique correspond à une co-occurrence de pollen trichotomosulqués et monosulqués avec une grande majorité de ces derniers.

Espèces	Cytokinèse	Forme des tétrades (forme majoritaire)	Sens de formation des parois	Dépôts additionnels de callose	Anneau de callose	Type pollinique
<i>Sabal maritima</i> ^{***}	SIM (& SUCC ?)	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	+	Monosulqué
<i>Trachycarpus fortunei</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	+	Monosulqué
<i>Serenoa repens</i> ^{**}	SUCC & SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	-	+	Monosulqué
<i>Copernicia hospita</i> ^{**}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	+	Monosulqué
<i>Caryota mitis</i> ^{**}	SUCC & SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Monosulqué
<i>Bismarckia nobilis</i> ^{***}	SIM (& SUCC ?)	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Tétrade ; Cp/Plans ; Cf/Plans	-	-	Monosulqué
<i>Hyphaene coriacea</i> ^{**}	SUCC & SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/plans ; Cf/Plans	+	+	Monosulqué
<i>Hyophorbe lagenicaulis</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Hétéromorphisme
<i>Synechantus fibrosus</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	-	Monosulqué
<i>Chamaedorea ernesti-augustii</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	-	Monosulqué
<i>Chamaedorea macrospadix</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	-	Hétéromorphisme
<i>Chamaedorea microspadix</i> [*]	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	-	Hétéromorphisme
<i>Chamaedorea plumosa</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	-	Monosulqué
<i>Chamaedorea radicalis</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	-	Monosulqué
<i>Chamaedorea seifrizii</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	-	Monosulqué
<i>Gaussia attenuata</i> [*]	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	-	-	Hétéromorphisme
<i>Allagoptera arenaria</i> ^{**}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cp/Plans	-	-	Monosulqué
<i>Butia sp.</i> ^{**}	SUCC & SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Monosulqué
<i>Areca catechu</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Monosulqué
<i>Ptychosperma elegans</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Monosulqué
<i>Ptychosperma microcarpum</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Hétéromorphisme
<i>Ptychosperma sp.</i> ^{***}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Hétéromorphisme
<i>Veitchia spiralis</i> ^{**}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Monosulqué
<i>Dypsis decaryi</i> ^{**}	SIM	Hétéromorphisme (tétraédriques)	Cf/Plans	+	-	Monosulqué

* Données disponibles dans l'article suivant : Nadot *et al.* (2006)

** Données disponibles dans l'article suivant : Sannier *et al.* (2006)

*** Données fournies par les figures 53, 54, 55 et 56.

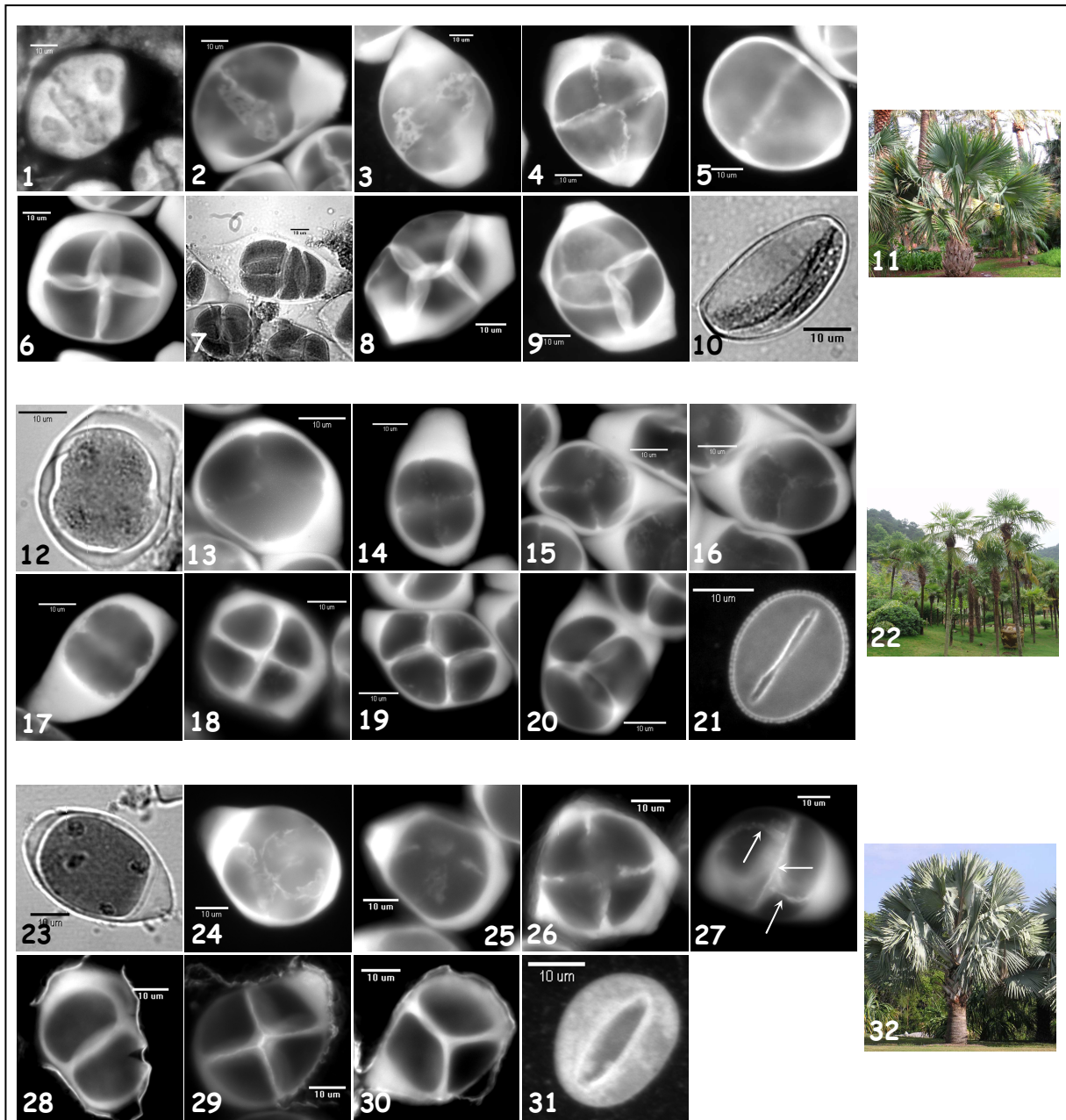


FIGURE 53. Microsporogénèse chez trois espèces de Coryphoideae. En couleur sont indiquées les colorations utilisées.

- *Sabal maritima* (Sabalaeae) : 1. Bleu d'Aniline, filtre FITC ; 2-6, 8-9. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 7, 10. Carmin acétique. 1-2. Dyade ; 3-4. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 5. Anneau de callose ; 6. Tétrade tétragonale ; 7. Tétrade en T ; 8. Tétrade rhomboïdale ; 9. Tétrade tétraédrique ; 10. Grain de pollen monosulqué ; 11. Palmier²⁷.

- *Trachycarpus fortunei* (Livistoneae) : 12. Carmin acétique ; 13-20. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 21. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 12. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 13-16. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 17. Anneau de callose ; 18. Tétrade tétragonale ; 19. Tétrade rhomboïdale ; 20. Tétrade tétraédrique ; 21. Grain de pollen monosulé. 22. Palmier²⁸.

- *Bismarckia nobilis* (Borasseae) : 23. Carmin acétique ; 24-30. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 31. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 23. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 24. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 25. Formation simultanée et centrifuge des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 26. Formation simultanée et centripète par rapport à la tétrade ; 27. Tétrade décussée à trois plans de cytokinèse (flèches) ; 28. Tétrade tétragonale ; 29. Tétrade rhomboïdale ; 30. Tétrade tétraédrique ; 31. Grain de pollen monosulé ; 32. Palmier.

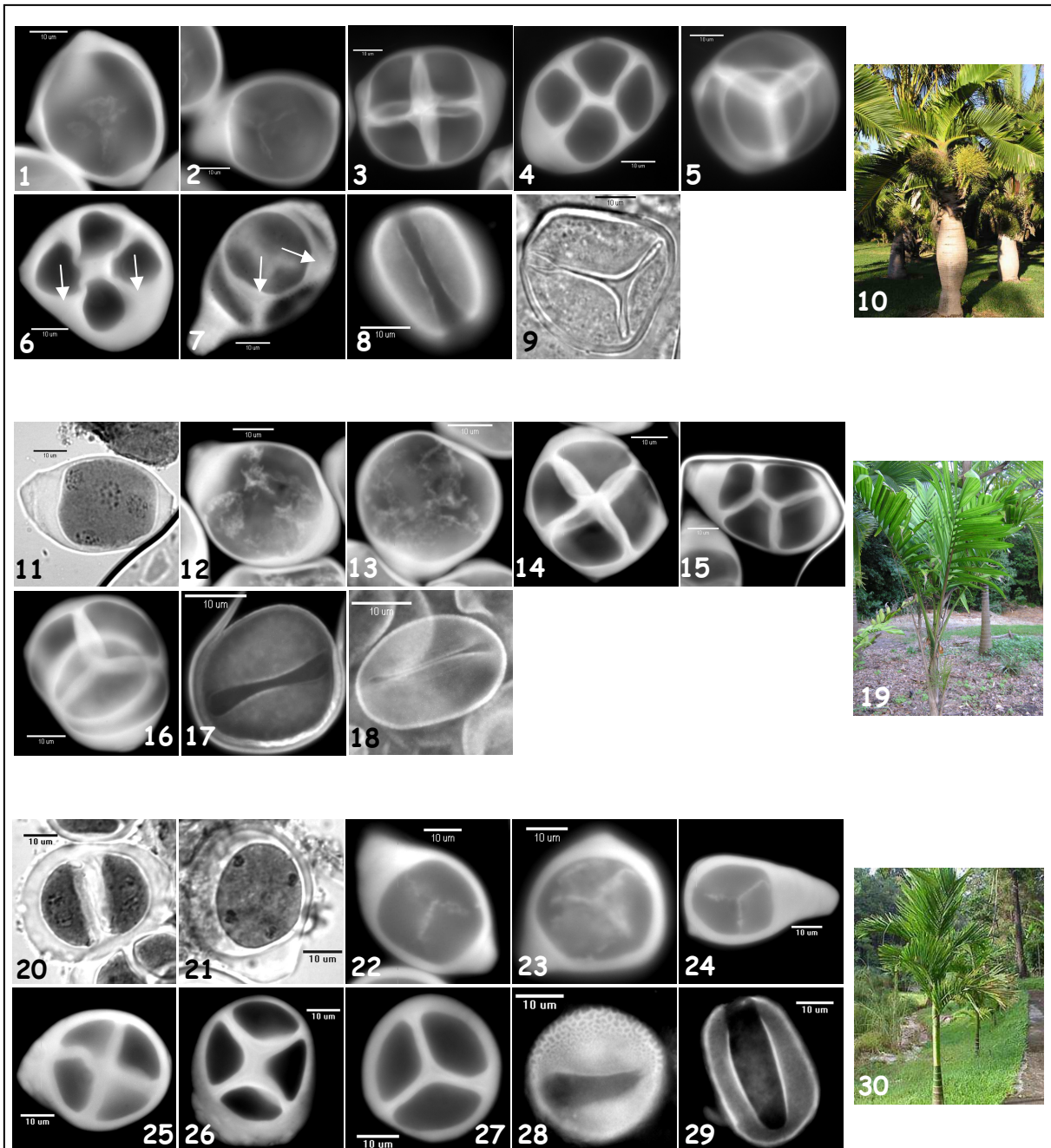


FIGURE 54. Microsporogénèse chez trois espèces d'Arecoideae. En couleur sont indiquées les colorations utilisées.

- *Hyophorbe lagenicaulis* (Chamaedoreae) : 1-7. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 8-9. Bleu d'Aniline, filtre FITC ; 10. Rouge Congo. 1-2. Formation simultanée et centrifuge des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 3. Tétrade tétragonale ; 4. Tétrade rhomboïdale ; 5. Tétrade tétraédrique ; 6-7. Dépôts additionnels de callose aux points d'intersection des plans de cytokinèse (flèches) ; 8. Grain de pollen monosulqué ; 9. Grain de pollen trichotomosulqué ; 10. Palmier.

- *Synechantus fibrosus* (Chamaedoreae) : 11. Carmin acétique ; 12-16. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 17-18. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 11. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 12-13. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 14. Tétrade tétragonale ; 15. Tétrade rhomboïdale ; 16. Tétrade tétraédrique ; 17-18. Grains de pollen monosulqués. 19. Palmier.

- *Areca catechu* (Areceae) : 20-21. Carmin acétique ; 22-27. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 28-29. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 20. Dyade ; 21. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 22-24. Formation simultanée et centrifuge des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 25. Tétrade tétragonale ; 26. Tétrade rhomboïdale ; 27. Tétrade tétraédrique ; 28-29. Grains de pollen monosulqués ; 30. Palmier²⁹.

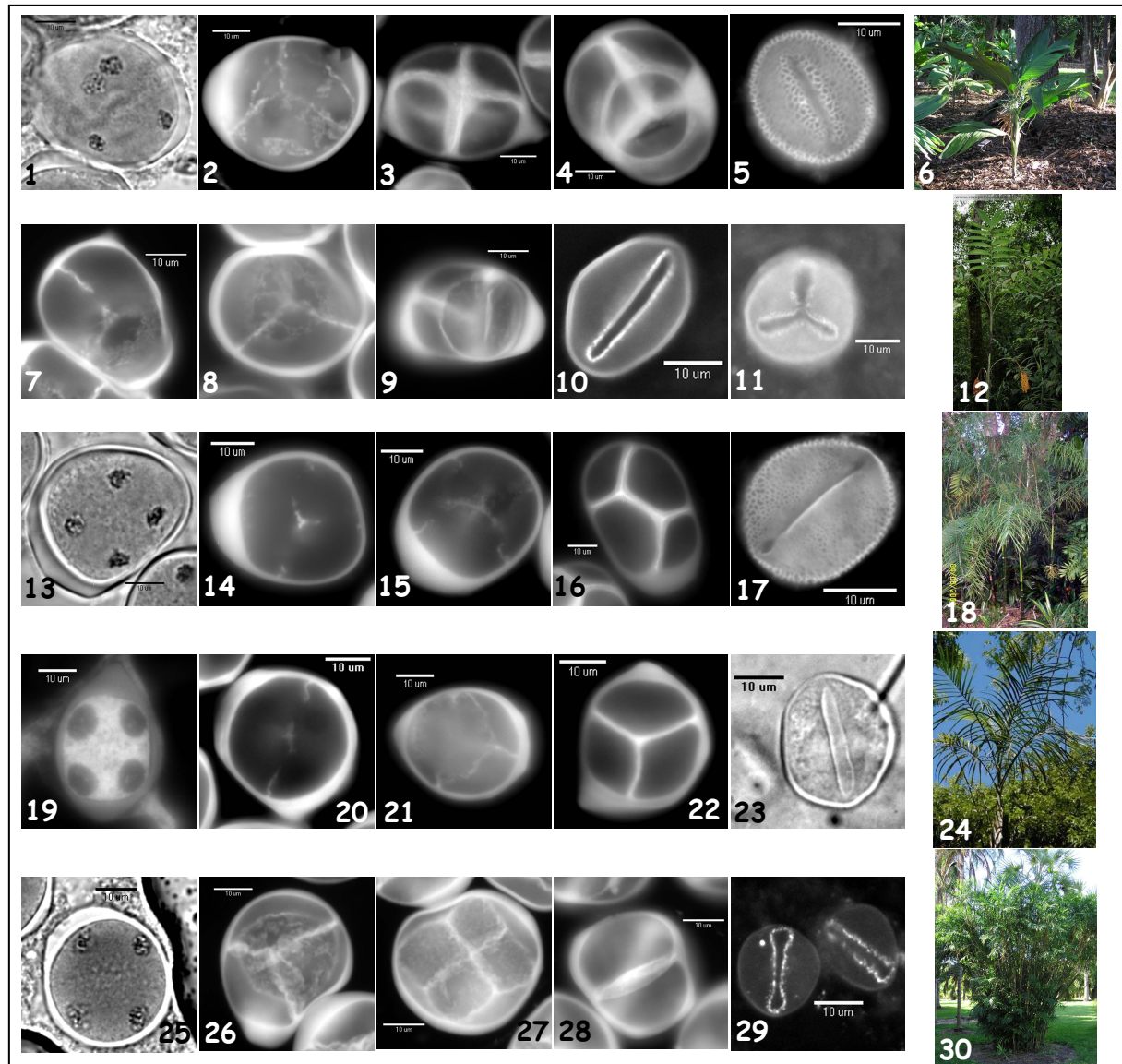


FIGURE 55. Microsporogénèse chez cinq espèces d'Arecoideae. En couleur sont indiquées les colorations utilisées.

- *Chamaedorea ernesti-augustii* (Chamaedoreae) : 1. Carmin acétique ; 2-4. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 5. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 1. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 2. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 3. Tétrade tétraogonale ; 4. Tétrade tétraédrique ; 5. Grain de pollen monosulqué ; 6. Palmier.

- *Chamaedorea macrospadix* (Chamaedoreae) : 7-9. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 10-11. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 7-8. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 9. Tétrade tétraédrique ; 10. Grain de pollen monosulqué ; 11. Grain de pollen trichotomosulqué ; 12. Palmier³⁰.

- *Chamaedorea plumosa* (Chamaedoreae) : 13. Carmin acétique ; 14-16. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 17. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 13. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 14-15. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 16. Tétrade rhomboïdale ; 17. Grain de pollen monosulqué ; 18. Palmier³¹.

- *Chamaedorea radicalis* (Chamaedoreae) : 19. Bleu d'Aniline, filtre IP ; 20-22. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 23. Rouge Congo. 19. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 20-21. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 22. Tétrade tétraédrique ; 23. Grain de pollen monosulqué ; 24. Palmier³².

- *Chamaedorea seifrizii* (Chamaedoreae) : 25. Carmin acétique ; 26-29. Bleu d'Aniline, filtre DAPI. 25. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 26-27. Formation simultanée et centripète des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 28. Tétrade décussée ; 29. Grains de pollen monosulqués ; 30. Palmier.

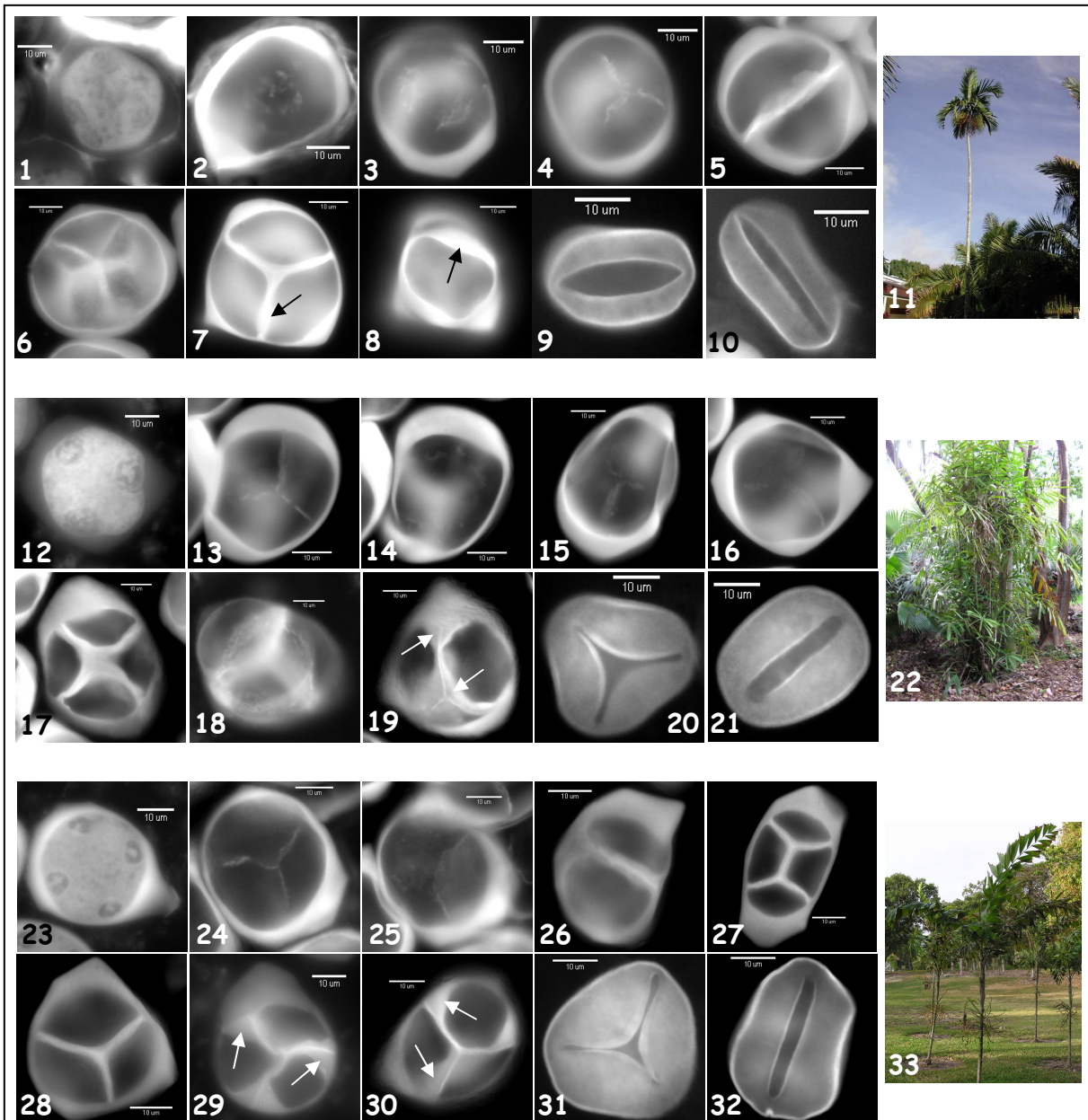


FIGURE 56. Microsporogénèse chez trois espèces d'Arecoideae. En couleur sont indiquées les colorations utilisées.

- *Ptychosperma elegans* (Areceae) : 1. Bleu d'Aniline, filtre IP ; 2-8. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 9-10. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 1. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 2-4. Formation simultanée et centrifuge des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 5. Tétrade tétragonale ; 6. Tétrade tétraédrique ; 7-8. Tétrade tétraédrique avec dépôts additionnels de callose au milieu des plans de cytokinèse (flèches) ; 9-10. Grains de pollen monosulqués ; 11. Palmier³³.

- *Ptychosperma microcarpum* (Areceae) : 12. Bleu d'Aniline, filtre IP ; 13-19. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 20-21. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 12. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 13-16. Formation simultanée et centrifuge des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 17. Tétrade tétragonale ; 18. Tétrade tétraédrique ; 19. Dépôts additionnels de callose aux intersections des plans de cytokinèse (flèches) ; 20. Grain de pollen trichotomosulé ; 21. Grain de pollen monosulé. 22. Palmier.

- *Ptychosperma* sp. (Areceae) : 23. Bleu d'Aniline, filtre IP ; 24-30. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; 31-32. Bleu d'Aniline, filtre FITC. 23. Quatre noyaux au sein d'un même cytoplasme ; 24-25. Formation simultanée et centrifuge des parois par rapport aux plans de cytokinèse ; 26. Tétrade tétragonale ; 27. Tétrade rhomboïdale ; 28. Tétrade tétraédrique ; 29-30. Dépôts additionnels de callose à l'intersection des plans de cytokinèse avec la paroi de la tétrade ; 31. Grain de pollen trichotomosulé ; 32. Grain de pollen monosulé ; 33. Palmier.

a. Type pollinique

Sur les 24 espèces échantillonnées, seules six d'entre elles produisent à la fois du pollen monosulqué et trichotomosulqué (hétéromorphisme) : *Hyophorbe lagenicaulis* (Figure 54,8-9), *Chamaedorea macrospadix* (Figure 55,10-11), *C. microspadix* (Figure 4h dans Nadot *et al.* (2006)), *Gaussia attenuata* (Figure 3e-f dans Nadot *et al.* (2006)), *Ptychosperma microcarpum* (Figure 56,20-21) et *P. sp.* (Figure 56,31-32). Pour toutes les autres, seul du pollen monosulqué a pu être observé. Pour trois des espèces hétéromorphes, une idée des proportions des différents types de pollen est donnée dans le tableau 5 ; le pollen monosulqué est toujours largement majoritaire ($P > 90\%$).

TABLEAU 5. Exemples de pourcentages des différents types de Grains de Pollen (GP) produits chez les espèces de palmiers hétéromorphes échantillonnées.

Espèce	% de GP monosulqués	% de GP trichotomosulqués	Nombre total de GP comptés
<i>Chamaedorea macrospadix</i>	92,20	7,80	1858
<i>Chamaedorea microspadix</i>	95,71	4,29	1326
<i>Gaussia attenuata</i>	98,98	1,02	642

b. Type de cytocinèse

Toutes les espèces échantillonnées présentent une cytocinèse de type simultané qui parfois coexiste avec des cas de cytocinèse successive. C'est le cas chez *Serenoa repens*, *Caryota mitis*, *Hyphaene coriacea* et *Butia sp.* chez lesquelles on observe occasionnellement des dyades (Figures 23,30 et 37-38 dans Sannier *et al.* (2006)). Chez *Sabal maritima*, une dyade a pu être observée (Figure 53,1-2) et quelques tétrades adoptent des formes particulières, en T (Figure 53,7) ou en Z, caractéristiques des tétrades obtenues par une cytocinèse successive. Chez *Bismarckia nobilis*, même si aucune dyade n'a pu être observée, quelques tétrades montrant clairement trois plans de cytocinèse ont été trouvées (Figure 53,27). Ces observations sont en très faibles proportions et la quantité de matériel à notre disposition ne nous a pas permis de conclure quant à une co-occurrence régulière des deux types de cytocinèse, successif et simultané, chez ces deux espèces.

Dans notre article (Sannier *et al.* 2006), nous avons évoqué l'existence de cytocinèse simultanée modifiée chez *Butia sp.* et *Dypsis decaryi*. Chez la première espèce, des observations ultérieures ont permis de conclure à l'existence réelle de stades dyades (Figure 57) montrant ainsi qu'il y a bien co-occurrence de

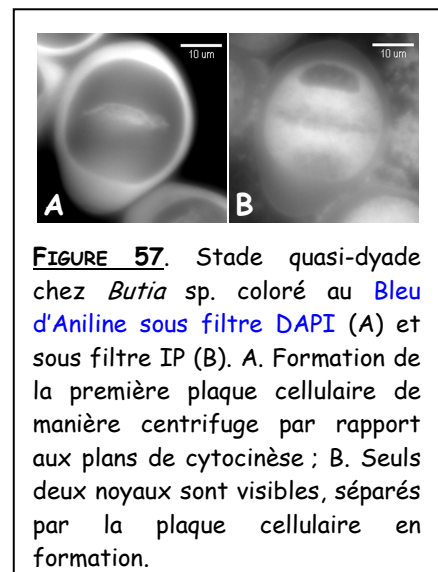


FIGURE 57. Stade quasi-dyade chez *Butia sp.* coloré au Bleu d'Aniline sous filtre DAPI (A) et sous filtre IP (B). A. Formation de la première plaque cellulaire de manière centrifuge par rapport aux plans de cytocinèse ; B. Seuls deux noyaux sont visibles, séparés par la plaque cellulaire en formation.

cytocinèse simultanée et successive chez cette espèce. Par contre, chez *Dypsis decaryi* l'une des plaques se forme en avance par rapport aux autres entraînant un décalage dans la division du cytoplasme entre les noyaux de seconde division (Figure 5 dans Sannier *et al.* (2006)). Dans ce cas, seuls trois plans de cytocinèse sont formés.

c. Formation des parois

Chez la plupart des espèces échantillonnées, les parois callosiques se forment de manière soit centripète soit centrifuge par rapport aux plans de cytocinèse. Toutefois, chez *Bismarckia nobilis* et *Hyphaene coriacea*, plusieurs types de formation des parois ont pu être observés au sein d'une même fleur :

- Chez *Bismarckia nobilis*, les parois se forment principalement de manière centripète par rapport à la tétrade (Figure 53,26) mais dans quelques cas, elles peuvent également se former de manière centripète (Figure 53,24) ou centrifuge (Figure 53,25) par rapport aux plans de cytocinèse.
- Chez *Hyphaene coriacea*, lorsque la cytocinèse est simultanée, les parois se forment de manière centripète par rapport aux plans de division (Figure 32 de Sannier *et al.* (2006)). Lorsque la cytocinèse est successive, on peut observer que dans certains cas, les parois se forment également de cette manière (Figure 58C-E) mais que, dans d'autres cas, la formation des parois de seconde division se fait de manière centrifuge par rapport aux plans de cytocinèse (Figure 58A-B).

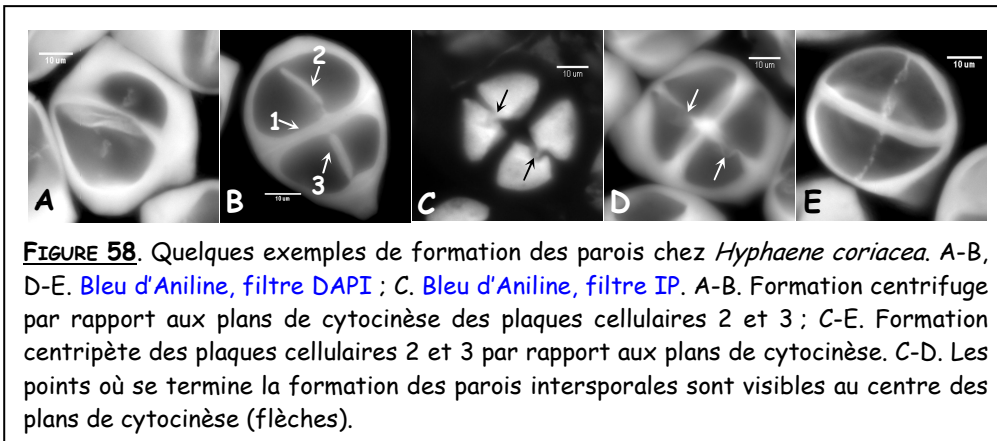


FIGURE 58. Quelques exemples de formation des parois chez *Hyphaene coriacea*. A-B, D-E. Bleu d'Aniline, filtre DAPI ; C. Bleu d'Aniline, filtre IP. A-B. Formation centrifuge par rapport aux plans de cytocinèse des plaques cellulaires 2 et 3 ; C-E. Formation centripète des plaques cellulaires 2 et 3 par rapport aux plans de cytocinèse. C-D. Les points où se termine la formation des parois intersporales sont visibles au centre des plans de cytocinèse (flèches).

d. Forme des tétrades

Les palmiers présentent une très grande variation des formes de tétrades : tétraogonales, décussées, rhomboïdales et tétraédriques régulières ou irrégulières. Toutes les espèces échantillonnées présentent toutes ces formes mais elles les produisent en proportions variables (Annexe F ; Sannier *et al.* (soumis)). Seules les espèces *Sabal maritima* et *Serenoa repens* montrent également quelques tétrades en T, en Z et linéaires (Figure 53,7 et Figures 27-28 dans Sannier *et al.* (2006)).

Presque toutes les espèces échantillonnées présentent une plus grande proportion de tétrades tétraédriques, qu'elles soient régulières ou non par rapport à toutes les autres formes de tétrades produites. Seule l'espèce *Serenoa repens* produit au contraire une majorité de tétrades tétraogonales.

e. Dépôts additionnels de callose

Bien qu'il soit relativement aisé de déterminer si des dépôts additionnels de callose sont présents ou non sur les plaques cellulaires, il est difficile de déterminer leur sens de progression. En effet, obtenir les stades montrant un dépôt en cours de progression est difficile. J'en ai déduit que les dépôts additionnels de callose devaient se déposer assez rapidement. Par conséquent, je n'ai pu qu'identifier la localisation des plus importants dépôts, à un moment donné. Ainsi, ils peuvent se trouver au niveau des intersections entre les plans de cytokinèse (*Hyophorbe lagenicaulis*, Figure 54,7), au milieu de ces plans (*Ptychosperma elegans*, Figure 56,7) ou à l'intersection de ces plans avec la paroi de la tétrade (*Ptychosperma* sp., Figure 56,29-30). La plupart des espèces chez lesquelles des dépôts additionnels de callose se produisent montrent une **variation intra spécifique** de ce caractère. D'autre part, **au sein d'une même tétrade, les dépôts peuvent être variables** ; chez *Ptychosperma* sp. par exemple, on distingue très bien une inégalité des dépôts de chaque côté des parois callosiques (Figures 56,29 et 56,30). C'est en raison de toutes ces difficultés que le tableau 4 ne tient compte que de la présence ou de l'absence des dépôts additionnels.

f. Structures particulières

Nous avons regroupé sous le terme de « structures particulières » deux phénomènes en réalité différents (Sannier *et al.* 2006).

- *Copernicia hospita*, *Serenoa repens* et *Hyphaene coriacea* présentent ce que l'on a appelé un **anneau de callose**, une structure qui encercle la tétrade dès les stades précoces de la microsporogénèse (Figures 20, 24, 26 et 35 dans Sannier *et al.* (2006)). Cet anneau a également été retrouvé chez *Sabal maritima* (Figure 56,5) et *Trachycarpus fortunei* (Figure 56,17).
- Une autre particularité a pu être observée chez *Hyphaene coriacea* et *Allagoptera arenaria* : la présence d'une plaque cellulaire transitoire (Figures 10 et 31 dans Sannier *et al.* (2006)). Cette plaque transitoire est particulièrement fréquente chez *A. arenaria* et consiste en la formation précoce d'une plaque de callose à développement centrifuge, au centre de la tétrade et immédiatement recouverte d'un épaissement de callose. Cette plaque disparaît par la suite et ne semble pas intervenir dans la formation ultérieure des parois intersporales.

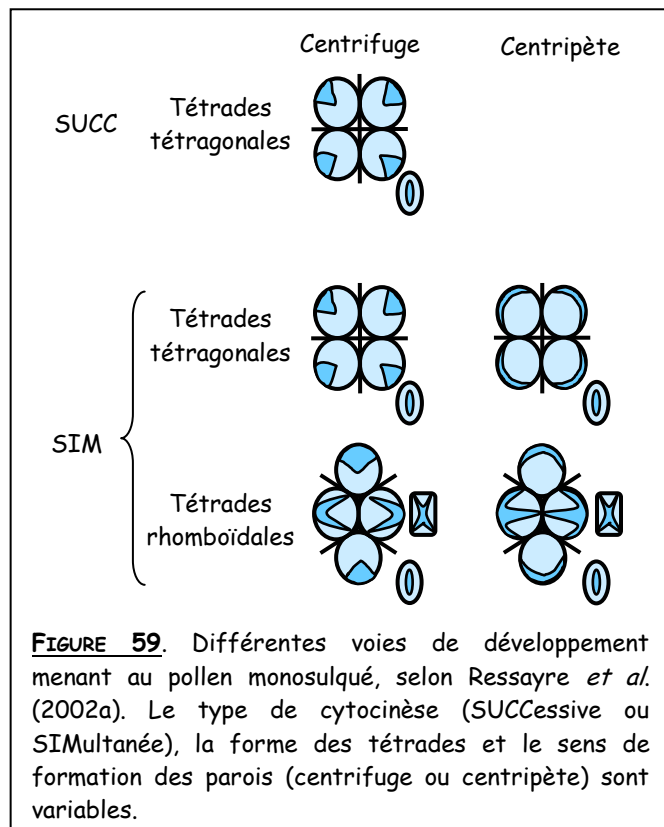
En conclusion, cinq types de microsporogénèse ne différant que par le type de cytokinèse et le sens de formation des parois intersporales peuvent être décrits chez les espèces échantillonnées :

- Cytokinèse simultanée ; formation centrifuge des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse.
- Cytokinèse simultanée ; formation centripète des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse.
- Cytokinèse simultanée ; formation centripète des parois intersporales par rapport à la tétrade.
- Cytokinèse simultanée et successive ; formation centrifuge des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse.
- Cytokinèse simultanée et successive ; formation centripète des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse.

3. Discussion

Les résultats trouvés chez les Arecaceae nous ont beaucoup surpris et ceci pour plusieurs raisons :

- La diversité présentée par la microsporogénèse est inattendue étant donné que toutes les espèces échantillonnées produisent du pollen monosulqué, au moins majoritairement. Rappelons que le choix de la famille des palmiers reposait sur la diversité des types aperturaires rencontrés dans ce groupe. Pour des raisons de contraintes d'échantillonnage, nous n'avons pu obtenir de matériel observable que sur des espèces produisant du pollen monosulqué. Nous nous attendions donc à des variations limitées de la microsporogénèse. Le travail de Penet *et al.* (2005) montre cependant que chez les Asparagales, il existe de nombreuses voies de développement permettant d'obtenir du pollen monosulqué. D'autre part, le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) prédit le même genre de situation (Figure 59). Chez les Arecaceae, j'ai montré que du pollen



monosulqué pouvait être obtenu à l'issue d'une microsporogénèse faisant intervenir une cytokinèse successive ou simultanée, une formation des parois centrifuge ou centripète et des tétrades de formes extrêmement variées.

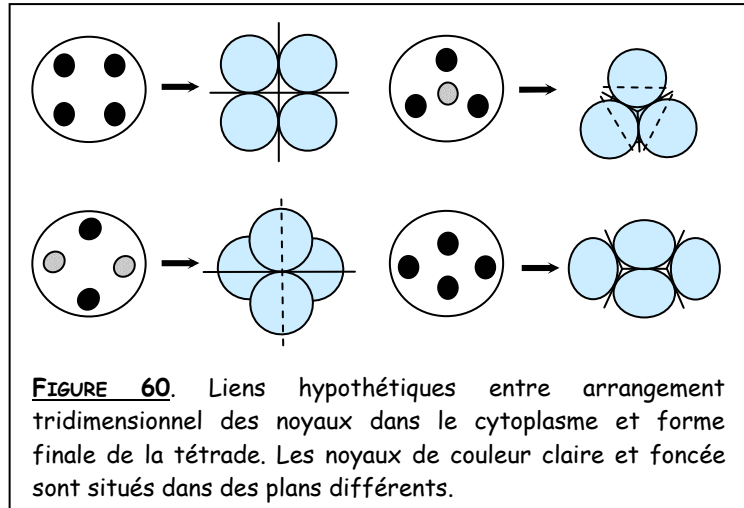
Dans les groupes taxonomiques proches des Arecaceae, peu de données sont disponibles sur la microsporogénèse mais, elle y semble à priori assez conservée, situation contraire à celle rencontrée chez les palmiers. Ainsi, chez les Dasypogonaceae et la grande majorité des Poales, des Commelinales et des Zingiberales, la cytokinèse est de type successif. Concernant les autres composantes de la microsporogénèse, les données sont plus rares. Nous avons montré que chez trois espèces de Commelinales et deux espèces de Zingiberales, les parois se forment de manière centrifuge par rapport aux plans de cytokinèse et que les tétrades sont de type tétragonal, conséquence d'une cytokinèse successive (Nadot *et al.* 2006). Il est toutefois difficile avec si peu d'espèces de conclure avec certitude que la microsporogénèse est conservée chez la majorité des Commelinidées.

- **La co-occurrence des cytokinèses successives et simultanées au sein d'une même espèce est très surprenante.** En effet, la seule référence à ce type de situation est mentionnée par Rudall *et al.* (1997) et concerne uniquement le genre *Doryanthes* (Doryanthaceae, Asparagales). Notons que les espèces de palmiers chez lesquelles cette co-occurrence a pu être observée présentent malgré tout une cytokinèse simultanée largement majoritaire. Contrairement à la plupart des Monocotylédones, la cytokinèse chez les espèces de palmiers échantillonnées est plutôt simultanée. Cependant, il est important de préciser que d'après nos connaissances actuelles, ce n'est pas le cas chez tous les palmiers. En effet, une majorité des membres de la sous-famille des Calamoideae qui représente près d'un quart des espèces d'Areceae (Uhl & Dransfield 1987) sont souvent considérés comme présentant une cytokinèse successive (Harley & Baker 2001) en raison de la forme principalement tétragonale ou décussée des tétrades produites et du type pollinique à deux ouvertures souvent associé à ce type de cytokinèse. Les composantes de la microsporogénèse, dont le type de cytokinèse, n'ont cependant pas pu être décrites dans cette sous-famille, aucune espèce de Calamoideae n'ayant pu être échantillonnée dans cette étude.

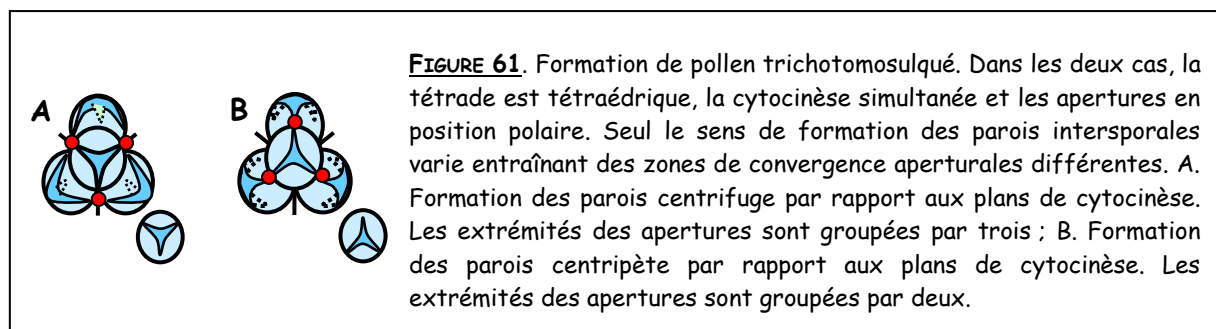
- Parce qu'elles sont tout simplement les plus répandues, les combinaisons « cytokinèse successive » + « parois à formation centrifuge » et « cytokinèse simultanée » + « parois à formation centripète » ont longtemps été considérées comme exclusives (Longly & Waterkeyn 1979a). La première de ces combinaisons est effectivement plutôt caractéristique des Monocotylédones et la deuxième des Eudicotylédones (Ressayre 2001). Ici, **la cytokinèse simultanée est observée aussi bien chez des espèces dont les parois se forment de manière centrifuge que chez des espèces où cette formation est centripète.** De même, les espèces à cytokinèse à la fois simultanée et successive présentent des parois se formant centripétalement ou centrifugalement selon les cas. La combinaison « cytokinèse simultanée » et « formation centrifuge des parois » a rarement été rapportée chez les

Monocotylédones (Penet *et al.* 2005, Nadot *et al.* 2006) mais il apparaît clairement que c'est une situation courante chez les palmiers. De même, à ma connaissance, aucune espèce présentant à la fois une cytokinèse successive et des parois à formation centripète n'a été décrite à ce jour. *Hyphaene coriacea* serait donc la première espèce d'Angiosperme pour laquelle ces caractéristiques sont décrites. L'inédit de cette situation est toutefois à modérer puisque chez cette espèce, la cytokinèse n'est jamais uniquement successive. De plus, il arrive que les parois se forment de manière centrifuge lorsque la cytokinèse est successive.

- La variation des formes de tétrades n'est pas surprenante en elle-même puisque que la cytokinèse simultanée permet théoriquement d'obtenir des tétrades tétraogonales, décussées, rhomboïdales et tétraédriques en fonction de l'arrangement tridimensionnel des noyaux dans le cytoplasme (Figure 60). Si dans la littérature il est rare de voir mentionnée l'existence de



tétrades rhomboïdales, elles sont observées chez toutes les espèces de palmiers échantillonnées même si elles sont toujours en faible proportion. D'autre part, il est intéressant de constater que malgré la prédominance des tétrades tétraédriques, le pollen est majoritairement monosulqué. En effet d'après le modèle de Ressayre *et al.* (2002a), on s'attendrait plutôt à obtenir du pollen trichotomosulqué (Figure 61). Comme cela a été suggéré au Chapitre I, il semblerait que la déviation par rapport à la forme trichotomosulquée soit causée par l'irrégularité des tétrades tétraédriques qui entraîne une modification du type pollinique (Harley 1993, Rudall *et al.* 1997, Penet *et al.* 2005) : les tétrades tétraédriques régulières produiraient du pollen trichotomosulqué tandis que les irrégulières produiraient du pollen monosulqué. Nos observations tendent à confirmer cette hypothèse puisque chez les espèces échantillonnées, il s'avère que les tétrades tétraédriques régulières sont plutôt rares, voire inexistantes, contrairement aux tétrades tétraédriques irrégulières.



Je viens de montrer que les Arecaceae présentent une très importante diversité de la microsporogénèse, à la fois concernant le type de cytocinèse, le sens de formation des parois intersporales et la forme des tétrades de microspores. Les espèces échantillonnées produisent toutes majoritairement du pollen monosulqué.

L'étape suivante dans la compréhension de la distribution de cette diversité au sein des palmiers est d'en étudier l'évolution. Ceci fait l'objet du chapitre suivant.

Article 1

Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen

Julie Sannier, Sophie Nadot, Arlette Forchioni, Madeline Harley and
Béatrice Albert

Botanical Journal of the Linnean Society (2006) 151 : 93-102

The Palms

Guest edited by William J. Baker and Scott Zona

Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen

JULIE SANNIER^{1*}, SOPHIE NADOT¹, ARLETTE FORCHIONI¹, MADELINE HARLEY^{FLS}² and BEATRICE ALBERT¹

¹Laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution, Bâtiment 360, Université Paris-Sud, 91405 Orsay cedex, France

²Palynology Unit, The Herbarium, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey TW9 3AE, UK

Received June 2005; accepted for publication November 2005

Pollen morphology has been extensively studied in the Arecaceae, and pollen aperture organization is usually distal monosulcate, as in many monocot families. Much is known about the influence of microsporogenesis on aperture configuration, but the key processes during microsporogenesis responsible for aperture type, number and arrangement are still poorly understood. In order to clarify the developmental sequence underlying aperture type and organization in palm monosulcate pollen, a study of the characteristics of male postmeiotic development was carried out in representative species of four genera of subfamily Coryphoideae, and four genera of subfamily Arecoideae. We found evidence for the occurrence of successive cytokinesis in addition to simultaneous cytokinesis in three Coryphoideae species. Tetrad shape was highly diverse within all species. Our results reveal an unexpected diversity in microsporogenesis from which it may be possible to gain further insight into pollen evolution within the family. © 2006 The Linnean Society of London, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2006, **151**, 93–102.

ADDITIONAL KEYWORDS: aperture configuration – callose deposition – cytokinesis – evolution – postmeiotic development – tetrads.

INTRODUCTION

The Arecaceae comprise 2364 currently recognized species (Govaerts & Dransfield, 2005). The genera are distributed widely in the tropics and subtropics, and several genera are cool-tolerant. Palms are highly distinctive at the family level but, within the family, their morphological diversity is probably greater than that of any other monocotyledonous family (Uhl & Dransfield, 1987).

At the microscopic level this diversity is also found in the pollen morphology, for example, Sowunmi (1968, 1972), Thanikaimoni (1970), Dransfield, Ferguson & Uhl (1990), Ferguson & Harley (1993), Harley

(1990, 1999a), Harley & Baker (2001), Harley & Dransfield (2003). Shape, exine ultrastructure, exine ornamentation, pollen size, aperture form, number and arrangement all show a wide range of variation. Apertures are areas where the ectexine (outer layer of the exine) is usually very thin or more or less absent, thus providing greater flexibility for the mature pollen grain to contract or expand in response to variations in osmotic pressure, a phenomenon which Wodehouse (1935) termed 'harmomegathy'. The ability for pollen apertures to expand or contract, when exposed to differing environments, is important to the survival of the male gametes carried by the pollen grains. In transit from anther to stigma the apertures can contract to avoid desiccation of the internal cellular fraction while, on arrival on a receptive stigmatic surface, the apertures can expand to allow the swelling intine to

*Corresponding author. E-mail: julie.sannier@ese.u-psud.fr

emerge, and subsequent pollen tube growth to proceed rapidly.

Twelve aperture types, and inaperturate pollen in the small genus *Pigafetta*, have been described for the Areceaceae (Harley & Baker, 2001). All these aperture types are based on variations in the combination of a number of characteristics: aperture shape and size; aperture position in relation to polarity – distal polar, equatorial, or meridional; apertures with or without an operculum; number of apertures and symmetry of aperture position or spacing. However, the most widespread and presumed basic pollen type in palms, as elsewhere in the monocotyledons (Dahlgren & Clifford, 1982), is distal monosulcate with only one aperture in the shape of sulcus, located at the distal pole of the pollen grain.

Pollen morphology has been studied extensively in the Areceaceae, and much is known about the influence of microsporogenesis on different types of aperture configuration. On the basis of published data and new observations, Ressayre *et al.* (2002) developed a morphogenetic model that established a link between microsporogenesis and aperture pattern. The ontogeny of aperture pattern occurs during microsporogenesis and four features of this developmental process are particularly involved in aperture pattern definition. These features are: the type of cytokinesis, the way callose walls are formed among the four microspores, the tetrad shape and the position of the apertures within the tetrads. The model suggests that combining the variations in these characters accounts for most aperture types observed in angiosperms. Previously published observations of microsporogenesis in a range of angiosperm species offer notable support to this model (Periasamy & Swamy, 1959; Murty, 1964; Sampson, 1969, 1975; Blackmore & Barnes, 1995; Blackmore & Crane, 1998; Furness & Rudall, 1999; Ressayre, 2001; Ressayre *et al.*, 2002, 2003, 2005; Penet *et al.*, 2005). In particular, this model suggests

that distal monosulcate pollen grain could be obtained through different developmental pathways, a prediction confirmed by Penet *et al.* (2005) in a recent study focusing on the Asparagales. Exploring pollen aperture ontogeny in palms is particularly relevant from an evolutionary point of view because palms are isolated within the Commelinids, which are themselves sister to the Asparagales.

This paper presents a preliminary investigation of the characteristics of aperture pattern ontogeny in palms, describing microsporogenesis in eight species producing distal monosulcate pollen grains, four from subfamily Coryphoideae, and four from subfamily Arecoideae. In some of the Arecoideae examples, monosulcate pollen is sometimes associated with trichotomosulcate pollen grain (a triradiate variant of monosulcate) as recorded in the literature (Harley, 1999a). Three key developmental characteristics of microsporogenesis were observed: cytokinesis type, callose deposition between the microspores, and tetrad type.

Results so far reveal a diversity in microsporogenesis from which we may be able to gain further insight into pollen evolution within the family.

MATERIAL AND METHODS

Pollen material was sampled from the Montgomery Botanical Centre (FL, USA) in January 2004 and January 2005. Eight species of palms were selected for this study, representing eight genera, four that belong to the Coryphoideae and four from the Arecoideae. Species and Montgomery accession numbers are listed in Table 1.

Fresh flower buds were collected at different developmental stages and the anthers were extracted and immediately squashed. Depending on the stage observed, different staining techniques were used. Cytokinesis type was identified by staining with aceto-

Table 1. List of the species examined in this study. Systematic position is according to Dransfield *et al.* (2005). Accession numbers of living material used in this study at the Montgomery Botanical Centre are given

Subfamily and tribe	Genus & species	Accession number
Coryphoideae		
Livistoneae	<i>Serenoa repens</i> (W. Bartram) Small	20040680.A; Wild
	<i>Copernicia hospita</i> Mart.	94607.A, B
Caryoteae	<i>Caryota mitis</i> Lour.	87319.A, C; 89225.D; 89899.C
Borasseae	<i>Hyphaene coriacea</i> Gaertn.	951155.C, F, J
Arecoideae		
Cocoseae	<i>Allagoptera arenaria</i> (M. Gómez) Kuntze	97807.A, D, M, N; 97805.A, C; 71442.H, L
	<i>Butia</i> sp.	976.H
Areceae	<i>Dypsis decaryi</i> (Jum.) Beentje & J. Dransf.	951204.B, D
	<i>Veitchia spiralis</i> H. Wendl.	961336.N, Q

Table 2. Number of observed individuals, flower buds and stamens per species, and levels of microsporogenesis variation in each species. AC, aceto-carminic; AB, aniline blue

Species	Number of		
	Individuals observed (AC-AB)	Flower buds observed (AC-AB)	Stamens observed (AC-AB)
<i>Serenoa repens</i>	3-3	9-16	21-42
<i>Copernicia hospita</i>	1-2	6-16	9-44
<i>Caryota mitis</i>	1-1	1-3	4-6
<i>Hyphaene coriacea</i>	3-3	8-22	18-62
<i>Allagoptera arenaria</i>	4-3	5-7	13-33
<i>Butia</i> sp.	1-1	3-5	5-12
<i>Dypsis decaryi</i>	1-1	1-6	4-17
<i>Veitchia spiralis</i>	2-1	2-3	12-18

carminic (67.5 mL acetic acid, 0.75 g carminic, 0.025 g ferrous acetate, made up to 150 mL with distilled water). A dyad stage is characteristic of successive cytokinesis while four nuclei in the same cytoplasm is characteristic of simultaneous cytokinesis. The progression of intersporal wall formation was followed by staining with aniline blue, modified from the method of Arens (1949), with the addition of glycerol to 15% of the final volume. With this method, the callose contained in the Golgi vesicles forming the cell plates becomes fluorescent when illuminated by UV light. Tetrad shape was also identified using this staining method.

Whenever possible, several individuals, several flower buds per individual and several stamens per flower bud were sampled and observed for each developmental stage. Table 2 gives the details of the material sampled for each species. Owing to problems in the availability of plant material and technical constraints, sometimes only one individual could be examined, as in the case of *Butia* sp. Furthermore, several developmental stages, such as the formation of the cell plates, take place during a very short time and are therefore difficult to find.

Aceto-carminic preparations were observed using a Zeiss Axiophot microscope (light microscopy). Aniline blue preparations were observed using the epifluorescence option of this microscope with a DAPI filter (filter set at 01; excitation at 345, emission at 425 nm long pass) or confocal microscopy with the same type of filter.

RESULTS

Our initial observations reveal that during microsporogenesis, characteristics of cytokinesis, intersporal wall formation and the form of the resulting tetrads are variable in palms (Table 3), although only one pollen type, bisymmetrical to highly asym-

metrical distal monosulcate, is produced in the species studied: *Veitchia spiralis* (Figs 1-4), *Dypsis decaryi* (Figs 5-7), *Allagoptera arenaria* (Figs 8-11), *Butia* sp. (Figs 12-16), *Copernicia hospita* (Figs 17-22), *Serenoa repens* (Figs 23-28), *Hyphaene coriacea* (Figs 29-36) and *Caryota mitis* (Figs 37-42).

VARIATION IN CYTOKINESIS

In Angiosperms male meiotic cell division can be simultaneous or successive. In the first case, the cytoplasmic division occurs simultaneously, after the second meiotic division. The presence of four nuclei in the same cytoplasm constitutes the characteristic stage of this type of cytokinesis. Successive cytokineses are characterized by a dyad stage that corresponds to the cytoplasmic division taking place after the first meiotic division.

In the present study, cytokinesis was of the typical simultaneous type only in *V. spiralis* (Fig. 1) and *C. hospita* (Fig. 17). In the other Arecoideae (*D. decaryi*, *A. arenaria* and *Butia* sp.), the cytokinesis is neither simultaneous nor successive. It is an intermediate situation described further on. In the three other Coryphoideae, simultaneous cytokinesis was observed in association with successive cytokinesis within the same anther, as shown by the record of dyads in addition to microsporocytes with all nuclei in the same cytoplasm in *H. coriacea* (Figs 29, 30) and *C. mitis* (Figs 37-39). Dyads were also recorded in *S. repens* (Fig. 23), in which the occurrence of simultaneous cytokinesis is suggested by the simultaneous formation of the intersporal walls observed with aniline blue staining (Fig. 24). Although no statistics were made, we estimated the occurrence of successive cytokinesis at around two percent.

A particular situation was observed in *D. decaryi*, *A. arenaria*, *Butia* sp. and *H. coriacea*, where a single

Table 3. Summary of microsporogenesis characteristics for the species examined. An asterisk indicates that cytokinesis is simultaneous, but one cell plate is initiated before the other three. Only stages with four nuclei in the same cytoplasm were observed with aceto-carmine staining

Species	Additional callose Cytokinesis deposits	Cell wall formation	Tetrad shape
<i>Serenoa repens</i>	Simultaneous + successive Present	Centrifugal	Irregular tetrahedral, Tetragonal, Decussate, Linear, T
<i>Copernicia hospita</i>	Simultaneous Absent	Centripetal	Rhomboidal, Irregular tetrahedral
<i>Caryota mitis</i>	Simultaneous + successive Present	Centrifugal	Rhomboidal, Irregular tetrahedral, Tetragonal, Decussate
<i>Hyphaene coriacea</i>	Simultaneous (+ ephemeral cell plate) + successive Present	Centripetal	Rhomboidal, Irregular tetrahedral, Tetragonal, Decussate
<i>Allagoptera arenaria</i>	Simultaneous (+ ephemeral cell plate) Absent	Centripetal	Rhomboidal, Irregular tetrahedral
<i>Butia</i> sp.	Simultaneous* Present	Centrifugal	Rhomboidal, Irregular tetrahedral, Tetragonal, Decussate
<i>Dypsis decaryi</i>	Simultaneous* Present	Centrifugal	Rhomboidal, Irregular tetrahedral
<i>Veitchia spiralis</i>	Simultaneous Present	Centrifugal	Rhomboidal, Irregular tetrahedral

isolated cell was observed in the centre of several microsporocytes with aniline blue staining (Figs 5, 10, 14, 31). In *A. arenaria* and *H. coriacea* this cell, which was thickly covered with callose, was not observed in later stages. No dyad stage (characteristic of successive cytokinesis) was recorded with aceto-carmine staining in *D. decaryi*, *A. arenaria* and *Butia* sp. Only microsporocytes in which the four nuclei were visible in the same cytoplasm (characteristic of simultaneous cytokinesis) were recorded in *A. arenaria* and *Butia* sp. (Figs 8, 12). In *H. coriacea* however, both dyads and microsporocytes with four nuclei in the cytoplasm were recorded (Figs 29, 30).

VARIATION IN INTERSPORAL WALL FORMATION

In the species examined, cytokinesis was achieved by either centrifugal or centripetal cell wall formation. Cell wall formation achieved by centrifugally developing cell, was recorded in *V. spiralis* (Fig. 2), *D. decaryi* (Fig. 6), *Butia* sp. (Fig. 13), *S. repens* (Figs 24, 26) and *C. mitis* (Fig. 40). Centripetal wall formation was observed in *A. arenaria* (Fig. 9), *C. hospita* (Fig. 18) and *H. coriacea* (Fig. 32).

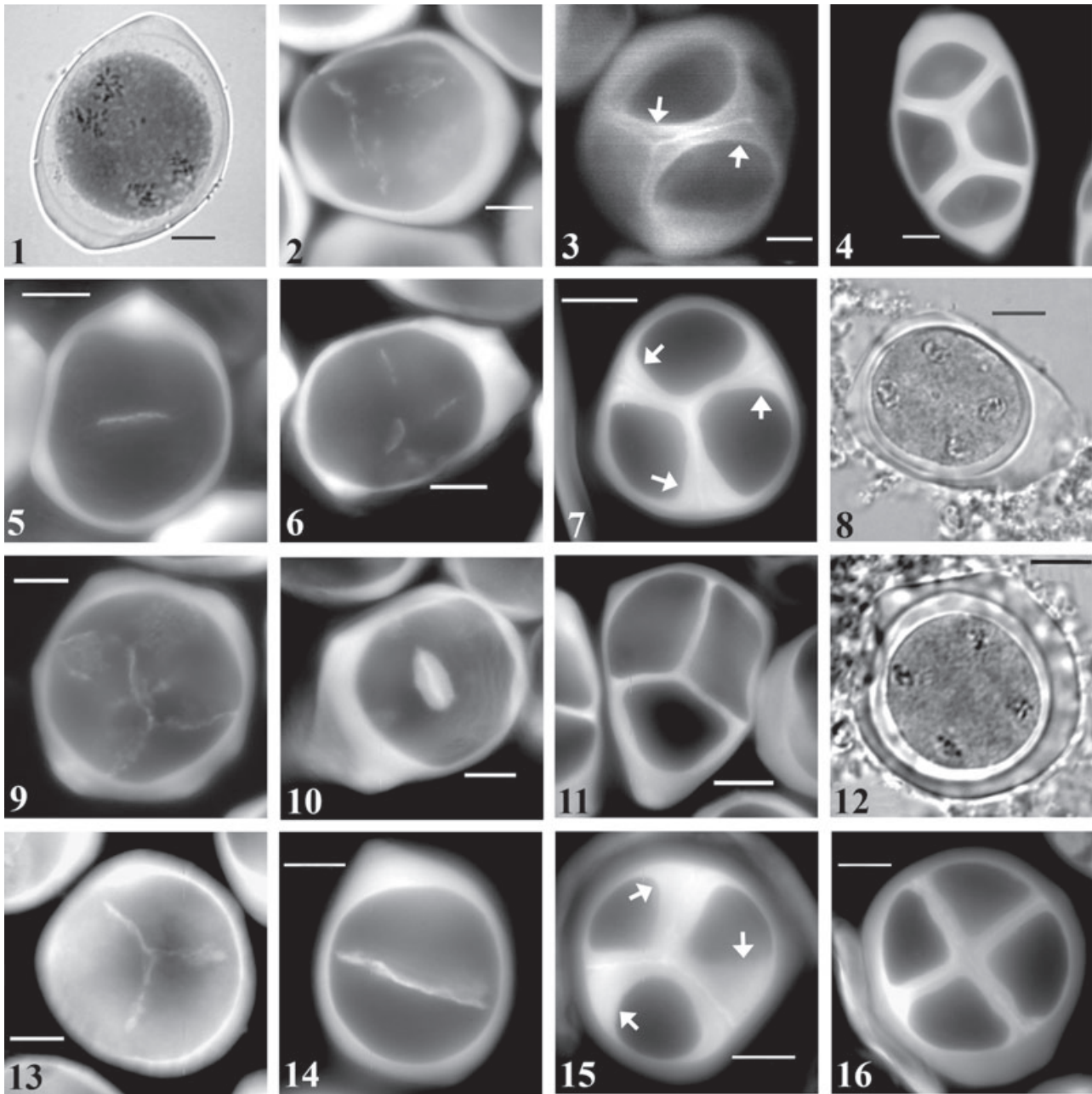
In some cases, additional callose was laid onto the cell walls. These callose deposits were located at the junction between the intersporal walls and the outer wall of the tetrad in *V. spiralis* (Fig. 3), *D. decaryi*

(Fig. 7), *Butia* sp. (Fig. 15), *S. repens* (Fig. 25), *H. coriacea* (Fig. 34) and in *C. mitis* (Figs 41, 42). In *H. coriacea* and *C. mitis*, there were also callose deposits in the centre of the tetrad (Figs 33, 42). The thickness of the deposits varied among species; they were particularly thick in *D. decaryi* (Fig. 7) and *Butia* sp. (Fig. 15). In *A. arenaria* and *C. hospita* additional callose deposits were absent.

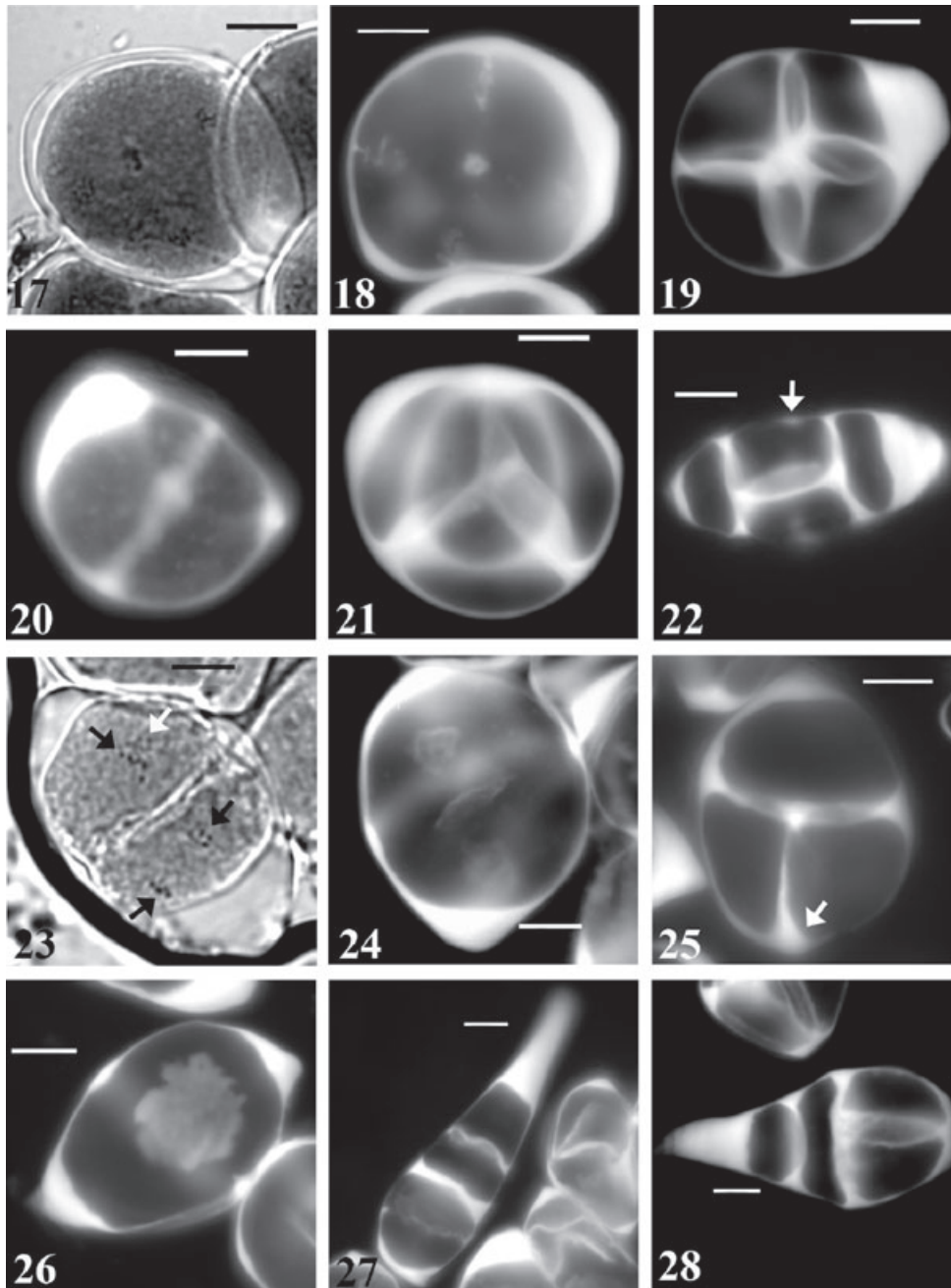
TETRAD SHAPE VARIATIONS

Tetrad shape varied between tetragonal, for example in *Butia* sp. (Fig. 16), *H. coriacea* (Fig. 36) and *C. mitis* (Fig. 42), rhomboidal, for example in *V. spiralis* (Fig. 4) and *C. hospita* (Fig. 22), and tetrahedral, for example in *A. arenaria* (Fig. 11) and *C. hospita* (Figs 19, 21). Although the proportions of the different shapes were not assessed, this last form was observed most frequently. It should be noted that all the tetrahedral tetrads observed were irregular, i.e. with six unequal walls separating the four microspores. All these forms co-occur within most species and furthermore within a single anther. In *S. repens* linear tetrads (Fig. 27) and T-shaped tetrads (Fig. 28) were recorded in addition to the shapes already mentioned.

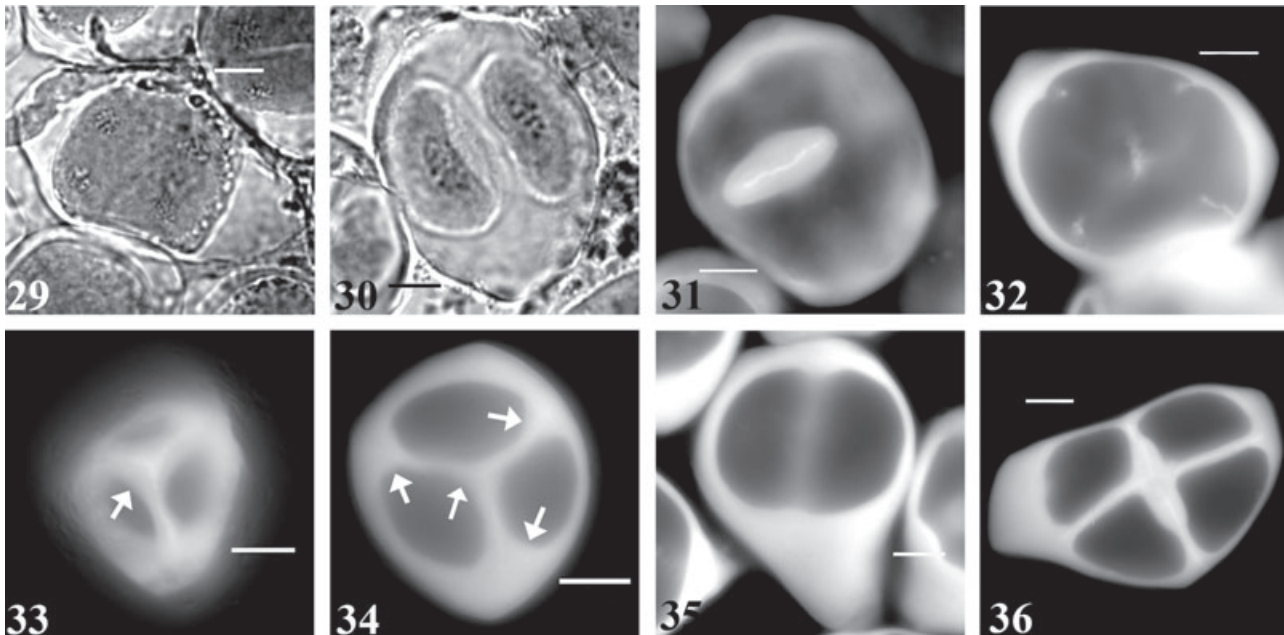
In *C. hospita*, *S. repens*, and *H. coriacea* the presence of a callose ring was noted (Figs 22, 26, 35). This callose ring is present at an early stage. It is already



Figures 1–16. Features of microsporogenesis in four species of Arecoideae: *Veitchia spiralis* (Figs 1–4), *Dypsis decaryi* (Figs 5–7), *Allagoptera arenaria* (Figs 8–11) and *Butia* sp. (Figs 12–16) (Figs 1, 8, 12: aceto-carmine; Figs 2–7, 9–11, 13–16: aniline blue). Fig. 1. Simultaneous cytokinesis with four nuclei in the same cytoplasm. Fig. 2. Cell plates developing from the centre of each cleavage plane. Fig. 3. Upper section, cell plates are covered by additional callose deposits located at the intersection between the cleavage planes and the outer wall of the tetrad (specified by arrows). Fig. 4. Rhomboidal tetrad in which the cell plates are covered with callose. Fig. 5. Single cell plate growing in the centre of the mother cell. Fig. 6. Cell plates developing centrifugally from the centre of each cleavage plane. Fig. 7. Middle section of a tetrahedral tetrad. Additional callose deposits are thicker towards the edges of the tetrad (arrows). Fig. 8. Simultaneous cytokinesis. Fig. 9. The six walls of a tetrahedral tetrad form from the edges of each cleavage plane towards their centre. Fig. 10. Early stage: a plate, thickly covered with callose, forms centrifugally in the centre of the cell. Fig. 11. Irregular tetrahedral tetrad without any additional callose deposits. Fig. 12. Simultaneous cytokinesis with four nuclei in the same cytoplasm. Fig. 13. Developing cell walls (only three walls are visible here) in a future tetrahedral tetrad. Fig. 14. Ephemeral cell plate developing centrifugally. Fig. 15. Middle section of an irregular tetrahedral tetrad. Additional callose deposits are thicker towards the junction of intersporal walls and the mother cell wall (arrows). Fig. 16. Tetragonal tetrad. Scale bars = 10 μ m.



Figures 17–28. Cytokinesis, the way in which callose walls and additional callose deposits are formed in two species of Coryphoideae: *Copernicia hospita* (Figs 17–22) and *Serenoa repens* (Figs 23–28) (Figs 17, 23: aceto-carmin; Figs 18–22, 24–28: aniline blue). Fig. 17. Simultaneous cytokinesis with four nuclei in the same cytoplasm. Fig. 18. Six cell plates progress from the edges of each cleavage plane. Wall formation begins simultaneously from the tetrad wall and from the centre of the tetrad. Fig. 19. Irregular tetrahedral tetrad at a later stage without callose deposits. Fig. 20. Early stage: presence of a callose ring surrounding the mother cell. Fig. 21. Irregular tetrahedral tetrad. Fig. 22. Rhomboidal tetrad on which a shadow of a callose ring is visible (arrow). Fig. 23. Successive cytokinesis, telophase II with two cells including both nuclei. The two pairs of nuclei are orthogonal (arrows). Fig. 24. Three visible plates grow from the centre of each cleavage plane, a weak callose ring is visible. Fig. 25. Middle section, additional callose deposits progress from the outer wall of the tetrad towards its centre in an irregular tetrahedral tetrad. Therefore, the additional callose deposits are thicker at the intersections between each cleavage planes and the outer wall (arrows). Fig. 26. Formation of a centrifugal cell plate in the centre of the mother cell, presence of a callose ring. Fig. 27. Linear tetrad. Fig. 28. T-shaped tetrad. Scale bars = 10 μ m.



Figures 29–36. Cytokinesis, the way in which callose walls and additional callose deposits are formed in one species of Coryphoideae, *Hyphaene coriacea* (Figs 29–30: aceto-carmin; Figs 31–36: aniline blue). Fig. 29. Simultaneous cytokinesis with four nuclei in the same cytoplasm. Fig. 30. Dyad stage, successive cytokinesis. Fig. 31. Early stage – a plate, thickly covered with callose, forms centrifugally in the centre of the cell. Fig. 32. Six cell plates progress simultaneously from the tetrad wall and from the tetrad centre. Figs 33–34. Irregular tetrahedral tetrad with additional callose deposits thicker (Fig. 33: upper section; Fig. 34: middle section). So, they are most important at the intersections between the cleavage planes (arrows). Fig. 35. Early stage: presence of a callose ring. Fig. 36. Tetragonal tetrad with additional callose deposits only on the first formed plate. Scale bars = 10 μ m.

visible before the initiation of cell formation and persists throughout microsporogenesis.

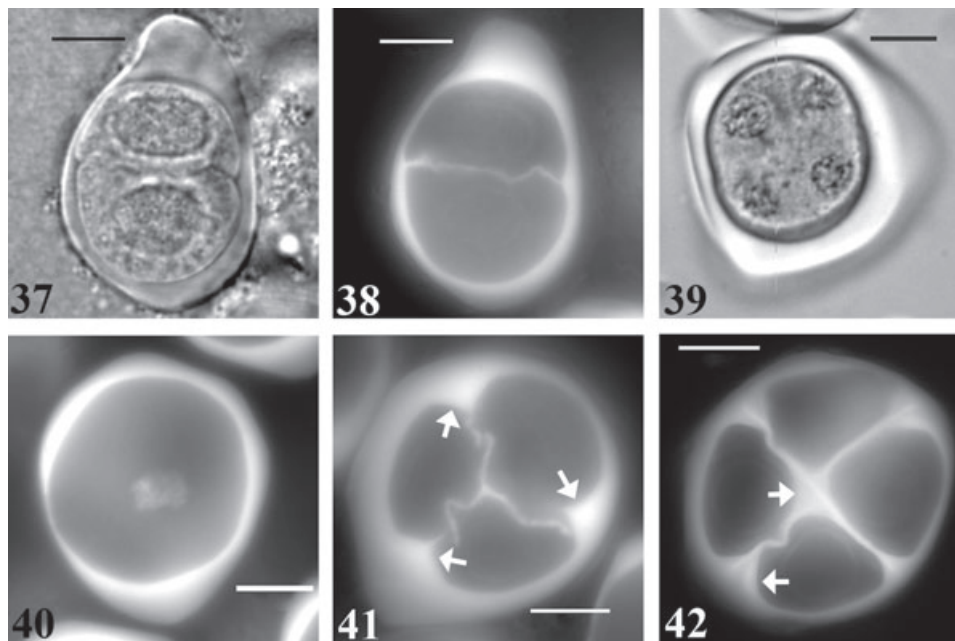
DISCUSSION

COMPARISON WITH OTHERS ANGIOSPERMS

In monocots, meiotic cytokinesis is predominantly successive and associated with centrifugal cell plates (Dahlgren & Clifford, 1982; Furness & Rudall, 1999), and tetragonal tetrads. Simultaneous cytokinesis has been recorded in several families of the Asparagales, Dioscoreales and Cyperales (Furness & Rudall, 1999). The situation we describe within the palm species examined is unusual because meiotic cytokinesis can be strictly simultaneous or both simultaneous and successive. The co-occurrence of successive and simultaneous cytokinesis within the same species, such as our examples in Coryphoideae, is occasionally described elsewhere, for example, in *Trichopus* (Dioscoreaceae, Rao 1955) where dyad stages are recorded, but the resultant tetrads are isobilateral, decussate, linear or tetrahedral in arrangement. It is generally admitted that the latter tetrad shape can be obtained only with simultaneous cytokinesis, suggest-

ing that cytokinesis can be simultaneous as well as successive in *Trichopus*. In *Tritonia* (Iridaceae) true dyad stages, as well as four cell plates developing simultaneously, have been observed (Penet *et al.*, 2005). In palms, the two types of cytokinesis occur within the same stamen. The variation is intra-flower bud but also intra-stamen, and the position of the flower bud along the inflorescence plays no role in this variation. The proportions of both cytokinesis types are not the same, because successive cytokinesis occurs in around 2% of the microsporocytes.

It is generally thought that simultaneous cytokinesis with centripetal cell wall formation, resulting in tetrahedral tetrads, is typical of the eudicots (Ressayre, 2001). However, this combination has been described recently in the Asparagales (Penet *et al.*, 2005) and occurs also in palms, as shown by this study, where both centrifugal (*S. repens*, *C. mitis*, *Butia* sp., *D. decaryi* and *V. spiralis*) and centripetal (*C. hospita*, *H. coriacea* and *A. arenaria*) cell wall formation were observed. Palms (this study) and Iridaceae (Penet *et al.*, 2005) are so far the only monocot families where variation in cell wall formation has been described. Variants of modified simultaneous cytokinesis with 'ephemeral cell plates',



Figures 37–42. Cytokinesis, the way in which callose walls, and additional callose deposits, are formed in one species of Caryoteae, *Caryota mitis* (Figs 37–38, 40–42: aniline blue; Fig. 39: aceto-carmin). Figs 37, 38. Dyad stage observed with light microscopy (Fig. 37) and epifluorescent microscopy (Fig. 38), successive cytokinesis with a cell wall separating the two sister cells. Fig. 39. Simultaneous cytokinesis with four nuclei in the same cytoplasm. Fig. 40. centrifugal formation of a cell plate in the centre of the cell. Fig. 41. Three visible walls grow from the centre of each cleavage plane and, at the same time, additional callose deposits progress from the edges of these cleavage planes (arrows). Fig. 42. Tetragonal tetrad with additional callose deposits growing from the edges of each cleavage plane (arrows). Scale bars = 10 μ m.

such as we observed in *A. arenaria* and *H. coriacea*, have also been observed elsewhere in the monocots, for example in *Cyanotis* (Commelinaceae, Rau 1930), and in the magnoliids, for example, Magnoliaceae (Dinis & Mesquita, 1993; Furness, Rudall & Sampson, 2002), and Winteraceae (Sampson, 1963, 1970; Prakash, Lim & Sampson, 1992). However, the situation observed in *Butia* sp. and in *D. decaryi* is somewhat different: the second division cell plates are initiated before the end of the first cell plate formation. In monocots, this situation has also been recorded, but in association with successive cytokinesis, in *Stemona* (Stemonaceae) and *Eriocaulon* (Eriocaulaceae) (Furness & Rudall, 1999). *Blandfordia* (Blandfordiaceae) has ‘irregular’, simultaneous cytokinesis (Furness & Rudall, 1999), and in *Hemerocallis fulva* L. (Hemerocallidaceae) cytokinesis is described as intermediate between successive and simultaneous partitioning. Resulting tetrads are tetragonal or irregular tetrahedral (Penet *et al.*, 2005). These observations are unusual exceptions to the view of Blackmore & Crane (1998) who note that the resultant postmeiotic tetrad stage of modified simultaneous cytokinesis is usually tetragonal, decussate or T-shaped.

The diversity of tetrad form in palms has already been described by several authors, for example, Dahl-

gren & Clifford (1982), Harley (1999b) and Harley & Baker (2001). However, a striking feature of the pollen tetrad formation in the palm species examined is the high diversity found within each species. Although the proportions of the different categories of tetrads have not been assessed statistically, our results show that this intraspecific diversity occurs in all eight species examined. An unexpected feature is that rhomboidal and tetragonal tetrads were usually observed in addition to tetrahedral tetrads, although in lower frequency. Rhomboidal tetrads are not frequently recorded in angiosperms. The tetrahedral tetrads were generally irregular with six intersporal walls of unequal size. The association between simultaneous cytokinesis and irregular tetrahedral tetrads has been described in several monocotyledonous families, for example, Blandfordiaceae (Furness & Rudall, 1999), Asphodelaceae (Huynh, 1976; Nadot *et al.*, in press) and Asparagales (Nadot *et al.*, in press). This contrasts with the situation in eudicots, where tetrahedral tetrads are normally regular in form (Wodehouse, 1935; Erdtman, 1952).

An intriguing callose ring was observed in *C. hospita*, *S. repens* and *H. coriacea*. A similar phenomenon has been described in a few species of the Iridaceae with simultaneous cytokinesis, where it seems

to constrain the tetrad shape to tetragonal (Penet *et al.*, 2005). The situation in palms appears different because the callose ring was observed in tetrads with different shapes, such as rhomboidal and tetrahedral. Therefore, the role of this callose ring remains to be explained.

The diversity of microsporogenesis observed in palms contrasts with the apparent uniformity found in the rest of the Commelinids, where cytokinesis is mostly successive with a centrifugal progression of the cell plates.

CONCLUSIONS

Our results show that behind the uniform aperture pattern in the eight species of Arecaceae examined, lies a notable diversity in the ontogenic pathway. We do know that there are other species in the four arecoid genera represented where the pollen shape, and sometimes the aperture shape as well, is often highly asymmetrical, and trichotomosulcate pollen is known to co-occur in some species of *Dypsis* (Harley, 1999a). These findings raise the question of how aperture configuration is determined in palm species producing monosulcate pollen grains.

The impact of cytokinesis type, callose wall formation among the microspores, tetrad form and aperture position within the tetrad on final aperture configuration was demonstrated by Ressayre (2001) and Ressayre *et al.* (2002, 2005). But, concerning palms, further investigations will be necessary to understand exactly how aperture configuration is determined. In particular, investigations are needed concerning the relative position of the apertures within the tetrad. At present, our results do not allow us to conclude if the situations observed correspond to the predictions of the model of Ressayre *et al.* (2002).

In the pollen of Arecaceae some of the variations in aperture type, position and number are very unusual, and it is difficult to access fresh material in order to study pollen ontogeny in some of the most interesting examples, although we look forward to doing so when opportunities arise. However, we surmise that most of the more unusual and extreme aperture configurations in palms are rare outcomes of developmental processes similar to those governing bisymmetrical monosulcate, asymmetrical monosulcate, trichotomosulcate, or equatorial disulcate. Therefore, future studies will include microsporogenesis, and its impact on aperture position, in calamoid bisymmetrical monosulcate, and equatorial disulcate pollen. Additional studies of aperture development in monosulcate and trichotomosulcate pollen in the other four currently recognized subfamilies of palms will be reported soon (Dransfield *et al.*, 2005). We hope that by continuing our research into microsporogenesis in

palms we will be able to elucidate the dynamics of aperture development and explain the reasons for so much variation in aperture types in this remarkable monocot family.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank the Montgomery Botanical Center (Miami, FL, USA) from which the plant material studied here was obtained. We are particularly grateful to Larry Noblick for helping us with the sampling. This work was supported financially by the Institut Français de la Biodiversité (grant number 041 18 19 00).

REFERENCES

- Arens K.** 1949. Prova de Calose por meio da microscopia a luz fluorescente e applicacoes do metodo. *Lilloa* **18**: 71–75.
- Blackmore S, Barnes SH.** 1995. Garside's rule and the microspore tetrads of *Grevillea rosmarinifolia* A. Cunningham and *Dryandra polycephala* Benthams (Proteaceae). *Review of Palaeobotany and Palynology* **85**: 111–121.
- Blackmore S, Crane PR.** 1998. The evolution of apertures in the spores and pollen grains of embryophytes. In: Owens SJ, Rudall PJ, eds. *Reproductive biology*. Kew: Royal Botanic Gardens, 159–182.
- Dahlgren RMT, Clifford HT.** 1982. *The monocotyledons: a comparative study*. New York: Academic Press.
- Dinis AM, Mesquita JF.** 1993. The F-actin distribution during microsporogenesis in *Magnolia soulangeana* Soul. (Magnoliaceae). *Sexual Plant Reproduction* **6**: 57–63.
- Dransfield J, Ferguson IK, Uhl NW.** 1990. The coryphoid palms: patterns of variation and evolution. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **77**: 802–815.
- Dransfield J, Uhl NW, Asmussen CB, Baker WJ, Harley MM, Lewis CE.** 2005. A new phylogenetic classification of the palm family, Arecaceae. *Kew Bulletin* **60**: 559–569.
- Erdtman G.** 1952. *Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms*. Stockholm: Almqvist & Wiksell.
- Ferguson IK, Harley M.** 1993. The significance of new and recent work on pollen morphology of the Palmae. *Kew bulletin* **48**: 205–243.
- Furness CA, Rudall PJ.** 1999. Microsporogenesis in Monocotyledons. *Annals of Botany* **84**: 475–499.
- Furness CA, Rudall PJ, Sampson FB.** 2002. Evolution of microsporogenesis in Angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* **163**: 235–260.
- Govaerts Royal, Dransfield J.** 2005. *World checklist of palms*. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Harley MM.** 1990. Occurrence of simple, tectate, monosulcate or trichotomosulcate pollen grains within the Palmae. *Review of Palaeobotany and Palynology* **64**: 137–147.
- Harley MM.** 1999a. Palm pollen: overview and examples of taxonomic value at species level. *Memoirs of the New York Botanical Garden* **83**: 95–120.
- Harley MM.** 1999b. Palm pollen: overview and examples of

- taxonomic value at species level. *Memoirs of the New York botanical garden* **83**: 95–120.
- Harley MM, Baker WJ. 2001.** Pollen aperture morphology in Areaceae: application within phylogenetic analyses, and a summary of the fossil record of palm like pollen. *Grana* **40**: 45–77.
- Harley MM, Dransfield J. 2003.** Triporate pollen in Areaceae. *Grana* **42**: 3–19.
- Huynh KL. 1976.** Arrangement of some monosulcate, disulcate, trisulcate, dicolpate and tricolpate pollen types in the tetrads, and some aspects of evolution in the angiosperms. In: Ferguson IK, Muller M, eds. *The evolutionary significance of the exine*. London: Academic Press, 101–124.
- Murty YS. 1964.** Cytokinesis and microspore tetrad. In: Nair, PKK, ed. *Advances in palynology*. Lucknow: National Botanic Gardens. 176–202.
- Nadot S, Forchioni A, Penet L, Sannier J, Ressayre A. in press.** Links between early pollen development and aperture pattern in monocots. *Protoplasma* in press.
- Penet L, Nadot S, Adrienne Royal, Forchioni A, Dreyer L, Gouyon PH. 2005.** Multiple developmental pathways leading to a single morph: monosulcate pollen (examples from the Asparagales). *Annals of Botany* **95**: 331–343.
- Periasamy K, Swamy BGL. 1959.** Studies in the Annonaceae-I. Microsporogenesis in *Cananga odorata* and *Milium wightiana*. *Phytomorphology* **9**: 251–263.
- Prakash N, Lim AL, Sampson FB. 1992.** Anther and ovule development in Tasmania (Winteraceae). *Australian Journal of Botany* **40**: 877–885.
- Rau NS. 1930.** On reduction division in pollen-mother cells of *Cyanotis cristata*. *Journal of the Indian Botanical Society* **9**: 71–113.
- Ressayre A. 2001.** Equatorial aperture pattern in monocots: same definition rules as in eudicots? The example of two species of pontederiaceae. *International Journal of Plant Sciences* **162**: 1219–1224.
- Ressayre A, Dreyer L, Triki-Teurtroy S, Forchioni A, Nadot S. 2005.** Post-meiotic cytokinesis and pollen aperture pattern ontogeny: comparison of development in four species differing in aperture pattern. *American Journal of Botany* **92**: 576–583.
- Ressayre A, Mignot A, Siljak-Yakovlev S, Raquin C. 2003.** Post-meiotic cytokinesis and pollen aperture number determination in eudicots: effect of the cleavage wall number. *Protoplasma* **221**: 257–268.
- Ressayre A, Raquin C, Mignot A, Godelle B, Gouyon PH. 2002.** Correlated variation in microtubule distribution, callose deposition during male post-meiotic cytokinesis, and pollen aperture number across *Nicotiana* species (Solanaceae). *American Journal of Botany* **89**: 393–400.
- Sampson FB. 1963.** The floral morphology of *Pseudowintera*, the New Zealand member of the vesselless Winteraceae. *Phytomorphology* **13**: 403–423.
- Sampson FB. 1969.** Cytokinesis in pollen mother cells of Angiosperms, with emphasis on *Laurelia novae-zelandiae* (Monimiaceae). *Cytologia* **34**: 627–634.
- Sampson FB. 1970.** Unusual features of cytokinesis in meiosis of pollen mother cells of *Pseudowintera traversii* (Buchan.) Dandy (Winteraceae). *Beitraege zur Biologie der Pflanzen* **47**: 71–77.
- Sampson FB. 1975.** Aperture orientation in *Laurelia* pollen (Atherospermataceae Syn. subfamily Atherospermoideae of Monimiaceae). *Grana* **15**: 153–157.
- Sowunmi MA. 1968.** Pollen morphology in the palmae, with special reference to trends in aperture development. *Review of Palaeobotany and Palynology* **7**: 45–53.
- Sowunmi MA. 1972.** Pollen morphology of the Palmae and its bearing on taxonomy. *Review of Palaeobotany and Palynology* **13**: 1–80.
- Thanikaimoni G. 1970.** Les Palmiers: palynologie et systématique. *Travaux de la Section Scientifique et Technique, Institut Français de Pondichéry* **11**: 1–286.
- Uhl NW, Dransfield J. 1987.** *Genera Palmarum*. Lawrence, KS: Allen Press.
- Wodehouse RP. 1935.** *Pollen grains: their structure, identification and significance in science and medicine*. New York: McGraw-Hill.

CHAPITRE QUATRIÈME
EVOLUTION DE LA MICROSPOROGENESE CHEZ
LES ARECACEAE

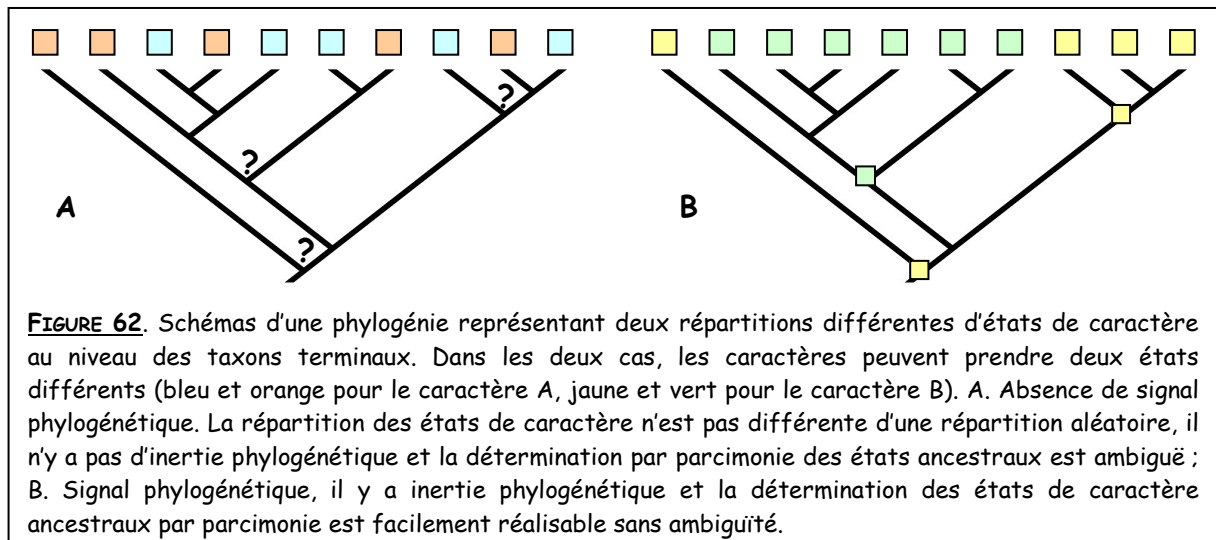
IV. ÉVOLUTION DE LA MICROSPOROGENÈSE CHEZ LES ARECACEAE

Après avoir décrit la diversité pollinique, reconstruit l'évolution du type apertural et décrit la diversité de la microsporogénèse chez les palmiers, j'ai choisi de continuer mon travail par la reconstruction de **l'évolution des composantes de la microsporogénèse** chez cette même famille. Je voulais comprendre cette évolution en recherchant les états ancestraux des étapes de la microsporogénèse et ainsi dégager les tendances évolutives de la microsporogénèse chez les Arecaceae.

La reconstruction de l'évolution d'un caractère nécessite plusieurs étapes :

- Une phylogénie bien résolue. Les relations phylogénétiques entre les taxons utilisés doivent être à la fois bien résolues et bien soutenues. Ensuite, selon la méthode de reconstruction choisie, il peut s'avérer nécessaire de connaître les longueurs de branche séparant les différents taxons. En effet, plus une branche est longue et plus la probabilité qu'une transition se soit produite le long de cette branche est importante. Cette probabilité va également dépendre du taux d'évolution du caractère étudié. Ce taux d'évolution commence à pouvoir être assez bien estimé concernant les caractères moléculaires mais, dans notre situation, étant donné que les caractères que j'ai choisi d'étudier ne sont pas moléculaires, le taux d'évolution reste totalement inconnu.
- Un test phylogénétique. Sur une phylogénie, les états de caractère peuvent être distribués de façon aléatoire ou bien être regroupés par blocs (Figure 62). Cette répartition est appelée **signal phylogénétique** et peut avoir plusieurs origines. Elle peut tout simplement être la conséquence d'un passé commun : tous les individus appartenant à un groupe monophylétique possèdent un ancêtre commun qui a pu acquérir un état de caractère particulier et le transmettre ensuite à toute sa descendance (**contrainte ou inertie phylogénétique**). C'est pour cette raison que les taxons terminaux dans une phylogénie sont plus souvent similaires entre taxons apparentés qu'entre taxons plus éloignés. Cette répartition des états de caractères peut également être due à l'apparition d'une **contrainte de développement**. Selon Maynard-Smith *et al.* (1985), une telle contrainte peut se définir comme un biais dans la production de phénotypes variants ou une limitation de la variabilité phénotypique causée par la structure, le caractère, la composition ou la dynamique du système développemental. L'apparition d'une telle contrainte expliquerait l'absence de variations dans les états de caractères des taxons terminaux d'un même groupe. Enfin, la présence d'un signal phylogénétique peut traduire l'existence d'un effet de la **sélection**. L'acquisition d'un état de caractère dans certaines conditions de vie peut par exemple avoir eu un effet si avantageux qu'il s'est répandu dans toute la descendance. Ces trois types d'explications à la répartition non aléatoire des états de caractères sont toutefois très difficiles à séparer les uns des autres. L'acquisition d'une contrainte de développement ou d'un état de caractère avantageux est forcément transmise à au moins une partie de la descendance. D'autre part, une contrainte de développement pourrait également avoir été

sélectionnée à l'origine. Finalement, la présence d'un signal phylogénétique ne nous renseigne pas particulièrement sur les causes d'une répartition particulière des états de caractères (contrainte phylogénétique, de développement ou sélection naturelle). Par contre, tester sa présence nous apporte une information non négligeable pour la reconstruction de l'évolution d'un caractère. En effet, si aucun signal phylogénétique n'est détecté, alors la répartition des états de caractère sur la phylogénie n'est pas différente d'une répartition aléatoire et dans ce cas la fiabilité des états de caractère inférés aux ancêtres hypothétiques doit être modérée (Laurin 2004).



- Un codage correct. Il est important de bien réfléchir au codage choisi. Le type de caractère doit donc être défini : continu ou discret. Pour un codage discret, on peut établir un codage binaire ou à plusieurs états de caractère.
- Une méthode de reconstruction. Actuellement, il existe surtout deux grandes méthodes de reconstruction de l'histoire évolutive des caractères :
 - 1) **La méthode du maximum de parcimonie**, qui reconstruit les états de caractère ancestraux qui minimisent le nombre de transitions étant donnée la topologie de l'arbre et la distribution des états de caractères aux nœuds terminaux.
 - 2) **La méthode du maximum de vraisemblance**, qui reconstruit pour chaque nœud l'état de caractère qui maximise la probabilité d'observer les états de caractères donnés aux nœuds terminaux, étant donné un modèle particulier d'évolution et des longueurs de branche données. Ce modèle autorise également des variations d'état de caractère à tous les autres nœuds de l'arbre.

Une fois toutes ces étapes effectuées, la reconstruction de l'évolution du caractère peut s'effectuer. Chez les Areaceae, j'ai choisi de porter mon attention sur le type de cytotinèse, le sens de formation des parois intersporales, les dépôts additionnels de callose, la forme des tétrades et l'anneau de callose.

A. Matériel et Méthodes

1. Phylogénie

La phylogénie utilisée est fondée sur celle d'Asmussen *et al.* (2006) qui inclut 161 des 189 genres de palmiers reconnus à l'heure actuelle (Dransfield *et al.* 2005). Cette phylogénie repose sur des données moléculaires ; elle a été construite à partir des séquences combinées de quatre régions chloroplastiques (*rbcL*, *rps 16-intron*, *trnL-trnF* et *matK*). Afin de reconstruire l'évolution des composantes de la microsporogenèse chez les Arecaceae, j'ai utilisé une version simplifiée de cette phylogénie moléculaire n'incluant que les 17 genres pour lesquels je disposais d'informations sur ces caractères. De manière à pouvoir utiliser les données concernant le genre *Butia* non inclus dans la phylogénie d'Asmussen *et al.* (2006), j'ai utilisé la classification de Dransfield *et al.* (2005) pour le placer comme groupe frère du genre *Allagoptera* (sous-famille des Cocoseae). Les relations phylogénétiques entre les espèces échantillonnées ont été contraintes en accord avec la topologie de l'arbre d'Asmussen *et al.* (2006).

J'ai également inclus *Nypa fruticans* ainsi que deux espèces de Calamoideae, pour lesquelles je disposais de quelques données sur la microsporogenèse, afin de compléter mon jeu de données. Enfin, deux espèces de Commelinales ont servi de groupes extérieurs dans le but de polariser l'évolution des caractères.

Les longueurs de branche dans la phylogénie que j'ai utilisées ont été calculées par le logiciel PAUP 4.0 (Swofford 1998). Dans cette optique, j'ai rentré les données moléculaires chloroplastiques concernant les 17 espèces de la phylogénie et j'ai contraint la topologie de l'arbre en accord avec le travail d'Asmussen *et al.* (2006). Les **longueurs de branche** ont alors été calculées, à la fois selon le modèle du **maximum de parcimonie** (MP) et selon le modèle du **maximum de vraisemblance** (en anglais, Maximum Likelihood = ML).

2. Test du signal phylogénétique

La présence d'un signal phylogénétique a été testée pour tous les caractères en utilisant le modèle de Yule, un algorithme du logiciel Mesquite (Maddison & Maddison 2003). Il permet de simuler un certain nombre d'arbre (ici 10 000) comprenant toujours le même nombre de taxons associés à leur état de caractère mais dont la topologie varie. Un signal est détecté lorsque que le nombre de transition sur l'arbre de référence est significativement différent du nombre moyen de transitions estimé à partir des arbres simulés. Le nombre de transitions est estimé par la méthode du MP et aucune distinction n'est faite entre transition et réversion.

3. Modèles de reconstruction de l'évolution des caractères

J'ai utilisé le logiciel Mesquite (Maddison & Maddison 2003) pour reconstruire l'histoire évolutive des caractères, avec deux modèles différents : le modèle du MP et le modèle du ML. Pour ce dernier, deux modèles d'évolution ont été utilisés : le premier considère que toutes les transitions sont équiprobables (modèle symétrique) et le second que les transitions (« forward ») et les réversions (« backward ») n'ont pas la même probabilité de se produire.

4. Codage des caractères

Tous les caractères étudiés sont discrets. Seul le type de cytokinèse est codé comme un caractère à trois états. Tous les autres sont binaires. Le codage des différents caractères est disponible dans le tableau 6. En ce qui concerne le type de cytokinèse, j'ai choisi de coder l'hétéromorphisme comme un troisième état de caractère pour la simple raison que le modèle du maximum de vraisemblance utilisé pour reconstruire l'évolution des caractères ne prend pas en compte le polymorphisme.

TABLEAU 6. Codage utilisé pour les différents caractères de la microsporogenèse dans le cadre de l'étude de leur évolution au sein des Arecaceae. Mixtes : mélange de toutes les formes de tétrades.

Caractères	Etat 0	Etat 1	Etat 2
Type de cytokinèse	Successive	Simultanée	Hétéromorphe
Sens de formation des parois	Centrifuge	Centripète	
Dépôts additionnels de callose	Absence	Présence	
Formes des tétrades	Tétraogonales	Mixtes	
Anneau de callose	Absence	Présence	

Pour de plus amples informations sur les méthodes utilisées, se référer à la section 'Material and Methods' de l'article suivant : Sannier *et al.* (soumis), p.135.

Résultats

La plus grande partie des résultats sont décrits et discutés dans l'article suivant, présenté à la fin de ce chapitre, p.135 :

- **Evolution of microsporogenesis in palms (Arecaceae).**

Sannier J., Asmussen-Lange C. B., Harley M. et Nadot S. Soumis à *International Journal of Plant Sciences*.

Je vais résumer l'ensemble de ces résultats dans la suite de ce chapitre.

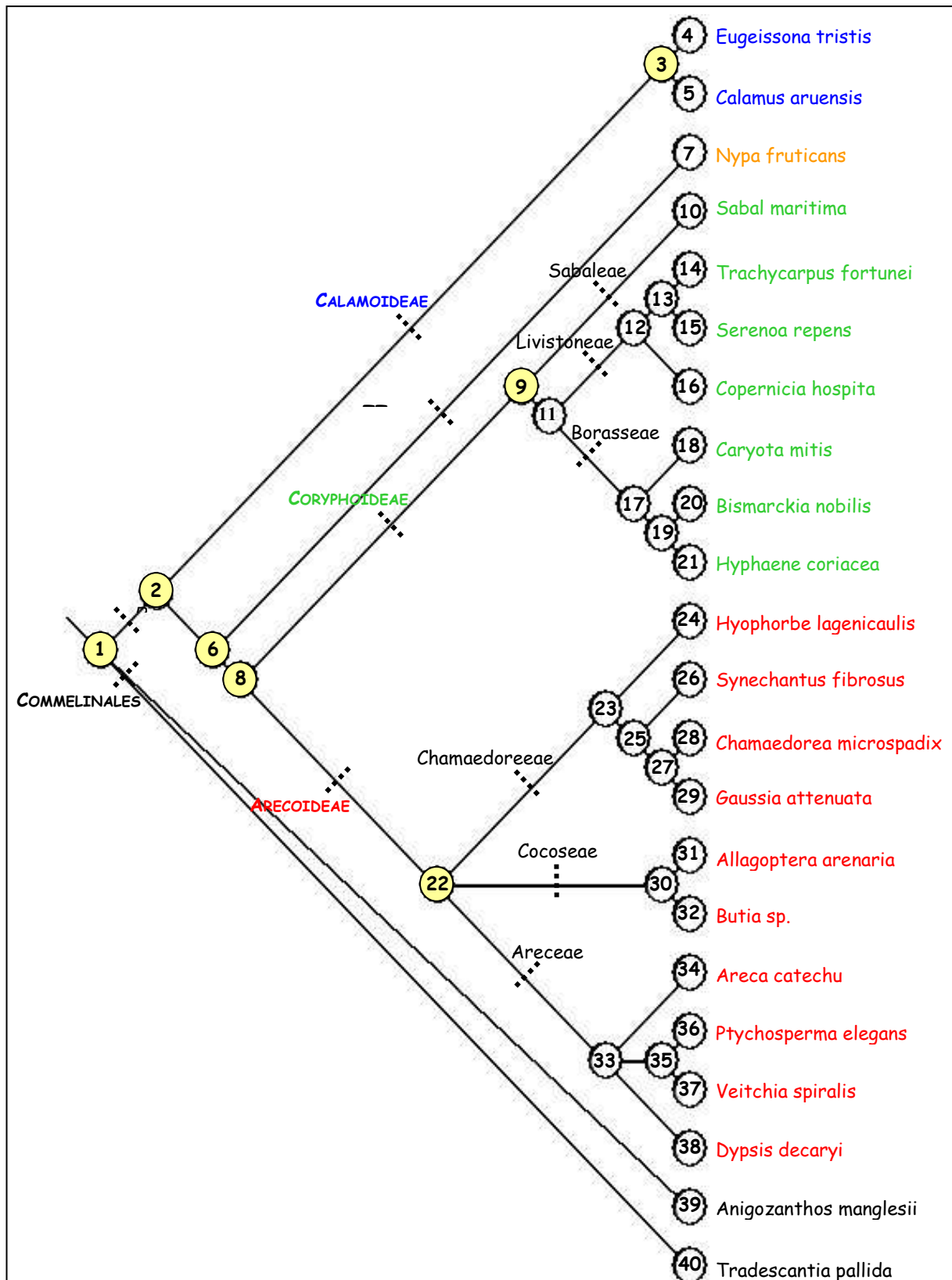


FIGURE 63. Phylogénie des espèces utilisées et numéros des nœuds ancestraux et terminaux. Les nœuds ancestraux principaux dont les états de caractère ont été reconstruit sont en jaunes (1, 2, 3, 6, 8, 9 et 22). Les couleurs des noms d'espèces correspondent aux sous-familles auxquelles elles appartiennent : Calamoideae, Nypoideae, Coryphoideae et Arecoideae.

5. Phylogénie

La figure 63 représente la phylogénie des espèces que l'on a utilisées dans cette étude. Elle fait également apparaître le numéro des différents nœuds et le nom des sous-familles et des tribus auxquelles appartiennent ces espèces. Les nœuds auxquels je me suis particulièrement intéressée correspondent à différents ancêtres explicités dans le tableau 7.

TABLEAU 7. Signification des principaux nœuds de la phylogénie des Arecaceae utilisée dans cette étude.

Noeuds	Correspondance
1	Dernier ancêtre commun à tous les palmiers et aux groupes extérieurs
2	Dernier ancêtre commun à tous les palmiers
3	Dernier ancêtre commun aux Calamoideae
6	Dernier ancêtre commun à tous les palmiers excepté les Calamoideae
8	Dernier ancêtre commun aux Coryphoideae et aux Arecoideae
9	Dernier ancêtre commun aux Coryphoideae
23	Dernier ancêtre commun aux Arecoideae

Lorsque la méthode du ML a été utilisée pour reconstruire l'évolution des caractères de la microsporogénèse, j'ai choisi d'utiliser l'information fournie par les longueurs de branche. Le calcul de ces longueurs de branche peut être fait selon le modèle du MP ou du ML. J'ai testé les deux méthodes de manière à vérifier si nous obtenions des résultats comparables. Ces résultats apparaissent sur la figure 64. On peut constater que les longueurs relatives des branches sont équivalentes quelle que

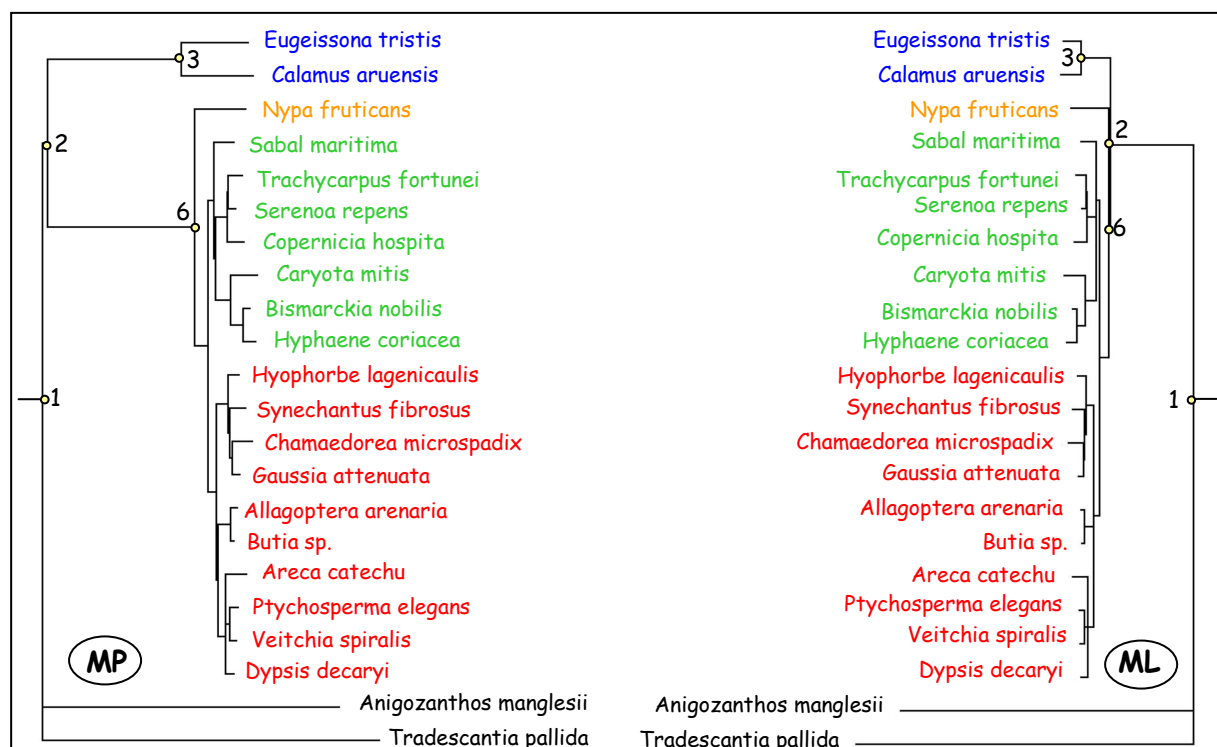


FIGURE 64. Longueurs relatives des branches de la phylogénie des Arecaceae utilisée dans cette étude. Elles ont été calculées sur la topologie contrainte de l'arbre, avec le logiciel PAUP 4.0 (Swofford 1998), à gauche par la méthode du maximum de parcimonie et à droite par celle du maximum de vraisemblance. Les couleurs des espèces correspondent aux sous-familles auxquelles elles appartiennent : Calamoideae, Nypoideae, Coryphoideae et Arecoideae. Les nœuds les plus internes sont indiqués.

soit la méthode utilisée, excepté pour les branches menant du nœud 1 au nœud 2, du nœud 2 au nœud 3 et du nœud 2 au nœud 6. Lorsque les longueurs de branche sont calculées par MP, la première branche est beaucoup plus courte que les deux autres. La situation est inversée lorsqu'elles sont calculées par ML. Par la suite, il m'a semblé logique de n'utiliser que les longueurs de branche calculées par la méthode du ML puisque c'est également cette méthode qui exploite l'information des longueurs de branche pour reconstruire l'évolution des caractères.

6. Test du signal phylogénétique

J'ai testé la présence d'un signal phylogénétique pour les différents caractères de la microsporogénèse dont voici les résultats (Figure 65) :

- Type de cytokinèse

J'ai effectué deux types de test. Pour le premier, j'ai considéré que la cytokinèse chez *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis* était exclusivement simultanée. Pour le second test, j'ai considéré au contraire que ces deux espèces présentaient une cytokinèse mixte, à la fois simultanée et successive. J'ai réalisé deux tests différents car les états de caractère pour les deux espèces en question sont incertains, comme je vous l'ai expliqué au chapitre précédent, p. 89. Dans les deux cas, un **fort signal phylogénétique** a pu être détecté, montrant l'existence d'une inertie phylogénétique pour ce caractère ($P < 0.001$).

- Sens de formation des parois intersporales et dépôts additionnels de callose

Aucun signal phylogénétique n'a pu être décelé pour ces deux caractères. La distribution des états de caractères aux nœuds terminaux n'est donc pas significativement différente d'une répartition aléatoire ($P = 0.37$ et $P = 0.1$ respectivement).

- Forme des tétrades

En utilisant le codage que j'ai choisi, le signal phylogénétique observé est très fort ($P < 0.001$). Ce caractère présente une **forte inertie phylogénétique**.

- Anneau de callose

Pour ce caractère, un **signal phylogénétique a pu être détecté**, bien qu'il soit moins fort que pour le type de cytokinèse et la forme des tétrades ($P = 0.006$).

7. Reconstruction de l'évolution des caractères de la microsporogénèse

En annexe G sont consignés les différents états de caractère inférés aux principaux nœuds de la phylogénie selon les trois modèles utilisés : maximum de parcimonie, maximum de vraisemblance suivant le modèle d'évolution symétrique et maximum de vraisemblance suivant le modèle d'évolution asymétrique. Pour les deux derniers modèles, les probabilités d'observer chaque état de caractère aux différents nœuds sont indiquées.

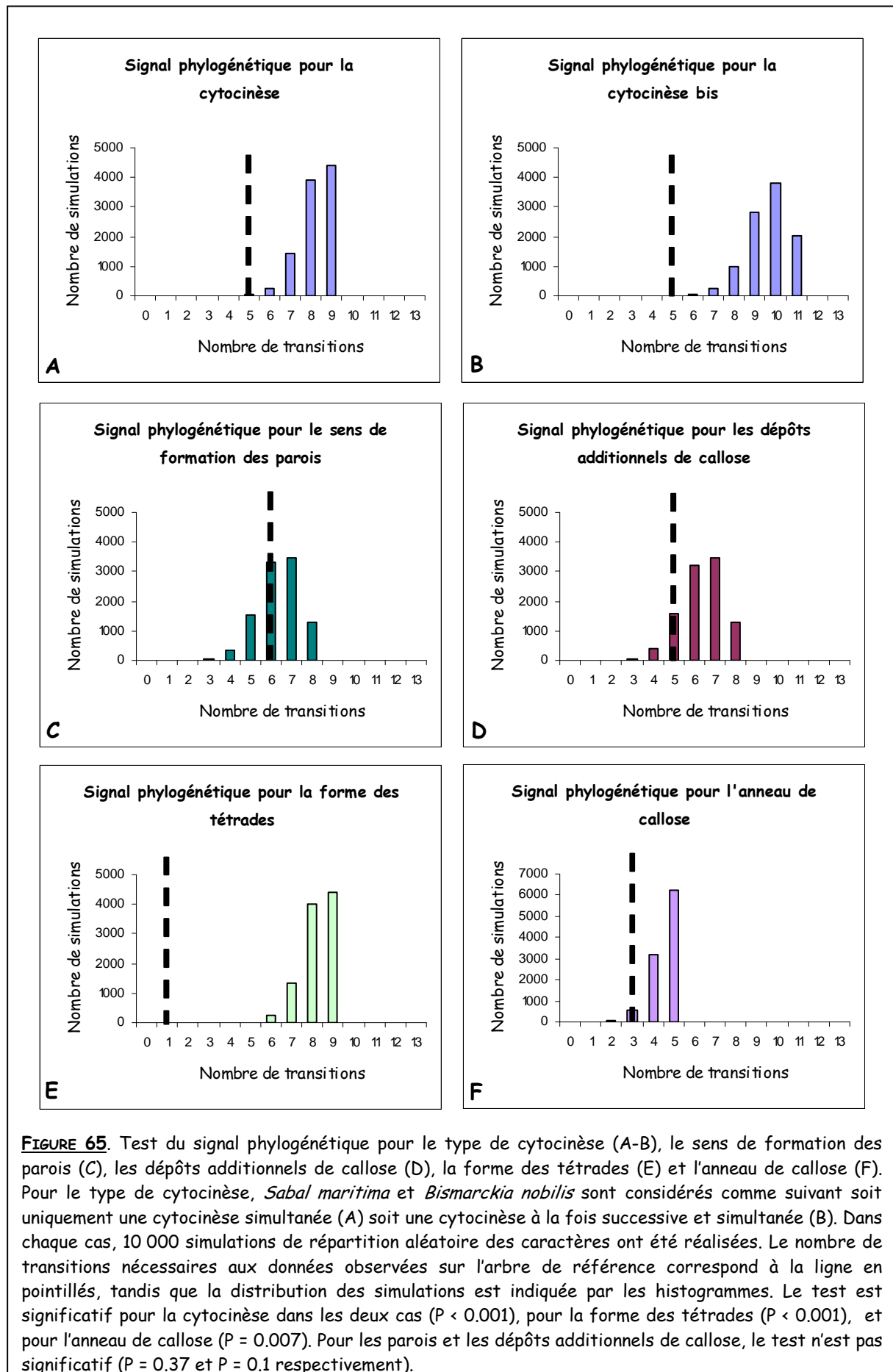
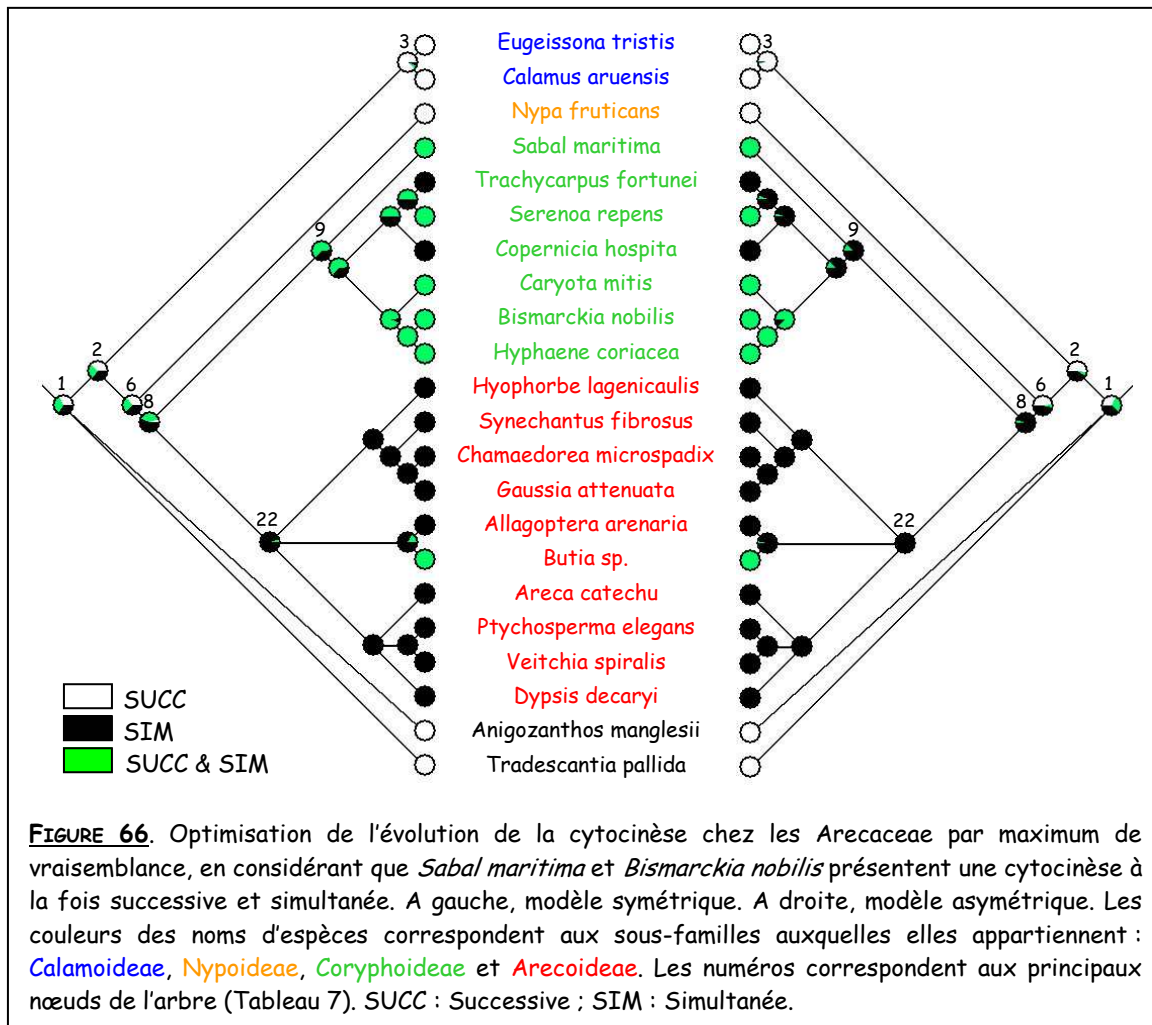


FIGURE 65. Test du signal phylogénétique pour le type de cytokinèse (A-B), le sens de formation des parois (C), les dépôts additionnels de callose (D), la forme des tétrades (E) et l'anneau de callose (F). Pour le type de cytokinèse, *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis* sont considérés comme suivant soit uniquement une cytokinèse simultanée (A) soit une cytokinèse à la fois successive et simultanée (B). Dans chaque cas, 10 000 simulations de répartition aléatoire des caractères ont été réalisées. Le nombre de transitions nécessaires aux données observées sur l'arbre de référence correspond à la ligne en pointillés, tandis que la distribution des simulations est indiquée par les histogrammes. Le test est significatif pour la cytokinèse dans les deux cas ($P < 0.001$), pour la forme des tétrades ($P < 0.001$), et pour l'anneau de callose ($P = 0.007$). Pour les parois et les dépôts additionnels de callose, le test n'est pas significatif ($P = 0.37$ et $P = 0.1$ respectivement).

a. Type de cytotcinèse

Dans un premier temps, je résumerai les résultats présentés dans notre article (Sannier *et al.* Soumis dans International Journal of Plant Sciences), au sein duquel, nous avons considéré que la cytotcinèse de *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis* est exclusivement simultanée (Figure 1 dans Sannier *et al.* (soumis)). Dans un second temps, je présenterai les résultats obtenus lorsque l'on considère que chez ces deux espèces, la cytotcinèse simultanée est associée à des cas de cytotcinèse successive.

- Dans le premier cas, les résultats fournis par les méthodes du MP et du ML sont similaires : les derniers ancêtres communs aux Coryphoideae (nœud 9), aux Arecoideae (nœud 22) et à l'ensemble de ces deux sous-familles (nœud 8) présenteraient un état de caractère simultané. Seuls les nœuds les plus basaux (nœuds 1, 2 et 6) présentent des résultats différents selon la méthode utilisée. En effet, pour ces nœuds, la méthode du MP infère un état de caractère successif alors que la méthode du ML donne des résultats ambigus. Par exemple, en ce qui concerne le dernier ancêtre commun à l'ensemble des palmiers (nœud 2), le modèle d'évolution symétrique infère un état de caractère simultané tandis que le modèle asymétrique favorise un état de caractère successif. Les résultats obtenus avec le modèle asymétrique expliquent un peu mieux les données que le modèle symétrique même si la différence entre les deux valeurs du log de vraisemblance ne sont pas très différentes ($-\log L_{\text{asym}} = 18.23$; $-\log L_{\text{sym}} = 19.38$). On peut donc considérer selon ce codage que la cytotcinèse ancestrale à l'ensemble des palmiers (nœud 2) est **vraisemblablement plutôt de type successif**.
- Si on considère que *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis* présentent une cytotcinèse à la fois simultanée et successive, les résultats sont presque congruents avec ceux trouvés précédemment (Figure 66). Là encore, les méthodes du MP et du ML donnent des résultats comparables. En ce qui concerne le dernier ancêtre commun à l'ensemble des palmiers (nœud 2), les méthodes du MP et du ML sous le modèle d'évolution asymétrique infèrent un état de caractère successif à ce nœud. Le modèle d'évolution symétrique quant à lui ne permet pas de trancher en faveur de l'un ou l'autre type de cytotcinèse. Le seul nœud important pour lequel les résultats sont différents de ceux obtenus avec le premier codage correspond au dernier ancêtre commun aux Coryphoideae (nœud 9). En effet, ici, lorsque le modèle utilisé est symétrique, la cytotcinèse inférée à ce nœud est dans ce cas à la fois successive et simultanée.



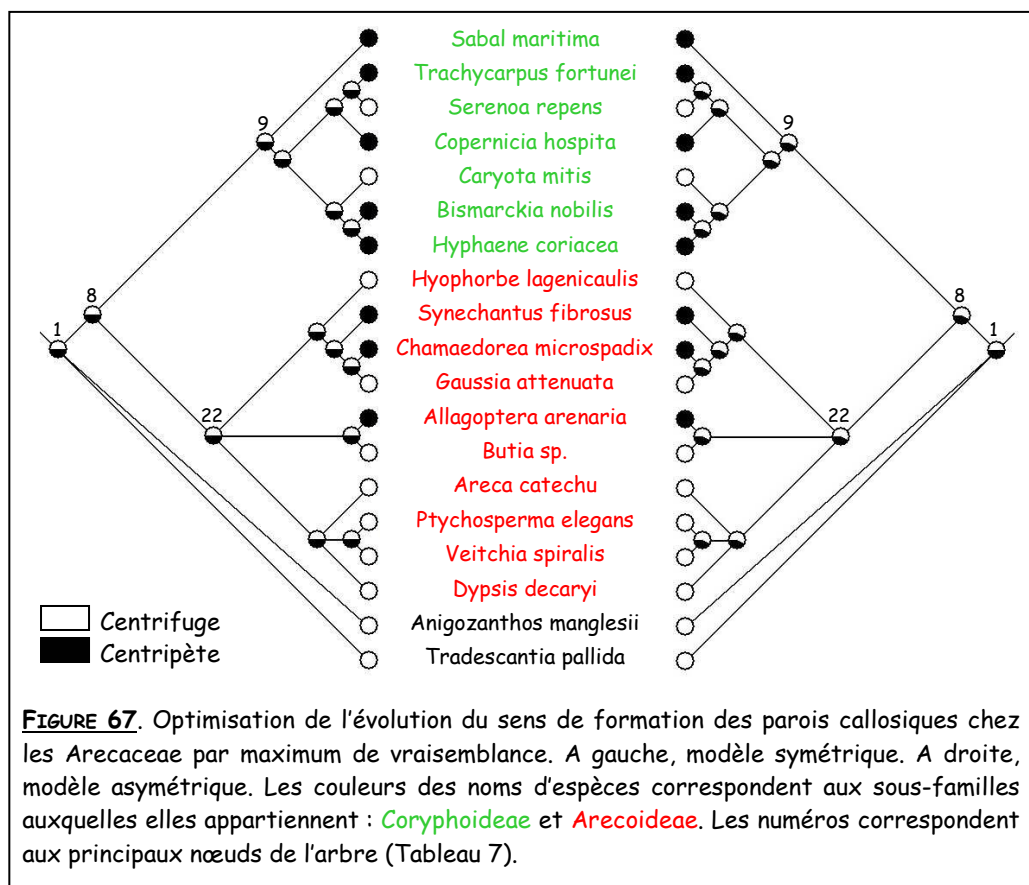
b. Sens de formation des parois intersporales

Bien qu'aucun signal phylogénétique n'ait pu être détecté pour ce caractère, il est intéressant de visualiser les résultats obtenus lors de la reconstruction de son évolution (Figure 67).

Je ne dispose pas des informations concernant le sens de formation des parois intersporales chez les Calamoideae et les Nypoideae. Or, les méthodes de ML ne fonctionnent pas lorsque des états de caractères ne sont pas connus. Pour cette raison, les espèces appartenant à ces deux groupes ne sont pas incluses dans la phylogénie utilisée pour la reconstruction de l'évolution de ce caractère chez les Arecaceae.

Nous pouvons constater qu'en accord avec l'absence de signal phylogénétique, aucun état de caractère aux nœuds ancestraux ne peut être inféré dans un sens ou dans l'autre, quel que soit le modèle d'évolution utilisé selon la méthode du ML. Seule la méthode du MP permet de résoudre les états de caractère à ces nœuds. **La formation des parois chez le dernier ancêtre commun aux Coryphoideae et aux Arecoideae (nœud 8) serait centrifuge de même que chez le dernier ancêtre commun aux Arecoideae (nœud 22).** Au contraire, les parois intersporales du dernier ancêtre commun aux Coryphoideae se formeraient de manière centripète. Toutefois, il est important de

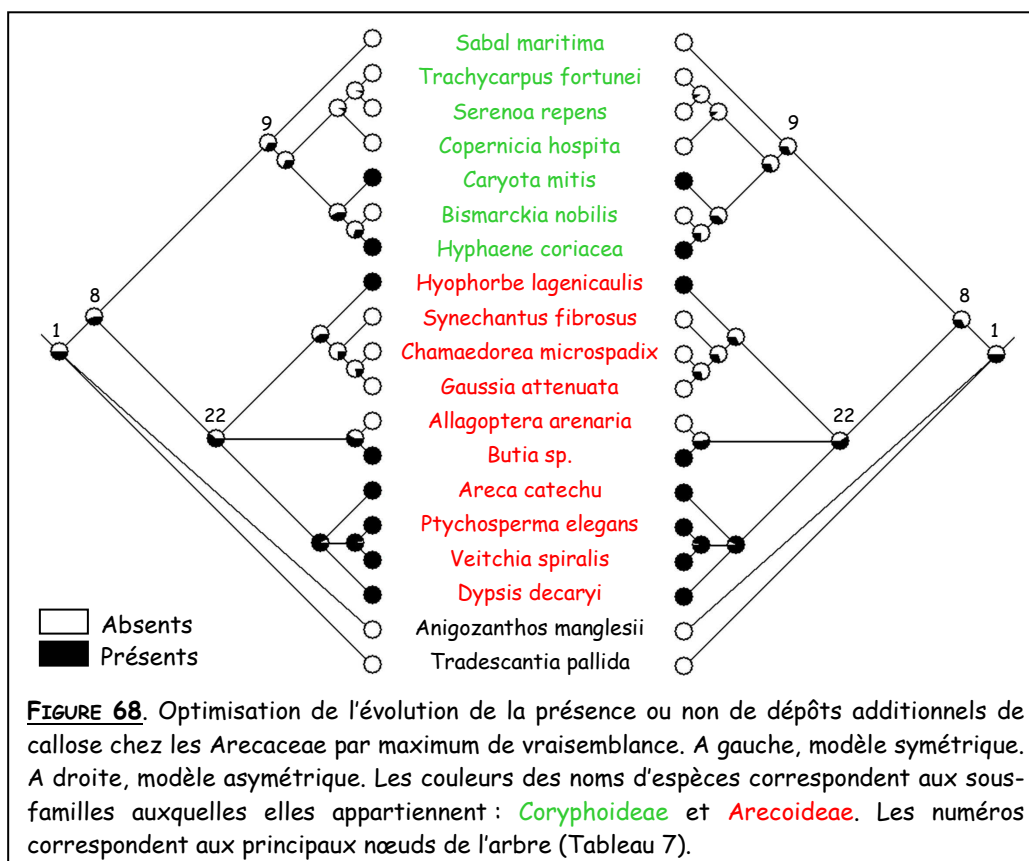
rester prudent avec l'interprétation de ces résultats puisque la méthode du MP ne prend pas en compte les longueurs de branche.



c. Dépôts additionnels de callose

Là encore l'absence d'information concernant la présence ou non de dépôts additionnels de callose chez les Calamoideae et les Nypoideae explique l'exclusion de ces deux groupes de la phylogénie utilisée. Les résultats obtenus lors de la reconstruction de l'évolution de ce caractère sont présentés sur la figure 68.

- Malgré l'absence de signal phylogénétique, les états de caractères à quelques nœuds ancestraux peuvent être inférés même si les résultats ne sont jamais significatifs en faveur de l'une ou l'autre des solutions. Par exemple, selon les deux modèles d'évolution de la méthode du ML, le dernier ancêtre commun aux *Arecoideae* (nœud 22) présenterait plutôt des dépôts additionnels de callose alors que le dernier ancêtre commun aux *Coryphoideae* (nœud 9) n'en présenterait pas. Les résultats obtenus par la méthode du MP sont en accord avec ceux obtenus par ML.
- Au sein des *Arecoideae*, il apparaît assez clairement que **l'ensemble des Areceae présentent des dépôts additionnels de callose**, ce qui entraîne l'inférence du même état de caractère pour leur dernier ancêtre commun (nœud 33). Au contraire, le dernier ancêtre commun aux *Chamaedoreae* (nœud 23) ne posséderait pas de tels dépôts.



d. Forme des tétrades

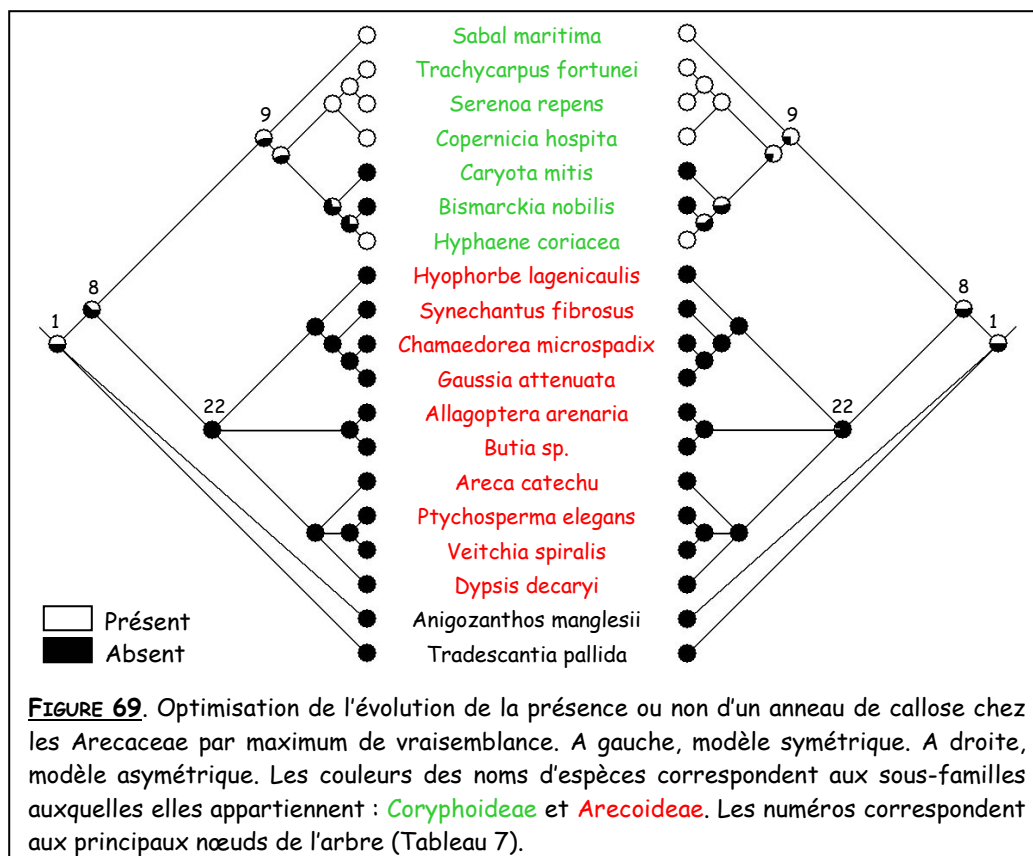
Lorsque j'ai cherché à définir les états de caractère pour la forme des tétrades chez les espèces échantillonnées, je me suis rendue compte qu'il était difficile d'identifier précisément ces formes. Malgré tout, j'ai pu mettre en évidence que toutes les espèces échantillonnées présentent toutes les catégories de formes de tétrade (Tétraogonales et associées, rhomboïdales et tétraédriques). Cependant, la variation intra individuelle s'est révélée très importante rendant l'estimation des proportions des différentes formes de tétrade impossible à réaliser. Pour toutes ces raisons, j'ai choisi de coder ce caractère en deux états : production de tétrades tétraogonales uniquement ou production de toutes les formes de tétrades indifféremment (hétéromorphisme). Les résultats sont disponibles sur la figure 2 dans Sannier *et al.* (soumis). Il semblerait que **le dernier ancêtre commun aux Coryphoideae et aux Arecoideae (nœud 8) produisait déjà diverses formes de tétrades** contrairement au dernier ancêtre commun des palmiers (nœud 2). Ce résultat est valable quelle que soit la méthode utilisée et tous les résultats obtenus par ML sont significatifs.

e. Anneau de callose

Dans notre article soumis (Sannier *et al.*, Soumis dans International Journal of Plant Sciences), nous avons remarqué qu'un anneau de callose était présent seulement chez des espèces de Coryphoideae. En reconstruisant l'évolution de ce caractère chez les espèces échantillonnées, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Nœud 8 = dernier ancêtre commun à l'ensemble composé des Arecoideae et des Coryphoideae. Le modèle d'évolution asymétrique de la méthode du ML donnait une probabilité significative en faveur de la présence d'un anneau de callose tandis que la méthode du MP donnait un résultat qui penchait plutôt en faveur de l'absence d'anneau de callose. Le modèle symétrique donnait un résultat ambigu.
- Nœud 9 = dernier ancêtre commun aux Coryphoideae. Quel que soit le modèle d'évolution utilisé, la méthode du ML inférait une présence d'anneau de callose. La méthode du MP donnait un résultat ambigu.
- Nœud 22 = dernier ancêtre commun aux Arecoideae. Toutes les méthodes inférait un résultat similaire : une absence d'anneau de callose.

Cependant, des observations ultérieures suggèrent que, contrairement à ce que nous avons noté, *Bismarckia nobilis* (Coryphoideae) ne présente pas d'anneau de callose. Par conséquent, j'ai à nouveau reconstruit l'évolution de ce caractère mais en tenant compte des nouvelles observations (Figure 69). Les résultats sont tout de même comparables :



- Nœud 8 = dernier ancêtre commun à l'ensemble composé des Arecoideae et des Coryphoideae. Aucun des deux modèles d'évolution de la méthode du ML ne donne de résultat significatif même si le modèle symétrique fournit une probabilité supérieure en faveur d'une absence d'anneau de callose. Le modèle asymétrique donne un résultat ambigu. La méthode du MP infère également l'état de caractère absence d'anneau de callose. **Le dernier ancêtre commun aux Coryphoideae et aux Arecoideae ne possédait donc probablement pas d'anneau de callose.**
- Nœud 9 = dernier ancêtre commun aux Coryphoideae. Les deux modèles d'évolution de la méthode du ML fournissent des probabilités supérieures mais non de manière significative en faveur d'une présence d'anneau de callose. La méthode du MP donne un résultat ambigu.
- Nœud 22 = dernier ancêtre commun aux Arecoideae. Toutes les méthodes infèrent un résultat similaire : une absence d'anneau de callose (résultats significatifs avec les deux modèles d'évolution).
- Les résultats diffèrent de ceux exposés dans notre article au niveau des nœuds internes au clade des Coryphoideae. En effet, au nœud 17 correspondant au dernier ancêtre commun aux Borasseae, la présence d'un anneau de callose avait été inférée avec le premier codage alors qu'en réalité l'anneau est absent à ce nœud. Cependant ces derniers résultats ne sont pas significatifs et indiquent juste une tendance en faveur de cet état de caractère.

Pour reconstruire l'évolution générale de la microsporogenèse, j'ai choisi les résultats obtenus avec le modèle du ML. Selon moi, ces résultats sont biologiquement plus vraisemblables. En effet, la méthode tient compte des longueurs de branche et par conséquent de la probabilité accrue qu'une transition ait lieu lorsque la branche s'allonge. **Le modèle d'évolution asymétrique semble également biologiquement plus vraisemblable** puisqu'il tient compte des différences de probabilités qu'il peut y avoir entre une nouvelle transition et une réversion. J'ai donc préférentiellement choisi ce dernier modèle pour établir la figure 70 et le tableau 8. Lorsque les résultats n'étaient pas significatifs ou ne permettaient pas de déterminer l'état de caractère inféré, j'ai tenu compte des résultats obtenus avec le modèle d'évolution symétrique et de ceux obtenus avec la méthode du MP. La figure résume toutes les transitions susceptibles d'avoir eu lieu pour expliquer l'évolution de la microsporogenèse chez les palmiers. Le tableau résume les résultats trouvés concernant les états de caractère inférés aux nœuds ancestraux principaux, ceci pour tous les caractères de la microsporogenèse étudiés.

Les résultats montrent que 15 transitions et six réversions seraient nécessaires pour expliquer l'évolution de la microsporogenèse chez les espèces échantillonnées. On peut également remarquer que la plupart de ces changements ont lieu dans les branches terminales de l'arbre (15 sur 21).

- Cinq transitions sont nécessaires pour expliquer l'évolution du type de cytokinèse.

- Quatre transitions et deux réversions sont nécessaires pour expliquer l'évolution du sens de formation des parois intersporales.
- Quatre transitions et deux réversions sont nécessaires pour expliquer l'évolution de la présence de dépôts additionnels de callose.
- Une transition est nécessaire pour expliquer l'évolution de la forme des tétrades
- Une transition et deux réversions sont nécessaires pour expliquer l'évolution de la présence d'un anneau de callose.

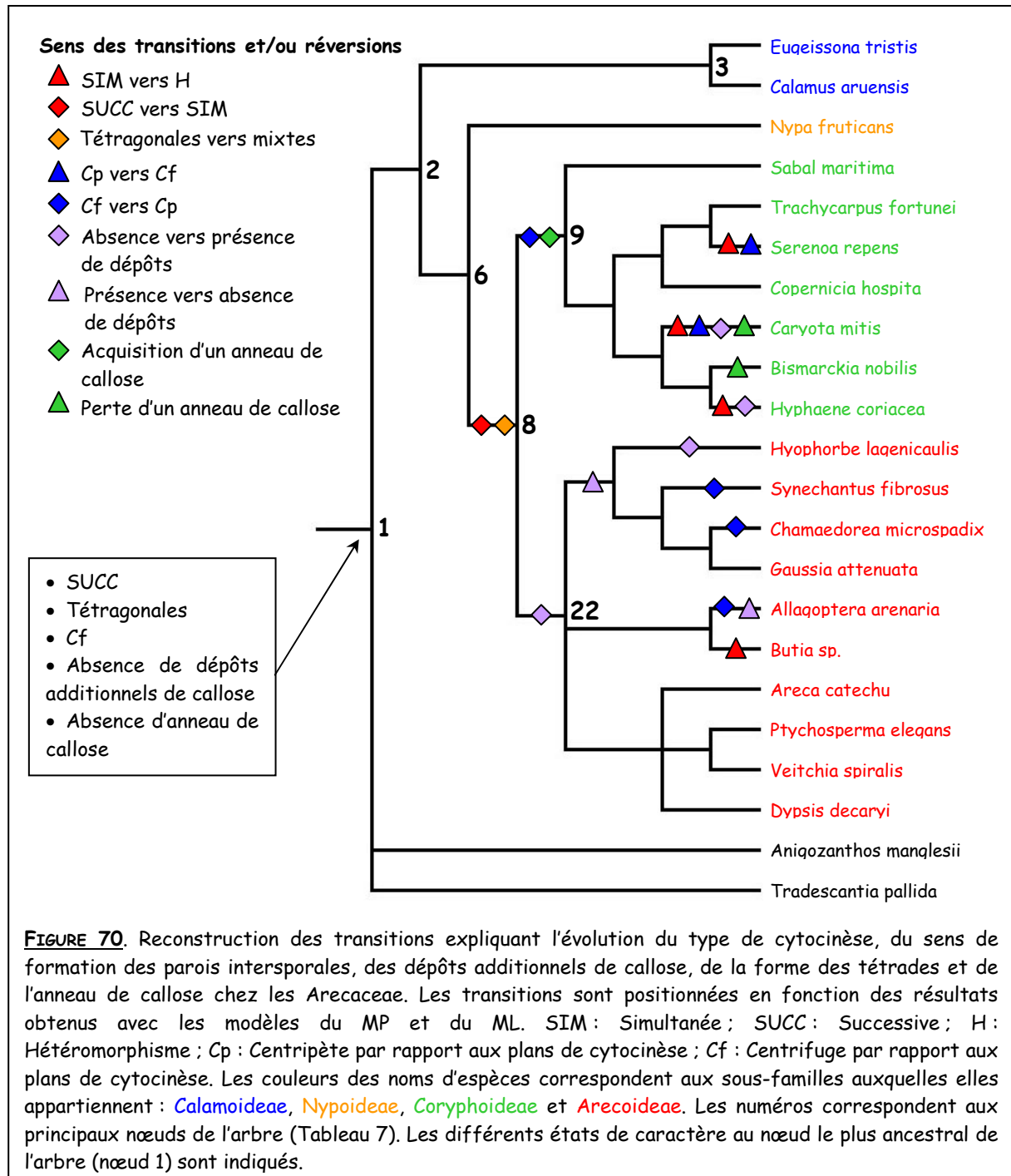


TABLEAU 8. Etats ancestraux putatifs inférés aux principaux nœuds de l'arbre selon la méthode du ML, pour le type de cytokinèse, la forme des tétrades, le sens de formation des parois, les dépôts additionnels de callose et l'anneau de callose. Les états déterminés avec ambiguïté (non significatifs) par le modèle d'évolution asymétrique sont indiqués en gris. Entre parenthèses sont indiquées les états inférés par la méthode du MP lorsque la méthode du ML ne donnait aucune tendance particulière. SUCC : Cytokinèse successive ; SIM : Cytokinèse simultanée ; Cf : formation centrifuge des parois intersporales ; Cp : formation centripète des parois intersporales.

Nœuds	Type de cytokinèse	Sens de formation des parois	Dépôts additionnels de callose	Forme des tétrades	Anneau de callose
1	? (SUCC)	? (Cf)	? (Absence)	Tétraogonales	? (Absence)
2	SUCC	?	?	Tétraogonales	?
3	SUCC	?	?	Tétraogonales	?
6	SIM	?	?	Tétraogonales	?
8	SIM	? (Cf)	Absence	Mixtes	Absence
9	SIM	? (Cp)	Absence	Mixtes	Présence
23	SIM	? (Cf)	Présence	Mixtes	Absence

Discussion

Dans la suite de ce chapitre, je ne discuterai les résultats que dans le contexte des palmiers. L'évolution des composantes de la microsporogenèse dans le contexte des Angiospermes sera discutée dans la conclusion générale de ce manuscrit.

8. Phylogénie

Dans la phylogénie que j'ai utilisée, les longueurs de branche sont calculées à partir de données moléculaires, c'est-à-dire de séquences d'ADN. Par maximum de parcimonie (MP), les valeurs données correspondent au nombre total de transitions estimées sur la branche séparant deux nœuds, en fonction des données moléculaires fournies. Il est généralement admis que cette méthode tend à sous-estimer les longueurs de branche lorsque les branches sont longues. Par maximum de vraisemblance (ML), les valeurs calculées correspondent au nombre de transitions par base d'ADN le long de la branche en question. Tateno (1994) précise que cette méthode peut être affectée dans son efficacité par les modèles d'évolution utilisés. Dans mon cas, diverses hypothèses ont été testées qui ont toutes donné des résultats comparables. Par conséquent j'ai opté pour les paramètres estimés par le logiciel. A l'exception des trois branches les plus internes, les deux méthodes de calcul fournissent des résultats identiques. Lorsque les longueurs de branche sont calculées par MP, on observe une séparation importante du groupe des Calamoideae par rapport au reste des palmiers alors que ce n'est pas le cas avec la méthode du ML. Les différences au niveau des longueurs de branche ont des répercussions sur la reconstruction des états ancestraux aux nœuds les plus internes de l'arbre. Par exemple, si l'on utilise les longueurs de branche calculées par MP, l'état de caractère au nœud 2 (dernier ancêtre commun à l'ensemble des palmiers) sera beaucoup plus difficile à inférer qu'avec des branches calculées par ML ; la probabilité qu'une transition ait lieu dans les branches menant du nœud

2 au nœud 3 et du nœud 2 au nœud 6 sera beaucoup plus grande avec la première méthode. Les raisons d'une telle différence ne sont pas claires. J'ai choisi d'utiliser les longueurs de branche calculées par ML pour deux raisons :

1) Les résultats m'ont semblé beaucoup plus vraisemblables. En effet, le gène chloroplastique *rbcL* présente chez les Arecaceae un taux de substitution des nucléotides relativement homogène (Gaut *et al.* 1992) et qui est moins élevé que chez d'autres familles de Monocotylédones (Wilson *et al.* 1990). On peut imaginer que, par extension, le génome chloroplastique soit concerné dans son ensemble par ce type d'évolution. Par conséquent, il m'a semblé logique de penser qu'il n'y a aucune raison pour que le groupe des Calamoideae ait évolué séparément du reste des palmiers.

2) Comme je l'ai souligné dans les résultats, la méthode de ML permet de reconstruire l'évolution des caractères en tenant compte de l'information apportée par les longueurs de branche. Il m'a donc semblé logique d'utiliser cette méthode pour calculer lesdites longueurs de branche.

9. Inférence des états de caractère ancestraux

J'ai pu constater que, selon la méthode utilisée, les états de caractère inférés aux nœuds de l'arbre peuvent être différents. Faut-il alors privilégier une méthode par rapport à l'autre ? Quels résultats doit-on choisir ? De nombreux articles décrivent les avantages et les inconvénients des différentes méthodes, en fonction des paramètres dont on dispose sur la longueur des branches, les taux d'évolution et le nombre de taxons (Schultz *et al.* 1996, Schluter *et al.* 1997, Cunningham *et al.* 1998, Losos 1999, Pagel 1999b, 1999a, Stireman 2005). Bien que la plupart du temps il soit recommandé d'utiliser préférentiellement la méthode du ML, j'ai choisi de présenter les résultats obtenus avec cette méthode mais aussi avec la méthode du MP, ceci afin de disposer d'informations complémentaires. En particulier dans ma situation, la méthode du MP permet d'inférer des états de caractère aux nœuds les plus ancestraux contrairement à la méthode du ML qui fournit souvent des résultats ambigus à ces nœuds. Il se peut que les résultats obtenus par MP soient artéfactuels et ils doivent être considérés avec prudence mais il est tout de même intéressant de prendre en compte les informations qu'ils apportent.

- Type de cytokinèse

Les résultats obtenus concernant le type de cytokinèse ont montré l'importance du choix fait pour l'attribution des états de caractère aux espèces échantillonnées. En effet, nous avons vu que selon le choix que j'ai fait concernant l'état de ce caractère chez *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis*, les résultats sont différents. J'ai finalement choisi ici de considérer que ces deux espèces présentent une cytokinèse simultanée car l'occurrence d'une cytokinèse successive n'a jamais pu être démontrée avec certitude chez ces espèces et ne surviendrait de toute façon que très rarement (les

observations caractéristiques d'une cytokinèse successive sont relativement rares comparés aux observations caractéristiques d'une cytokinèse simultanée).

Selon la méthode du MP, l'état ancestral à l'ensemble des palmiers serait une cytokinèse de type successif. Les modèles utilisés avec la méthode du ML donnent des résultats ambigus. En effet, aucun des deux modèles ne donne de résultat significatif en faveur de l'un ou l'autre des états (successif ou simultané) et tendraient chacun vers des résultats différents. Dans ce cas présent, l'importance des groupes extérieurs est soulignée. En effet, le dernier ancêtre commun partagé par l'ensemble des Coryphoideae et des Arecoideae présenterait une cytokinèse simultanée, quelle que soit la méthode utilisée. C'est donc le fait que tous les groupes à la base de l'arbre, c'est-à-dire les Calamoideae, les Nypoideae et les Commelinales choisies, présentent une cytokinèse successive qui entraîne un état de type successif à ce noeud lorsque la méthode du MP est utilisée. D'où l'importance de faire un choix judicieux concernant les groupes extérieurs. Dans le cas des palmiers, il est important de garder à l'esprit que la position des Arecaceae dans la phylogénie des Angiospermes n'est pas encore très claire (APG). Par conséquent, il est particulièrement difficile de choisir les groupes extérieurs et il se peut que nous ne trouvions jamais de réponse fiable pour la résolution des états de caractère ancestraux à cette famille. Notons par exemple qu'Harley (1999a) a plutôt émis l'hypothèse que, contrairement à la tendance générale observée ici, la cytokinèse ancestrale aux palmiers serait simultanée.

La co-occurrence des deux types de cytokinèse au sein d'une même espèce aurait évolué plusieurs fois indépendamment dans l'histoire évolutive des palmiers, à chaque fois à partir d'un ancêtre présentant uniquement une cytokinèse simultanée. Ces résultats restent vrais même si l'on considère que *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis* présentent une cytokinèse mixte (successive et simultanée). En d'autres termes, on peut observer chez les espèces échantillonnées une transition de l'état successif vers un état simultané puis vers un état hétéromorphe. On n'observe par contre aucune réversion de ce caractère.

- Sens de formation des parois intersporales

L'absence de signal phylogénétique et le nombre de transitions pour ce caractère (quatre transitions et deux réversions) montrent sa grande variabilité au sein des palmiers. Il n'apparaît d'ailleurs aucun scénario évolutif particulier chez les espèces échantillonnées. Seule la méthode du MP nous donne quelques indications : le dernier ancêtre commun aux Coryphoideae aurait des parois se formant de manière centripète par rapport aux plans de cytokinèse, contrairement au dernier ancêtre commun aux Arecoideae. Toutefois, des réversions se seraient produites plusieurs fois. Les passages réciproques de l'un à l'autre sens de formation des parois semblent donc tout à fait possibles.

Cependant, il faut garder à l'esprit que ces résultats ne tiennent pas compte de la longueur des branches et qu'ils doivent donc être considérés avec prudence.

- Dépôts additionnels de callose

Comme pour le sens de formation des parois intersporales, ce caractère montre une telle variation au sein des espèces échantillonnées qu'aucun signal phylogénétique n'a pu être détecté et que le nombre de transitions nécessaires pour retracer son évolution dans ce groupe est relativement important (quatre transitions et deux réversions). La seule chose qu'on puisse dire avec certitude, c'est que la présence de dépôts additionnels de callose semble particulièrement conservée chez les Areceae qui présentent également tous une formation centrifuge de leurs parois intersporales. Il se peut que ces deux caractères soient liés mais le peu de données dont nous disposons ne nous permet pas de réaliser une analyse comparative pouvant le vérifier.

- Forme des tétrades

Toutes les espèces que nous avons échantillonnées produisent toutes sortes de formes de tétrades. Cette observation avait déjà été faite par Harley (1999a, b) chez quelques espèces de palmiers (*Washingtonia filifera*, *Hyphaene thebaica*, *Hydriastele microspadix* et *Pinanga subruminata*) mais les proportions des différentes formes de tétrades n'ont jamais été fournies. Cependant, il n'est pas toujours aisé d'identifier avec précision la forme de la tétrade que l'on observe et cela peut poser quelques problèmes pour l'estimation des proportions des différentes formes de tétrades. Certaines tétrades tétraédriques irrégulières en particulier ressemblent fortement à des tétrades décussées à trois plans de cytocinèse. D'autre part, il existe une très grande variabilité des proportions entre les fleurs d'un même individu et même parfois entre les anthères d'une même fleur. Des hypothèses ont été émises sur l'impact de la position de la tétrade dans l'anthère sur sa forme finale et indirectement le type pollinique produit (Mignot 1995, Till-Bottraud *et al.* 1995). Ces hypothèses pourraient expliquer la variation des formes de tétrade mais difficilement la variation des proportions entre anthères.

Mes observations confirment que les tétrades tétraédriques peuvent être obtenues via une cytocinèse de type simultané aussi bien que de type successif. En fait, la cytocinèse simultanée permet de produire une grande variété de formes de tétrades dont le nombre de plans de cytocinèse diffère. L'hétéromorphisme des formes de tétrades semble donc étroitement lié au type simultané, de même que la cytocinèse successive est associée à la production exclusive de tétrades de type tétraédrique. Dans ce dernier cas, ce résultat n'est pas surprenant si l'on se réfère à l'hypothèse que la cytocinèse successive ne peut fournir que des tétrades à trois plans de cytocinèse en raison de la formation différée des plaques cellulaires. Il serait particulièrement intéressant de réaliser une

analyse comparative sur le type de cytokinèse et la forme des tétrades, analyse que je n'ai pas réalisée en raison de la trop faible quantité de données à ma disposition.

- Anneau de callose

L'anneau de callose n'est présent que chez certains Coryphoideae. Dans un article précédent, Penet *et al.* (2005) ont émis l'hypothèse que ce type de structure joue un rôle non négligeable dans la forme des tétrades finales chez les Asparagales, en contraignant les tétrades vers une forme tétragonale. Cette relation n'a pas pu être mise en évidence dans mon cas. Le rôle ou la fonction de l'anneau de callose dans le déroulement de la microsporogenèse reste encore à élucider chez les palmiers.

Les résultats que j'ai obtenus nous informent sur les tendances évolutives suivies par la microsporogenèse chez les Arecaceae mais manquent de précision. En effet, nous avons pu nous rendre compte que les résultats obtenus par ML sont dans l'ensemble assez peu significatifs, en particulier pour les nœuds les plus internes. Le peu d'espèces dont je disposais peut être invoqué comme cause à ces imprécisions. Dans ce cas, des observations et analyses supplémentaires sont donc impérativement nécessaires pour obtenir des résultats plus pertinents. Toutefois, si la variation des composantes de la microsporogenèse s'avérait trop importante au sein des Arecaceae, il se peut que même avec de nombreuses autres espèces, nous ne puissions jamais inférer avec précision les états de caractères ancestraux à cette famille.

Plusieurs fois, l'idée de réaliser une analyse comparative afin de vérifier des relations étroites pouvant exister entre deux caractères a été évoquée. Cependant, là encore le manque de données ne m'a pas permis d'effectuer ce type d'analyse. Il est fort probable toutefois qu'une relation entre cytokinèse successive et tétrades tétragonales soit retrouvée.

L'évolution de la microsporogenèse chez les palmiers est compliquée et difficile à retracer. Cependant, la reconstruction des états de caractères ancestraux pour le type de cytokinèse, la forme des tétrades et l'anneau de callose qui présentent tous un signal phylogénétique dans cette famille a pu être réalisée, ceci avec plus ou moins de succès.

Après avoir traité de la diversité pollinique, de la diversité de la microsporogenèse ainsi que de son évolution chez les palmiers, je vais dans le chapitre suivant me pencher sur la détermination du type apertural et par conséquent sur les liens existant entre microsporogenèse et type apertural.

Article 2

Evolution of microsporogenesis in palms (Arecaceae)

Julie Sannier, Conny B. Asmussen-Lange, Madeline Harley and Sophie Nadot

Soumis à International Journal of Plant Sciences

Evolution of microsporogenesis in Palms (Arecaceae)

JULIE SANNIER¹, CONNY B. ASMUSSEN-LANGE², MADELINE HARLEY³ and SOPHIE NADOT¹

¹ Author for correspondence: Laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution, Bâtiment 360, Université Paris-Sud, 91405 Orsay cedex, France. (julie.sannier@ese.u-psud.fr)

² Department of Ecology, The Royal Veterinary- and Agricultural University Copenhagen, Rolighedsvej 21, DK-1958 Frederiksberg, Denmark.

³ Micromorphology Group, Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, TW9 3AB, UK.

Shortened title: SANNIER & AL: EVOLUTION OF MICROSPOROGENESIS IN PALMS

Key words: phylogeny - Mesquite - cytokinesis - tetrads - callose deposition.

Abstract

Microsporogenesis, or male meiosis, is a process that is only partially described -or even undescribed, for most flowering plants. The available data concern essentially the type of cytokinesis (successive or simultaneous) and the form of the resulting tetrad of microspores (tetragonal or tetrahedral). Little is known about intersporal wall formation. It is still commonly accepted in the literature that intersporal wall formation is centrifugal when cytokinesis is successive, resulting in tetragonal tetrads, whereas simultaneous cytokinesis is associated with centripetal intersporal wall formation, resulting in tetrahedral tetrads. Recent studies have revealed that the developmental sequence during microsporogenesis is more variable than previously thought, particularly in the monocots. In the present paper, we describe the main features of microsporogenesis (cytokinesis, intersporal wall formation and tetrad form) in twenty-five species from the *Arecaceae* family. The species examined belong to two of the five subfamilies recognised in the new classification of the palm family. Using recently published phylogenies of the family as a historical framework, we provide further insights into the evolution of microsporogenesis in palms.

Introduction

The published literature relating to the palm family, *Arecaceae*, is enormous and covers a remarkable range of topics including, agriculture, horticulture, palaeobotany, archaeobotany, anatomy, morphology, structure and functional mechanics, developmental processes, pollen (morphology, germination, development etc.), pollination, cytology, biogeography, taxonomy, systematics, phylogeny and molecular biology. A new classification culminating from the seminal work of Harold E. Moore (1973) was formally published by Dransfield & Uhl (1986). This was rapidly followed by *Genera Palmarum* (Uhl and Dransfield 1987), a magnificent and detailed generic account, in highly accessible form, based on the new classification which soon became the most widely accepted classification of palms. Since the publication of Dransfield and Uhl (1986) and Uhl and Dransfield (1987), the increasing availability of techniques for the amplification of molecular data gave the impetus to develop a better understanding and clarification of many outstanding questions regarding more natural, less intuitive, relationships within the palms. In recent years many new generic tribal or subtribal revisions and phylogenies have been published based on DNA data including, Wilson & al. (1990), Baker & al. (2000a, 2000b), Asmussen & Chase (2001), Lewis & Doyle (2001, 2002), Hahn (2002), Stauffer & al. (2003) and Asmussen & al. (2006). Following on from these studies (and many more which address other aspects including anatomy, structure, cytology, pollen morphology, fossil history and biogeography) a new classification of the *Arecaceae* has been published (Dransfield et al. 2005, Asmussen et al. 2006). These detailed phylogenies have provided a historical framework from which to explore the evolution of microsporogenesis and its influence on aperture number and arrangement in palm pollen.

Pollen morphology is one of the aspects of palm biology that has been widely explored (Erdtman 1952, Sowunmi 1968, Thanikaimoni 1970, Ferguson et al. 1983, Ferguson et al. 1987, Mendis et al. 1987, Ferguson et al. 1987-1988, Barfod 1988, Dransfield et al. 1990, Harley 1990, Harley and Morley 1995, Harley 1999b, 1999a, Harley and Baker 2001, Harley and Dransfield 2003). However, although the pollen morphology of most palms, including fossils has been described into detail, little was known about microsporogenesis (male meiosis) apart from the work of Rao (1959), Harley (1990, 1993, 1996, 1999b), Harley & Baker (2001) and Gonzalez-Cervantes (1997). Nevertheless, this developmental sequence during microsporogenesis, leading to the formation of microspores that will subsequently mature into pollen grains, remained poorly understood. The sequence of events related to microsporogenesis is known to vary among land plants and the consequences of microsporogenesis on pollen morphology have been discussed by several authors including Blackmore & Barnes (1995), Dover (1972), Huynh (1969), Huynh (1976), Pozhidaev (1998, 2000), Ressayre (1998) and Wodehouse (1935). The evolution of pollen morphology, and more specifically the evolution of aperture pattern (which is determined during microsporogenesis), is therefore likely to be linked to the evolution of

microsporogenesis. There are three major components of microsporogenesis in flowering plants that are suspected or even known to play a role in the ontogeny of aperture pattern: (i) the type of cytokinesis, *i.e.* the way the cytoplasmic division takes place; (ii) the way intersporal walls are formed among the four meiotic nuclei; and (iii) the resulting tetrad formation. Until recently, the majority of studies concerning microsporogenesis in angiosperms have focused on the type of cytokinesis and the relationship with the aperture type of pollen (e.g. (Harley 1990, Harley 1993, Rudall et al. 1997, Furness and Rudall 1999, Harley 1999b, Furness and Rudall 2000) or on the relation between the tetrad form and the pollen type (Huynh 1969, 1976, Blackmore and Barnes 1995, Pozhidayev 1998, 2000). It is widely accepted in the literature that successive cytokinesis is associated with centrifugal intersporal wall formation resulting in tetragonal tetrads, whereas simultaneous cytokinesis is associated with centripetal intersporal wall formation resulting in tetrahedral tetrads (Heslop-Harrison 1966, Alberts et al. 1990, Heese et al. 1998, Otegui and Stahelin 2000). A morphogenetic model proposed by Ressayre et al. (2002) suggests however that other combinations between the different states of these components of microsporogenesis should be expected. This has already been confirmed by the detailed observation of microsporogenesis in selected species of angiosperms. In Degeneriaceae for example, simultaneous cytokinesis is associated with tetragonal tetrads (Swamy 1949). In the Proteaceae *Grevillea rosmarinifolia* (Blackmore and Barnes 1995), such as in the Asphodelaceae and Hemerocallidaceae (Penet et al. 2005), which have cytokinesis of the simultaneous type, intersporal wall formation involves centrifugal cell plates. In Hemerocallidaceae, tetragonal and decussate tetrads are produced in addition to tetrahedral tetrads. Furness et al. (2002) mention the association between successive cytokinesis and tetrahedral tetrads in several basal angiosperms (*Amborella* (Amborellaceae), *Galbulimima* (Himantandraceae) and many Lauraceae), although theoretically tetrahedral tetrads should not be obtained through successive cytokinesis because of the intermediate dyad stage that further constrains the tetrad form.

Another point, rarely discussed, but which is likely to play a role in the ontogeny of aperture pattern, is a recently described feature of the microsporogenesis, additional callose deposition (Ressayre 2001). In monocots, this process takes place when the cell plates are completely formed. Following which additional callose deposits may gradually cover them, either in a centripetal or in a centrifugal manner. In their paper, Ressayre et al. (2001) have demonstrated that these additional callose deposits are involved in the localisation of the last points of callose deposition and therefore in the distribution of apertures within the tetrad.

In the Arecaceae, seventeen types of pollen aperture variation have been described (Harley 1996, Harley and Baker 2001) based on differences in shape, position and number. Where tetrads have been observed, the authors make inferences concerning the type of cytokinesis, based on tetrad form. Cytokinesis was hypothesised to be simultaneous when tetrads were tetrahedral and successive when

tetrads were tetragonal, although it has been observed (Rao 1959) that more than one type of tetrads occurs in the same sporangia of *Hyphaene indica* (= *H. dichotoma* (White) Furtado), *Areca catechu* L., and *Chrysalidocarpus lutescens* (= *Dypsis lutescens* (H. Wendl.) Beentje & Dransf.). González-Cervantes et al. (1957) noted a similar phenomenon in the anthers of *Chamaedorea elegans* Mart. and Harley (1999b) noted that both tetrahedral and tetragonal tetrads occur in *Washingtonia filifera* (Linden) H. Wendl., *Hyphaene coriacea* Gaertn., *Hydriastele* spp. and *Pinanga subruminata* Becc. However, single contents of single anthers were not observed. In a recent paper, Sannier et al. (2006), describe for the first time, developmental stages of microsporogenesis in a few species of palms which produce monosulcate pollen. Unexpected variations in cytokinesis, intersporal wall formation and tetrad form are revealed. In the present paper, we continue these investigations and use phylogenetic analyses to provide further insights into the evolution of microsporogenesis in palms.

Material and methods

PLANT MATERIAL

Data on microsporogenesis were obtained either from our own observations or from the literature. Fresh material was sampled from the collections of the Montgomery Botanical Center (Miami, Florida, USA), the Jardin Botanique de la Ville de Paris (France) and the Museum National d'Histoire Naturelle (Paris, France). In our previous paper on the microsporogenesis in palms (Sannier et al. 2006), eight species from eight genera, four from subfamily Coryphoideae, and four from subfamily Arecoideae were studied. A further sixteen species belonging to eight different genera have been added to this study, giving a total of twenty-five species from seventeen genera. All species sampled are representative of subfamilies, the Coryphoideae and Arecoideae, two of the five subfamilies recognised in the new classification (Table 1).

The sampling and staining techniques are described in Sannier et al. (2006). Table 2 gives the details of the material sampled for all the new species. The observations were done using either light or epifluorescence microscopy. In the latter case, we used three different filters: a DAPI filter (filter set at 01; excitation at 345, emission at 425 nm long pass), a FITC filter (filter band pass 525 nm) and a propidium iodure filter (filter band pass 610 nm). In some cases, the last allowed us to specify the type of cytokinesis.

PHYLOGENY

The evolution of the different characteristics of microsporogenesis was reconstructed on a phylogenetic tree of palms that includes all species for which data on microsporogenesis are available, either from the literature or from our own observations. The phylogeny used here was constructed using the combined molecular sequence of four chloroplast DNA regions (*rbcl*, *rps16-intron*, *trnL-*

trnF and *matK*), published by Asmussen et al. (2006). When the sequences were not available for a particular species of our sampling (*Sabal maritima*, *Copernicia hospita*, *Hyphaene coriacea*, *Synechodus fibrosus*, *Gaussia attenuata*, *Butia* sp., *Areca catechu*, *Ptychosperma elegans*, *Veitchia spiralis* and *Dypsis decaryi*) the sequences of a congeneric species were used (*S. bermudana*, *C. prunifera*, *H. thebaica*, *S. warscewiczianus*, *G. maya*, *B. capitata*, *A. triandra*, *P. macarthurii*, *V. arecina* and *D. lutescens*), under the assumption that all genera are monophyletic. Two species belonging to the Commelinales, for which data on the microsporogenesis are available, were used as outgroups to root the tree (*Anigozanthos manglesii* and *Tradescantia pallida*). The phylogenetic reconstruction was performed with PAUP 4.0 (Swofford 1998) constraining the topology to match the consensus tree published by Asmussen et al. (2006). Both Maximum Parsimony (MP) and Maximum Likelihood (ML) methods were been used for computing branch lengths according to different assumptions. For the first method, data sets were analysed by Fitch parsimony (Fitch, 1971; unordered, equally weighted characters). Concerning the ML method, different settings were been tested (different shape parameter of the gamma distribution and different ratio of the transition rate to the transversion rate) but the results were always comparable. Consequently, the model estimating itself the gamma distribution ($\alpha = 0.49$) and the ratio of the transition rate to the transversion rate (1.46) was been selected. With both methods, heuristic searches were performed.

RECONSTRUCTION OF CHARACTERS HISTORY

Models of reconstruction

The program Mesquite (Maddison and Maddison 2003) was used to reconstruct the character history with two different models: 1) the Parsimony reconstruction method finds the ancestral character states that minimize the number of steps of character changes given the tree and observed character distribution and 2) the likelihood reconstruction method finds, for each node, the state assignment that maximizes the probability of arriving at the observed states in the terminal taxa, given a model of evolution and branch lengths, and allowing the states at all other nodes to vary. Two models of evolution are used concerning the likelihood reconstruction method: the 'Markov k-state 1 parameter model' and the 'asymmetrical Markov k-state 2 parameter model'. The first considers that any particular change (transitions or reversions) is equally probable whereas the second model has two parameters: one for the transition rate and one for the reversion rate.

When the ML models were used, branch lengths were computed with the ML method too. The results were compared, to infer a consensus history for each character. When a conflict was observed in the resolution of an ancestral character state, the likelihood models were preferred because they are biologically more consistent, and take into account the branch lengths.

Test of a phylogenetic signal in the characters studied

Testing the presence of a phylogenetic signal for each character is important because the reliability of the different models used to reconstruct the character history depends upon this signal. The presence of a phylogenetic signal means that character states of the terminal taxa are not randomly distributed. If no phylogenetic signal is detected, the distribution of character states of the ancestors may be at random, which weakens the reliability of inferred states for the hypothetical ancestors (Laurin 2004).

The phylogenetic signal was tested for each character examined, using the Yule model, an algorithm available in Mesquite. The test requires that the tree depth should be specified and that all taxa must be contemporaneous. Ten thousand simulated trees were obtained randomly and the number of steps for each character of interest was calculated for each simulated tree. A character was considered as having a phylogenetic signal when the number of steps on the reference tree was significantly different from the mean number of steps estimated from simulated trees.

DESCRIPTION OF THE MICROSPOROGENESIS AND CHARACTER CODING

Four characters were examined and coded for phylogenetic analyses: 1) cytokinesis, 2) intersporal walls formation and additional callose deposition, 3) tetrad form and 4) callose ring.

Cytokinesis

Cytokinesis can be successive (0), simultaneous (1) or heteromorphic (2). In the first case, a cytoplasmic division follows each nucleic division. This type of cytokinesis is characterised by a transitory dyad stage. In the second case, the intersporal walls are formed simultaneously after the completion of both meiotic divisions. The heteromorphic state is coded as a third character state because the likelihood model does not deal with polymorphism. In this last situation, cytokinesis can be of the successive type and of the simultaneous type within the same anther.

Intersporal wall formation and additional callose deposition

In the monocots, intersporal wall formation usually begins with the formation of callosic cell plates that may afterwards receive additional callose deposits. The cell plates may progress either in a centrifugal (0) or in a centripetal (1) way, relative to the cleavage planes. The different types of intersporal wall formation have been described into detail by Ressayre et al. (2002). In the species examined in this paper, additional callose deposits are not always present (absent=0) but when they occur (1), they are always at the intersections of the intersporal walls.

Tetrad form

A notable range of variation in post meiotic tetrad form was found in most species of palms included in this study. We have classified the different tetrad forms observed into three categories: 1) tetragonal tetrads, with three or four intersporal walls. This category also includes decussate, T-shape and linear tetrads, 2) rhomboidal tetrads, with five intersporal walls and 3) tetrahedral tetrads, with six intersporal walls. The six walls may be equal (defined as "regular") or unequal (defined as "irregular"). There is a continuum between regular tetrahedral tetrads and regular tetragonal tetrads. However, it is sometimes difficult to ascertain the difference between a very irregular tetrahedral tetrad, in which two of the six walls are extremely reduced and a true decussate tetrad which has only four walls.

The number of tetrads within each category was recorded for the species examined in the present study and in Sannier & al. (2006) (Table 3). Due to the limited availability of anthers where tetrad development could be observed, only a few anthers per species were studied (Table 3).

Unexpectedly, all of the palm species sampled produce each all tetrad forms. As a consequence of the difficulty to code this character as continuous, we have decided, for the reconstruction of tetrad form evolution, to define only two character states: tetragonal tetrads (0), including only tetrads with 3 or 4 walls, and mixed (1), including all other tetrad forms described above.

Callose ring

We define the callose ring as a structure that surrounds the microsporocyte at the beginning of meiosis. Sometimes, the ring persists through the later stages. The role of the callose ring in forming the tetrad was suggested by Penet et al. (2005). According to him, the callose ring would constraint the tetrad towards a tetragonal form. Here, the presence of a callose ring is coded as character state 0 and absence by character state 1.

Results

TEST OF PHYLOGENETIC SIGNAL

A strong phylogenetic signal was detected for three of the characters examined: the type of cytokinesis ($P < 0.001$), the form of tetrad ($P < 0.001$) and the callose ring ($P < 0.001$). The character states for these characters are thus not randomly distributed. Concerning the two last characters, the intersporal wall formation and the additional callose deposits, the situation is different and the distribution of the character states is not different from a random distribution ($P = 0.37$ and $P = 0.10$ respectively).

PHYLOGENY AND BRANCH LENGTHS

As mentioned in Material and Methods, the topology of the tree used for all analyses was constrained to match the tree published by Asmussen et al. (2006). On this tree, there are two outgroups belonging to the Commelinales (node 1) and the rest of the species are palm trees (node 2) (Fig 1 and 2). Only four subfamilies of palms on five appear on this phylogeny: the Calamoideae with 2 genera on 21 (node 3), the Nypoideae with the only one species belonging to this group (node 7), the Coryphoideae with 7 genera on 44 (node 9) and the Arecoideae with 10 genera on 113 (node22).

When the ML method was used for character optimisation, we decided it would be preferable to compute branch lengths also using this method. However, we have also compared the relative lengths of the different branches using MP and ML methods. The results were comparable, with the notable exception of the two branches that lead to the major clades of palms: the one leading to subfamily Calamoideae, between nodes 2 and 3, and the one leading to the rest of the family, between nodes 2 and 6. These two branches were much longer when branch lengths were computed with MP. This result is surprising since the MP method tends to underestimate branch lengths when branches are long (Tateno et al. 1994). According to the same author, the ML method may be affected in its estimations of branch lengths by the assumptions of the model used. In Material and Methods, we have explained that various models of assumptions have been tested here but all results were identical. Obtaining a reliable estimate of branch length is important since the reconstruction of ancestral character states using the ML model is highly dependent upon it. We have chosen to use the ML tree for our analyses of character evolution, considering that it would be more accurate since that the optimisation of the characters is performed with the ML method.

According to the branch lengths computed with the ML model, the only branches that are very long relatively to the rest of the tree are the branches that lead from the common ancestor of all species included in the phylogeny to both Commelinales, the outgroups.

EVOLUTION OF MICROSPOROGENESIS

Type of cytokinesis

The optimisation of the evolution of cytokinesis using the ML method is similar to the results obtained with the MP method, except for the most basal nodes (shown by stars on figure 1). For these nodes, the ancestral state inferred is successive with the MP method, whereas it is ambiguous with both symmetrical and asymmetrical ML models. With the symmetrical model, the probabilities (p) of observing the different states (0, 1 or 2) at each node are the following: node 1, $p(0)=0.33$, $p(1)=0.34$, $p(2)=0.32$; node 2, $p(0)=0.36$, $p(1)=0.55$, $p(2)=0.09$ and node 4, $p(0)=0.32$, $p(1)=0.59$, $p(2)=0.08$. The relative values obtained with the asymmetrical model are comparable i.e., the character states attributed at the nodes labelled in the tree are the same as those predicted by the

symmetrical model. The conflicting result between MP and ML methods is probably due to the high divergence between the outgroups (*Tradescantia pallida* and *Anigozanthos manglesii*) and the ingroup as indicated by a long branch (not shown). According to the MP method, there would have been one transition from successive cytokinesis towards simultaneous cytokinesis and at least four independent transitions from simultaneous cytokinesis towards a combination of successive and simultaneous cytokinesis (figure 1). The ML method does not allow us to infer with confidence ancestral character states at the most ancestral nodes.

Intersporal wall formation and additional callose deposits

No phylogenetic signal was detected in relation to these two characters and, when the ancestral character states are inferred from the ML model, numerous transitions are found. These characters are very labile and the history of character states cannot be reconstructed with significant confidence.

Tetrad form

The proportion of tetrads falling into each of the three different categories shows a similar pattern for most species i.e., most tetrads are tetrahedral (Table 3). All species from subfamilies Coryphoideae and Arecoideae are heteromorphic concerning this character although, in all species except *Serenoa repens*, tetrahedral tetrads predominate, representing more than 80% of all forms. Rhomboidal tetrads were observed in all species at a very low frequency and with a high standard error, reflecting the differences found between anthers relative to the occurrence of this particular form. The most important result is the high variability of the different tetrad forms between species. This variability is particularly interesting to observe within a genus. For instance, among the six species of *Chamaedorea* examined, the percentage of tetragonal tetrads recorded ranged between 2.4% (± 2.8) and 12.8% (± 3.8). In *Ptychosperma*, this proportion ranged between 3.5% and 18.5%, with a very high standard error that reflects the large intra-specific (and even intra-individual) variability. Data on tetrad form for *Calamus aruensis* and *Eugeissona tristis* were obtained from the literature and only tetragonal tetrads were described for these species.

The reconstruction of tetrad form evolution using ML and the symmetrical estimation shows only one transition from the tetragonal state towards the "mixed" state, occurring in the ancestor of the clade of Arecoideae and Coryphoideae (figure 2). The ancestral condition is therefore the production of tetragonal tetrads. The MP method gives a similar result. With the asymmetric estimation of the ML model, the ancestral condition for all palms (node 2) is equivocal ($p(0)=0.5$, $p(1)=0.5$). The presence of tetragonal tetrads in Calamoideae and Nypoideae may either be inherited from the ancestor or result from a reversion.

Presence of a callose ring

For this character, no genera from subfamilies Calamoideae and Nypoideae were included in the phylogeny. The result obtained using the ML method with the asymmetrical method (Figure 3) supports the presence of a callose ring in the common ancestor of all palms. This callose ring has disappeared later in the ancestor of subfamily Arecoideae. The probabilities of observing each character state at the most ancestral nodes are as follows: node1, $p(0)=0.61$, $p(1)=0.38$; node 2, $p(0)=0.71$, $p(2)=0.29$, node 3, $p(0)=0.99$, $p(1)=0.01$; node 4, $p(0)=0.01$, $p(1)=0.99$.

Discussion

INFERENCE OF ANCESTRAL CHARACTER STATES

Many papers have been published about the validity of the methods that can be used for reconstructing ancestral character states, depending on the data available about branch lengths, evolution rates or the number of taxa (Schultz et al. 1996, Schluter et al. 1997, Cunningham et al. 1998, Losos 1999, Pagel 1999b, 1999a, Stireman 2005). For instance, it is commonly agreed that when changes between character states are rare, both Likelihood and Parsimony reconstruction methods give similar results, provided that the sampling is sufficient (Schluter et al. 1997). If this last condition is not respected, the accuracy of estimations may be low at the deeper nodes (Schluter et al. 1997, Cunningham et al. 1998). The main inconvenience of the parsimony reconstruction method is not to consider branch lengths and, therefore, not to take into account that longer branches increase the probability of character state changes. The Likelihood reconstruction method implies that branch lengths are accurately estimated and is therefore a more precise tool for reconstructing ancestral states (Cunningham et al. 1998, Losos 1999, Pagel 1999a, Stireman 2005). However, when this method gives irresolute results at one node, the MP method can provide interesting information. Thus, Schluter et al. (1997) consider that using both methods is an instructive solution. Several authors as Schluter et al. (1997), Cunningham et al. (1998) or Stireman (2005) have suggested that the asymmetrical model of the likelihood reconstruction method is too complicated especially when there are more than two character states, because there are too many parameters. Furthermore, constraining transition rate parameters to be equal give more realistic results when the sampling is small (Schluter et al. 1997). Nevertheless, there are some situations where the results are more realistic with unequal weighting between forward and backward rates (Cunningham et al. 1998, Stireman 2005). In all cases, when the estimated rate parameters are too high, the ML method, using either the symmetrical or asymmetrical models, fails to give accurate estimates for the ancestral character states of the deepest nodes (Schluter et al. 1997, Cunningham et al. 1998).

EVOLUTION OF CYTOKINESIS

The reconstruction of the evolution of cytokinesis gave conflicting results depending on the method used. The MP model resolved the ancestral state in the Arecaceae to be successive cytokinesis, whereas the ML method found simultaneous cytokinesis to be ancestral (Figure 1). This result highlights the role played by outgroups and sister groups in the reconstruction of ancestral states. The two outgroups from Commelinales both presented the character state "successive", such as found in the species representing Calamoideae, the subfamily that is resolved as sister to all other subfamilies of Arecaceae (Dransfield et al. 2005, Asmussen et al. 2006). The character states observed in the first branching groups of the tree used the results for the ancestral state inferred from using the MP method. The successive state observed for the outgroups is the general situation in Commelinales and even in Commelinids, except in the palm family and in Poales (Furness and Rudall 1999). More generally, the successive state is considered ancestral for the monocots where simultaneous cytokinesis is thought to have evolved in a recurring way and independently in different orders (Rudall et al. 1997, Furness and Rudall 1999, Furness et al. 2002). The results obtained with the MP method thus seem more realistic than those inferred from the ML method. A possible scenario would then be that the successive ancestral state would have evolved towards the simultaneous state in the ancestor of Coryphoideae and Arecoideae. However, Harley (1999) considered that the ancestral situation in Arecaceae would be simultaneous cytokinesis. More investigations are necessary to resolve this ancestral situation. An interesting point is the co-occurrence within a single species of both successive and simultaneous states, already described by Rao (1959), González-Cervantes (1997), Harley (1999b) and Sannier et al. (2006). The present study reveals that this situation has evolved several times independently in palms, from an ancestral state that is unambiguously simultaneous, whatever the method (MP or ML) used. The only other reference to a co-occurrence of both types of cytokinesis within a same anther concerns *Doryanthes* (Doryanthaceae, Asparagales: Rudall et al. (1997)).

EVOLUTION OF TETRAD FORM

Of the different stages during microsporogenesis, tetrad form is the character that is the easiest to observe, since the microspores usually remain for some time within the callosic envelope before their release as pollen grains. This characteristic of microsporogenesis is, therefore, available from the literature for many species. Tetrad form is known to present intra-individual variation in some species across the angiosperms (Maheshwari and Khanna 1956, Periasamy and Swamy 1959, Prakash et al. 1984, Guzzo et al. 1994, Rudall et al. 1997, Kreunen and Osborn 1999, González et al. 2001). However, this variation is very seldom quantified. In palms for instance, where tetrad form is known to be a rather variable character, Harley (1999b) recorded heteromorphism (*i.e.* intraindividual variation) in

this character for at least four species (*Washingtonia filifera*, *Hyphaene thebaica*, *Hydriastele microspadix* and *Pinanga subruminata*) but the proportions of the different tetrad forms are not given. In order to assess the phylogenetic meaning of heteromorphism in tetrad form, we wanted to evaluate the proportions of the different forms produced by the species examined. Heteromorphism of tetrad form was found to be highly variable within the same species, among flowers and even among stamens, which accounts for the high standard error level that was found for each category. The extent of this variation appears clearly in the genera *Chamaedorea* and *Ptychosperma*, where inter- and intraspecific variation was assessed. All species with the successive type of cytokinesis produce tetragonal tetrads in a sizeable frequency, between 10.8 to 60.6%, even if the standard error is sometimes quite high. It is an expected result since the intermediate dyad stage associated with this type of cytokinesis constrains the tetrad form to tetragonal (more occasionally decussate, linear or T-shaped). However, some species that do not show successive cytokinesis also produce tetragonal tetrads in a comparable frequency (*Chamaedorea macrospadix*, *C. radicalis*, *Ptychosperma microscarpum*, *P. sp.* and *Trachycarpus fortunei*), providing evidence for tetragonal tetrads being formed when cytokinesis is simultaneous. With the type of coding adopted (tetragonal tetrads or heteromorphism), we can only conclude that heteromorphism would have been present in the common ancestor of Coryphoideae and Arecoideae and would have been maintained in the whole clade.

SPECIAL STRUCTURES: CALLOSE RING

Except in the paper of Penet et al. (2005), references to a structure like a callose ring are scarce in the literature. In this paper, the callose ring would be involved in the tetrad form determination and would constrain the tetrad form to tetragonal when the cytokinesis is simultaneous. However, although a structure similar in appearance was observed in several species of palms (Sannier et al. 2006), it does not seem to be linked with the tetrad form, nor with the type of cytokinesis or the way in which intersporal walls are formed. Nevertheless, it is very interesting to observe that only in Coryphoideae is this structure present, apart from in *Caryota mitis*. At the moment, the meaning of the callose ring remains unclear, at least in palms.

CHARACTERS WITH NO PHYLOGENETIC SIGNAL

Since no phylogenetic signal was detected for the character "intersporal wall formation", we did not attempt to reconstruct its evolution for palms. Until recently, it has been accepted that centrifugal wall formation is associated with successive cytokinesis, and consequently tetragonal tetrads (Waterkeyn 1962, Heslop-Harrison 1966, Brown and Lemmon 1992, Harley 1999b, Otegui and Staehelin 2000). However, several recent studies have shown that centrifugal wall formation can also take place in the case of simultaneous cytokinesis and, that in some cases, this type of cytokinesis can

lead to tetragonal tetrads in some cases (Furness et al. 2002, Penet et al. 2005, Nadot et al. 2006, Sannier et al. 2006). From a larger sample, we confirm that the results obtained from our preliminary study of microsporogenesis in Arecaceae (Sannier et al. 2006). We show that simultaneous cytokinesis can be associated with both centrifugal or centripetal intersporal wall formation, and result in tetrads that can be either tetrahedral or a combination of different formations. This explains the lack of a phylogenetic signal for the formation of cell walls, compared to the other two characters, and also highlights the lability of this feature of microsporogenesis. This lability suggests that this character evolves in a neutral fashion and may have no impact at all on the resulting aperture type, disposition and number in the pollen morphology of palms.

The role of additional callose deposits in aperture pattern determination was suggested by Ressayre et al. (2001). Indeed, these deposits may be involved in the localisation of the last points of contact between the microspores, which are very important for the formation of the apertures (Wodehouse 1935, Ressayre et al. 1998, Ressayre 2001). We have previously commented on the existence of extra callose deposits in the tetrads of some palms species (Sannier et al. 2006). Most of the time, these deposits consist of a slight thickening observed at intersections between intersporal walls. In the palm species studied, no phylogenetic signal could be detected for this character. This suggests that a) the evolution of this character may be neutral and b) these deposits do not play a particular role in the determination of aperture pattern in palms since the pollen grains are monosulcate whether the deposits occur or not.

Conclusion

In the Arecaceae, features of microsporogenesis appear to be very variable. The cytokinesis presents three character states dispersed in the family and several transitions are necessary to explain the evolution of this character. The intersporal wall formation and the additional callose deposits show a variation and a dispersion of the character states even more important at such point that no phylogenetic signal could be detected. The variation observed in the tetrad form, both within a same species and between different species, is too high to allow a coding easy to use. The only character that presents only one transition is the presence of a callose ring. All this variation is unexpected especially considering the apparent importance of the stability of such features in phylogenetically related groups like the Commelinales. In this order, all species studied up to now present a successive cytokinesis, tetragonal tetrads and centrifugal cell plates.

Furthermore, according to the results of this study, the relationships between different aspects of microsporogenesis do not appear as straightforward as suggested in the literature, with the possible exceptions of cytokinesis and tetrad form. Indeed, it is frequently suggested that successive cytokinesis implies tetragonal tetrads. However, tetragonal tetrads may result from either successive

or simultaneous cytokinesis. Our results indicate that the transition from tetragonal tetrads towards heteromorphism (different tetrad forms produced by a species) corresponds to the transition from successive cytokinesis toward simultaneous cytokinesis. Intersporal wall formation seems to be independent from the type of cytokinesis. Similarly, no pattern emerges from the distribution of the character states for the character 'additional callose deposition'. Comparative analysis will be necessary to test correlations among the characters examined, when more data are available. In particular, data are needed for *Calamoideae* and *Ceroxyloideae*, to obtain a complete overview of microsporogenesis evolution in palms.

Acknowledgments

We are extremely grateful to the institutions that have supported this work by allowing access to their living collections or by providing lab facilities, namely the Montgomery Botanical Center, the Fairchild Tropical Garden, the Jardin Botanique de la Ville de Paris and the Museum National d'Histoire Naturelle de Paris. We warmly thank Laurent Penet, David Moreira and the members of Eunops for helpful discussions.

Literature cited

- Alberts B, D Bray, J Lewis, M Raff, K Roberts, JD Watson 1990 Les mécanismes de la division cellulaire. pages 779-787 in Flammarion, médecine-sciences, eds. Biologie moléculaire de la cellule. Paris, France.
- Asmussen CB, MW Chase 2001 Coding and noncoding plastid DNA in palm systematics. *Am. J. Bot.* 88: 1103-1117.
- Asmussen CB, J Dransfield, V Deickmann, AS Barfod, J-C Pintaud, WJ Baker 2006 A new subfamily classification of the palm family (Arecaceae): evidence from plastid DNA phylogeny. *Bot. J. Linn. Soc.* 151: 15-38.
- Baker WJ, TA Hedderson, J Dransfield 2000a Molecular phylogenetics of *Calamus* (Palmae) and related rattan genera based on 5S nrDNA spacer sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.* 14: 218-231.
- Baker WJ, TA Hedderson, J Dransfield 2000b Molecular phylogenetics of subfamily Calamoideae (Palmae) based on nrDNA ITS and cpDNA *rps16* intron sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.* 14: 195-217.
- Barfod A 1988 Pollen morphology of *Ammandra*, *Palandra* and *Phyttelephas* (Arecaceae). *Grana* 27: 239-242.
- Blackmore S, SH Barnes 1995 Garside's rule and the microspore tetrads of *Grevillea rosmarinifolia* A. Cunningham and *Dryandra polycephala* Benthams (Proteaceae). *Rev. Palaeobot. Palynol.* 85: 111-121.
- Brown RC, BE Lemmon 1992 Control of division plane in normal and griseofulvin-treated microsporocytes of *Magnolia*. *J. Cell Sc.* 103: 1031-1038.
- Cunningham CW, KE Omland, TH Oakley 1998 Reconstructing ancestral character states: a critical reappraisal. *Tree* 13: 361-366.
- Dover GA 1972 The organization and polarity of pollen mother cells of *Triticum aestivum*. *J. Cell Sc.* II: 699-711.
- Dransfield J, IK Ferguson, NW Uhl 1990 The coryphoid palms : patterns of variation and evolution. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 77: 802-815.
- Dransfield J, NW Uhl 1986 An outline of a classification of palms. *Principes* 30: 3-11.
- Dransfield J, NW Uhl, CB Asmussen, WJ Baker, M Harley, CE Lewis 2005 A new phylogenetic classification of the palm family, *Arecaceae*. *Kew Bull.* 60: 559-569.
- Erdtman G 1952 Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms (an introduction to palynology). Almqvist and Wiksell, Stockholm, Sweden.
- Ferguson IK, J Dransfield, I Flawn 1987-1988 A review of the pollen morphology and systematics of the genera *Ravenea* and *Louvelia* (Ceroxyloae : Ceroxyloideae : Palmae). *J. Palynol.* 23-24: 65-72.
- Ferguson IK, J Dransfield, FC Page, G Thahikaimoni 1983 Notes on the pollen morphology of *Pinanga* with special reference to *P. aristata* and *P. Pilosa* (Palmae : Arecoideae). *Grana* 22: 65-72.

- Ferguson IK, AJ Havard, J Dransfield 1987 The pollen morphology of the tribe Borasseae (Palmae : Coryphoideae). *Kew Bull.* 42: 404-422.
- Fitch WM 1971 Toward defining the course of evolution: minimal change for a specific tree topology. *Syst. Zool.* 20: 406-416.
- Furness CA, PJ Rudall 1999 Microsporogenesis in Monocotyledons. *Ann. Bot.* 84: 475-499.
- Furness CA, PJ Rudall 2000 The systematic significance of simultaneous cytokinesis during microsporogenesis in Monocotyledons. pages 189-193 in KL Wilson, DA Morrison, eds. *Monocots: Systematics and Evolution*. CSIRO, Melbourne.
- Furness CA, PJ Rudall, FB Sampson 2002 Evolution of microsporogenesis in angiosperms. *Int. J. Plant Sc.* 163: 235-260.
- González-Cervantes E, A Martínez Mena, HJ Quero, J Márquez-Guzmán 1997 Embryology of *Chamaedorea elegans* (Arecaceae): microsporangium, microsporogenesis, and microgametogenesis. *Principes* 41: 131-137.
- González F, PJ Rudall, CA Furness 2001 Microsporogenesis and systematics of Aristolochiaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 137: 221-242.
- Guzzo F, B Baldan, F Bracco, P Mariani 1994 Pollen development in *Liriodendron tulipifera*: some unusual features. *Can. J. Bot.* 72: 352-358.
- Hahn WJ 2002 A phylogenetic analysis of the Arecoid line of palms based on plastid DNA sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.* 23: 189-204.
- Harley MM 1990 Occurrence of simple, tectate, monosulcate or trichotomosulcate pollen grains within the Palmae. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 64: 137-147.
- Harley MM 1993 Pollen tetrad form and aperture morphology in the Palmae. pages 33 (Abstracts) in PJ Rudall, eds. *Monocotyledons: Systematics and Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, England.
- Harley MM 1996 Palm Pollen and the Fossil Record. PhD thesis. University of East London in collaboration with RBG, Kew. [Vol. 1: thesis, I-XVI; 1-174; + 59pls; 14 text figures; 8 text tables. Vol. 2: Appendices].
- Harley MM 1999a Palm pollen: overview and examples of taxonomic value at species level. *Mem. N.Y. Bot. Gard.* 83: 95-120.
- Harley MM 1999b Tetrad variation: its influence on pollen form and systematics in the Palmae. pages 289-304 in MH Kurmann, AR Hemsley, eds. *The Evolution of Plant Architecture*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Harley MM, WJ Baker 2001 Pollen aperture morphology in Arecaceae : application within phylogenetic analyses, and a summary of the fossil record of palm like pollen. *Grana* 40: 45-77.
- Harley MM, J Dransfield 2003 Triporate pollen in Arecaceae. *Grana* 42: 3-19.

- Harley MM, RJ Morley 1995 Ultrastructural studies of some fossil and extant palm pollen, and the reconstruction of the biogeographical history of subtribes Iguanurinae and Calaminae. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 85: 153-182.
- Heese M, U Mayer, G Juergens 1998 Cytokinesis in flowering plants: Cellular process and developmental integration. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1: 486-491.
- Heslop-Harrison J 1966 Cytoplasmic continuities during spore formation of flowering plants. *Endeavour* 25: 67-72.
- Huynh KL 1969 Etude de l'arrangement du pollen dans la tétrade sur la base de données cytologiques, II. Variation du nombre d'apertures. *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 79: 354-364.
- Huynh KL 1976 Arrangement of some monosulcate, disulcate, trisulcate, dicolpate and tricolpate pollen types in the tetrads, and some aspects of evolution in the angiosperms. pages 101-124 in IK Ferguson, M Muller, eds. *The evolutionary significance of the exine*. Academic Press, London.
- Kreunen SS, JM Osborn 1999 Pollen and anther development in *Nelumbo* (Nelumbonaceae). *Am. J. Bot.* 86: 1662-1676.
- Laurin M 2004 The evolution of body size, Cope's rule and the origin of Amniotes. *Syst. Biol.* 53: 594-622.
- Lewis CE, JJ Doyle 2001 Phylogenetic utility of the nuclear gene malate synthase in the palm family (Arecaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 19: 409-420.
- Lewis CE, JJ Doyle 2002 A phylogenetic analysis of tribe Areceae (Arecaceae) using two low-copy nuclear genes. *Plant Syst. Evol.* 236: 1-17.
- Losos JB 1999 Uncertainty in the reconstruction of ancestral character states and limitations on the use of phylogenetic comparative methods. *Anim. Behav.* 58: 1319-1324.
- Maddison WP, DR Maddison 2003 Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, Version 1.0. <http://mesquiteproject.org>.
- Maheshwari SC, PP Khanna 1956 The embryology of *Arisaema wallichianum* Hook. F. and the systematic position of the Araceae. *Phytomorphology* 6: 379-388.
- Mendis NM, IK Ferguson, J Dransfield 1987 The pollen morphology of the subtribe oncospermatinae (Palmae : Arecaceae). *Kew Bull.* 42: 46-63.
- Moore HE 1973 The major groups of palms and their distribution. *Gentes Herbarum* 11: 27-141.
- Nadot S, A Forchioni, L Penet, J Sannier, A Ressayre 2006 Links between early pollen development and aperture pattern in monocots. *Protoplasma* 228: 55-64.
- Otegui M, LA Staehelin 2000 Cytokinesis in flowering plants: more than one way to divide a cell. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3: 493-502.
- Pagel M 1999a Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* 401: 877-884.

- Pagel M 1999b The maximum likelihood approach to reconstructing ancestral character states of discrete characters on phylogenies. *Syst. Biol.* 48: 612-622.
- Penet L, S Nadot, A Ressayre, A Forchioni, L Dreyer, PH Gouyon 2005 Multiple developmental pathways leading to a single morph: monosulcate pollen (examples from the Asparagales). *Ann. Bot.* 95: 331-343.
- Periasamy K, BGL Swamy 1959 Studies in the Annonaceae-I. Microsporogenesis in *Cananga odorata* and *Milium wightiana*. *Phytomorphology* 9: 251-263.
- Pozhidaev AE 1998 Hypothetical way of pollen aperture patterning. 1: formation of 3-colpate patterns and endoaperture geometry. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 104: 67-83.
- Pozhidaev AE 2000 Hypothetical way of pollen aperture patterning. 2: formation of polycolpate patterns and pseudoaperture geometry. *Review of Paleobotany and Palynology* 109: 235-254.
- Prakash N, DB Foreman, SJ Griffith 1984 Gametogenesis in *Galbulimina belgraveana* (Himantandraceae). *Aust. J. Bot.* 32: 605-612.
- Rao CV 1959 Contribution to the embryology of Palmae. Part II. Ceroxylineae. *J. Indian Bot. Soc.* 38: 46-75.
- Ressayre A 2001 Equatorial aperture pattern in monocots: Same definition rules as in eudicots? The example of two species of Pontederiaceae. *Int. J. Plant Sc.* 162: 1219-1224.
- Ressayre A, B Godelle, A Mignot, PH Gouyon 1998 A morphogenetic model accounting for pollen aperture pattern distribution in flowering plants. *J. Theor. Biol.* 193: 321-334.
- Ressayre A, B Godelle, C Raquin, PH Gouyon 2002 Aperture pattern ontogeny in angiosperms. *J. Exp. Biol.* 294: 122-135.
- Rudall PJ, CA Furness, MW Chase, MF Fay 1997 Microsporogenesis and pollen sulcus type in Asparagales (Lilianaes). *Can. J. Bot.* 408-430.
- Sannier J, S Nadot, A Forchioni, MM Harley, B Albert 2006 Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen. *Bot. J. Linn. Soc.* 151: 93-102.
- Schluter D, T Price, AO Mooers, D Ludwig 1997 Likelihood of ancestor states in adaptive radiation. *Evolution* 51: 1699-1711.
- Schultz TR, RB Cocroft, GA Churchill 1996 The reconstruction of ancestral character states. *Evolution* 50: 504-511.
- Sowunmi MA 1968 Pollen morphology in the palmae, with special reference to trends in aperture development. *Rev. Palaeobot. Palynol.* 7: 45-53.
- Stauffer FW, CB Asmussen, A Henderson, PK Endress 2003 A revision of *Asterogyne* (Arecaceae : Arecoidae : Geonomeae). *Brittonia* 55: 326-356.
- Stireman JO 2005 The evolution of generalization? Parasitoid flies and the perils of inferring host range evolution from phylogenies. *J. Evol. Biol.* 18: 325-336.

- Swamy BGL 1949 Further contributions to the morphology of the Degeneriaceae. *J. Arnold Arbor.* 30: 10-38.
- Swofford DL 1998 PAUP*. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*, Version 4. Sinauer Associates, Sunderland.
- Tateno Y, N Takezaki, M Nei 1994 Relative efficiencies of the Maximum-Likelihood, Neighbor-joining, and Maximum-Parsimony Methods When Substitution Rate Varies with Site. *Mol. Biol. Evol.* 11: 261-277.
- Thanikaimoni G 1970 Les palmiers: palynologie et systématique. *Trav. Sect. Sci. Tech., Inst. Fr. Pondichéry* 11: 1-286.
- Uhl NW, J Dransfield 1987 *Genera Palmarum*. Allen Press, Lawrence, Kansas. 610 pp.
- Waterkeyn L 1962 Les parois microsporocytaires de nature callosique chez *Helleborus* et *Tradescantia*. *Cellule* 62: 225-255.
- Wilson MA, B Gaut, MT Clegg 1990 Chloroplast DNA evolves slowly in the palm family (Arecaceae). *Mol. Biol. Evol.* 7: 303-314.
- Wodehouse RP 1935 *Pollen grains: their structure, identification and significance in science and medicine*. Hafner Publishing CO., New York.

TABLE 1 List of species examined in this study. Systematic position is according to the new classification of Dransfield *et al.* (2005). The others sampled species have been studied in detail in a previous paper (Sannier *et al.* 2006). The sampling site is given, MBC (Montgomery Botanical Centre), Kew Gardens, Auteuil and Chèvreloup greenhouses and Orsay. Accession numbers of living material used in this study are given where they were available.

Subfamily & tribe	Genus & species	Origin	Voucher specimen
Coryphoideae			
Sabaleae	<i>Sabal maritima</i> (Kunth) Burret	Chèvreloup	10113
Livistoneae	<i>Trachycarpus fortunei</i> (Hook.) H.Wendl.	Orsay	/
Borasseae	<i>Bismarckia nobilis</i> Hildebr. & H.Wendl	MBC	951189G
Arecoideae			
Chamaedoreae	<i>Chamaedorea ernesti-augustii</i> H.Wendl.	MBC	20010838A; 20010843A, B; 20010840A;
	<i>Chamaedorea macrospadix</i> Oerst.	Kew Gardens	/
	<i>Chamaedorea microspadix</i> Burret	Auteuil	/
	<i>Chamaedorea plumosa</i> Hodel	MBC	98628A, D, M
	<i>Chamaedorea radicalis</i> Mart.	Kew Gardens	/
	<i>Chamaedorea seifrizii</i> Burret	MBC	9385A; 91453A; 9387A
	<i>Gaussia attenuata</i> (O.F.Cook) Beccari	Chèvreloup	/
	<i>Hyophorbe lagenicaulis</i> (L.H.Bailey) H.E.Moore	MBC	9111B, E, F, G, K, S, M, U, Y
	<i>Synechanthus fibrosus</i> (H.A.Wendland) H.A.Wendland	MBC	99704C; 99692B, C, F; 99685A
	Areceae	<i>Areca catechu</i> L.	MBC
<i>Ptychosperma elegans</i> (R.Brown) Blume		MBC	96321A, B, C, H, J; 96228C, H; 96227C, D,
<i>Ptychosperma microcarpum</i> (Burret) Burret		MBC	9376A
<i>Ptychosperma</i> sp.		MBC	96170A, B, E, G; 98187A, D, F, G, H

TABLE 2 Number of individuals observed, flower buds and stamens per species, and level of variation in microsporogenesis for each species. AC, aceto-carminic; AB, aniline blue.

Species	Number of		
	Individuals observed	Flower buds observed	Stamens observed
<i>Sabal maritima</i>	1-1	12-17	36-71
<i>Trachycarpus fortunei</i>	1-1	6-14	29-57
<i>Bismarckia nobilis</i>	1-1	18-23	26-73
<i>Chamaedorea ernesti-augustii</i>	1-4	9-19	27-62
<i>Chamaedorea macrospadix</i>	1-2	2-36	2-100
<i>Chamaedorea microspadix</i>	1-2	6-20	9-77
<i>Chamaedorea plumosa</i>	2-2	8-21	24-80
<i>Chamaedorea radicalis</i>	2-2	9-14	15-28
<i>Chamaedorea seifrizii</i>	2-3	6-18	24-93
<i>Gaussia attenuata</i>	3-2	8-18	15-55
<i>Hyophorbe lagenicaulis</i>	2-4	14-28	43-119
<i>Synechanthus fibrosus</i>	1-2	12-23	36-67
<i>Areca catechu</i>	2-2	23-24	66-72
<i>Ptychosperma elegans</i>	1-1	6-7	61-75
<i>Ptychosperma microcarpum</i>	1-1	10-10	67-106
<i>Ptychosperma sp.</i>	2-3	5-12	32-108

TABLE 3 Combined list of percentages for the different classes of tetrad forms for each of the species studied in Sannier *et al.* (2006) and the present study. The number of cleavage planes is given in brackets. Standard errors are calculated just from counts: they inform on the variation between counts.

Species	Percentage of tetrads \pm standard error			Total of counted tetrads	Number of stamens used
	Tetragonal and the like (3 or 4)	Rhomboidal (5)	Tetrahedral (6)		
<i>Sabal maritima</i>	9.9 \pm 3.6	4.5 \pm 4.7	85.6 \pm 5.6	232	6
<i>Trachycarpus fortunei</i>	10.8 \pm 6.7	4 \pm 3.8	85.2 \pm 2.9	618	3
<i>Serenoa repens</i>	60.6 \pm 8.2	0.3 \pm 0.7	39.1 \pm 8.8	437	5
<i>Copernicia hospita</i>	6.2 \pm 2.5	3 \pm 1.5	90.8 \pm 2.7	502	5
<i>Caryota mitis</i>	22.5 \pm 0.1	2.5 \pm 1.1	75 \pm 1.1	597	3
<i>Bismarckia nobilis</i>	4,6 \pm 1	1.3 \pm 1.2	94.1 \pm 1.7	546	4
<i>Hyphaene coriacea</i>	18.1 \pm 14.4	1.6 \pm 1.5	80.2 \pm 13	688	3
<i>Hyophorbe lagenicaulis</i>	6.2 \pm 2.5	2.2 \pm 1.8	91.7 \pm 2	519	3
<i>Synechanthus fibrosus</i>	1.7 \pm 3	5.6 \pm 4.2	92.7 \pm 3.9	476	4
<i>Chamaedorea ernesti-augustii</i>	4.5 \pm 1.9	2.8 \pm 1.2	92.7 \pm 2.6	555	4
<i>Chamaedorea macrospadix</i>	12.8 \pm 3.8	3.2 \pm 3.1	84 \pm 6.9	414	2
<i>Chamaedorea microspadix</i>	5.1 \pm 2	4.3 \pm 2.9	90.6 \pm 4.8	597	3
<i>Chamaedorea plumosa</i>	2.4 \pm 0.1	1.9 \pm 1.3	95.7 \pm 1.2	412	2
<i>Chamaedorea radicalis</i>	12.2 \pm 0.4	1.4 \pm 0.1	86.3 \pm 0.5	418	2
<i>Chamaedorea seifrizii</i>	2.4 \pm 2.8	2.9 \pm 1.4	94.6 \pm 4.2	410	2
<i>Gaussia attenuata</i>	6.6 \pm 2.2	6.3 \pm 1.3	87.1 \pm 1	547	3
<i>Allagoptera arenaria</i>	4 \pm 1.3	1.6 \pm 1	94.4 \pm 1.5	765	5
<i>Butia sp.</i>	10.8 \pm 4.8	0.3 \pm 0.5	88.8 \pm 4.7	593	3
<i>Areca catechu</i>	1 \pm 1.1	1.4 \pm 1.2	97.6 \pm 0.8	425	3
<i>Dypsis decaryi</i>	4.5 \pm 3.2	2.7 \pm 4.1	92.8 \pm 3.7	387	3
<i>Ptychosperma elegans</i>	3.3 \pm 5.4	0.5 \pm 0.6	96.2 \pm 5.8	517	4
<i>Ptychosperma microcarpum</i>	18.5 \pm 7.2	0.8 \pm 1.1	80.7 \pm 8.3	326	2
<i>Ptychosperma sp.</i>	11.5 \pm 8.6	7.2 \pm 1.1	81.2 \pm 7.5	308	2
<i>Veitchia spiralis</i>	1.1 \pm 1.4	1.6 \pm 0.8	97.3 \pm 1.2	462	3

FIGURE 1

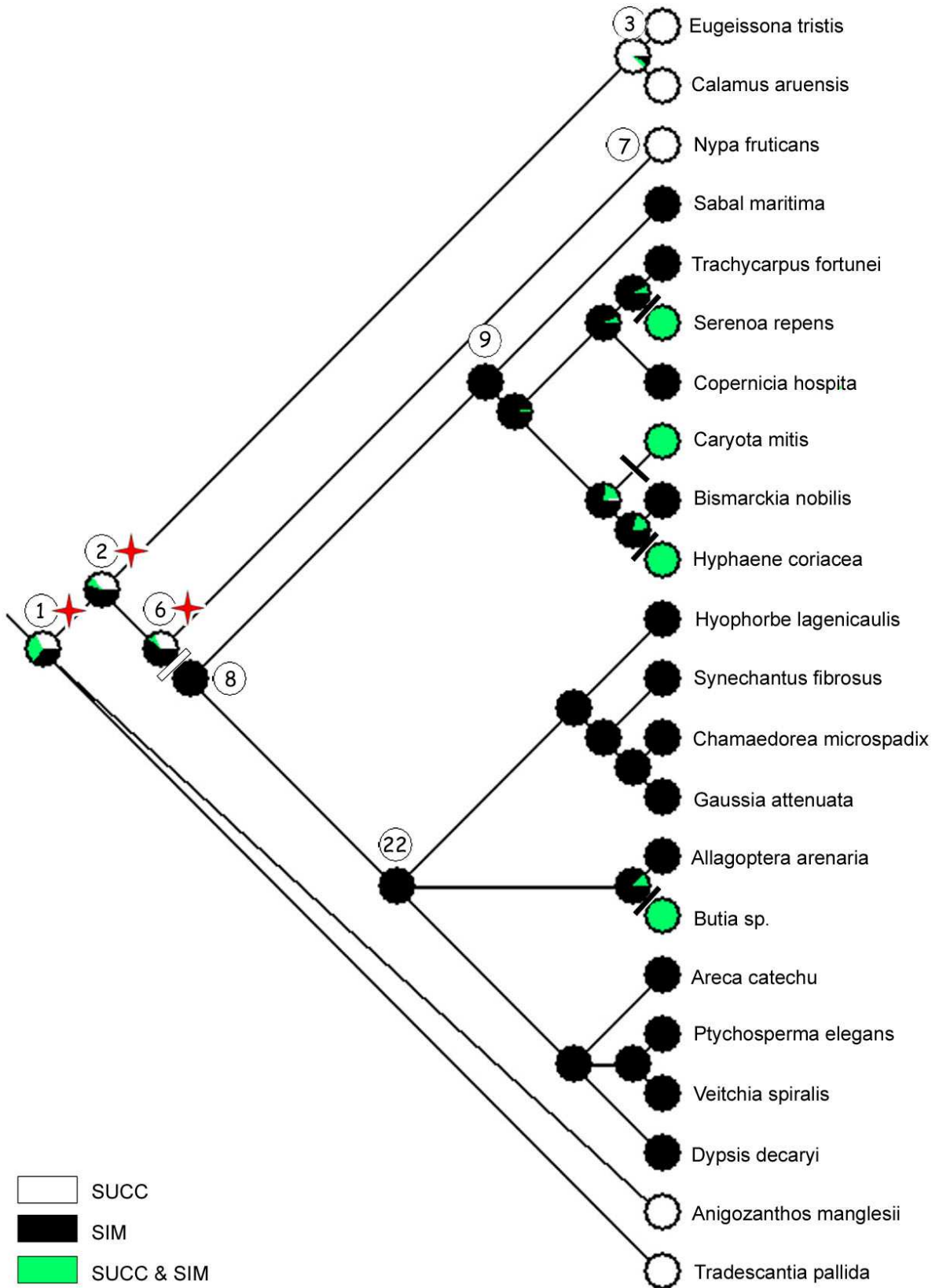


FIGURE 2

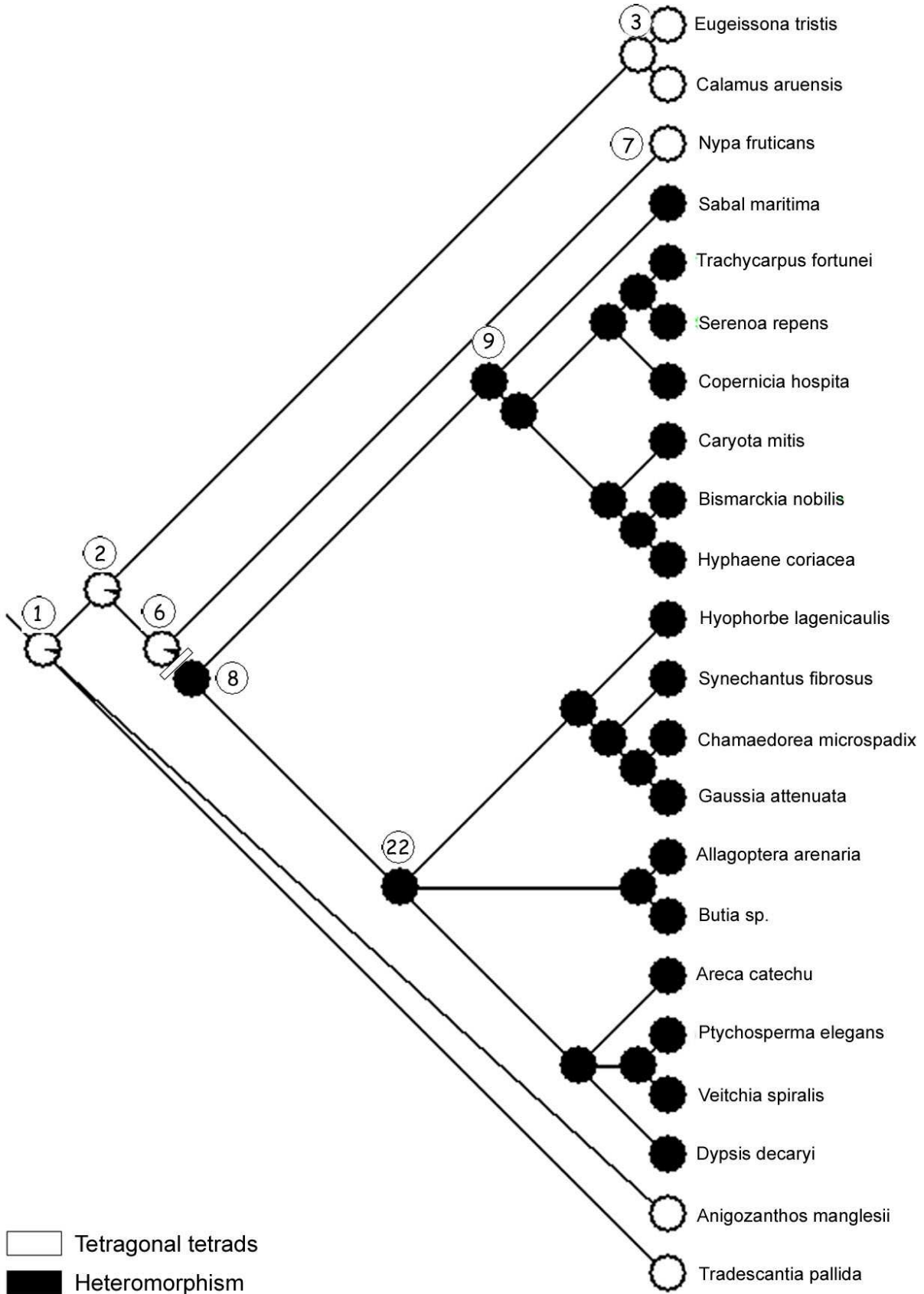


FIGURE 3

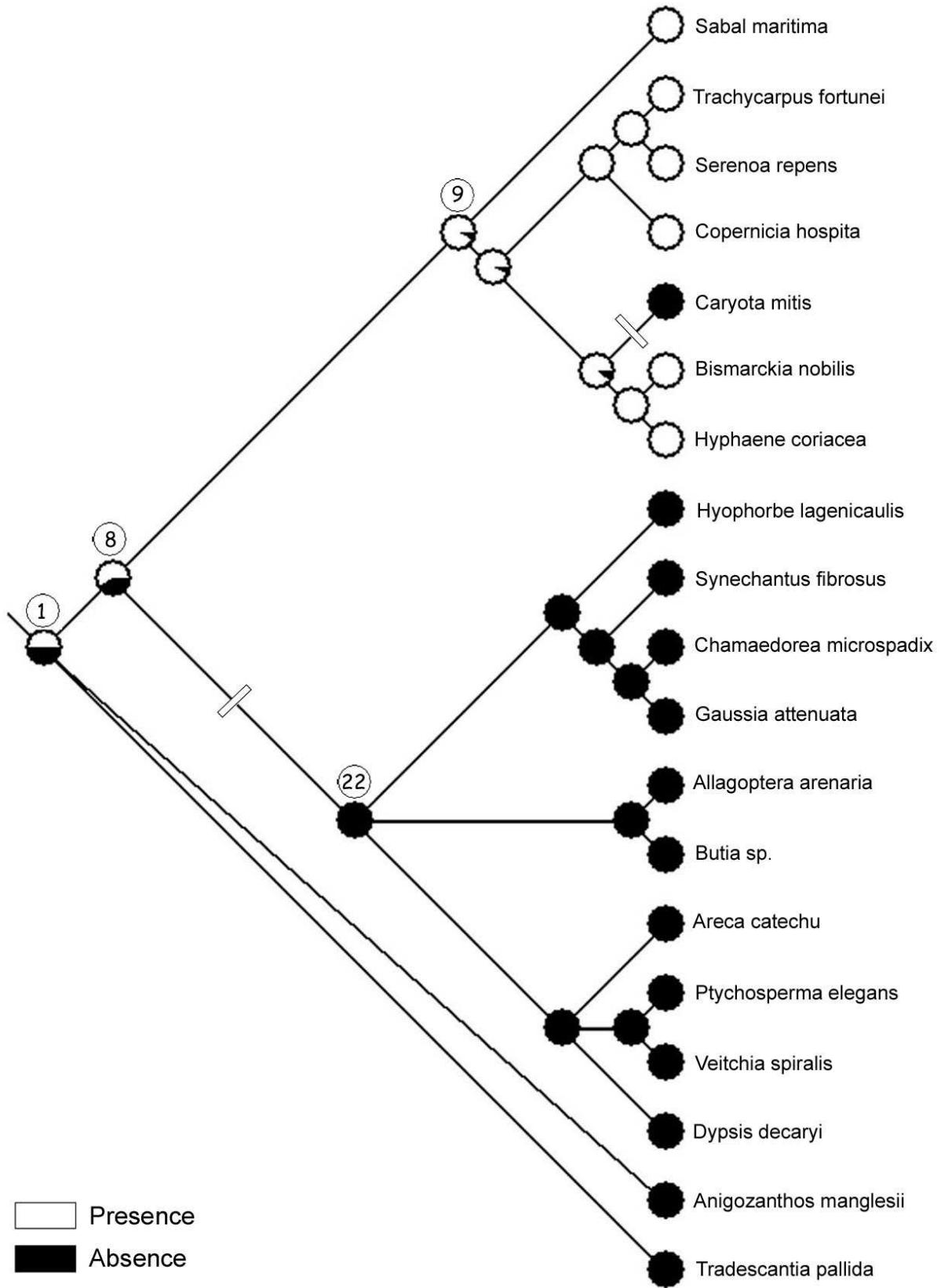


Figure legends

Fig. 1. Optimisation of cytokinesis evolution using the ML model. Node 1 corresponds to the common ancestor to all species included in the phylogeny. Node 2: common ancestor to all palms. Node 3: common ancestor to the subfamily Calamoideae. Node 6: common ancestor of all palms except Calamoideae. Node 7: common ancestor to the subfamily Nypoideae. Node 8: common ancestor to the subfamilies Coryphoideae and Arecoideae. Node 9: common ancestor to the Coryphoideae. Node 22: common ancestor to the Arecoideae. Stars indicate the nodes for which the ML and MP methods give conflicting inferences. White bars indicate a transition from successive cytokinesis towards simultaneous cytokinesis and black bars indicate reversions according to the MP model. SUCC: successive cytokinesis; SIM: simultaneous cytokinesis.

Fig. 2. Optimisation of tetrad form evolution using the ML model. The correspondences of the nodes are the same as in figure 1. The white bar indicates a transition from tetragonal tetrads towards heteromorphism, according both MP and ML models.

Fig. 3. Optimisation of callose ring evolution using the ML model. On this phylogeny, the subfamilies Calamoideae and Nypoideae are not included because of a lack of data for this character. The node 1 corresponds to the common ancestor to all species included in the phylogeny. Node 8: common ancestor to subfamilies Coryphoideae and Arecoideae. Node 9: common ancestor to Coryphoideae and. Node 22: common ancestor to Arecoideae. White bars indicate a loss of the callose ring according to the MP and the ML models.

CHAPITRE CINQUIÈME

VARIATION DU TYPE APERTURAL EN RELATION
AVEC LA MICROSPOROGENESE CHEZ LES
ARECACEAE

V. VARIATION DU TYPE APERTURAL EN RELATION AVEC LA MICROSPOROGENÈSE CHEZ LES ARECACEAE

Le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) prédit, pour un faible nombre d'ouvertures, les types aperturaux attendus en fonction des composantes de la microsporogénèse. Certaines des situations de ce modèle se retrouvent effectivement chez les Eudicotylédones centrales, les Monocotylédones et les Magnolidées (Figure 20, Chapitre I). J'ai voulu vérifier si, chez les *Arecaceae*, la relation existant entre la microsporogénèse et le type apertural était bien en accord avec celle prédite par ce modèle.

Je vous rappelle que le type apertural correspond à l'ensemble des caractères polliniques suivants : **la forme et le nombre des ouvertures** (qui varient extrêmement peu chez les espèces échantillonnées), **mais aussi leur position à la surface du grain de pollen.**

Chez les *Arecaceae*, j'ai décrit cinq types de microsporogénèse produisant tous du pollen monosulqué dont l'ouverture est par conséquent toujours en position polaire (voir Chapitre III). Nous allons donc voir dans la suite de ce chapitre si pour chacun de ces types de microsporogénèse, les types aperturaux observés correspondent aux types aperturaux prédits par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a). Dans le cas contraire, je tenterai de comprendre comment sont déterminés ces types aperturaux.

Le stade durant lequel les ouvertures sont visibles dans la tétrade est souvent difficile à observer. En effet, le moment où les ouvertures commencent à être visibles à la surface des grains de pollen varie en fonction des espèces. Ainsi, chez certaines d'entre elles, les ouvertures n'apparaissent qu'une fois les grains de pollen libérés de la tétrade. Dans ce cas, on ne peut avoir accès à l'arrangement des ouvertures au sein de la tétrade. Par conséquent, pour par exemple *Synechodus fibrosus* et *Butia* sp. (*Arecoideae*), nous ne disposons pas du tout d'observations de l'arrangement des ouvertures au sein de la tétrade. D'autre part, nous avons vu que, bien que présentes chez un certain nombre d'espèces, certaines formes de tétrades sont peu fréquentes (les tétrades rhomboïdales par exemple). Les observations de l'arrangement des ouvertures dans ces tétrades sont donc souvent très ponctuelles.

Je vais décrire les différents types aperturaux que j'ai observé chez les espèces de palmiers échantillonnées, en fonction du type de microsporogénèse associé. Les ouvertures étant toujours polaires et toutes les formes de tétrades étant toujours produites, le déroulement de la microsporogénèse ne diffère que par le type de cytokinèse et le sens de formation des parois intersporales.

A. Cytocinèse simultanée + formation centrifuge des parois intersporales par rapport aux plans de cytotcinèse

Ce type de microsporogénèse n'a été observé que chez des espèces appartenant à la sous-famille des Arecoideae : chez *Hyophorbe lagenicaulis*, *Gaussia attenuata*, *Areca catechu*, *Veitchia spiralis*, *Dypsis decaryi* et chez toutes les espèces appartenant au genre *Ptychosperma*. Il est intéressant de noter que toutes ces espèces excepté *Gaussia attenuata* présentent des dépôts additionnels de callose (voir Chapitre IV). Par conséquent, les derniers points de dépôt de la callose peuvent être potentiellement différents de ceux déterminées par la formation centrifuge des parois intersporales. Cependant, nous avons vu que ces dépôts sont difficiles à localiser en raison de la variation qui existe au sein d'une même espèce. Par conséquent, la détermination des véritables derniers points de dépôt de la callose peut s'avérer compliquée.

1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a)

Le modèle prédit que l'on devrait pouvoir observer du pollen monosulqué (tétrades tétraogonales et rhomboïdales) mais aussi du pollen tétrachotomosulqué (tétrades rhomboïdales) et trichotomosulqué (tétrades tétraédriques) (Figure 71).

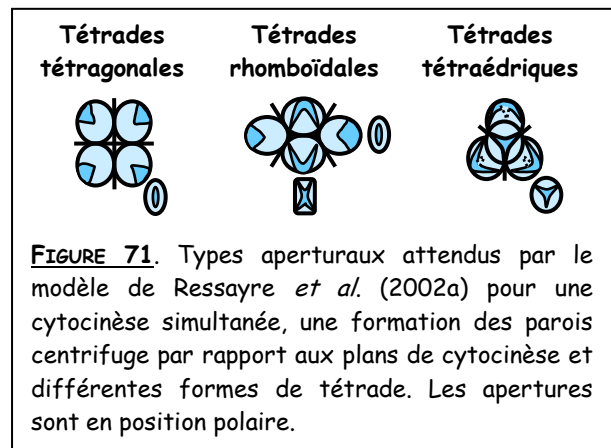


FIGURE 71. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) pour une cytotcinèse simultanée, une formation des parois centrifuge par rapport aux plans de cytotcinèse et différentes formes de tétrade. Les apertures sont en position polaire.

2. Types aperturaux réellement observés

Nous allons considérer les types aperturaux observés par type de tétrade.

a. Tétrades tétraogonales

Pour les raisons évoquées au début de ce chapitre, une seule tétrade tétraogonale présentant des apertures a pu être observée pour toutes les espèces suivant cette microsporogénèse. Elle appartient à *Hyophorbe lagenicaulis*. Dans cette tétrade, malgré la présence de dépôts additionnels de

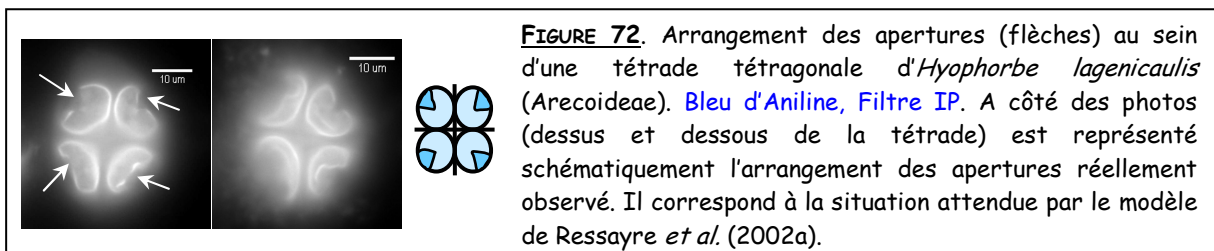
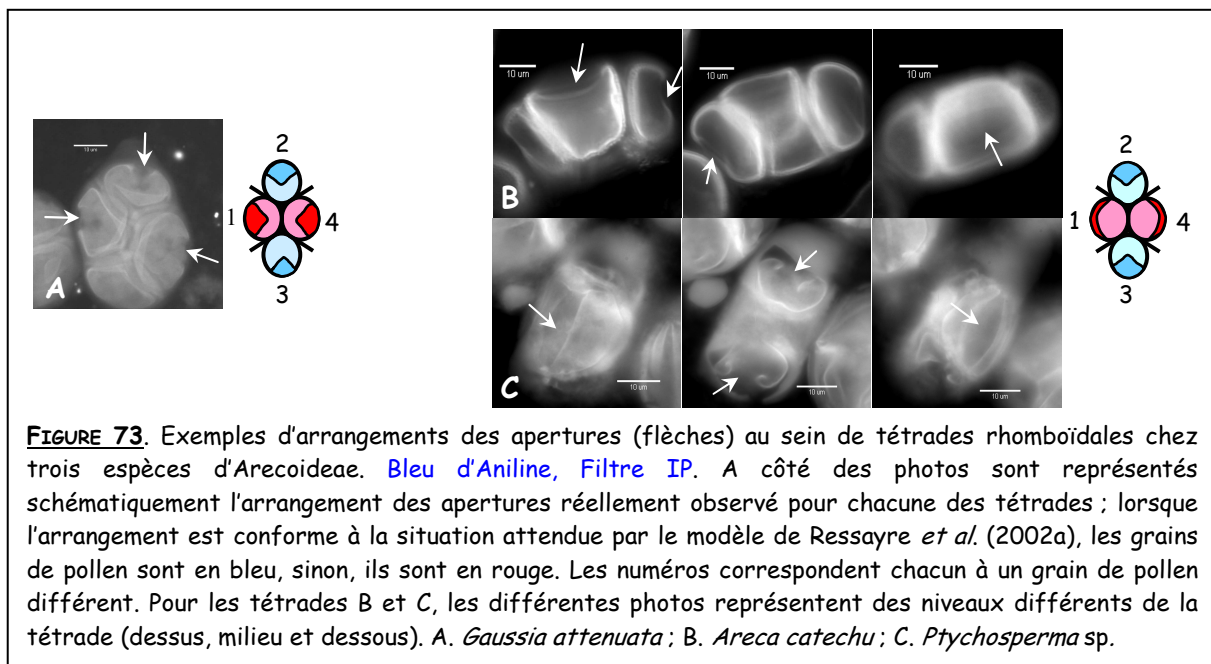


FIGURE 72. Arrangement des apertures (flèches) au sein d'une tétrade tétraogonale d'*Hyophorbe lagenicaulis* (Arecoideae). Bleu d'Aniline, Filtre IP. A côté des photos (dessus et dessous de la tétrade) est représenté schématiquement l'arrangement des apertures réellement observé. Il correspond à la situation attendue par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a).

callose, l'arrangement des apertures est en accord avec la situation attendue par le modèle (Figure 72). Par conséquent, les dépôts additionnels de callose ne modifieraient pas les derniers points de dépôt de la callose définis par la formation centrifuge des parois ou n'interviendraient pas ici dans la détermination du type apertural.

b. Tétrades rhomboïdales

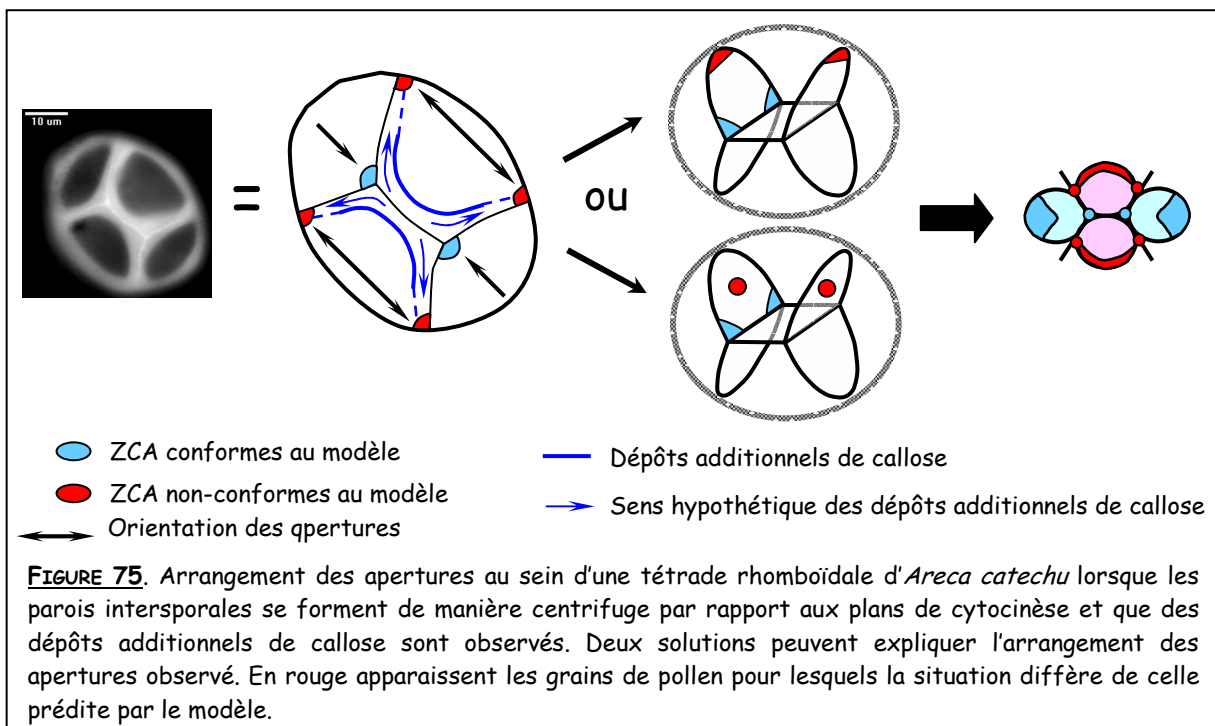
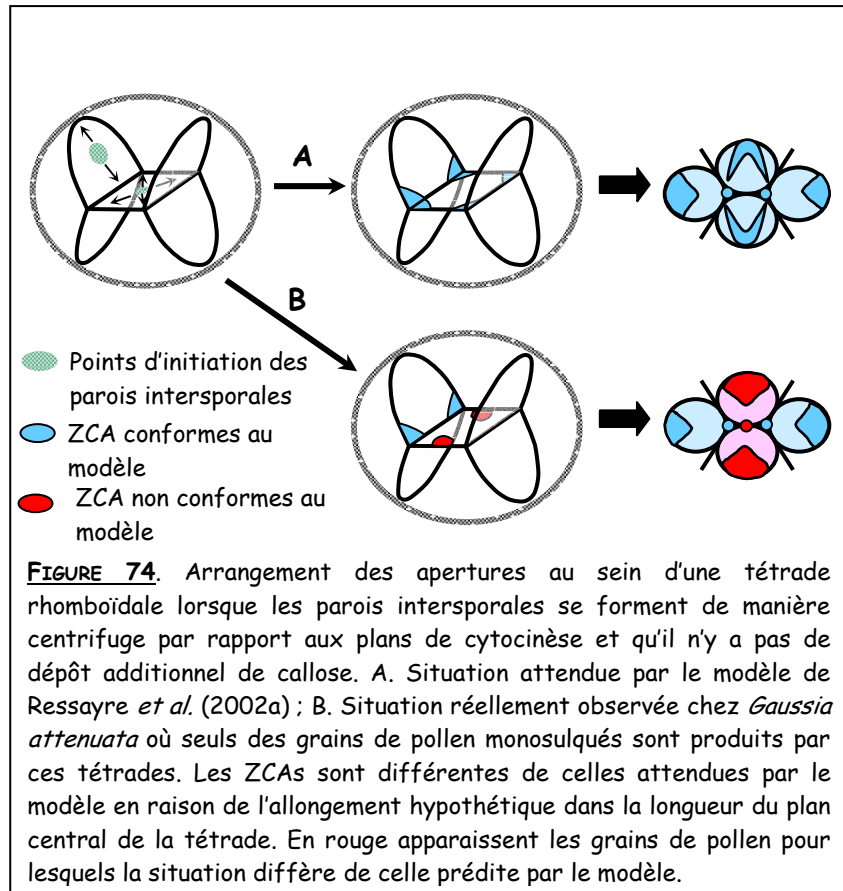
Au total, seules trois tétrades rhomboïdales ont pu être observées parmi toutes les espèces présentant cette microsporogénèse. Elles appartiennent à *Hyophorbe lagenicaulis*, *Areca catechu* et *Ptychosperma* sp. Deux types d'arrangement des apertures différents ont pu être décrit dont aucun ne correspond tout à fait à la situation attendue par le modèle (Figure 73). En effet, aucune de ces tétrades ne produit de pollen tétrachotomosulqué : tous les pollens sont monosulqués. Dans les deux types d'arrangement, les grains de pollen extérieurs (2 et 3) présentent une orientation des apertures conforme à la situation attendue par le modèle, mais par contre, l'orientation des grains de pollen centraux (1 et 4) diffère.



Chez *Gaussia attenuata*, qui ne présente pas de dépôts additionnels de callose, l'arrangement des apertures dans la tétrade correspond pratiquement à la situation attendue. J'ai essayé d'expliquer dans la figure 74 pourquoi, selon moi, il n'y a pas formation de pollen tétrachotomosulqué chez cette espèce. La formation des parois ne se terminerait peut-être pas exactement aux points suggérés par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a), au moins en ce qui concerne la paroi centrale.

Chez *Areca catechu* en revanche, c'est la présence de dépôts additionnels de callose qui peut peut-être expliquer la différence de localisation des derniers points de dépôt de la callose par rapport à ceux prédit par le modèle. La figure 75 montre plus précisément comment, chez cette

espèce, la manière dont se déposent ces dépôts additionnels peut modifier l'arrangement relatif des ouvertures et aboutir à l'arrangement observé.



c. Tétrades tétraédriques

Aucune des tétrades tétraédriques observées et présentant des apertures ne produit de pollen trichotomosulqué, contrairement à la situation prédite par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) : elles produisent toutes du pollen monosulqué (Figure 76). Notons cependant que chez *Hyophorbe lagenicaulis*, *Gaussia attenuata*, *Ptychosperma microcarpum* et *P. sp.*, la présence de pollens trichotomosulqués a pu être mise en évidence (voir Chapitre III). Il se peut ici que la faible proportion observée pour ce type de grain de pollen chez ces deux espèces explique l'absence d'observation des apertures dans la tétrade.

Remarquons que toutes les tétrades tétraédriques observées pour les espèces présentant cette microsporogénèse sont irrégulières (Figure 76). En d'autres termes, leurs six parois intersporales sont de tailles inégales au sein de la tétrade. Comme je l'ai expliqué dans le Chapitre I, cette configuration irrégulière pourrait être responsable de la production de pollens monosulqués plutôt que de pollens trichotomosulqués (Harley 1993, Rudall *et al.* 1997, Penet *et al.* 2005). Précisons qu'une variation importante des arrangements aperturaux est observée, même au sein d'une espèce.

La détermination précise des types aperturaux dans ce type de tétrade, quel que soit le déroulement de la microsporogénèse suivi par les espèces de palmier échantillonnées, sera discutée plus précisément dans une partie spéciale à la fin de ce chapitre.

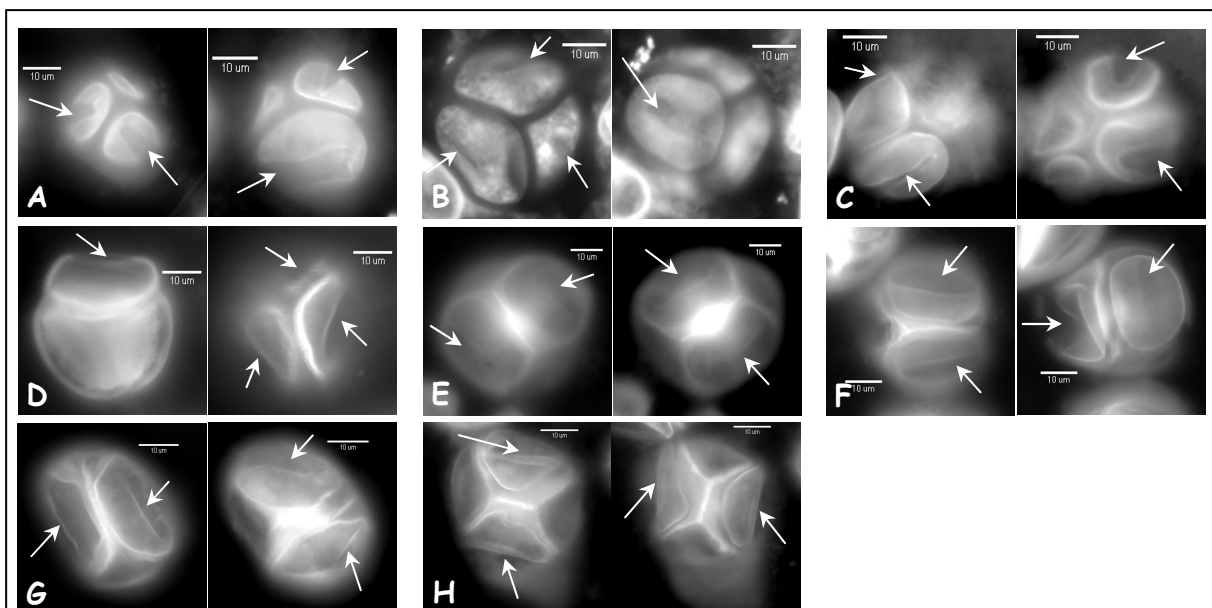


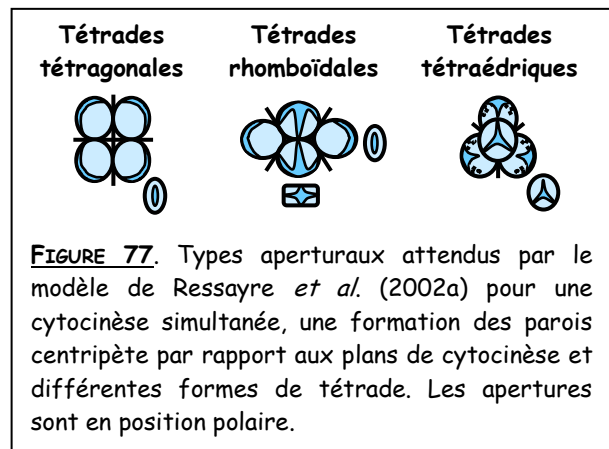
FIGURE 76. Exemples d'arrangements des apertures (flèches) au sein de tétrades tétraédriques produites par huit espèces d'Arecoideae présentant une **cytocinèse simultanée et des parois intersporales se formant de manière centrifuge par rapport aux plans de cytocinèse**. **Bleu d'Aniline, filtre IP (A-D, F-H) et filtre FITC (E)**. Les différentes photos représentent des niveaux différents de la tétrade (dessus et dessous). A. *Hyophorbe lagenicaulis*; B. *Gaussia attenuata*; C. *Dypsis decaryi*; D. *Areca catechu*; E. *Veitchia spiralis*; F. *Ptychosperma elegans*; G. *Ptychosperma microcarpum*; H. *Ptychosperma sp.*

B. Cytocinèse simultanée + formation centripète des parois intersporales par rapport aux plans de cytotcinèse

Ce type de microsporogénèse se rencontre à la fois chez les Coryphoideae (*Sabal maritima*, *Trachycarpus fortunei* et *Copernicia hospita*) et les Arecoideae (*Synechantus fibrosus*, *Allagoptera arenaria* et chez toutes les espèces appartenant au genre *Chamaedorea*). Aucune de ces espèces ne présente de dépôts additionnels de callose. On devrait donc pouvoir localiser les derniers points de dépôt de la callose en fonction du mode de formation des parois intersporales.

1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre et al. (2002a)

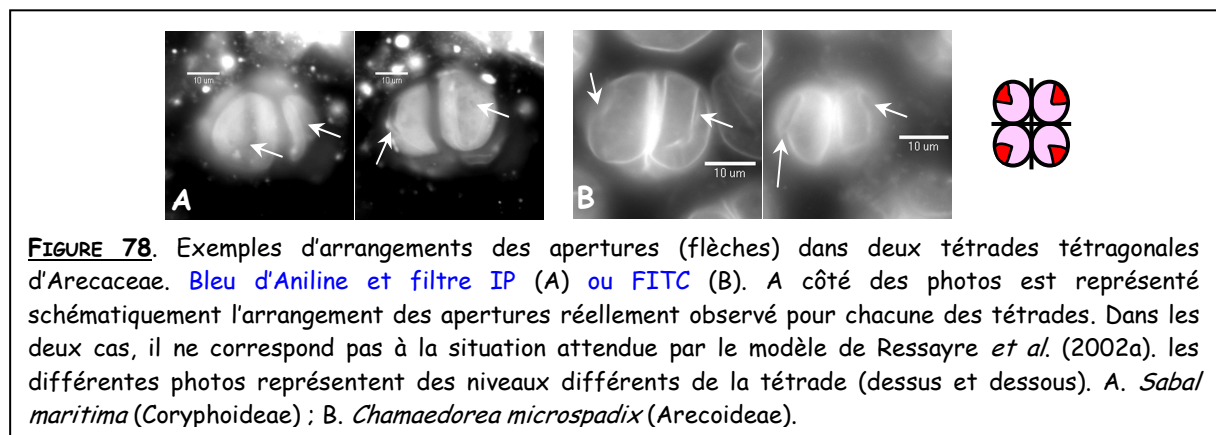
Là encore, le modèle prédit que l'on devrait pouvoir observer du pollen monosulqué (tétrades tétraogales et rhomboïdales) mais aussi du pollen tétrachotomosulqué (tétrades rhomboïdales) et trichotomosulqué (tétrades tétraédriques) (Figure 77). Par contre les orientations des apertures à la surface des grains de pollen sont différentes de celles que l'on est susceptible d'obtenir avec la microsporogénèse précédente.



2. Types aperturaux réellement observés

a. Tétrades tétraogales

Dans ce cas seules deux tétrades tétraogales dans laquelle les apertures étaient visibles ont pu être observées. Elles appartiennent à *Sabal maritima* et *Chamaedorea microspadix*. Dans les deux cas, l'arrangement des apertures ne correspond pas à la situation attendue par le modèle de Ressayre et al. (2002a) mais à celle attendue lorsque les parois intersporales se forment de manière centrifuge par rapport aux plans de cytotcinèse (Figure 78).

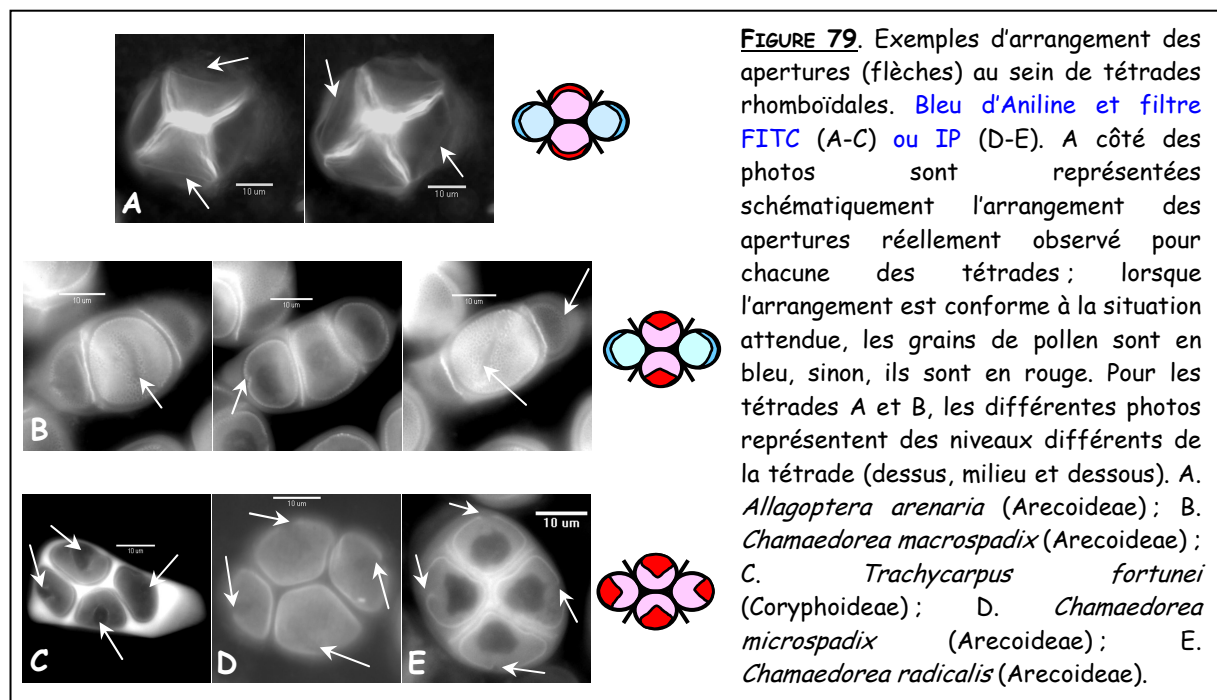


Les raisons pouvant expliquer la divergence du type apertural observé comparé à la situation attendue sont les suivantes :

- Il existe peut-être des dépôts additionnels de callose qui n'ont pu être observés et qui modifieraient l'orientation des apertures.
- L'arrangement des apertures peut être en partie déconnecté des composantes de la microsporogénèse étudiées.

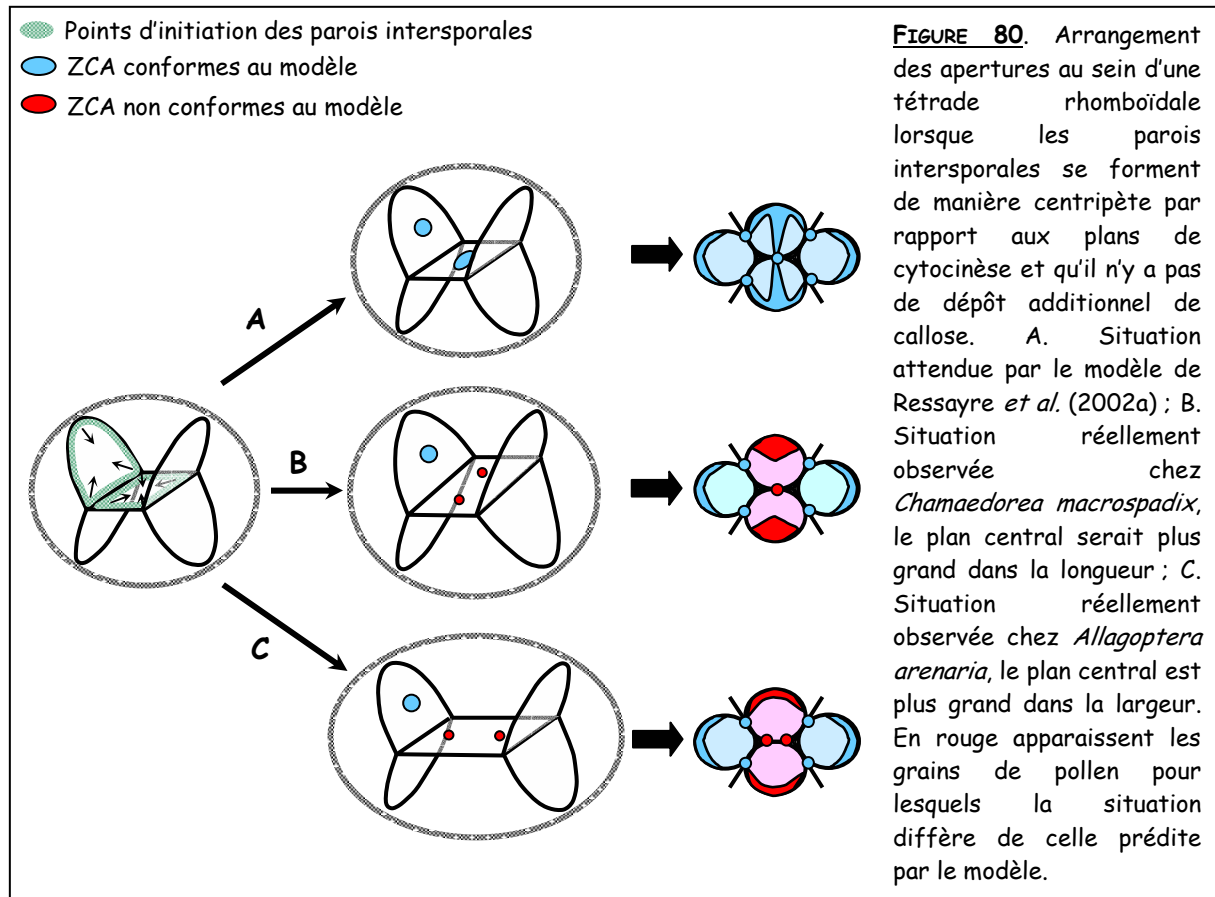
b. Tétrades rhomboïdales

Un certain nombre de tétrades rhomboïdales présentant des apertures a pu être observé : chez *Allagoptera arenaria*, *Trachycarpus fortunei*, *Chamaedorea ernesti-augustii*, *C. microspadix* et *C. macrospadix*. Plusieurs types d'arrangement des apertures peuvent être décrits dont aucun ne correspond exactement à la situation attendue par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) (Figure 79). En effet, jamais aucun pollen tétrachotomosulqué n'a pu être observé au sein de ce type de tétrade : ils sont tous monosulqué (Figure 79). La variation que j'ai observée entre les espèces ne se retrouve pas au sein d'une même espèce.



Dans la figure 80, je propose des explications à l'arrangement des apertures observé dans les tétrades rhomboïdales de *Chamaedorea macrospadix* et *Allagoptera arenaria*. Ces explications sont fondées sur la taille des plans de cytokinèse, en particulier sur celle du plan central. Le fait que ce plan n'ait pas la forme d'un carré pourrait entraîner la duplication du dernier point de dépôt de la callose.

L'arrangement des apertures observé dans les tétrades rhomboïdales produites par la plupart des autres espèces ne s'explique pas vraiment sinon qu'il est comparable à l'arrangement prédit par le modèle en cas de formation des parois intersporales de manière centrifuge par rapport aux plans de cytokinèse.



c. Tétrades tétraédriques

Contrairement à la situation précédente, quelques-unes des tétrades tétraédriques observées et présentant des apertures produisent du pollen trichotomosulqué comme le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) le prédisait. Ces tétrades n'ont pu cependant être observées que chez *Chamaedorea macrospadix* et *Chamaedorea microspadix*. Il est intéressant de noter que chez ces espèces, je n'ai jamais pu observer de tétrade composée exclusivement de pollens trichotomosulqués mais toujours des tétrades composites, comportant à la fois du pollen trichotomosulqué et monosulqué. Dans ce cas, les tétrades avaient toutes une forme irrégulière. La figure 81 montre un exemple de ce type de tétrade composite. On y voit très bien que les trois sillons de l'aperture du grain de pollen trichotomosulqué ne sont pas orientés comme dans la situation attendue par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a). Au contraire, ils sont orientés comme si les derniers points de dépôt de la callose étaient situés aux intersections entre plans de cytokinèse. En d'autres termes, ils sont orientés comme si les

parois intersporales se formaient de manière centrifuge par rapport aux plans de cytotcinèse, ce qui n'est absolument pas le cas ici.

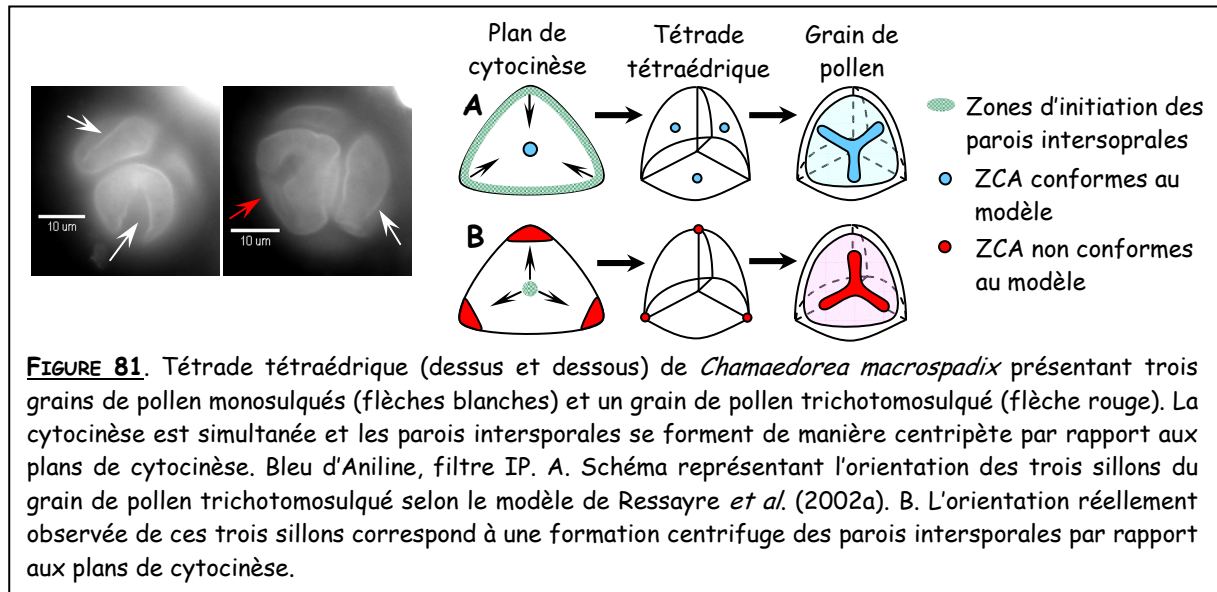


FIGURE 81. Tétrade tétraédrique (dessus et dessous) de *Chamaedorea macrospadix* présentant trois grains de pollen monosulqués (flèches blanches) et un grain de pollen trichotomosulqué (flèche rouge). La cytotcinèse est simultanée et les parois intersporales se forment de manière centripète par rapport aux plans de cytotcinèse. Bleu d'Aniline, filtre IP. A. Schéma représentant l'orientation des trois sillons du grain de pollen trichotomosulqué selon le modèle de Ressayre *et al.* (2002a). B. L'orientation réellement observée de ces trois sillons correspond à une formation centrifuge des parois intersporales par rapport aux plans de cytotcinèse.

Toutes les autres tétrades tétraédriques où les apertures ont pu être observées chez les espèces présentant cette microsporogénèse produisent du pollen monosulqué et sont irrégulières (Figure 82). Là encore, on peut imaginer que cette configuration irrégulière pourrait être responsable de la production de pollens monosulqués plutôt que de pollens trichotomosulqués. Comme dans le cas précédent, j'ai observé une grande variation des arrangements aperturaux au sein de chaque espèce.

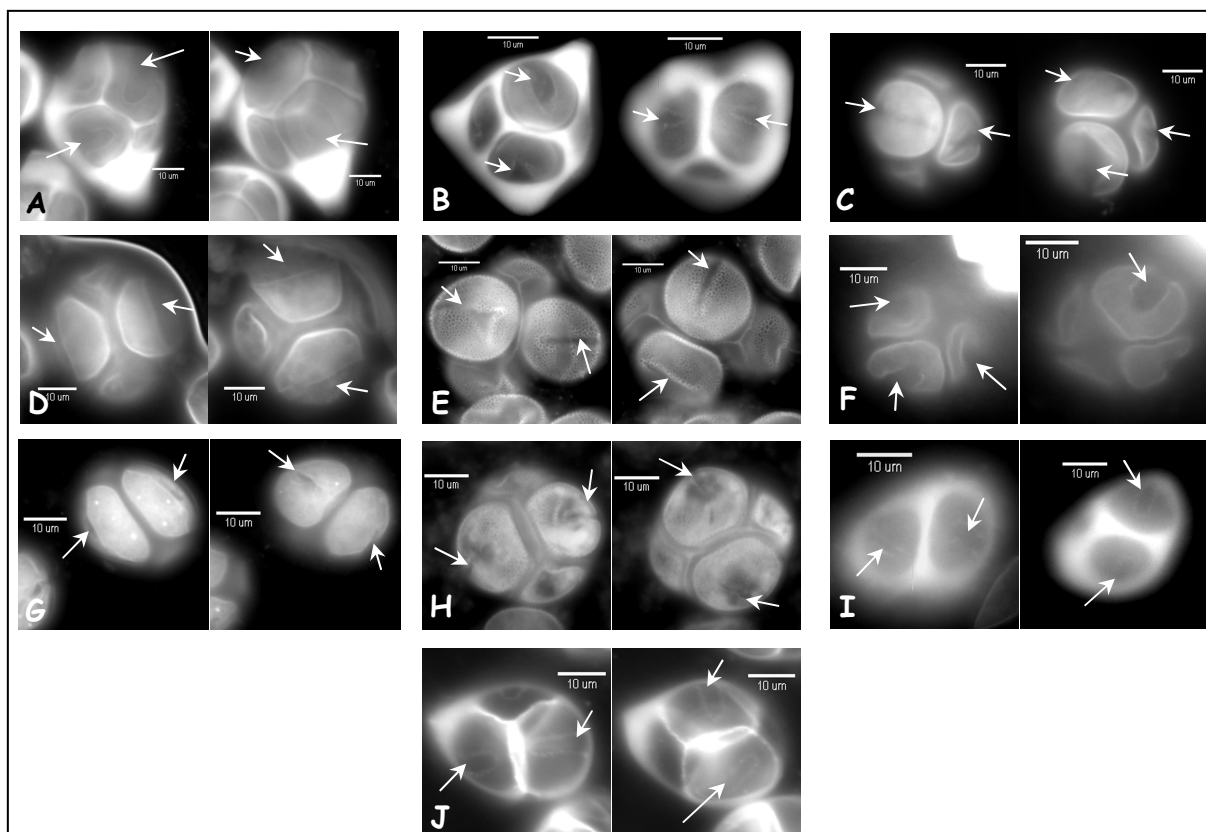


FIGURE 82. Exemples d'arrangements des apertures (flèches) au sein de tétrades tétraédriques chez huit espèces d'Arecoaceae présentant une **cytocinèse simultanée** et des **parois intersporales se formant de manière centripète par rapport aux plans de cytocinèse**. **Bleu d'Aniline, filtre FITC (A-B, E, I-J) et filtre IP (C-D, F-H)**. Les différentes photos représentent des niveaux différents de la tétrade (dessus et dessous). A. *Sabal maritima* (Coryphoideae); B. *Trachycarpus fortunei* (Coryphoideae); C. *Copernicia hospita* (Coryphoideae); D. *Allagoptera arenaria* (Arecoideae); E. *Chamaedorea ernesti-augustii* (Arecoideae); F. *Chamaedorea macrospadix* (Arecoideae); G. *Chamaedorea microspadix* (Arecoideae); H. *Chamaedorea plumosa* (Arecoideae); I. *Chamaedorea radicalis* (Arecoideae); J. *Chamaedorea seifrizii* (Arecoideae).

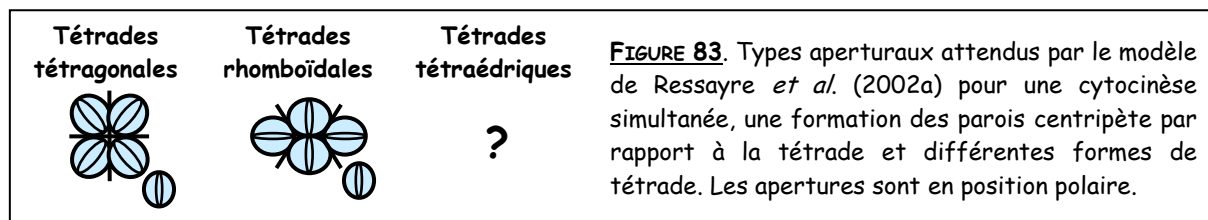
C. Cytocinèse simultanée + formation centripète des parois intersporales par rapport à la tétrade

Ce type de microsporogénèse a été observé uniquement chez *Bismarckia nobilis* (Coryphoideae) où aucun dépôt additionnel de callose n'a été noté. On devrait donc pouvoir localiser les derniers points de dépôt de la callose en fonction du mode de formation des parois intersporales.

1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a)

Le modèle prédit que l'on devrait pouvoir obtenir uniquement du pollen zonosulqué avec les tétrades tétraédriques et rhomboïdales. Bien que le modèle ne prédise pas particulièrement le type de pollen que les tétrades tétraédriques pourraient produire il s'agit sans doute de pollen également zonosulqué. En effet, c'est souvent le cas lorsqu'il n'y a qu'une unique zone de convergence aperturale

(Ressayre *et al.* 2002a) (Figure 83). Dans tous les cas, aucun pollen monosulqué n'est sensé être produit.

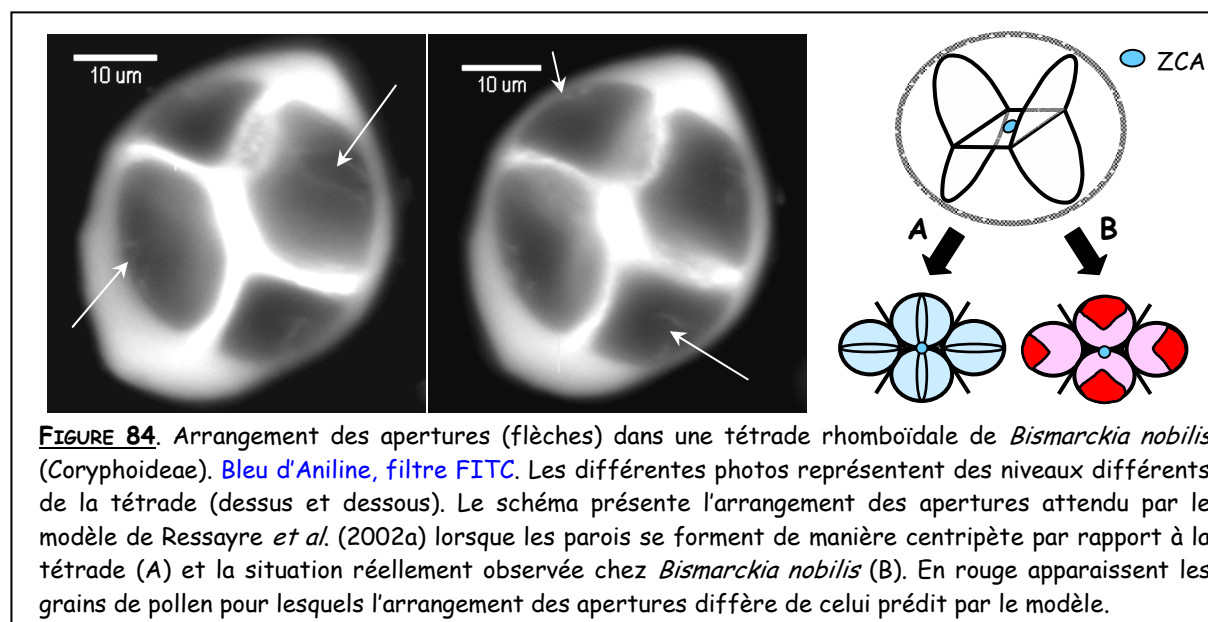


2. Types aperturaux réellement observés

Aucune tétrade tétraogonale présentant des ouvertures n'a pu être décrite.

a. Tétrades rhomboïdales

Chez *Bismarckia nobilis*, une seule tétrade rhomboïdale dans laquelle les ouvertures étaient visibles a pu être observée et l'arrangement des ouvertures dans cette tétrade ne correspond pas exactement au cas prédit par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) (Figure 84). En effet, aucun pollen zonosulqué n'a pu être observé : ils sont tous monosulqués. Il est possible que les ouvertures soient bien orientées vers le dernier point de dépôt de la callose mais qu'elles sont raccourcies, ce qui donne un sulcus au lieu d'un anneau (Figure 84). Dans ce cas, on peut concevoir que la situation réellement observée est comparable à la situation attendue par le modèle.



Chez cette espèce, des cas de parois intersporales se formant de manière centrifuge et centripète par rapport aux plans de cytokinèse ont pu être relevés. La tétrade rhomboïdale observée pourrait donc être théoriquement issue de l'un ou l'autre de ces modes de formation. Toutefois, la plupart des observations ont montré que chez *Bismarckia nobilis*, les parois intersporales se formaient

majoritairement de manière centripète par rapport à la tétrade. On peut donc raisonnablement envisager qu'il est peu probable qu'un autre mode de formation des parois soit à l'origine de cette tétrade.

b. Tétrades tétraédriques

Très peu d'observations de tétrades tétraédriques présentant des ouvertures ont pu être réalisées. Je peux seulement signaler que seul du pollen monosulqué a pu dans ce cas être décrit. Par ailleurs, les observations faites au stade grain de pollen nous montrent que cette espèce produit uniquement du pollen de ce type. Sachant que mes observations m'ont permis de conclure que la majorité des tétrades chez cette espèce sont irrégulières, le pollen monosulqué formé serait donc là encore issu de telles tétrades.

D. Cytocinèse simultanée et successive + formation centrifuge des parois intersporales par rapport aux plans de cytotcinèse

Ce type de microsporogénèse se rencontre chez deux espèces de Coryphoideae, *Serenoa repens* et *Caryota mitis* et chez une espèce d'Arecoideae, *Butia* sp.. Seule l'espèce *C. mitis* présente des dépôts additionnels de callose. Par conséquent, chez cette espèce, il se peut que les derniers points de dépôt de la callose soient différents de ceux déterminées par la formation centrifuge des parois intersporales.

1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre et al. (2002a)

Chez ces espèces, deux types de microsporogénèse interviennent. Lorsque la cytotcinèse est simultanée, les mêmes résultats que ceux présentés dans la section A de ce chapitre sont attendus. Lorsque la cytotcinèse est successive, les tétrades formées sont théoriquement de forme tétraogonale ou associées et ici, l'arrangement des ouvertures prédit est le même que pour les tétrades tétraogonales issues d'une cytotcinèse simultanée. Par conséquent, on devrait pouvoir observer du pollen monosulqué (tétrades tétraogonales et rhomboïdales) mais aussi du pollen tétrachotomosulqué (tétrades rhomboïdales) et trichotomosulqué (tétrades tétraédriques) (Figure 85).

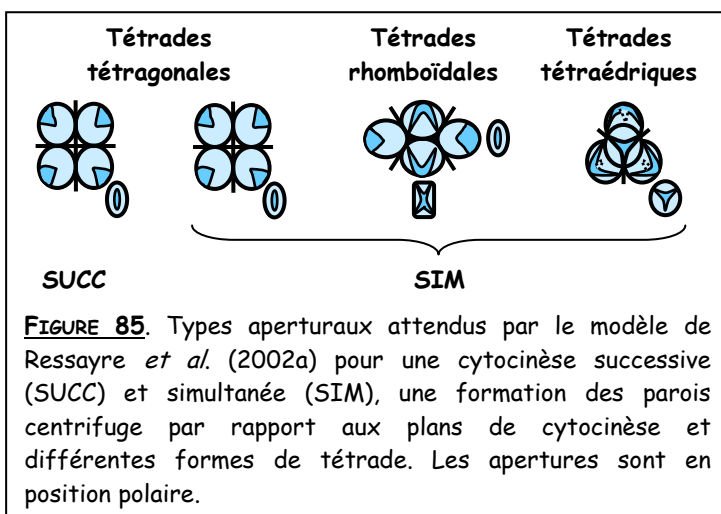
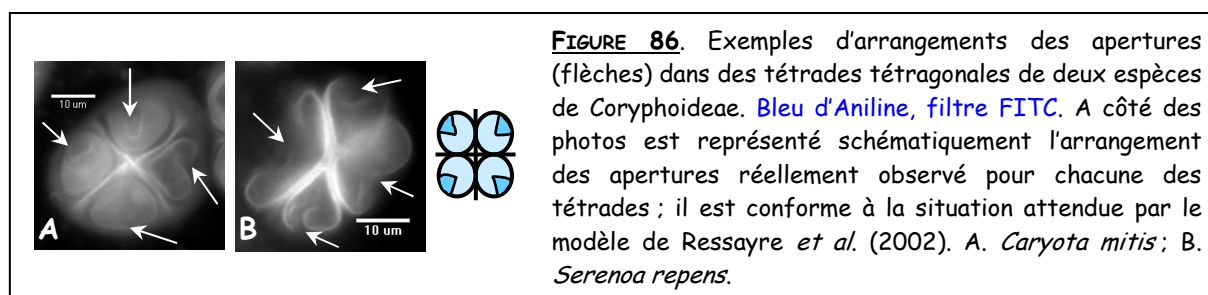


FIGURE 85. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre et al. (2002a) pour une cytotcinèse successive (SUCC) et simultanée (SIM), une formation des parois centrifuge par rapport aux plans de cytotcinèse et différentes formes de tétrade. Les ouvertures sont en position polaire.

2. Types aperturaux réellement observés

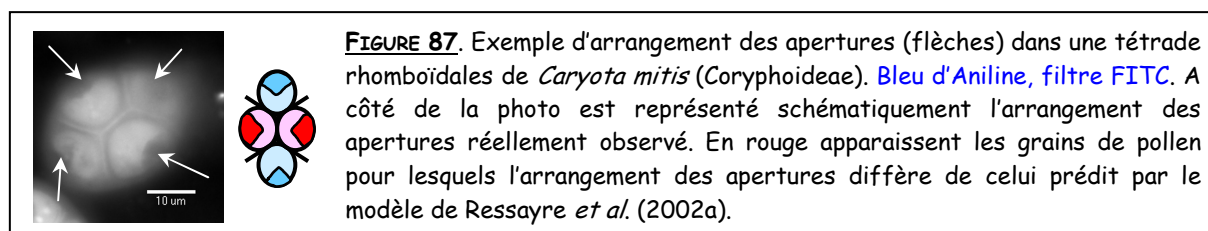
a. Tétrades tétraogales

Seules deux tétrades tétraogales ont pu être observées chez les espèces présentant cette microsporogénèse : une chez *Caryota mitis* et l'autre chez *Serenoa repens*. Conformément à ce que l'on pouvait attendre, les arrangements des apertures dans ces deux tétrades sont similaires à ceux que l'on avait observés dans la section A et sont donc conformes à la situation prédite par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) (Figure 86). Pour *Caryota mitis* comme pour *Hyophorbe lagenicaulis*, la présence de dépôts additionnels de callose ne modifie pas les derniers points de dépôt de la callose définis par la formation centrifuge des parois ou bien n'intervient pas dans la détermination du type apertural.



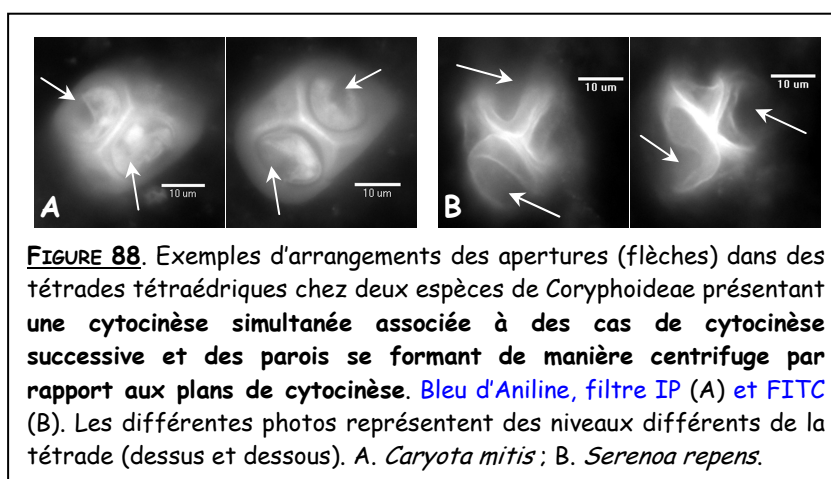
b. Tétrades rhomboïdales

Une seule tétrade rhomboïdale présentant des apertures a pu être observée. Elle appartient à *Caryota mitis* (Figure 87). L'arrangement des apertures dans cette tétrade est similaire à ce qui avait été observé chez *Gaussia attenuata* où la cytokinèse simultanée était également associée à une formation centrifuge des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse (Figure 73A). Dans ces deux cas, l'arrangement des apertures n'est pas tout à fait conforme à la situation attendue par le modèle. Les explications fournies pour interpréter cette différence chez *Gaussia attenuata* sont également valables chez *Caryota mitis* malgré la présence de dépôts additionnels de callose. Comme pour les tétrades tétraogales, il semblerait qu'ici, ces dépôts ne modifient pas les derniers points de dépôt de la callose définis par la formation centrifuge des parois ou n'interviennent pas dans la détermination du type apertural.



c. Tétrades tétraédriques

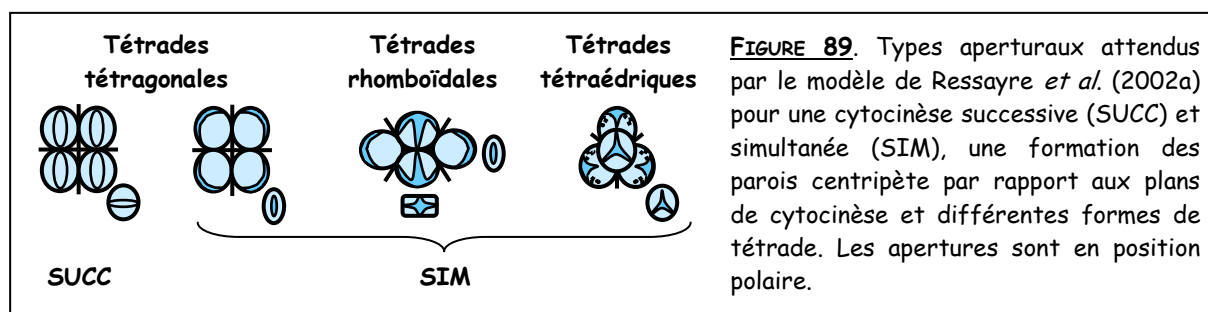
Comme toutes les espèces suivant une cytokinèse uniquement simultanée, les quelques tétrades tétraédriques présentant des apertures observées ici produisent du pollen monosulqué (Figure 88). Aucun pollen trichotomosulqué n'a été observé chez ces espèces et toutes les tétrades tétraédriques sont irrégulières (Figure 88). Par conséquent, ici aussi, la configuration irrégulière des tétrades tétraédriques pourrait être responsable de la production de pollens monosulqués plutôt que de pollens trichotomosulqués. Les tétrades montrent une très grande variation des arrangements aperturaux chez les deux espèces observées.

E. Cytokinèse simultanée et successive + formation centripète des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse

Ce type de microsporogénèse se rencontre uniquement chez *Hyphaene coriacea*, une espèce appartenant aux Coryphoideae qui présente des dépôts additionnels de callose.

1. Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre et al. (2002a)

Comme dans le cas précédent, lorsque la cytokinèse est simultanée, on s'attend à obtenir des résultats similaires à ceux observés chez les espèces présentant une cytokinèse uniquement de ce type associée à une formation centripète des parois intersporales par rapport aux plans de cytokinèse. En revanche, lorsque la cytokinèse est successive, le modèle prédit que l'on devrait obtenir des tétrades tétraédriques produisant du pollen zonosulqué. Au final, chez *Hyphaene coriacea*, la présence de pollens zonosulqués (tétrades tétraédriques), monosulqués (tétrades tétraédriques et rhomboïdales), tétrachotomosulqué (tétrades rhomboïdales) et trichotomosulqués (tétrades tétraédriques) devrait pouvoir être notée.

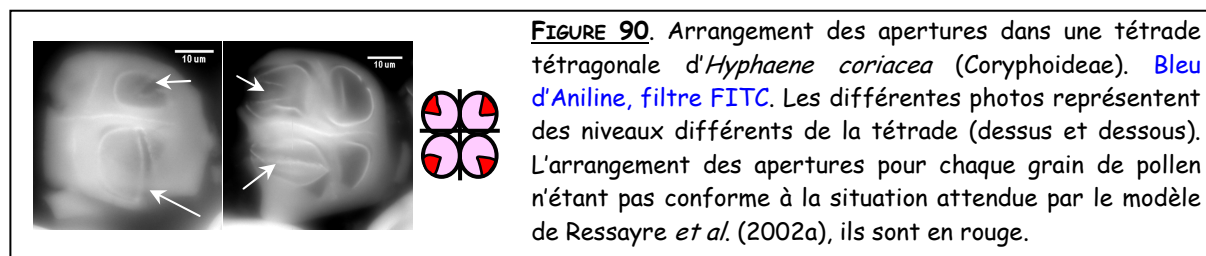


2. Types aperturaux réellement observés

Aucune tétrade rhomboïdale présentant des apertures n'a pu être décrite chez cette espèce.

a. Tétrades tétraogonales

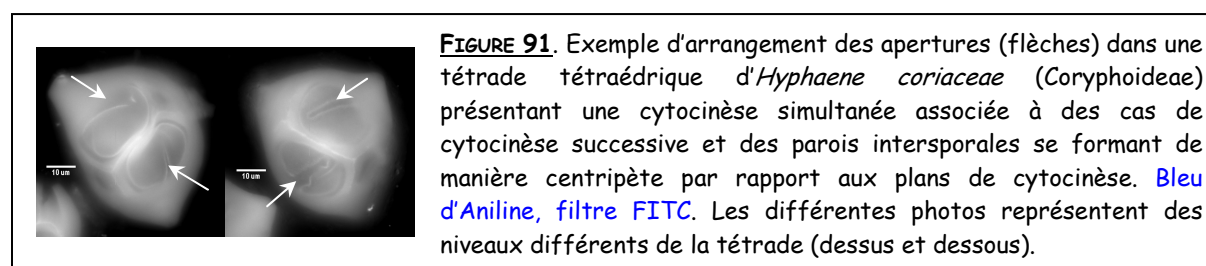
Une unique tétrade tétraogonale présentant des apertures a pu être observée chez *Hyphaene coriacea* et l'arrangement des apertures est similaire à celui observé dans les tétrades tétraogonales de *Sabal maritima* et *Chamaedorea microspadix* (Figure 90 et 78). On peut donc imaginer que cette tétrade est issue d'une cytokinèse simultanée et non pas successive. C'est d'ailleurs plus probable puisque les cas de cytokinèse successive sont beaucoup moins nombreux que les cas de cytokinèse simultanée (Sannier *et al.* 2006).



L'arrangement des apertures observé ici n'est donc pas conforme à la situation attendue par le modèle et les mêmes explications à cette différence que celles suggérées dans la section B de ce chapitre sont sans doute valables ici.

b. Tétrades tétraédriques

Chez *Hyphaene coriacea*, aucun pollen trichotomosulqué n'a pu être observé : ils sont tous monosulqués. D'autre part, les tétrades présentant des apertures sont toutes irrégulières (Figure 91). La situation chez cette espèce me donne donc encore un indice en faveur de l'hypothèse selon laquelle

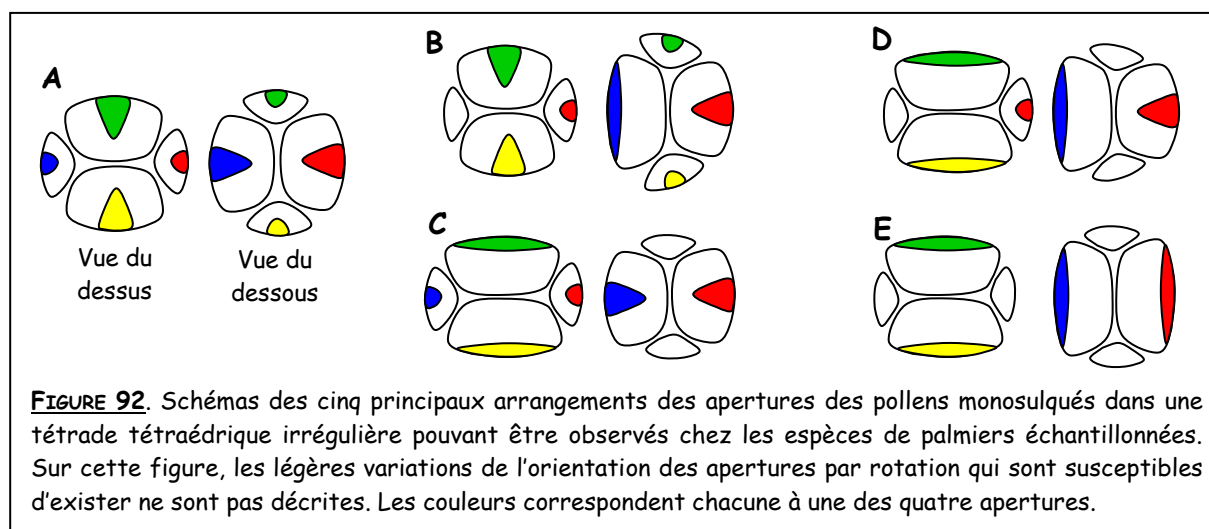


les pollens monosulqués seraient produit par des tétrades tétraédriques irrégulières tandis que les pollens trichotomosulqués seraient produit par des tétrades régulières. Là encore, une grande variation dans l'arrangement des apertures à la surface des grains de pollen a pu être notée.

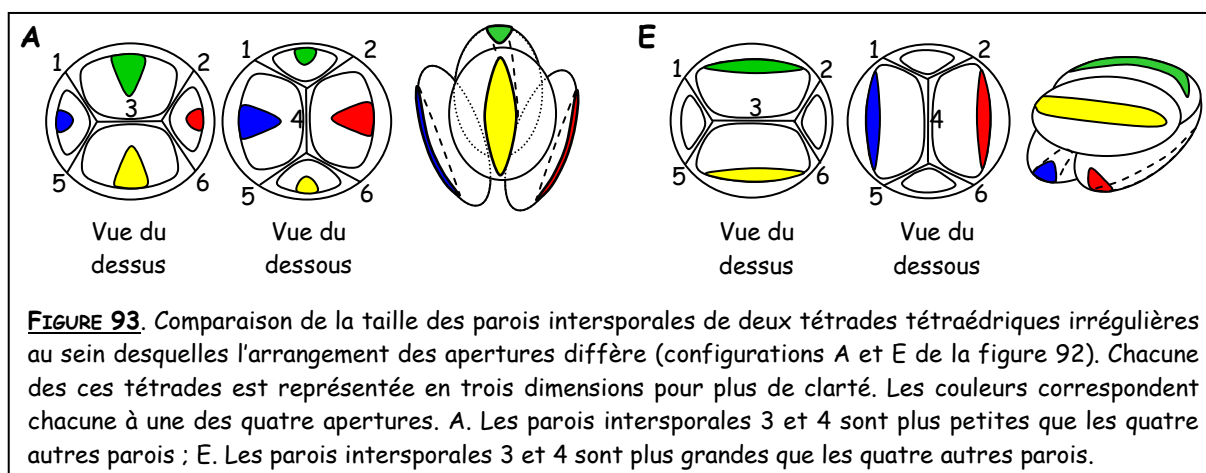
F. Discussion sur les types aperturaux des tétrades tétraédriques

Selon le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) les tétrades tétraédriques devraient produire du pollen trichotomosulqué, quelles que soient les variations dans la formation des parois intersporales. Seule la formation centripète des parois intersporales par rapport à la tétrade, c'est-à-dire la situation observée chez *Bismarckia nobilis* devrait fournir des pollens zonosulqués. Cependant, même si quelques grains de pollen trichotomosulqués ont pu être décrits chez *Chamaedorea macrospadix*, *Chamaedorea microspadix*, *Gaussia attenuata*, *Ptychosperma microcarpum* et *Ptychosperma sp.*, la majorité du pollen produit est toujours monosulqué quel que soit le mode de formation des parois. Nous avons vu que la raison pour laquelle du pollen monosulqué est observé majoritairement réside sans doute dans le fait que toutes les tétrades tétraédriques observées et présentant des apertures sont irrégulières. Par contre, la détermination précise du type apertural dans ce type de tétrade reste peu claire. En effet, j'ai observé beaucoup de variations des arrangements des apertures dans les tétrades tétraédriques au sein d'une même espèce et, résultat plus surprenant encore, des arrangements similaires d'apertures entre espèces différentes. Les tétrades tétraédriques sont irrégulières et chacune possède des parois intersporales de tailles inégales entre elles. D'autre part, plusieurs types de tétrades irrégulières présentant diverses tailles de parois ont été observées au sein d'une même espèce. De là, on peut faire l'hypothèse qu'à chaque configuration tétraédrique correspond un arrangement particulier des apertures et que l'on retrouve ces arrangements dans différentes espèces.

La figure 92 présente les cinq principaux arrangements d'apertures que l'on retrouve chez les espèces de palmier étudiées et qui diffèrent en raison des tailles relatives variables des différentes parois intersporales. La figure 93 représente pour plus de clarté, les catégories A et E avec les tailles



relatives des différentes parois intersporales. Dans le premier cas (Figure 93A), deux des parois sont plus petites que les quatre autres et dans le second cas (Figure 93E), ces deux parois sont plus grandes que les quatre autres.

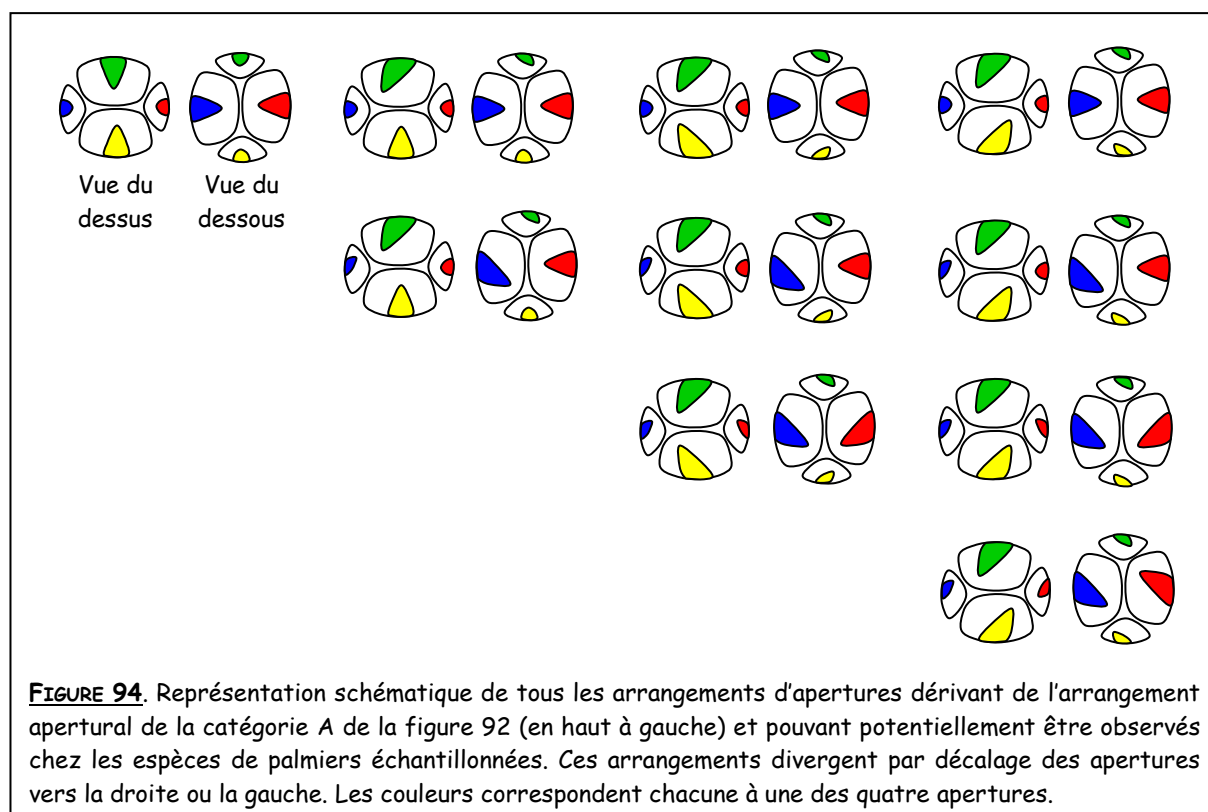


J'ai récapitulé dans le tableau 9 les figures des espèces étudiées sur lesquelles on peut observer les arrangements aperturaux indiqués dans la figure 92.

TABLEAU 9. Tableau indiquant les figures sur lesquelles on peut observer les arrangements aperturaux décrits dans la figure 92 (A-E). Elles sont données par espèce et par déroulement de la microsporogénèse. 1 : cytokinèse simultanée + formation centrifuge des parois ; 2 : cytokinèse simultanée + formation centripète des parois ; 3 : cytokinèse simultanée associée à des cas de cytokinèse successive + formation centrifuge des parois ; 4 : cytokinèse simultanée associée à des cas de cytokinèse successive + formation centripète des parois.

Microsporo- rogenèse	Espèces	Arrangements aperturaux				
		A	B	C	D	E
1	<i>Hyophorbe lagenicaulis</i>			76 A		
	<i>Gaussia attenuata</i>	76 B				
	<i>Dypsis decrayi</i>	76 C				
	<i>Veitchia spiralis</i>					76 E
	<i>Ptychosperma elegans</i>				76 F	
	<i>Ptychosperma microcarpum</i>			76 G		
	<i>Ptychosperma sp.</i>					76 H
2	<i>Sabal maritima</i>	82 A				
	<i>Trachycarpus fortunei</i>	82 B				
	<i>Copernicia hospita</i>		82 C			
	<i>Allagopetra arenaria</i>					82 D
	<i>Chamaedorea ernesti-augustii</i>		82 E			
	<i>Chamaedorea macrospadix</i>	82 F				
	<i>Chamaedorea microspadix</i>			82 G		
	<i>Chamaedorea plumosa</i>	82 H				
	<i>Chamaedorea radicalis</i>	82 I				
	<i>Chamaedorea seifrizii</i>	82 J				
	3	<i>Caryota mitis</i>		88 A		
<i>Serenoa repens</i>		88 B				
4	<i>Hyphaene coriacea</i>			91		

Dans chacune de ces catégories, de légères variations de la taille des parois peuvent entraîner des variations dans l'orientation des apertures. J'ai en effet souvent observé que les orientations des apertures différaient de celles présentées dans ces catégories par une légère rotation. La figure 94 présente quelques exemples de ces variations pour la catégorie A des figures 92 et 93.



Toutes ces observations m'ont amenées à imaginer tout un continuum de formes de tétrade en faisant varier la taille relative des parois intersporales et donc l'orientation des apertures au sein de ces tétrades (Figure 95). On peut même imaginer passer des tétrades tétraédriques aux tétrades rhomboïdales, décussées et tétraogonales. Si seule la gamme de ces formes intervenait dans la grande variation des arrangements d'apertures observés dans les tétrades tétraédriques, il pourrait être encore théoriquement réalisable de vérifier pour chacune d'entre elles si les apertures sont orientées vers les derniers points de dépôt de la callose. Cependant, pour une partie des espèces échantillonnées, des dépôts additionnels de callose viennent compliquer les observations, en particulier parce qu'ils sont irréguliers au sein d'une même espèce et parfois asymétriques au sein d'une même tétrade. Enfin, il se pourrait que souvent, les parois intersporales ne soient pas tout à fait planes (Ressayre, communication personnelle). Cette hypothèse pourrait entre autres expliquer les trois autres configurations particulières de la figure 92 (B, C et D) où les grains de pollen adoptent des configurations totalement asymétriques.

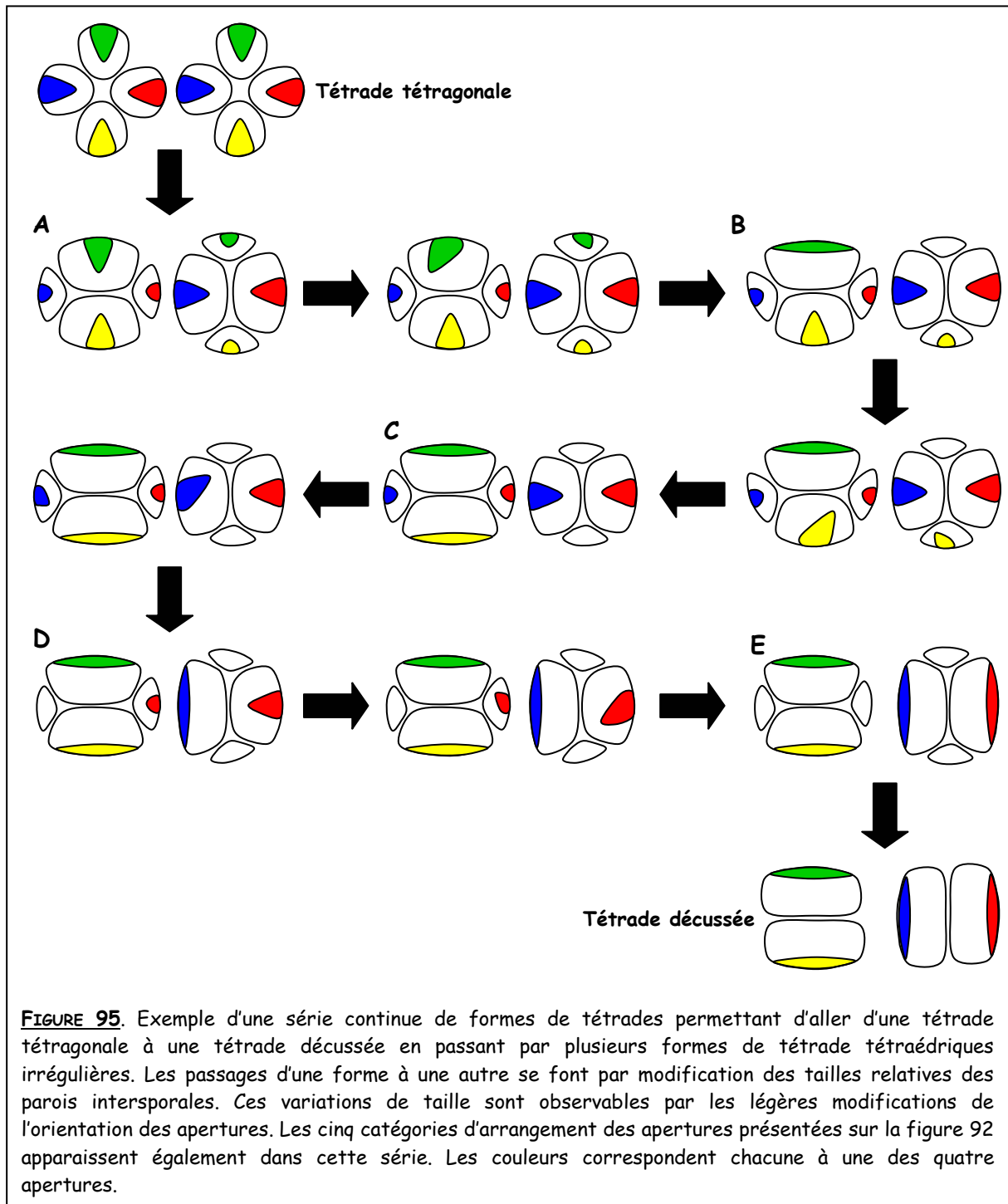


FIGURE 95. Exemple d'une série continue de formes de tétrades permettant d'aller d'une tétrade tétragonale à une tétrade décussée en passant par plusieurs formes de tétrade tétraédriques irrégulières. Les passages d'une forme à une autre se font par modification des tailles relatives des parois intersporales. Ces variations de taille sont observables par les légères modifications de l'orientation des apertures. Les cinq catégories d'arrangement des apertures présentées sur la figure 92 apparaissent également dans cette série. Les couleurs correspondent chacune à une des quatre apertures.

G. Conclusion

De manière générale, les types aperturaux observés au sein des espèces de palmier échantillonnées ne sont pas conformes aux types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a). J'ai tenté d'expliquer ces observations au cas par cas, en gardant toujours à l'esprit le rôle potentiel des derniers points de dépôt de la callose. Il s'est avéré que chez les palmiers, il est très difficile de déterminer exactement l'origine des arrangements des apertures observés. J'ai toutefois pu mettre en évidence l'importance des tailles relatives des différentes parois intersporales dans

l'orientation des apertures, non seulement chez les tétrades tétraédriques mais également chez les tétrades rhomboïdales.

Dans les tétrades téragonales, contrairement aux tétrades tétraédriques, aucune variation, qu'elle soit interspécifique ou intraspécifique, n'a pu être observée concernant l'arrangement des apertures. Dans tous les cas, les apertures étaient orientées dans la configuration prévue lorsque les parois se forment de manière centrifuge par rapport aux plans de cytotcinèse. Il faut toutefois considérer ces résultats avec prudence car très peu d'observations ont pu être effectuées, ce type de tétrade étant peu fréquent chez les espèces échantillonnées.

En conclusion, rien ne me permet de conclure quant au rôle joué ici par les derniers points de dépôt de la callose dans la détermination du type apertural. Il est vrai que pour les tétrades téragonales et rhomboïdales observées, il est possible d'expliquer les arrangements d'apertures en faisant intervenir ces points. Cependant, vu la faible quantité de matériel qui a pu être observée à ce stade et la variabilité des situations rencontrées pour un même déroulement de la microsporogénèse, il est difficile de conclure quoique ce soit. Il semblerait que la détermination du type apertural soit parfois déconnectée des composantes de la microsporogénèse que j'ai observé chez les palmiers, en particulier.

Chez les *Arecaceae*, la relation suggérée par *Ressayre et al.* (2002a) entre le type apertural et la microsporogénèse n'a pas pu être mise en évidence, en particulier en raison de l'existence de tétrades tétraédrique irrégulières et de dépôts additionnels de callose variables et asymétriques.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE

Cette conclusion sera divisée en trois parties replaçant à chaque fois les observations faites chez les palmiers dans un cadre plus général, celui des Angiospermes. Je traiterai de la diversité et de l'évolution de la microsporogénèse chez les Angiospermes ainsi que de la relation susceptible d'exister entre les composantes de la microsporogénèse et la détermination du type apertural. Dans chacune de ces parties, je mettrai l'accent sur la contribution de mon étude des palmiers aux travaux déjà réalisés. Je m'appuierai également sur l'article suivant disponible à la fin de ce manuscrit, p.197 :

- **Links between early pollen development and aperture pattern in monocots.** 2006.

Nadot S., Forchioni A., Penet L., Sannier J. and Ressayre A. *Protoplasma* 228 : 55-64.

A. Diversité de la microsporogénèse chez les Angiospermes

Le seul caractère de la microsporogénèse pour lequel je dispose d'un jeu de données conséquent à l'échelle des Angiospermes est le type de cytocinèse. En effet, ce caractère a été largement étudié dans un grand nombre de taxons, en particulier chez les Monocotylédones (Rudall *et al.* 1997, Caddick *et al.* 1998, Furness & Rudall 1999a, 2000a, Penet *et al.* 2005, Nadot *et al.* 2006), les Magnoliidées (Hotchkiss 1958, Periasamy & Swamy 1959, Hayashi 1960, Sampson 1963, 1969, 1970, 1975, Prakash *et al.* 1984, Prakash *et al.* 1992, Guzzo *et al.* 1994, Heo & Tobe 1995, Heo *et al.* 1998, González *et al.* 2001, Furness *et al.* 2002, Tsou & Fu 2002) et les autres Angiospermes basales (Tobe *et al.* 2000, Furness *et al.* 2002). L'ensemble de ces travaux permet d'affirmer que la cytocinèse successive est majoritaire chez les Monocotylédones tandis que chez les Eudicotylédones centrales et les Magnoliidées, la cytocinèse simultanée est plus répandue (Furness *et al.* 2002). Chez les Angiospermes basales, la cytocinèse est très labile : on trouve des familles présentant une cytocinèse simultanée (Nymphaeaceae, Austrobaileyaceae, Schisandraceae, Chloranthaceae), d'autres une cytocinèse successive (Amborellaceae, Trimeniaceae) et quelques-unes chez lesquelles les deux types de cytocinèse ont été décrits (Cabombaceae, Ceratophyllaceae). Précisons que chez certaines familles de Magnoliidées et de Monocotylédones, des cas de cytocinèse intermédiaire ont été observés (Furness & Rudall 1999a, Furness *et al.* 2002). A l'échelle des Angiospermes, il n'existe en fait que très peu de familles chez lesquelles on observe une diversité de la cytocinèse comparable à celle que nous avons décrite chez les Arecaceae. En particulier, nous avons vu que certaines espèces de palmiers présentent une cytocinèse simultanée associée à des cas de cytocinèse successive. L'observation de la co-occurrence de ces deux types de cytocinèse au sein d'une même anthère n'a été référencée qu'une seule fois, chez *Doryanthes* (Doryanthaceae, Asparagales) (Rudall *et al.* 1997). En revanche, il arrive souvent que des tétrades soient identifiées comme tétraédriques alors que la cytocinèse est décrite comme successive (Prakash *et al.* 1984, Heo & Tobe 1995, Heo *et al.* 1998, Tobe *et al.* 2000, Furness

et al. 2002). Théoriquement, cette situation n'est pas possible puisqu'une cytokinèse de ce type ne peut produire que des tétrades tétraogales ou associées. L'existence de telles contradictions dans la littérature au sujet du type de cytokinèse pourrait indiquer que le genre de situation rencontré chez quelques espèces de palmiers (c'est-à-dire la co-occurrence des cytokinèses simultanée et successive au sein d'une même espèce) est beaucoup plus répandu chez les Angiospermes que ce que l'on croit actuellement. En conséquence, les résultats trouvés chez les palmiers montrent que **seule l'observation détaillée de la microsporogénèse permet de conclure de façon non ambiguë quant au type de cytokinèse présenté.**

Concernant les autres composantes de la microsporogénèse, les données disponibles sont beaucoup moins nombreuses et dispersées dans la littérature. Je vais rapidement résumer ce que l'on sait sur leur diversité au sein des Angiospermes :

- Le sens de formation des parois intersporales. Chez les Eudicotylédones centrales, il est principalement centripète alors que chez les Monocotylédones, il est plutôt centrifuge (Dover 1972, Harley & Baker 1998, Ressayre *et al.* 2002a, Harley 2004). Il a été montré que chez les Asparagales, les deux sens de formation des parois intersporales peuvent être rencontrés, parfois au sein d'une même famille (Nadot *et al.* 2004, Penet *et al.* 2005). En l'absence de données supplémentaires, il est difficile de savoir si la diversité observée pour ce caractère chez les palmiers est réellement exceptionnelle chez les Angiospermes.
- La forme des tétrades. C'est un caractère relativement aisé à observer et il y est souvent fait référence lorsque la microsporogénèse d'une espèce est décrite. Dans la plupart des cas et nous l'avons également montré chez les palmiers, plusieurs formes de tétrades sont observées au sein d'une même espèce, c'est donc un caractère très labile (Nadot *et al.* 2006). La seule chose qu'on puisse dire à l'échelle des Angiospermes, c'est que puisque la cytokinèse successive est majoritaire chez les Monocotylédones, il doit en être de même pour les tétrades tétraogales et associées dans ce groupe. En effet, nous avons vu que théoriquement ces deux états de caractère sont très liés. J'ajouterai également que la variation observée dans les formes de tétrades produites chez les palmiers dépasse celle que l'on observe habituellement dans les autres familles. Entre autres, la production de tétrades rhomboïdales est rarement décrite.
- La position des ouvertures dans la tétrade. Contrairement aux autres composantes de la microsporogénèse, ce caractère est très peu variable. En effet, les ouvertures sont généralement en position groupée chez les Eudicotylédones centrales et en position polaire chez le reste des Angiospermes. Cependant, il arrive que parfois chez les Monocotylédones, certaines espèces présentent des ouvertures groupées. Chez les palmiers c'est le cas par exemple de *Sclerosperma manii* et d'*Areca klinkangensis* (Arecoideae) ainsi que de tout un groupe que je n'ai pas pu observer au cours de cette étude, les Calameae (Calamoideae). En effet, chez les deux premières espèces les grains de

pollen présentent trois ouvertures et chez la plupart des Calameae, ils présentent deux ouvertures, signe certain d'une position groupée des ouvertures (Harley & Baker 2001, Harley & Dransfield 2003). Chez tous les autres Arecaceae, les ouvertures sont en position polaire.

Au vu de l'ensemble de ces observations, nous pouvons conclure que **la famille des Arecaceae constitue un groupe atypique en termes de diversité de la microsporogénèse**. En effet, toutes les composantes de la microsporogénèse montrent une grande variation au sein de ce groupe, que ce soit le type de cytocinèse, le sens de formation des parois, la forme des tétrades produites ou la position des ouvertures à la surface des grains de pollen. D'autre part, nous avons vu au Chapitre III que cette diversité concernait également la présence ou non de dépôts additionnels de callose et d'un anneau de callose. Or, la variation au moins du type de cytocinèse dans le reste des Monocotylédones et même à l'échelle des Angiospermes se situe en général à l'échelle de l'ordre avec une relative conservation au sein des familles.

B. Evolution de la microsporogénèse chez les Angiospermes

Grâce aux nombreux travaux réalisés sur l'observation de la cytocinèse, Furness et Rudall (1999b, 2000b, 2002) ont reconstruit l'évolution de ce caractère au sein des Angiospermes. Depuis, les relations phylogénétiques théoriques entre les différentes familles ont changé et j'ai donc réitéré leur travail en me basant sur la phylogénie des Angiospermes telle qu'elle est reconnue actuellement (Stevens 2001). J'ai abouti exactement aux mêmes conclusions : 1) la cytocinèse ancestrale aux Angiospermes est simultanée, 2) la cytocinèse ancestrale aux Monocotylédones est successive et 3) la cytocinèse ancestrales aux Magnoliidées est simultanée. Le premier de ces résultats était surprenant puisque selon l'opinion générale antérieure, c'était le type successif qui était considéré comme ancestral aux Angiospermes (Sampson 1969, 1970, Blackmore & Crane 1998, Tobe *et al.* 2000). Concernant l'état de caractère ancestral aux Commelinidées, groupe auquel appartiennent les Arecaceae, Furness et Rudall (2000b) n'ont pas émis d'hypothèse particulière. En effet, elles ont tenu compte d'une phylogénie de ce groupe qui, à l'époque, était peu résolue (APG 1998). Chez les palmiers, on avait déjà fait l'hypothèse que la cytocinèse pouvait être successive ou simultanée (Harley 1996, Harley 1999a) et chez les Poales il en était de même. Il était alors difficile de conclure quoi que ce soit sur l'état ancestral de ce caractère chez les Commelinidées. Aujourd'hui, les relations phylogénétiques entre les ordres de Commelinidées sont mieux résolues (Stevens 2001, APGII 2003) et selon la reconstruction que j'ai effectuée en accord avec ces relations, l'état inféré pour le dernier ancêtre commun aux Commelinidés serait une cytocinèse successive. Ceci en dépit du fait que pour le dernier ancêtre commun aux Arecaceae, les conclusions quant à l'inférence de l'état de caractère ancestral pour le type de cytocinèse à ce nœud étaient incertaines. En effet, le fait que l'on ne

connaisse pas avec certitude l'état de caractère ancestral de la cytotinèse chez les palmiers aurait pu entraîner une incertitude quant à la détermination de l'état de caractère ancestral aux Commelinidées. Ceci parce que bien que la phylogénie des Commelinidées se soit légèrement résolue au cours des dernières années, la position phylogénétique des Arecaceae au sein des Commelinidées n'est toujours pas claire et on ne sait pas s'ils se trouvent ou non à la base de ce groupe.

En conclusion, nous pouvons affirmer qu'à l'échelle des Angiospermes, il y a eu plusieurs fois au cours de l'évolution de la cytotinèse, **des transitions indépendantes d'un état de caractère simultané vers un état de caractère successif et réciproquement.**

Par manque de données au sein des Angiospermes, je ne traiterai pas indépendamment de l'évolution des autres composantes de la microsporogénèse. Je peux toutefois signaler qu'au vu de mes résultats chez les palmiers, les transitions d'un état de caractère à un autre pour toutes ces composantes sont possibles et ont eu lieu au moins une fois chez les Angiospermes, excepté pour l'orientation des apertures dans la tétrade. En effet, lorsque l'on observe l'évolution de l'orientation des apertures chez les Angiospermes, on peut se rendre compte que les quelques transitions constatées se sont toujours effectuées d'une position polaire vers une position groupée. Par conséquent, pour ce caractère, il semblerait qu'une fois l'orientation groupée acquise, il soit impossible ou difficile de retourner vers une orientation polaire. Il se pourrait donc qu'il existe **une contrainte de développement ou bien un effet de la sélection inconnu à ce jour sur ce caractère.**

Si l'on considère dorénavant l'évolution de la microsporogénèse chez les Angiospermes dans son ensemble, c'est-à-dire l'évolution conjuguée des différentes composantes de la microsporogénèse, voici les principales conclusions auxquelles on peut aboutir :

- Lorsque la cytotinèse est successive, seules des tétrades tétraogonales ou associées peuvent théoriquement être produites. Par conséquent, la présence de tétrades tétraédriques, rhomboïdales ou associées serait le signe indubitable d'une cytotinèse simultanée. En revanche, gardons à l'esprit que l'observation de tétrades tétraogonales n'induit pas forcément que la cytotinèse soit successive. Il existerait donc partiellement **une contrainte de développement du type de cytotinèse sur la forme de la tétrade.** Chez les palmiers, je n'ai pas pu effectuer d'analyses comparatives afin de vérifier l'existence d'une corrélation entre ces deux caractères qui pourrait confirmer cette hypothèse mais Penet (2005) l'a fait chez les Asparagales et il a effectivement mis en évidence une telle corrélation.
- A ma connaissance, lorsque la cytotinèse est successive, jamais aucune paroi n'a été décrite auparavant comme se formant de manière centripète. Je n'ai trouvé cette situation que chez une espèce de palmier, *Hyphaene coriacea* (Coryphoideae) mais en très faible proportion. Par contre, lorsque la cytotinèse est simultanée, les parois peuvent se former indifféremment dans un sens ou

dans l'autre (Nadot *et al.* 2004, Penet *et al.* 2005, Nadot *et al.* 2006). Il existerait donc là encore **une contrainte de développement partielle du type de cytokinèse sur le sens de formation des parois**. Chez les Asparagales, Penet (2005) a réalisé une analyse comparative et a mis en évidence l'existence d'une corrélation entre ces deux caractères qui confirme cette hypothèse.

Chez les Angiospermes, bien que la microsporogénèse puisse être très variable, il semblerait qu'il existe des contraintes de développement s'exerçant sur certaines composantes de la microsporogénèse. En particulier sur l'orientation des apertures, sur la forme des tétrades et sur le sens de formation des parois intersporales.

C. Relation entre microsporogénèse et type apertural

Nous avons vu que chez les palmiers, je n'ai pas pu démontrer de relation claire entre les composantes de la microsporogénèse que j'ai étudiée et la détermination du type apertural, contrairement à ce qui a été démontré dans d'autres familles d'Angiospermes (Ressayre 2001, Ressayre *et al.* 2002a, Penet *et al.* 2005). Cette absence de connexion apparente entre type apertural et microsporogénèse a déjà été suggérée dès 1935 par Wodehouse et confirmée par Blackmore et Crane (1998) pour les grains de pollen polyaperturés. Nous avons également émis cette hypothèse pour expliquer la situation observée chez *Alisma canaliculatum* (Asparagales) qui produit du pollen polyporé à partir d'une cytokinèse successive, de tétrades tétraogales et d'une formation centrifuge des parois intersporales (Nadot *et al.* 2006). Nous avons également suggéré que lorsque le pollen est inaperturé comme dans le genre *Strelitzia* (Zingiberales) qui présente le même type de microsporogénèse qu'*Alisma*, cette hypothèse soit également valable (Nadot *et al.* 2006). En revanche, en ce qui concerne les grains de pollen possédant une à trois apertures, jamais auparavant la relation entre le type apertural et les composantes de la microsporogénèse que j'ai étudiée n'avait été remise en question. Je ne peux toutefois pas conclure définitivement sur l'absence de cette relation chez les palmiers. En particulier, si cette relation n'a pas pu être mise en évidence, en revanche, Harley et Baker (2001) ont montré qu'il existait tout de même chez les palmiers une relation entre le type de cytokinèse et le nombre et la forme des apertures. Ils ont attribué à chacune des catégories polliniques qu'ils avaient identifiées (Chapitre III), un type de cytokinèse particulier. Ce genre de travail a également été réalisé chez les Asparagales (Rudall *et al.* 1997, Furness & Rudall 1999a, Furness *et al.* 2002) et les Dioscoreales (Caddick *et al.* 1998).

Sur la figure 96 sont représentés entre autres les différents types polliniques rencontrés chez les palmiers à partir de données de la littérature (Erdtman 1952, Sowunmi 1968, Thanikaimoni 1970, Sowunmi 1972, Ferguson *et al.* 1983, Ferguson *et al.* 1987, Mendis *et al.* 1987, Barfod 1988, Dransfield *et al.* 1990, Harley 1990, Harley & Morley 1995, Harley 1999a, 1999b, Harley & Baker

2001, Harley & Dransfield 2003). En fonction des associations faites par Harley et Baker (2001) entre ces types polliniques et le type de cytotinèse ainsi qu'en fonction des prédictions du modèle de Ressayre *et al.* (2002a), j'ai également reporté sur cette figure les transitions évolutives probables entre les états de caractère de certaines composantes de la microsporogénèse. Chez les Sclerospermeae et quelque part chez les Calameae et les Areceae, une transition des apertures polaires vers des apertures groupées s'est produite. La transition d'une cytotinèse successive vers une cytotinèse simultanée n'apparaît ici qu'une fois, avant la divergence des Coryphoideae par rapport à l'ensemble formé des Ceroxyloideae et des Arecoideae. Sans doute conjointement s'est produite une transition d'une production exclusive des tétrades tétraogonales (et associées) vers une production de différentes formes de tétrades comprenant des tétrades tétraédriques. La présence de ces dernières est attestée au moins chez toutes les tribus au sein desquelles on retrouve du pollen trichotomosulqué. Le type de cytotinèse, la forme des tétrades et l'orientation des apertures sont finalement les seules composantes de la microsporogénèse que l'on puisse relier avec une quasi certitude à une gamme restreinte de types polliniques.

Le travail effectué chez les palmiers a permis de souligner la prudence avec laquelle on doit considérer la relation entre la détermination du type apertural et certaines composantes de la microsporogénèse. En effet, chez ces derniers, cette relation reste encore à démontrer. En particulier, il reste à éclaircir la raison exacte de la présence ou de l'absence des dépôts additionnels de callose. Jouent-ils un rôle dans la détermination du type apertural chez les Arecaceae ?

Malgré la variation observée dans le déroulement de la microsporogénèse, le type de pollen produit chez les espèces étudiées est toujours monosulqué. Or, il est vraisemblable de penser que c'est le grain de pollen lui-même qui fait l'objet de pressions de sélection s'il en existe. On peut donc imaginer dans notre cadre qu'il existe une ou plusieurs contraintes, qu'elles soient de développement ou adaptative, en faveur de la production de grains de pollen monosulqués, quel que soit le déroulement de la microsporogénèse.

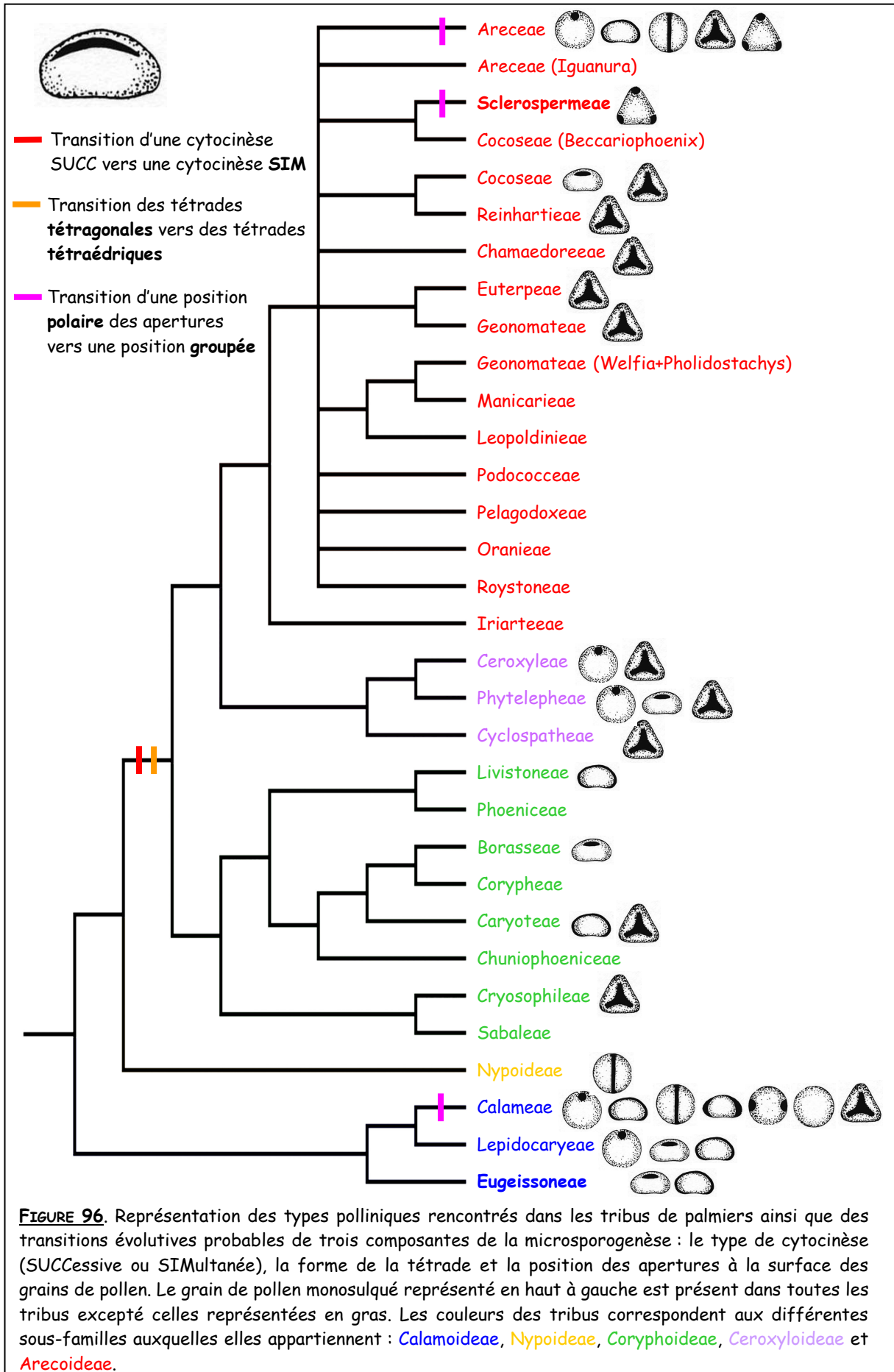


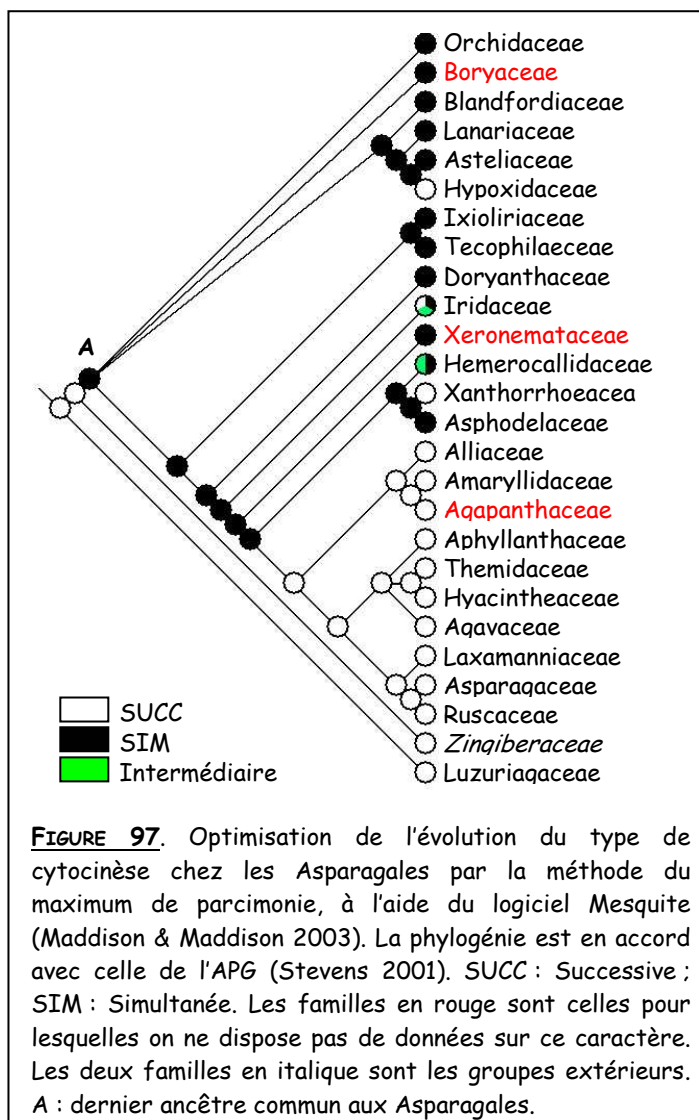
FIGURE 96. Représentation des types polliniques rencontrés dans les tribus de palmiers ainsi que des transitions évolutives probables de trois composantes de la microsporogenèse : le type de cytotinèse (SUCCessive ou SIMultanée), la forme de la tétrade et la position des ouvertures à la surface des grains de pollen. Le grain de pollen monosulqué représenté en haut à gauche est présent dans toutes les tribus excepté celles représentées en gras. Les couleurs des tribus correspondent aux différentes sous-familles auxquelles elles appartiennent : **Calamoideae**, **Nypoideae**, **Coryphoideae**, **Ceroxyloideae** et **Arecoideae**.

PERSPECTIVES

De nombreuses questions restent encore sans réponse :

1. Peut-on reconstruire avec plus de précision et d'efficacité l'évolution des différentes composantes de la microsporogénèse chez les *Arecaceae* ? En particulier, peut-on déterminer les états de caractères ancestraux aux nœuds les plus basaux de la phylogénie des *Arecaceae* ?
2. Existe-t-il chez les palmiers des corrélations entre les différentes composantes de la microsporogénèse ? En d'autres termes, existe-t-il comme chez les *Asparagales*, des contraintes de développement d'un des caractères de la microsporogénèse sur un autre de ces caractères ?
3. Existe-t-il toujours une relation entre la microsporogénèse et la détermination du type apertural chez les palmiers ou bien, comme semblent le suggérer mes résultats, le type apertural n'est-il pas toujours déterminé par les composantes de la microsporogénèse étudiées ici ?
4. Enfin, qu'en est-il du rôle joué par la sélection dans l'évolution de la microsporogénèse et du type apertural ?

Pour répondre à la première question, il serait nécessaire d'augmenter l'échantillonnage des espèces de palmiers. En effet, j'ai émis l'hypothèse que le peu d'espèces échantillonnées chez les *Arecaceae* pouvait expliquer les incertitudes observées au niveau de la résolution des états de caractère aux nœuds ancestraux de la phylogénie des palmiers. En effet, le choix des espèces ou des taxons représentatifs du groupe que l'on veut étudier joue un rôle fondamental dans la reconstruction des états de caractère ancestraux. Par exemple, chez les *Asparagales* (Monocotylédones), Rudall *et al* (1997) montrent que la cytotinèse ancestrale à cet ordre est simultanée tandis que Penet (2005) trouve une cytotinèse successive à ce nœud. Pourquoi cette



différence ? J'ai moi-même reconstruit l'évolution de la cytotinèse chez les Asparagales en reprenant les données obtenues par ces auteurs ainsi que celles décrites dans d'autres travaux (Brown & Lemmon 1996, Furness & Rudall 1999a) (Figure 97). Pour reconstruire cette évolution, j'ai utilisé la phylogénie moléculaire reconnue par l'Angiosperm Phylogeny Group (Stevens 2001) qui reconnaît 26 familles d'Asparagales. Pour 23 de ces familles, les données sur les types de cytotinèse rencontrés sont connues. En utilisant la méthode du maximum de parcimonie, on trouve que la cytotinèse ancestrale aux Asparagales est simultanée. En fait, il est probable que la conclusion de Penet (2005) soit en grande partie due au fait que la famille des Hypoxidaceae qu'il a utilisée et qui se situe vers la base de la phylogénie, présente une cytotinèse successive contrairement à l'ensemble des familles dont elle est le groupe frère (les Blandfordiaceae, les Lanariaceae et les Asteliaceae). Par conséquent ici, le choix de la famille que l'on utilise peut complètement modifier les résultats quant à l'inférence de l'état de caractère ancestral aux Asparagales et la meilleure solution reste un échantillonnage le plus exhaustif possible. C'est pour cette raison, qu'il est nécessaire d'améliorer l'échantillonnage chez les palmiers, ne serait-ce que pour se rapprocher le plus possible des résultats les plus probables. Cependant, il n'est pas certain pour autant qu'augmenter l'échantillonnage améliore ici la résolution des états de caractère ancestraux.

En revanche, augmenter l'échantillonnage permettrait sûrement de répondre à la deuxième question. Cela améliorerait sans doute également notre compréhension des relations pouvant exister entre le type apertural et la microsporogénèse et nous permettrait donc peut-être de répondre à la troisième question.

L'aspect de la sélection n'a pas du tout été abordé dans ce travail et reste donc complètement à explorer. Il pourrait être intéressant de mesurer les valeurs sélectives des différents types polliniques produit et de chercher peut-être des corrélations entre ces types polliniques et des environnements ou des modes de pollinisation particuliers. Ainsi par exemple, l'hétéromorphisme pollinique est-il toujours neutre ou peut-il être sélectionné dans certaines circonstances, comme cela a été évoqué chez *Viola diversifolia* (Dajoz *et al.* 1991) et *V. altitudina* (Till-Bottraud *et al.* 1999) ?

Article 3

**Links between early pollen development and aperture pattern in
monocots**

S. Nadot, A. Forchioni, L. Penet, J. Sannier, and A. Ressayre

Protoplasma (2006) 228 : 55-64

Links between early pollen development and aperture pattern in monocots

S. Nadot^{1,*}, A. Forchioni¹, L. Penet¹, J. Sannier¹, and A. Ressayre²

¹ Laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution, Unité Mixte de Recherche 8079 du Centre National de la Recherche Scientifique, Université Paris XI, Orsay

² Station de Génétique Végétale du Moulon, Unité Mixte de Recherche 8120 du Centre National de la Recherche Scientifique, Gif sur Yvette

Received March 22, 2005; accepted June 8, 2005; published online August 31, 2006
© Springer-Verlag 2006

Summary. Although the pollen grains produced in monocots are predominantly monosulcate (or monoporate), other aperture types are also found within this taxonomic group, such as the trichotomosulcate, inaperturate, zonaperturate, di-, or triaperturate types. The aperture pattern is determined during the young-tetrad stage of pollen development and it is known that some features of microsporogenesis can constrain the aperture type. For example, trichotomosulcate pollen is always associated with simultaneous cytokinesis, a condition considered as derived in the monocots. Our observations of the microsporogenesis pathway in a range of monocot species show that this pathway is surprisingly variable. Our results, however preliminary, reveal that variation in microsporogenesis concerns not only cytokinesis but also callose deposition among the microspores and shape of the tetrads. The role played by these features in aperture pattern determination is discussed.

Keywords: Microsporogenesis; Pollen; Cytokinesis; Aperture pattern; Callose deposition; Monocot.

Introduction

The early steps of pollen development consist of the formation of microspores, a process called microsporogenesis that involves the meiotic division of diploid microsporocytes into four haploid microspores enclosed within the callosic wall of the microsporocyte. After the release of the microspores starts the gametogenesis. It consists of the subsequent development of microspores into mature bicellular or tricellular pollen grains, which contain the male gametes of spermatophytes. The pollen grains of angiosperms are surrounded by a complex wall made of sporopollenin: the exine. In most species, pollen grains present apertures, i.e., areas where the exine layer is thin or lacking (Erdtman

1952). The apertures are often fully visible in the late-tetrad stage, indicating that the aperture pattern (aperture structure, number and distribution) is determined during the process of microsporogenesis. It is in fact the first aspect of pollen ornamentation to be established during pollen ontogeny (Blackmore and Barnes 1990). There is now increasing evidence that aperture pattern ontogeny is linked to meiosis (Blackmore and Crane 1998, Ressayre et al. 2002, Harley 2004). Detailed observations of microsporogenesis in species with different aperture patterns, either from the monocots or from the eudicots (Ressayre 2001; Ressayre et al. 2003, 2005), show that the apertures are defined according to the regions where cytokinesis is completed, as already suggested by Wodehouse (1935). Since cytokinesis involves the formation of callosic walls among the microspores (Longly and Waterkeyn 1979a), callose deposition during microsporogenesis is likely to play a key role in aperture pattern determination. Other factors that have been shown to play a crucial role in aperture pattern determination are the presence of endoplasmic-reticulum shields under the plasma membrane in the regions where the apertures are formed (Heslop-Harrison 1963) and the organisation of microtubules (Sheldon and Dickinson 1983, 1986). There is a variety of aperture types in monocots. The monosulcate type (a single distal polar aperture, sometimes reduced to a pore) occurs in most families of the monocots but some families, such as the Araceae (Grayum 1992), Iridaceae (Goldblatt et al. 1998), or Arecaceae (Harley and Baker 2001), display variation in the aperture pattern. Variation concerns different aspects of the aperture pattern: shape (sulci or pores), number (one to several), or position (polar or equatorial). Variation occurs generally among genera, sometimes among species of the same genus (Goldblatt and

* Correspondence and reprints: Laboratoire Ecologie, Systématique et Evolution, Université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex, France.
E-mail: sophie.nadot@ese.u-psud.fr

Le Thomas 1993), but there are many records of intraindividual variation (Harley and Baker 2001, Harley 2004), a phenomenon called heteromorphism (Till-Bottraud et al. 1995). Some species produce inaperturate pollen in which the exine layer is either continuous or entirely lacking (Furness and Rudall 1999a, 2000). Data concerning the cellular process of microsporogenesis in monocots are focused essentially on the type of cytokinesis and indicate that some aperture types, such as the trichotomosulcate or triaperturate types, occur only when cytokinesis is simultaneous (Furness and Rudall 1999b, Harley 2004). The widespread monosulcate pollen is commonly associated with successive cytokinesis but also occurs with simultaneous cytokinesis, in which case it is sometimes found together with trichotomosulcate pollen (Rudall et al. 1997, Harley 1999a).

We have undertaken a comprehensive study of microsporogenesis in monocots, with a special focus on cell wall formation during cytokinesis, in order to identify the main features of microsporogenesis in this taxonomic group. In the long run, this study will help us to improve our understanding of aperture pattern determination in monocots and identify the key steps involved in the evolution of this character. In this paper we present observations from selected species belonging to different clades of the monocots. Although the number of species exam-

ined was limited, our results reveal that variation concerns different features of microsporogenesis, such as the type of cytokinesis, intersporal callosic wall formation, and shape of the tetrads. We discuss the role played by these features in aperture pattern determination.

This work was presented as an oral communication at the 11th International Palynological Congress, Granada, Spain, 4–9 July 2004.

Material and methods

Microsporogenesis was examined in plant material belonging to fourteen species, representing six orders of the monocots, namely, Alismatales, Arecales, Asparagales, Commelinales, Dioscoreales, and Zingiberales. Fresh floral buds, potentially at different stages of microsporogenesis, were collected from plants grown in botanical gardens or found in the wild (Table 1). Floral buds were immediately dissected to extract the anthers. One anther per bud was squashed to extract the sporogenous cells and mounted in aceto-carmine to identify the meiotic stage of the bud. When meiosis was in progress, the remaining anthers were squashed in aniline blue (modified from Arens [1949] by the addition of 15% glycerol), which allowed us to observe callosic wall formation by epifluorescence. When the mature-tetrad stage was observed, half of the remaining anthers were squashed in congo red (Stainier et al. 1967) to visualise the position of apertures within the tetrad. The remaining half was mounted in aniline blue to observe intersporal walls just before the release of pollen grains. In some species it was possible to visualise the apertures with aniline blue staining under epifluorescence. Mature pollen was mounted in congo red. In the case of the species *Dioscorea communis*, the floral

Table 1. Species examined in this study

Order and family ^a	Species	Voucher	Origin ^b
Alismatales			
Alismataceae	<i>Alisma canaliculatum</i> A. Braun & Bouché	1983-101	Kew
Araceae	<i>Anthurium hookeri</i> Kunth	4025	MNHN
Dioscoreales			
Dioscoreaceae	<i>Dioscorea communis</i> (L.) Caddick & Wilkin	no voucher	Orsay
Asparagales			
Agavaceae	<i>Beschorneria yuccoides</i>		MNHN
Hemerocallidaceae	<i>Dianella tasmanica</i> Hook. f.	1996-610	Kew
Iridaceae	<i>Dietes grandiflora</i> N.E.Br		Kirstenbosch
	<i>Sisyrinchium striatum</i> Sm.	no voucher	Orsay
Commelinales			
Commelinaceae	<i>Tradescantia × andersoniana</i> W. Ludw. & Rohw.	no voucher	Orsay
	<i>Commelina erecta</i> L.	no voucher	Orsay
Haemodoraceae	<i>Wachendorfia paniculata</i> L.	no voucher	Cape Region
Zingiberales			
Strelitziaceae	<i>Strelitzia juncea</i> Link	no voucher	Cape Region
	<i>S. reginae</i> Aiton	no voucher	Cape Region
Arecales			
Arecaceae	<i>Chamaedorea microspadix</i> Burret	913448	JBVP
	<i>Gaussia attenuata</i> (O. F. Cook) Becc.	569-6656902	Kew

^a Orders and families are according to Angiosperm Phylogeny Group (2003)

^b Kirstenbosch, Kirstenbosch National Botanical Garden (Cape Town, South Africa); MNHN, Musée National d'Histoire Naturelle (Paris, France); JBVP, Jardin Botanique de la Ville de Paris (Paris, France); Orsay, Parc Botanique de Launay (Orsay, France); Stellenbosch, Stellenbosch Botanical Garden (South Africa); Kew, Royal Botanic Gardens Kew (U.K.)

buds were squashed directly in the different stains without being dissected, because of their small size. Aceto-carmin and congo red preparations were observed in transmission light with a Zeiss Axiophot microscope. The epifluorescence Zeiss Axiophot microscope was used with filter set 01 (excitation wavelength, 345 nm; emission wavelength, 425 nm long pass) for aniline blue staining.

Results

Alisma, *Anthurium*, *Beschorneria*, *Commelina*, *Strelitzia*, *Tradescantia*, and *Wachendorfia* species

Eight of the fourteen species examined here presented a developmental sequence of microsporogenesis involving successive cytokinesis (Fig. 1a) and intersporal wall formation achieved by centrifugal cell plates (Fig. 1b, c). In *Anthurium hookeri*, the second meiosis divisions were not exactly synchronous: Fig. 1a shows a dyad in which one cell is at the anaphase II stage while the other cell is at the metaphase II stage. Tetragonal and decussate tetrads (Fig. 1d–f) were observed in all eight species. A few T-shaped tetrads were recorded in *Beschorneria yuccoides* (Fig. 1g). A large variety of shapes were recorded in both *Strelitzia* species such as T-shaped, linear, or Z-shaped (Fig. 1h) in addition to tetragonal and decussate shapes. *Commelina erecta*, *Tradescantia* × *andersoniana*, and *Wachendorfia paniculata* produced monosulcate pollen grains (Fig. 1i, j); *Alisma canaliculatum* and *Anthurium hookeri* produced polyporate pollen (Fig. 1k); whereas the pollen of *Strelitzia juncea* and *S. reginae* was inaperturate (Fig. 1l).

Dianella tasmanica

In *Dianella tasmanica*, cytokinesis was achieved in two different ways. One way involved the formation of three cell plates (Fig. 2a) and resulted in tetragonal or decussate tetrads (Fig. 2b, c). The other way involved the simultaneous formation of six cell plates (Fig. 2d) and resulted in the formation of tetrahedral tetrads (Fig. 2e, f). The pollen grains produced by this species were trichotomosulcate (Fig. 2g), occasionally monosulcate (Fig. 2h) or asymmetric trichotomosulcate (Fig. 2i).

Gaussia attenuata

Cytokinesis in *Gaussia attenuata* was achieved by the simultaneous formation of four to six centrifugal cell plates (Fig. 3a, b) which are covered by extra callose after completion of cytokinesis. The tetrads were tetragonal (Fig. 3c), rhomboidal (not shown), symmetric tetrahedral (Fig. 3d), or asymmetric tetrahedral (Fig. 3e). The pollen

grains were predominantly monosulcate (Fig. 3e), mixed with trichotomosulcate pollen grains (Fig. 3f).

Chamaedorea, *Dioscorea*, and *Sisyrinchium* species

In all three species, cytokinesis was simultaneous and achieved by cell plates growing centripetally from the edges of each of the cleavage planes (Fig. 4a–c). The resulting tetrads ranged from tetragonal to symmetric or asymmetric tetrahedral (Fig. 4d–f), with occasional rhomboidal tetrads in *Chamaedorea microspadix* (Fig. 4g). Pollen grains in *Chamaedorea microspadix* and *Sisyrinchium striatum* were monosulcate, occasionally trichotomosulcate (Fig. 4h, i). The pollen of *Dioscorea communis* was disulcate (Fig. 4j), i.e., with two apertures in equatorial position.

Dietes grandiflora

In *Dietes grandiflora*, intersporal wall formation was achieved by the simultaneous formation of four to six callosic walls starting from the edges of the tetrad and progressing centripetally toward the centre of the tetrad (Fig. 4k, l). The tetrads were tetragonal, rhomboidal, or tetrahedral (not shown) and the pollen grains were zonalsulcate, with a ringlike sulcus running through both poles (Fig. 4m).

Discussion

Microsporogenesis with successive cytokinesis

A widespread developmental sequence observed in monocots involves successive cytokinesis and intersporal wall formation achieved by centrifugal cell plates. Such features are found in species belonging to different orders of monocots as shown by the data presented here (Table 2) or by previous works (Longly and Waterkeyn 1979b, Penet et al. 2005). The pollen associated with these features of microsporogenesis is generally boat-shaped and monosulcate, with the sulcus oriented along the longest axis of the pollen grain. In the tetrad, the sulcus of each microspore is oriented in such a way that both ends of the sulcus are located precisely where callose wall formation is completed (Fig. 1i), as predicted by a model of aperture pattern ontogeny (Ressayre et al. 2002). There are exceptions to this association, since species displaying successive cytokinesis and centrifugal cell wall formation were found to produce other pollen types, such as polyporate or inaperturate (Table 2). A low but variable number of pores were recorded in *Anthurium hookeri*, as already noted (Buchner

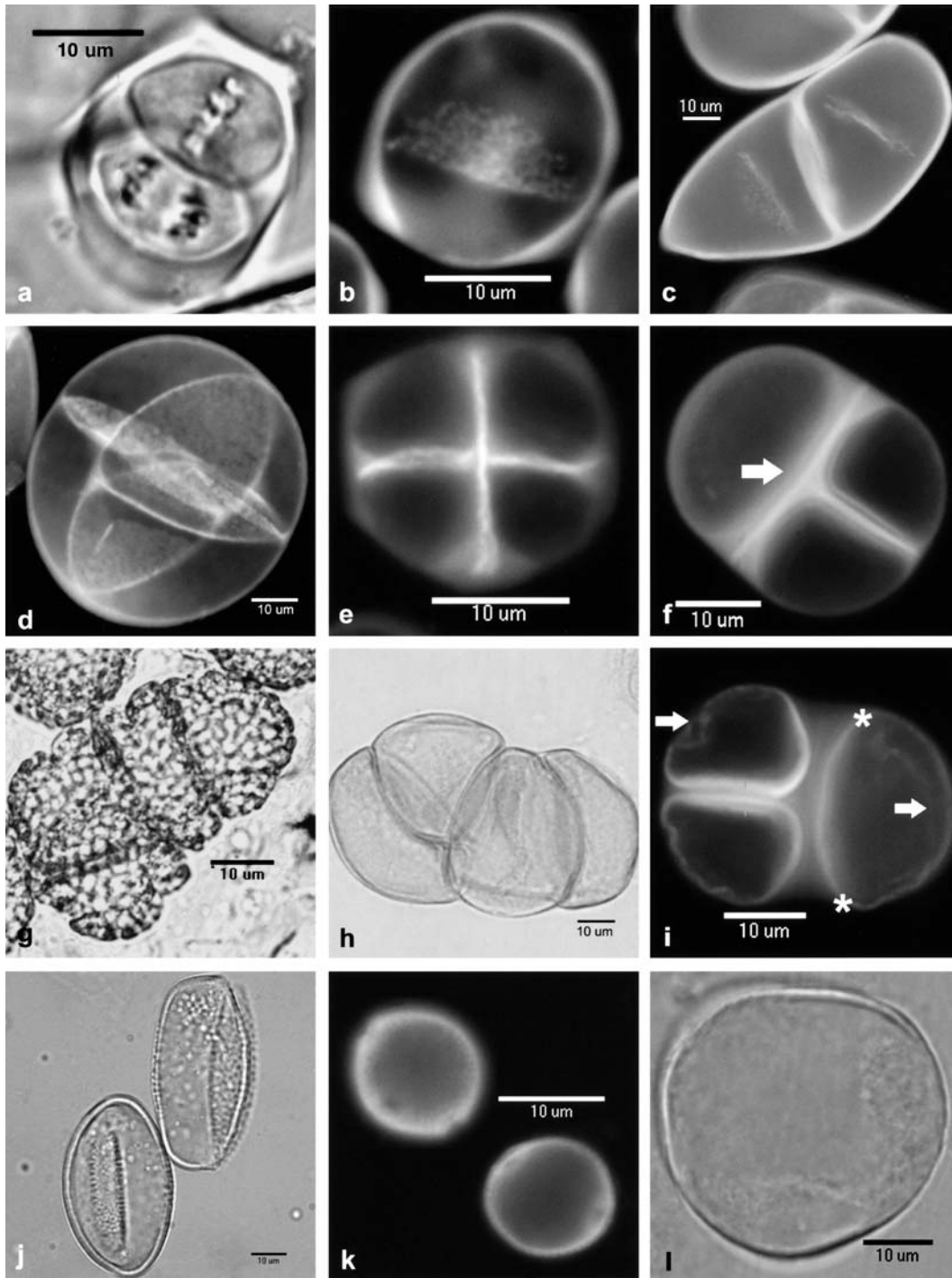


Fig. 1 a–l. Successive cytokinesis. AC, aceto-carmine; AB, aniline blue; CR, congo red. Bars: 10 μm. **a** and **b** *Anthurium hookeri*. **a** Dyad stage with second meiosis division in progress (AC). **b** Formation of the cell plate after meiosis I (AB). **c** Formation of the cell plates after meiosis II in *Strelitzia reginae* (AB). **d** Tetragonal tetrad in *Wachendorfia paniculata* with bare callosic cell plates (AB). **e** Tetragonal tetrad in *Anthurium hookeri* with cell plates covered by additional callose (AB). **f** Decussate tetrad in *Commelina erecta*, callose deposits are particularly important on the cell plate formed after meiosis I, shown by the arrow (AB). **g** T-shaped tetrad in *Beschorneria yuccoides* (CR). **h** Z-shaped tetrad in *Strelitzia reginae* (CR). **i** Decussate tetrad in *Commelina erecta* with apertures indicated by arrows and last points of callose deposition indicated by stars (AB). **j** Monosulcate pollen grains in *Wachendorfia paniculata* (CR). **k** Porate pollen grains in *Anthurium hookeri* (AB). **l** Inaperturate pollen in *Strelitzia reginae* (CR)

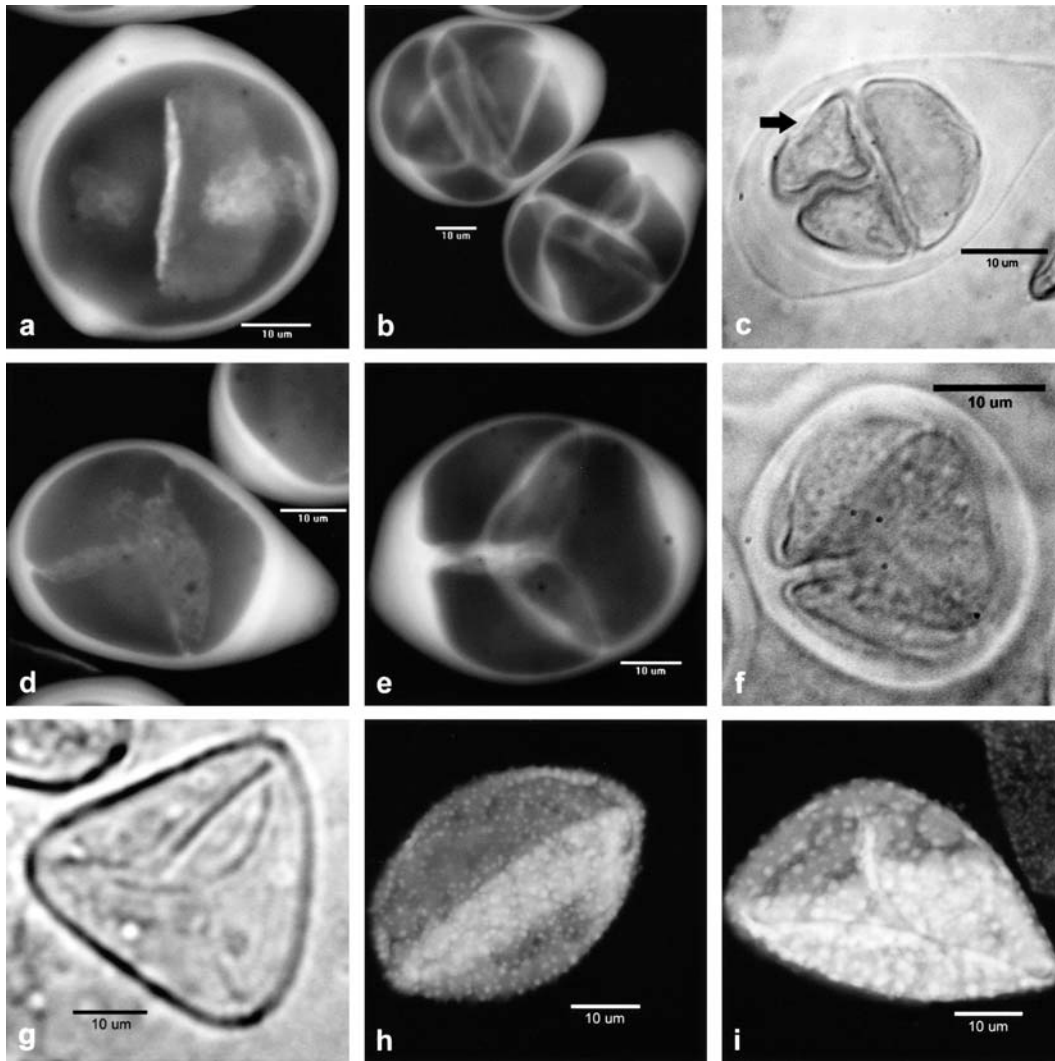


Fig. 2 a–i. Microsporogenesis in *Dianella tasmanica*. AB, aniline blue; CR, congo red. Bars: 10 µm. **a** Three unequal cell plates developing centrifugally (AB). **b** Tetrads with a shape intermediate between tetragonal and decussate (AB). **c** Mature tetrad with apertures visible on the microspores, indicated by arrow (CR). **d** Six cell plates developing centrifugally, joining in the centre of the tetrad (AB). **e** Tetrahedral tetrad with three intersporal walls visible (AB). **f** Tetrahedral tetrad (CR). **g** Symmetric trichotomosulcate pollen (CR). **h** Monosulcate pollen (AB). **i** Asymmetric trichotomosulcate pollen (AB)

and Weber 2000). In nearly all species with successive cytokinesis the tetrads were predominantly tetragonal or decussate, occasionally T-shaped, and additional callose was laid on the cell plates in most cases (Fig. 1f) except in *Wachendorfia paniculata*, in which the cell plates were left bare in mature tetrads. In both *Strelitzia* species, a large variety of tetrad shapes was observed. Many tetrads were of irregular shapes, called here Z-shaped suggesting that there are no constraints on the shape of the tetrad in these species which produce pollen grains with no apertures. Further investigation of species producing inaperturate pollen will be needed to test whether there is indeed a correlation between the production of inaperturate pollen grains and the release of constraint on tetrad shape. As for *Anthurium hookeri* (of

which the type of cytokinesis is described here for the first time) and *Alisma canaliculatum*, which produce polyporate pollen, our observations support the hypothesis of Wodehouse (1935), who suggested that for high aperture numbers the aperture pattern is disconnected from meiosis.

Microsporogenesis with intermediate cytokinesis

Cytokinesis in *Dianella tasmanica* involved the formation of centrifugal cell plates. This situation is found in all species of the Hemerocallidaceae and the Asphodelaceae for which intersporal wall formation has been described (Ressayre et al. 2005, Penet et al. 2005). These two closely related families are sister group to the higher Asparagales clade

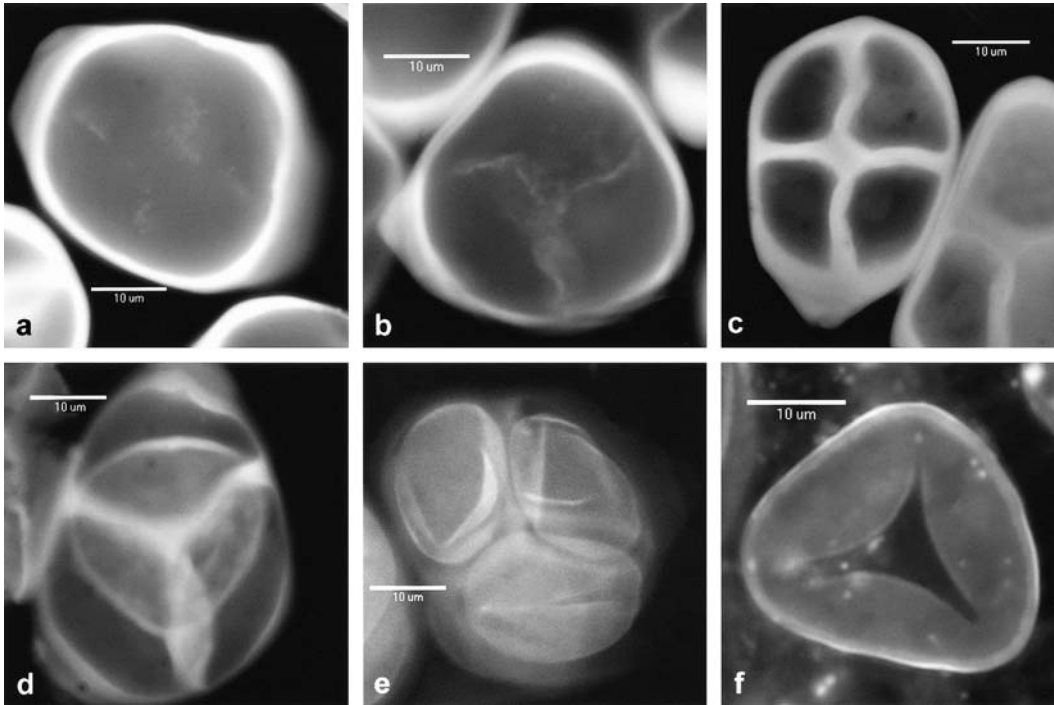


Fig. 3 a–f. Microsporogenesis in *Gaussia attenuata*. AB, aniline blue; CR, congo red. Bars: 10 µm. **a** Microsporocyte with four cell plates developing centrifugally (AB). **b** Microsporocyte with six cell plates developing centrifugally and joining in the centre of the microsporocyte (AB). **c** Tetragonal tetrad with extra callose laid on the cell plates (AB). **d** Tetrahedral tetrad with the six cell plates visible (AB). **e** Asymmetric tetrahedral tetrad of four monosulcate microspores (AB, fluorescein isothiocyanate filter). **f** Trichotomosulcate pollen grain (AB, fluorescein isothiocyanate filter)

(Chase et al. 2000) characterised by successive cytokinesis involving centrifugal cell plates. The literature is conflicting about the type of cytokinesis in *Dianella tasmanica*, described as simultaneous (Schnarf and Wunderlich 1939) or successive (Huynh 1971). Our observations reveal that cytokinesis in this species can be achieved by the formation of either 3 or 6 cell plates. When six cleavage planes were involved, all cell plates were formed simultaneously. When three cleavage planes were involved (like in successive cytokinesis), the cell plates formed were unequal, with one larger than the two others. Our interpretation is that the large cell plate separates the nuclei resulting from meiosis I and the two smaller cell plates separate the nuclei resulting from meiosis II. Unlike in successive cytokinesis, a true dyad stage was never observed, the cell plates formed after meiosis II being initiated before the first cell plate was completed. Cytokinesis in *Dianella tasmanica* should then be considered as intermediate between simultaneous and successive, which could explain the conflicts found in the literature.

Microsporogenesis with simultaneous cytokinesis

Different ways of separating the four microspores were found in species with simultaneous cytokinesis (Table 2).

Intersporal wall formation was a two-step process, with first callosic cell plates developing either centrifugally or centripetally, and then additional callose laid onto the cell plates once the four nuclei were completely separated. One exception was found, however, in the case of *Dietes grandiflora*. In this species there was no stage with bare cell plates; the cell plates were covered with extra callose while they were developing. This situation, which is a rule in the eudicots (Brown and Lemmon 1991), had never been described in the monocots so far. The diversity displayed by monocots concerning intersporal wall formation when cytokinesis is simultaneous contrasts greatly with the conserved pattern observed in the eudicots. It also contrasts with the situation observed in the case of successive cytokinesis, in which intersporal wall formation always involved cell plates forming centrifugally.

Tetrad shape and aperture pattern

In the literature, simultaneous cytokinesis is generally considered to be associated with the formation of tetrahedral tetrads, especially in the eudicots (Blackmore and Crane 1998, Harley 1999b). However, almost all simultaneous-cytokinesis species examined here displayed a large variety in

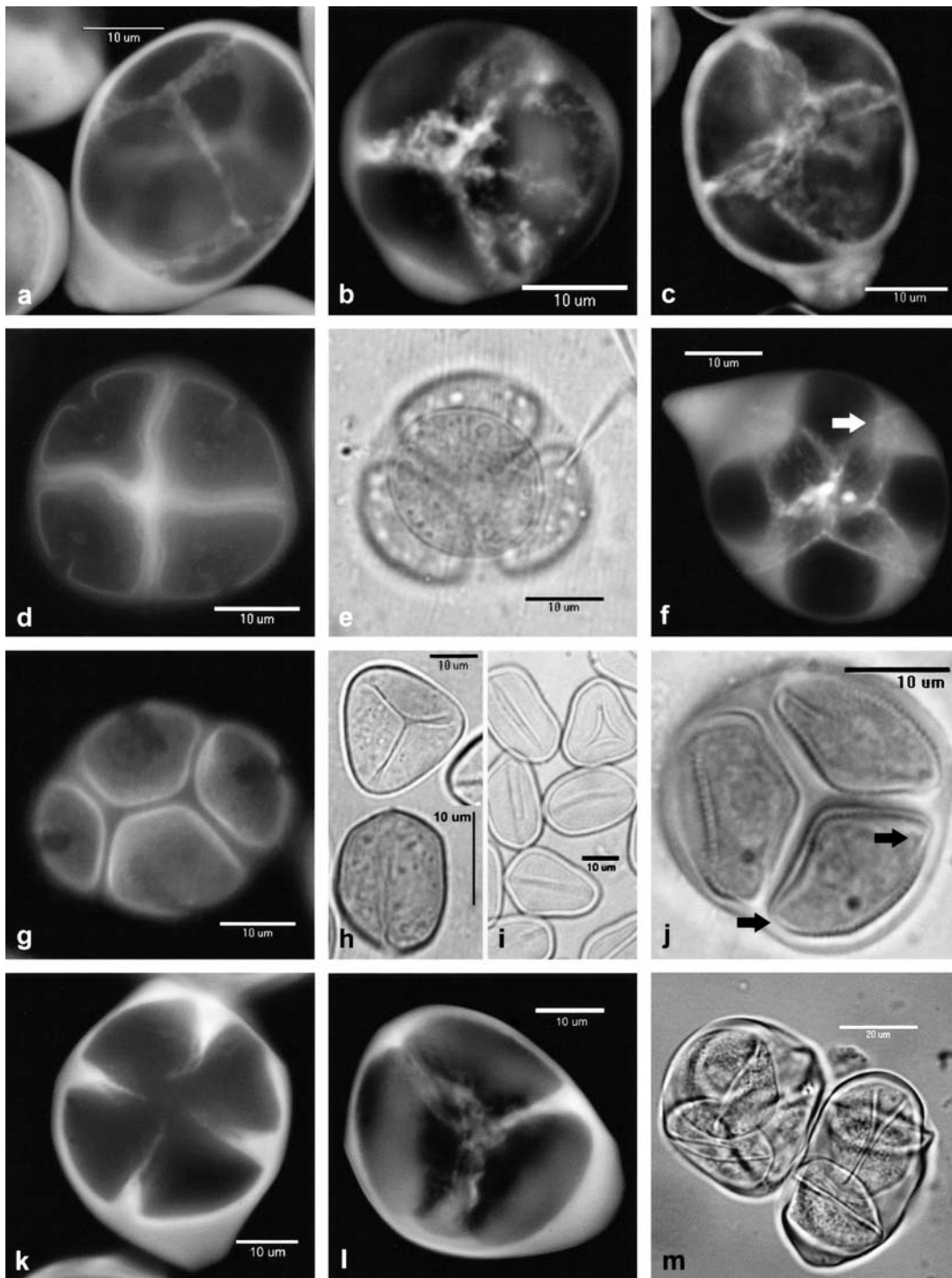


Fig. 4 a–m. Simultaneous cytokinesis with centripetal intersporal wall formation. AB, aniline blue; CR, congo red. Bars: a–l, 10 μm ; m, 20 μm . **a–c** Developing cell plates. **a** *Chamaedorea microspadix*. **b** *Sisyrrinchium striatum*. **c** *Dioscorea communis*. **d** and **e** *Chamaedorea microspadix*. **d** Tetragonal tetrad of four monosulcate microspores, with apertures indicated by arrow (AB, fluorescein isothiocyanate filter). **e** Symmetric tetrahedral tetrad, apertures not visible (CR). **f** Asymmetric tetrahedral tetrad in *Sisyrrinchium striatum* with callose ingrowths indicated by arrow (AB). **g** and **h** *Chamaedorea microspadix*. **g** Rhomboidal tetrad of four monosulcate microspores in (AB, fluorescein isothiocyanate filter). **h** Monosulcate and trichotomosulcate pollen grains (CR). **i** Monosulcate and trichotomosulcate pollen grains in *Sisyrrinchium striatum* (CR). **j** Mature tetrad in *Dioscorea communis* with equatorial apertures indicated by arrows. **k–m** *Diates grandiflora*. **k** Four cell walls developing centripetally toward the centre of the tetrad (AB). **l** Six cell walls developing centripetally toward the centre of the tetrad (AB). **m** Two tetrads with zonosulci visible on microspores (CR)

Table 2. Main features of microsporogenesis in the examined species

Cytokinesis and intersporal wall formation and order and species ^a	Aperture type	Apertures within tetrad
Successive and centrifugal		
Alismatales		
<i>Alisma canaliculatum</i>	polyporate	no data
<i>Anthurium hookeri</i>	diporate or triporate	no data
Asparagales		
<i>Beschorneria yuccoides</i>	monosulcate	
Commelinales		
<i>Tradescantia</i> × <i>andersoniana</i>	monosulcate	polar
<i>Commelina erecta</i>	monosulcate	polar
<i>Wachendorfia paniculata</i>	monosulcate	
Zingiberales		
<i>Strelitzia reginae</i>	inaperturate	
Simultaneous and centrifugal		
Asparagales		
<i>Dianella tasmanica</i>	monosulcate and trichotomosulcate	polar
Arecales		
<i>Gaussia attenuata</i>	monosulcate and trichotomosulcate	polar
Simultaneous and centripetal		
Dioscoreales		
<i>Dioscorea communis</i>	disulcate	equatorial
Asparagales		
<i>Dietes grandiflora</i>	zonasulcate	polar
<i>Sisyrinchium striatum</i>	monosulcate and trichotomosulcate	polar
Arecales		
<i>Chamaedorea microspadix</i>	monosulcate and trichotomosulcate	polar

^a Orders are according to Angiosperm Phylogeny Group (2003)

the shape of postmeiotic tetrads. The tetrad shape ranged from tetragonal to tetrahedral (symmetric or asymmetric), including rhomboidal. Theoretically, the shape of a tetrad is defined by the number of cleavage planes which divide the internal space of a spherical or elliptical volume: three or four planes result in tetragonal or decussate tetrads (depending on the relative orientation of the cleavage planes), five planes result in rhomboidal tetrads, six equal planes result in symmetric tetrahedral tetrads, six unequal planes result in asymmetric tetrahedral tetrads. The variation in tetrad shape in our sampling of species should therefore result from the occurrence of variation in the number and size of the cleavage planes that divide the four haploid nuclei after meiosis. Such a variation was recorded in several species of our sampling, for example, in *Gaussia attenuata* or *Dietes grandiflora*. Interestingly, the variation in tetrad shape was associated with variation in pollen aperture pattern in four species examined here, namely, *Chamaedorea microspadix* and *Gaussia attenuata* (Arecaceae), *Dianella tasmanica*

(Hemerocallidaceae), and *Sisyrinchium striatum* (Iridaceae). These species produced a mixture of monosulcate and trichotomosulcate pollen grains, a situation that is not uncommon in the palm family (Harley 1999a) or in the “lower” asparagoids with simultaneous cytokinesis (Rudall et al. 1997). *Dianella tasmanica* was known to produce trichotomosulcate pollen (Huynh 1971, Roth et al. 1987) arranged in tetrahedral tetrads at the postmeiotic stage, a general feature of Hemerocallidaceae with the exception of *Hemerocallis* sp. (Roth et al. 1987). The specimen of *Dianella tasmanica* studied here produced a small proportion of monosulcate pollen mixed with symmetric trichotomosulcate pollen grains and occasional asymmetric trichotomosulcate pollen grains. The position of the apertures within the tetrad shows that monosulcate pollen results from tetragonal or decussate tetrads, as would be expected if cytokinesis were successive, whereas trichotomosulcate pollen is associated to tetrahedral tetrads. The record of both symmetric and asymmetric tetrahedral tetrads (not shown) in *Dianella tasmanica* could account for the record of symmetric and asymmetric trichotomosulcate pollen grains. In *Gaussia attenuata* and *Chamaedorea microspadix*, all mature tetrads observed consisted of monosulcate pollen grains assembled in tetragonal, rhomboidal, decussate, or asymmetric tetrahedral tetrads. If tetrad shape has an impact on aperture shape, as suggested by our observations, then we would expect to find the trichotomosulcate pollen grains of *Gaussia attenuata* and *Chamaedorea microspadix* associated in symmetric tetrahedral tetrads. Unfortunately, we have not been able to observe this pollen type in tetrads, probably due to the rare occurrence of trichotomosulcate pollen in these two species. In *Sisyrinchium striatum*, the observation of a continuum of pollen shapes ranging from symmetric monosulcate to symmetric trichotomosulcate (Fig. 4i), together with tetrad shapes ranging from tetragonal to tetrahedral, including rhomboidal, also supports the hypothesis of a link between aperture pattern and tetrad shape. In this species, like in *Dianella tasmanica*, trichotomosulcate pollen grains were assembled in tetrahedral tetrads, whereas monosulcate pollen grains was found in tetragonal or decussate tetrads.

Convergences in microsporogenesis

As already mentioned, cytokinesis involved centrifugal cell plates in *Dianella tasmanica* and *Gaussia attenuata*, whereas in *Chamaedorea microspadix* and *Sisyrinchium striatum*, cell plate formation was centripetal, a feature generally associated with the eudicots (Brown and Lemmon 1988, 1991). It is noteworthy that four species belonging to different orders converged in producing both

monosulcate and trichotomosulcate pollen grains in spite of differences in the formation of intersporal walls. In contrast, cell plate formation was achieved similarly in three species that belonged to different clades of the monocots and produced pollen grains differing in aperture pattern: *Chamaedorea microspadix*, *Sisyrinchium striatum* (monosulcate and trichotomosulcate pollen), and *Dioscorea communis* (disulcate pollen). In these three species, as well as in *Gaussia attenuata* and *Dianella tasmanica*, the observation of mature tetrads showed that extra callose was deposited onto the cell plates after their completion. This aspect was not studied here, but it would be interesting to conduct further observations in order to identify precisely the exact points where callose is last deposited among the microspores, since this parameter has been shown to be involved in aperture pattern determination (Ressayre et al. 2002). For example, in *Pontederia cordata*, which has a successive cytokinesis, all cell plates are covered by callose deposited centrifugally from the centre of the tetrad toward the junctions between the intersporal walls and the outer wall of the tetrad, precisely where the apertures are located in the mature tetrad (Ressayre 2001). Another example is *Phormium tenax*, a species producing trichotomosulcate pollen through simultaneous cytokinesis: in the tetrad, the three branches of the trichomosulcus are directed toward the last points where callose is deposited among the microspores (Ressayre et al. 2005). This phenomenon was actually observed in the case of the *Sisyrinchium* species studied here: ingrowths of callose developed toward the junction of the cell plates and the outer wall of the tetrad once cytokinesis was achieved (Fig. 4f). If such a phenomenon is a rule in aperture pattern determination in angiosperms, then we expect to find no differences in the way callose is laid onto the cell plates among *Dianella tasmanica*, *Gaussia attenuata*, *Chamaedorea microspadix*, and *Sisyrinchium striatum* (all produce similar pollen morphologies in spite of differences in cell plate formation). On the other hand, differences are expected between *Chamaedorea* or *Sisyrinchium* and *Dioscorea* species (similar cell plate formation but different pollen morphologies).

Conclusion

Despite the small size of the sampling of species examined in this study, our results point out the existence of convergences in the different features of microsporogenesis in monocots. This was already known concerning cytokinesis: there are numerous transitions from successive to simultaneous cytokinesis in the different clades of the

monocots. We show here that this phenomenon also concerns the formation of cell plates during simultaneous cytokinesis: centripetal cell plates occur in the Arecaceae, Iridaceae and Dioscoreaceae (three unrelated families), and centrifugal cell plates are found in the Arecaceae as well as in “higher” Asparagales and the related Hemerocallidaceae. Detailed observations are now needed to know whether convergences occur concerning extra callose deposition within the monocots. It will also be necessary to examine the link between callose deposition on the plasma membrane of the microspores and intracellular features such as the orientation of the meiotic spindles and the position of endoplasmic-reticulum shields. Further investigations of microsporogenesis will then improve our understanding of the evolution of aperture pattern ontogeny in monocots.

Acknowledgments

We are grateful to the various botanic gardens which provided us with most of the plant material studied here (MNHN, JBVP, CBNB, and Parc Botanique de Launay, France; Royal Botanic Gardens Kew, U.K.; Kirstenbosch National Botanical Garden, Republic of South Africa). We thank two anonymous reviewers for their helpful comments on the manuscript. This work was financially supported by the Institut Français de la Biodiversité (grant number 041 18 19 00).

References

- Angiosperm Phylogeny Group (2003) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot J Linn Soc* 141: 399–436
- Arens K (1949) Prova de Calose por meio da microscopia a luz fluorescente e aplicações do metodo. *Lilloa* 18: 71–75
- Blackmore S, Barnes SH (1990) Pollen wall development in angiosperms. In: Blackmore S, Knox RB (eds) *Microspores: evolution and ontogeny*. Academic Press, London, pp 173–192
- Blackmore S, Crane PR (1998) The evolution of apertures in the spores and pollen grains of embryophytes. In: Owens SJ, Rudall PJ (eds) *Reproductive biology*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp 159–182
- Brown RC, Lemmon BE (1988) Microtubules associated with simultaneous cytokinesis of coenocytic microspores. *Am J Bot* 75: 1848–1856
- Brown RC, Lemmon BE (1991) The cytokinetic apparatus in meiosis: control of division plane in the absence of a preprophase band of microtubules. In: Lloyd CW (ed) *The cytoskeletal basis of plant growth and form*. Academic Press, London, pp 259–273
- Buchner R, Weber M (2000) PalDat – a palynological database: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. <http://paldat.botanik.univie.ac.at/>
- Chase MW, Soltis DE, Soltis PS, Rudall PJ, Fay MF, Hahn WH, Sullivan S, Joseph J, Molvray M, Kores PJ, Givnish TJ, Sytsma KJ, Pires JC (2000) Higher level systematics of the monocotyledons: an assessment of current knowledge and a new classification. In: Wilson KL, Morrison DA (eds) *Monocots: systematics and evolution*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Sydney, pp 3–16
- Erdtman G (1952) *Pollen morphology and plant taxonomy: angiosperms*. Almqvist and Wiksell, Stockholm

- Furness CA, Rudall PJ (1999a) Inaperturate pollen in monocotyledons. *Int J Plant Sci* 160: 395–414
- Furness CA, Rudall PJ (1999b) Microsporogenesis in monocotyledons. *Ann Bot* 84: 475–499
- Furness CA, Rudall PJ (2000) Aperture absence in pollen of monocotyledons. In: Harley MM, Morton CM, Blackmore S (eds) *Pollen and spores: morphology and biology*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp 249–257
- Goldblatt P, Le Thomas A (1993) Pollen morphology of Madagascan *Aristea* and *Geosiris* (Iridaceae-Nivenoideae) in relation to systematics and phylogeny. *Adansonia* 14: 223–233
- Goldblatt P, Manning JC, Rudall PJ (1998) Iridaceae. In: Kubitzki K (ed) *Flowering plants: monocotyledons. The families and genera of vascular plants*, vol 3. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 295–335
- Grayum MH (1992) Comparative external pollen ultrastructure of the Araceae and putatively related taxa. *Monogr Syst Bot Missouri Bot Gard* 43: 1–167
- Harley MM (1999a) Palm pollen: overview and examples of taxonomic value at species level. In: Henderson A, Borchsenius F (eds) *Evolution, variation, and classification of palms*. New York Botanical Garden Press, Bronx, NY, pp 95–120
- Harley MM (1999b) Tetrad variation: its influence on pollen form and systematics in the Palmae. In: Kurmann MH, Hemsley AR (eds) *The evolution of plant architecture*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp 289–304
- Harley MM (2004) Triaperturate pollen in the monocotyledons: configurations and conjectures. *Plant Syst Evol* 247: 75–122
- Harley MM, Baker WJ (2001) Pollen aperture morphology in Areaceae: application within phylogenetic analyses, and a summary of the fossil record of palm-like pollen. *Grana* 40: 45–77
- Heslop-Harrison J (1963) An ultrastructural study of pollen wall ontogeny in *Silenependula*. *Grana Palynol* 4: 7–24
- Huynh K-L (1971) Etude de l'arrangement du pollen dans la tétrade chez les Angiospermes sur la base de données cytologiques. III. Le pollen trilète du genre *Dianella* Lam. (Liliaceae). *Beitr Biol Pflanz* 47: 277–286
- Longly B, Waterkeyn L (1979a) Etude de la cytotinèse. II. Structure et isolement des plaques cellulaires microsporocytaires. *Cellule* 72: 227–242
- Longly B, Waterkeyn L (1979b) Etude de la cytotinèse. III. Les cloisonnements simultanés et successifs des microsporocytes. *Cellule* 73: 65–80
- Penet L, Nadot S, Ressayre A, Forchioni A, Dreyer LD, Gouyon PH (2005) Multiple developmental pathways leading to a single morph: monosulcate pollen (examples from the Asparagales). *Ann Bot* 95: 331–343
- Ressayre A (2001) Equatorial aperture pattern in monocots: same definition rules as in eudicots? The example of two species of Pontederiaceae. *Int J Plant Sci* 162: 1219–1224
- Ressayre A, Godelle B, Raquin C, Gouyon P-H (2002) Aperture pattern ontogeny in angiosperms. *J Exp Zool (Mol Dev Evol)* 294: 122–135
- Ressayre A, Mignot A, Siljak-Yakovlev S, Raquin C (2003) Postmeiotic cytokinesis and pollen aperture number determination in eudicots: effect of the cleavage wall number. *Protoplasma* 221: 257–268
- Ressayre A, Dreyer LD, Triki-Teurtroy S, Forchioni A, Nadot S (2005) Post-meiotic cytokinesis and pollen aperture pattern ontogeny: comparison of development in four species differing in aperture pattern. *Am J Bot* 92: 576–583
- Roth JL, Walker JW, Walker AG (1987) The distribution and systematics of trichotomosulcate pollen within the Lilialean complex. *Am J Bot* 74: 751
- Rudall PJ, Furness CA, Chase MW, Fay MF (1997) Microsporogenesis and pollen sulcus type in Asparagales (Liliana). *Can J Bot* 75: 408–430
- Schnarf K, Wunderlich R (1939) Zur vergleichenden Embryologie der Liliaceae: Asphodeloideae. *Flora* 133: 297–327
- Sheldon JM, Dickinson HG (1983) Determination of patterning in the pollen wall of *Lilium henryi*. *J Cell Sci* 63: 191–208
- Sheldon JM, Dickinson HG (1986) Pollen wall formation in *Lilium*: the effect of chaotropic agents and the organization of the microtubular cytoskeleton during pattern development. *Planta* 168: 11–23
- Stainier F, Huard D, Bronkers F (1967) Technique de coloration spécifique de l'exine des microspores jeunes encore groupées en tétrade. *Pollen Spores* 9: 367–370
- Till-Bottraud I, Mignot A, De Paepe R, Dajoz I (1995) Pollen heteromorphism in *Nicotiana tabacum* (Solanaceae). *Am J Bot* 82: 1040–1048
- Wodehouse RP (1935) *Pollen grains*. McGraw Hill, New York

REFERENCES

- ALBANO P.** 2002. *La connaissance des Palmiers : culture et utilisation*. Aix-en-Provence: Edisud.
- ALBERTS B, BRAY D, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WATSON JD.** 1990. Les mécanismes de la division cellulaire. In: Flammarion, médecine-sciences, eds. *Biologie moléculaire de la cellule*. Paris, France. 779-787.
- APG.** 1998. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **85**: 531-553.
- APGII.** 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* **141**: 399-436.
- ARGUE CL.** 1976. Pollen studies in the Alismataceae with special reference to taxonomy. *Pollen and Spores* **18 (2)**: 161-201.
- ASMUSSEN CB, CHASE MW.** 2001. Coding and noncoding plastid DNA in palm systematics. *American Journal of Botany* **88 (6)**: 1103-1117.
- ASMUSSEN CB, DRANSFIELD J, DEICKMANN V, BARFOD AS, PINTAUD J-C, BAKER WJ.** 2006. A new subfamily classification of the palm family (Arecaceae): evidence from plastid DNA phylogeny. *Botanical Journal of the Linnean Society* **151**: 15-38.
- BAKER WJ, HEDDERSON TA, DRANSFIELD J.** 2000a. Molecular phylogenetics of subfamily Calamoideae (Palmae) based on nrDNA ITS and cpDNA *rps16* intron sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **14 (2)**: 195-217.
- BAKER WJ, HEDDERSON TA, DRANSFIELD J.** 2000b. Molecular phylogenetics of *Calamus* (Palmae) and related rattan genera based on 5S nrDNA spacer sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **14 (2)**: 218-231.
- BANNISTER BA.** 1970. Ecological life of *Euterpe globosa* Gaertn. In: H. T. Odum, R. F. Pigeon, eds. *A tropical Rain Forest: a study of Irradiation and Ecology at El Verde, Puerto Rico*. Oak Ridge. 299-314.
- BARBOUR T.** 1932. A peculiar roosting habit of bats. *The Quarterly Review of Biology* **7**: 307-312.
- BARFOD A.** 1988. Pollen morphology of *Ammandra*, *Palandra* and *Phytelephas* (Arecaceae). *Grana* **27**: 239-242.
- BARFOD AS, BURHOLT T, BORCHSENIUS F.** 2003. Contrasting pollination modes in three species of *Licuala* (Arecaceae : Coryphoideae). *Telopea* **10 (1)**: 207-223.
- BARNES SH, BLACKMORE S.** 1986. Some functional features in pollen development. In: S. Blackmore, I.K. Ferguson, eds. *Pollen and Spores: form and function*. London New-York. 71-80.
- BERNAL R, GALEANO G.** 2006. Endangerment of Colombian Palms (Arecaceae): change over 18 years. *Botanical Journal of the Linnean Society* **151**: 151-163.
- BLACKMORE S, BARNES SH.** 1986. Harmomegathic mechanisms in pollen grains. In: S. Blackmore, I. K. Ferguson, eds. *Pollen and Spores: form and function*. 137-149.
- BLACKMORE S, BARNES SH.** 1990. Pollen wall development in angiosperms. In: eds. *Microspores: Evolution and Ontogeny*.

- BLACKMORE S, CRANE PR. 1998. The evolution of apertures in the spores and pollen grains of embryophytes. In: S. J. Owens, P. J. Rudall, eds. *Reproductive biology in systematics, conservation and economic botany*. Kew.
- BOGH A. 1996. The reproductive Phenology and pollination Biology of four *Calamus* (Arecaceae) species in Thailand. *Principes* **40** (1): 5-15.
- BRAKEFIELD PM. 2006. Evo-devo and constraints on selection. *Trends in Ecology and Evolution* **21** (7): 362-368.
- BROSCHAT TK, LATHAM WG. 1994. Oxalate content of palm fruit mesocarp. *Biochemical Systematics and Ecology* **22** (4): 389-392.
- BROWN RC, LEMMON BE. 1988. Microtubules associated with simultaneous cytokinesis of coenocytic microsporocytes. *American Journal of Botany* **75** (12): 1848-1856.
- BROWN RC, LEMMON BE. 1992. Control of division plane in normal and griseofulvin-treated microsporocytes of *Magnolia*. *Journal of Cell Science* **103**: 1031-1038.
- BROWN RC, LEMMON BE. 1996. Nuclear cytoplasmic domains, microtubules and organelles in microsporocytes of the slipper orchid *Cypripedium californum* A. Gray dividing by simultaneous cytokinesis. *Sexual Plant Reproduction* **9**: 145-152.
- BUROLLET T. 1999. Représentations dans la symbolique et dans l'art. *Hommes et Plantes* **29**: 40-44.
- CADDICK LR, FURNESS CA, STOBART KL, RUDALL PJ. 1998. Microsporogenesis and pollen morphology in Dioscoreales and allied taxa. *Grana* **37**: 321-336.
- CAMPBELL N. 1995. *Biologie*. Saint-Laurent, Québec: DeBoeck Université.
- CHALONER WG. 1976. The evolution of adaptive features in fossil exines. In: I. K. Ferguson, M. Muller, eds. *The evolutionary significance of the exine*. London.
- CHAMAUD-BOUTIN N. 1999. Une force de la nature, le palmier à miel du Chili. *Hommes et Plantes* **29**: 8-11.
- CORNER EJH. 1966. *The natural history of palms*. Berkeley: University of California Press.
- CRANE PR. 1986. Form and function in wind dispersed pollen. In: The Linnean Society of London, eds. *Pollen and Spores: Form and Function*. NY, London.
- CRONQUIST A. 1968. *The evolution and classification of flowering plants*. New York: New York Botanical Garden PR Dept.
- CUNNINGHAM CW, OMLAND KE, OAKLEY TH. 1998. Reconstructing ancestral character states: a critical reappraisal. *Tree* **13**: 361-366.
- DAHLGREN RMT, CLIFFORD HT, YEO PF. 1985. *The families of the Monocotyledons: structure, evolution and taxonomy*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- DAJOZ I, TILL-BOTTRAUD I, GOUYON P-H. 1991. Evolution of pollen morphology. *Science* **253**: 66-68.
- DAJOZ I, TILL-BOTTRAUD I, GOUYON P-H. 1993. Pollen aperture polymorphism and gametophyte performance in *Viola diversifolia*. *Evolution* **47** (4): 1080-1093.
- DICKINSON HG, ELLEMAN CJ, DOUGHTY J. 2000. Pollen coatings-chimaeric genetics and new functions. *Sexual Plant Reproduction* **12**: 302-309.

- DOVER GA. 1972. The organization and polarity of pollen mother cells of *Triticum aestivum*. *Journal of Cell Science* **II**: 699-711.
- DRANSFIELD J. 1978. Growth form of rain forest palms. In: P. B. Tomlinson, M. H. Zimmermann, eds. *Tropical Trees as Living Systems*. NY. 247-68.
- DRANSFIELD J, FERGUSON IK, UHL NW. 1990. The coryphoid palms : patterns of variation and evolution. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **77**: 802-815.
- DRANSFIELD J, UHL NW, ASMUSSEN CB, BAKER WJ, HARLEY M, LEWIS CE. 2005. A new phylogenetic classification of the palm family, *Arecaceae*. *Kew Bulletin* **60**: 559-569.
- DUBOIS R, CHARRIE N, BEAUFILS J-B. 1999. Les Palmiers; Dinausaures du règne végétal aujourd'hui seigneurs menacés. *Hommes et Plantes* **29**: 33-39.
- DUFAY M, HOSSAERT-MCKEY M, ANSTETT MC. 2003. When leaves act like flowers : how dwarf palms attract their pollinators. *Ecology letters* **6**: 28-34.
- ERDTMAN G. 1952. *Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms (an introduction to palynology)*. Stockholm, Sweden: Almqvist and Wiksell.
- ESSIG FB. 1971. Observations on pollination in *Bactris*. *Principes* **15**: 20-24, 35.
- ESSIG FB. 1973. Pollination in some New Guinea palms. *Principes* **17**: 75-83.
- ESSIG FB, DONG Y-F. 1987. The many uses of *Trachycarpus fortunei* (Arecaceae) in China. *Economic Botany* **41** (3): 411-417.
- EZE MO, OGAN AU. 1988. Sugars of the unfermented sap and the wine from the oil palm, *Elaeis guineensis*, tree. *Plant Foods for Human Nutrition* **38**: 121-126.
- FAEGRY K, INVERSEN J. 1994. *Textbook of pollen analysis*. New York: Hafner Publ. Co.
- FERGUSON IK, SKVARLA JJ. 1982. Pollen morphology in relation to pollinators in Papilionoideae (Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **84**: 183-193.
- FERGUSON IK, DRANSFIELD J, PAGE FC, THAHIKAIMONI G. 1983. Notes on the pollen morphology of *Pinanga* with special reference to *P. aristata* and *P. Pilosa* (Palmae : Arecoideae). *Grana* **22**: 65-72.
- FERGUSON IK, HAVARD AJ, DRANSFIELD J. 1987. The pollen morphology of the tribe Borasseae (Palmae : Coryphoideae). *Kew Bulletin* **42** (1): 404-422.
- FERGUSON IK, DRANSFIELD J, FLAWN I. 1987-1988. A review of the pollen morphology and systematics of the genera *Ravenea* and *Louvelia* (Ceroxyleae : Ceroxyloideae : Palmae). *Journal of Palynology* **23-24**: 65-72.
- FERGUSON IK, HARLEY MM. 1993. The significance of new and recent work on the pollen morphology of the palmae. *Kew Bulletin* **48**: 205-243.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS JM, MORICI C. 2004. Palmeras e islas: la insularidad en una de las familias mas diversas del reino vegetal. In: eds. *Asociacion espagnola de ecologia terrestre (AEET) - Cabildo Insular de la Palma*. 81-122.
- FERNÁNDEZ MC, RODRIGUEZ-GARCIA MI. 1989. Developmental changes in the aperture during grain ontogeny in *Olea europaea* L. *New Phytologist* **111**: 717-723.

- FERNÁNDEZ MC, ROMERO-GARCIA AT, RODRIGUEZ-GARCIA MI. 1992. Aperture structure, development and function in *Lycopersicum esculentum* Miller (Solanaceae) pollen grain. *Review of Palaeobotany and Palynology* **72**: 41-48.
- FERNÁNDEZ MC, RODRIGUEZ-GARCIA MI. 1995. Pollen grain apertures in *Olea europaea* L. (Oleaceae). *Review of Palaeobotany and Palynology* **85**: 99-109.
- FISHER JB, JAYACHANDRAN K. 1999. Root structure and arbuscular mycorrhizal colonization of the palm *Serenoa repens* under field conditions. *Plant and Soil* **217**: 229-241.
- FISHER JB, JAYACHANDRAN K. 2005. Presence of arbuscular mycorrhizal fungi in South Florida native plants. *Mycorrhiza* **15**: 580-588.
- FURNESS CA. 1985. A review on spiraperturate pollen. *Pollen and Spores* **27 (3-4)**: 307-320.
- FURNESS CA, RUDALL PJ. 1999a. Microsporogenesis in Monocotyledons. *Annals of Botany* **84**: 475-499.
- FURNESS CA, RUDALL PJ. 1999b. Inaperturate pollen in monocotyledons. *International Journal of Plant Sciences* **160 (2)**: 395-414.
- FURNESS CA, RUDALL PJ. 2000a. The systematic significance of simultaneous cytokinesis during microsporogenesis in Monocotyledons. In: K. L. Wilson, D. A. Morrison, eds. *Monocots: Systematics and Evolution*. Melbourne. 189-193.
- FURNESS CA, RUDALL PJ. 2000b. Aperture absence in pollen of Monocotyledons. In: M M Harley, C M Morton, S Blackmore, eds. *Pollen and Spores: morphology and biology*. Kew.
- FURNESS CA, RUDALL PJ, SAMPSON FB. 2002. Evolution of microsporogenesis in angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* **163 (2)**: 235-260.
- GAUT BS, MUSE SV, CLARK WD, CLEGG MT. 1992. Relative rates of nucleotide substitution at the *rbcl* locus of Monocotyledonous plants. *Journal of Molecular Evolution* **35**: 292-303.
- GIBBS PE, FERGUSON IK. 1987. Correlations between pollen exine sculpturing and angiosperm self-incompatibility systems - a reply. *Plant Systematics and Evolution* **157**: 143-159.
- GONZÁLEZ-CERVANTES E, MARTÍNEZ MENA A, QUERO HJ, MÁRQUEZ-GUZMÁN J. 1997. Embryology of *Chamaedorea elegans* (Arecaceae): microsporangium, microsporogenesis, and microgametogenesis. *Principes* **41**: 131-137.
- GONZÁLEZ F, RUDALL PJ, FURNESS CA. 2001. Microsporogenesis and systematics of Aristolochiaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* **137**: 221-242.
- GOULD SJ, LEWONTIN RC. 1979. The spondyls of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **205**: 581-598.
- GRAYUM MH. 1986. Correlations between pollination biology and pollen morphology in the Araceae, with some implications for angiosperm evolution. In: S. Blackmore, I. K. Ferguson, eds. *Pollen and Spores: form and function*. NY London. 313-327.
- GUZZO F, BALDAN B, BRACCO F, MARIANI P. 1994. Pollen development in *Liriodendron tulipifera*: some unusual features. *Canadian Journal of Botany* **72**: 352-358.

- HAHN WJ. 2002. A phylogenetic analysis of the Arecoideae line of palms based on plastid DNA sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **23**: 189-204.
- HARLEY MM. 1990. Occurrence of simple, tectate, monosulcate or trichotomosulcate pollen grains within the Palmae. *Review of Palaeobotany and Palynology* **64**: 137-147.
- HARLEY MM. 1993. Pollen tetrad form and aperture morphology in the Palmae. In: P. J. Rudall, eds. *Monocotyledons: Systematics and Evolution*. Kew, England. 33 (Abstracts).
- HARLEY MM, MORLEY RJ. 1995. Ultrastructural studies of some fossil and extant palm pollen, and the reconstruction of the biogeographical history of subtribes Iguanurinae and Calaminae. *Review of Palaeobotany and Palynology* **85**: 153-182.
- HARLEY MM. 1996. Palm Pollen and the Fossil Record. Unpublished Thesis, University of East London in collaboration with RBG.
- HARLEY MM, BAKER WJ. 1998. Aperture morphology in Arecaeae: application within phyletic analyses, and a summary of the fossil record of palm-like pollen. *Grana* **40**: 45-77.
- HARLEY MM. 1999a. Tetrad variation: its influence on pollen form and systematics in the Palmae. In: M. H. Kurmann, A. R. Hemsley, eds. *The Evolution of Plant Architecture*. Royal Botanic Gardens, Kew. 289-304.
- HARLEY MM. 1999b. Palm pollen: overview and examples of taxonomic value at species level. *Memoirs of the New York Botanical Garden* **83**: 95-120.
- HARLEY MM, ZAVADA MS. 2000. Pollen of the monocotyledons: selecting characters for cladistic analysis. In: K. I. Wilson, D. A. Morrison, eds. *Monocots: Systematics and Evolution*. Melbourne.
- HARLEY MM, BAKER WJ. 2001. Pollen aperture morphology in Arecaeae : application within phylogenetic analyses, and a summary of the fossil record of palm like pollen. *Grana* **40**: 45-77.
- HARLEY MM, DRANSFIELD J. 2003. Triporate pollen in Arecaeae. *Grana* **42**: 3-19.
- HARLEY MM. 2004. Triaperturate pollen in monocotyledons: configurations and conjectures. *Plant Systematics and Evolution* **247** (1-2): 75 - 122.
- HARPER JL, LOVELL PH, MOORE KG. 1970. The Shapes and Sizes of Seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* **1**: 327-356.
- HAYASHI Y. 1960. On the microsporogenesis and pollen morphology in the family Magnoliaceae. *Science Reports of the Tohoku University, Series 4. Biology* **26**: 45-52.
- HAYNES J, McLAUGHLIN J. 2000. Edible Palms and Their Uses. *Florida Cooperative Extension Service*: 1-13.
- HEESE M, MAYER U, JUERGENS G. 1998. Cytokinesis in flowering plants: Cellular process and developmental integration. *Current Opinion in Plant Biology* **1**: 486-491.
- HENDERSON A. 1986. A review of pollination studies in the Palmae. *The Botanical Review* **52** (3): 222-259.
- HEO K, TOBE H. 1995. Embryology and relationships of *Gyrocarpus* and *Hernandia* (Hernandiaceae). *Journal of Plant Research* **108**: 327-341.
- HEO K, VAN DER WERFF H, TOBE H. 1998. Embryology and relationships of Lauraceae (Laurales). *Botanical Journal of the Linnean Society* **126**: 295-322.

- HESLOP-HARRISON J. 1963. An ultrastructural study of pollen wall ontogeny in *Silene pendula*. *Grana Palynologica* **4**: 7-24.
- HESLOP-HARRISON J. 1966. Cytoplasmic continuities during spore formation of flowering plants. *Endeavour* **25**: 67-72.
- HESLOP-HARRISON J. 1971. The pollen wall: structure and development. In: eds. *Pollen: Development and Physiology*. London.
- HESLOP-HARRISON J. 1975. Incompatibility and the pollen-stigma interaction. *Annual Review of Plant Physiology* **26**: 403-425.
- HESLOP-HARRISON J. 1976. The adaptative significance of the exine. In: I. K. Ferguson, M. Muller, eds. *The evolutionary significance of the exine*. London. 27-37.
- HESLOP-HARRISON J. 1979. An interpretation of the hydrodynamics of pollen. *American Journal of Botany* **66**: 737-743.
- HESSE M. 2000. Pollen wall stratification and pollination. *Plant Systematics and Evolution* **222**: 1-17.
- HNATIUK RJ. 1977. Population structure of *Livistona eastonii* Gardn., Mitchell Plateau, Western Australia. *Australian Journal of Ecology* **2**: 461-466.
- HOTCHKISS AT. 1958. Pollen and pollination in the Eupomatiaceae. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales* **83**: 86-91.
- HUYNH KL. 1968. Etude de la morphologie du pollen du genre *Utricularia* L. *Spores et Pollen* **10 (1)**: 11-55.
- KIEW R. 1972. The natural history of *Iguanura geonomaeformis* Martius: a Malayan undergrowth palmlet. *Principes* **16 (1)**: 3-10.
- KINNAIRD MF. 1992. Competition for a Forest Palm: Use of *Phoenix reclinata* by Human and Nonhuman Primates. *Conservation Biology* **6 (1)**: 101-107.
- KÜCHMEISTER H, SILBERBAUER-GOTTSBERGER I, GOTTSBERGER G. 1997. Flowering, pollination, nectar standing crop and nectaries of *Euterpe precatoria* (Arecaceae), an amazonian rain forest palm. *Plant Systematics and Evolution* **206**: 71-97.
- KUPRIANOVA LA. 1967. Apertures of pollen grains and their evolution in Angiosperms. *Review of Palaeobotany and Palynology* **3**: 73-80.
- LAURIN M. 2004. The evolution of body size, Cope's rule and the origin of Amniotes. *Systematic Biology* **53 (4)**: 594-622.
- LEWIS CE, DOYLE JJ. 2001. Phylogenetic utility of the nuclear gene malate synthase in the palm family (Arecaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **19 (3)**: 409-420.
- LEWIS CE, DOYLE JJ. 2002. A phylogenetic analysis of tribe Areceae (Arecaceae) using two low-copy nuclear genes. *Plant Systematics and Evolution* **236**: 1-17.
- LINDER HP. 2000. Pollen morphology and wind pollination in Angiosperms. In: M. M. Harley, C. M. Morton, S. Blackmore, eds. *Pollen and Spores: Morphology and Biology*. Kew. 73-88.

- LISTABARTH C. 2001.** Palm pollination by bees, beetles and flies: why pollinator taxonomy does not matter. The case of *Hyospathe elegans* (Arecaceae, Arecoideae, Areceae, Euterpeinae). *Plant species Biology* **16**: 165-181.
- LONGLY B, WATERKEYN L. 1979a.** Etude de la cytotinèse II. Structure et isolement des plaques cellulaires microsporocytaires. *La Cellule* **72**: 227-242.
- LONGLY B, WATERKEYN L. 1979b.** Etude de la cytotinèse III. Les cloisonnements simultanés et successifs des microsporocytes. *La Cellule* **73**: 65-80.
- LOSOS JB. 1999.** Uncertainty in the reconstruction of ancestral character states and limitations on the use of phylogenetic comparative methods. *Animal Behaviour* **58**: 1319-1324.
- LUMAGA MR, COZZOLINO S, KOCYAN A. 2006.** Exine Micromorphology of Orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae): Phylogenetic Constraints or Ecological Influences? *Annals of Botany* **98**: 237-244.
- MADDISON WP, MADDISON DR. 2003.** Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, Version 1.0. <http://mesquiteproject.org>.
- MAUNDER M, PAGE W, MAUREMOOTOO J, PAYENDEE R, MUNGROO Y, MALJKOVIC A, VERICEL C, LYTE B. 2002.** The decline and conservation management of the threatened endemic palms of the Mascarene Islands. *Oryx* **36** (1): 56-65.
- MAYER U, JÜRGENS G. 2004.** Cytokinesis: lines of division taking shape. *Current Opinion in Plant Biology* **7**: 599-604.
- MAYNARD-SMITH J, BURIAN R, KAUFFMAN S, ALBERCH P, CAMPBELL J, GOODWIN B, LANDE R, RAUP D, WOLPERT L. 1985.** Developmental constraints and evolution. *The Quarterly Review of Biology* **60** (3): 265-287.
- MENDIS NM, FERGUSON IK, DRANSFIELD J. 1987.** The pollen morphology of the subtribe oncospermatinae (Palmae : Arecaceae). *Kew Bulletin* **42** (1): 46-63.
- MEYER S, REEB C, BOSDEVEIX R. 2004.** *BOTANIQUE : Biologie et Physiologie Végétale*. Paris: Maloine.
- MIGNOT A. 1995.** Contraintes et sélection dans l'évolution: le cas du pollen. Unpublished Thesis, Université de Tours.
- MOLLET M, HERZOG F, BEHI YEN, FARAH Z. 2000.** Sustainable exploitation of *Borassus aethiopum*, *Elaeis guineensis* and *Raphia hookeri* for the extraction of palm wine in Côte d'Ivoire. *Environment, Development and Sustainability* **2**: 43-57.
- MOORE HE. 1973.** The major groups of palms and their distribution. *Gentes Herbarum* **11** (2): 27-141.
- MULLER J. 1979.** Form and function in Angiosperm pollen. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **66**: 593-632.
- NADOT S, PENET L, DREYER L, FORCHIONI A, RESSAYRE A. 2004.** Aperture pattern and microsporogenesis in Asparagales.
- NADOT S, FORCHIONI A, PENET L, SANNIER J, RESSAYRE A. 2006.** Links between early pollen development and aperture pattern in monocots. *Protoplasma* **228**: 55-64.

- NISHIHAMA R, MACHIDA Y. 2001. Expansion of the phragmoplast during plant cytokinesis: a MAPK pathway may MAP it out. *Current Opinion in Plant Biology* **4**: 507-512.
- OTEGUI M, STAEHELIN LA. 2000. Cytokinesis in flowering plants: more than one way to divide a cell. *Current Opinion in Plant Biology* **3**: 493-502.
- PACINI E, CRESTI M. 1978. Ultrastructural characteristics of the tapetum and microspore mother cells in *Lycopersicum peruvianum* during meiotic prophase. *Société botanique Française* **1-2**: 121-128.
- PAGE JS. 1977. A scanning electron microscope survey of grass pollen. *Kew Bulletin* **32**: 313-319.
- PAGEL M. 1999a. Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* **401**: 877-884.
- PAGEL M. 1999b. The maximum likelihood approach to reconstructing ancestral character states of discrete characters on phylogenies. *Systematic Biology* **48**: 612-622.
- PENET L. 2005. Evolution de la morphologie du pollen chez les Angiospermes : sélection naturelle et/ou contraintes développementales ? Unpublished Thesis, Université Paris XI.
- PENET L, NADOT S, RESSAYRE A, FORCHIONI A, DREYER L, GOUYON PH. 2005. Multiple developmental pathways leading to a single morph: monosulcate pollen (examples from the Asparagales). *Annals of Botany* **95**: 331-343.
- PERIASAMY K, SWAMY BGL. 1959. Studies in the Annonaceae-I. Microsporogenesis in *Cananga odorata* and *Milium wightiana*. *Phytomorphology* **9**: 251-263.
- PIZO MA, VIEIRA EM. 2004. Palm harvesting affects seed predation of *Euterpe edulis*, a threatened palm of the brazilian atlantic forest. *Brazilian Journal of Biology* **64 (3B)**: 669-676.
- POZHIDAEV AE. 2000. Hypothetical way of pollen aperture patterning. 2: formation of polycolpate patterns and pseudoaperture geometry. *Review of Paleobotany and Palynology* **109**: 235-254.
- PRAKASH N, FOREMAN DB, GRIFFITH SJ. 1984. Gametogenesis in *Galbulimina belgraveana* (Himantandraceae). *Australian Journal of Botany* **32**: 605-612.
- PRAKASH N, LIM AL, SAMPSON FB. 1992. Anther and ovule development in *Tasmannia* (Winteraceae). *Australian Journal of Botany* **40**: 877-885.
- RATSIRARSON J, SILANDER JA, RICHARD AF. 1996. Conservation and Management of a Threatened Madagascar Palm Species, *Neodypsis decaryi*, Jumelle. *Conservation Biology* **10 (1)**: 40-52.
- RESSAYRE A, GODELLE B, MIGNOT A, GOUYON PH. 1998. A morphogenetic model accounting for pollen aperture pattern distribution in flowering plants. *Journal of Theoretical Biology* **193**: 321-334.
- RESSAYRE A. 2000. Développement et évolution: l'exemple de la morphologie du grain de pollen des Angiospermes. Unpublished Thesis, Université Paris-Sud.
- RESSAYRE A. 2001. Equatorial aperture pattern in monocots: Same definition rules as in eudicots? The example of two species of Pontederiaceae. *International Journal of Plant Sciences* **162 (6)**: 1219-1224.
- RESSAYRE A, GODELLE B, RAQUIN C, GOUYON PH. 2002a. Aperture pattern ontogeny in angiosperms. *Journal of Experimental Biology (Mol Dev Evol)* **294**: 122-135.

- RESSAYRE A, RAQUIN C, MIGNOT A, GODELLE B, GOUYON PH. 2002b. Correlated variation in microtubule distribution, callose deposition during male post-meiotic cytokinesis, and pollen aperture number across *Nicotiana* species (Solanaceae). *American Journal of Botany* **89** (3): 393-400.
- RESSAYRE A, MIGNOT A, SILJAK-YAKOVLEV S, RAQUIN C. 2003. Post-meiotic cytokinesis and pollen aperture number determination in eudicots: effect of the cleavage wall number. *Protoplasma* **221** (3-4): 257-268.
- RICH PM. 1987. Mechanical Structure of the Stem of Arborescent Palms. *Botanical Gazette* **148** (1): 42-50.
- ROWLEY JR. 1975. Germinal apertural formation in pollen. *Taxon* **24** (1): 12-25.
- RUDALL PJ, FURNESS CA, CHASE MW, FAY MF. 1997. Microsporogenesis and pollen sulcus type in Asparagales (Lilianaes). *Canadian Journal of Botany* (75): 408-430.
- SAMPSON FB. 1963. The floral morphology of *Pseudowintera*, the New Zealand member of the vesselless Winteraceae. *Phytomorphology* **13**: 403-423.
- SAMPSON FB. 1969. Cytokinesis in Pollen Mother Cells of Angiosperms, with Emphasis on *Laurelia novae-zelandiae* (Monimiaceae). *Cytologia* **34** (4): 627-634.
- SAMPSON FB. 1970. Unusual features of cytokinesis in meiosis of pollen mother cells of *Pseudowintera traversii* (Buchan.) Dandy (Winteraceae). *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* **47**: 71-77.
- SAMPSON FB. 1975. Aperture orientation in *Laurelia* Pollen (Atherospermataceae Syn. Subfamily Atherospermoideae of Monimiaceae). *Grana* **15**: 153-157.
- SANNIER J, NADOT S, FORCHIONI A, HARLEY MM, ALBERT B. 2006. Variations in the microsporogenesis of monosulcate palm pollen. *Botanical Journal of the Linnean Society* **151** (1): 93-102.
- SANNIER J, ASMUSSEN-LANGE CB, HARLEY MM. Soumis dans *International Journal of Plant Sciences*. Evolution of microsporogenesis in palms (Arecaceae).
- SCHATZ GE, WILLIAMSON GB, COGSWELL CM, STAM AC. 1985. Stilt Roots and Growth of Arboreal Palms. *Biotropica* **17** (3): 206-209.
- SCHLUTER D, PRICE T, MOOERS AO, LUDWIG D. 1997. Likelihood of ancestor states in adaptative radiation. *Evolution* **51** (6): 1699-1711.
- SCHULTZ TR, COCROFT RB, CHURCHILL GA. 1996. The reconstruction of ancestral character states. *Evolution* **50** (2): 504-511.
- SEILACHER A. 1989. Vendozoa: Organismic construction in the Proterozoic biosphere. *Lethaia* **22**: 229-239.
- SILBERBAUER-GOTTSBERGER I. 1990. Pollination and evolution in palms. *Phyton* **30** (2): 213-233.
- SMITH FA, SMITH SE. 1997. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* **137**: 373-388.
- SOWUNMI MA. 1968. Pollen morphology in the palmae, with special reference to trends in aperture development. *Review of Palaeobotany and Palynology* **7**: 45-53.
- SOWUNMI MA. 1972. Pollen morphology of the palmae and its bearing on taxonomy. *Review of Palaeobotany and Palynology* **13**: 1-80.

- ST. JOHN TV. 1988. Prospects for application of vesicular-arbuscular mycorrhizae in the culture of tropical palms. *Advances in Economic Botany* **6**: 50-55.
- STAUFFER FW, ASMUSSEN CB, HENDERSON A, ENDRESS PK. 2003. A revision of *Asterogyne* (Arecaceae : Arecoideae : Geonomeae). *Brittonia* **55** (4): 326-356.
- STEVENS PF. 2001. Angiosperm Phylogeny Website. Version 7, May 2006. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- STIREMAN JO. 2005. The evolution of generalization? Parasitoid flies and the perils of inferring host range evolution from phylogenies. *Journal of Evolutionary Biology* **18**: 325-336.
- SVENNING J-C. 1998. The effect of land-use on the local distribution of palm species in an Andean rain forest fragment in northwestern Ecuador. *Biodiversity and Conservation* **7**: 1529-1537.
- SWOFFORD DL. 1998. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), Version 4. Sunderland: Sinauer Associates.
- TAKHTAJAN A. in Russian, 1966. *A system and phylogeny of the flowering plants*. Moscou: Nauka.
- TANAKA N, UEHARA K, MURATA J. 2004. Correlation between pollen morphology and pollination mechanisms in the Hydrocharitaceae. *Journal of Plant Research* **117**: 265-276.
- TATENO Y, TAKEZAKI N, NEI M. 1994. Relative efficiencies of the Maximum-Likelihood, Neighbor-joining, and Maximum-Parsimony Methods When Substitution Rate Varies with Site. *Molecular Biology and Evolution* **11** (2): 261-277.
- TAYLOR TN, LEVIN DA. 1975. Pollen morphology of Polemoniaceae in relation to systematics and pollination systems: scanning electron microscopy. *Grana* **15**: 91-112.
- THANIKAIMONI G. 1966. Pollen morphology of the genus *Utricularia*. *Pollen and Spores* **8** (2): 265-284.
- THANIKAIMONI G. 1970. Les palmiers: palynologie et systématique. *Travaux de la Section Scientifique et Technique. Institut Français de Pondichéry* **11**: 1-286.
- THANIKAIMONI G. 1986. Pollen apertures: form and function. In: S. Blackmore, I.K. Ferguson, eds. *Pollen and Spores: form and function*. London New-York. 119-136.
- THOMAS MM, GARWOOD NC, BAKER WJ, HENDERSON SA, RUSSELL SJ, HODEL DR, BATERMAN RM. 2005. Molecular phylogeny of the palm genus *Chamaedorea*, based on the low-copy nuclear genes PRK and RPB2. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **38**: 398-415.
- TILL-BOTTRAUD I, MIGNOT A, PAEPE RD, DAJOZ I. 1995. Pollen Heteromorphism in *Nicotiana tabacum* (Solanaceae). *American Journal of Botany* **82** (8): 1040-1048.
- TILL-BOTTRAUD I, VINCENT M, DAJOZ I, MIGNOT A. 1999. Pollen aperture heteromorphism. Variation in pollen-type proportions along altitudinal transects in *Viola calcarata*. *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Paris, Sciences de la vie* **322**: 579-589.
- TIMM RM. 1984. Tent Construction by *Vampyressa* in Costa Rica. *Journal of Mammalogy* **65** (1): 166-167.
- TOBE H, JAFFRE T, RAVEN PH. 2000. Embryology of *Amborella* (Amborellaceae): Descriptions and Polarity of Character States. *Journal of Plant Research* **113**: 271-280.
- TOMLINSON PB, ZIMMERMANN MH. 1967. The "wood" of monocotyledons. *IAWA Bulletin* **2**: 4-24.

- TOMLINSON PB. 1979.** Systematics and Ecology of the Palmae. *Annual Review of Ecology and Systematics* **10**: 85-107.
- TRAAS JA, BURGAIN S, DUMAS DE VAULX R. 1989.** The organisation of the cytoskeleton during meiosis in eggplant (*Solanum melongena* (L.)): microtubules and F-actin are both necessary for coordinated meiotic division. *Journal of Cell Science* **92**: 541-550.
- TSCHAPKA M. 2003.** Pollination of the understory palm *Calyptrogyne ghiesbreghtiana* by hovering and perching bats. *Biological Journal of The Linnean Society* **80**: 281-288.
- TSOU C-H, FU Y-L. 2002.** Tetrad pollen formation in *Annona* (Annonaceae): proexine formation and binding mechanism. *American Journal of Botany* **89** (5): 734-747.
- UHL NW, MOORE HEJ. 1977.** Correlations of inflorescence, flower structure, and floral anatomy with pollination in some palms. *Biotropica* **9**: 170-90.
- UHL NW, DRANSFIELD J. 1987.** *Genera Palmarum*. Lawrence, Kansas: Allen Press.
- VAN CAMPO M. 1961.** Mécanique aperturale. *Grana Palynologica* **2**: 93-97.
- VAN CAMPO M. 1976.** Patterns of pollen morphological variation within taxa. In: I. K. Ferguson, M. Muller, eds. *The evolutionary significance of the exine*. London.
- WALKER JW. 1974.** Evolution of exine structure in the pollen of primitive angiosperms. *American Journal of Botany* **61**: 891-902.
- WALKER JW, DOYLE JA. 1975.** The bases of angiosperm phylogeny, palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **62**: 664-723.
- WATERHOUSE JT, QUINN CJ. 1978.** Growth patterns in the stem of the palm *Archontophoenix cunninghamiana*. *Botanical Journal of the Linnean Society* **77**: 73-93.
- WAY MJ, BOLTON B. 1997.** Competition between ants for coconut palm nesting sites. *Journal of Natural History* **31** (3): 439-455.
- WHITEHEAD DR. 1969.** Wind pollination in the angiosperms; evolutionary and environmental considerations. *Evolution* **23**: 28-35.
- WIEMANN R, GUBATZ S. 1992.** Pollen Wall and Sporollenin. *International Review of Cytology* **140**: 35-72.
- WILSON MA, GAUT B, CLEGG MT. 1990.** Chloroplast DNA evolves slowly in the palm family (Arecaceae). *Molecular Biology and Evolution* **7** (4): 303-314.
- WILSON TK. 1964.** Comparative morphology of the Canellaceae. III. Pollen. *Botanical Gazette* **125** (3): 192-197.
- WODEHOUSE RP. 1935.** *Pollen grains: their structure, identification and significance in science and medicine*. New York: McGraw-Hill.
- XU H, BOULIANNE GL, TRIMBLE WS. 2002.** Membrane trafficking in cytokinesis. *Cell and Developmental Biology* **13**: 77-82.
- ZAVADA MS. 1984.** The relation between pollen exine sculpturing and self-incompatibility mechanisms. *Plant Systematics and Evolution* **147**: 63-78.

- ZAVADA MS, ANDERSON GJ. 1997. The wall and aperture development of pollen from dioecious *Solanum appendiculatum*: What is inaperturate pollen? *Grana* **36**: 129-134.
- ZONA S. 1996. *Roystonea* (Arecaceae: Arecoideae). *Flora Neotropica* **71**: 1-36.
- ZONA S, MAIDMAN K. 2000. Growth rates of Palms in Fairchild Tropical Garden. *Palms* **45 (3)**: 151-154.

GLOSSAIRE

Angiospermes

Plantes à fleurs.

Aperture

Zone de la paroi des grains de pollen montrant un amincissement de l'exine et un épaissement de l'intine. C'est une zone de moindre résistance à la surface du grain de pollen par où germe le tube pollinique et qui participe aux propriétés d'harmomégaie du grain de pollen.

Callose

Polyglucoside formé, comme la cellulose, par la polymérisation du glucose, mais qui diffère de la cellulose par le type de liaison des monomères de glucose entre eux.

Columelle

Élément en forme de tige de l'ectexine, pouvant soutenir un tectum.

Couche basale ou Foot-layer

Couche inférieure de l'ectexine.

Cytocinèse

Division du cytoplasme lors d'une division cellulaire.

Cytocinèse simultanée

Division simultanée des parois séparant les microspores.

Cytocinèse successive

Division successive des parois séparant les microspores.

Cytomixie

Lorsque des plasmodesmes (fibrilles protoplasmiques) qui relient les cytoplasmes des cellules deviennent des ponts cytomictiques pouvant laisser passer des organites ou des chromosomes.

Dyade

Ensemble de deux cellules jointives. Stade caractéristique de la cytocinèse successive.

Ectexine

Couche externe de l'exine.

Ectoaperture

Aperture dans la couche externe du sporoderme.

Endexine

Couche interne de l'exine.

Endoaperture

Aperture dans la couche interne du sporoderme.

Exine

Couche externe de la paroi des grains de pollen composée de sporopollénine.

Filament d'actine

Un filament d'actine, ou microfilament, est un homopolymère de la protéine actine. C'est un constituant essentiel du cytosquelette des cellules eucaryotes, ainsi que des fibres musculaires.

Gamétophyte

Organisme produisant des gamètes.

Grain de pollen

Gamétophyte mâle des Angiospermes.

Grain de pollen brévisulqué

Grain de pollen dont l'aperture est en forme de sillon très court.

Grain de pollen cryptoaperturé

Grain de pollen possédant des apertures multiples mais non visibles.

Grain de pollen dicolpé

Grain de pollen possédant deux apertures en forme de sillon, disposés au niveau de l'équateur et orientés vers les pôles.

Grain de pollen diporé

Grain de pollen possédant deux apertures en forme de pore.

Grain de pollen méridionosulqué

Grain de pollen dont l'aperture en forme d'anneau entoure le grain de pollen en passant par l'équateur.

Grain de pollen monoporé

Grain de pollen dont l'aperture est en forme de pore.

Grain de pollen monosulqué

Grain de pollen dont l'aperture en forme de sillon est en position distale.

Grain de pollen oblate

Grain de pollen dont l'axe polaire est plus court que le plus grand axe équatorial.

Grain de pollen omniaperturé

Grain de pollen dont l'aperture recouvre toute la surface.

Grain de pollen polyaperturé

Grain de pollen possédant de multiples apertures.

Grain de pollen prolate

Grain de pollen dont l'axe polaire est plus long que le plus grand axe équatorial.

Grain de pollen spiraperturé

Grain de pollen dont l'aperture sillone sur toute la surface.

Grain de pollen tétrachotomosulqué

Grain de pollen dont l'aperture est en forme de sillon à quatre branches.

Grain de pollen trichotomosulqué

Grain de pollen dont l'aperture est en forme de sillon à trois branches.

Grain de pollen tricolpé

Grain de pollen possédant trois apertures en forme de sillon disposées à l'équateur et orientées vers les pôles.

Grain de pollen zonosulqué

Grain de pollen dont l'aperture en forme d'anneau entoure le grain de pollen en passant par les pôles.

Harmomégaie

Propriété permettant des variations de volume du grain de pollen sans rupture de la paroi.

Hétéromorphisme pollinique

Production de plusieurs formes de pollen par une même espèce.

Intine

Couche interne de la paroi des grains de pollen.

Karyocinèse

Division des noyaux lors d'une division cellulaire.

Manteau pollinique ou pollenkitt

Matériel collant composé de molécules variables et sécrétées par le tapis des anthères. Il se localise à la surface des grains de pollen.

Méiose

Division cellulaire donnant naissance aux gamètes.

Microspore

Spore mâle donnant un grain de pollen par divisions cellulaires.

Microsporogénèse

Ontogénèse des grains de pollen.

Microspocyte

Cellule mère des microspores.

Microtubules

Les microtubules sont des fibres constitutives du cytosquelette et jouent un rôle important dans les processus de divisions cellulaire et les transports cytoplasmiques. Leurs extrémités polymérisent et dépolymérisent en permanence mais chacune a des propriétés différentes. On parle d'une extrémité "plus" et d'une extrémité "moins".

Nexine

Couche non ornementée de l'exine.

Phragmoplaste

Il permet la formation de la plaque cellulaire qui va séparer les cytoplasmes lors d'une division cellulaire. Il est constitué de microtubules de polarités opposées situées de part et d'autre du plan de cytokinèse et qui se chevauchent en son milieu. Des vésicules de callose sont transportées par les microtubules et coalescent pour former la plaque cellulaire.

Plans de cytokinèse

Ils se situent aux frontières des NCDs (Nuclear Cytoplasmic Domains), dans des plans orthogonaux aux réseaux de microtubules et représentent les zones de formation des plaques cellulaires.

Plasmalemme

Membrane composée d'une mosaïque de protéines et de phospholipides, qui entoure chaque cellule procaryote ou eucaryote et définit l'interface entre le cytosol et l'extérieur. Synonyme de membrane plasmique.

Plasmodesmes

Prolongement cytoplasmique unissant des cellules voisines les unes aux autres et permettant toutes sortes d'échanges chimiques entre elles.

Pollinisation anémophile

Pollinisation par le vent.

Pollinisation entomophile

Pollinisation par les insectes.

Primexine

Précurseur de l'exine composé principalement de cellulose.

Réticulum endoplasmique

Organite présent dans les cellules eucaryotes. Le RE modifie les protéines, produit des macromolécules et transfère des substances vers l'appareil de Golgi.

Sexine

Couche ornementée de l'exine.

Sporopollénine

Polymère naturel constituant principal de l'exine.

Tectum

Couche supérieure de l'ectexine qui forme un toit au-dessus des columelles.

Tétrade

Ensemble formé de quatre cellules jointives.

Tétrade décussée

Tétrade à trois ou quatre plans de division, les deux paires de microspores sont situées dans des plans orthogonaux.

Tétrade rhomboïdale

Tétrade à cinq plans de division, les quatre microspores sont dans un même plan.

Tétrade tétraédrique

Tétrade à six plans de division, les quatre microspores forment un tétraèdre.

Tétrade tétragonale

Tétrade à trois ou quatre plans de division, les quatre microspores sont dans un même plan.

Type apertural

Forme, nombre et arrangement des ouvertures à la surface des grains de pollen.

ZCA

Zones de Convergence Aperturale = zones au niveau desquelles les ouvertures se forment ou vers lesquelles elles sont orientées. Elles peuvent correspondre aux derniers points de dépôt de la callose.

LISTE DES EXPOSANTS

Les exposants rencontrés dans le manuscrit correspondent aux adresses des sites Internet sur lesquels j'ai trouvé les documents correspondants.

CHAPITRE I

- 1 (p.21) http://bib18.ulb.ac.be/Botanique_I/image/
- 2 (p.22) http://www.uri.edu/artsci/bio/plant_anatomy/149.html
- 3 (p.26) <http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/english/seminar/b2E.html>
- 4 (p.31) <http://paldat.botanik.univie.ac.at/term.php>
- 5 (p.31) <http://www.bio.uu.nl/~palaeo/glossary/glos-p2.htm>
- 6 (p.33) http://www.botany.unibe.ch/paleo/pollen_e/surface.htm
- 7 (p.33) <http://paldat.botanik.univie.ac.at/term.php>
- 8 (p.36) <http://www.bio.uu.nl/~palaeo/glossary/glos-p3.htm>
- 9 (p.47) <http://www.tiscali.co.uk/reference/encyclopaedia/hutchinson/m0007042.html>
- 10 (p.49) <http://www.botany.org/plantimages/ImageData.asp?IDN=abot90-5>

CHAPITRE II

- 11 (p.56) http://www.nature.ca/discover/field/anderson/1999/bol4_f.cfm
- 12 (p.56) <http://www.pbase.com/webman06/image/40219955>
- 13 (p.57) http://www.anbg.gov.au/images/photo_cd/632030813539/086.html
- 14 (p.57) http://www.hilozoo.com/plants/PP_aiphanes.htm
- 15 (p.57) http://www.plantapalm.com/vpe/photos/Species/arenga_pinnata.htm
- 16 (p.58) <http://perso.orange.fr/palmarium/morphologie.html>
- 17 (p.58) <http://www.swsbm.com/HOMEPAGE/GenusIndex.html>
- 18 (p.59) <http://www.rarepalmseeds.com/pix/CorUmb.shtml>
- 19 (p.60) <http://perso.orange.fr/francois.arizzi/praslin.htm>
- 20 (p.60) <http://www.geo.arizona.edu/Antevs/ecol438/lect04.html>
- 21 (p.61) http://www.montgomerybotanical.org/Pages/Collection_Palm_Collection.htm
- 22 (p.61) <http://botit.botany.wisc.edu/courses/img/bot/401/Magnoliophyta/Liliopsida/Arecidae/Arecaceae/Prestoea/>
- 23 (p.62) <http://www.palms.org/palmsjournal/2003/serenoaFL.htm>
- 24 (p.63) <http://www.pacsoa.org.au/palms/Pritchardiopsis/jeanneneyi.html>
- 25 (p.65) <http://www.wingedox.com/stations.htm>

CHAPITRE III

- 26 (p.71) http://paldat.botanik.univie.ac.at/index.php?page=search&mode=results_r&nr=4
- 27 (p.88) <http://pl.wikipedia.org/wiki/Grafika:Sabal-maritima.jpg>
- 28 (p.88) <http://www.botaniewebsite.nl/trachycarpus/fototrachycarpus02.html>
- 29 (p.90) <http://www.palmparadise.biz/palmy/01.html>
- 30 (p.91) <http://www.rarepalmseeds.com/pix/ChaMax.shtml>
- 31 (p.91) <http://www.pacsoa.org.au/palms/Chamaedorea/plumosa.html>
- 32 (p.91) <http://www.nickelpalmnursery.com/images/palmpics/C-D/Chamaedorea%20radicalis%20-%20Tree%20form%20' Tree%20Rad'.jpg>
- 33 (p.93) <http://palms.ifas.ufl.edu/palm-id/group5.html>

LISTE DES FIGURES, TABLEAUX, ENCADRES ET ANNEXES

FIGURES

INTRODUCTION GENERALE

- 1 (p.16) Evolution parallèle des morphologies trophiques chez des espèces de poissons Cichlidées de deux lacs Africains.

CHAPITRE I

- 2 (p.21) Schéma d'une coupe longitudinale d'une fleur d'Angiosperme.
3 (p.22) Photo d'une coupe transversale d'une anthère d'Angiosperme.
4 (p.23) Déroulement général de la méiose.
5 (p.24) Anaphase II.
6 (p.25) Description des différents types de cytokinèse.
7 (p.25) Description des différents modes de formation des parois.
8 (p.26) Observations du phragmoplaste lors de la méiose.
9 (p.28) Description des différentes formes de tétrade.
10 (p.28) Les différentes formes de tétrades à trois plans de cytokinèse.
11 (p.30) Schéma de l'organisation interne d'un grain de pollen.
12 (p.31) Quelques exemples des différentes formes de grain de pollen que l'on peut observer chez les Angiospermes.
13 (p.31) Terminologie des différentes couches de la paroi des grains de pollen des Angiospermes selon Faegry and Inversen (1964).
14 (p.32) Différents types de structure d'exine observés chez les Angiospermes.
15 (p.33) Quelques exemples des différentes ornémentations que peut adopter l'exine de la paroi des grains de pollen d'Angiospermes.
16 (p.36) Les différents types de positionnement des ouvertures à la surface des grains de pollen.
17 (p.36) Exemples de variation du nombre et de la forme des ouvertures chez les Angiospermes.
18 (p.36) Ouvertures composées.
19 (p.39) Schéma de l'ontogenèse de la paroi pollinique et des ouvertures chez *Silene pendula* (Caryophyllaceae, Caryophyllales).
20 (p.40) Modèle établissant une relation entre composantes de la microsporogénèse et type apertural.
21 (p.42) Exemples de formation des Zones de Convergence Aperturale (ZCA) selon la forme de la tétrade et le sens de formation des plaques cellulaires.
22 (p.42) Arrangement des ouvertures dans la tétrade.
23 (p.43) Les deux plus importants profils de variation des types de pollen à partir du grain de pollen tricolpé.
24 (p.46) Principales tendances évolutives du type aperturale chez les Magnoliidées.
25 (p.47) Représentation simplifiée des différentes phases de la pollinisation chez les Angiospermes.
26 (p.49) Fécondation chez un Angiosperme.
27 (p.49) Photo en fluorescence de grains de pollen en germination sur un stigmate de renoncule.
28 (p.50) Hypothèse sur l'origine du pollen monosulqué issu d'une tétrade tétraédrique.

CHAPITRE II

- 29 (p.54) Phylogénie des Angiospermes.
30 (p.56) Palmier présentant des racines échassées.
31 (p.56) Coupe transversale d'un stipe de palmier.
32 (p.57) Liane de *Calamus*.
33 (p.57) Exemples de stipes de palmiers.
34 (p.58) Exemples de feuilles de palmiers.
35 (p.58) Jupe de feuilles de *Washingtonia filifera*.
36 (p.59) Inflorescence géante de *Corypha umbraculifera*.
37 (p.60) Graine Coco-fesse.
38 (p.60) Carte de répartition des palmiers dans le monde.
39 (p.61) Exemples de biotopes colonisés par les palmiers.

- 40 (p.62) Inflorescence de palmier visitée par un insecte.
 41 (p.63) *Pritchardiopsis jeanneneyi*, le palmier le plus rare de Nouvelle-Calédonie.
 42 (p.66) Phylogénie moléculaire des tribus d'*Arecaceae*.

CHAPITRE III

- 43 (p.71) Grains de pollen à l'état hydraté et déshydraté.
 44 (p.72) Les différentes formes de grain de pollen rencontrées chez les *Arecaceae*.
 45 (p.74) Dessins schématisques des principaux types d'exine chez les *Arecaceae*.
 46 (p.75) Présentation des différents types aperturaux rencontrés chez les palmiers.
 47 (p.76) Représentation en diagramme des cinq tendances évolutives possibles des apertures chez les *Arecaceae*.
 48 (p.76) Relation théorique entre type apertural et forme de la tétrade.
 49 (p.77) Tendances évolutives hypothétiques des types aperturaux chez les *Arecaceae*.
 50 (p.78) Reconstruction de l'évolution du caractère type d'aperture chez les *Arecaceae*.
 50 bis (p.80) Reconstruction de l'évolution du caractère type d'aperture chez les *Arecaceae* (suite).
 51 (p.81) Schéma représentatif des tendances évolutives de la morphologie pollinique chez les *Arecaceae*.
 52 (p.83) Reconstruction de l'évolution du type pollinique chez les *Calamoideae*.
 53 (p.88) Microsporogénèse chez trois espèces de *Coryphoideae*.
 54 (p.89) Microsporogénèse chez trois espèces d'*Arecoideae*.
 55 (p.90) Microsporogénèse chez cinq espèces d'*Arecoideae*.
 56 (p.91) Microsporogénèse chez trois espèces d'*Arecoideae*.
 57 (p.92) Stade quasi-dyade chez *Butia* sp.
 58 (p.93) Quelques exemples de formation des parois chez *Hyphaene coriacea*.
 59 (p.95) Différentes voies de développement menant au pollen monosulqué.
 60 (p.97) Liens hypothétiques entre arrangement tridimensionnel des noyaux dans le cytoplasme et forme finale de la tétrade.
 61 (p.97) Formation de pollen trichotomosulqué.

CHAPITRE IV

- 62 (p.114) Schémas d'une phylogénie représentant deux répartitions différentes d'états de caractère au niveau des taxons terminaux.
 63 (p.117) Phylogénie des espèces utilisées et numéros des nœuds ancestraux et terminaux.
 64 (p.118) Longueurs relatives des branches de la phylogénie des *Arecaceae* utilisée dans cette étude.
 65 (p.120) Test du signal phylogénétique pour le type de cytocinèse, le sens de formation des parois, les dépôts additionnels de callose, la forme des tétrades et l'anneau de callose.
 66 (p.122) Optimisation de l'évolution de la cytocinèse chez les *Arecaceae* par maximum de vraisemblance, en considérant que *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis* présentent un cytocinèse à la fois successive et simultanée.
 67 (p.123) Optimisation de l'évolution du sens de formation des parois callosiques chez les *Arecaceae* par maximum de vraisemblance.
 68 (p.124) Optimisation de l'évolution de la présence ou non de dépôts additionnels de callose chez les *Arecaceae* par maximum de vraisemblance.
 69 (p.125) Optimisation de l'évolution de la présence ou non d'un anneau de callose chez les *Arecaceae* par maximum de vraisemblance.
 70 (p.127) Reconstruction des transitions expliquant l'évolution du type de cytocinèse, du sens de formation des parois intersporales, des dépôts additionnels de callose, de la forme des tétrades et de l'anneau de callose chez les *Arecaceae*.

CHAPITRE V

- 71 (p.166) Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) pour une cytocinèse simultanée, une formation des parois centrifuge par rapport aux plans de cytocinèse et différentes formes de tétrade.
 72 (p.166) Arrangement des apertures au sein d'une tétrade tétragonale d'*Hyophorbe lagenicaulis* (*Arecoideae*).

- 73 (p.167) Exemples d'arrangements des ouvertures au sein de tétrades rhomboïdales chez trois espèces d'*Arecoideae*.
- 74 (p.168) Arrangement des ouvertures au sein d'une tétrade rhomboïdale lorsque les parois intersporales se forment de manière centrifuge par rapport aux plans de cytotinèse et qu'il n'y a pas de dépôt additionnel de callose.
- 75 (p.168) Arrangement des ouvertures au sein d'une tétrade rhomboïdale d'*Areca catechu* (*Arecoideae*) lorsque les parois intersporales se forment de manière centrifuge par rapport aux plans de cytotinèse et que des dépôts additionnels de callose sont observés.
- 76 (p.169) Exemples d'arrangements des ouvertures au sein de tétrades tétraédriques produites par huit espèces d'*Arecoideae* présentant une cytotinèse simultanée et des parois intersporales se formant de manière centrifuge par rapport aux plans de cytotinèse.
- 77 (p.170) Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) pour une cytotinèse simultanée, une formation des parois centripète par rapport aux plans de cytotinèse et différentes formes de tétrade.
- 78 (p.170) Exemples d'arrangements des ouvertures dans deux tétrades tétraédriques d'*Arecaceae*.
- 79 (p.171) Exemples d'arrangements des ouvertures au sein de tétrades rhomboïdales.
- 80 (p.172) Arrangement des ouvertures au sein d'une tétrade rhomboïdale lorsque les parois intersporales se forment de manière centripète par rapport aux plans de cytotinèse et qu'il n'y a pas de dépôt additionnel de callose.
- 81 (p.173) Tétrade tétraédrique de *Chamaedorea macrospadix* présentant trois grains de pollen monosulqués et un grain de pollen trichotomosulqué.
- 82 (p.174) Exemples d'arrangements des ouvertures au sein de tétrades tétraédriques chez huit espèces d'*Arecaceae* présentant une cytotinèse simultanée et des parois intersporales se formant de manière centripète par rapport aux plans de cytotinèse.
- 83 (p.175) Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) pour une cytotinèse simultanée, une formation des parois centripète par rapport à la tétrade et différentes formes de tétrade.
- 84 (p.175) Arrangement des ouvertures dans une tétrade rhomboïdale de *Bismarckia nobilis* (*Coryphoideae*).
- 85 (p.176) Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) pour une cytotinèse successive et simultanée, une formation des parois centrifuge par rapport aux plans de cytotinèse et différentes formes de tétrade.
- 86 (p.177) Exemples d'arrangements des ouvertures dans des tétrades tétraédriques de deux espèces de *Coryphoideae*.
- 87 (p.177) Exemple d'arrangement des ouvertures dans une tétrade rhomboïdale de *Caryota mitis* (*Coryphoideae*).
- 88 (p.178) Exemples d'arrangements des ouvertures dans des tétrades tétraédriques chez deux espèces de *Coryphoideae* présentant une cytotinèse simultanée associée à des cas de cytotinèse successive et des parois se formant de manière centrifuge par rapport aux plans de cytotinèse.
- 89 (p.179) Types aperturaux attendus par le modèle de Ressayre *et al.* (2002a) pour une cytotinèse successive et simultanée, une formation des parois centripète par rapport aux plans de cytotinèse et différentes formes de tétrade.
- 90 (p.179) Arrangement des ouvertures dans une tétrade tétraédrique d'*Hyphaene coriacea* (*Coryphoideae*).
- 91 (p.179) Exemple d'arrangement des ouvertures dans une tétrade tétraédrique d'*Hyphaene coriacea* (*Coryphoideae*).
- 92 (p.180) Schémas des cinq principaux arrangements des ouvertures des pollens monosulqués dans une tétrade tétraédrique irrégulière pouvant être observés chez les espèces de palmiers échantillonnées.
- 93 (p.181) Comparaison de la taille des parois intersporales de deux tétrades tétraédriques irrégulières au sein desquelles l'arrangement des ouvertures diffère.
- 94 (p.182) Représentation schématique de tous les arrangements d'ouvertures dérivant de l'arrangement apertural de la catégorie A de la figure 92 et pouvant potentiellement être observés chez les espèces de palmiers échantillonnées.

- 95 (p.183) Exemple d'une série continue de formes de tétrades permettant d'aller d'une tétrade tétragonale à une tétrade décussée en passant par plusieurs formes de tétrade tétraédriques irrégulières.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

- 96 (p.193) Représentation des types polliniques rencontrés dans les tribus de palmiers ainsi que des transitions évolutives probables de trois composantes de la microsporogénèse.
- 97 (p.194) Optimisation de l'évolution du type de cytotinèse chez les Asparagales par la méthode du maximum de parcimonie, à l'aide du logiciel Mesquite.

TABLEAUX

CHAPITRE I

- 1 (p.32) Terminologies les plus utilisées pour décrire les différentes couches de la paroi des grains de pollen.

CHAPITRE III

- 2 (p.73) Quelques exemples de dimensions de grains de pollen chez les *Arecaceae*.
- 3 (p.85) Liste des espèces de palmiers échantillonnées.
- 4 (p.87) Liste des états de caractère concernant le type de cytotinèse, la forme de la tétrade, le sens de formation des parois séparant les microspores, les dépôts additionnels de callose et l'anneau de callose pour chaque espèce étudiée.
- 5 (p.92) Exemples de pourcentages des différents types de Grains de Pollen (GP) produits chez les espèces de palmiers hétéromorphes échantillonnées.

CHAPITRE IV

- 6 (p.116) Codage utilisé pour les différents caractères de la microsporogénèse dans le cadre de l'étude de leur évolution au sein des *Arecaceae*.
- 7 (p.118) Signification des principaux nœuds de la phylogénie des *Arecaceae* utilisée dans cette étude.
- 8 (p.128) Etats ancestraux putatifs inférés aux principaux nœuds de l'arbre selon la méthode du ML, pour le type de cytotinèse, la forme des tétrades, le sens de formation des parois, les dépôts additionnels de callose et l'anneau de callose.

CHAPITRE V

- 9 (p.181) Tableau indiquant les figures sur lesquelles on peut observer les arrangements aperturax décrits dans la figure 92 (A-E).

ENCADRES

CHAPITRE I

- (p.44) Quelques caractères polliniques sujets à variation chez les Angiospermes.

CHAPITRE II

- (p.64) Usages des palmiers, importance économique.
- (p.65) La symbolique du palmier.

ANNEXES

- A Exemples de différentes classifications des palmiers depuis le XIX^{ème} siècle.
- B Types aperturax existant chez les *Arecaceae* selon Harley et Baker (2001).
- C Description des types de pollen observés chez les différentes espèces de palmier présentes dans la phylogénie construite par Asmussen *et al.* (2006).
- D Liste des espèces d'*Arecaceae* étudiées ainsi que leur lieu d'origine et leur numéro de collection lorsqu'il était disponible.
- E Recette des colorants utilisés lors de la préparation du matériel d'étude.
- F Pourcentages des différentes formes de tétrades pour chaque espèce de palmier étudiée.
- G Optimisation de l'évolution des différents caractères de la microsporogénèse aux noeuds les plus importants.

ANNEXES

ANNEXE A. Exemples de différentes classifications des palmiers depuis le XIXème siècle, d'après Uhl et Dransfield (1987). Chiffres romains d'après la numérotation originale des auteurs ; les chiffres arabes indiquent la position relative des catégories non numérotées.

Martius 1849-53	Drude 1887	Moore 1973	Dransfield et Uhl 1986	
Familles	Sous-familles	Sans rang	Sous-familles	Tribues
3 Coryphinae	I Coryphoinae	I Coryphoid	I Coryphoideae	Coryphea
Coryphinae Tribue Phoenicinae	Coryphinae Tribue Phoeniceae	II Phoenicoid		Phoeniceae
2 Borassinae	II Borassinae	III Borassoid		Borasseae
5 Lepidocaryinae	III Lepidocaryinae	IV Lepidocaryoid	II Calamoideae	Calameae
				Lepidocaryeae
6 Palmier Heteroclitae	V Phytelephantinae	V Nypoid	III Nypoideae	
	Ceroxylinae-Arecineae Sous-tribue Morenieae	VII Pseudophoenicoid	IV Ceroxyloideae	Cyclospatheae
Arecinae	Ceroxylinae-Arecineae Sous-tribue Iriarteae	VIII Ceroxyloid		Ceroxyleae
Arecinae	Ceroxylinae-Arecineae Sous-tribue Morenieae	IX Chamaedoreoid		Hyophorbeae
Areciane Tribue Caryotinae	Ceroxylinae-Arecineae Sous-tribue Caryoteae	VI Caryotoid	V Arecoideae	Caryoteae
Arecinae	Ceroxylinae-Arecineae Sous-tribue Iriarteae	X Iriarteoid		Iriarteae
	Ceroxylinae-Arecineae Sous-tribue Geomeae	XI Podocoid		Podococceae
1 Arecinae	IV Ceroxylinae Tribue Arecineae	XII Arecoid		Areceae
4 Coccoinae	IV Ceroxylinae Tribue Coccoineae	XIII Cocosoid		Cocoeae
Arecinae Alveolares	Ceroxylinae - Arecineae Sous-tribue Geomeae	XIV Geonomoid		Geomeae
6 Palmier Heteroclitae	V Phytelephantinae	XV Phytelephantoid	VI Phytelephantoideae	

ANNEXE B. Types aperturaux existant chez les *Arecaceae* selon Harley et Baker (2001).

Type apertural	Forme	Aperture	Particularités	Observations
Monosulqué, symétrique	Elliptique, symétrique	1 sillon au pôle distal	- Sillon = L - Sillon < L	Toutes les sous-familles de palmiers. Caractéristique des Monocotylédones.
Monosulqué, asymétrique	Triangulaire, asymétrique	1 sillon au pôle distal	- Sillon = L - Sillon < L - Sillon large, presque circulaire	Toutes les sous-familles de palmiers
Monosulqué, étendu	Elliptique, symétrique	1 sillon au pôle distal	Sillon > L	Toutes les sous-familles de palmiers exceptés les <i>Ceroxyloideae</i> . Assez rare
Brévisulqué	Elliptique, symétrique	1 sillon au pôle distal, parfois excentré	Sillon <<< L	Calamoideae
Dicolporé	Elliptique, symétrique	2 sillons à l'équateur, les extrémités vers les pôles	5 sous-classes basées sur la taille des colpus	Calamoideae
Disulqué	Elliptique, symétrique	2 sillons de chaque côté du pôle distal		Calamoideae
Trichotomosulqué, symétrique	Triangulaire, symétrique	1 sillon à trois branches	Peut ou non être produit en même temps que du pollen monosulqué symétrique	Toutes les sous-familles de palmiers
Trichotomosulqué, asymétrique	Triangulaire, asymétrique	1 sillon à trois branches	Peut ou non être produit en même temps que du pollen monosulqué asymétrique	Toutes les sous-familles de palmiers
Monoporé, symétrique	Sphérique ou elliptique, symétrique	1 pore au pôle distal		<i>Ceroxyloideae</i> surtout
Monoporé, asymétrique	Elliptique, asymétrique	1 pore juste au-dessus de l'équateur, sur l'axe le plus long du grain de pollen		Rare, Calamoideae
Diporé	Sphérique ou elliptique	2 pores sur le grand axe de l'équateur		Calamoideae
Diporé, sub-équatorial	Elliptique	2 pores juste au-dessus du grand axe de l'équateur		Calamoideae
Triporé, apical	Triangulaire	3 pores aux sommets du triangle		Très rare, <i>Arecoideae</i>

Type apertural	Forme	Aperture	Particularités	Observations
Triporé sub-apical	Triangulaire	3 pores au niveau des sommets du triangle, sur la face distale		Rare, Arecoideae
Incomplètement zonosulqué	Sphériques ou légèrement ovales	1 très long sillon entourant presque entièrement le grain de pollen et passant par les deux pôles	Connexion qui persiste au pôle distal	Arecoideae
Zonosulqué	Sphérique	1 sillon entourant entièrement le grain de pollen		Nypoideae et Calamoideae
Inaperturé	Sphérique		Omniaperturé ou Cryptoaperturé	Une seule espèce de Calamoideae

ANNEXE C. Description des types de pollen observés chez les différentes espèces de palmier présentes dans la phylogénie construite par Asmussen *et al.* (2006). La classification des espèces utilisée est en accord avec celle de Dransfield *et al.* (2005). Lorsque aucune donnée n'était disponible, des espèces congénériques ont été utilisées pour avoir accès aux types polliniques présents dans les genres en question. Ces espèces figurent dans le tableau en gras.

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
CALAMOIDEAE			
Calameae			
Calaminae	<i>Calamus aruensis</i> Becc.		
	<i>Calamus castaneus</i> Griff.	dicolpé	Thanikaimoni, 1970
	<i>Salacca ramosiana</i> Mogeia	di-aperturé	Harley & Baker, 2001
Korthalsiinae	<i>Korthalsia cheb</i> Becc.	di-aperturé	Harley & Baker, 2001
Metroxylinae	<i>Metroxylon salomonense</i> (Warb.) Becc.	dicolpé; disulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972; Harley, 1999a
Pigafettinae	<i>Pigafetta elata</i> (Mart.) H.Wendl.	inaperturé	Harley, 1999a, Harley & Baker, 2001
Plectocomiinae	<i>Plectocomia mulleri</i> Blume	dicolpé; equatorial disulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972; Harley & Baker, 2001
Eugeissoneae	<i>Eugeissona tristis</i> Griff.	monosulqué étendu	Thanikaimoni, 1970, Harley, 1999b, Harley & Baker, 2001
Lepidocaryeae			
Ancistrophyllinae	<i>Eremospatha wendlandiana</i> Becc.	mono-aperturé	Harley & Baker, 2001
	<i>Laccosperma acutiflorum</i> (Becc.) J.Dransf.	mono-aperturé	Harley & Baker, 2001
	<i>Oncocalamus tuleyi</i> Sunderl.		
	<i>Oncocalamus mannii</i> (H. Wendl.) H. Wendl. And Drude	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Raphiinae	<i>Raphia farinifera</i> (Gaertn.) Hylander	monosulqué+monoporé; monosulqué	Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972
Mauritiinae	<i>Mauritia flexuosa</i> L.f.	monosulqué+brevi-monosulqué; monosulqué; monosulqué+monoporé	Erdtman, 1952; Sowunmi, 1968, Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
NYPOIDEAE	<i>Nypa fruticans</i> Wurm.	disulqué; méridionosulqué.; monosulqué+zonosulqué; zonosulqué	Erdtman, 1952; Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972; Harley, 1999a, Harley, 1999b, Harley & Baker, 2001, Harley & Dransfield, 2003
CORYPHOIDEAE			
Borasseae			
Hyphaeninae	<i>Bismarckia nobilis</i> Hildebr. & H.Wendl <i>Satranala decussilvae</i> Beentje & J.Dransf. <i>Hyphaene thebaica</i> Mart.	monosulqué monosulqué	Sowunmi, 1972, Ferguson & al., 1987 Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972, Ferguson & al., 1987
	<i>Medemia argun</i> Wuert. Ex H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972, Ferguson & al., 1987
Lataniinae	<i>Borassodendron machadonis</i> (Ridl.) Becc. <i>Borassus (flabelliformis) flabellifer</i> L. <i>Lodoicea maldivica</i> (J.F.Gmel.) Pers. <i>Latania verschaffeltii</i> Lem.	monoporé monosulqué monosulqué monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Ferguson & al., 1987 Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972, Ferguson & al., 1987 Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972, Ferguson & al., 1987
Caryoteae	<i>Arenga hookeriana</i> (Becc.) Whitmore <i>Arenga undulatifolia</i> Becc. <i>Wallichia disticha</i> T.Anders. <i>Caryota mitis</i> Lour. <i>Caryota ophiopellis</i> Dowe	monosulqué monosulqué monosulqué monosulqué-operculé; monosulqué	Sowunmi, 1972 Sowunmi, 1972 Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970 Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972
Chuniophoeniceae	<i>Kerriodoxa elegans</i> J.Dransf. <i>Nannorrhops pritchiana</i> H.Wendl. <i>Chuniophoenix nana</i> Burret <i>Chuniophoenix hainanensis</i> Burret	mono-aperturé monosulqué monosulqué	Harley & Baker, 2001 Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972 Barfod, 1988
Corypheae	<i>Corypha umbraculifera</i> L. <i>Corypha taliera</i> Roxb.	monosulqué monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Barfod, 1988

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
Cryosophileae	<i>Hemithrinax compacta</i> (Griseb. & H.Wendl.) Hook.f.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Thrinax morrisii</i> H.Wendl.		
	<i>Schippia concolor</i> Burret	monosulqué	Harley, 1990
	<i>Trithrinax campestris</i> (Burmeist.) Drude & Griseb.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Zombia antillarum</i> (Desc.) L.H.Bailey	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Coccothrinax argentata</i> (Jacq.) L.H.Bailey	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972, Dransfield & al., 1990
	<i>Thrinax radiata</i> Lodd. ex Schult. & Schult.f.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Chelyocarpus ulei</i> Dammer	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Cryosophila warscewiczii</i> (H.Wendl.) H.H.Bartl.	monosulqué+trichotomosulqué; monosulqué	Thanikaimoni, 1970; Dransfield & al., 1990, Sowunmi, 1972
<i>Itaya amicornum</i> H.E.Moore			
Livistoneae			
Livistoninae	<i>Licuala kunstleri</i> Becc.	monosulqué	
	<i>Livistona chinensis</i> (Jacq.) R.Br.ex Mart.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
Rhapidiinae	<i>Copernicia prunifera</i> (Mill.) H.E.Moore	monosulqué	Sowunmi, 1972
	<i>Maxburretia rupicola</i> (Ridley) Furtado	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Rhapis excelsa</i> Henry ex Rehder	monosulqué	Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972
	<i>Rhapidophyllum hystrix</i> (Pursh) H.Wendl. & Drude	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Guihaia argyrata</i> (S.K.Lee & F.N.Wei) S.K.Lee, F.N.Wei & J.Dransf.		
	<i>Trachycarpus fortunei</i> (Hook.) H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Chamaerops humilis</i> L.	monosulc-pontoperculé; distal disulqué; distal disulqué+trichotomosulqué	Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970, Dransfield & al., 1990; Harley, 1999a; Harley, 1999b, Harley & Baker, 2001

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
Genres de Livistoneae non placés	<i>Brahea berlandieri</i> Bartlett	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Acoelorrhaphe wrightii</i> H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Serenoa repens</i> (Bartram) J.K.Small	monosulqué	Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972
	<i>Colpothrinax wrightii</i> H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972, Dransfield & al., 1990
	<i>Pritchardia arecina</i> Becc.		
	<i>Pritchardia pacifica</i> Seem. & H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Harley & Morley, 1995
	<i>Washingtonia robusta</i> H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Dransfield & al., 1990
	<i>Johannesteijsmannia altifrons</i> (Reichb.f. & Zoll.) H.E.Moore	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Pholidocarpus macrocarpus</i> Becc.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Pritchardiopsis jeanneneyi</i> Becc.		
Phoenixaceae	<i>Phoenix reclinata</i> Jacq.	monosulqué	Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	monosulqué	Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Phoenix canariensis</i> Chabaud	monosulqué	Sowunmi, 1972
Sabaleae	<i>Sabal bermudana</i> L.H.Bailey		
	<i>Sabal minor</i> (Jacq.) Pers.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
CEROXYLOIDEAE			
Ceroxyleae	<i>Ceroxylon quindiunse</i> (H.Karst.) H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Juania australis</i> Drude ex Hook.f.	monosulqué	Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Oraniopsis appendiculata</i> (F.M.Bailey) J.Dransf., A.K.Irvine & N.W.Uhl		
	<i>Ravenea louvelii</i> Beentje	sym monoporé	Harley, 1999a
Cyclospatheae	<i>Pseudophoenix sargentii</i> H.Wendl. ex Sarg.	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué	Sowunmi, 1972

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
Phytelepheae	<i>Pseudophoenix vinifera</i> (Mart.) Becc.	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué; monosulqué	Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972
	<i>Aphandra natalia</i> (A.J.Henderson & Balslev) Barfod		
	<i>Phytelephas aequatorialis</i> Spruce	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Ammandra decasperma</i> O.F.Cook	monoporé; brevi-monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Barfod, 1988; Harley, 1999a, Harley & Baker, 2001
	<i>Phytelephas macrocarpa</i> Ruiz & Pav.	monosulqué	Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972, Barfod, 1988
ARECOIDEAE			
Areceae			
Archontophoenicinae	<i>Actinorhysis calapparia</i> H.Wendl. & Drude	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Archontophoenix purpurea</i> Hodel & Dowe	monosulqué	Thanikaimoni 1970
	<i>Actinokentia divaricata</i> (Brongn.) Dammer	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Chambeyronia macrocarpa</i> (Brongn.) Vieill. ex Becc.	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Kentiopsis oliviformis</i> (Brongn. & Gris.) Brongn.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Arecinae	<i>Areca triandra</i> Roxb.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Nenga pumila</i> (Mart.) H.Wendl. Var. pachystachys (Blume) Fernando	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Basseliniinae	<i>Alloschmidia glabrata</i> (Becc.) H.E.Moore		
	<i>Basselinia velutina</i> Becc.	monosulqué	Harley & Morley, 1995
	<i>Hydriastele chaenostachys</i> (Burret) W.J.Baker & Loo	monosulqué	
	<i>Cyphosperma balansae</i> (Brongn.) H.Wendl. Ex Salomon	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Harley & Morley, 1995
	<i>Physokentia rosea</i> H.E.Moore	monosulqué	Thanikaimoni, 1970

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
	<i>Campecarpus fulcitus</i> (Brongn.) H.Wendl. Ex Becc.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Cyphophoenix elegans</i> H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Cyphophoenix nucele</i> H.E.Moore		
	<i>Veillonia alba</i> H.E.Moore		
Carpoxylinae	<i>Carpoxylon macrospermum</i> H.Wendl. & Drude	asym trichotomosulqué	Harley & Baker, 2001
	<i>Satakentia liukuensis</i> (Hatusima) H.E.Moore	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Neoveitchia storckii</i> Becc.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Clinospermatinae	<i>Cyphokentia macrostachya</i> Brongn.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Moratia cerifera</i> H.E.Moore		
	<i>Lavoixia macrocarpa</i> H.E.Moore		
	<i>Brongniartikentia lanuginosa</i> H.E.Moore		
	<i>Clinosperma bracteale</i> (Brongn.) Becc.		
Dypsidinae	<i>Marojejya darianii</i> J.Dransf. & N.W.Uhl		
	<i>Marojejya insignis</i> Humbert	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Masoala madagascariensis</i> Jum.		
	<i>Masoala kona</i> Beentje		
	<i>Dypsis lutescens</i> (H.Wendl.) Beentje & J.Dransf.	asym monosulqué	Harley, 1999a
	<i>Lemurophoenix halleuxii</i> J.Dransf.		
Linospadicinae	<i>Linospadix monostachya</i> (Mart.) H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Laccospadix australasica</i> H.Wendl. & Drude	monosulqué	Thanikaimoni 1970
	<i>Calyptrocalyx spicatus</i> (Lam.) Bl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Oncospermatinae	<i>Acanthophoenix rubra</i> (Bory) H.Wendl.	monosulqué	Mendis & al., 1987
	<i>Tectiphiala ferox</i> H.E.Moore	sym monosulqué	Mendis & al., 1987, Harley & Baker, 2001
	<i>Oncosperma tigillarum</i> (Jack) Ridley	monosulqué; monosulqué étendu	Sowunmi, 1972; Mendis & al., 1987

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
Ptychospermatinae	<i>Ptychosperma macarthurii</i> (H.Wendl. ex H.J.Veitch) H.Wendl. ex Hook.f.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Ponapea ledermanniana</i> Becc.		
	<i>Balaka cuneata</i> Burret	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Balaka seemannii</i> Becc.		
	<i>Veitchia arecina</i> Becc.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Carpentaria acuminata</i> (H.Wendl. & Drude) Becc.		
	<i>Wodyetia bifurcata</i> A.K.Irvin		
	<i>Brassiophoenix schumannii</i> (Becc.) Essig		
	<i>Ptychococcus paradoxus</i> (Scheff.) Becc.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	Rhopalostylidinae	<i>Rhopalostylis baueri</i> H.Wendl. & Drude var. <i>baueri</i>	monosulqué
<i>Hedyscepe canterburyana</i> (C.Moore & F.Muell.) H.Wendl & Drude			
Verschaffeltiinae	<i>Phoenicophorium borsigianum</i> (K.Koch) Stuntz	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972, Mendis & al., 1987
	<i>Roscheria melanochaetes</i> (H.Wendl.) H.Wendl.	monosulqué; monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué	Thanikaimoni, 1970, Mendis & al., 1987; Sowunmi, 1972
Genres d' Areceae non placés	<i>Cyrtostachys renda</i> Blume	monosulqué	Thanikaimoni 1970
	<i>Dictyosperma album</i> (Bory) Scheff.		
	<i>Dictyosperma porphyrocarpon</i> H. Wendl. & Drude	monosulqué	Erdtman, 1952
	<i>Lepidorrhachis mooreana</i> (F.Muell.) O.F.Cook	monosulqué	Harley & Morley, 1995
	<i>Loxococcus rupicola</i> H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Harley, 1990
	<i>Rhopaloblaste augusta</i> (Kurz) H.E.Moore		
	<i>Rhopaloblaste elegans</i> H.E.Moore	monosulqué	Thanikaimoni, 1970

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
	<i>Dransfieldia micrantha</i> (Becc.) W.J.Baker & Zona		
	<i>Heterospathe elata</i> Scheff.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Heterospathe longipes</i> (H.E.Moore) Norup		
	<i>Bentinckia nicobarica</i> Becc.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Clinostigma savoryanum</i> (Rehder & E.H.Wilson) H.E.Moore & Fosberg		
	<i>Clinostigma wendlandiana</i> (Becc.) H.E.Moore & Fosberg	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Hydriastele microspadix</i> (Becc.) Burret	trichotomosulqué	
	<i>Iguanura wallichiana</i> (Mart.) Bentham et Hook.f. ex Becc.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Harley & Morley, 1995
Cocoseae			
Attaleinae	<i>Allagoptera arenaria</i> (Gomez) Kuntze	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Syagrus smithii</i> (H.E.Moore) Glassman		
	<i>Syagrus sancona</i> H. Karst.	monosulqué; asym monosulqué	Thanikaimoni, 1970; Harley & Baker, 2001
	<i>Attalea allenii</i> H.E.Moore		
	<i>Attalea attaleoides</i> (Barb)	asym monosulqué	Harley, 1999a
	<i>Attalea funifera</i> Mart. Ex Spreng.	sym trichotomosulqué+asym trichotomosulqué	Harley, 1999a
	<i>Attalea microcarpa</i> (Mart.)	asym monosulqué+asym trichotomosulqué	Harley, 1999a
	<i>Cocos nucifera</i> L.	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué; monosulqué	Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972
	<i>Voanioala gerardii</i> J.Dransf.	sym monosulqué+sym trichotomosulqué	Harley, 1999a
	<i>Jubaeopsis caffra</i> Becc.	monosulqué; monosulqué+trichotomosulqué	Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972
	<i>Beccariophoenix madagascariensis</i> Jum. & H.Perrier	monosulqué	Thanikaimoni, 1970

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
Bactridinae	<i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq.) Lodd. ex Mart.	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué; occasionnellement monosulqué+trichotomosulqué; sym trichotomosulqué	Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972; Harley, 1999a, Harley & Baker, 2001
	<i>Acrocomia crispa</i> (Kunth) C.F.Baker ex Becc.	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué et tetrachotomosulc.; sym trichotomosulqué	Thanikaimoni, 1970; Harley, 1999a, Harley & Baker, 2001
	<i>Aiphanes aculeata</i> Willd.	monosulqué	Thanikaimoni 1970
	<i>Bactris gasipaes</i> Kunth	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Desmoncus orthacanthos</i> Mart.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.	monosulqué+trichotomosulqué; sym trichotomosulqué	Sowunmi, 1968, Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972; Harley, 1999a, Harley & Baker, 2001
Chamaedoreae	<i>Chamaedora microspadix</i> Burret	monosulqué	Nadot, in press
	<i>Gaussia maya</i> (O.F.Cook) H.J.Quero & Read	monosulqué	
	<i>Synechantus angustifolius</i> H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Synechantus warscewiczianus</i> H.Wendl.		
	<i>Hyophorbe lagenicaulis</i> (L.H.Bailey) H.E.Moore		
	<i>Hyophorbe indica</i> J. Gaertn.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Euterpeae	<i>Wendlandiella gracilis</i> Damm. Var. polyclada (Burret) A.Henderson	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Prestoea pubens</i> H.E.Moore		
	<i>Prestoea montana</i> (Graham) Nicolson	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Neonicholsonia watsonii</i> Damm.	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué; monosulqué	Erdtman, 1952, Thanikaimoni, 1970; Sowunmi, 1972
	<i>Hyospathe elegans</i> Mart. <i>Hyospathe macrorhachis</i> Burret	monosulqué	Thanikaimoni, 1970

SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
Geonomateae	<i>Calyptrogyne donnell-smithii</i> (Damm.) Burret	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Calyptrogyne ghiesbreghtiana</i> (Linden & H.Wendl.) H.Wendl.		
	<i>Calyptronoma occidentalis</i> (Sw.) H.E.Moore		
	<i>Calyptronoma dulcis</i> (Wright ex Griseb.) Bailey	monosulqué+occasionnellement trichotomosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Geonoma congesta</i> H.Wendl. Ex Spruce		
	<i>Geonoma schottiana</i>	monosulqué	Erdtman, 1952; Thanikaimoni, 1970
	<i>Asterogyne martiana</i> (H.Wendl.) H.Wendl. ex Drude	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Harley & Baker, 2001
	<i>Welfia regia</i> H.Wendl.		
	<i>Pholidostachys pulchra</i> H.Wendl. Ex Burret		
	<i>Pholidostachys synanthera</i> (Mart.)	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Iriarteae	<i>Iriartella stenocarpa</i> Burret	monosulc-pontoperculé; distal disulqué	Thanikaimoni 1970; Harley, 1999a, Harley, 1999b
	<i>Wettinia hirsuta</i> Burret	monosulqué?	Thanikaimoni 1970
	<i>Dictyocarpum lamarckianum</i> (Mart.) H.Wendl		
	<i>Iriartea deltoidea</i> Ruiz & Pav.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
	<i>Socratea exorrhiza</i> H.Wendl	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Manicarieae	<i>Manicaria saccifera</i> Gaertn.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
	<i>Leopoldinia pulchra</i> Mart.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Oranieae	<i>Orania ravaka</i> H.Beentje		
	<i>Orania lauterbachiana</i> Becc. <i>Orania paraguayensis</i> Becc.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970
Pelagodoxeae	<i>Pelagodoxa henryana</i> Becc.		
	<i>Sommieria leucophylla</i> Becc.		
Podococceae	<i>Podococcus barteri</i> G.Mann & H.Wendl.	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972

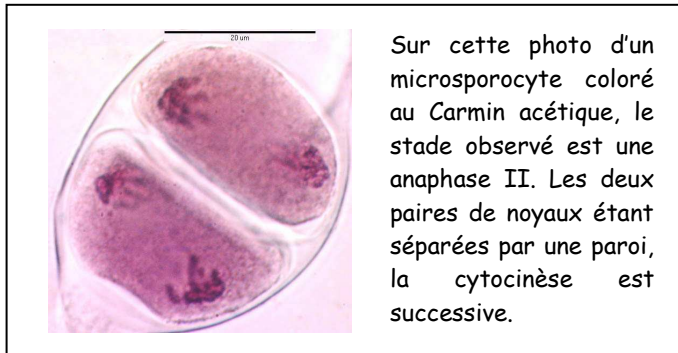
SOUS-FAMILLES Tribus et Sous-Tribus	Espèces	Type de pollen	Références
Reinhardtieae	<i>Reinhardtia simplex</i> (H. Wendl.) Drude ex Dammer	monosulqué; asym monosulqué+asym trichotomosulqué	Thanikaimoni, 1970; Harley & Baker, 2001
Roystoneae	<i>Roystonea oleracea</i> (Jacq.) O.F.Cook	monosulqué	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972
Sclerospermeae	<i>Sclerosperma mannii</i> H. Wendl.	triporé; sub-apical triporé	Thanikaimoni, 1970, Sowunmi, 1972; Harley, 1999a, Harley, 1999b, Harley & Baker, 2001, Harley & Dransfield, 2003
GROUPE			
EXTERIEURS (Famille)			
Hanguanaceae	<i>Hanguana malayana</i> Merr.	inaperturé	
Commelinaceae	<i>Tradescantia pallida</i> (Rose)	monosulqué	
Haemodoraceae	<i>Anigozanthos manglesii</i> D. Don	dicolpé	
Cannaceae	<i>Canna edulis</i> Ker-Gawl.	inaperturé	
Musaceae	<i>Musa rosea</i> Baker	inaperturé	
Poaceae	<i>Fargesia</i> sp.	monoporé	
Typhaceae	<i>Typha angustifolia</i> L.	monoporé	
Bromeliaceae	<i>Vriesia psittacina</i> Lindl.	monosulqué	
Dasypogonaceae	<i>Dasypogon bromelifolius</i> R.Br.	monosulqué	
Dasypogonaceae	<i>Kingia australis</i> R.Br.	monosulqué étendu+zonosulqué	

ANNEXE D. Liste des espèces d'Arecaceae étudiées ainsi que leur lieu d'origine et leur numéro de collection lorsqu'il était disponible. La position systématique correspond à la classification de Dransfield *et al.* (2005). MBC : Montgomery Botanical Center ; Orsay : Campus de l'Université Paris XI ; Auteuil : Serres d'Auteuil ; Chèvreloup : Serres de Chèvreloup ; Kew : Royal Botanical Gardens of Kew.

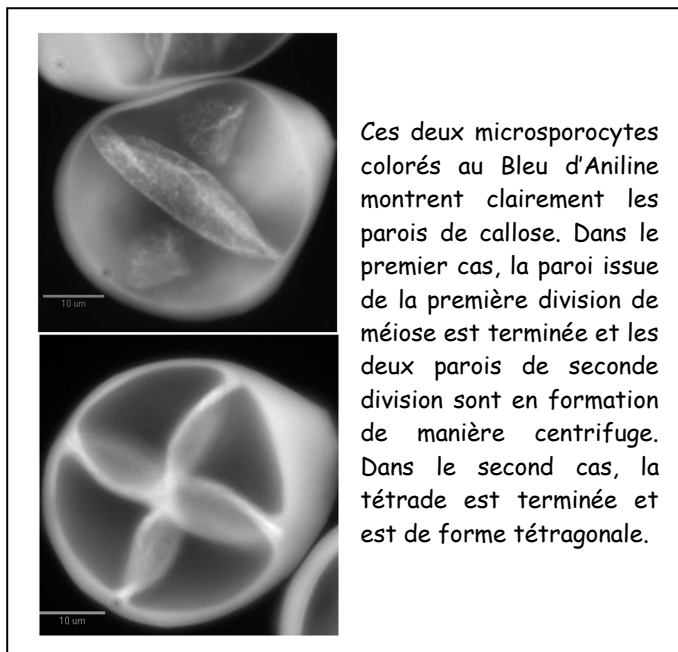
Sous-famille & Tribu	Genre & Espèce	Origine	Numéro de collection
Coryphoideae			
Sabaleae	<i>Sabal maritima</i> (Kunth) Burret	Chèvreloup	10113
Livistoneae	<i>Serenoa repens</i> Bartram	MBC	20040680.A ; Wild (no voucher)
	<i>Copernicia hospita</i> Mart.	MBC	94607.A, B
	<i>Trachycarpus fortunei</i> (Hook.) H.Wendl.	Orsay	/
Caryoteae	<i>Caryota mitis</i> Loureiro	MBC	87319.A, C ; 89225.D ; 89899.C
Borasseae	<i>Hyphaene coriacea</i> Gaertner	MBC	951155.C, F, J
	<i>Bismarckia nobilis</i> Hildebr. & H.Wendl	MBC	951189G
Arecoideae			
Cocoseae	<i>Allagoptera arenaria</i> Kuntze	MBC	97807.A, D, M, N ; 97805.A, C ; 71442.H, L
	<i>Butia</i> sp.	MBC	976.H
Chamaedoreeae	<i>Chamaedorea ernesti-augustii</i> H.Wendl.	MBC	20010838A; 20010843A, B; 20010840A; 20010851A; 20010222D
	<i>Chamaedorea macrospadix</i> Oerst.	Kew	/
	<i>Chamaedorea microspadix</i> Burret	Auteuil	/
	<i>Chamaedorea plumosa</i> Hodel	MBC	98628A, D, M
	<i>Chamaedorea radicalis</i> Mart.	Kew	/
	<i>Chamaedorea seifrizii</i> Burret	MBC	9385A; 91453A; 9387A
	<i>Gaussia attenuata</i> (O.F.Cook) Beccari	Chèvreloup	/
	<i>Hyophorbe lagenicaulis</i> (L.H.Bailey) H.E.Moore	MBC	9111B, E, F, G, K, S, M, U, Y
	<i>Synechanthus fibrosus</i> (H.A.Wendland) H.A.Wendland	MBC	99704C; 99692B, C, F; 99685A
	Areceae	<i>Areca catechu</i> L.	MBC
<i>Ptychosperma elegans</i> (R.Brown) Blume		MBC	96321A, B, C, H, J; 96228C, H; 96227C, D, F
<i>Ptychosperma microcarpum</i> (Burret) Burret		MBC	9376A
<i>Ptychosperma</i> sp.		MBC	96170A, B, E, G; 98187A, D, F, G, H
<i>Dypsis decaryi</i> Jum.		MBC	951204.B, D
<i>Veitchia spiralis</i> Wendl		MBC	961336.N, Q

ANNEXE E. Recette des colorants utilisés lors de la préparation du matériel d'étude.**Carmin acétique (150 mL) :**

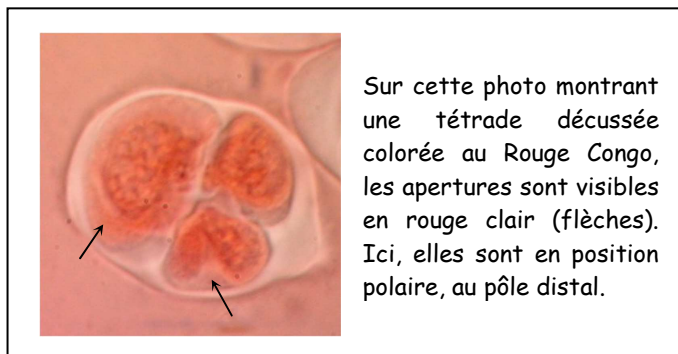
- 67,5 mL d'acide acétique
- 0,75 g de Carmin
- 0,025 g d'acétate ferrique
- Eau distillée jusqu'à 150 mL

**Bleu d'Aniline (300 mL) :**

- 74,96 g de glycérol (20% final)
- 6,36 g de K₃PO₄
- 0,30 g de Bleu d'Aniline
- Eau distillée jusqu'à 300 mL

**Rouge Congo (environ 12 mL) :**

- 2 mL d'eau (UP)
- 2 g d'hydrazine mallique
- 10 mL d'une solution de :
thiéthanolamine à 85%
+ monoéthanolamine à 7.5%
+ diéthanolamine à 7.5%
- Poudre de Rouge Congo



ANNEXE F. Pourcentages des différentes formes de tétrades pour chaque espèce de palmier étudiée. Le nombre de plans de division est donné entre parenthèses. Les erreurs standards sont juste calculées sur les comptages : elles informent sur la variation entre comptages.

Espèces	% de tétrades \pm erreur standard			Nombre total de tétrades comptées
	Tétragonales et associées (3 ou 4)	Rhomboidales (5)	Tétraédriques (6)	
<i>Sabal maritima</i>	9.9 \pm 3.6	4.5 \pm 4.7	85.6 \pm 5.6	232
<i>Trachycarpus fortunei</i>	10.8 \pm 6.7	4 \pm 3.8	85.2 \pm 2.9	618
<i>Serenoa repens</i>	60.6 \pm 8.2	0.3 \pm 0.7	39.1 \pm 8.8	437
<i>Copernicia hospita</i>	6.2 \pm 2.5	3 \pm 1.5	90.8 \pm 2.7	502
<i>Caryota mitis</i>	22.5 \pm 0.1	2.5 \pm 1.1	75 \pm 1.1	597
<i>Bismarckia nobilis</i>	4,6 \pm 1	1.3 \pm 1.2	94.1 \pm 1.7	546
<i>Hyphaene coriacea</i>	18.1 \pm 14.4	1.6 \pm 1.5	80.2 \pm 13	688
<i>Hyophorbe lagenicaulis</i>	6.2 \pm 2.5	2.2 \pm 1.8	91.7 \pm 2	519
<i>Synechanthus fibrosus</i>	1.7 \pm 3	5.6 \pm 4.2	92.7 \pm 3.9	476
<i>Chamaedorea ernesti-</i>	4.5 \pm 1.9	2.8 \pm 1.2	92.7 \pm 2.6	555
<i>Chamaedorea macrospadix</i>	12.8 \pm 3.8	3.2 \pm 3.1	84 \pm 6.9	414
<i>Chamaedorea microspadix</i>	5.1 \pm 2	4.3 \pm 2.9	90.6 \pm 4.8	597
<i>Chamaedorea plumosa</i>	2.4 \pm 0.1	1.9 \pm 1.3	95.7 \pm 1.2	412
<i>Chamaedorea radicalis</i>	12.2 \pm 0.4	1.4 \pm 0.1	86.3 \pm 0.5	418
<i>Chamaedorea seifrizii</i>	2.4 \pm 2.8	2.9 \pm 1.4	94.6 \pm 4.2	410
<i>Gaussia attenuata</i>	6.6 \pm 2.2	6.3 \pm 1.3	87.1 \pm 1	547
<i>Allagoptera arenaria</i>	4 \pm 1.3	1.6 \pm 1	94.4 \pm 1.5	765
<i>Butia sp.</i>	10.8 \pm 4.8	0.3 \pm 0.5	88.8 \pm 4.7	593
<i>Areca catechu</i>	1 \pm 1.1	1.4 \pm 1.2	97.6 \pm 0.8	425
<i>Dypsis decaryi</i>	4.5 \pm 3.2	2.7 \pm 4.1	92.8 \pm 3.7	387
<i>Ptychosperma elegans</i>	3.3 \pm 5.4	0.5 \pm 0.6	96.2 \pm 5.8	517
<i>Ptychosperma microcarpum</i>	18.5 \pm 7.2	0.8 \pm 1.1	80.7 \pm 8.3	326
<i>Ptychosperma sp.</i>	11.5 \pm 8.6	7.2 \pm 1.1	81.2 \pm 7.5	308
<i>Veitchia spiralis</i>	1.1 \pm 1.4	1.6 \pm 0.8	97.3 \pm 1.2	462

ANNEXE G. Optimisation de l'évolution des différents caractères de la microsporogénèse aux nœuds les plus importants. Les états de caractères sont inférés selon deux méthodes de reconstruction: le modèle du Maximum de parcimonie (MP) et celui du Maximum de Vraisemblance (ML). Deux types d'estimations sont testées pour ce dernier modèle : l'estimation symétrique et asymétrique. Les log de vraisemblance sont données entre parenthèses, ainsi que les taux de transition (T) et de réversion (R). Pour la méthode de ML, les probabilités en faveur des différents états de caractère sont indiquées entre parenthèses à chaque nœud.

Type de cytokinèse : *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis* sont considérées comme suivant uniquement une cytokinèse simultanée. (0) Cytokinèse successive (SUCC); (1) Cytokinèse simultanée (SIM); (2) Hétéromorphisme (H). Les nœuds principaux sont indiqués en jaune. Les résultats significatifs sont en gras et en gris lorsqu'ils ne permettent pas de déterminer l'état de caractère au nœud en question.

Noeuds	MP	Modèle symétrique ML (-log L:19.38, T:0.01)	Modèle asymétrique ML (-log L:18.23, T:0.001, R:0.01)
1	SUCC	? (0:0.33, 1:0.34, 2:0.32)	? (0:0.34, 1:0.39, 2:0.27)
2	SUCC	? (0:0.36, 1:0.55, 2:0.09)	? (0:0.53, 1:0.43, 2:0.03)
3	SUCC	SUCC (0:0.86, 1:0.09, 2:0.05)	SUCC (0:0.95, 1:0.03, 2:0.02)
6	SUCC	? (0:0.32, 1:0.59, 2:0.08)	? (0:0.49, 1:0.48, 2:0.03)
8	SIM	SIM (0:0.01, 1:0.97, 2:0.01)	SIM (0:0.003, 1:0.99, 2:2.20E-4)
9	SIM	SIM (0:0.004, 1:0.97, 2:0.02)	SIM (0:4.47E-5, 1:0.99, 2:6.82E-5)
11	SIM	SIM (0:0.004, 1:0.97, 2:0.02)	SIM (0:2.91E-5, 1:0.99, 2:2.26E-4)
12	SIM	SIM (0:0.003, 1:0.94, 2:0.06)	SIM (0:3.32E-5, 1:0.99, 2:0.002)
13	SIM	SIM (0:0.004, 1:0.92, 2:0.07)	SIM (0:6.61E-5, 1:0.99, 2:0.006)
17	?	? (0:0.02, 1:0.77, 2:0.21)	SIM (0:9.79E-4, 1:0.93, 2:0.06)
19	?	? (0:0.01, 1:0.79, 2:0.2)	SIM (0:4.86E-4, 1:0.94, 2:0.06)
22	SIM	SIM (0:0.5E-4, 1:0.99, 2:0.002)	SIM (0:3.10E-6, 1:0.99, 2:8.78E-6)
23	SIM	SIM (0:2.47E-4, 1:0.99, 2:2.84E-4)	SIM (0:8.26E-6, 1:0.99, 2:7.67E-6)
25	SIM	SIM (0:1.02E-4, 1:0.99, 2:1.08E-4)	SIM (0:1.46E-6, 1:0.99, 2:1.43E-6)
27	SIM	SIM (0:1.81E-4, 1:0.99, 2:1.84E-4)	SIM (0:5.3E-6, 1:0.99, 2:5.26E-6)
30	SIM	? (0:0.005, 1:0.87, 2:0.13)	SIM (0:2.4E-4, 1:0.97, 2:0.03)
33	SIM	SIM (0:6.06E-5, 1:0.99, 2:7.52E-5)	SIM (0:4.44E-7, 1:0.99, 2:4.2E-7)
35	SIM	SIM (0:1.38E-4, 1:0.99, 2:1.39E-4)	SIM (0:5.29E-6, 1:0.99, 2:5.13E-6)

Type de cytokinèse bis : *Sabal maritima* et *Bismarckia nobilis* sont considérés comme suivant à la fois une cytokinèse successive et simultanée. (0) Cytokinèse successive (SUCC); (1) Cytokinèse simultanée (SIM); (2) Hétéromorphisme (H). Les nœuds principaux sont indiqués en jaune. Les résultats significatifs sont en gras et en gris lorsqu'ils ne permettent pas de déterminer l'état de caractère au nœud en question.

Noeuds	MP	Modèle symétrique ML (-log L:18.71, T:0.01)	Modèle asymétrique ML (-log L:17.90, T:0.001, R:0.01)
1	SUCC	? (0:0.34, 1:0.33, 2:0.33)	? (0:0.33, 1:0.38, 2:0.29)
2	SUCC	? (0:0.39, 1:0.35, 2:0.27)	? (0:0.53, 1:0.41, 2:0.06)
3	SUCC	SUCC (0:0.87, 1:0.07, 2:0.06)	SUCC (0:0.94, 1:0.03, 2:0.02)
6	SUCC	? (0:0.36, 1:0.36, 2:0.28)	? (0:0.49, 1:0.46, 2:0.06)
8	SIM	? (0:0.06, 1:0.55, 2:0.39)	SIM (0:0.01, 1:0.95, 2:0.04)
9	SIM	? (0:0.02, 1:0.37, 2:0.62)	SIM (0:7.7E-4, 1:0.89, 2:0.11)
11	?	? (0:0.02, 1:0.622, 2:0.362)	SIM (0:6.4E-4, 1:0.89, 2:0.114)
12	?	? (0:0.01, 1:0.51, 2:0.49)	SIM (0:1.66E-4, 1:0.95, 2:0.05)
13	?	? (0:0.01, 1:0.5, 2:0.5)	SIM (0:1.8E-4, 1:0.94, 2:0.06)
17	H	H (0:0.01, 1:0.07, 2:0.92)	? (0:0.002, 1:0.14, 2:0.86)
19	H	H (0:0.002, 1:0.005, 2:0.99)	H (0:1.09E-4, 1:0.008, 2:0.99)
22	SIM	SIM (0:0.003, 1:0.95, 2:0.05)	SIM (0:1.4E-5, 1:0.99, 2:3.9E-4)
23	SIM	SIM (0:3.57E-4, 1:0.99, 2:0.001)	SIM (0:1.24E-5, 1:0.99, 2:1.29E-5)

25	SIM	SIM (0:1.17E-4, 1:0.99 , 2:2.46E-4)	SIM (0:2.27E-6, 1:0.99 , 2:2.24E-6)
Noeuds	MP	Modèle symétrique ML	Modèle asymétrique ML
27	SIM	SIM (0:1.8E-4, 1:0.99 , 2:2.6E-4)	SIM (0:7.86E-6, 1:0.99 , 2:7.79E-6)
30	SIM	? (0:0.01, 1:0.83 , 2: 0.16)	SIM (0:3.17E-4, 1:0.97 , 2:0.03)
33	SIM	SIM (0:9.78E-5, 1:0.99 , 2:4.28E-4)	SIM (0:7.72E-7, 1:0.99 , 2:8.83E-7)
35	SIM	SIM (0:1.35E-4, 1:0.99 , 2:1.60E-4)	SIM (0:7.68E-6, 1:0.99 , 2:7.43E-6)

Sens de formation des parois : (0) Formation centrifuge (Cf) ; (1) Formation centripète (Cp). Les nœuds principaux sont indiqués en jaune.

Noeuds	MP	Modèle symétrique ML (-log L:12.48, T:1.13)	Modèle asymétrique ML (-log L:12.24, T:0.99, R:1.35)
1	Cf	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.5, 1:0.5)
8	Cf	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
9	Cp	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
11	Cp	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
12	Cp	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
13	Cp	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
17	Cp	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
19	Cp	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
22	Cf	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
23	Cf	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
25	?	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
27	?	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
30	Cf	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
33	Cf	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)
35	Cf	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.58, 1:0.42)

Dépôts additionnels de callose : (0) Absence ; (1) Présence. Les nœuds principaux sont indiqués en jaune. Les résultats significatifs sont en gras.

Noeuds	MP	Modèle symétrique ML (-log L:12.39, T:0.02)	Modèle asymétrique ML (-log L:12.02, T:0.02, R:0.03)
1	Absence	? (0:0.50, 1:0.50)	? (0:0.50, 1:0.50)
8	Absence	? (0:0.57, 1:0.43)	? (0:0.59, 1:0.41)
9	Absence	? (0:0.65, 1:0.35)	? (0:0.69, 1:0.31)
11	Absence	? (0:0.68, 1:0.32)	? (0:0.7, 1:0.3)
12	Absence	Absence (0:0.92 , 1:0.08)	Absence (0:0.92 , 1:0.08)
13	Absence	Absence (0:0.93 , 1:0.07)	Absence (0:0.93 , 1:0.07)
17	?	? (0:0.58, 1:0.42)	? (0:0.63, 1:0.37)
19	?	? (0:0.7, 1:0.3)	? (0:0.72, 1:0.28)
22	?	? (0:0.40, 1:0.60)	? (0:0.38, 1:0.62)
23	?	? (0:0.6, 1:0.4)	? (0:0.58, 1:0.42)
25	Absence	? (0:0.74, 1:0.26)	? (0:0.73, 1:0.27)
27	Absence	? (0:0.78, 1:0.22)	? (0:0.77, 1:0.23)
30	?	? (0:0.43, 1:0.57)	? (0:0.41, 1:0.59)
33	Présence	Présence (0:0.07, 1:0.93)	Présence (0:0.05, 1:0.95)
35	Présence	Présence (0:0.03, 1:0.97)	Présence (0:0.02, 1:0.98)

Forme des tétrades : (0) Tétragonales ; (1) Tétrades mixtes (Tétragonales, Rhomboïdales et tétraédriques). Les nœuds principaux sont indiqués en jaune. Les résultats significatifs sont en gras.

Noeuds	MP	Modèle symétrique ML (-log L:5.42, T:7.4E-4)	Modèle asymétrique ML (-log L:5.19, T:8.8E-4, R:0.003)
1	Tétragonales	Tétragonales (0:0.94 , 1:0.06)	? (0:0.5, 1:0.5)
2	Tétragonales	Tétragonales (0:0.94 , 1:0.06)	? (0:0.53, 1:0.47)
3	Tétragonales	Tétragonales (0:0.99 , 1:0.001)	Tétragonales (0:0.97 , 1:0.03)
6	Tétragonales	Tétragonales (0:0.92 , 1:0.08)	? (0:0.51, 1:0.49)
8	Mixtes	Mixtes (0:0.003, 1:0.99)	Mixtes (0:0.002, 1:0.99)
9	Mixtes	Mixtes (0:2.008E-5, 1:0.99)	Mixtes (0:1.9E-5, 1:0.99)
11	Mixtes	Mixtes (0:5.01E-6, 1:0.99)	Mixtes (0:6.84E-6, 1:0.99)
12	Mixtes	Mixtes (0:4.27E-7, 1:0.99)	Mixtes (0:2.23E-6, 1:0.99)
13	Mixtes	Mixtes (0:2.11E-7, 1:0.99)	Mixtes (0:1.14E-6, 1:0.99)
17	Mixtes	Mixtes (0:1.07E-5, 1:0.99)	Mixtes (0:5.66E-5, 1:0.99)
19	Mixtes	Mixtes (0:2.04E-6, 1:0.99)	Mixtes (0:1.06E-5, 1:0.99)
22	Mixtes	Mixtes (0:8.4E-7, 1:0.99)	Mixtes (0:9.9E-7, 1:0.99)
23	Mixtes	Mixtes (0:5.47E-7, 1:0.99)	Mixtes (0:2.8E-6, 1:0.99)
25	Mixtes	Mixtes (0:8.95E-8, 1:0.99)	Mixtes (0:4.8E-7, 1:0.99)
27	Mixtes	Mixtes (0:3.43E-7, 1:0.99)	Mixtes (0:1.79E-6, 1:0.99)
30	Mixtes	Mixtes (0:6.14E-7, 1:0.99)	Mixtes (0:3.128E-6, 1:0.99)
33	Mixtes	Mixtes (0:1.94E-8, 1:0.99)	Mixtes (0:1.20E-7, 1:0.99)
35	Mixtes	Mixtes (0:3.81E-7, 1:0.99)	Mixtes (0:1.93E-6, 1:0.99)

Anneau de callose : *Bismarckia nobilis* ne possède pas d'anneau de callose. (0) Absence ; (1) Présence. Les nœuds principaux sont indiqués en jaune. Les résultats significatifs sont en gras.

Noeuds	MP	Modèle symétrique ML (-log L:8.87, T:0.01)	Modèle asymétrique ML (-log L:7.96, T:0.01, R:0.004)
1	Absence	? (0:0.5, 1:0.5)	? (0:0.5, 1:0.5)
8	Absence	? (0:0.63, 1:0.37)	? (0:0.51, 1:0.49)
9	?	? (0:0.43, 1:0.57)	? (0:0.24, 1:0.76)
11	?	? (0:0.43, 1:0.57)	? (0:0.23, 1:0.77)
12	Présence	Présence (0:0.01, 1:0.99)	Présence 0:0.005, 1:0.99)
13	Présence	Présence (0:0.01, 1:0.99)	Présence 0:0.002, 1:0.99)
17	?	? (0:0.71, 1:0.29)	? (0:0.54, 1:0.46)
19	?	? (0:0.75, 1:0.25)	? (0:0.6, 1:0.4)
22	Absence	Absence (0:0.99 , 1:0.01)	Absence (0:0.97 , 1:0.03)
23	Absence	Absence (0:0.99 , 1:9.04E-4)	Absence (0:0.99 , 1:0.003)
25	Absence	Absence (0:0.99 , 1:3.78E-4)	Absence (0:0.99 , 1:0.002)
27	Absence	Absence (0:0.99 , 1:5.35E-4)	Absence (0:0.99 , 1:0.002)
30	Absence	Absence (0:0.99 , 1:7.37E-4)	Absence (0:0.99 , 1:0.002)
33	Absence	Absence (0:0.99 , 1:3.17E-4)	Absence (0:0.99 , 1:0.002)
35	Absence	Absence (0:0.99 , 1:3.72E-4)	Absence (0:0.99 , 1:8.78E-4)