HAL
open science

ETUDE MORPHOMETRIQUE DE POLLENS MODERNES DE DIFFERENTES ESPECES D'ERICACEES PRESENTES DANS LE SUD-OUEST DE L'EUROPE

Ludovic Devaux

To cite this version:

Ludovic Devaux. ETUDE MORPHOMETRIQUE DE POLLENS MODERNES DE DIFFERENTES ESPECES D'ERICACEES PRESENTES DANS LE SUD-OUEST DE L'EUROPE. Milieux et Changements globaux. 2018. hal-02005363

HAL Id: hal-02005363

https://ephe.hal.science/hal-02005363v1

Submitted on 4 Feb 2019

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.

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES

Sciences de la Vie et de la Terre

MÉMOIRE

présenté

par

DEVAUX Ludovic

Pour l'obtention du Diplôme de l'École Pratique des Hautes Études

TITRE : ETUDE MORPHOMETRIQUE DE POLLENS MODERNES DE DIFFERENTES ESPECES D'ERICACEES PRESENTES DANS LE SUD-OUEST DE L'EUROPE

Soutenu le 18/12/2018

Devant le jury suivant :

Nicolas Navarro – **Président**

Stéphanie Desprat – **Tuteur scientifique**

Maria Fernanda Sanchez Goni – **Tuteur pédagogique**

Agnès Gauthier– **Rapporteur**

Anne-Laure Daniau– **Examinateur**

Mémoire préparé sous la direction de :

Stéphanie Desprat

Intitulé de la structure d'accueil : UMR CNRS EPHE 5805 EPOC Talence

Directeur : Antoine Gremare

et de

Intitulé de la structure d'accueil EPHE: Laboratoire CLIMA

Directeur : Maria Fernanda Sanchez Goni

EPHE (Sciences de la Vie et de la Terre)

Groupe de Recherche et d'Enseignement Thématiques de l'EPHE :

Dynamique des Environnements Naturels et Anthropisés (DENA)

ÉCOLE PRATIQUE DES HAUTES ÉTUDES

SCIENCES DE LA VIE ET DE LA TERRE

ETUDE MORPHOMETRIQUE DE POLLENS MODERNES DE DIFFERENTES ESPECES D'ERICACEES PRESENTES DANS LE SUD-OUEST DE L'EUROPE

DEVAUX Ludovic

18/12/2018

RÉSUMÉ

Augmenter la résolution taxonomique de l'identification du pollen fossile est important pour les reconstructions paléoécologiques et paléoclimatiques. Nous tentons dans notre étude de discriminer 14 espèces d'Ericaceae présentes en Aquitaine. Notre étude vise à tester et valider les identifications au niveau de ces 14 espèces afin de distinguer ce pollen dans les archives fossiles. Des échantillons de pollen moderne ont été recueillis. Pour cette étude il a été procédé à un échantillonnage effectué sur 3 sites géographiques séparés, avec un minimum de 3 prélèvements par site, afin d'obtenir une représentation de la variabilité intra-spécifique. Du fait de la rareté des espèces nous avons échantillonné 14 espèces sur 34 présentes dans la région d'étude. Nous avons analysé des critères relatifs à la forme de la tétrade et aux caractéristiques de la paroi pollinique et du système apertural, soit quatorze traits quantitatifs et qualitatifs sur un total de 7255 pollens.

Ce travail a mis en évidence une variabilité de la morphologie au sein du pollen de chaque espèce. L'analyse CART (Classification And Regression Tree), utilisée pour développer un modèle de classification multi-traits, combinée à différentes analyses multivariées s'avère être un outil utile pour séparer ces espèces. Le modèle CART permet à partir de quelques traits morphologiques (la taille du grain, l'ornementation, la présence de l'endoaperture, la taille de la tétrade, l'angle, la longueur du duplicolpus) de séparer le pollen des différentes espèces observé avec une bonne précision. Ce travail fournit aux palynologues des critères d'identification applicables aux observations au microscope optique.

MOTS-CLÉS :

Pollen, Ericaceae, espèces, CART, paléoclimatologie.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE 5

CONTEXTE DE L'ETUDE, MATERIEL ET METHODES, RESULTATS

1. CONTEXTE DE L'ETUDE 7
   1.1 Présentation de la famille Ericaceae 7
   1.2 Pollen des Ericaceae 15
   1.3 Caractéristiques générales du pollen d'Ericaceae 16
      1.3.1 Morphologie générale 17
      1.3.2 Système apertural 17
      1.3.3 Ornementation 18

2. MATERIEL ET METHODES) 20
   2.1 Echantillonnage 20
   2.2 Préparation des échantillons 22
   2.3 Tests préalables à l'analyse des échantillons 23
   2.4 Analyses microscopiques 25
   2.5 Outils statistiques utilisés 26
      2.5.1 Analyses multivariées 26
      2.5.2 Arbre de décision 27

3. RESULTATS 28
   3.1 Résultats des tests préalables à l'analyse des échantillons 31
   3.2 Présentation des résultats des analyses morpho métriques 31
      3.2.1 Caractérisation des critères par espèce 31
      3.2.2 Distribution des critères quantitatifs en fonction des stations et échantillons 42
      3.2.3 Analyses statistiques 44
         3.3.1 Tests de normalité des données 44
         3.3.2 Résultats de l'AFMD 45
         3.3.3 Résultats des analyses multivariées combinées 49
         3.3.4 Arbre de décision 61

DISCUSSION 64

4. CARACTERISATION DES ESPECES 64
   4.1 Organisation tétraédrique 64
   4.2 Taille des tétrades 64
   4.3 Angle entre les grains 64
   4.4 Ornementation 65
   4.5 Système apertural 66

5. BIAIS POUVANT AFFECTER LES RESULTATS 66
   5.1 Représentativité de l'échantillon 67
   5.2 Effet des traitements 68
   5.3 Effet du milieu de montage 68

6. DIFFERENCIATION DES ESPECES 69
   6.1 Groupe 1 : *Calluna vulgaris, Corema alba*. 70
   6.2 Groupe 2 : *Erica scoparia, Erica lusitanica, Erica arborea* 71
   6.3 Groupe 3: *Erica cinerea, Arbutus unedo, Erica ciliaris, Rhododendron ferrugineum* 72
   6.4 Groupe 4: *Erica tetralix, Vaccinium myrtillus, Erica vagans, Daboecia cantabrica, Erica Erigena* 74

6.5 Conclusion 76

CONCLUSION 78

BIBLIOGRAPHIE 79

ANNEXES 84

INTRODUCTION GENERALE

Le pollen fossile que l'on extrait du sédiment, qu'il soit marin ou terrestre, permet de reconstruire les variations de la végétation au cours du temps (Huntley *et al.* 1993 ; Huntley 2001). Différents facteurs affectent la représentation de la végétation par le signal pollinique des séquences sédimentaires. Par exemple, il n'y a pas de relation linéaire entre pourcentages polliniques et abondances des plantes à cause de facteurs tels qu'une production pollinique et un mode de dispersion du pollen différents entre les espèces, une préservation pollinique différentielle ou la taille du site échantillonné (Prentice, 1988, Bunting *et al.*, 2013). Un autre facteur affectant la représentativité du signal pollinique en termes de composition de la végétation est relatif à la résolution taxonomique. Il est en effet difficile d'identifier de nombreux types polliniques au-delà de la famille ou du genre ce qui entraine une faible résolution taxonomique des morphotypes polliniques, ce qui peut donc être un facteur limitant l'interprétation paléoécologique et paléoclimatique des enregistrements polliniques (Birks, 1993, Jackson and Booth, 2007). Il apparaissait nécessaire d'approfondir les travaux liés à la qualité de cette résolution taxonomique pour le domaine de la paléoécologie (Birks, 1993) mais aussi de la paléoclimatologie.

Lors de l'analyse pollinique en routine, le pollen des différentes espèces de la famille des Ericaceae européennes est inclus dans un morphotype unique « Ericaceae », à l'exclusion de *Calluna* qui est souvent distingué. Néanmoins, au sein de la famille des Ericaceae, il peut y avoir de grandes différences écologiques entre les genres/espèces et cette faible résolution taxonomique peut poser problème pour les études paléo écologiques. La morphologie pollinique des Ericaceae européennes a été décrite dans de nombreux rapports et revues anciennes (Erdman 1952, Paquereau 1959, Oldfield 1959, Visset 1971 et 1977). Ces études relativement anciennes révèlent une certaine variabilité interspécifique des Ericaceae, ont traité de leur organisation en tétrade et décrit le pollen de différentes espèces. D'autres études ont tenté d'établir des clefs de détermination à partir de mesures et observations de caractères morphologiques associés à la structure de l'exine, au système apertural et à l'agencement des grains (Oldfield 1959, Mateus 1989, Diez et Fernandez 1989). Néanmoins plusieurs facteurs limitent l'utilisation de ces clés de détermination. Leur organisation pyramidale est trop complexe pour être utilisée en routine car certains critères, par exemple ceux liés à l'ornementation, sont difficiles d'utilisation. La variabilité intra-spécifique n'a pas aussi été suffisamment prise en compte dans ces études {Erdtman, 1954}. Une trop faible quantité de pollen a été analysée par échantillon et souvent une seule plante ou une seule population a été échantillonnée. En effet, la description morphologique des différents types de pollen et les clés d'identification pollinique sont souvent dérivées d'échantillons de petite taille, 10 grains de pollen par plante et par espèce (Oldfield 1959) et 30 à 15 mesures par lame sur 50 populations pour 22 espèces (Diez et Fernandez 1989). Une petite taille d'échantillonnage peut fortement influencer les résultats des analyses morphométriques et un échantillonnage insuffisant des populations conduit à une interprétation biaisée (Austin, 1983 ; May et Lacourse, 2012). Par ailleurs, le milieu

de montage utilisé dans ces études (gélatine glycérinée ou huile de silicone) est différent de celui couramment utilisé pour les lames fossiles (glycérol). Dans la majorité des études sur le pollen des Ericaceae le Microscope Electronique à Balayage a été utilisé pour observer et décrire l'ornementation ainsi que le système apertural des pollens (Visset, 1971, Diez et Fernandez, 1989, Mateus, 1989). Les critères ainsi définit sont parfois difficilement observables au microscope optique, rendant donc les clefs de déterminations difficiles à utiliser.

Des travaux récents réalisés sur des genres comme l'épicéa, l'aulne et le pin en Amérique du Nord et en Europe ont montré qu'il est possible d'augmenter la résolution taxonomique jusqu'à l'espèce à partir d'un jeu de données de mesures morphométriques de pollens modernes et en utilisant une analyse nommée CART (Classification And Regression Tree) (Lindbladh *et al.* ; 2002 ; Barton *et al.* 2011 ; May and Lacourse, 2012 ; Desprat *et al.*, 2015). Cette méthode permet de produire un arbre de décision et de faire des prédictions en se basant sur les critères morphologiques du pollen des différentes espèces. Les mesures de paramètres morphologiques du pollen de pin moderne mais aussi fossile et aussi l'utilisation de la méthode CART a permis de définir les espèces de pins présentes dans le sud-ouest de la Péninsule ibérique lors de la dernière période glaciaire (Desprat *et al.*, 2015).

Afin d'améliorer l'identification pollinique des Ericaceae européennes, nous avons étudié les caractères morphologiques du pollen des espèces présentes dans le sud-ouest de la France. Du fait de la rareté de certaines espèces, nous n'avons pu échantillonner que 14 espèces sur 34 présentes dans le sud-ouest de la France. Nous présenterons dans le mémoire la procédure d'échantillonnage du pollen des Ericaceae à partir de plantes *in situ*, ainsi que les critères qualitatifs et quantitatifs relatifs à la structure de l'exine, au système apertural et à l'agencement des grains que nous avons défini en se basant sur les travaux antérieurs (Oldfield, 1959 ; Diez et Fernandez, 1989; Mateus, 1989; Ramil Rego *et al*.(1992); Sarwar, 2007).
Afin de déterminer la structure du jeu de données et de définir si les pollens des différentes espèces d'Ericaceae se distinguent par les paramètres morphologiques analysés, différentes analyses multivariées (Analyse Factorielle de Données Mixtes, des analyses multivariées combinant Analyse en Composante Principale et Analyse en Coordonnées Principales) ont été utilisées. Une analyse CART (Classification and Regression-Tree Analysis) du jeu de données a aussi été utilisée pour produire une classification des espèces en se basant sur le jeu de données des critères morphologiques qualitatifs et quantitatifs analysés.

1. CONTEXTE DE L'ETUDE

1.1. Présentation de la famille Ericaceae

La famille Ericaceae est particulièrement large ; elle comprend actuellement 4426 espèces incluses dans 129 genres, 20 tribus et 8 sous-familles (Kron *et al.*, 2002a ; Schwery *et al.*, 2015). Les éricacées sont principalement des plantes ligneuses, arbustes généralement persistants, ou lianes ligneuses mais aussi des herbes. Elles sont répandues dans le monde entier mais se localisent essentiellement dans les régions tempérées et froides voire dans les montagnes tropicales mais beaucoup plus rarement à basse altitude dans les tropiques (Fig. 1). Néanmoins en Europe et plus particulièrement dans les moyennes latitudes européennes, seules une partie des espèces des sous-familles Monotropoideae, Arbutoideae, Ericoideae et Vaccinioideae sont représentées (fig. 1).

Les éricacées présentent une diversité spécifique particulièrement importante dans certaines régions, comme dans les Andes, en Afrique du sud et dans les îles du Pacifique sud-ouest. Par exemple, un peu plus de la moitié des espèces de Vaccinioideae connues (~800/1593) est retrouvée dans les Andes (Kron and Luteyn, 2003). Les deux genres les plus représentés de la famille Ericaceae, appartiennent à la sous-famille Ericoideae : *Rhododendron* et *Erica*. Ils montrent des concentrations d'espèces remarquables dans des aires relativement réduites. Pour *Erica*, près de 90 % des espèces, dont de nombreuses espèces endémiques, se trouvent en Afrique du Sud. Les 70 espèces restantes se rencontrent à travers toute l'Afrique, autour de la Méditerranée et en Europe. Quant au genre *Rhododendron*, il comprend plus de 1000 espèces répartis dans l'hémisphère nord mais la plus grande diversité spécifique de ce genre se rencontre dans les régions montagneuses tropicales et subtropicales asiatiques, de l'Himalaya au sud-ouest de la Chine, et dans les îles entre l'Asie et l'Australie, en particulier en Nouvelle Guinée. En Europe, les espèces du genre *Rhododendron* se trouvent essentiellement dans les régions montagneuses, telles que les Alpes, les Pyrénées, le Caucase, les Carpates (Marjorie Blamey Christopher grey-Wilson, 2003).

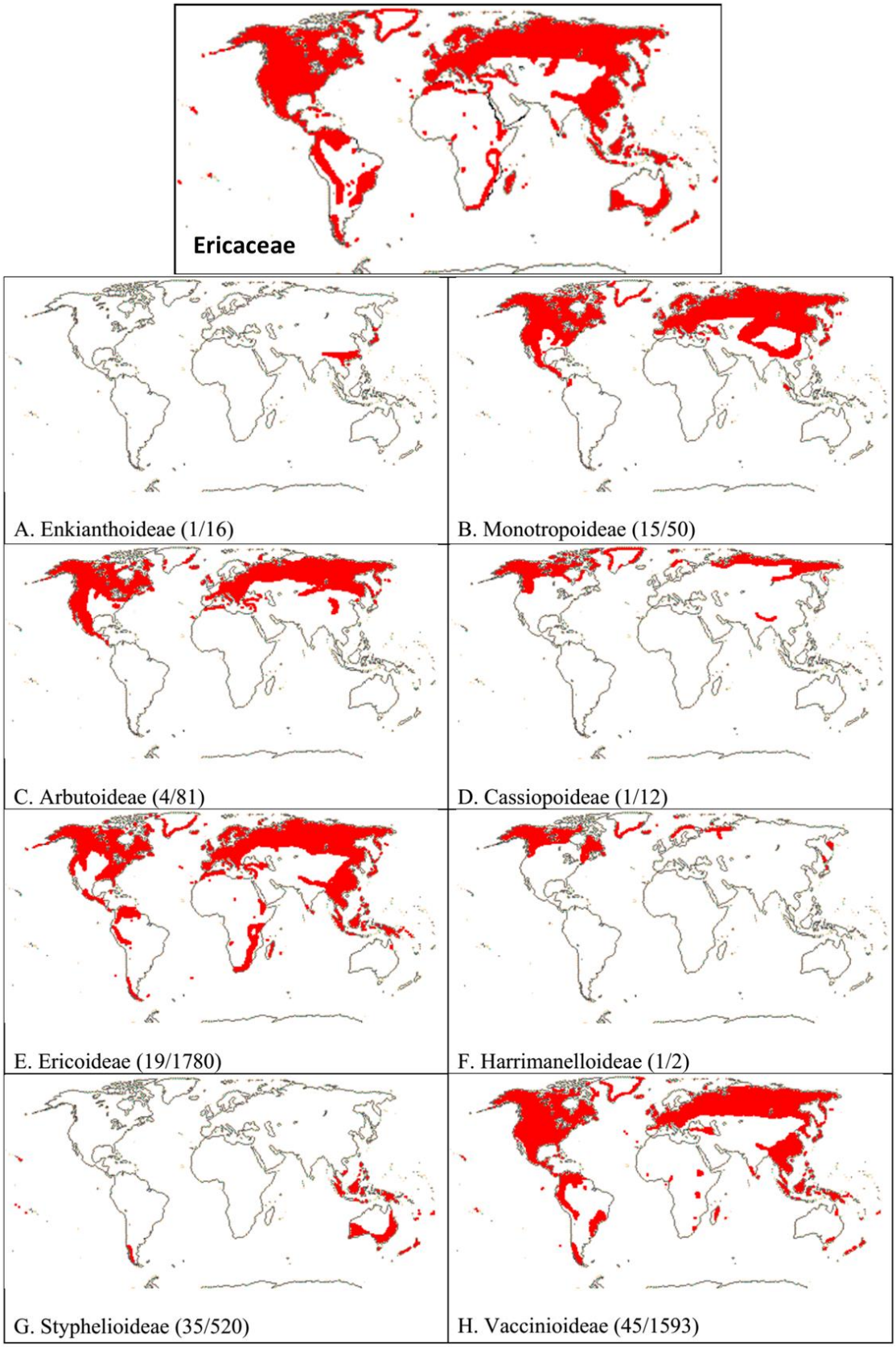


Figure. 1: Distribution mondiale des plantes de la famille Ericaceae et des 8 sous-familles (adapté de Kron and Luteyn, 2005, Sarwar, 2007 ; http://www.mobot.org). Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de genres et d'espèces inclus dans chaque sous-famille (estimations tirées de Kron and Luteyn, 2005, ayant variées sensiblement depuis avec l'ajout d'au moins 8 genres et 370 espèces dans la famille Ericaceae).

En Aquitaine et dans les Pyrénées, 32 espèces d'Ericacées sont répertoriées dans la base de données « baseflor » issue du projet CATMINAT mené par P. Julve (Tableau 1). Les figures 2 et 3 montrent la répartition des espèces les plus répandues dans cette région. Une des espèces les plus répandues en France, très représentée dans les Landes, est l'espèce ubiquiste *Calluna vulgaris*, suivie par *Erica cinerea, Erica scoparia*, *Erica tetralix*, *Erica ciliaris*. Dans les landes d'autres espèces sont présentes, bien que moins répandues, telles que *Erica vagans*, *Erica lusitanica, Erica arborea, Arbutus unedo* et *Daboecia cantabrica* (ces dernières étant situées principalement sur le littoral Aquitain). Les espèces les plus rares du milieu landais sont *Erica carnea* et *Corema alba.* Cette dernière est une plante discrète que l'on retrouve dans les dunes et zones sableuses littorales. *Calluna vulgaris* se développe aussi communément dans les Pyrénées. *Rhododendron ferrugineum*, *Vaccinium myrtillus* et *Daboecia cantabric*a sont également présentes au niveau du relief pyrénéen. Il est à noter que c'est sur le pourtour Méditerranéen qu'*Arbutus unedo* et *Erica arborea* sont les plus répandues (Fig. 2 et 3.).

La plupart des espèces d'Ericaceae que l'on retrouve dans le sud-ouest de la France sont adaptées à des terrains acides et pauvres en nutriments, tels que les landes (Tableau 2 : figure avec les caractéristiques climatiques et du sol de toutes les espèces).

Espèces d'Ericaeae	Sous-famille	Noms communs	Répartition dans le sud-ouest de la France
Arbutus unedo L.	Arbutoideae	Arbousier	aV A Tout le sud sud-ouest sauf Hautes Pyrénées
Arctostaphylos alpinus (L.) Spreng.	Arbutoideae	Busserole des Alpes	Pyrénées Atlantique, Hautes Pyrénées
Arctostaphylos uva-ursi subsp. crassifolius (Braun-Blanq.) L.Villar	Arbutoideae	Busserole ou raisin des ours	Pyrénées
Calluna vulgaris (L.) Hull	Ericoideae	Callune	Tout le sud sud-ouest
Daboecia cantabrica (Huds.) K.Koch	Ericoideae		disparu Gironde, Pyrénées Atlantique, Hautes Pyrénées
Corema alba	Ericoideae	Empetrum. Album Caramine à fruit blanc ou Coréma blanc	LL aR Gironde
Empetrum nigrum L. subsp. nigrum	Ericoideae	Camarine noire	Lot et Ariège
Empetrum nigrum subsp. hermaphroditum (Hagerup) Böcher	Ericoideae	Camarine hermaphrodite	Pyrénées Atlantique, Hautes Pyrénées, Ariège
Erica arborea L.	Ericoideae	Bruyeère arborescente	Gironde, Hautes Pyrénées, Vendée
Erica carnea L. subsp. carnea	Ericoideae		Gironde
Erica carnea subsp. occidentalis (Benth.) Laínz (Erica Erigena)	Ericoideae		LL A Gironde
Erica ciliaris Loefl. ex L.	Ericoideae		V A Gironde, de la Loire Atlantique aux Pyrénées Atlantique
Erica cinerea L.	Ericoideae		(V AA Gironde), tout le sud- ouest
Erica lusitanica Rudolphi	Ericoideae		L R Gironde, Landes
Erica scoparia L. subsp. scoparia	Ericoideae		(V AA Gironde), tout le sud sud-ouest sauf Hautes Pyrénées
Erica tetralix L.	Ericoideae		(V AA Gironde), tout le sud- ouest sauf Lot
Erica vagans L.	Ericoideae		(L R Gironde), tout le sud- ouest
Loiseleuria procumbens (L.) Desv.	Ericoideae	Azalée couchée	toutes les Pyrénées
Phyllodoce caerulea (L.) Bab.	Ericoideae	Andromède bleue	Hautes Pyrénées, Ariège
Rhododendron ferrugineum L. subsp. ferrugineum	Ericoideae	Rhododendron ferrugineux	Toutes les Pyrénées
Rhododendron ponticum L.	Ericoideae		
Moneses uniflora (L.) A.Gray	Monotropoideae	Piyrole à une fleur	Toutes les Pyrénées sauf Haute Garonne
Monotropa hypopitys L. subsp. hypopitys	Monotropoideae	Monotrope suece-pin	Tout le sud -ouest sauf Gironde
Monotropa hypopitys subsp. hypophegea (Wallr.) Holmboe	Monotropoideae	Monotrope du Hêtre	Lot et Garonne, Tarn et Garonne, Haute Garonne, Hautes Pyrénées,Pyrénées Atlantique
Orthilia secunda (L.) House subsp. secunda	Monotropoideae	Pyrole unilatérale	Toutes Pyrénées et Lot
Pyrola chlorantha Sw.	Monotropoideae	Pyrole à fleurs verdaâtres	Pyrénées Atlantique, Hautes Pyrénées, Pyrénées Orientales
Pyrola minor L.	Monotropoideae	Petite pyrole	Toutes Pyrénées et Massif Central
Pyrola rotundifolia L. subsp. rotundifolia	Monotropoideae	Pyrole à feuilles rondes	Pyrénées Atlantique
Andromeda polifolia L.	Vaccinioideae	Andromède	Hautes Pyrénées
Vaccinium microcarpum (Turcz. ex Rupr.) Schmalh.	Vaccinioideae	Airelle à petits fruits	Massif Central
Vaccinium myrtillus L.	Vaccinioideae	Airelle	Toutes les Pyrénées, Massif Central, Nord Loire
Vaccinium oxycoccos L.	Vaccinioideae	Canneberge	Nord Massif Central
Vaccinium uliginosum L. subsp. uliginosum	Vaccinioideae	Airelle des marais	Pyrénées Atlantique, Hautes Pyrénées, Haute Garonne
Vaccinium vitis-idaea L. subsp. vitis-idaea	Vaccinioideae	Airelle du mont Ida	Hautes Pyrénées, Ariège

Tableau 1 : Liste des espèces d'Ericaceae présentes dans le sud-ouest de la France "Julve, Ph., 2017 ff. - Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 09 février 2017. https//www.tela-botanica.org"

Répartition – Abondance
Répartition
LL : très localisé (< 5 stations).
L : localisé (quelques stations, plus de 5).
aV : assez vaste (jusqu'à 50 stations).
V : vaste (de 50 à 100 stations).
VV : à répartition très vaste

Abondance (estimation moyenne par station pour l'ensemble des stations connues) :
RR : très rare (< 10 pieds par station).
R : rare (entre 10 et 50 pieds).
aR : assez rare (entre 50 et 100 pieds).
A : abondant (> 100 pieds par station).
AA : très abondant (espèce dominante dans les stations).

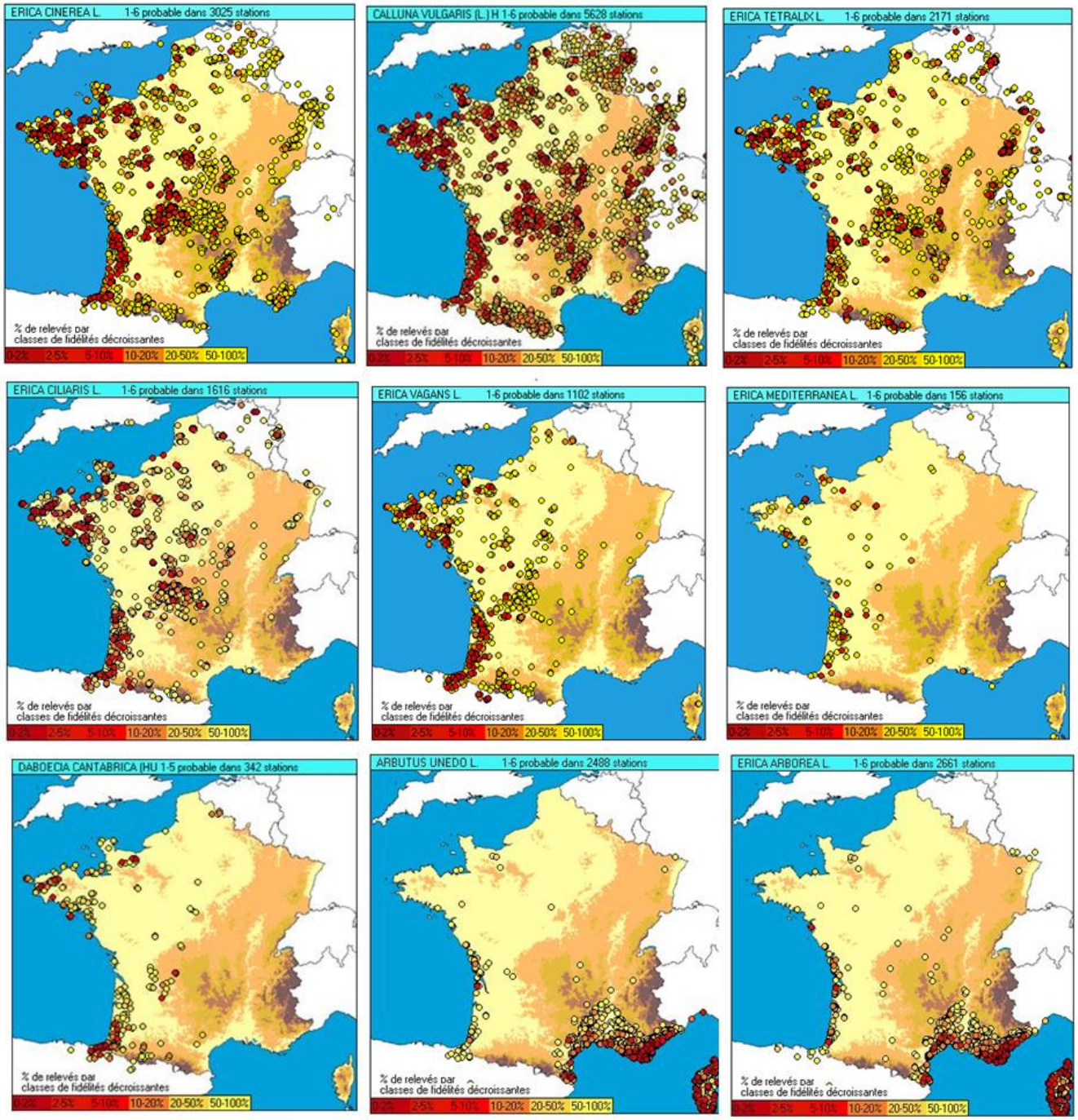


Figure 2: Distribution de différentes espèces d'Ericaceae en France. Informations issues de la banque de données botaniques et écologiques SOPHY, réalisée par P. de Ruffray, H. Brisse, G. Grandjouan et E. Garbolino dans le cadre de l'Association d'Informatique Appliquée à la Botanique (A.I.A.B.) (www.telabotanica.org). NB. : *Erica mediterranea* synonyme de *Erica erigena* et *Erica carnea*

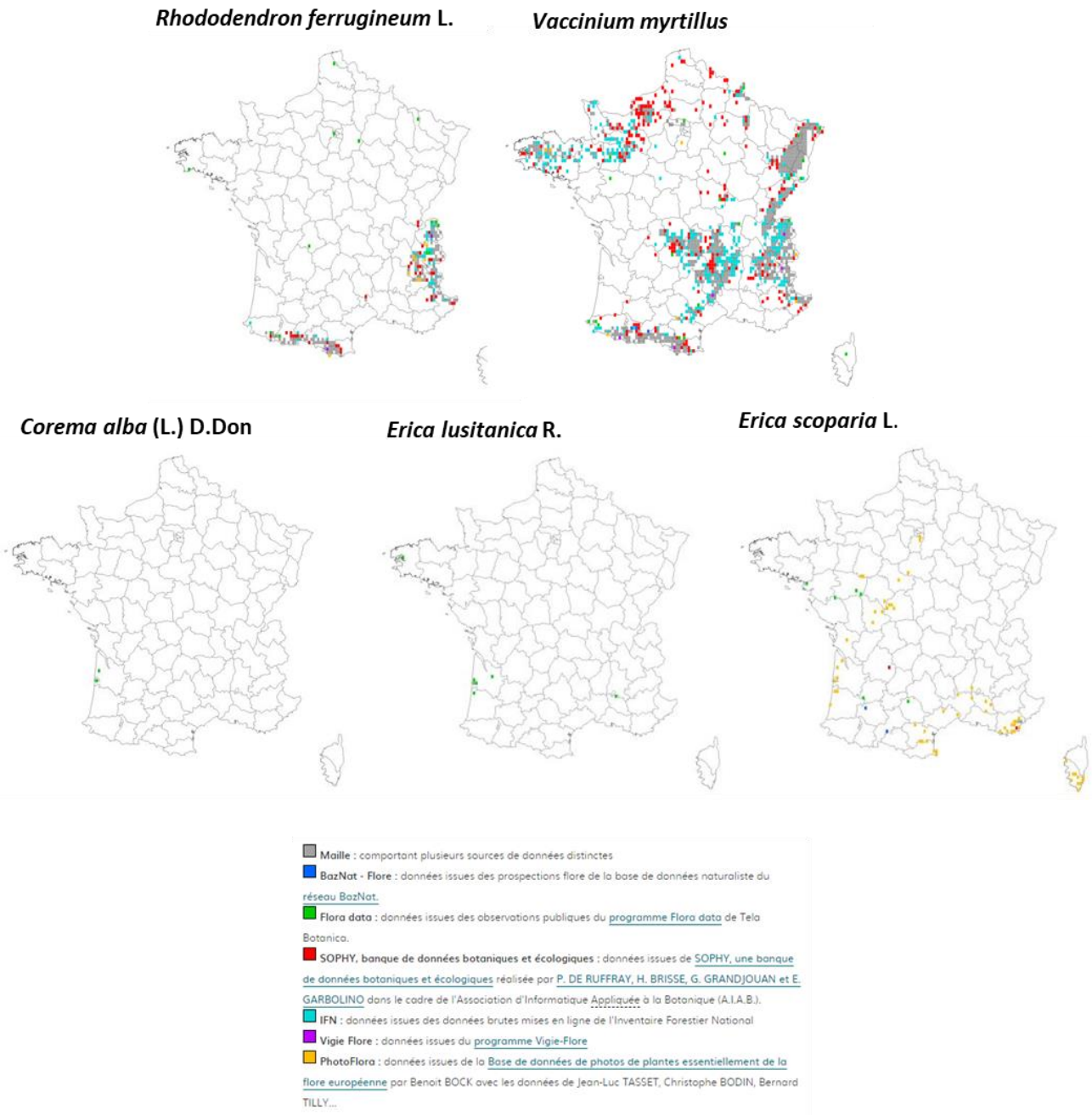
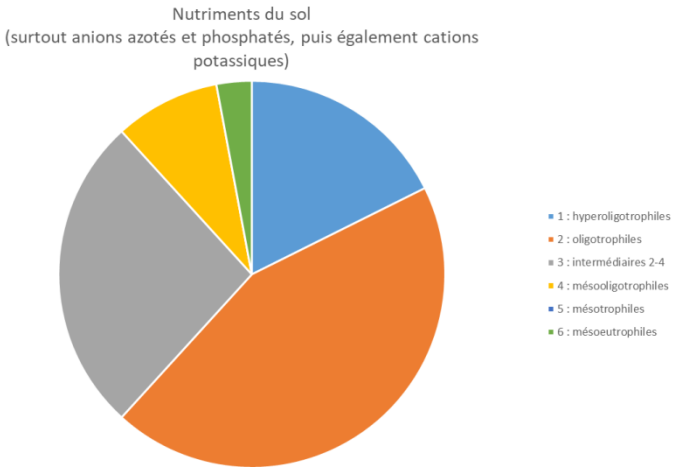


Figure 3 : Distribution de différentes espèces d'Ericaceae en France. Informations issues de différentes bases de données indiquées par les différentes couleurs sur les cartes (www.telabotanica.org).

IDIOTAXONS (BDNFF v5, 2010, sauf nc) (Charophytes, code nomenclatural, avec A, d'après Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2011. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. http://www.algaebase.org ; searched on February-March 2011.) [version baseflor : 15 août 2012]	**CHOROLOGIE**	CARACTERISATION ECOLOGIQUE (HABITAT OPTIMAL)	**L**	**T**	**C**	**HA**	**HE**	**R**	**N**	**S**	**Tx**	**MO**
Arbutus unedo L.	méditerranéen-atlantique	matorrals méditerranéens	6	7	3	6	4	4	4	0	3	4
Arctostaphylos alpinus (L.) Spreng.	arctico-alpin	landes psychrophiles arctico-alpines à boréo-subalpines	7	1	5	5	5	3	2	0	5	6
Arctostaphylos uva-ursi subsp. crassifolius (Br	circumboréal	landes psychrophiles montagnardes, xérophiles, des adrets, neutroclines	7	3	4	4	3	4	1	0	5	7
Calluna vulgaris (L.) Hull	circumboréal	landes atlantiques thermophiles	6	5	5	5	5	3	3	0	4	6
Daboecia cantabrica (Huds.) K.Koch	atlantique	landes atlantiques thermophiles	7	7	2	6	5	3	2	0	4	5
Empetrum nigrum L. subsp. nigrum	circumboréal	landes psychrophiles, planitiaires à montagnardes	7	4	3	6	6	3	2	0	4	6
Empetrum nigrum subsp. hermaphroditum (Ha	arctico-alpin	landes psychrophiles arctico-alpines à boréo-subalpines	8	2	6	6	6	3	3	0	1	9
Erica arborea L.	cosmopolite(thermo)	matorrals mésoméditerranéens, héliophiles, acidoclines	8	8	3	4	4	4	4	0	4	4
Erica carnea L. subsp. carnea	européen méridional	landes subalpines des adrets	7	2	4	6	4	7	2	0	3	7
Erica carnea subsp. occidentalis (Benth.) Laín.	atlantique	fourrés arbustifs européens pionniers, acidophiles, xérophiles	8	7	3	5	5	4	2	0	4	5
Erica ciliaris Loefl. ex L.	atlantique	landes atlantiques thermophiles, hygrophiles	8	6	3	8	6	2	2	0	4	6
Erica cinerea L.	atlantique(eury)	landes atlantiques thermophiles	7	6	3	5	4	2	2	0	4	5
Erica lusitanica Rudolphi	atlantique	fourrés arbustifs européens pionniers, acidophiles, xérophiles	7	6	3	6	5	3	3	0	4	4
Erica multiflora L.	méditerranéen occidental	garrigues mésoméditerranéennes occidentales, catalano-provençales	8	8	3	4	2	6	3	0	4	2
Erica scoparia L. subsp. scoparia	méditerranéen(eury)	fourrés arbustifs européens pionniers, acidophiles, xérophiles	8	7	3	4	4	4	3	0	4	5
Erica terminalis Salisb.	orophyte supraméditerranéen occ.	matorrals mésoméditerranéens, héliophiles, acidoclines	6	2	3	6	7	5	5	0	2	4
Erica tetralix L.	atlantique(eury)	landes atlantiques thermophiles, hygrophiles	6	6	4	8	7	2	2	0	2	9
Erica vagans L.	atlantique(eury)	landes atlantiques thermophiles	8	6	3	5	5	4	2	0	4	5
Erica x watsonii Benth. [Erica ciliaris Loefl. ex	atlantique(eury)	landes atlantiques thermophiles, hygrophiles	7	6	3	8	7	1	2	0	2	6
Loiseleuria procumbens (L.) Desv.	circumboréal	landines alpines des ubacs	9	1	5	6	5	3	1	0	6	7
Rhododendron ferrugineum L. subsp. ferrugine	orophyte européen	landes subalpines des ubacs	6	2	5	7	5	2	3	0	3	7
Rhododendron hirsutum L.	orophyte alpien	landes subalpines des adrets	7	2	5	6	4	7	3	0	3	7
Rhododendron ponticum L.	introduit (Balkans)	fourrés arbustifs médioeuropéens, planitiaires-montagnards, méso à eutrophiles	4	5	4	6	5	4	6	0	4	3
Orthilia secunda (L.) House subsp. secunda	circumboréal	sous-bois herbacés médioeuropéens, hyperacidophiles, boréomontagnards, psychrophiles	4	5	4	6	5	5	2	0	3	3
Phyllodoce caerulea (L.) Bab.	européen septentrional	landes psychrophiles boréales à montagnardes, hygrophiles paratourbeuses	8	4	4	8	8	2	1	0	1	9
Pyrola chlorantha Sw.	circumboréal	sous-bois herbacés médioeuropéens, hyperacidophiles, boréomontagnards, psychrophiles	5	5	5	5	4	5	2	0	3	3
Pyrola media Sw.	européen septentrional	sous-bois herbacés médioeuropéens, hyperacidophiles, boréomontagnards, psychrophiles	4	5	4	6	4	5	2	0	4	3
Pyrola minor L.	circumboréal	sous-bois herbacés médioeuropéens, hyperacidophiles, boréomontagnards, psychrophiles	5	4	4	6	5	5	2	0	4	3
Pyrola rotundifolia L. subsp. rotundifolia	circumboréal	sous-bois herbacés médioeuropéens, hyperacidophiles, boréomontagnards, psychrophiles	4	4	4	7	5	6	3	0	4	3
Pyrola rotundifolia subsp. maritima (Kenyon) E	atlantique	tourbières basses submaritimes, basophiles	6	4	1	7	6	6	4	2	4	9
Vaccinium microcarpum (Turcz. ex Rupr.) Sch	arctico-alpin	landes psychrophiles boréales à montagnardes, tourbeuses	8	3	5	9	9	2	1	0	1	9
Vaccinium myrtillus L.	eurasiatique septentrional	landes psychrophiles laurasiennes	5	4	5	6	5	2	3	0	3	5
Vaccinium oxycoccos L.	circumboréal	landes psychrophiles boréales à montagnardes, plus ou moins tourbeuses	7	5	5	9	9	5	1	0	1	9
Vaccinium uliginosum L. subsp. uliginosum	circumboréal	landes psychrophiles laurasiennes	5	3	5	7	6	2	3	0	2	6
Vaccinium uliginosum subsp. microphyllum (La	arctico-alpin	landines alpines des ubacs	8	1	5	6	5	3	1	0	6	7
Vaccinium vitis-idaea L. subsp. vitis-idaea	eurasiatique septentrional	landes psychrophiles laurasiennes	5	3	5	5	5	2	3	0	4	6
Vaccinium vitis-idaea subsp. minus (Lodd.) Hultén		landines alpines des ubacs	8	1	4	6	5	3	1	0	6	7

Tableau 2 : Liste des espèces d'Ericaceae présentes dans le sud-ouest de la France avec leurs caractéristiques écologiques "Julve, Ph., 2017 ff. - Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 09 février 2017. https//www.tela-botanica.org", **légendes voir annexe 1**.



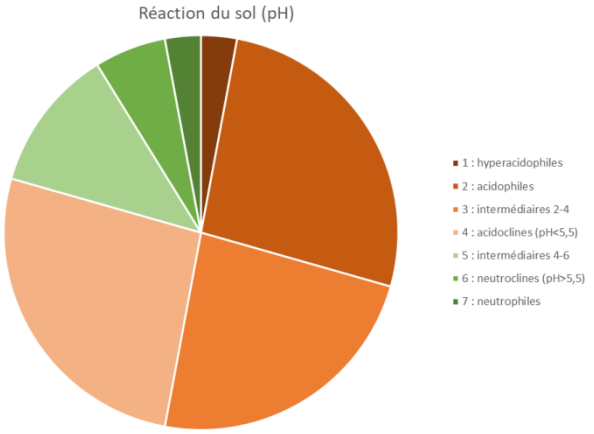


Tableau 2 bis : Pourcentage des espèces que l'on trouve en Aquitaine en fonction de la teneur en nutriments du sol et du PH.

La famille des Ericaceae a la particularité d'avoir un port végétatif éricoïdes, l'écorce est mince, les rameaux sont cylindriques ou non, complètement dépourvus de poils (glabres) ou velus. Les bourgeons sont disposés en spirales, ils présentent une base large et à écailles nombreuses. Les feuilles sont simples (non composées ni ramifiées), persistantes ou non, parfois en forme d'aiguilles. Les fleurs sont hermaphrodites (comprennent à la fois des étamines et carpelles), a symétrie radiaire (Fig.4.). Le calice comprend 4 à 5 sépales et la corolle 4 à 5 pétales soudées, rarement libre entre eux. Les carpelles sont au nombre de 4 ou 5 soudés entres eux avec un ovaire supère ou infère à 4 ou 5 tiges. Les fruits sont à capsules ou baies. L'enracinement potentiel est quant à lui traçant (souvent rhizome).

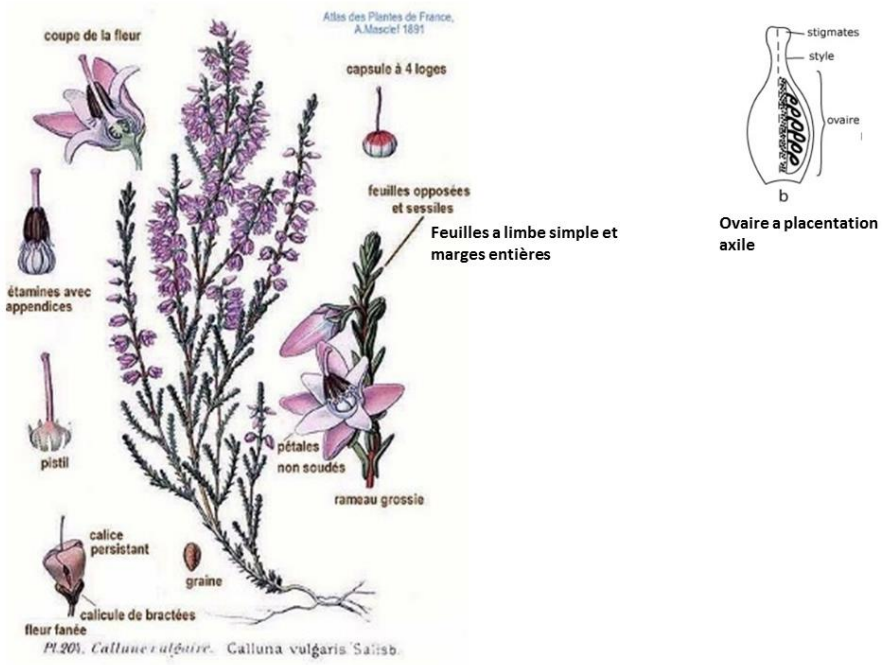


Figure 4 : Illustration botanique de *Calluna vulgaris (Masclef, 1987).*

1.2. Pollen des Ericaceae

Le pollen d'Ericacea (gamétophyte mâle), se développe comme toutes les plantes à fleur dans la partie supérieure de l'étamine que l'on nomme anthère. L'anthère est pourvue de deux thèques, sacs polliniques où par méiose se différencient les cellules mères (somatiques), en quatre microspores haploides. Une paroi callosique sépare les microspores, formée, comme la cellulose, par la polymérisation du glucose, mais qui diffère de la cellulose par le type de liaison des monomères glucoses entre eux. Après dissolution de la paroi

callosique, les microspores grossissent et l'exine (ou paroi pollinique) se forme. La mise en place de la paroi pollinique (sporoderme) dans le gamétophyte correspond au stade tétrade, il se concrétise par des depôts protoexinique qui déterminent le motif de dépôt de l'exine. Différentes variations morphologiques sont propres à chaque taxon (Bedinger , 1992). On retrouve sur la paroi la sporopollénine (matériau d'une très grand résistance physique et chimique) qui se finalise par une sécrétion de nature pecto-cellulosique, l'intine contenant le plasmalemme (Fig. 5.). Lors de la fossilisation celle-ci disparait et seule l'exine (sporopollénine) constituera le squelette du pollen.

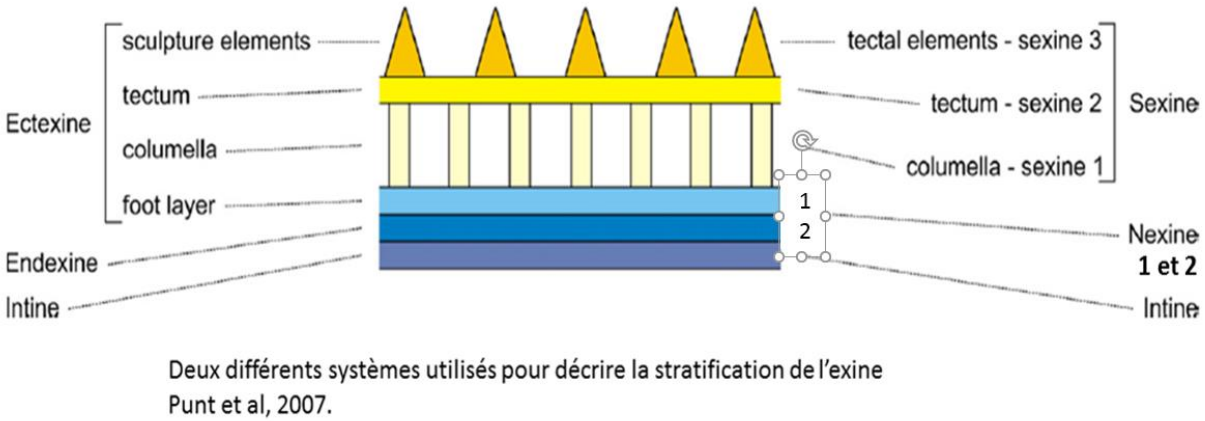


Figure 5 : Schéma représentant la structure de la paroi pollinique (exine). Les deux systèmes utilisés pour décrire la stratification de l'exine sont présentés de part et d'autre (Punt et al., 2007).

1.3 Caractéristiques générales du pollen d'Ericaceae

Pour la reproduction des Ericaceae, le pollen est transporté depuis les étamines jusqu'au stigmate, ceci afin de permettre le transfert du contenu cellulaire nécessaire à cette reproduction. Il doit être capable de survivre et d'assurer un certain nombre de fonctions spécialisées avant que la fécondation soit accomplie (Bedinger *et al.*, 1992). La pollinisation entre deux organes reproducteurs d'une même plante correspond à l'autopollinisation (plantes à fleurs hermaphrodite ou plante monoïques), celle-ci reste cependant rare. Le transfert du pollen de l'anthère d'une plante au stigmate de la même espèce correspond à la pollinisation croisée. Ceci permet une augmentation de la variabilité génétique de la descendance. Plusieurs vecteurs permettent ce transfert, le vent (anémophile) mais aussi les insectes, oiseaux et chauves-souris. Le pollen qui constitue le nectar des plantes à fleurs sert par ailleurs de récompense dans un but de succès reproductif de la plante. A nos latitudes (tempérées), les Ericaceae sont principalement pollinisées par les abeilles (mode de

reproduction entomophile). Lorsque le pollen atteint le stigmate, le tube pollinique qui permet le transfert du contenu cellulaire vers l'ovule va se former, puis va émerger par une aperture (rupture de l'exine puis dissolution de l'intine). Ces apertures,par ailleurs utilisées pour l'identification des morphotypes polliniques sont de deux natures, ronde ou allongées (pore ou sillon).

1.3.1. Morphologie générale

La plupart du temps les tétrades se désagrègent et le pollen se disperse sous forme de grains libres mais dans quelques cas les grains de pollen restent toujours associés ; c'est le cas des plantes de la famille Ericaceae à l'exception de quelques rares espèces. Dans les régions tempérées, les grains de pollen d'Ericaceae sont généralement organisés sous forme de tétrade tétraédrique mais aussi sous forme de tétrade plane, comme pour *Calluna vulgaris* (Fig. 6.). La bruyère de Corse (*Erica terminalis*) fait partie des rares exemples produisant des grains libres.

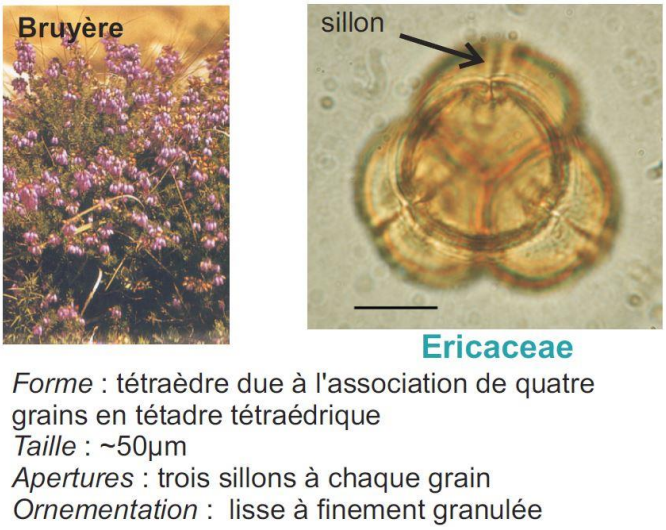


Figure 6 : Forme tétraédrique d'une Ericaceae.

1.3.2. Système apertural

Le système apertural des grains de pollen d'Ericaceae est complexe, il est composé d'endoaperture et ectoaperture sous forme de sillons. Chaque grain possède trois ectocolpi, chacun étant joint au sillon du grain adjacent pour donner naissance à un duplicolpus. Ce sillon double caractéristique de la tétrade n'est pas interrompu à la jonction, et est distinctement enfoncé dans la sexine ainsi que dans le nexine 1. Le duplicolpus présente une marge plus ou moins large, épaisse ou régulière (Fig. 7.).

L'endoaperture est quant à elle, représentée par un endocolpus, sectionnant la nexine 2 et dont la forme, longueur et largeur est variable (Fig. 8.) (Mateus, 1989) et annexe 2. Ce sillon peut aussi être plus ou moins près du mur de jonction des grains.

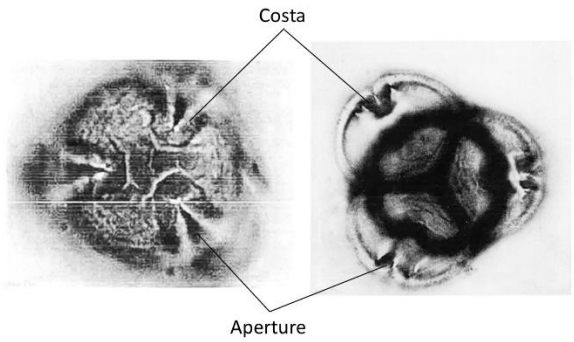


Figure 7 : Marge et aperture (Mateux, 1989).

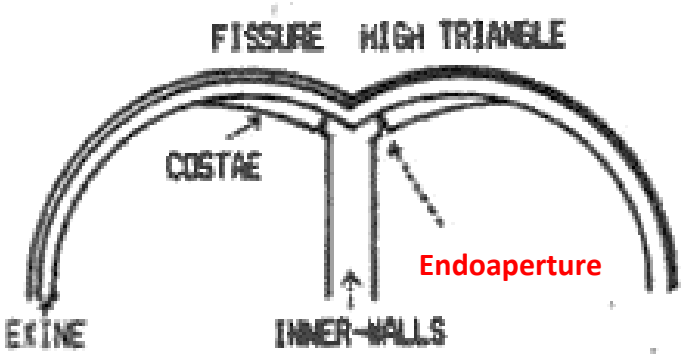


Figure 8 : Endoaperture (Mateus, 1989).

1.3.3 Ornementation (annexes 2 et 5)

L'ornementation des grains de pollen d'Ericaceae est elle aussi complexe, et souvent difficile à décrire. Cela résulte de l'irrégularité de la structure de la sexine laissant apparaitre des protubérances et formant une ornementation semi-tectée. L'aspect général provient de l'organisation et du contour de ces éléments. Plusieurs types d'ornementations ont été distingués en fonction des différents éléments sculpturaux observés (Mateus, 1989) :

- les exsculptures qui sont des éléments sculpturaux positifs tels que des tessellae (ou frustilla), des verrues, des microverrues ou d'autres éléments de petite taille (<1µm), ou des rugules constituant les ornementations de type tessellé, verruqué, microverruqué scabré, et ainsi que des types intermédiaires tessellé-verruqué et rugulo-verruqué(Fig. 10)
- les insculptures constituées d'éléments sculpturaux négatifs de type punctae ou canalis constituant des ornementations de type perforé ou fossulé

- une ornementation est dite lisse lorsqu'il n'y a pas d'ornementation

L'ornementation de deux zones distinctes de la tétrade peut présenter une certaine variabilité : la zone méso-aperturale comprenant la partie interne du mesocolpia des trois grains congruents la zone polaire- aperturale qui inclut la zone polaire, les apertures et leurs zones marginales (Fig. 9.).

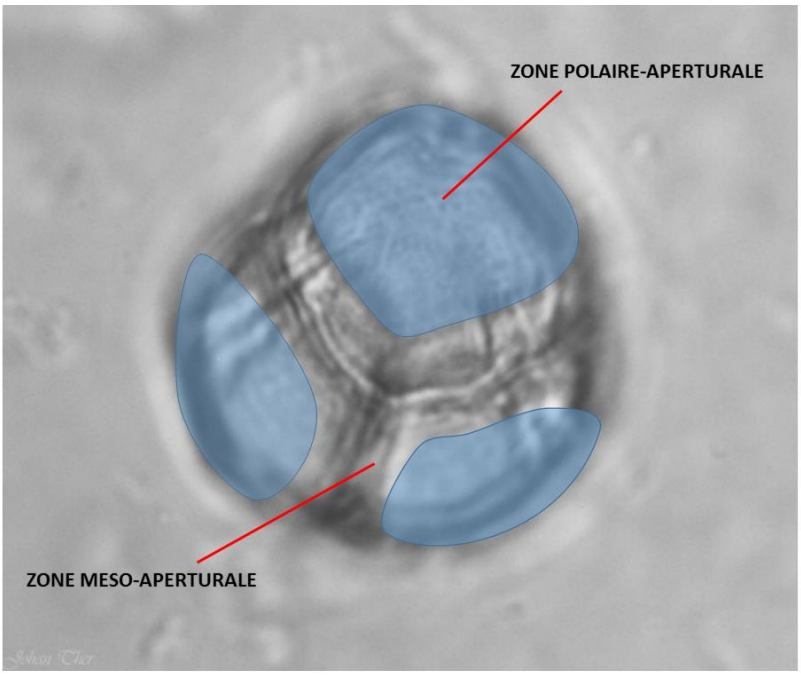
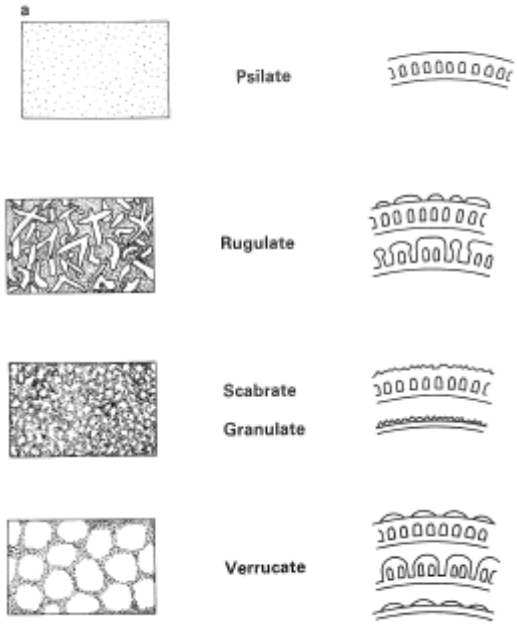
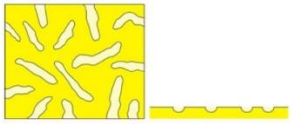


Figure 9: zones polaire-aperturale et meso-aperturale



Canaliculate (adj.) (Potonié, 1934)
Synonym of **fossulate**.



Perforate (adj.) (Iversen and Troels-Smith, 1950)
A general adjective indicating the presence of holes, applied in palynology to holes less than 1 µm in diameter and generally situated in the tectum.
See also: **punctum**, scrobiculus.

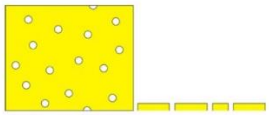


Figure 10: Les différents types d'ornementation observés sur le pollen d'Ericaceae du sud de l'Europe par Mateus (1989) (Moore et al., 1991)

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Echantillonnage

Afin d'identifier les espèces et déterminer les sites de prélèvements, j'ai pu bénéficier de l'expertise de M. Richard Michalet, botaniste et professeur à l'université de Bordeaux, M. Jean Laporte Cru botaniste et professeur retraité de l'université de Bordeaux, M. César Morales Molino, botaniste et postdoctorant à l'Université de Bordeaux (2016-2017). Je me suis aussi aidé de la banque de données Tela Botanica (réseau collaboratif de botanistes francophones, https://www.tela-botanica.org/) ainsi que de l'ouvrage Flores de Gironde 2013 pour les espèces présentes en Gironde. *In fine*, du fait de la faible densité et étendue de certaines espèces, 14 espèces sur les 35 présentes dans le sud-ouest de la France, ont été prélevées, présentant des critères de répartition et d'abondance suffisant pour une représentation homogène des espèces étudiées (Tableau 3).

Pour analyser les grains de pollen des différentes espèces d'Ericacées présentes dans notre région, j'ai défini un protocole d'échantillonnage en tenant compte des recommandations de May et Lacourse (2012). Il est préconisé de prélever un nombre suffisant de plantes par site sur une étendue de prélèvement la plus large possible afin que les échantillons soit représentatifs de la variabilité intra-spécifique de chaque espèce. J'ai donc prélevé en moyenne les boutons floraux de 3 plantes par site pour chaque espèce et ceci sur 3 sites en moyenne pour chaque espèce (Fig. 11 et 12).

IDIOTAXONS (BDNFF v5, 2010, sauf nc) (Charophytes, code nomenclatural, avec A, d'après Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2011. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. http://www.algaebase.org ; searched on February-March 2011.) [version baseflor : 15 août 2012]	**CHOROLOGIE**	**Floraison** (période des mois de l'année)
Arbutus unedo L.	méditerranéen-atlantique	10-1
Calluna vulgaris (L.) Hull	circumboréal	7-10
Daboecia cantabrica (Huds.) K.Koch	atlantique	6-10
Erica arborea L.	cosmopolite(thermo)	3-5
Erica carnea L. subsp. carnea	européen méridional	4-6
Erica ciliaris Loefl. ex L.	atlantique	6-10
Erica cinerea L.	atlantique(eury)	6-10
Erica lusitanica Rudolphi	atlantique	1-3
Erica scoparia L. subsp. scoparia	méditerranéen(eury)	5-7
Erica tetralix L.	atlantique(eury)	6-10
Erica vagans L.	atlantique(eury)	6-10
Rhododendron ferrugineum L. subsp. ferrugineum	orophyte européen	6-8
Vaccinium myrtillus L.	eurasiatique septentrional	4-6
Corema alba L.		

Tableau 3 : Liste des espèces d'Ericaceae étudiées

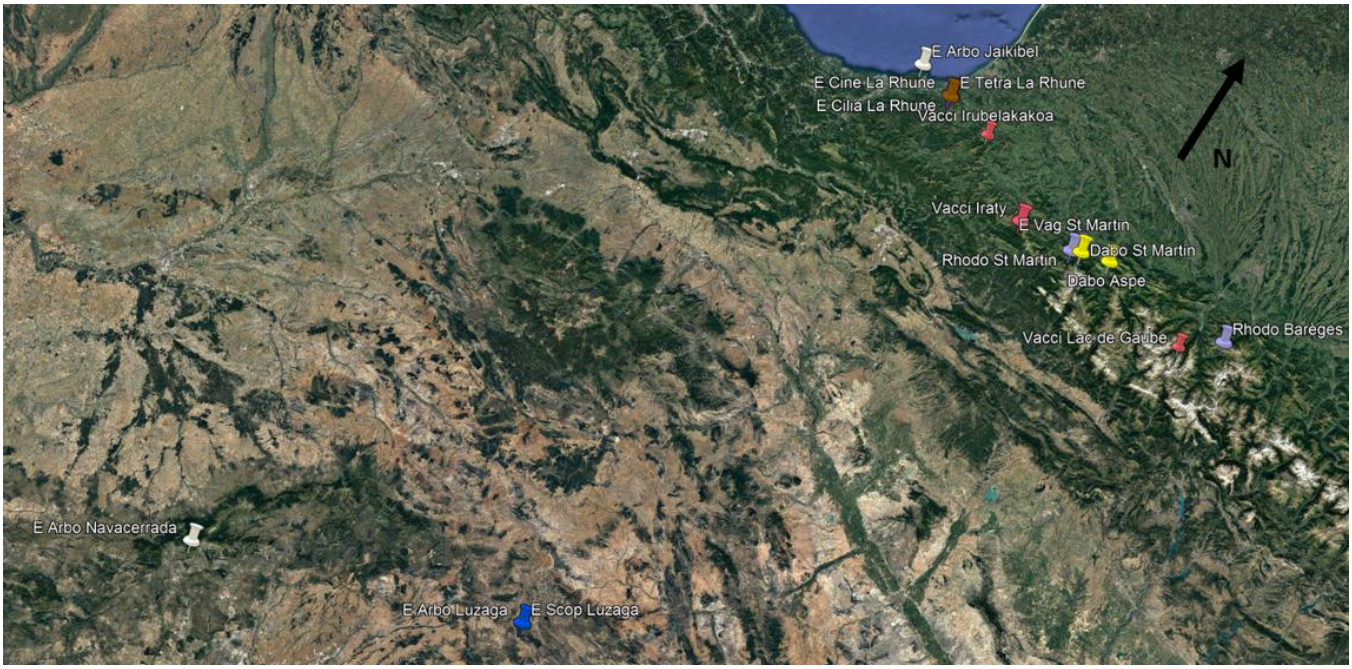


Figure 11 : Localisation des sites de prélèvement dans les Pyrénées et dans le centre Espagne

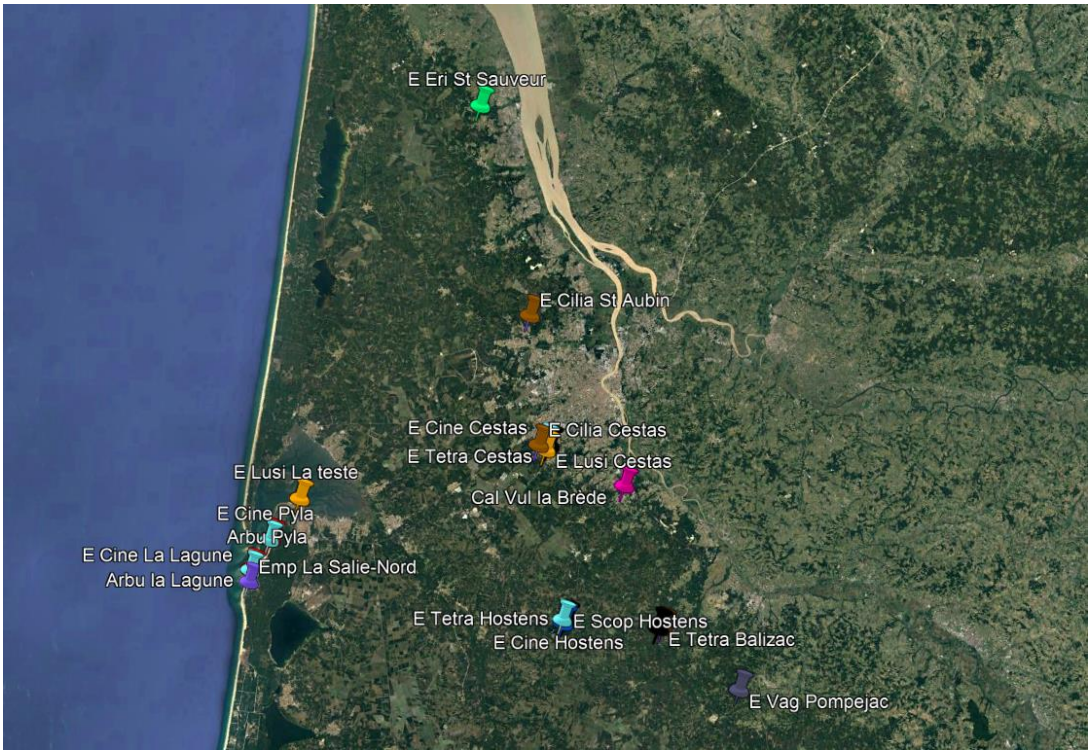


Figure 12 : Localisation de sites de prélèvements en Gironde

2.2 Préparation des échantillons

Afin de pouvoir observer le pollen récolté au microscope, les échantillons ont subi une acétolyse suivant la méthode de Erdtman (1943). Ce traitement ne conserve plus que la paroi externe (exine) du pollen dont la constitution offre une extraordinaire résistance à la corrosion chimique. En effet, l'utilisation d'une préparation d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré permet de détruire le matériel cytoplasmique et la cellulose constituant l'intine des grains de pollen (se dégradant très rapidement après le dépôt et l'enfouissement dans les sédiments) ainsi que les divers restes végétaux. Ainsi acétolysés, les grains de pollen dont il ne reste plus que l'exine ont un aspect très semblable à celui des grains de pollen conservés dans les sédiments (Reille, 1990). La taille des grains de pollen pouvant être affectée par la durée de l'acétolyse, l'attaque avec le mélange d'anhydride acétique/acide sulfurique concentré a été limité à 5 min comme recommandé par Reistma (1969).

Le protocole utilisé pour les traitements est le suivant:

1. Chaque fleur est disséquée afin d'en récupérer les étamines qui sont ensuite placées dans des tubes en verre (du type tube à hémolyse).
2. La fleur est écrasée dans le fond du tube avec une tige en verre.
3. Après ajout d'acide acétique, le tube est centrifugé à 3500 tours/min pendant 5 min. Le surnageant est éliminé.
4. 20ml d'une solution d'anhydride acétique/acide sulfurique (9 :1) pour l'acétolyse est ajoutée. Chaque tube est incubé à 100°C pendant 5 min puis centrifugé pendant 10 minutes à 3500 tours/min.

5. Après élimination du surnageant, 5 ml d'acide acétique est ajouté. Les tubes sont centrifugés 5 à 10 min. Cette étape est répétée 2 fois.
6. Un volume (20 ml) d'eau glycérinée à 10% est ajouté au culot à température ambiante pendant 30 min. Chaque tube est ensuite centrifugé 10 min à 3500 tours/min. Le surnageant est éliminé et le culot récupéré dans des tubes eppendorf après ajout de glycérol phénolé (20 ml)
7. Les grains de pollen sont ensuite montés entre lame et lamelle dans du glycérol phénolé scellé par de l'histolaque.

2.3 Tests préalables à l'analyse des échantillons

a) Délai nécessaire entre traitement et analyses.

Sachant que le milieu de montage peut influencer la taille du pollen et en particulier que le glycerol est supposé faire gonfler les grains de pollen à cause de leur nature hygroscopique (Anderson, 1960 ; Reistma, 1969), un délai minimum de 4 mois après traitement avant montage et analyse est préconisé (Aytug, 1960). Ce délai établi à partir d'une étude sur l'effet du milieu de montage sur le pollen de pin, montre qu'effectivement, les grains gonflent dans la glycerine gélatinée mais qu'à partir du quatrième mois la taille des grains ne change plus.

J'ai réalisé une série de mesures pour tester l'effet éventuel du milieu de montage dans le temps sur la taille des grains de pollen d'Ericaceae. Après acétolyse, les grains ont été montés dans de la gélatine glycérinée, milieu fixe utilisé dans notre travail pour le montage des lames de pollen frais, mais aussi dans du glycérol, milieu mobile communément utilisé pour l'analyse de pollen fossile. Après le délai de 4 mois, j'ai ensuite procédé à des mesures de la largeur du grain et du diamètre de la tétrade d'une espèce d'Ericaceae, *Rhododendron ferrugineum* pendant 3 mois. Une première mesure a été faite le lendemain puis une fois par semaine pendant trois semaines et une fois par mois le deuxième et troisième mois. Nous avons adopté deux types de dilutions du milieu de montage, une non diluée et une diluée de façon à pouvoir effectuer deux procédés différents. Le premier consiste à mesurer 65 pollens à chaque lecture, et le deuxième à mesurer 15 pollens dont les coordonnées ont été repérées sur la lame afin de pouvoir suivre l'évolution de la taille de chaque pollen individuellement.

b) Détermination de la quantité de pollen à mesurer :

Avant d'entamer la campagne d'analyses, nous avons déterminé le nombre de grains à analyser par échantillon (par lame) afin que nos mesures soient représentatives de l'échantillon (Schuler, 2011). Pour cela, nous avons mesuré 2 paramètres (longueur moyenne des grains et tétrades) sur 180 grains de pollen d'un échantillon d'*Erica cinerea* afin de déterminer un seuil à partir duquel la taille moyenne du grain ne varie plus

de façon significative. Pour cela, nous avons appliqué une méthode communément utilisée en écologie pour déterminer la taille d'un échantillon représentatif d'une population (e.g. Anderson and Santana-Garcon, 2015) se basant sur l'évolution de l'erreur standard de la moyenne (SE) avec une taille croissante de l'échantillon. Lorsque la diminution de SE se stabilise, la taille de l'échantillon est alors considérée comme représentative.

c) Choix des critères morphologiques mesurés

Afin de définir les critères qualitatifs et quantitatifs utilisés pour notre analyse nous avons procédé à l'inventaire des travaux décrivant la morphologie des pollens d'Ericaceae et présentant des clefs de déterminations (Oldfield 1959, Mateus 1989, Diez et Fernandez 1989, Ramil Rego *et al*. (1992), Sarwar 2007). La figure 13 et le tableau 4 présentent l'ensemble des critères retenus relatifs à la forme de la tétrade et aux caractéristiques de la paroi pollinique et des apertures.

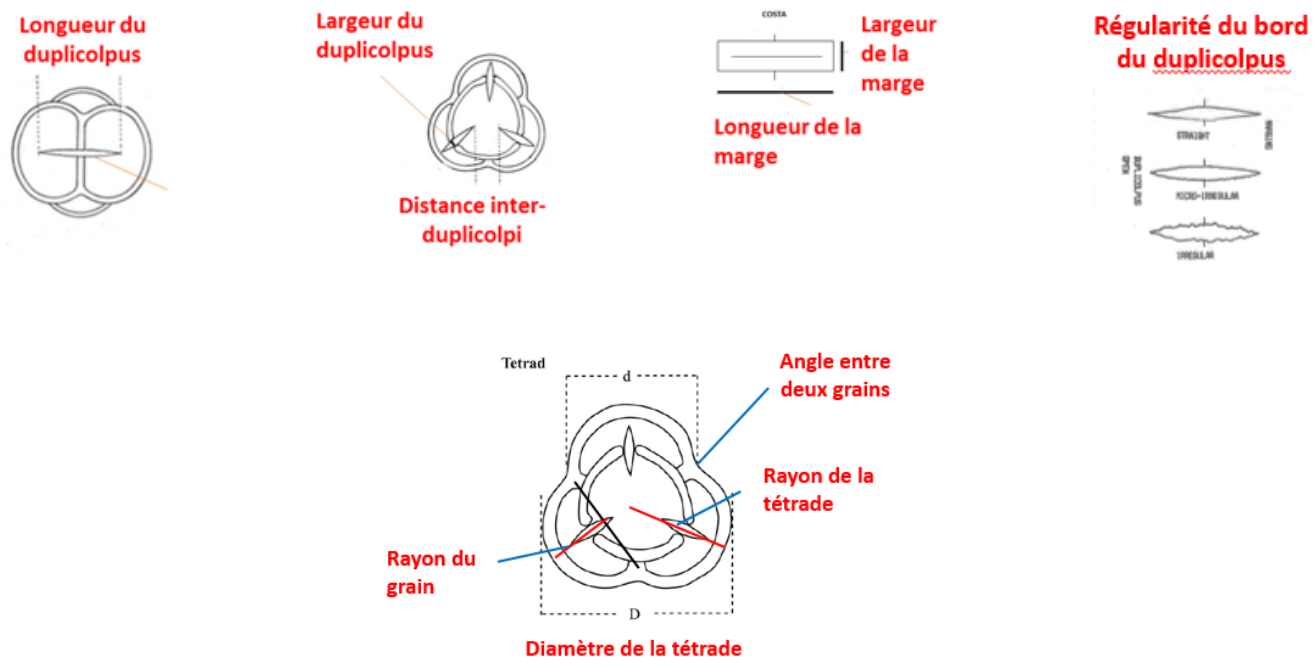


Figure 13: Ensemble des critères retenus relatifs à la forme de la tétrade et aux caractéristiques de la paroi pollinique et des apertures.

CARACTERES	CRITERES	ABBREVIATIONS
TETRADE	Agencement des grains : **tétrade** tétraédrique régulière ou irrégulière ou tétrade plane	**T** (T.reg., T.irreg. ou T.plane)
	Diamètre de la **tétrade** (µm)	**T.Dim**
	Rayon de la **tétrade** (µm)	**T.R**
	Rayon du **grain** (µm)	**T.r**
	Angle entre les **grains** (°)	**T.Ang**
EXINE	**Epaisseur** moyenne de l'exine (µm)	**EX**
	Ornementation en zone méso-aperturale: verruquée, microverruquée, verruquée-tesselée, rugulo-verruquée, tesselée, scabrée, lisse ou perforée	**Orn.A** (A.ver, A. microver, A.ver.tes, A. rug.ver, A.tes, A. scab, A. psi, A.punct)
	Ornementation en zone polaire: verruquée, microverruquée, verruquée-tesselée, rugulo-verruquée, tesselée, scabrée, lisse ou perforée	**Orn.P** (P.ver, P. microver, P.ver.tes, P. rug.ver, P.tes, P. scab, P. psi, P.punct)
SYSTEME APERTURAL	Régularité du bord du **duplicolpus** (irrégulier/ droit/micro-irrégulier)	**D.Bord (Dupl.ir, Dupl.dr, Dupl.µir)**
	Longueur du **duplicolpus** (µm)	**D.Long**
	Largeur du **duplicolpus** (µm)	**D.larg**
	Distance inter-**duplicolpus** : écart entre les extrémités de 2 duplicolpi d'un grain en vue polaire (p)	**D.Ecart**
	Endoaperture présente ou non présente	**Endo** (Endo.1 ou Endo.0)
	Longueur de la **marge** du duplicolpus (µm)	**C.Long**
	Largeur de la **marge** du duplicolpus (µm)	**C.larg**

Tableau 4: Ensemble des critères retenus relatifs à la forme de la tétrade et aux caractéristiques de la paroi pollinique et des apertures

2.4. Analyses microscopiques

Lecture de lame

Pour chaque échantillon, suivant les recommandations de Moore compte-tenu de la répartition du pollen entre lame et lamelle et afin d'obtenir des données représentatives des mesures effectuées, la lecture de la lame s'effectue sur au moins la moitié de la surface de la lame, de façon homogène, afin de prendre en compte la répartition du pollen inégale sur la surface de lecture. En effet, du fait de sa taille le pollen se répartit inégalement sur l'ensemble de la surface de la lamelle (Moore, 1991).

Les mesures sont prises en direct à un grossissement 400X avec une précision au pixel de +/- 0.15 micron, en utilisant un microscope optique Leica, une caméra numérique et un logiciel d'imagerie (LAS Interactive Measurement module). Nous déterminons ensuite l'erreur de mesure qui est définie comme l'addition de l'erreur de mesure humaine (test de l'erreur de mesure sur 2 opérateurs sur une mesure répétée 10 fois égale à +/- 0.169 micron) et de l'erreur de mesure matérielle fournie par le constructeur (Microscope optique Leica DM 750) soit +/- 0.319 micron.

2.5. Outils statistiques utilisés

2.5.1- Analyses multivariées

Afin de déterminer la structure du jeu de données et définir si les pollens des différentes espèces d'Ericaceae se distinguent par les paramètres morphologiques analysés, j'ai utilisé différentes analyses multivariées. Les méthodes ou procédures utilisées sont relativement complexe étant donné que les variables de notre jeu de données sont à la fois numériques et catégoriques. Avant d'effectuer ces analyses, j'ai testé la normalité des données quantitatives par un test de Shapiro-Wilk pour l'ensemble des espèces, Williams, G. J. (2011). Les analyses multivariées ont été effectuées sous l'environnement R (R Core Team, 2017)

a) AFMD

J'ai effectué un premier essai avec une méthode dédiée à l'analyse de jeu de données contenant à la fois des variables qualitatives et quantitatives, nommée analyse factorielle de données mixtes (AFDM) (Pagès, 2004) qui à ce jour reste peu utilisée. L'algorithme de l'AFDM combine une analyse en composante principale (ACP) et une analyse des correspondances multiples (ACM) permettant de traiter les variables de nature différentes. Plus précisément, les variables quantitatives sont centrées réduites et les variables qualitatives sont intrinsèquement transformées sous forme de tableau disjonctif complet. Les packages R "FactoMineR" et "factoextra" (Kassambara et Fabian Mundt, 2017) ont été utilisés pour réaliser cette analyse.

b) Analyses multivariées combinées

Dans un deuxième temps, afin d'optimiser l'extraction de la variance du jeu de données mixtes, j'ai utilisé une combinaison d'analyses factorielles réalisée en plusieurs étapes :

1) une ACP des données n'incluant que les variables quantitatives
2) une ACoP avec les variables qualitatives
3) une ACP avec les dimensions ACP et ACoP incorporant le maximum de variance, en d'autre termes résumant au mieux la variance des données quantitatives et quantitatives.

L'analyse en composante principale (ACP) est l'analyse factorielle la plus largement utilisée pour résumer l'information d'un jeu de données. Elle est basée sur la distance euclidienne entre objets pour déterminer les axes factoriels (David, 2017). Bien que les unités des variables quantitatives soient homogènes, les données ont été tout de même centrées réduites pour pallier aux problèmes de différences de gammes de variation. L'ACP s'applique en mode direct sur des données quantitatives ou semi-quantitatives. Les relations entre les

paramètres sont supposées de type linéaire. Même si les données ne répondent pas dans la majorité aux conditions de normalité, un nombre plus élevé d'objets que de paramètres est accepté pour pallier à ce problème. La fonction PCA () du package R FactomineR et le package factoextra (Le et al. 2008 ; Kassambara et Mundt, 2017) ont été utilisés pour réaliser les ACP et représenter les résultats.

L'analyse en coordonnées principales (ACoP) permet de réaliser une analyse factorielle de la distance ou dissimilarité de son choix (Torgerson, 1958). Elle s'applique en mode direct comme toute analyse factorielle et nécessite un nombre plus élevé d'objets que de paramètres, ce qui est le cas dans notre jeu de données. Le principe de ce type d'analyse est basé sur une représentation dans un espace à faible dimension des distances d'une matrice d'association. Au préalable, les données qualitatives ont été transformées en données quantitatives en créant un tableau disjonctif complet qui remplace la variable qualitative par autant de variables binaires qu'il y a de modalités pour le descripteur qualitatif concerné (package ade4, Dray et Dufour, 2007). Cette transformation des données implique d'utiliser des métriques qui sont applicables au données binaires tel que la distance de Gower (Gower, 1971). La distance de Gower a été calculée à partir du tableau disjonctif grâce à la fonction *daisy* du package R cluster (Gower, 1971). Gower a proposé un *indice de similarité* qui porte son nom. L'objectif de cet indice consiste à mesurer dans quelle mesure deux individus sont semblables. L'indice de Gower varie entre 0 et 1. Si l'indice vaut 1, les deux individus sont identiques. À l'opposé, s'il vaut 0, les deux individus considérés n'ont pas de point commun. Afin de calculer la quantité d'inertie expliquée pour chaque axe il convient d'enlever les valeurs propres négatives. Afin de déterminer les variables interprétables nous avons calculé le cos2 avec la fonction wascored() (David, 2017). L'ACoP a été réalisée en utilisant la fonction cmdscale () (Ingwer and Groenen 2005).

2.5.2. Arbre de décision

Le jeu de données de pollen d'Ericaceae a aussi fait l'objet d'une analyse CART (Classification and regression tree). CART utilise un partitionnement récursif de variables pour créer un arbre de classification (décision) similaire dans le concept à une clé d'identification dichotomique standard (Breiman et al, 1984). L'objectif de cette méthode est de trouver la variable et un seuil associé à chaque nœud. Les nœuds terminaux unifient les données dans une classe spécifique (c'est-à-dire une espèce). La probabilité de classification correcte pour chaque nœud terminal spécifique est quantifiée via le nombre de cas correctement classés dans ce nœud. L'erreur de classification totale du modèle est fonction de la mauvaise classification des nœuds terminaux. L'arbre de classification est élagué afin de minimiser les erreurs de validation croisée et d'éviter une sur-adaptation de l'arbre aux données. Cela se fait via une évaluation des paramètres de complexité du modèle. Les nœuds d'arbre qui sur-adaptent les données sont supprimés jusqu'à ce que l'arbre de décision ait une taille optimale et que le coût des erreurs de classification soit minimisé (Breiman *et al.,* 1984; Therneau *et al.,* 2009). CART a été choisi comme outil statistique principal pour cette étude car des recherches antérieures ont

montré que CART était une méthode non paramétrique utile pour classer le pollen en espèces dans Picea (Lindbladh *et al.*, 2002; Lindbladh *et al.,* 2007) et *Pinus* (Barton *et al.*, 2011 ; Desprat *et al.*, 2015). De plus, l'analyse CART peut fournir un modèle statistique plus puissant que l'analyse de la fonction discriminante la plus couramment utilisée pour comparer des caractères morphologiques qui se chevauchent entre espèces (Breiman *et al.*, 1984; Lindbladh *et al.*, 2002).

Avant de faire l'analyse, 25% des données pour chaque espèce ont été séparés de façon aléatoire en utilisant la fonction sample() du package base (Becker, 1988). Cette réserve de données comprenant 1808 observations constitue le jeu « test » qui servira à évaluer le modèle qui sera créé. Le modèle CART sera construit à partir du jeu de données restant appelé train et comprenant 5447 observations. Il a été réalisé en utilisant le package rattle (Williams, 2011).

3. RESULTATS

3.1 Résultats des tests préalables à l'analyse des échantillons

a) Délai entre traitement et analyses.

Les lames non diluées dans lesquelles nous avons mesuré 65 pollens à chaque session de mesures ne montrent pas d'évolution de la taille des grains et des tétrades dans le temps. Il en est de même pour la lame s3601d, lame diluée dans laquelle nous avons suivi 15 pollen individuellement. Par contre la lame s3602d diluée présente des pollens ayant fortement gonflé à T90. Il est à noter qu'elle constitue un cas particulier dans le sens où un défaut d'étanchéité entre lame et lamelle a été constaté au 90 ème jour de mesure ce qui aurait pu entrainer le déplacement des pollens suivis. La mesure tout de même effectuée a probablement porté sur des pollens différents ce qui pourrait expliquer la différence de taille entre les mesures à T60 et T90. Par ailleurs, les mesures réalisées pour la lame s3601 non diluée (mesures sur 65 pollens à suivre) ne montrent pas d'évolution significative de la taille au 90 ème jour, fig. 14.

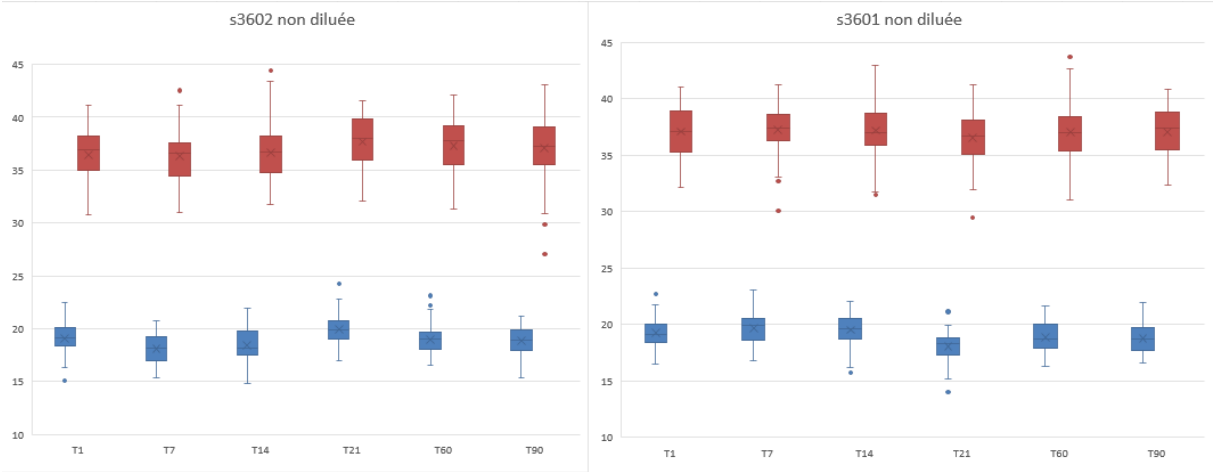


Figure 14 : Evolution de la taille du grain (bleu) et de la tétrade (rouge) du pollen *Rhododendron ferrugineum* dans un milieu de montage glycérol après acétolyse en milieu non dilué.

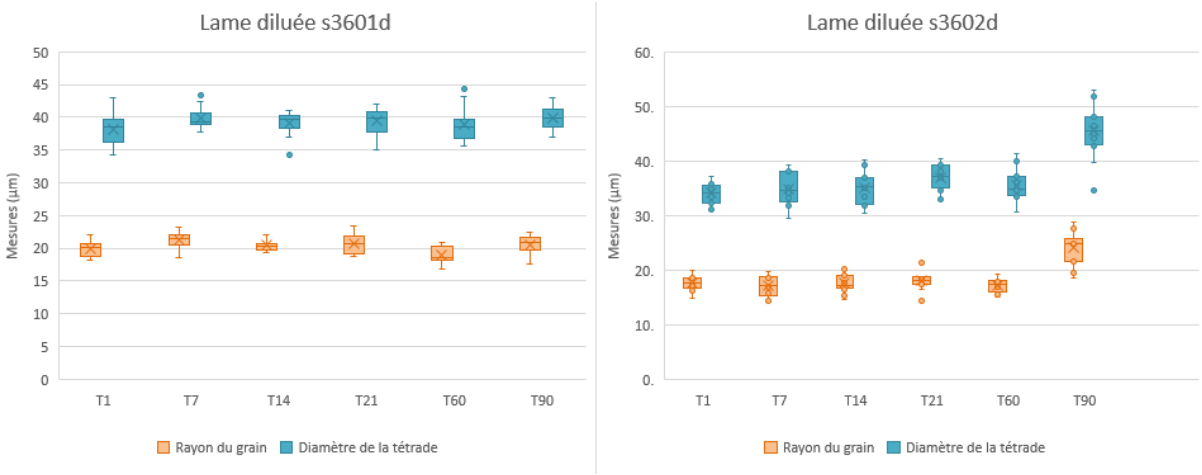
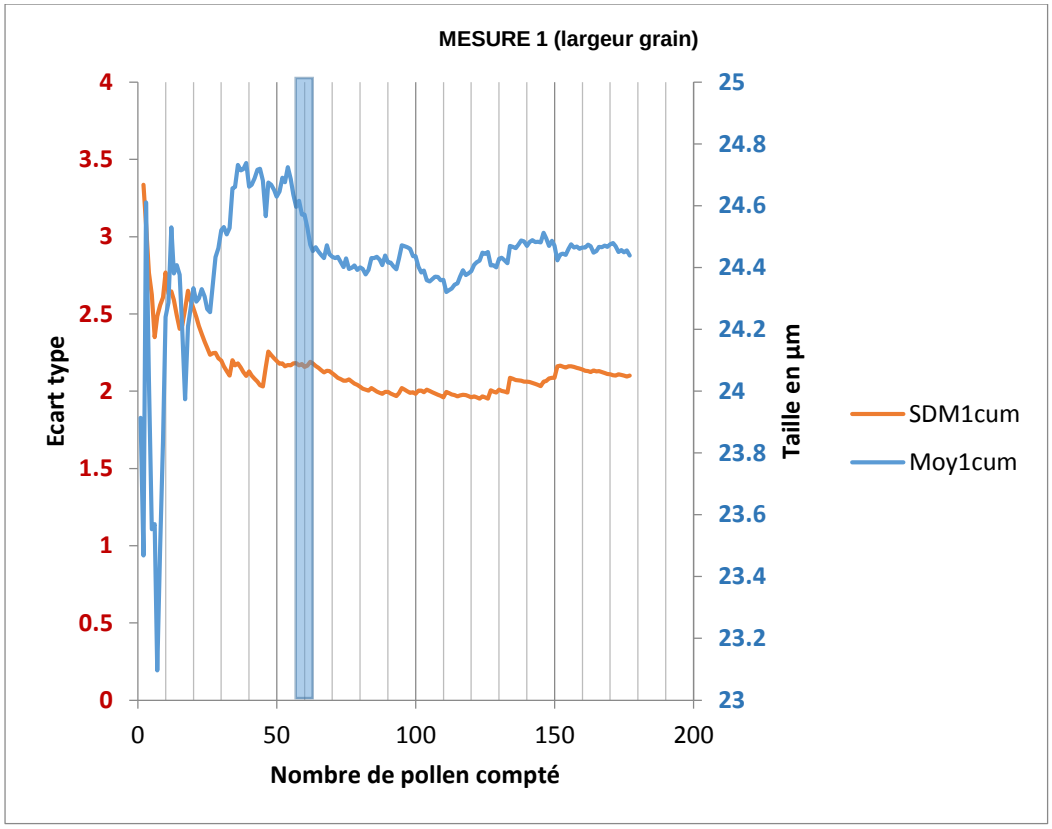
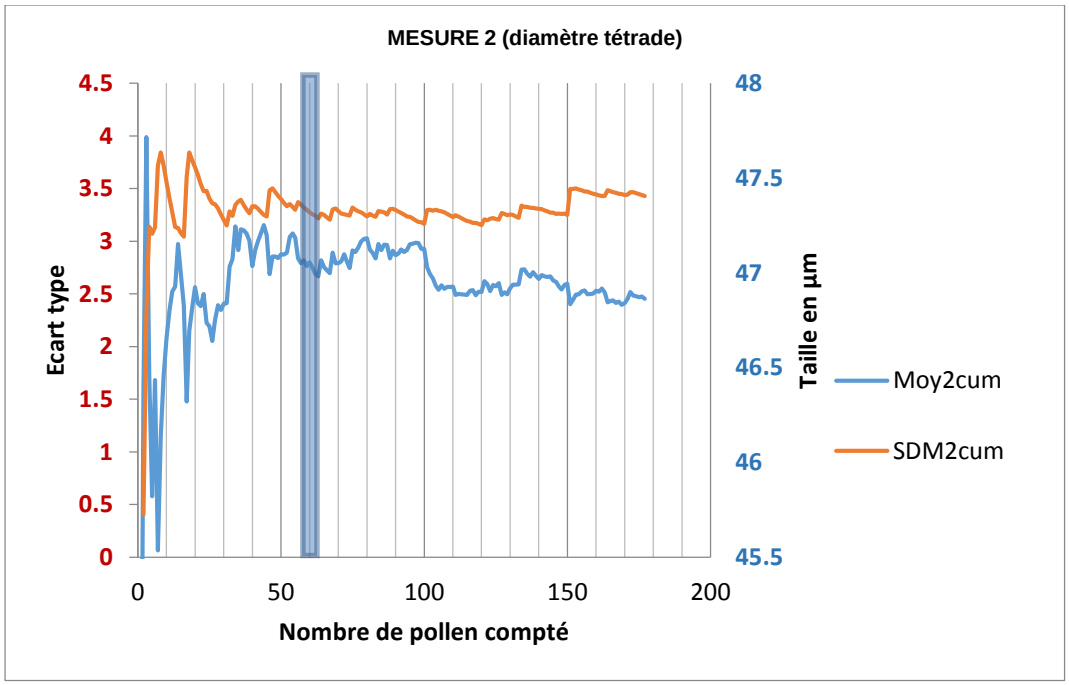


Figure 15 : Evolution de la taille du grain et de la tétrade du pollen *Rhododendron ferrugineum* dans un milieu de montage glycérol après acétolyse en milieu dilué.

b) Détermination de la quantité de pollen à mesurer

Les mesures sur 180 grains de pollen (tétrades) d'un échantillon d'*Erica cinerea* montre que les valeurs des moyennes cumulées se stabilisent à partir de 60 mesures ; au-dessus de ce nombre l'écart type cumulé (SDM) reste stable avec une variation de 0.3 µm (Fig. 16).





Détermination du nombre de pollen compté avec une certitude de 95% pour M1 et M2.

- **Moyenne population = (+/-1.96SD) : √de n (n varie en fonction de l'échantillon)**
- **Pour n=177**
- **mM1** = 24.44 +/- ((1.96 x 2.101819)/√177) = 0.3096 soit un intervalle qui varie pour n=177 de **24.01304 à 24.7416 à 95%**

- **mM2 =** 46.86 +/- ((1.96 x 3.43)/ √177) = 0.5053 soit un intervalle qui varie pour n de **46.3547 à 47.3653 à 95%**

Figure 16 : Moyenne cumulée du nombre de pollen compté mesures 1 et 2

3.2. Présentation des résultats des analyses morphométriques

3.2.1. Caractérisation des critères par espèce

a) Critères relatifs à la forme de la tétrade et des grains

- **Agencement des grains**

L'ensemble des échantillons étudiés présentent des grains de pollen organisés exclusivement en tétrade tétraédrique à l'exception de *Calluna vulgaris.* Les tétrades produites par les plantes de cette espèce varient

d'une forme plane à une forme tétraédrique irrégulière voire régulière (Fig. 17, Tableau 5). Les tétrades ayant une forme plane restent néanmoins très faiblement représentées (6.8 %).

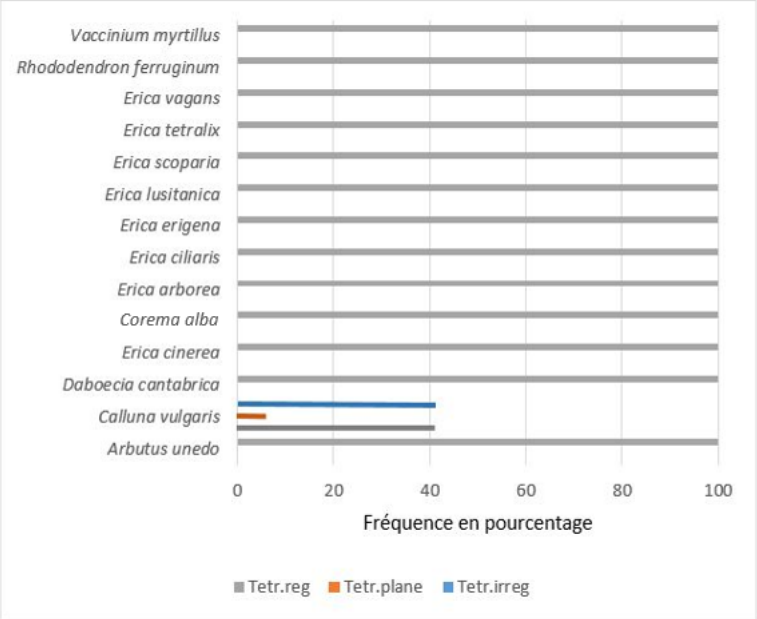


Figure 17 : Fréquence des différentes formes de tétrades.

- **Diamètre de la tétrade (T. dim)**

Trois groupes d'espèces se différencient par la taille de la tétrade (Tableau 5, Fig. 18). Le premier groupe, constitué de *Daboecia cantabrica*, *Corema alba, Erica arborea*, *Erica erigena*, *Erica scoparia* et *Erica vagans* est caractérisé par un diamètre de petite taille avec une moyenne comprise entre 29 et 35 µm et un 3eme quartile inférieur à 36 µm (Tableau 5, Fig. 18). Le second groupe est un groupe dont le diamètre se rapproche de la moyenne de l'ensemble des espèces (37.05 µm). Cette valeur se retrouve entre le 1er et 3eme quartile pour *Vaccinium myrtillus*, (34.87 µm) et *Calluna vulgaris* (37.29 µm). Quant au troisième

groupe il comprend des espèces dont les tétrades ont un diamètre majoritairement supérieur à l'espèce *Rhododendron ferrugineum*.

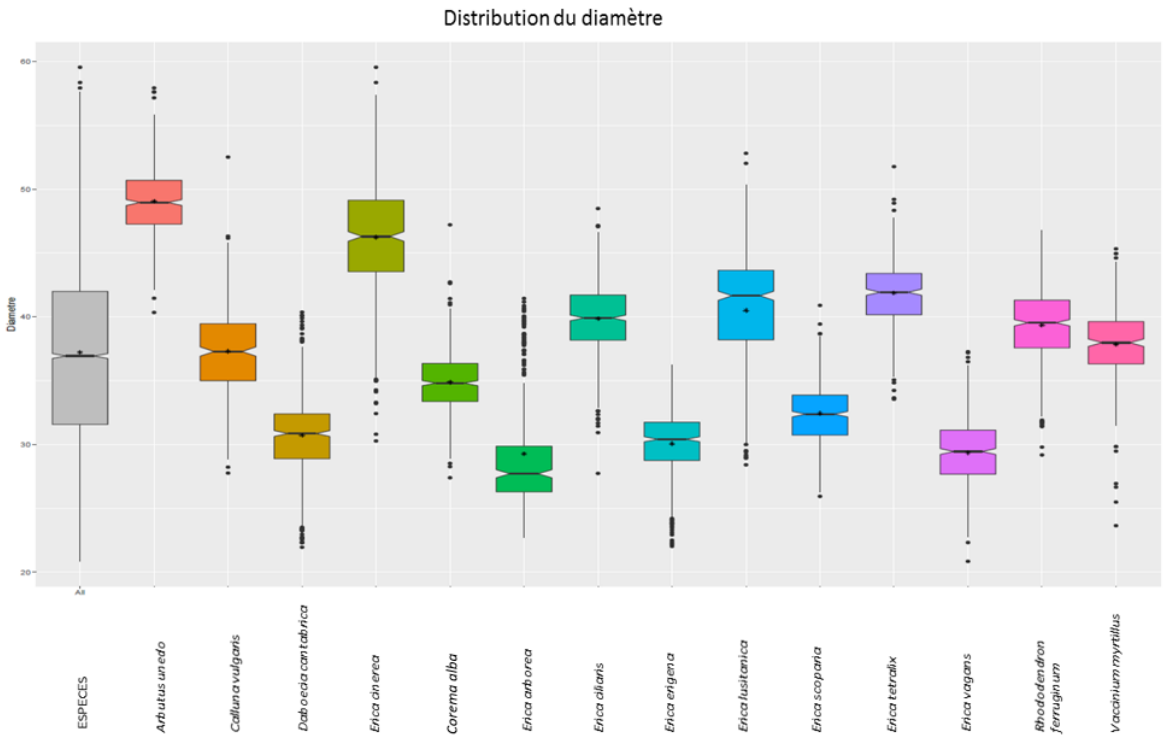


Figure 18: Distribution du diamètre.

- **Rayon de la tétrade et rayon du grain (T.R et T.r)**

Nous constatons que les 2 critères T.r et T.R varient de façon similaire et trois groupes se distinguent (Tableau 5, Fig. 19 et 20). Comme pour le paramètre précédent, le premier ensemble de pollens dont le rayon de la tétrade et celui du grain sont inférieurs à la moyenne (T.R moyen : 19.1 µm, T.r moyen : 9.3 µm) est constitué de *Erica vagans*, *Erica scoparia*, *Erica erigena*, *Erica arborea* et *Daboecia cantabrica*. Néanmoins, *Corema alba* présente des rayons proches des valeurs moyennes et est alors compris dans le second groupe avec *Calluna vulgaris* et *Vaccinium myrtillus*. Le dernier groupe incluant le reste des espèces, correspond à un ensemble caractérisé par un grand rayon du grain et de la tétrade. *Arbutus unedo* et *Erica cinerea* sont les espèces présentant les grains de grand rayon mais aussi et surtout par des tétrades ayant un rayon particulièrement grand (en moyenne 24.7 µm et 23.7 µm respectivement).

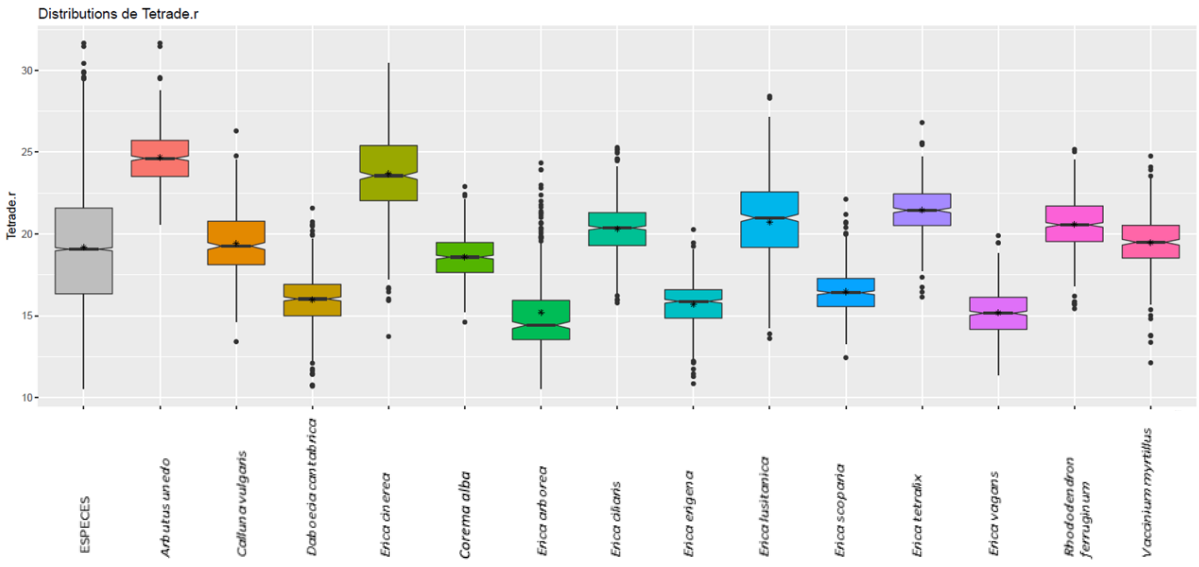


Figure 19: Distribution du rayon du grain (T.r).

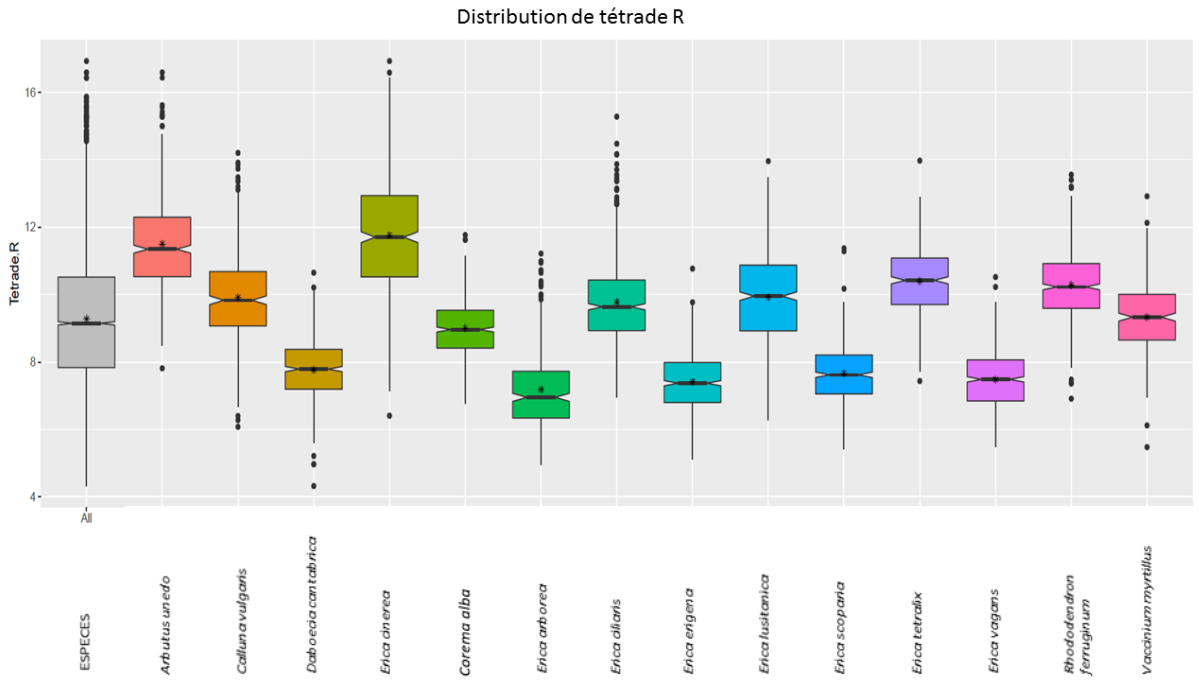


Figure 20: Distribution du rayon de la tétrade (T.R).

- **Angle entre les grains (T. Ang)**

L'angle entre les grains s'échelonne de manière relativement uniforme entre les différentes espèces (Fig. 21). *Erica vagans* présente un angle moyen de 124.9°alors que *Erica erigena, Erica cinerea* et *Arbutus unedo* sont associées aux valeurs d'angle les plus grandes (moyennes de 150.9 à 159.4°). Ces trois espèces se démarquent

aussi par un écart entre les premiers et troisièmes quartiles plus contraint que les autres et une valeur de premier quartile supérieure à la moyenne de l'ensemble des espèces (140.91 µm).

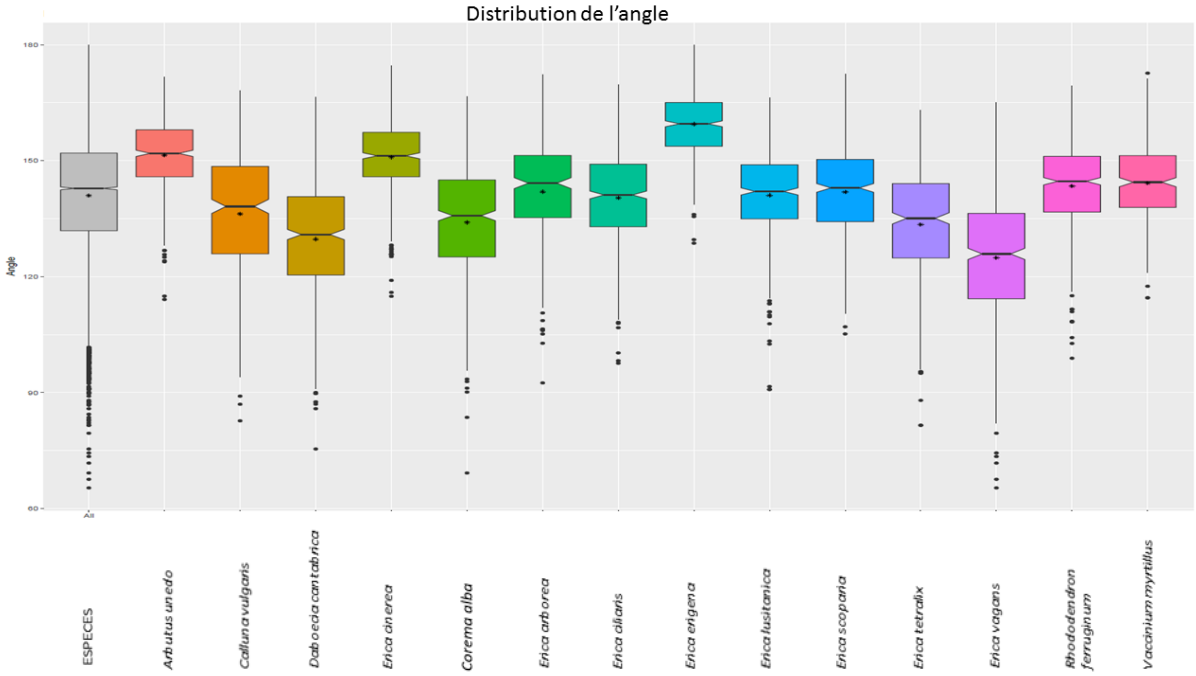


Figure 21: Distribution de l'angle entre deux tétrades.

			Calluna vulgaris	*Arbutus unedo*	*Daboecia cantabrica*	*Erica arborea*	*Erica ciliaris*	*Erica cinerea*	*Erica erigena*	*Erica lusitanica*	*Erica scoparia*	*Empetrum album*	*Rhododendron ferruginum*	*Vaccinium myrtillus*	*Erica tetralix*	*Erica vagans*
TETRADE	**Agencement des grains**	Tetr.reg	179	567	586	325	655	554	577	584	521	585	583	323	433	576
		Tetr.irreg	179	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
		Tetr.plane	26	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Diamètre de la tétrade	Minimum	27.8	40.3	21.9	22.7	27.7	30.3	22.0	28.4	25.9	27.4	29.2	23.6	33.6	20.8
		1er Quartile	35.0	47.3	28.9	26.3	38.2	43.5	28.7	38.2	30.7	33.4	37.6	36.3	40.2	27.7
		Médiane	37.3	49.0	30.9	27.7	39.9	46.3	30.4	41.7	32.4	34.8	39.5	38.0	41.9	29.4
		Moyenne	37.3	49.1	30.7	29.3	39.9	46.2	30.1	40.5	32.4	34.9	39.4	37.8	41.9	29.4
		3eme Quartile	39.5	50.7	32.4	29.9	41.7	49.1	31.7	43.7	33.9	36.4	41.3	39.6	43.4	31.1
		Maximum	52.5	57.9	40.4	41.4	48.5	59.6	36.2	52.8	40.9	47.2	46.8	45.3	51.8	37.3
	Rayon de la tétrade	Minimum	13.4	20.6	10.7	10.5	15.8	13.7	10.9	13.6	12.4	14.6	15.4	12.1	16.1	11.4
		1er Quartile	18.1	23.5	15.1	13.5	19.3	22.0	14.9	19.2	15.6	17.6	19.5	18.5	20.5	14.2
		Médiane	19.3	24.6	16.1	14.4	20.4	23.6	15.9	21.0	16.4	18.6	20.6	19.5	21.4	15.2
		Moyenne	19.4	24.7	16.4	15.2	20.3	23.7	15.7	20.7	16.5	18.6	20.6	19.5	21.4	15.2
		3eme Quartile	20.8	25.7	17.1	15.9	21.3	25.4	16.6	22.6	17.3	19.5	21.7	20.5	22.5	16.1
		Maximum	26.3	31.7	35.6	24.3	25.3	30.4	20.3	28.4	22.1	22.9	25.2	24.8	26.8	19.9
	Rayon du grain	Minimum	6.1	7.8	4.3	5.0	7.0	6.4	5.1	6.3	5.4	6.8	6.9	5.5	7.4	5.5
		1er Quartile	9.1	10.5	7.2	6.3	8.9	10.5	6.8	8.9	7.1	8.4	9.6	8.6	9.7	6.8
		Médiane	9.8	11.3	7.8	7.0	9.6	11.7	7.4	10.0	7.6	9.0	10.2	9.3	10.4	7.5
		Moyenne	9.9	11.5	7.8	7.2	9.8	11.8	7.4	9.9	7.7	9.0	10.3	9.3	10.4	7.5
		3eme Quartile	10.7	12.3	8.4	7.7	10.4	12.9	8.0	10.9	8.2	9.5	10.9	10.0	11.1	8.1
		Maximum	14.2	16.6	10.7	11.2	15.3	16.9	10.8	14.0	11.4	11.8	13.6	12.9	14.0	10.5
	Angle entre les grains	Minimum	82.7	114.1	75.4	92.5	97.6	114.9	128.6	90.8	105.2	69.2	98.9	114.5	81.5	65.3
		1er Quartile	125.9	145.8	120.4	135.2	132.9	145.8	153.7	134.9	134.2	125.1	136.7	137.9	124.8	114.3
		Médiane	138.2	151.9	130.9	144.2	141.1	151.3	159.5	142.0	143.0	135.8	144.7	144.4	135.1	125.9
		Moyenne	136.2	151.4	129.7	142.0	140.3	150.9	159.4	141.1	141.9	134.0	143.4	144.2	133.5	124.9
		3eme Quartile	148.5	158.0	140.7	151.4	149.1	157.3	165.1	148.9	150.3	145.0	151.1	151.3	144.1	136.4
		Maximum	168.2	171.6	166.4	172.3	169.8	174.5	179.9	166.3	172.4	166.6	169.4	172.6	163.1	165.1

Tableau 5: Résumé des résultats concernant les critères relatifs à la forme et aux dimensions de la tétrade et des grains. Pour les paramètres quantitatifs mesurés, les valeurs indiquées sont des mesures en micromètre alors que pour les paramètres qualitatifs, elles correspondent au nombre de pollen observé dans chaque catégorie.

b) Critères caractéristiques de l'exine

- **Epaisseur de l'exine**

L'épaisseur de l'exine varie peu entre les différentes espèces d'Ericaceae (Tableau 6, Fig. 22). Les valeurs moyennes sont comprises entre 1.7 pour *Erica vagans* et 2.6 µm pour *E. lusitanica*.

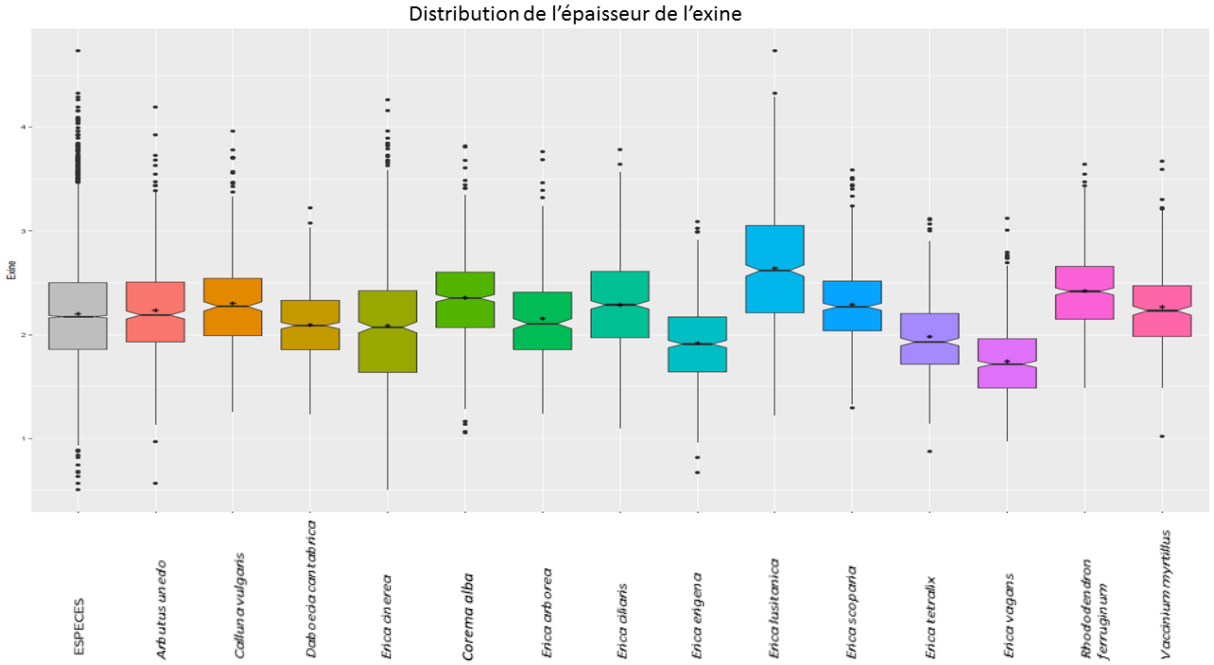


Figure 22: Distribution de l'épaisseur de l'exine (en µm).

- **Ornementation méso-aperturale et polaire (fig. 17)**

Un grand nombre de pollen présente une ornementation verruco-tessélée dans la zone méso-aperturale. Elle se retrouve chez la majorité des espèces (*Erica ciliaris, Daboecia cantabrica, Rhododendron ferrugineum, Erica erigena, Erica vagans, Erica tetralix*, et *Arbutus unedo).* Par contre, certaines ornementations de la zone méso-aperturale caractérisent une seule espèce : scabrée pour *Erica cinerea*, rugulo-verruquée pour *Vaccinium myrtillus*, perforée (punctae) pour *Arbutus unedo*. D'autres ornementations caractérisent deux ou plusieurs espèces ; c'est le cas de l'ornementation microverruquée qui est observée dans la zone méso-aperturale de*Corema alba* et *Erica lusitanica* ou de l'ornementation verruquée observé chez *Erica scoparia*, *Calluna vulgaris* et *Erica arborea*. Une ornementation tesselée se rencontre chez *Erica ciliaris, Erica erigena, Erica cinerea* et *Vaccinium myrtillus* mais n'est jamais l'ornementation majeure de la zone méso-aperturale de ces espèces.

L'ornementation lisse est l'ornementation la plus fréquemment rencontrée dans la zone polaire. Cette ornementation est observée sur tous les pollens de *Daboecia cantabrica*, *Rhododendron ferrugineum* et *Arbutus unedo.* Elle est retrouvée majoritairement chez *Erica cinerea, Erica tetralix*, et comme ornementation secondaire chez *Erica ciliaris, Erica erigena* et *Vaccicium myrtillus*. L'ornementation tesselée est observée

seulement sur quelques grains d'*Erica tetralix*. L'ornementation rugulo-verruquée est associée à *Vaccinium myrtillus*. L'ornementation verruco-tesselée est observée dans la zone polaire de tous les grains d'*Erica vagans* et sur une partie des grains d'*Erica tetralix*. L'ornementation scabrée est l'ornementation principale d'*Erica erigena* De nombreux grains d'*Erica cinerea* présentent aussi cette ornementation. L'ornementation verruquée est observée sur tous les grains d'*Erica ciliaris*, *Calluna vulgaris, Erica arborea.* Par ailleurs, il est à noter que l'ornementation perforée n'a pas été observée en zone polaire (Fig.23).

Les espèces ayant des ornementations similaires pour les zones *méso-aperturale* et polaire sont *Erica lusitanica* pour l'ornementation micro-verruquée et *Calluna vulgaris, Erica arborea* pour l'ornementation verruquée (Fig.23).

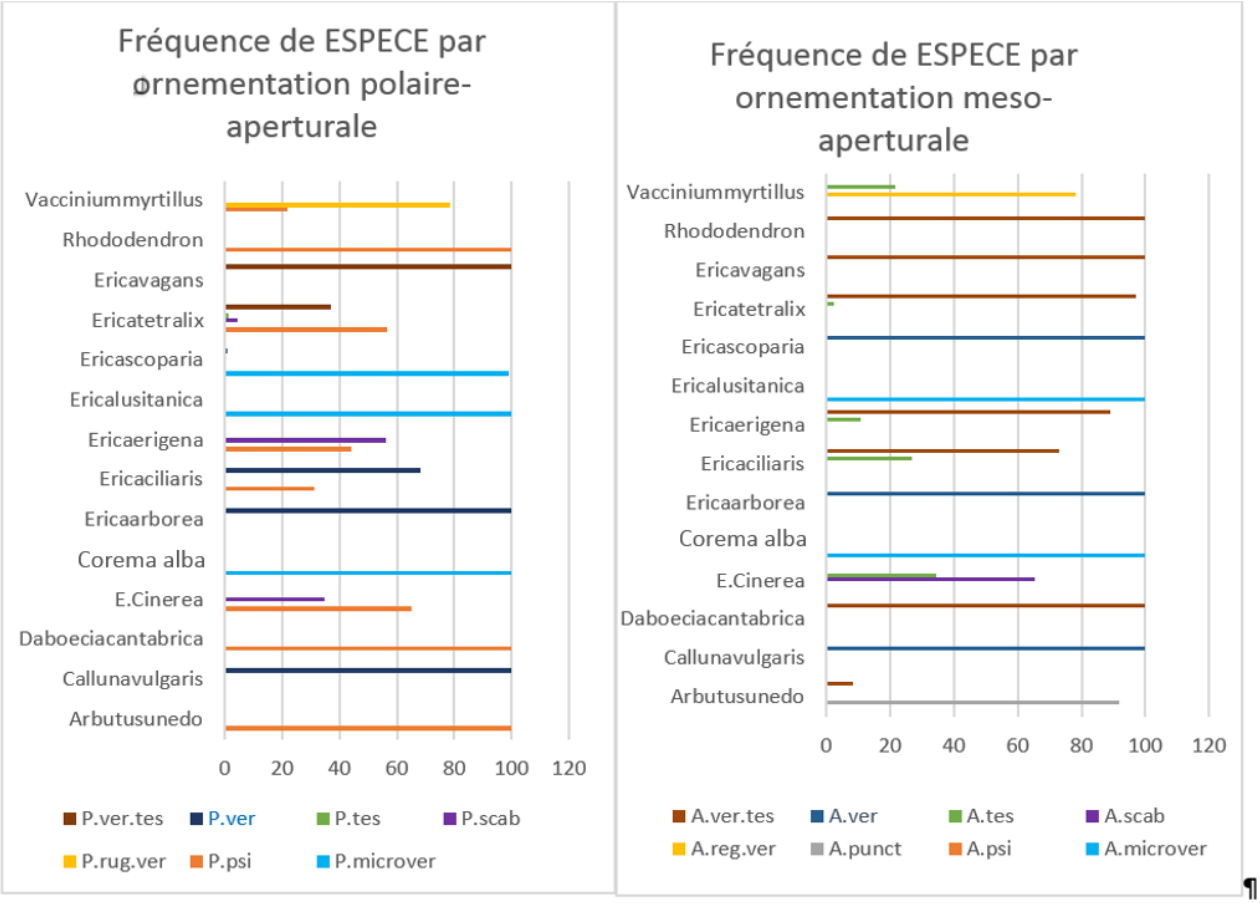


Figure 23: Ornementation méso-aperturale et ornementation polaire

			Calluna vulgaris	*Arbutus unedo*	*Daboecia cantabrica*	*Erica arborea*	*Erica ciliaris*	*Erica cinerea*	*Erica erigena*	*Erica lusitanica*	*Erica scoparia*	*Empetrum album*	*Rhododendron ferruginum*	*Vaccinium myrtillus*	*Erica tetralix*	*Erica vagans*
EXINE	**Epaisseur de l'exine**	Minimum	1.3	0.6	1.2	1.2	1.1	0.5	0.7	1.2	1.3	1.1	1.5	1.0	0.9	1.0
		1er Quartile	2.0	1.9	1.9	1.9	2.0	1.6	1.6	2.2	2.0	2.1	2.2	2.0	1.7	1.5
		Médiane	2.3	2.2	2.1	2.1	2.3	2.1	1.9	2.6	2.3	2.4	2.4	2.2	1.9	1.7
		Moyenne	2.3	2.2	2.1	2.2	2.3	2.1	1.9	2.6	2.3	2.4	2.4	2.3	2.0	1.7
		3eme Quartile	2.5	2.5	2.3	2.4	2.6	2.4	2.2	3.1	2.5	2.6	2.7	2.5	2.2	2.0
		Maximum	4.0	4.2	3.2	3.8	3.8	4.3	3.1	4.7	3.6	3.8	3.6	3.7	3.1	3.1
	Ornementation méso-aperturale	A.ver.tes	0	47	586	0	478	0	514	0	0	0	583	0	420	576
		A.ver	384	0	0	325	0	0	0	2	521	0	0	0	1	0
		A.µver	0	0	0	0	0	0	0	582	0	587	0	0	1	0
		A.punct	0	520	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		A.tes	0	0	0	0	177	191	63	0	0	0	0	70	11	0
		A.scab	0	0	0	0	0	362	0	0	0	0	0	0	0	0
		A.rug.ver	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	253	0	0
		A.psi	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Ornementation polaire	P.psi	0	567	586	0	205	361	254	0	0	0	583	70	246	0
		P.µver	0	0	0	0	1	0	0	584	516	587	0	0	0	0
		P.ver	384	0	0	325	448	0	0	0	5	0	0	0	2	0
		P.ver.tes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	160	576
		P.scab	0	0	0	0	1	193	323	0	0	0	0	0	20	0
		P.rug.ver	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	253	0	0
		P.tes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0

Tableau 6: Résumé des résultats concernant les critères relatifs à l'exine. Pour les paramètres quantitatifs mesurés, les valeurs indiquées sont des mesures en micromètre alors que pour les paramètres qualitatifs, elles correspondent au nombre de pollen observé dans chaque catégorie.

c) Critères relatifs au système apertural

Nous considérons tout d'abord les différents aspects morphologiques du double sillon, le duplicolpus, notamment la régularité du trait constitué par cette ouverture puis ses dimensions (longueur et largeur).

- **Régularité du bord du duplicolpus**

Les résultats montrent que les duplicolpi de cinq espèces (*Arbutus unedo*, *Corema alba*, *E. arborea*, *E. lusitanica et E.Tetralix*) sont exclusivement droits (Fig. 24). Les autres espèces présentent majoritairement un duplicolpus ayant un bord droit. Néanmoins, une part relativement importante de pollen de quelques espèces est marquée par un duplicolpus irrégulier. C'est le cas de *Erica erigena*, *Calluna vulgaris*, *E. cinerea* et *E. ciliaris* avec 20 à 40 % des tétrades présentant des duplicolpi micro-irréguliers.

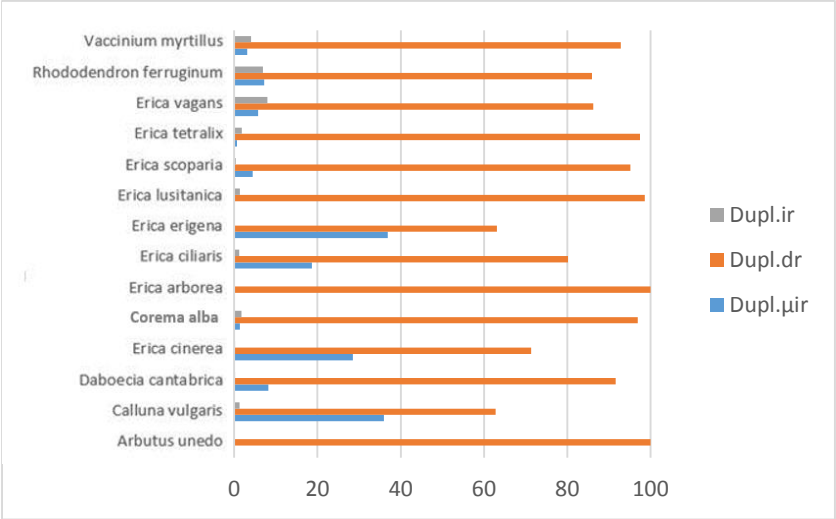


Figure 24: Fréquence de régularité du duplicolpi par espèce

- **Distance inter-duplicolpi**

Pour ce paramètre, plusieurs groupes se distinguent, même si les données montrent un chevauchement important (Fig. 25). Le premier est constitué d'espèces dont au moins 70 % des pollens mesurés ont une distance inter-duplicolpi supérieure à la moyenne (10.10 µm). Il comprend la plupart des espèces ayant de longs duplicolpi comme *Arbutus unedo*, *E. cinerea*, *E. tetralix* mais aussi *Corema alba* et *Rhododendron ferrugineum.* Il est à noter que cette dernière espèce se démarque par la distance inter-duplicolpi la plus grande (14.55 µm en moyenne). Le second groupe est caractérisé par des pollens ayant majoritairement une distance inter-duplicolpi inférieure à la moyenne. Il est constitué des espèces *Calluna vulgaris* (7.55 µm), *Daboecia cantabrica* (8.21 µm), *Erica arborea* (7.65 µm), *Erica erigena* (7.49 µm), *Erica scoparia* (8.49 µm), *Erica vagans* (7.14 µm). Trois espèces, *Erica ciliaris*, *Erica scoparia* et *Vaccinium myrtillus,* présentent une gamme de distance inter-duplicolpi proche de la moyenne.

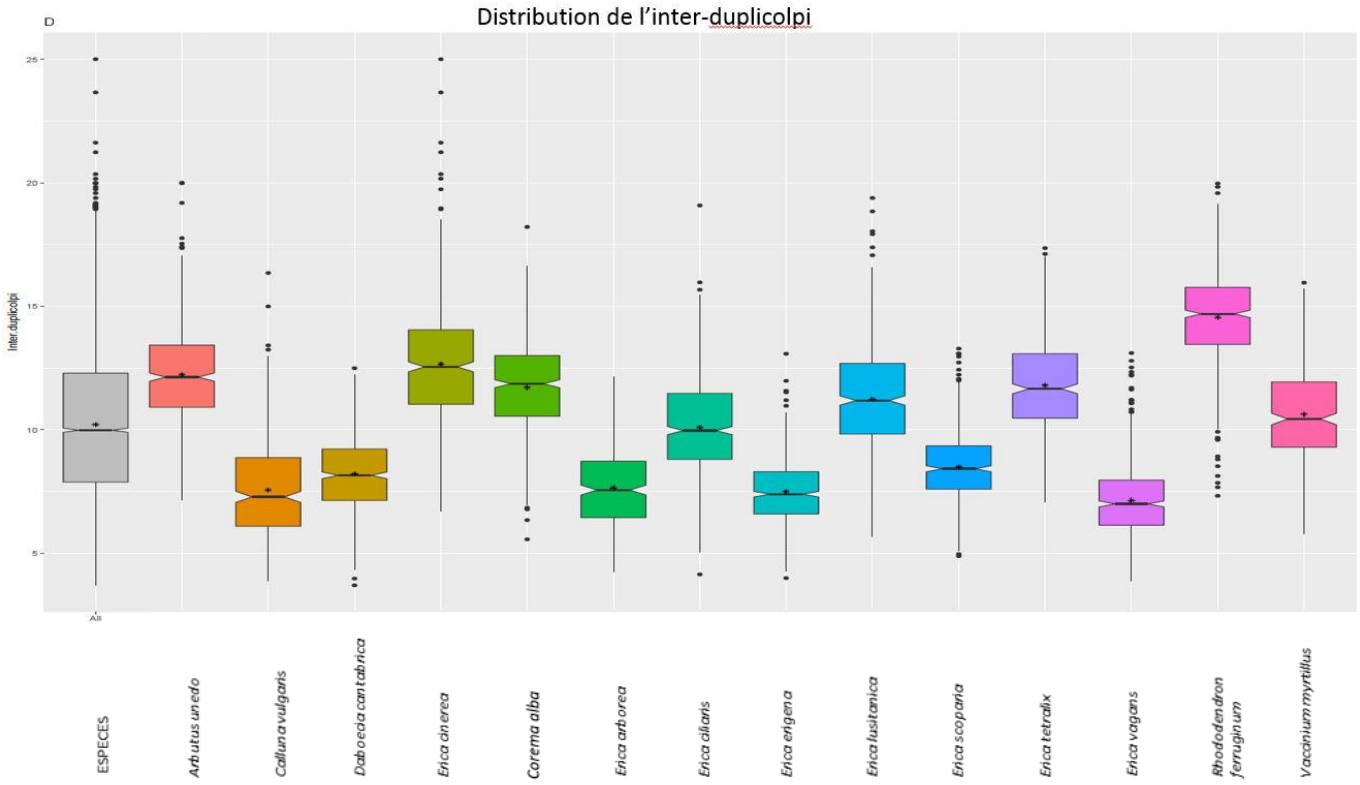


Figure 25: Distribution de la distance inter-duplicolpi

- **Longueur et largeur du duplicolpus**

En moyenne, un duplicolpi mesure 18.27 µm de longueur et 1.39 µm de largeur (Fig. 26). Nous constatons que certaines espèces se distinguent par des duplicolpi plus grands que la moyenne alors que d'autres ont des

duplicolpi majoritairement plus petits. En particulier, les diagrammes en moustache montrent que 70 % des pollens de *Arbutus unedo* (26.05 µm), *Erica cinerea* (22.98 µm), *E. ciliaris* (22.60 µm) et *E. tetralix* (21.31 µm) ont un duplicolpi ayant une longueur plus grande que pour la plupart des pollens des autres espèces, à l'exclusion de *E. lusitanica* et *Vaccinium myrtillus* présentant des valeurs intermédiaires. Quant à la largeur du duplicolpus, elle est sensiblement plus grande pour deux espèces (*E. ciliaris et E. tetralix*) mais les différences sont généralement faibles. Il est à noter que *Calluna vulgaris* se démarque par un duplicolpi court et fermé. Plus de 70% des pollens de cette espèce présente un duplicolpi de faible longueur, 9.75 µm en moyenne, et de faible largeur, 4.13 µm en moyenne (Fig. 27).

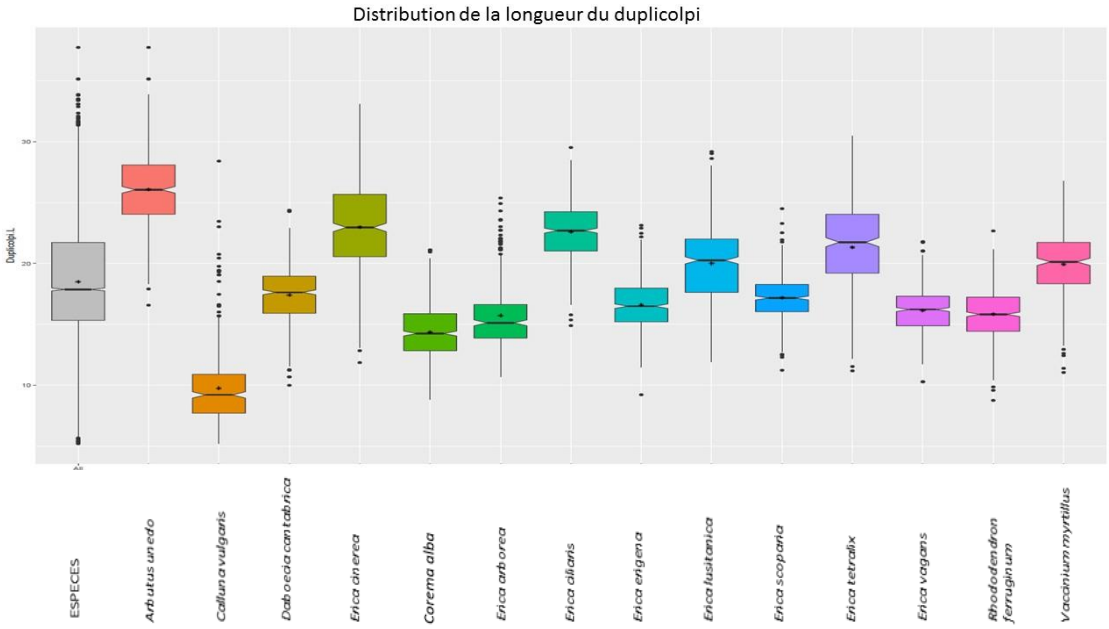


Figure 26: Distribution de la longueur du duplicolpus

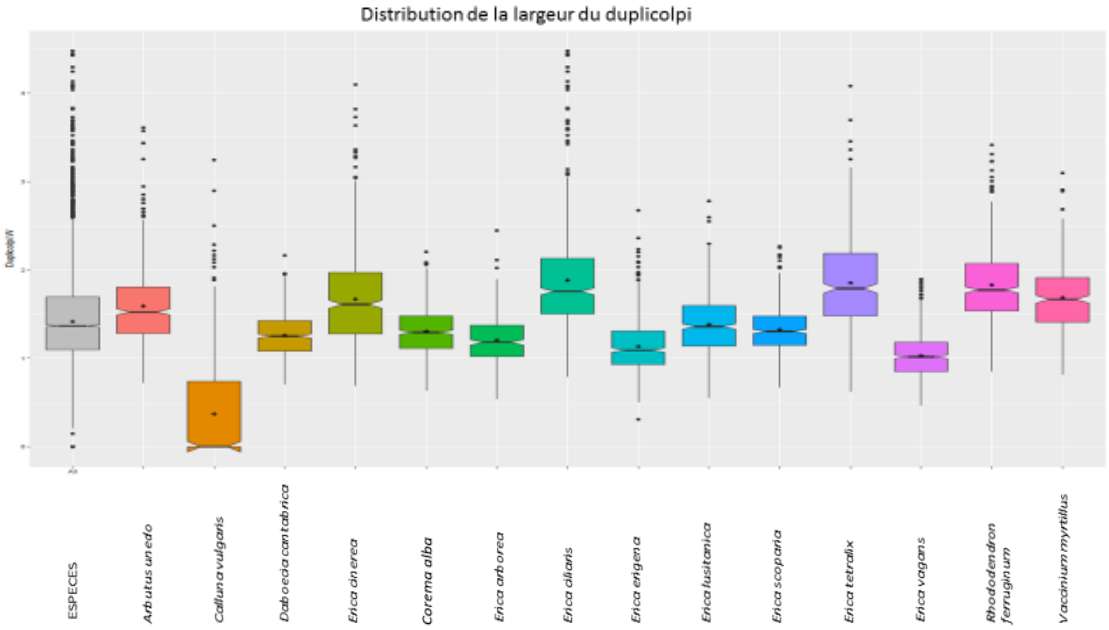


Figure 27: Distribution de la largeur du duplicolpus

- **Longueur et largeur de la marge du duplicolpus**

La distribution du critère longueur de la marge par espèce est similaire à celle de la longueur du duplicolpus mesuré (Fig. 28). Par exemple, les espèces *Arbutus unedo*, *Erica cinerea*, *Erica ciliaris* et *Erica tetralix* qui présentent majoritairement de longs duplicolpi, sont marquées par une marge de longueur supérieure à la moyenne de l'ensemble des espèces (22.03 µm). Le critère largeur de la marge présente aussi une distribution par espèce similaire à la largeur du duplicolpus (Fig. 29). Néanmoins, pour *Calluna vulgaris*, la configuration est légèrement différente. Si la largeur du duplicolpus (Fig.29), est clairement inférieure à celle de toutes les autres espèces, la marge du duplicolpus, quant à elle, se distingue peu de l'ensemble (4.13 µm pour une moyenne de l'ensemble de 5.28 µm).

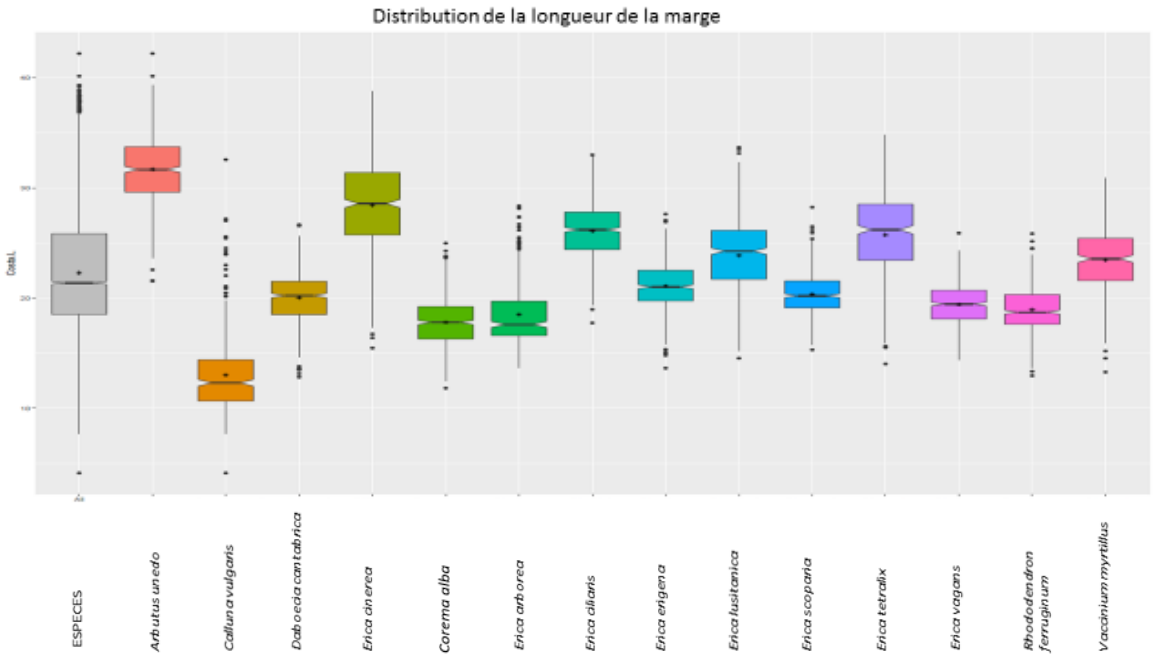


Fig 28 : Distribution de la longueur de la marge du duplicolpus

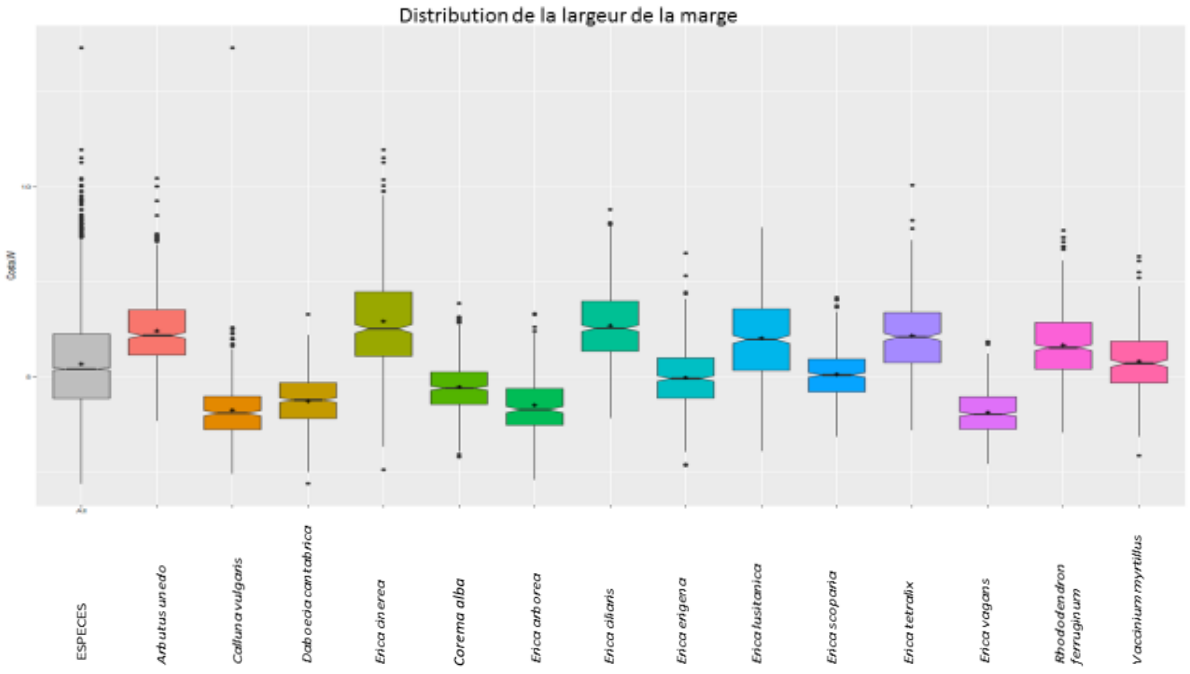


Fig 29 : Distribution de la largeur de la marge du duplicolpus

- **Endoaperture**

La moitié des espèces étudiées sont caractérisées par l'absence d'une endoaperture visible (Endo.0) au microscope optique. Ces espèces sont *Corema alba*, *Daboecia cantabrica*, *Erica erigena*, *Erica vagans*, *Erica tetralix*, *Calluna vulgaris* et *Vaccinium myrtillus* (Fig. 30).

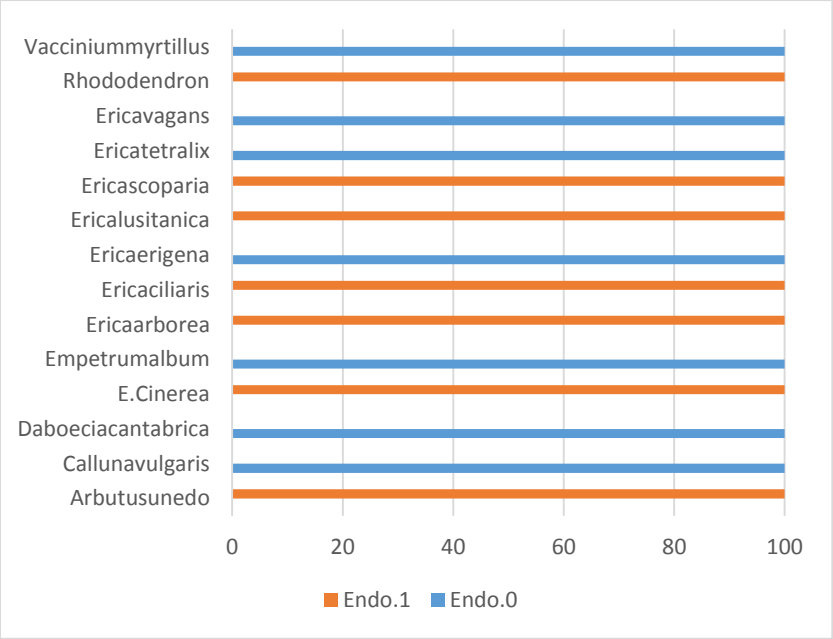


Figure 30: Pourcentages de pollen par espèce avec (Endo.1) ou sans endoaperture visible (Endo.2).

			Calluna vulgaris	*Arbutus unedo*	*Daboecia cantabrica*	*Erica arborea*	*Erica ciliaris*	*Erica cinerea*	*Erica erigena*	*Erica lusitanica*	*Erica scoparia*	*Empetrum album*	*Rhododendron ferruginum*	*Vaccinium myrtillus*	*Erica tetralix*	*Erica vagans*
SYSTÈME APERTURAL	**Régularité du bord du duplicolpus**	Dupl.dr	241	567	537	325	525	395	364	576	496	569	501	300	422	497
		Dupl.µir	138	0	48	0	122	158	213	0	23	8	42	10	3	33
		Dupl.ir	5	0	1	0	8	1	0	8	2	10	40	13	8	46
	Distance inter-duplicolpi	Minimum	3.888	7.167	3.7	4.259	4.144	6.7	3.993	5.663	4.882	5.564	7.325	5.788	7.079	3.89
		1er Quartile	6.093	10.909	7.139	6.443	8.8	11.03	6.593	9.826	7.595	10.546	13.457	9.29	10.473	6.134
		Médiane	7.282	12.132	8.155	7.559	9.966	12.55	7.391	11.185	8.421	11.864	14.694	10.437	11.659	6.997
		Moyenne	7.557	12.23	8.218	7.655	10.1	12.67	7.498	11.242	8.491	11.708	14.556	10.628	11.798	7.142
		3eme Quartile	8.874	13.432	9.22	8.729	11.479	14.05	8.301	12.691	9.347	13.005	15.766	11.941	13.08	7.958
		Maximum	16.352	20.006	12.495	12.141	19.087	25.01	13.078	19.388	13.287	18.215	19.977	15.958	17.358	13.108
	Longueur du duplicolpus	Minimum	5.201	16.57	9.994	10.71	14.9	11.86	9.222	11.93	11.23	8.811	8.758	11.05	11.19	10.28
		1er Quartile	7.711	24.04	15.9	13.87	21.02	20.56	15.207	17.63	16.04	12.841	14.43	18.33	19.21	14.88
		Médiane	9.206	26.04	17.629	15.12	22.69	22.96	16.49	20.25	17.16	14.245	15.822	20.13	21.74	16.22
		Moyenne	9.756	26.06	17.402	15.72	22.6	22.99	16.594	20	17.18	14.361	15.839	19.92	21.32	16.13
		3eme Quartile	10.894	28.09	18.954	16.62	24.25	25.68	17.976	22	18.27	15.872	17.232	21.73	24.04	17.31
		Maximum	28.399	37.73	24.367	25.37	29.52	33.07	23.129	29.18	24.5	21.116	22.668	26.78	30.48	21.8
	Largeur du duplicolpus	Minimum	0	0.729	0.71	0.539	0.794	0.693	0.31	0.553	0.675	0.638	0.851	0.815	0.622	0.469
		1er Quartile	0	1.282	1.081	1.021	1.502	1.277	0.931	1.139	1.148	1.112	1.537	1.41	1.48	0.851
		Médiane	0	1.525	1.252	1.181	1.757	1.611	1.093	1.36	1.304	1.294	1.774	1.668	1.791	1.017
		Moyenne	0.3705	1.592	1.259	1.207	1.883	1.67	1.133	1.382	1.327	1.306	1.829	1.688	1.855	1.03
		3eme Quartile	0.74	1.806	1.426	1.375	2.132	1.971	1.311	1.597	1.479	1.48	2.073	1.913	2.189	1.181
		Maximum	3.245	3.611	2.164	2.446	4.479	4.098	2.674	2.78	2.267	2.205	3.415	3.097	4.081	1.895
	Longueur de la marge du duplicolpus	Minimum	4.121	21.55	12.83	13.68	17.75	15.47	13.65	14.55	15.31	11.83	12.96	13.29	14.02	14.38
		1er Quartile	10.657	29.64	18.51	16.59	24.41	25.74	19.75	21.71	19.12	16.3	17.62	21.59	23.43	18.11
		Médiane	12.307	31.68	20.23	17.61	26.21	28.59	21.03	24.26	20.22	17.8	18.72	23.57	26.21	19.46
		Moyenne	13.009	31.69	20.04	18.51	26.1	28.45	21.11	23.88	20.35	17.81	18.95	23.47	25.74	19.43
		3eme Quartile	14.409	33.73	21.53	19.72	27.81	31.39	22.53	26.16	21.56	19.24	20.32	25.43	28.53	20.72
		Maximum	32.576	42.21	26.67	28.38	33	38.81	27.63	33.69	28.25	24.99	25.85	30.92	34.83	25.91
	Largeur de la marge du duplicolpus	Minimum	2.465	3.852	2.203	2.319	3.928	2.564	2.68	3.054	3.446	2.899	3.547	2.936	3.611	2.724
		1er Quartile	3.619	5.577	3.911	3.736	5.676	5.549	4.443	5.172	4.609	4.285	5.209	4.845	5.374	3.631
		Médiane	4.05	6.091	4.394	4.144	6.28	6.268	4.961	5.989	5.055	4.709	5.774	5.357	6.052	4.026
		Moyenne	4.134	6.213	4.368	4.261	6.351	6.462	4.983	6.022	5.069	4.742	5.842	5.416	6.089	4.072
		3eme Quartile	4.495	6.768	4.852	4.7	6.995	7.238	5.504	6.791	5.474	5.131	6.433	5.942	6.696	4.484
		Maximum	13.65	10.221	6.648	6.67	9.402	10.972	8.254	8.925	7.09	6.935	8.852	8.169	10.041	5.932
	Endocolpus	Endo.1	0	567	0	325	655	554	2	584	521	0	583	0	0	0
		Endo.0	384	0	586	0	0	0	575	0	0	587	0	323	433	576

Tableau 7: Résumé des résultats concernant les critères relatifs au système apertural. Pour les paramètres quantitatifs mesurés, les valeurs indiquées sont des mesures en micromètre alors que pour les paramètres qualitatifs, elles correspondent au nombre de pollen observé dans chaque catégorie.

3.2.2 Distribution des critères quantitatifs en fonction des stations et échantillons

Ci-joint un exemple permettant de visualiser l'importance de la variabilité au sein d'une espèce entre les différentes stations.

Dans la figure 31, nous remarquons une forte variabilité dans l'étendue des mesures du diamètre de la tétrade de l'espèce *Daboecia cantabrica* tant au niveau des échantillons qu'au niveau des stations (ici La Rhune et Saint Martin). En effet, au sein de la station la Rhune la distribution des mesures est beaucoup plus étendue et les valeurs plus petites pour l'échantillon La Rhune 11 que pour La Rhune 12. Les échantillons de Saint Martin (ASPE) présentent aussi une certaine variabilité. Les valeurs de diamètre de tétrade les plus grandes pour cette espèce sont rencontrées dans l'échantillon ASPE7.

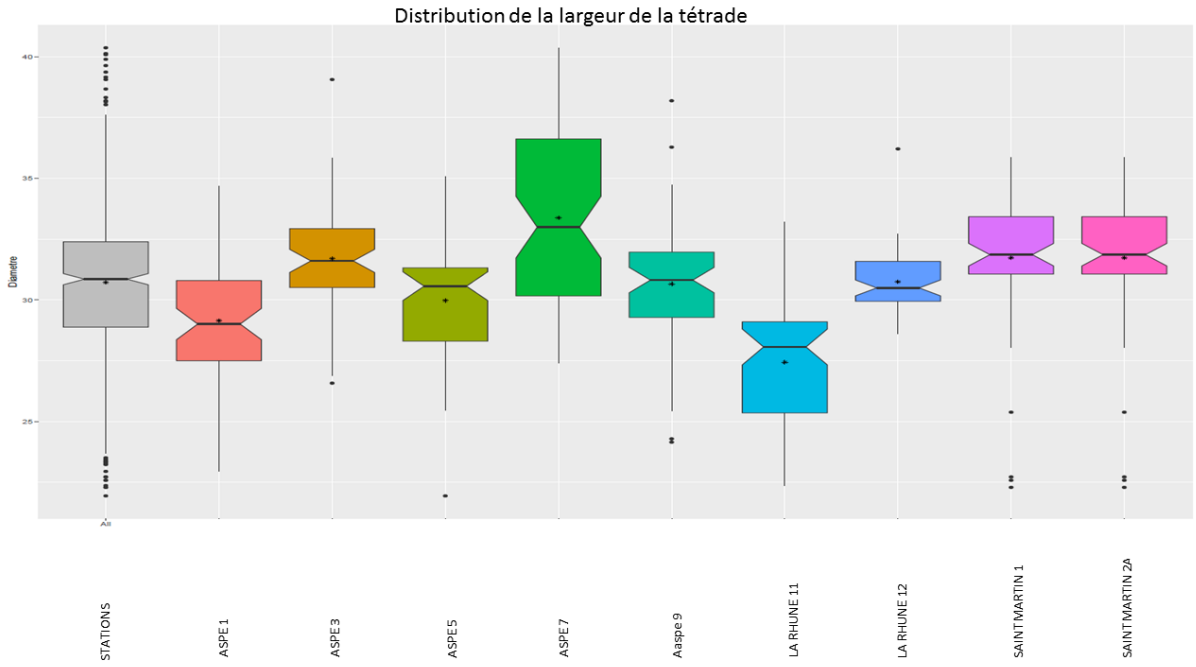


Figure 31: Distribution de la largeur de la tétrade par échantillon pour Daboecia cantabrica

Pour *Erica arborea* nous remarquons qu'un échantillon, Jaikibel 1B, présente des pollens ayant un diamètre de la tétrade supérieur à l'ensemble des autres échantillons de cette espèce (Fig.32).

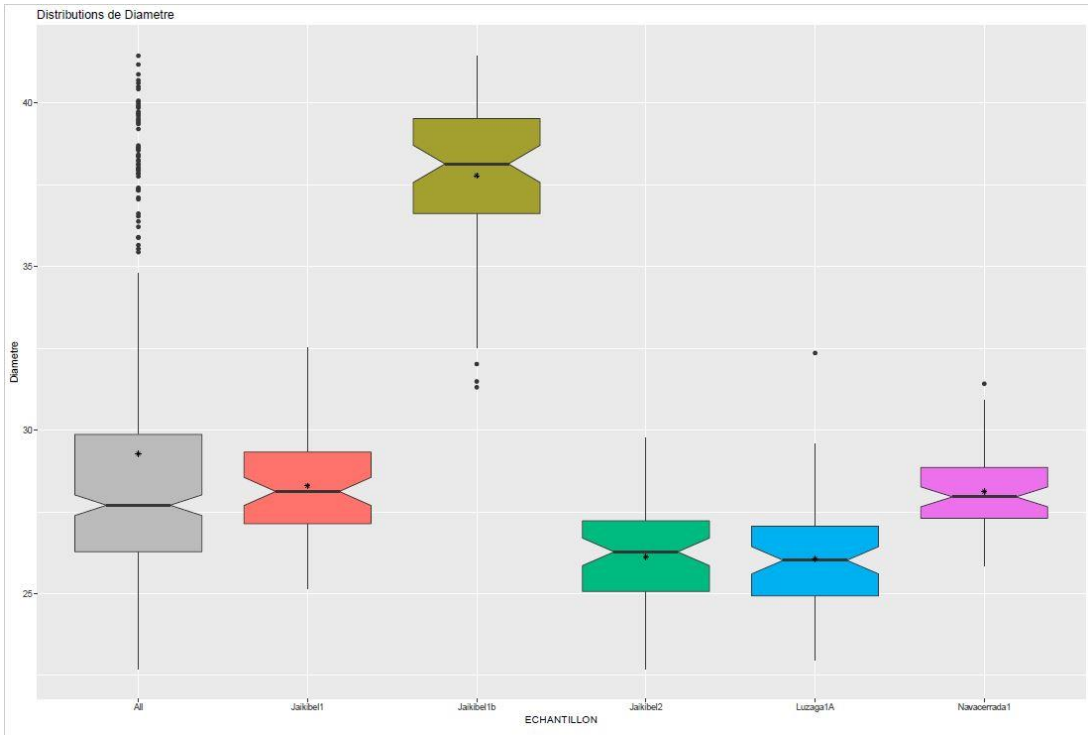


Figure 32: Distribution du diamètre des tétrades d'*Erica arborea* par échantillon

3.3. Analyses statistiques

3.3.1 Tests de normalité des données

Les résultats des tests de normalité Shapiro-Wilk (test appliqué à tous les critères quantitatifs de toutes les espèces) montrent que très peu de données suivent une loi normale. Par exemple, les données du diamètre de la tétrade montrent une distribution normale uniquement pour *Erica tetralix, Erica vagans* et *Calluna vulgaris* (Fig. 33, Tableau 8) et non pour les autres espèces.

Espèce	W	p-value
Erica tetralix	0.99373	**0.0703**
Erica vagans	0.99549	**0.09376**
Calluna vulgaris	0.99393	**0.129**

Tableau 8: Exemple de résultats du test de Shapiro-Wilk obtenus pour le diamètre de 3 espèces différentes montrant que l'échantillon suit une loi normale (p-value > 0.05)

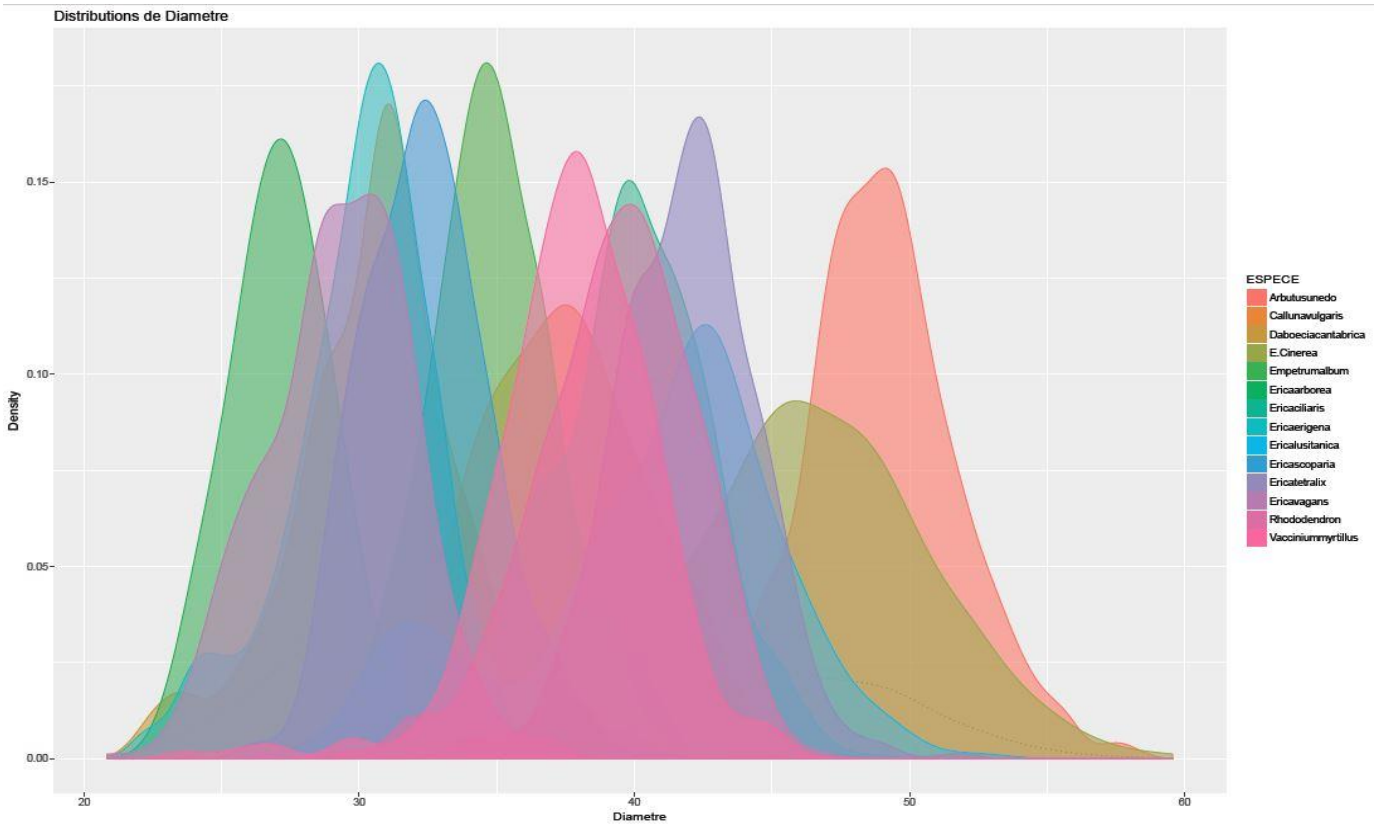


Fig 33: Courbes de distribution des diamètres des espèces

3.3.2 Résultats de l'AFMD

La première analyse multivariée appliquée à notre jeu de mesures, comprenant à la fois les données quantitatives et qualitatives, est l'AFMD. Le tableau 9 et la figure 34 montrent que la variance expliquée par chaque axe de l'AFMD est relativement faible. Les deux premières dimensions expliquent à elles-deux 30.73 % de la variance de notre jeu de données, la première dimension apportant 22.26 % de la variance expliquée (Tableau 9).

Dimensions	Valeurs propres	Pourcentages de variance	Pourcentages de variance cumulée
Dim.1	6.233066	22.26	22.26
Dim.2	2.373769	8.47	30.73
Dim.3	2.135131	7.62	38.36
Dim.4	1.977900	7.06	45.42
Dim.5	1.704694	6.08	51.51

Tableau 9: Résultats de l'AFMD : valeurs propres et pourcentages de variances expliquées par les 5 premiers axes

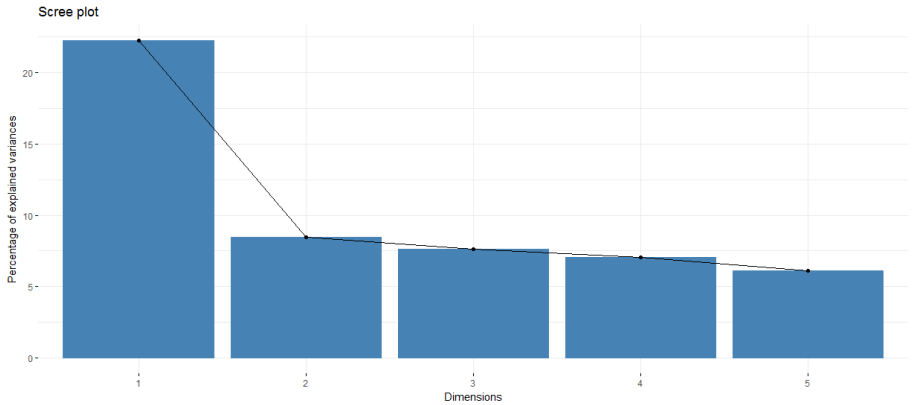


Figure 34: Visualisation des variances expliquées par les cinq premiers axes.

L'axe 1 (Dim 1) est fortement corrélé aux variables quantitatives à l'exception de la largeur du duplicolpus, de l'angle et de l'épaisseur de l'exine (Fig.36). Plus spécifiquement, le diamètre, le rayon du grain et la longueur de la marge des duplicolpi sont les variables contribuant le plus fortement à cet axe (Fig.35). Une seule variable qualitative, l'ornementation méso-aperturale, présente une corrélation avec l'axe 1 supérieure à 0.5. Les catégories de cette variable contribuant le plus aux valeurs positives de cet axe sont A.punct et A.scab (perforée et scabrée). Les valeurs négatives sont quant à elles associées à A. ver (verruquée). Le cercle de corrélation (Fig. 37) montre que toutes les variables quantitatives sont corrélées positivement avec l'axe 1. Par conséquent, cet axe représente essentiellement un gradient de taille du pollen essentiellement associé à la dimension de la tétrade et des grains et à la longueur des duplicolpi et de leurs marges et secondairement à l'ornementation de la zone méso-aperturale.

Pour l'axe deux (Dim 2), ce sont les variables qualitatives et en particulier les variables ornementation méso-aperturale et ornementation polaire qui prédominent avec une contribution supérieure à 30 % (Fig. 36). Les variables épaisseur de l'exine et endocolpus contribuent aussi à l'axe 2 mais de façon relativement faible. La figure 35 montre que les catégories de variable qualitatives situées dans les valeurs positives de l'axe 2 et contribuant le plus fortement à cet axe sont les ornementations microverruquées et verruquées en zones polaire et méso-aperturale et la présence d'un endocolpus alors que les valeurs négatives sont associées aux catégories ornementation verruquée-tesselée en zone polaire et méso-aperturale et lisse en zone polaire ainsi que l'absence d'endocolpus. Cet axe est aussi associé de façon secondaire à un gradient positif de l'épaisseur de l'exine (Fig. 37).

Les résultats montrent que l'agencement des grains de la tétrade contribue peu aux axes 1 et 2, néanmoins les catégories « tétrade plane » et « tétrade irrégulière » se situent de façon distincte vers les valeurs les plus positives de l'axe 2 et les plus négatives de l'axe 1 (Fig. 38).

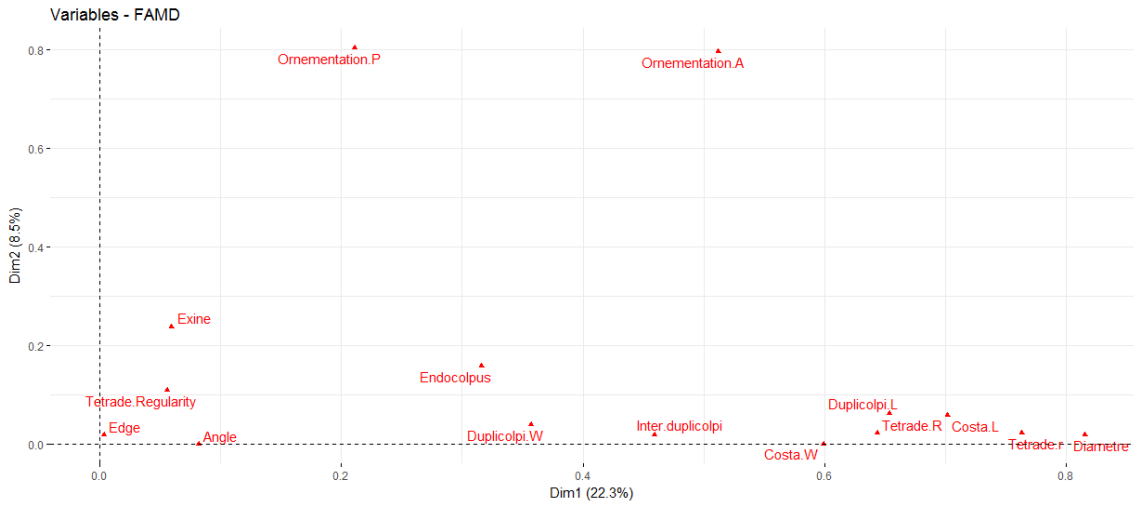
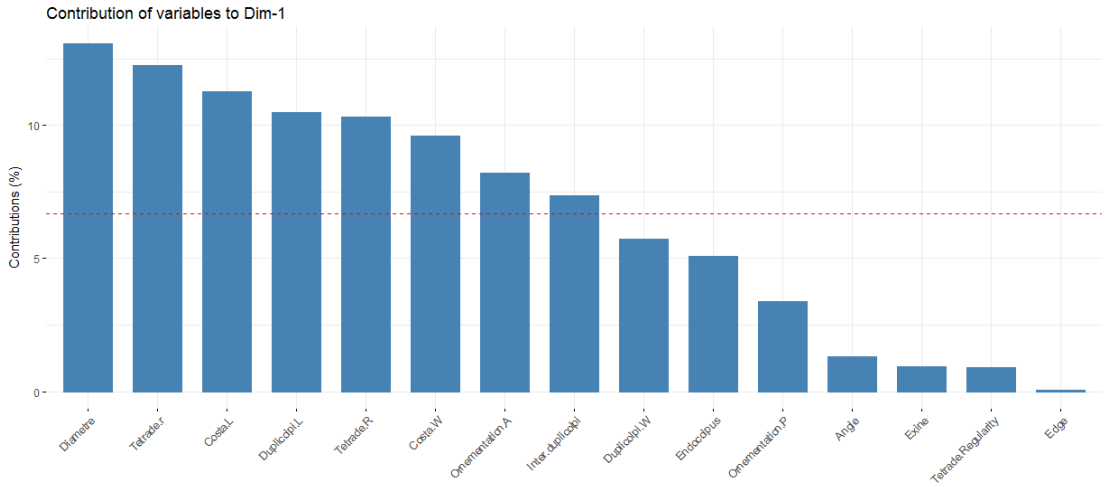


Figure 35: Corrélation entre les variables quantitatives et qualitatives et les axes principaux.



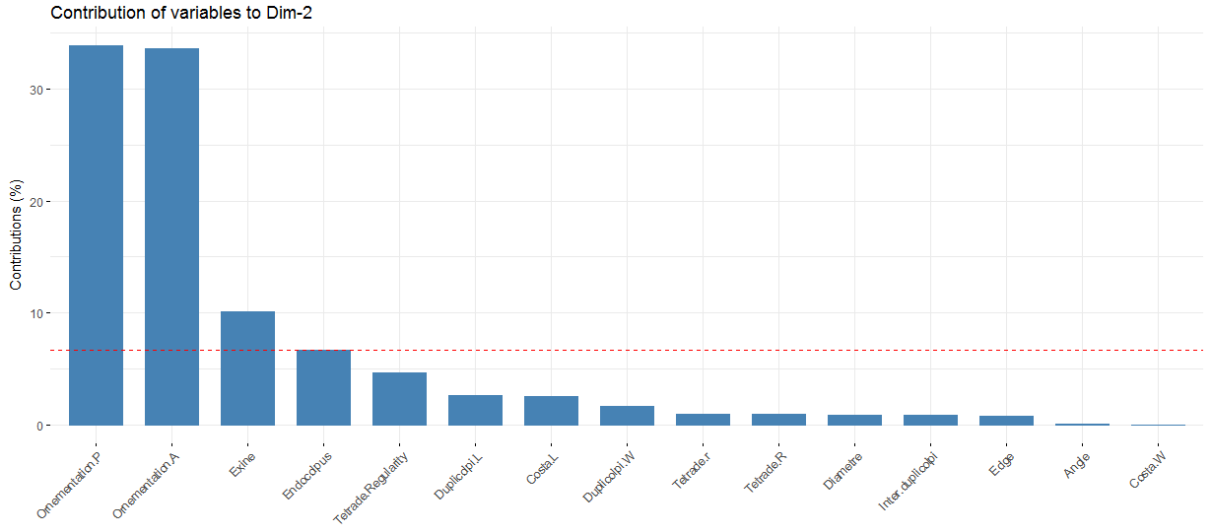


Figure 36: Contribution aux variables aux dimensions 1 et 2 (ligne rouge : valeur moyenne dans le cas où toutes les variables contribueraient de façon uniforme).

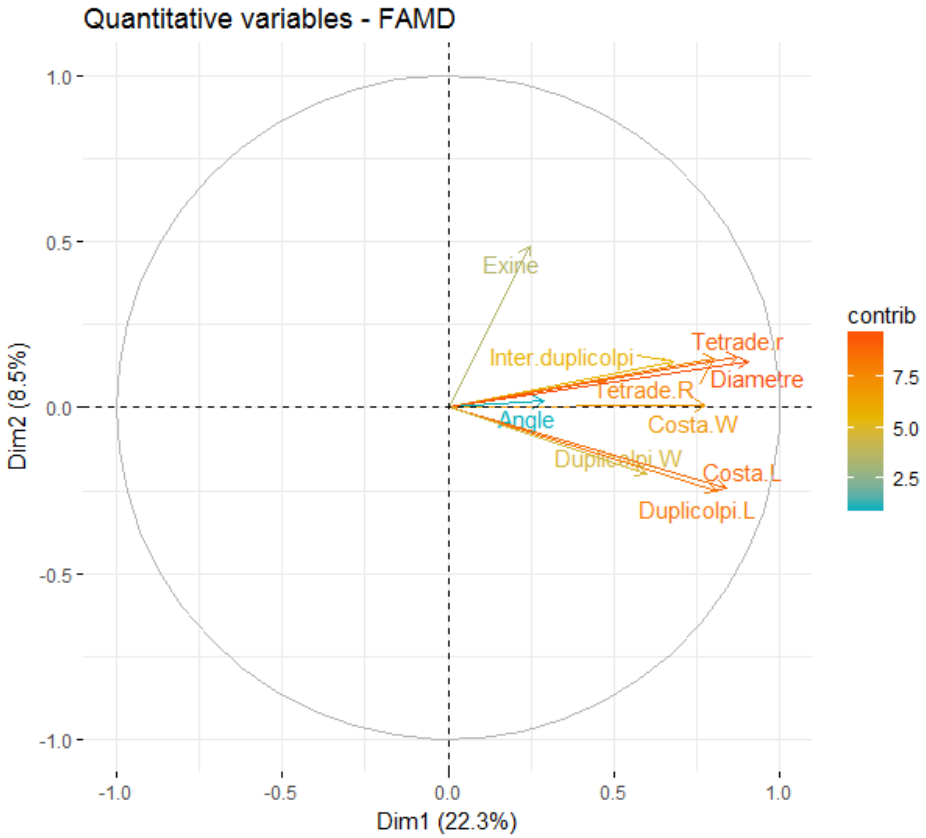


Figure 37: Cercle de corrélation de l'AFMD représentant les variables quantitatives. Le gradient de couleur représente la contribution de chaque variable cumulée pour les deux axes.

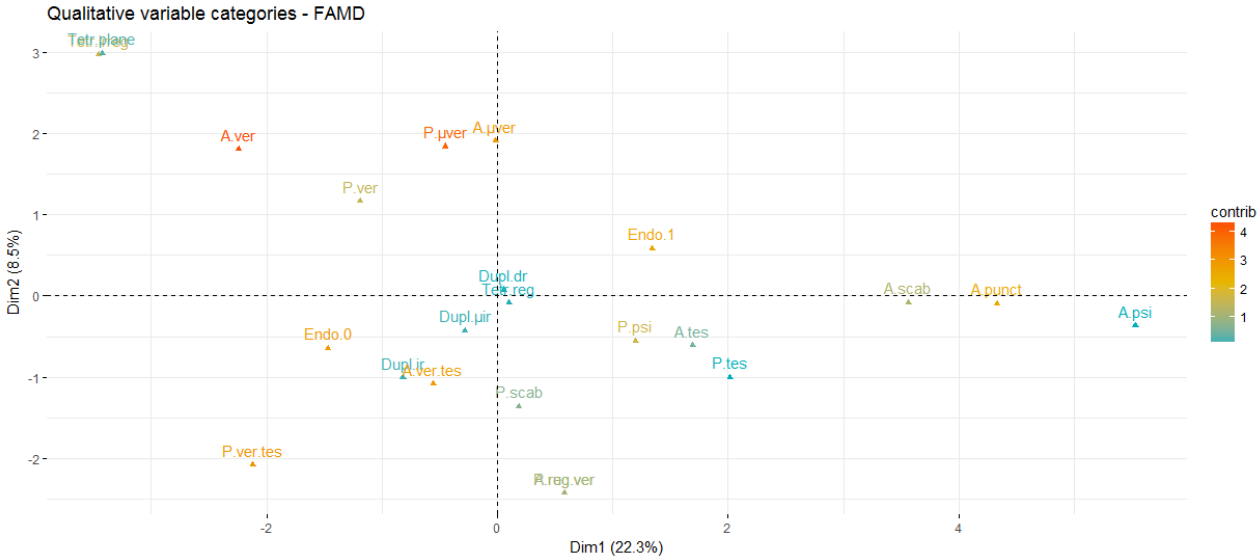


Figure 38: Résultats de l'AFMD pour les catégories des variables qualitatives. Le gradient de couleur représente la contribution de chaque variable cumulée pour les deux axes.

La représentation des individus sur le plan de l'AFMD (Fig. 39) montre que deux ensembles se distinguent. Le premier est constitué des individus de *Calluna vulgaris, Corema alba, Erica arborea, E. scoparia et E. lusitanica*. Il est caractérisé par des valeurs positives de l'axe 2 et plutôt négatives sur l'axe 1 (à l'exception d'une partie du nuage de point associé à l'espèce *E. lusitanica*). *Erica scoparia* se retrouve à l'intersection des nuages de points d'*E. lusitanica* et *Corema alba.* Ce premier groupe sépare des pollens ayant une ornementation verruquée à micro-verruquée, avec un endocolpus (*Corema alba, Erica arborea, E. scoparia et E. lusitanica)* ou présentant des grains pouvant être organisés en tétrade irrégulière ou plane *(Calluna vulagris)*, et en général de petite taille à l'exception de quelques pollens d'*E. lusitanica*.

Le deuxième ensemble inclut les pollens du reste des espèces. Il présente une distribution plus large, tout au long de l'axe 1, qui marque un gradient de taille des tétrades et des grains. Dans cet ensemble, les espèces *E. erigena*, *Daboecia cantabrica* et *E. vagans* sont regroupés vers les valeurs négatives de l'axe 1 définissant des pollens de petite taille alors que les individus de *Arbutus unedo* et *E. cinerea* sont caractérisés par des valeurs positves sur l'axe 1 dénotant des pollens de grande taille. La distribution de cet ensemble sur l'axe 2 résulte principalement des variations d'ornementation. *E. erigena*, *Daboecia cantabrica*, *E. vagans E. tetralix* et *Vaccinium myrtillus* sont caractérisées par des valeurs négatives de l'axe 2 en raison d'une ornementation verruco-tesselée ou rugulo-verruquée (seulement *V. myrtillus*) dans la zone méso-aperturale.

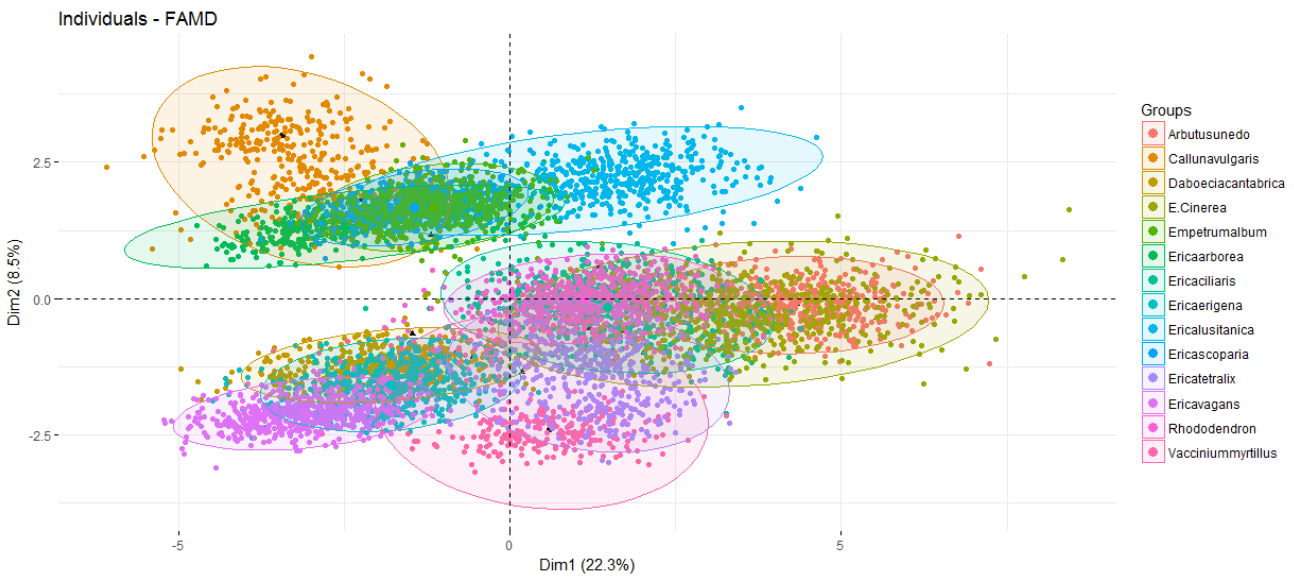


Figure 39: Représentation graphique des résultats de l'AFMD**.**

3.3.3 Résultats des analyses multivariées combinées

a) Analyse en coordonnées principales (ACoP) des données qualitatives

L'ACoP a été appliquée sur l'ensemble des données qualitatives, transformées en données binaires par l'intermédiaire d'un tableau disjonctif complet puis traitées par une matrice de distance de gower. On obtient les résultats suivants (Fig.41, 42 et 43):

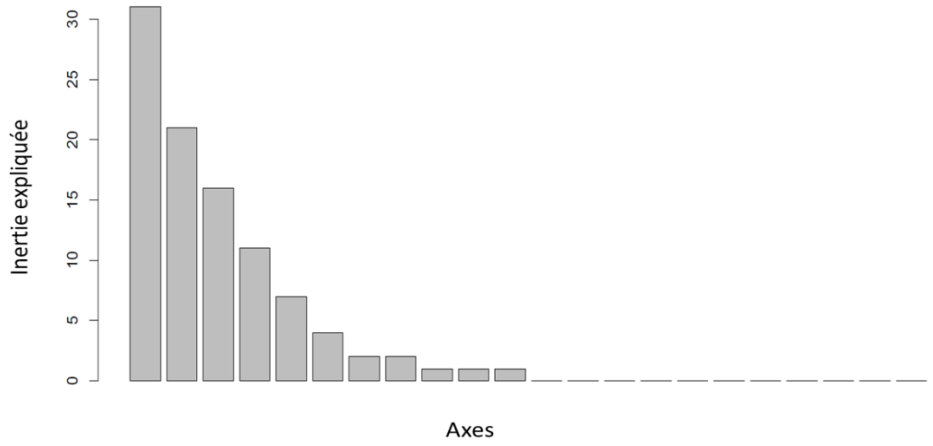


Figure 40: Eboulis des inerties expliquées par les 22 axes de l'ACoP réalisée sur les données qualitatives de la base de données « Ericaceae »

Le pourcentage d'inertie expliquée par les trois premières dimensions s'élève à 62.28 % et à 52.93% pour les deux premières dimensions (Fig. 40). L'axe 1 qui représente à lui seul 30% de l'inertie expliquée est associé

aux variables catégoriques ornementations méso-aperturales perforée et scabrée et endoaperture présente sur la partie positive et ornementations polaires et méso-aperturale verruco-tessellée et rugulo-tessellée, endocolpus absent, tétrade plane et tétrade irrégulière sur la partie négative. Quant à l'axe 2, les variables catégoriques associées aux valeurs positives sont les ornementations polaires lisse et méso-aperturales scabrée, perforée lisse et verruquée-tesselée et celles situées vers les valeurs négatives sont les ornementations polaires et méso-aperturale verruquée et microverruquée, tétrade plane et tétrade irrégulière.

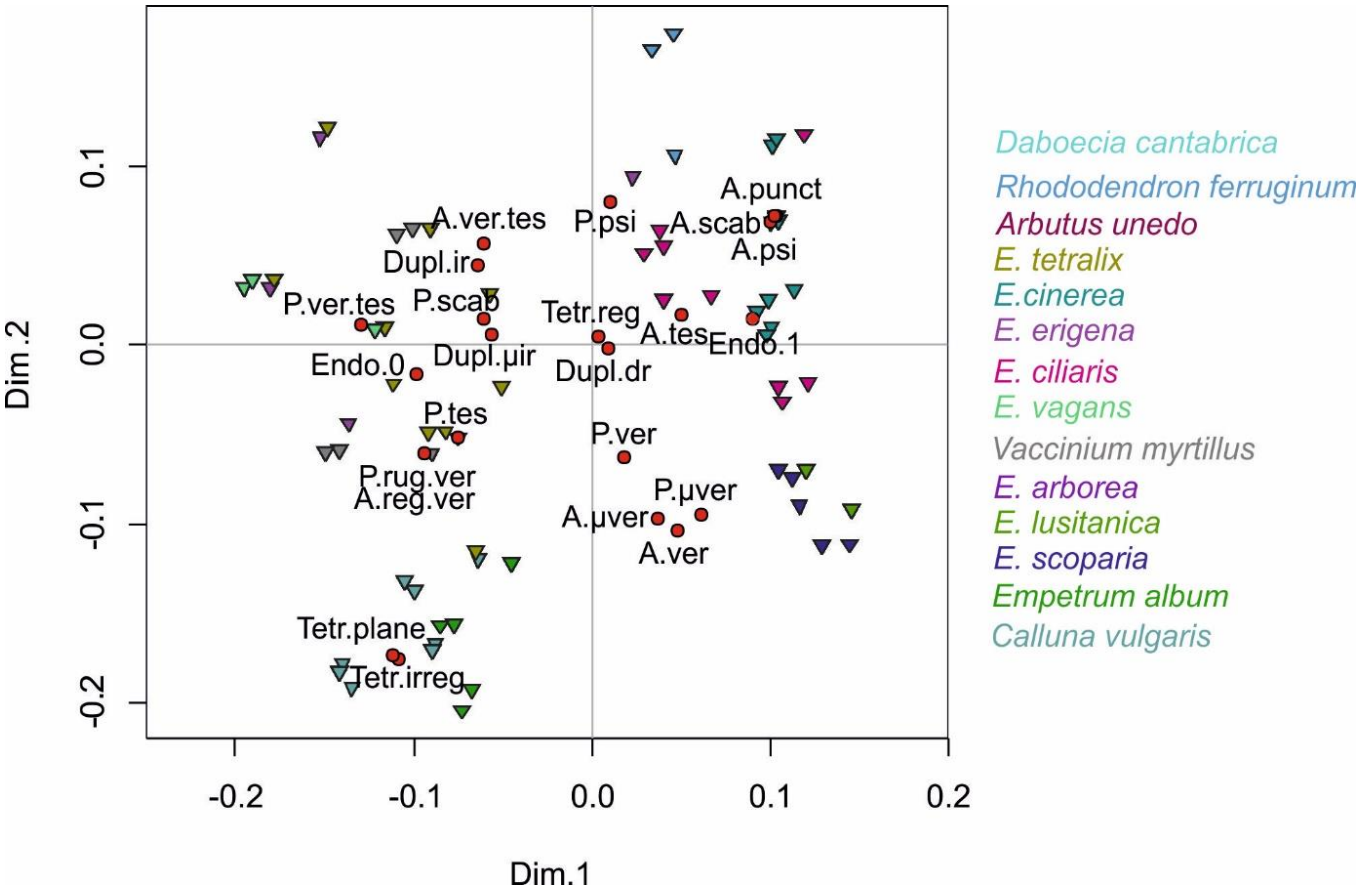
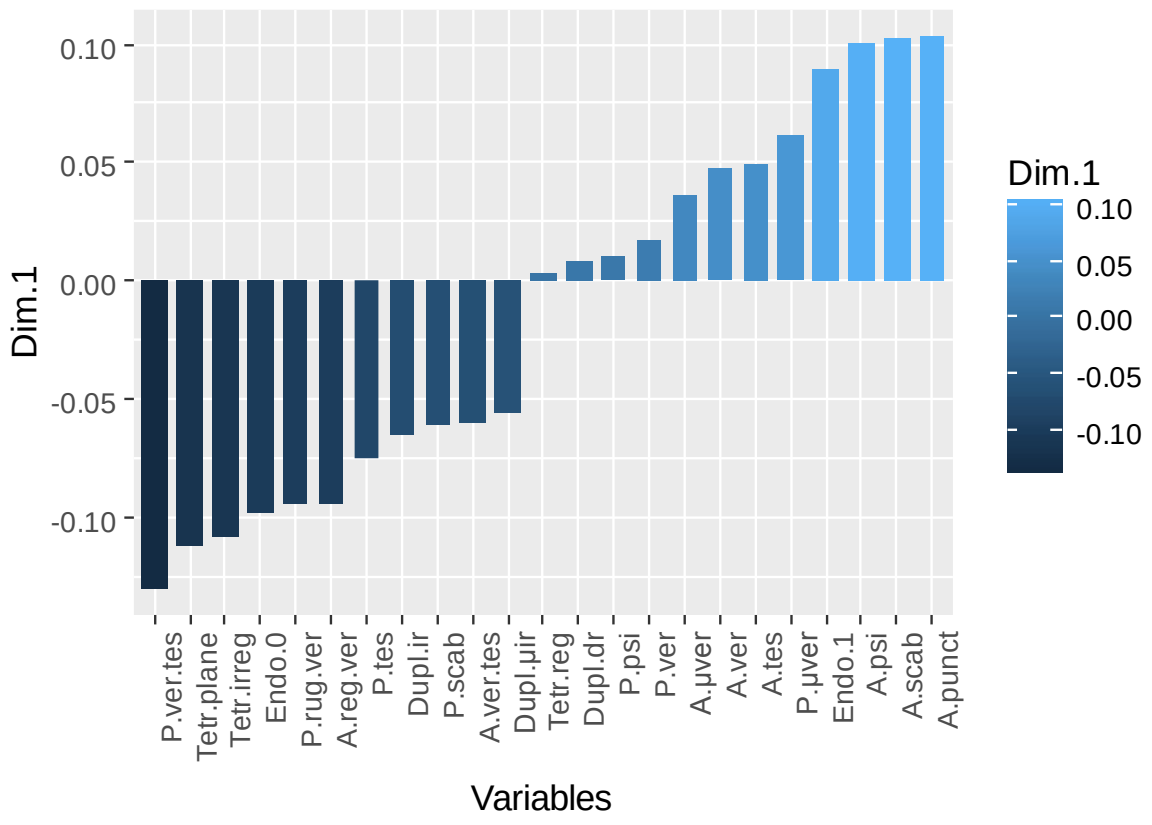


Figure 41: Graphique représentant les variables qualitatives et les espèces sur les Dim.1 et Dim.2 de l'ACoP.



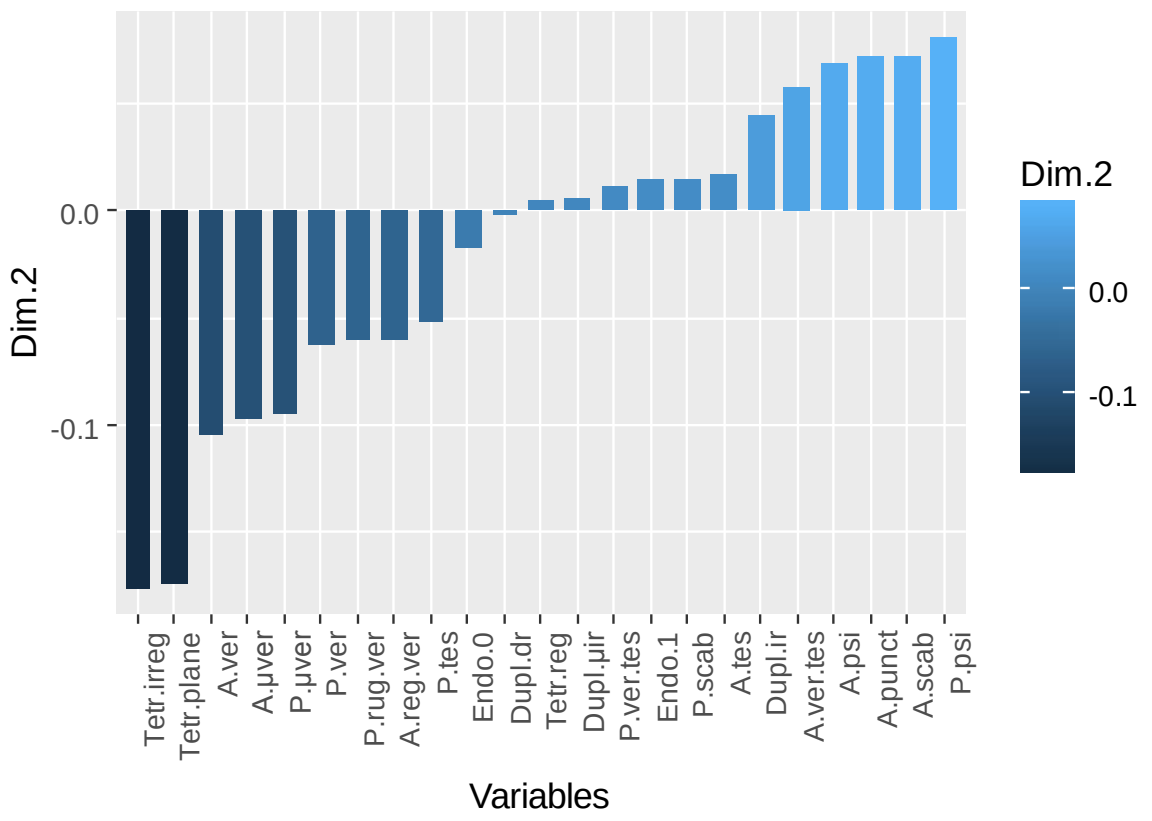


Fig 42: Histogrammes représentant les scores des variables qualitatives sur les axes 1 et 2 (Dim.1 et Dim.2)

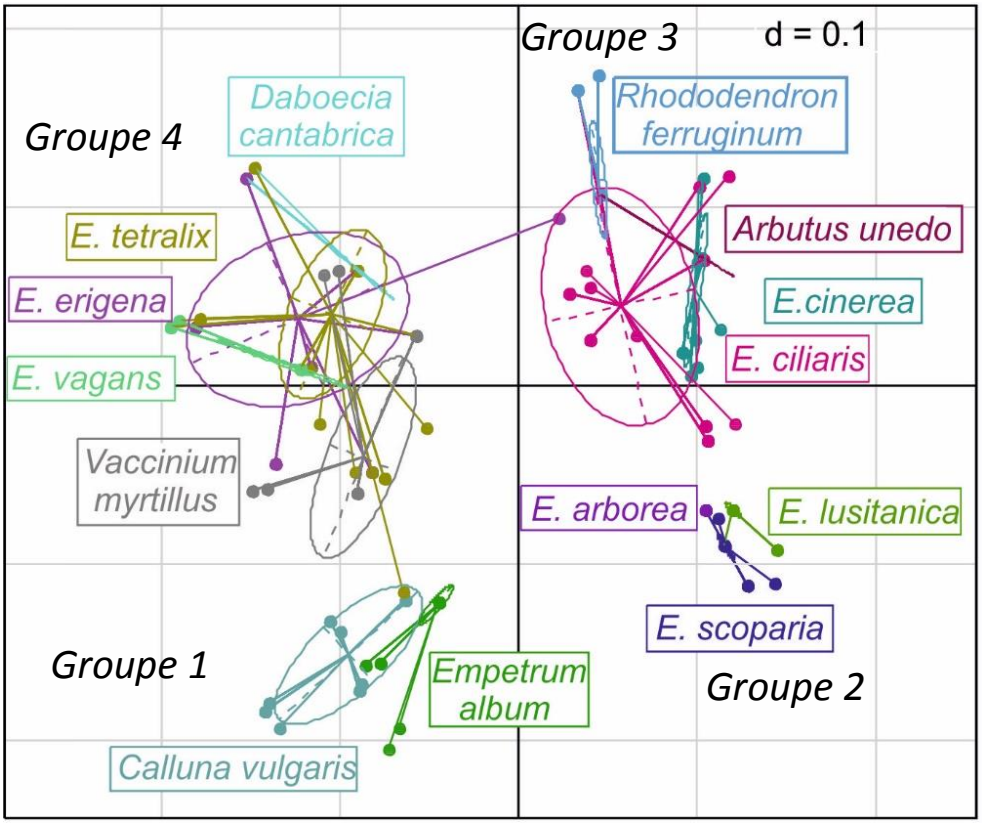


Figure 43: Représentation graphique des résultats de l'ACoP

Les résultats montrent une répartition assez claire sur les deux premiers axes de l'ACoP de quatre groupes d'espèces d'Ericaceae.

Le groupe 1 dont les individus sont caractérisés par des scores négatifs sur les axes 1 et 2 est constitué de *Calluna vulgaris* et *Corema alba.* Ce groupe est associé à la variable absence d'endocolpus. Les valeurs négatives sur l'axe 2 sont aussi expliquées par les variables d'ornementation polaire et méso-aperturale vérruquée et microverruquée ainsi que l'agencement des grains sous forme de tétrade plane ou irrégulière (pour *Calluna vulgaris*).

Le groupe 2 est quant à lui défini par les individus des espèces *Erica lusitanica, E. arborea* et *E. scoparia*. Les individus mesurés ont des scores positifs sur l'axe 1 et négatifs sur l'axe 2 expliqués par la présence d'endocolpus et les variables d'ornementation polaire et méso-aperturale vérruquée et microverruquée, comme pour le groupe 3.

Les individus des espèces *Arbutus unedo, Erica cinerea, Erica ciliaris* et *Rhododendron ferrugineum* forment le groupe 3 et se situent au niveau des valeurs positives des axes 1 et 2. Les individus appartenant à *Rhododendron ferrugineum* présentent les scores les plus positifs sur l'axe 2. Ce groupe est séparé

principalement par la variable marquant la présence d'un endocolpus et les variables ornementation méso-aperturale scabrée, perforée, tessellée et lisse et ornementation polaire lisse.

Le groupe 4 constitué par les échantillons des espèces *Daboecia cantabrica, Erica tetralix, Erica vagans, Erica erigena* et *Vaccinium myrtillus* se situe sur la partie négative de l'axe 1 et principalement positive de l'axe 2, bien que certains échantillons appartenant à *E. tetralix* et surtout *V. myrtillus* présentent des scores négatifs sur l'axe 2. Ce groupe est séparé essentiellement par les variables catégoriques, l'ornementation méso-aperturale et polaire principalement verruco-tesselée ainsi que l'absence d'endocolpus. *V. myrtillus* est un peu excentré de ce groupe en raison d'une ornementation rugulo-tesséllée.

b) Analyse en Composante Principale (ACP) des données quantitatives

Le pourcentage d'inertie du jeu de données expliquée par les facteurs 1 et 2 est de 64.5 %, sachant que le premier axe représente à lui seul 52.6 % de l'inertie (Fig. 44). L'axe 1 est associé à l'ensemble des variables quantitatives à l'exception de l'épaisseur de l'exine et de l'angle, sachant que les variables diamètre de la tétrade et la mesure rayon de la tétrade apportent plus de 15 % de contribution. Ces variables, relatives à la taille de tétrade, du grain, du duplicolpus et de la marge sont corrélées positivement avec l'axe1, indiquant que cette dimension représente principalement l'effet taille (Fig. 45). L'axe 2 quant à lui est principalement représenté par l'épaisseur de l'exine (contribution > 35%) et de façon moindre par la longueur du duplicolpus et de la marge et par la distance inter-duplicolpi (Fig. 45). Par contre, cet axe est corrélé positivement avec l'épaisseur de l'exine et négativement avec les facteurs relatifs à l'aperture (Fig. 45). L'axe 3 est quant à lui principalement associé à la variable angle qui est faiblement représenté par les axes 1 et 2 (Fig. 45).

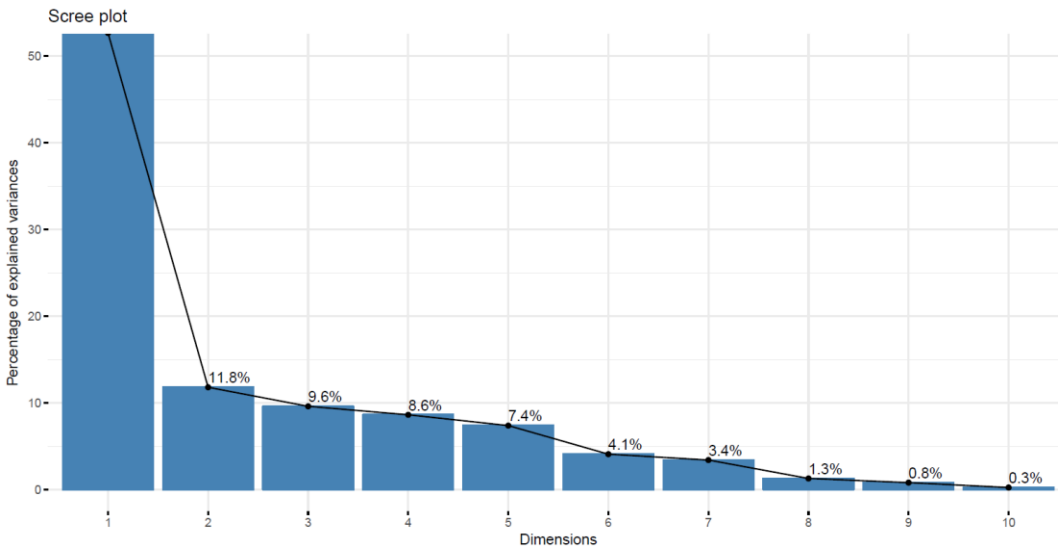
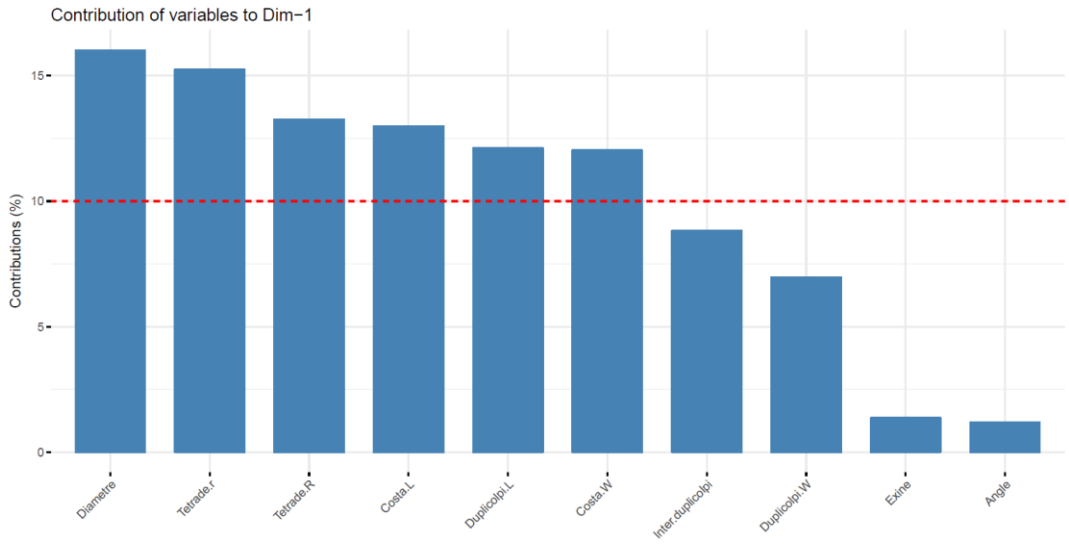
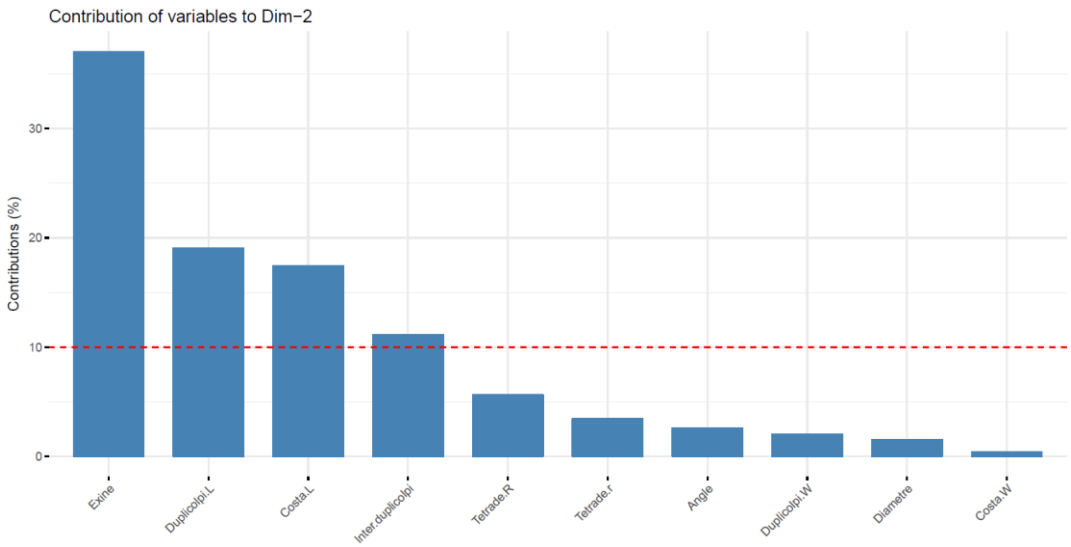
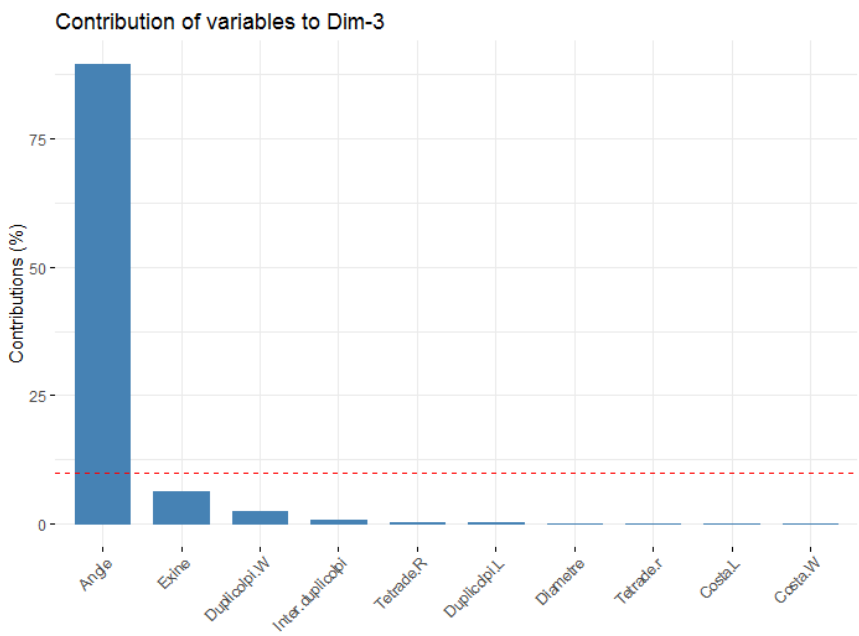


Figure 44: Eboulis des valeurs propres en pourcentages


Contribution of variables to Dim−1
Contributions (%)
15
10
5
0
Diametre
Tetrade.r
Tetrade.R
Costa.L
Duplicolpi.L
Costa.W
Inter.duplicolpi
Duplicolpi.W
Exine
Angle


Contribution of variables to Dim−2
Contributions (%)
30
20
10
0
Exine
Duplicolpi.L
Costa.L
Inter.duplicolpi
Tetrade.R
Tetrade.r
Angle
Duplicolpi.W
Diametre
Costa.W


Contribution of variables to Dim-3
Contributions (%)
75
50
25
0
Angle
Exine
Duplicolpi.W
Inter.duplicolpi
Tetrade.R
Duplicolpi.L
Diametre
Tetrade.r
Costa.L
Costa.W

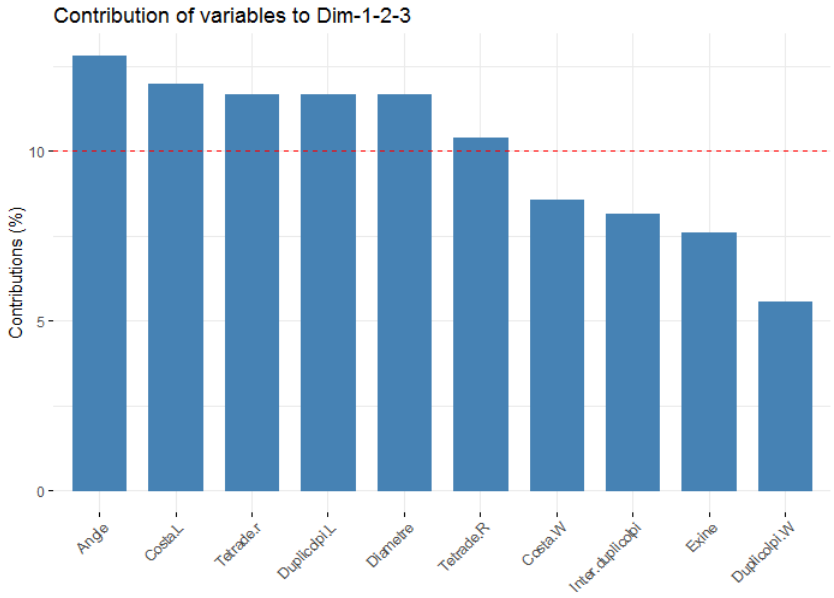


Figure 45: Contribution des variables quantitatives aux dimensions 1, 2 et 3.

Pour la dimension 1, les variables qui apportent plus de 15 % de contribution sont le diamètre de la tétrade et la mesure hauteur du grain. Pour la dimension 2, la variable qui apporte plus de 35 % de contribution est l'épaisseur de l'exine, la longueur du duplicolpi et de la marge et pour la dimension 3, la variable qui apporte plus de 80 % de contribution est l'angle entre les grains (Fig.46 et 47).

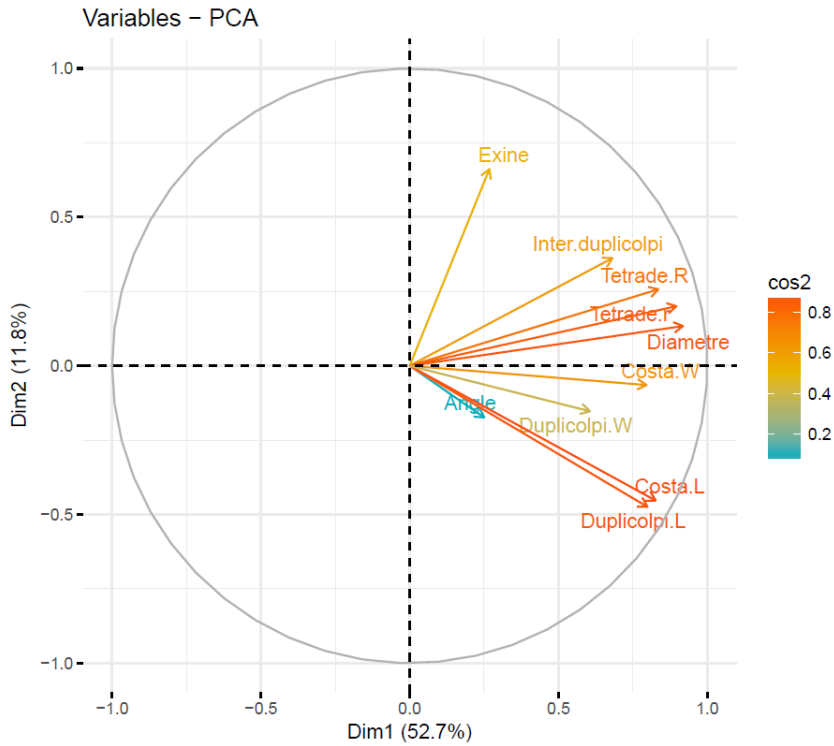


Figure 46: Cercle de corrélation représentant la corrélation des variables. La couleur des flèches dépend de la valeur du cos2 indiquant la bonne représentation de la variable par les axes sélectionnés.

La représentation en biplot de l'ACP des variables qualitatives (Fig. 47) montre la distribution du pollen des différentes espèces analysées ainsi que les variables mesurées dans le plan défini par les dimensions 1 et 2. Les ellipses représentant un intervalle de confiance à 95% autour du point moyen permet de repérer la distribution principale des individus de chaque espèce. Nous observons que la plupart des espèces sont distribuées le long de l'axe 1, avec des espèces comme *Erica cinerea* ou *Arbutus unedo* présentant des individus avec des scores positifs et certaines comme *E. vagans* ou *E. arborea* avec des scores négatifs à 95% de confiance. Les espèces *Rhododendron ferrugineum* et *Calluna vulgaris* sont celles ayant les valeurs les plus positives sur l'axe 2. Néanmoins, les résultats de cette première ACP, faite sur les données quantitatives exclusivement, ne permettent pas de dissocier des espèces ou des groupes d'espèces vu le chevauchement important des ellipses (Fig. 47).

Figure 47: ACP biplot variables quantitatives.

- **ACP de synthèse**

Afin d'effectuer l'étape finale de notre analyse, un tableau récapitulatif incluant les coordonnées des deux premières dimensions de l'ACoP et les trois premières dimensions de l'ACP a été généré, et une ACP a été effectué. Pour rappel, les facteurs 1 et 2 de l'ACoP (nommées ci-dessous V1 et V2) représentent principalement les variables qualitatives d'ornementation, méso-aperturales punctae, scabrée, lisse et la présence d'un endocolpus pour la partie positive de V1 et l'ornementation polaire et méso-aperturale

verruquée tesselée, une tétrade plane et une tétrade irrégulière et l'absence d'endocolpus pour la partie négative de V1. Pour V2, les critères d'ornementation polaire lisse, scabrée et meso-aperturale scabrée, perforée, lisse pour la partie positive de V2 et une tétrade irrégulière et plane pour la partie négative de V2.

Quant à ceux de l'ACP (DIM 1, DIM 2 et DIM 3), le facteur 1 représente l'effet taille, le facteur 2 est lié à l'épaisseur de l'exine et à la longueur du duplicolpi et de la marge, le facteur 3 à l'angle (Fig 48 et 49).

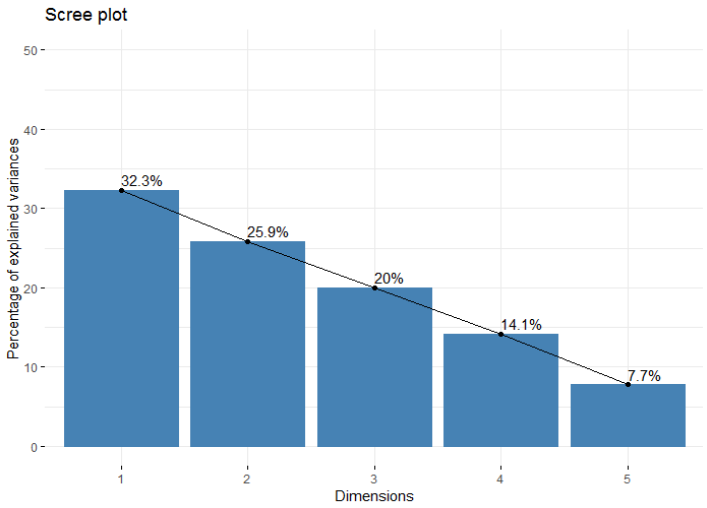


Figure 48: Pourcentage de la variance expliquée par les 5 premiers axes de l'ACP.

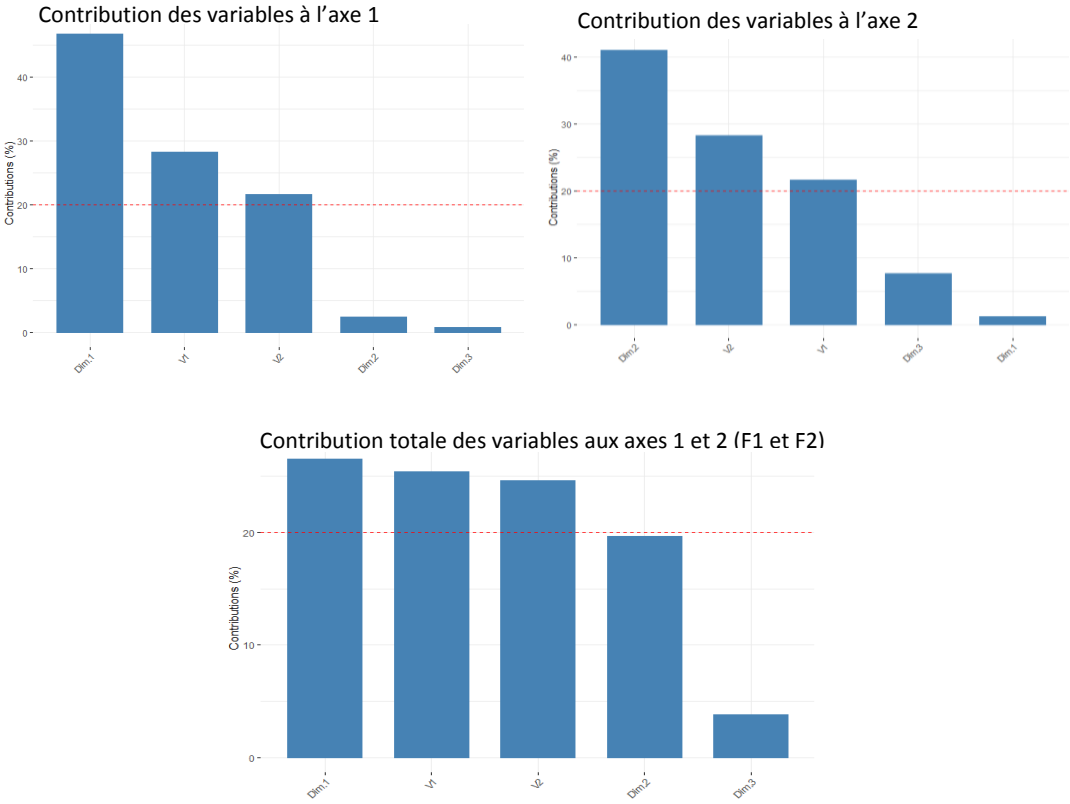


Figure 49: Contribution des variables aux axe 1, axe 2 et axes 1 et 2 de l'ACP.

L'axe 1 de l'ACP finale (nommé F1) est corrélé positivement avec les variables Dim 1, V1 et V2. Néanmoins, la variable Dim 1 a la plus forte corrélation (0.86) et contribution (46%). L'axe 1 reflète donc un gradient de taille (tétrade, grain, largeur du duplicolpi et de la marge) (Fig. 49, Fig.50 et Tableau 11).

Quant à l'axe 2 de l'ACP finale (nommé F2), il présente une corrélation positive avec Dim2 de 0.72 suivi par V1 (0.52), alors qu'il est corrélé négativement V2 (-0.60). Cela indique que cet axe est principalement associé à l'épaisseur de l'exine pour les variables quantitatives (Fig. 49). La Dim 3 associée à l'angle est peu représentée (Fig. 50 et Tableaux 10 et 11). Il est à noter que les variables quantitatives ont une contribution équivalente sur les axes 1 et 2 de l'ACP finale.

```
Corrélation Dim 1
```

	corrélation	p.value
Dim.1	**0.86**	0.000000e+00
V1	**0.67**	0.000000e+00
V2	**0.59**	0.000000e+00
Dim.3	0.11	1.425519e-21
Dim.2	-0.19	2.427455e-66

```
Corr2lation Dim 2
```

	corrélation	p.value
Dim.2	**0.72**	0.000000e+00
V1	**0.52**	0.000000e+00
Dim.3	0.31	1.353154e-167
Dim.1	0.12	1.558899e-27
V2	**- 0.60**	0.000000e+00

Tableau 10: Corrélation des variables.

	Dim.1	Dim.2	Dim. 3	Dim.4	Dim.5
V1	28.32	21.67	1.34-21	21.67	28.32
V2	21.67	**28.32**	5.89-20	28.32	21.67
Dim.1	**46.74**	1.25	4.00	1.25	46.74
Dim.2	2.47	**41.03**	1.29+01	41.03	2.47
Dim.3	0.77	7.70	8.30+01	7.70	0.77

Tableau 11: Pourcentages de contribution des variables.

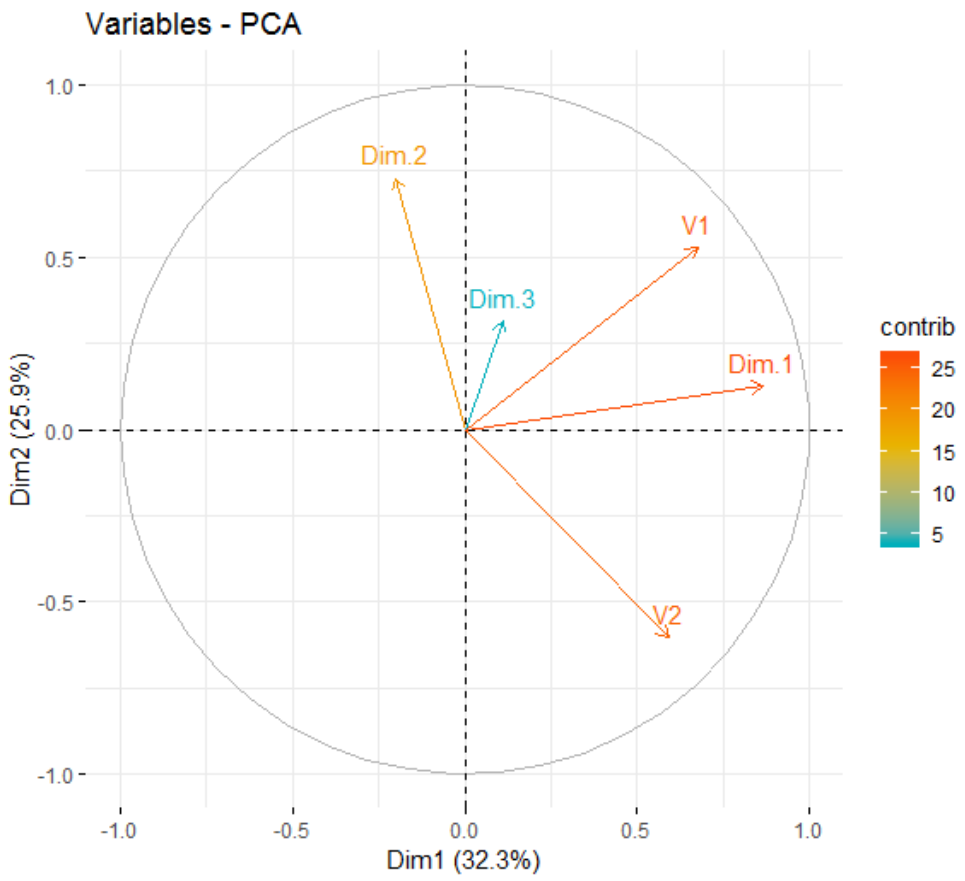
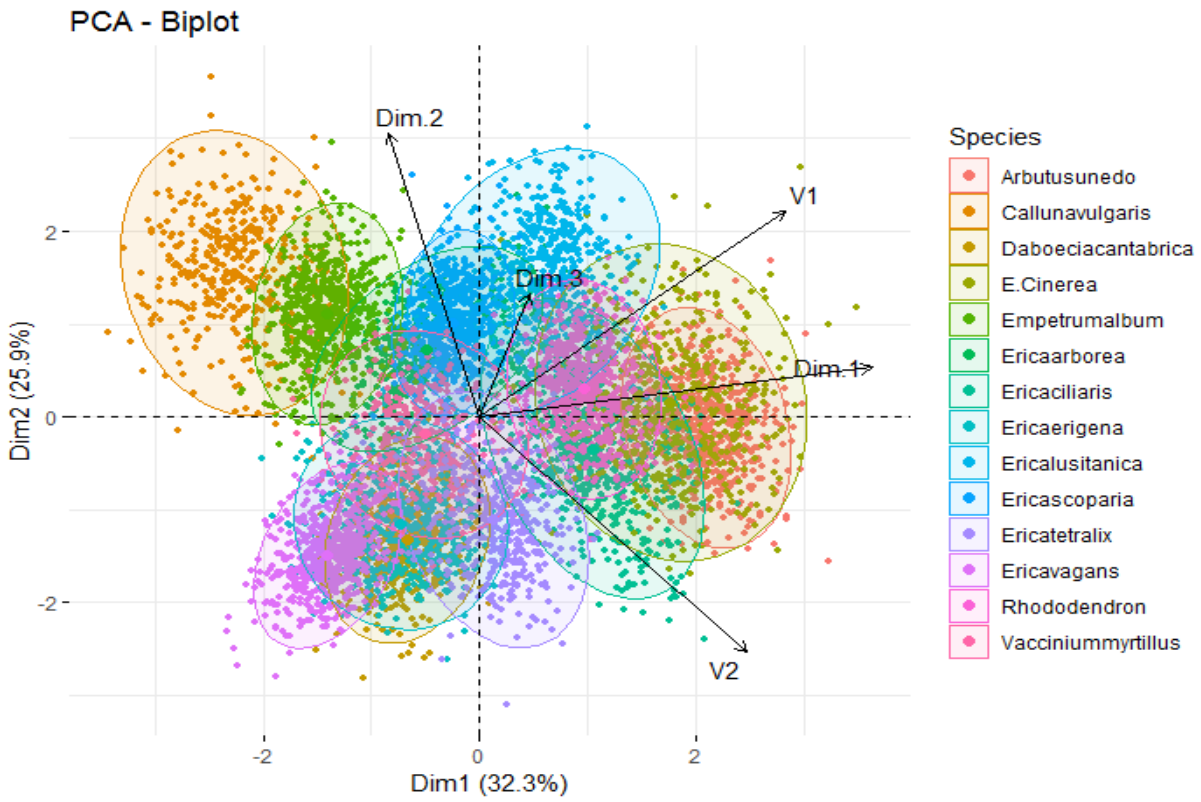


Figure 50: Contribution aux variables de l'ACP.

Le pourcentage de la variance expliquée s'élève par les deux dimensions à 58.2 %. On constate que contrairement aux répartitions des espèces sur le biplot des données quantitatives de l'ACP, nous avons ici une dispersion des espèces mieux caractérisées par essentiellement le diamètre de la tétrade et le rayon du grain sur l'axe 1 pour les données quantitatives ainsi que les critères d'ornementation, l'épaisseur de l'exine et les critères d'ornementation pour l'axe 2. (Fig 51). Cette organisation des espèces et des ensembles d'espèces se rapproche de celle de l'ACoP pour les variables qualitatives ce qui indique l'importance de ces variables pour différencier les espèces et les groupes d'espèces. Dans notre ACP nous identifions dans le premier groupe, *Calluna vulgaris* et *Corema alba*, pour le deuxième groupe, *Erica scoparia*, *Erica lusitanicae* et *Erica arborea*, pour le troisième groupe, *Rhododendron ferrugineum*, *Arbutus unedo*, *Erica cinerea* et *Erica ciliaris* et pour le quatrième groupe, *Daboecia cantabrica*, *Erica tetralix*, *Erica erigena*, *Erica vagans* et *Vaccinium myrtillus*.



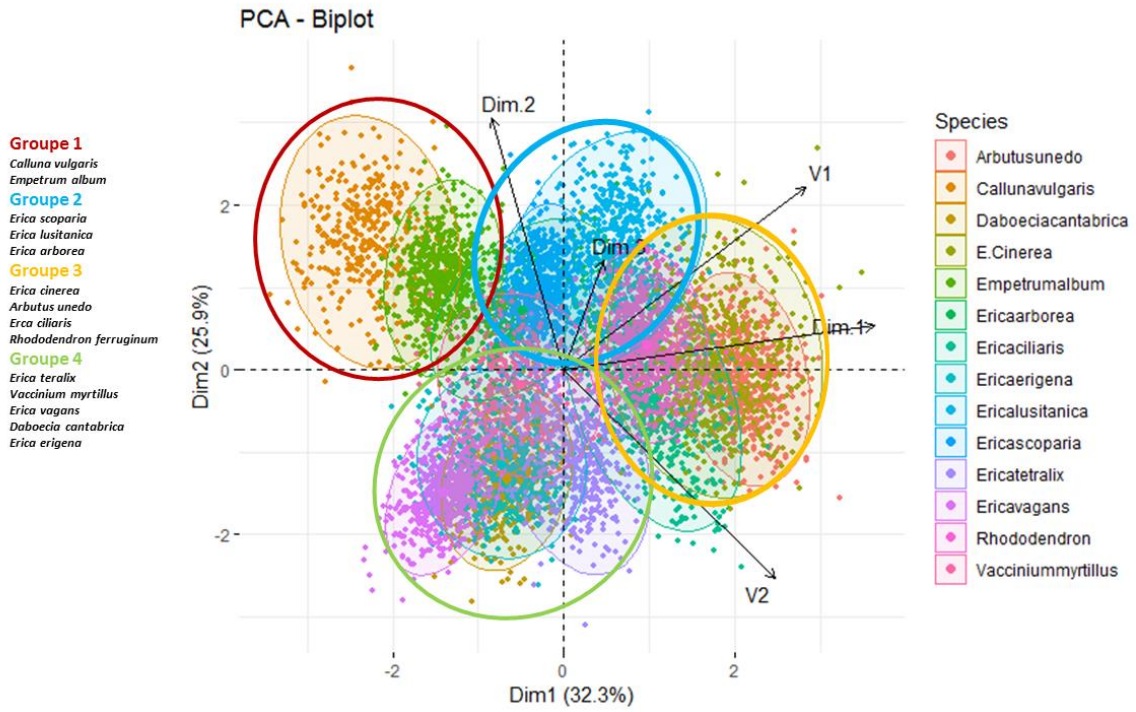


Figure 51 : Biplot de l'ACP finale et ellipses représentant l'intervalle de confiance à 95% pour chaque espèce

.

3.3.4 Arbre de décision

Le jeu de données « train » incluant tous les critères (quantitatifs et qualitatifs) a été utilisé pour construire l'arbre de classification en se basant sur la méthode CART. Afin de produire l'arbre complet, plus de dix essais ont été réalisés en raison de l'instabilité de l'analyse CART (Williams, 2011) pour vérifier que les résultats obtenus par l'arbre choisi sont cohérents avec les nœuds de critères les plus courants entre les exécutions. L'élagage de l'arbre afin d'éviter la sur-adaptation de l'arbre aux données a été réalisé à partir de l'évolution de l'erreur en fonction du degré de complexité. Nous avons choisi d'élaguer l'arbre à partir du degré de complexité CP=0.011 pour une erreur standard de 0.074 (Fig. 52). L'arbre de classification obtenu, présenté Figure 53, comporte 16 feuilles pour les 14 classes (espèces). L'évaluation de l'arbre généré en utilisant le jeu de données test (qui n'a pas servi à la construction de l'arbre) montre en général de faibles erreurs de classification (Tableau 12°). L'erreur est même nulle pour six espèces (*Calluna vulgaris*, *Erica cinerea*, *Corema alba*, *Erica arborea*, *Erica lusitanica*, *Erica vagans*) et très faible pour *Erica scoparia* et *Rhododendron ferrugineum* (<5%). Par contre, 20 % des pollens d'*Erica ciliaris* et *Vaccinium myrtillus* sont mal classés.

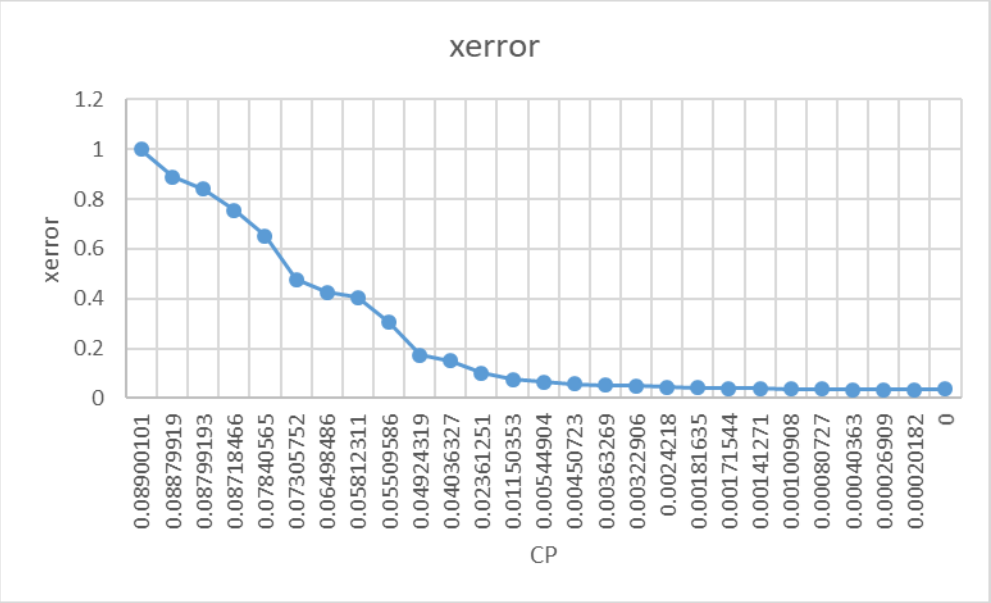


Figure 52 : Arbre de classification variables quantitatives et qualitatives et courbe CP.

Au sommet de l'arbre, l'ornemenation méso-aperturale fait une première séparation. Le premier groupe est caractérisé par une ornementation microverruquée séparant les pollens d'*Corema alba* et *Erica lusitanica* des autres. Le critère endocolpus est ensuite déterminant pour distinguer les pollens des deux espèces. 100% des pollens de *Corema alba et d'Erica lusitanica* sont classés par ces deux critères qualitatifs (ornementation microverruquée et présence ou absence d'endocolpus).

Parmi les pollens ayant une ornementation méso-aperturale non microverruquée, le critère endocolpus divise deux grands groupes. Dans le premier groupe caractérisé par une absence d'endocolpus, sont séparés les pollens ayant une ornementation polaire verruco-tesselée appartenant aux espèces *Erica tetralix* et *Erica vagans*. Le critère diamètre de la tétrade avec un seuil à 38 µm permet de différencier les pollens de ces deux espèces. 33.05 % des tétrades d'*Erica tetralix* et 99.5 % des tétrades d'*Erica vagans* sont classés dans ces feuilles (Fig.53).

Dans le groupe sans endocolpus et sans ornementation polaire verruco-tessellée, un des deux sous-groupes défini est caractérisé par le type d'ornementation méso-aperturale verruquée permettant de classer à 100% *Calluna vulgaris*. L'autre sous-groupe est séparé par une ornementation méso-aperturale rugulo-verruquée ou tessellée. Puis un critère quantitatif lié au diamètre (seuil à 35 µm) divise un ensemble d'espèces lui-même séparé par une valeur de l'angle (147°) classant 75.12% des pollens de *Daboecia cantabrica* de 88.98 % des pollen d'*Erica erigena et un autre ensemble constitué de* 56.49 % des pollens d'*E. tetralix et* 96.87 % des pollen Vaccinium myrtillus (Fig.53).

Pour le groupe caractérisé par la présence d'endocolpus, c'est l'ornementation polaire qui définit le node avec l'ornementation micro-verruquée séparant 99,5 % des pollens d'*Erica scoparia*. Puis différents types d'ornementations meso-aperturales permettent de classer le reste des tétrades sans endocolpus. 100% des pollens d'*Arbutus unedo* sont séparés par une ornementation méso-aperturale perforée. 98.38 % des pollens *d'Erica arborea* est caractérisé par une ornementation meso-aperturale verruquée. 84.55 % des tétrades d'*Erica cinerea* sont séparés par une ornementation polaire aperturale lisse ou scabrée (Fig.53).

La longueur du dupolicolpus sépare les pollens avec une ornementation méso-aperturale verruco-tessellée. Ici les pollens présentant une séparation par le critère de longueur du duplicolpus de plus de 19 µm sont classés dans la classe *E. ciliairis* et sinon ils sont dirigés vers la classe *Rhododendron ferrugineum* (Fig.53).

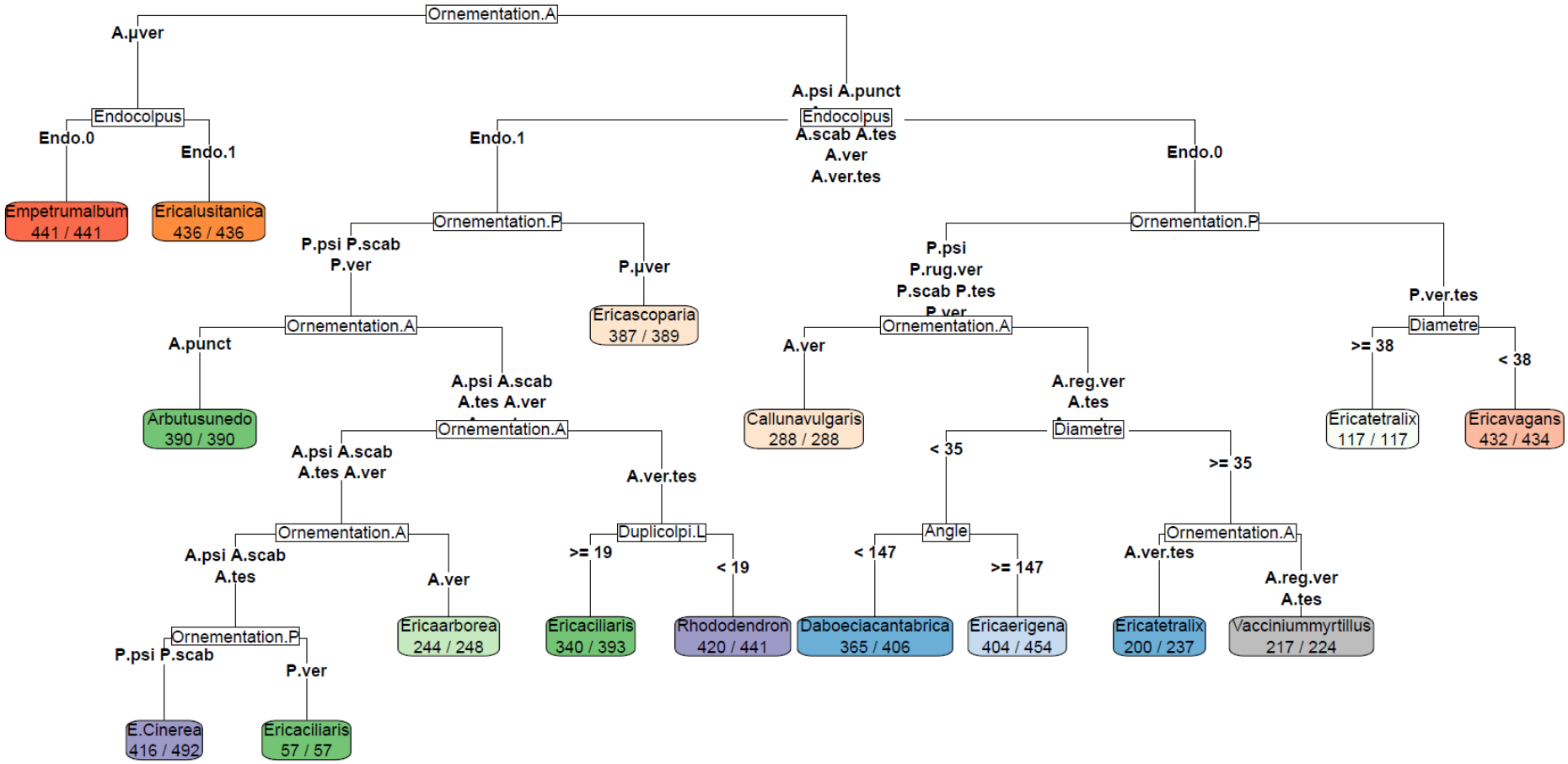

Ornementation.A
A.µver
A.psi A.punct
Endocolpus
Endo.0
Endo.1
Endocolpus
A.scab A.tes
A.ver
A.ver.tes
Endo.1
Endo.0
Empetrumalbum
441 / 441
Ericalusitanica
436 / 436
Ornementation.P
P.psi P.scab
P.ver
P.µver
Ornementation.P
P.psi
P.rug.ver
P.scab P.tes
P.ver
P.ver.tes
Ericascoparia
387 / 389
Ornementation.A
A.punct
A.psi A.scab
A.tes A.ver
Ornementation.A
A.ver
A.reg.ver
A.tes
Diametre
>= 38
< 38
Arbutusunedo
390 / 390
Callunavulgaris
288 / 288
Ericatetralix
117 / 117
Ericavagans
432 / 434
Ornementation.A
A.psi A.scab
A.tes A.ver
A.ver.tes
< 35
>= 35
Ornementation.A
A.psi A.scab
A.tes
A.ver
Duplicolpi.L
>= 19
< 19
Angle
< 147
>= 147
Ornementation.A
A.ver.tes
A.reg.ver
A.tes
Ornementation.P
P.psi P.scab
P.ver
Ericaarborea
244 / 248
Ericaciliaris
340 / 393
Rhododendron
420 / 441
Daboeciacantabrica
365 / 406
Ericaerigena
404 / 454
Ericatetralix
200 / 237
Vacciniummyrtillus
217 / 224
E.Cinerea
416 / 492
Ericaciliaris
57 / 57

Fig 53 : Arbre de classification variables quantitatives et qualitatives.

% de pollen prédits

Pollen du jeu de données test	*Arbutus unedo*	*Calluna vulgaris*	*Daboecia cantabrica*	*Erica cinerea*	*Corema alba*	*Erica arborea*	*Erica ciliaris*	*Erica erigena*	*Erica lusitanica*	*Erica scoparia*	*Erica tetralix*	*Erica vagans*	*Rhododendron*	*Vaccinium myrtillus*
Arbutus unedo	92,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Calluna vulgaris	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0,93	0	0	0
Daboecia cantabrica	0	0	85,6	0	0	0	0	9,72	0	0	1,85	0	0	13,8
Erica cinerea	0	0	0	100	0	0	11,7	0	0	0	0	0	0	0
Corema alba	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0,93	0	0	0
Erica arborea	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0,77	0	0	0	0
Erica ciliaris	7,8	0	0	0	0	0	80,4	0	0	0	0	0	4,14	0
Erica erigena	0	0	11,6	0	0	0	0	88,9	0	0	0	0	0	6,25
Erica lusitanica	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
Erica scoparia	0	0	0	0	0	0	0,61	0	0	99,2	0	0	0	0
Erica tetralix	0	0	2,74	0	0	0	0	0,69	0	0	90,7	0	0	0
Erica vagans	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,93	100	0	0
Rhododendron	0	0	0	0	0	0	7,36	0,69	0	0	0	0	95,9	0
Vaccinium myrtillus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4,63	0	0	80
% Erreur classification	**7,8**	**0**	**14,4**	**0**	**0**	**0**	**19,6**	**11,1**	**0**	**0,8**	**9,3**	**0**	**4,1**	**20**

Tableau 12 : Evaluation du modèle CART : pourcentages de pollen des différentes espèces du jeu de données test prédits

DISCUSSION

4. CARACTERISATION DES ESPECES

4.1 Organisation tétraédrique

L'ensemble des espèces de notre étude est caractérisé par une organisation des grains en tétrade tétraédrique à l'exception de *Calluna vulgaris* qui présente globalement la moitié des pollens en tétrade plane et irrégulière. Dans l'étude d'Oldfield (1959), les tétrades de *C. vulgaris* sont presque exclusivement irrégulières alors que dans celle de Diez et Fernandez (1989) elles sont régulières et irrégulières comme dans notre travail.

4.2. Taille des tétrades

En ce qui concerne la taille des tétrades, nos mesures ont fait ressortir que certaines espèces (*Daboecia cantabrica, Erica arborea, E. erigena, E. scoparia* et *E. vagans*) produisent des pollens de petite taille inférieurs en moyenne à 35 µm. Diez et Fernandez (1989) et Oldfield (1959) montrent aussi que les pollens sont de petite taille pour ces espèces, excepté pour *Erica lusitanica* qui présente des pollens de taille moyenne (35 et 36 µm, respectivement, au lieu de 40.5 µm dans notre étude). Néanmoins, nos résultats montrent une large variabilité

pour cette espèce, le diamètre de la tétrade pouvant varier de 28.4 à 52.8 µm, bien plus grande que celle observée dans les études précédentes. Ramil Rego *et al*. (1992) identifient aussi ces espèces comme étant caractérisées par des tétrades de diamètre inférieur à 35 µm, à l'exclusion de *E. scoparia* (35-45 µm) et *E. lusitanica* (non étudiée).

Notre étude confirme aussi que les tétrades de *Erica ciliaris et Erica cinerea* sont de grande taille (Diez et Fernandez, 1989 ; Oldfield, 1959). Par contre, il est constaté une différence pour *Rhododendron ferrugineum* qui présente des tétrades avec un diamètre allant de 30 à 38 µm (moyenne de 33 µm) pour Diez et Fernandez (1989) et de 29.2 à 46.8 (moyenne de 39 µm) en moyenne dans nos résultats. Cette différence apparaît être causée par la présence de tétrades de plus grande taille dans nos échantillons. D'autres travaux portant sur la morphologie des pollens de *Erica arborea, E. cinerea, E. tetralix, Calluna vulgaris* et *Daboecia cantabrica* (Sarwar, 2014) et *Corema alba* (Kim et al., 1988) présentent des résultats similaires à notre étude. Ces différences de taille se confirment notamment pour le rayon de la tétrade mais aussi le rayon du grain comme indiqué dans nos résultats.

4.3. Angle entre les grains

L'importance de l'angle entre les grains va permettre d'apprécier la sphéricité de la tétrade. Il sera grand dans le cas de tétrades circulaires compactes soit sphérique ou « globulaire » selon les définitions et plus petit dans le cas de tétrades ayant une forme lobée (Mateus, 1989). Un angle important a été observé pour *Erica erigena* (159,4°), *Erica cinerea*, (150,9°) et *Arbutus unedo* (151,4°) ce qui suggère que les pollens sont relativement sphériques. Même si seul *Arbutus unedo* est identifié comme étant caractérisé par une tétrade sphérique par Diez et Fernandez (1989), toutes trois sont parmi les espèces les plus « globulaires » mesurées par Oldfield (1959). Ramil Rego *et al*. (1992), trouve aussi un angle peu marqué pour *Erica vagans*. Il est à noter que la forme de la tétrade peut être fortement variable et l'angle ne peut être considéré à lui seul comme une mesure de la forme de la tétrade. Mateus (1989) propose de définir de façon plus fine la forme ou organisation de la tétrade avec les termes ectocentrique, mésocentrique ou endocentrique, en se basant sur un ratio entre le diamètre de la tétrade et celui du grain (R/r). Dans notre étude, la mesure de r est la longueur entre la perpendiculaire à un côté du triangle isocèle reliant les jonctions externes des grains entre eux et l'extrémité du grain, ce qui ne correspond pas exactement à celle de Mateus (1989). Nous n'avons donc pas pu définir la forme de la tétrade en ces termes.

4.4. Ornementation

L'ensemble des auteurs s'accordent à dire que l'ornementation des Ericaceae est difficile à définir et souvent ambiguë, et une terminologie différente est utilisée pour la décrire (Oldfield, 1959 ; Visset, 1975 ; Mateus, 1989 ; Diez et Fernandez, 1989). Par exemple, Oldfield (1959) utilise « granulations », « islands », « bulbs » ou

« humps » afin de couvrir l'ensemble des différents aspects des éléments des éléments sculpturaux alors que Mateus (1989) décrit les sculptures en tant que tesselae, verrues et rugules. Dans la présente étude, nous avons utilisé la terminologie de Mateus (1989) ce qui rend parfois difficile la comparaison de nos résultats avec les autres travaux. Par ailleurs, la plupart des auteurs ont utilisé le MEB (Microscope Electronique à Balayage) pour définir l'ornementation des grains (Visset, 1975 ; Mateus, 1989 ; Diez et Fernandez, 1989) ce qui peut donner un degré de précision difficilement atteignable avec le microscope optique seul.

Nos résultats confirment que l'ornementation est uniforme pour certaines espèces comme *Calluna vulgaris, Erica vagans* et *Corema alba*. Par contre pour les autres espèces étudiées, une ornementation zonale est observée bien que pour *Erica scoparia* et *E. lusitanica*, la variation d'une zone à l'autre est micro-verruquée à verruquée. La différence d'ornementation entre les zones polaires, appelée zone polaire- aperturale par Mateus (1989), incluant la zone polaire, les apertures et leurs zones marginales, et les zones meso-aperturales, comprenant la partie interne du mesocolpium des trois grains congruents, est couramment observé dans la bibliographie (Mateus, 1989 ; Diez et Fernandez 1989 ; Ramil Rego *et al.* 1992). Nos résultats concordent dans l'ensemble avec ceux de Mateus (1989) mais présentent quelques différences avec Ramil Rego *et al*. (1992) qui utilisent aussi la terminologie définie par Mateus (1989). Ramil Rego *et al.* (1992) ont observé une ornementation lisse en zone polaire et verruco-tesselée en zone meso-aperturale pour *Erica arborea* ce qui est cohérent avec nos résultats. Pour les espèces *Erica ciliaris*, *Erica cinerea et Erica tetralix*, nous retrouvons le même type d'ornementation en zone polaire (lisse ou scabrée) mais nous avons observé une ornementation différente en zone meso-aperturale. Diez et Fernandez (1989) définissent une ornementation verruquée pour les espèces *Erica scoparia, Erica lusitanica* et *Daboecia cantabrica*, alors que je trouve pour ma part une ornementation verruquée à micro-verruquée. Une analyse poussée des verrues au MEB, a montré qu'Erica *scoparia* présente des verrues scabrées alors que les trois autres espèces ont les verrues lisses (Diez et Fernandez, 1989). Pour beaucoup d'espèces, Diez et Fernandez (1989) trouvent une ornementation fossulée (canaux creusés), ornementation que je n'ai pas retrouvée dans mes analyses. L'utilisation du MEB permet d'observer des aspects de l'ornementation qui ne sont pas visibles au microscope optique, ce qui peut expliquer pourquoi des différences apparaissent entre notre travail et les travaux antérieurs.

4.5. Système apertural

Tous les pollens des différentes espèces d'Ericaceae observées présentent un système apertural avec un élément spécifique, le duplicolpus. Par contre l'endoaperture qui est une sorte d'endocolpus n'est pas forcément observée chez toutes les espèces. 50 % des espèces présentent un endocolpus visible lors de nos observations au microscope optique. Par contre, Mateus (1989) qui a utilisé le MEB en plus du microscope

optique a mis en évidence qu'une endoaperture était présente pour toutes les espèces étudiées mais que sa largeur est plus ou moins importante. Les espèces pour lesquelles j'ai noté la présence d'une endoaperture sont *Arbutus unedo, Erica cinerea*, *Erica scoparia* et *Erica arborea.* Mateus (1989) a montré que les grains de ces espèces ont une endoaperture large, à l'exception d'*Erica arborea* qui présente une endoaperture fine à moyennement large. Je n'ai pas identifié la présence d'une endoaperture pour les espèces pour lesquelles Mateus (1989) a identifié une endoaperture relativement fine. Pour *Corema allba*, Kim (1988) observe aussi une endoaperture au MEB. Celle-ci est proche de la cloison, ce qui peut expliquer qu'au microscope optique on ne l'observe pas, informations confirmées par Diez et Fernandez, 1989. Par conséquent, l'endoaperture apparaît visible au microscope optique que lorsqu'elle a une taille relativement importante et/ou éloignée des cloisons.

Nos résultats ont montré une correspondance entre la longueur de la marge et la longueur du duplicolpus. *Calluna vulgaris* a le plus petit duplicolpus en moyenne et *Arbutus unedo*, le plus grand. Diez et Fernandez (1989) trouvent des résultats comparables pour l'ensemble des espèces communément étudiées à l'exception d'*Erica cinerea.* Cette dernière présente un duplicolpus de taille équivalente à *Arbutus unedo* dans notre étude alors qu'il est de taille moyenne dans le travail de Diez et Fernandez (1989). Par ailleurs, aucune relation entre la taille du duplicolpus et la taille du grain n'est observée (Diez et Fernandez, 1989).

5 BIAIS POUVANT AFFECTER LES RESULTATS

Nous avons vu que si pour la plupart des espèces, nos résultats montrent de fortes similarités avec celles des études précédentes, dans quelques cas, des différences notables ont été observées en particulier au niveau de l'ornementation mais aussi de l'observation de l'endocolpus. Ceci peut s'expliquer par la complexité de l'ornementation des Ericaceae, les terminologie différentes et l'utilisation du MEB pour la déterminer dans les études précédentes pouvant amener un détail non perceptible au microscope optique que ce soit pour la description de l'ornementation ou de l'identification de l'endoaperture. Pour certaines espèces comme *Erica lusitanica*, *Erica scoparia* ou *Rhododendron ferrugineum* des différences importantes ont aussi été notées pour la taille du pollen entre nos observations et celles de Oldfield (1959), Diez et Fernandez (1989) et Ramil Rego *et al*. (1992). Plusieurs facteurs peuvent affecter la représentativité des mesures ou altérer la taille du pollen que ce soit les traitements chimiques ou le milieu de montage.

5.1. Représentativité de l'échantillon

Nous avons observé une certaine variabilité des mesures de pollen d'une même espèce, qui se voit par exemple clairement dans les distributions du diamètre des tétrades. Plusieurs types d'ornementation ont aussi été identifiés pour certaines espèces. Cette variabilité relève de la variabilité intra-spécifique. La variabilité

intra-spécifique relative à des critères de taille sont connus pour beaucoup de pollen de différents genres ou famille comme *Cyperaceae* mais aussi *Pinus*, *Picea* ou *Alnus* (Meltsov, 2008 ; Barton *et al.*, 2011 ; May and Lacourse, 2012 ; Desprat *et al.*, 2015). Afin d'avoir une représentation fiable de cette variabilité, nous avons opté pour l'échantillonnage sur trois sites géographiques éloignés de trois plantes par site eux-mêmes séparés dans la mesure du possible de 200 m permettant notamment d'éviter les problèmes de consanguinité (Desprat *et al.*, 2015). Les travaux antérieurs sur la morphologie pollinique des espèces d'Ericaceae reposent sur le pollen de 2 à 3 plantes différentes provenant d'herbarium ou de plantes *in situ* (Diez et Fernandez, 1989 ; Mateus, 1989 ; Ramil Rego *et al.,* 1992), à l'exception de Oldfield (1959) qui n'a mesuré le pollen que d'une seule plante par espèce.

La taille de l'échantillon mesuré doit aussi être pris en compte pour avoir une bonne représentativité. Une étude sur les grains de pollen de Poaceae a montré que la valeur médiane de la taille du grain se stabilise après 45 grains mesurés (Schüler and Behling, 2011). May et Lacourse (2012) recommande de mesurer au moins 30 grains de pollen d'après une étude effectuée sur la morphologie du pollen d'aulne en Amérique du Nord. Les tests que nous avons réalisés sur l'évolution des paramètres diamètre de la tétrade et largeur du grain en fonction du nombre de pollens mesurés par lame montrent quant à eux que les valeurs des moyennes cumulées se stabilisent seulement à partir de 60 mesures. Cela suggère qu'une étude préalable du nombre de grains à mesurer est nécessaire avant d'entreprendre une nouvelle étude sur un morphotype. Par conséquent le nombre de pollens mesurés par Oldfield (1959), Mateus (1989) et Diez et Fernandez (1989) s'élève à 10 ou 15 par échantillon, ce qui apparaît insuffisant et peut expliquer certaines différences observées avec notre étude. Ramil Rego *et al* (1992) ont mesuré plus de pollens (30 pollen par échantillons) mais nos résultats ont montré que pour les Ericaceae ce nombre de mesures reste trop faible.

Par ailleurs May et Lacourse (2012) recommandent aussi d'analyser le pollen provenant du plus grand nombre possible de plantes individuelles (>30), plutôt que de nombreux pollens provenant d'un petit nombre de plantes seulement, en se basant sur l'hypothèse que les plantes individuelles produisent un pollen morphologiquement similaire. Pour des questions de temps, cette recommandation n'a pu être suivie. Nous avons mesuré le pollen de 6 à 10 plantes par espèce, ce qui peut influencer la représentation de la variabilité intra-spécifique. Par ailleurs, des variations de la taille du pollen peuvent s'expliquer par des facteurs externes tels que la température ou l'apport en nutriments (Meltsov, 2008) suggérant qu'il est préférable d'étudier les pollens de plantes provenant de différents sites.

5.2 Effet des traitements

Les traitements chimiques utilisés pour préparer les échantillons qu'ils soient modernes ou fossiles sont réputés pour altérer la taille des grains de pollen (Mäkela, 1996 ; Moore, 1991). Par exemple, l'HF couramment utilisé pour préparer les échantillons fossiles peut entraîner une réduction de taille jusqu'à 20 % (Martin, 1969 ; Moore, 1991) bien que cette influence soit fortement discutée et discutable (Desprat *et al.,* 2015). Par contre l'acétolyse gonflerait les grains (Faegri et Deuze, 1960 ; Moore, 1991 ; Reitsma, 1969). Une étude récente sur le pollen de riz actuel a montré que les traitements par acétolyse réduiraient la taille du pollen de riz dans la même mesure que les traitements au HCl+HF (Yang *et al.,* 2012). Toutes les études précédentes sur la morphologie des Ericaceae se basent sur un protocole de préparation des échantillons comportant une acétolyse, suggérant que des biais associés aux traitements ne devraient pas intervenir dans la comparaison des différentes études. Néanmoins, cet effet potentiel des traitements chimiques sera à considérer lors d'une utilisation future des résultats obtenus dans notre étude pour identifier les pollens d'Ericaceae fossile.

5.3 Effet du milieu de montage

Le milieu de montage utilisé dans notre étude est le glycérol. Ce milieu de montage, comme la glycérine gélatinée, est réputé pour entrainer un gonflement du pollen contrairement à l'huile de silicone, aussi couramment utilisé dans les préparations de lames palynologiques (Andersen 1960, Reitsma 1969). Ces milieux modifieraient la taille du pollen en raison de leur nature hygroscopique (Andersen, 1960 ; Reistma, 1969). L'huile de silicone est quant à elle un milieu chimiquement inerte ne générant pas de gonflement du pollen (Andersen, 1960) mais la déshydratation au ter-butanol, nécessaire avant le montage pourrait quant à elle avoir aussi une influence sur la taille du pollen (Meltsov *et al.*, 2008). Dans une expérience d'un an Aytug (1960) a mis en évidence que le pollen de pin dans un milieu de montage de glycérine gélatinée pouvait gonfler de 10 % mais cessait de gonfler à partir du quatrième mois après montage. Selon Meltsov et ses collaborateurs (2008), les différences physiques entre glycérol et glycérine gélatinée pourraient théoriquement causer des écarts de taille malgré une composition proche des deux milieux. Cet effet différentiel n'a cependant pas été estimé comme significatif dans une étude précédente (Faegri & Deuse, 1960).

Nous avons entrepris un suivi de la taille des pollens dans le temps de deux échantillons de *Rhododendron ferrugineum.* Nous avons mesuré la largeur du grain ou de la tétrade dans quatre lames, 2 lames ayant des concentrations normales sur lesquelles 65 pollens ont été mesurés et 2 lames ayant des concentrations faibles afin de pouvoir repérer et suivre individuellement dans le temps 15 pollens. Nos résultats ne montrent pas de changements de la taille du pollen durant les 90 jours après traitement. Bien que le suivi doit être poursuivi dans les mois à venir pour être validé, notre travail ne semble pas confirmer les travaux d'Aytug (1960) sur le pin et le délai de 120 jours après montage à respecter avant le travail d'entreprendre les mesures. Cependant, vu que ce test a été entrepris tardivement, nous avons tout de même respecté ce délai dans notre travail.

Les études antérieures sur la morphologie des Ericaceae ne précisent pas toujours le milieu de montage utilisés, ni le temps d'attente avant mesures si la glycérine gélatinée est utilisée comme milieu de montage. Ramil Rego *et al*. (1992) ont procédé à un montage dans de la glycérine gélatinée et Mateus (1989) a effectué des mesures de pollen en glycérine gélatinée et huile de silicone mais Diez et Fernandez (1989) et Oldfield (1959) ne mentionne pas le type de milieu de montage. Ceci peut aussi avoir un effet et potentiellement contribuer à des différences de taille entre les études.

6 DIFFERENCIATION DES ESPECES

Les résultats des analyses multivariées effectuées sur notre jeu de données a mis en évidence quatre groupes de pollens d'Ericaceae, dont les nuages de distribution restent tout de même relativement proches. Nous allons voir maintenant si les différentes espèces inclues dans les quatre groupes peuvent être discriminées, comment le modèle CART que nous avons établi les sépare et si les différentes clés de déterminations existantes présentent des correspondances.

La morphologie des grains de pollen de la famille des Ericaceae a fait l'objet de plusieurs études relativement anciennes. Certaines études ont traité de l'organisation en tétrade (Overbeck and Sante 1934, Oldfield, 1959 ; Paquereau, 1959, Visset, (1971 ; 1972 ; 1975 ; 1977)) ; alors que d'autres ont tenté d'établir des clefs de détermination en tenant compte des caractères morphologiques comme : la structure de l'exine, le système apertural ou l'ornementation (Oldfield, 1959 ; Mateus, 1989, Diez et Fenandez 1989 ; Ramil Rego *et al.* ,1992). Pour effectuer une comparaison des clefs de détermination du pollen d'Ericaceae, j'ai retenu les clefs des études suivantes, Diez et Fernandez (1989), Ramil Rego *et al*. (1992) et Mateus (1989). Ces études ont principalement porté sur l'ensemble des espèces analysées dans le cadre de mon travail.

6.1 Groupe 1 : *Calluna vulgaris, Corema alba*.

CALLUNA VULGARIS

Les critères les plus importants qui permettent de discriminer *Calluna vulgaris* dans l'ACP sont une organisation de la tétrade tant régulière qu'irrégulière mais aussi plane, la non présence de l'endocolpus, une ornementation uniforme verruquée et une petite taille incluant un diamètre de tétrade relativement faible et petite taille du duplicolpus. Quant à l'analyse CART, seulement deux critères discriminants sont utilisés : la non présence de l'endocolpus et le type d'ornementation verruquée. Dans ce modèle, l'agencement de la tétrade n'est pas utilisé comme critère permettant de différencier *Calluna vulgaris* alors qu'il s'agit du critère majeur le plus communément utilisé en routine au microscope optique. Les différentes clefs de détermination utilisent les mêmes critères mis en évidence par nos résultats : des tétrades pouvant être régulières,

irrégulières ou planes (Ramil Rego *et al*, 1992 ; Diez et Fernandez, 1989 ; Mateus, 1989) et un duplicolpus de petite taille ainsi que l'ornementation verruquée (Mateus, 1989).

COREMA ALBA

Corema alba se distingue comme *Calluna vulgaris* par un endocolpus non visible, un diamètre de tétrade relativement faible et un petit duplicolpus. Par contre, cette espèce montre une ornementation uniforme micro-verruquée. Pour CART, la non présence de l'endocolpus et une ornementation méso-aperturale micro-verruquée permet d'identifier cette espèce. La clef de détermination de Mateus (1989) fait aussi ressortir le critère duplicolpus court. Néanmoins, dans cette clé d'autres paramètres apparaissent discriminants mais ne sont pas ressortis dans notre analyse comme une exine fine et un diamètre de la tétrade entre 35 et 50 µm. Cela est dû au fait que les pollens que nous avons observés ne présentent pas ces caractéristiques.

Les deux espèces du groupe 1 se distinguent notamment par l'organisation de la tétrade. Néanmoins, la moitié des pollens de *Calluna vulgaris* présente une tétrade régulière comme *Corema alba*. Dans nos résultats l'ornementation apparaît comme le facteur discriminant pour les tétrades des deux espèces ayant la même organisation (ornementation uniforme vérruquée pour *Calluna vulgaris* et micro-verruquée pour *Corema alba*). Cependant, Mateus (1989) a montré que les grains de*Corema alba* pouvaient aussi présenter une ornementation verruquée, ce qui complique la distinction de ces deux espèces.

6.2 Groupe 2 : *Erica scoparia, Erica lusitanica, Erica arborea*

ERICA SCOPARIA

Les critères les plus déterminants dans l'ACP sont la présence d'une endoaperture, un duplicolpus droit, une ornementation meso-aperturale verruquée et polaire micro-verruquée, un diamètre moyen de la tétrade relativement petit (32.43 µm) et une longueur du duplicolpus moyen de 17.2 µm (long à moyennement long en fonction de la taille de la tétrade). Dans le modèle CART, la présence de l'endocolpus, une ornementation meso-aperturale verruquée et polaire micro-verruquée permet d'identifier cette espèce. Les principaux critères des clés de détermination sont ceux qui participent à la plus forte contribution des analyses multivariées et de CART à l'exception de la présence de l'endocolpus (ou visibilité de l'endocolpus au microscope optique) non utilisée dans les clés. En effet, les facteurs discriminants principaux sont l'ornementation, verruquée à micro-verruquée pour Mateus (1989) et verruquée pour Ramil Rego *et al*. (1992), la longueur du duplicolpus long à moyennement long pour Mateus (1989). Ramil Rego *et al*. (1992) ajoute comme autre facteur une taille de la tétrade comprise entre 35 et 40 µm. Néanmoins, comme nous

l'avons vu précédemment, notre étude confirme que le diamètre de la tétrade de *E. scoparia* est inférieur à 35 µm. Par conséquent, ce critère ne peut être considéré comme discriminant.

ERICA LUSITANICA

L'ACP montre une caractérisation d'*Erica lusitanica* par les critères suivants : un duplicolpus droit, une ornementation micro-verruquée et un diamètre de la tétrade de 40.49 µm de moyenne. Pour CART on retrouve la présence de l'endocolpus et une ornementation meso-aperturale micro-verruquée. Cette espèce se distingue difficilement des autres espèces du groupe 2. Cependant son ornementation spécifique micro-verruquée lui permet d'être séparé assez rapidement dans la classification de CART. Cette espèce n'a pas été étudiée par Mateus (1989) et Ramil Rego *et al*. (1992).

ERICA ARBOREA

Erica arborea est définie par un petit diamètre de la tétrade (29.27 µm en moyenne) et par un duplicopus droit et court (15.7 µm de moyenne), la présence d'une endoaperture et une ornementation verruquée. Le modèle CART sépare *Erica arborea* par la présence de l'endoaperture et son ornementation verruquée. *Erica arborea* est définie dans les différentes clés de détermination, Mateus (1989), Ramil Rego *et al*. (1992) et Diez et Fernandez (1989) par son ornementation verruquée et un petit diamètre de la tétrade.

Pour les espèces du groupe 2, nous retrouvons comme points communs : un endocolpus visible, le type d'ornementation verruquée ou micro-verruquée, un duplicopus droit et une organisation en tétrade tétraédrique. *Erica lusitanica* se distingue en plus d'*Erica arborea* et *Erica scoparia* par sa taille relativement élevée, bien qu'un échantillon d'*Erica arborea* (jaikibel 1B) présente des tétrades dans la même gamme de taille.

6.3 : Groupe 3: *Erica cinerea, Arbutus unedo, Erica ciliaris, Rhododendron ferrugineum*

ERICA CINEREA

Dans ce groupe, nous retrouvons *Erica cinerea* qui est associée par l'ACP à la présence d'une endoaperture, une ornementation polaire lisse et meso-aperturale scabrée et ou tessellée, un duplicolpus droit et micro-irrégulier, puis une distance inter-duplicolpi élevée (de 12.66 µm en moyenne) pour un grand diamètre de la tétrade (de 46.22 µm en moyenne). L'analyse CART utilise la présence de l'endocolpus et l'ornementation

zonale comme critères de séparation. La clé de détermination de Mateus (1989) utilise principalement des ornementations meso-aperturales lisses ou scabrées et polaires tessellées et/ou verruco-tessellées, une tétrade moyenne à très grande et inter-duplicolpi très grand qui apparaissent aussi comme les caractéristiques principales dans notre étude. Par contre, une exine fine apparaît comme un critère dans cette clé mais nos mesures ne le confirment pas. Un diamètre de la tétrade supérieur à 40 µm est utilisé comme facteur discriminant par Diez et Fernandez (1989) ce qui est en accord avec nos données mais retient comme autre critère une exine fossulée dans la zone méso-aperturale et lisse ou scabrée dans la zone polaire. L'étude de Ramil Rego *et al.* (1992) suggère que *E. cinerea* se distingue par une ornementation polaire lisse, scabrée ou verruquée et meso-aperturale verruquée et/ou verruco-tessellée et avec un diamètre de la tétrade compris entre 35 et 50 µm.

Nous retrouvons donc d'importantes correspondances pour les critères retenus de l'ACP et les clés de détermination qui sont ceux relatifs essentiellement à l'ornementation polaire, l'ornementation méso-aperturale présentant certaines variations entre les classifications, à la taille de la tétrade élevée et l'inter-duplicolpus important.

ARBUTUS UNEDO

Le pollen d'*Arbutus unedo* est défini par une tétrade régulière, un duplicolpus droit, une ornementation meso-aperturale perforée et/ou verruco-tessellée, une ornementation polaire lisse et par un grand diamètre de la tétrade de 49 µm. L'analyse CART utilise de même les critères qualitatifs suivant : la présence de l'endocolpus, une ornementation meso-aperturale perforée et polaire lisse. Les clés de détermination retiennent comme critères discriminants : une tétrade de 48 à 57 µm, une ornementation lisse ou perforée dans le cas de la clé de Diez et Fernandez (1989) et une ornementation polaire lisse ou scabrée et meso-aperturale scabrée et/ou tessellée pour Mateus (1989).

De même les critères apportant la plus forte contribution aux analyses multivariées se retrouvent dans les clés de détermination (ornementation, taille de la tétrade) avec cependant un bémol concernant les types d'ornementations qui varient légèrement d'une clé à l'autre et dans nos propres données.

ERICA CILIARIS

Erica ciliaris est principalement caractérisée par un duplicolpus droit et micro-irrégulier, la présence d'un endocolpus, et une ornementation polaire verruquée ou lisse mais aussi par un diamètre moyennement grand (39.86 µm en moyenne) et une distance inter-duplicolpi relativement élevée. Avec CART, seules

l'ornementation verruquéee ou lisse et la présence d'un endocolpus permettent d'identifier *Erica ciliaris*. Pour Diez et Fernandez (1989), l'ornementation granulée et une taille de la tétrade comprise entre 39 et 45 µm identifient *Erica ciliaris*.

Le diamètre et l'ornementation sont des critères communs aux méthodes analyses multivariées et clés de détermination, l'analyse CART n'utilisant pas quant à elle, le critère diamètre.

RHODODENDRON FERRUGINEUM

Cette espèce se distingue par un duplicolpus droit, la présence d'une endoaperture, une ornementation meso-aperturale verruco-tessellée, une ornementation polaire lisse et un diamètre de la tétrade moyen de 39.34 µm et une distance inter-duplicolpi élevée. L'analyse CART a fait ressortir les critères suivants pour classer *Rhododendron ferrugineum* : la présence d'une endoaperture, une ornementation meso-aperturale verruco-tessellée, une ornementation polaire lisse, une longueur de duplicolpus inférieure à 19 µm. Dans la clé de Diez et Fernandez (1989), les critères de détermination sont une ornementation meso-aperturale fossulée et polaire lisse ou scabrée, une tétrade de moins de 40 µm. De même les critères de diamètre et d'ornementation sont communs aux analyses multivariées et à la clé de détermination de Diez et Fernandez (1989). L'analyse CART n'utilise pas le diamètre de la tétrade pour sa classification.

Ce groupe est constitué de pollens de taille élevée accompagné en général d'une distance inter-duplicolpi élevée et une ornementation zonale. Il parait complexe de différencier le pollen des différentes espèces de ce groupe sauf par une identification précise des ornementations qui présentent néanmoins des variations d'une étude à l'autre.

6.4 Groupe 4: *Erica tetralix, Vaccinium myrtillus, Erica vagans, Daboecia cantabrica, Erica erigena*

ERICA TETRALIX

Le pollen d'*Erica tetralix* est caractérisé par un duplicolpus droit, un endocolpus non visible, une ornementation polaire tessellée et meso-aperturale verruco-tessellée et par un duplicolpus de taille élevée (21.31 µm en moyenne) et un diamètre de la tétrade moyennement grand (41.9 µm en moyenne). L'analyse CART utilise les critères endoaperture non présente, ornementation polaire tessellée et meso-aperturale verruco-tessellée et un diamètre de la tétrade supérieur à 38 µm. Seule la clé de détermination de Diez et Fernandez (1989) comprend *Erica tetralix*. Elle définit les critères suivants pour caractériser cette espèce: une tétrade de dimension inférieure à 47 µm et supérieure à 33 µm, une ornementation fossulée, une ectoaperture comprise entre 18 et 22 µm.

Nous retrouvons comme critères communs aux différents outils, une taille de la tétrade et du duplicolpus relativement grandes. L'ornementation apparaît encore différente entre Diez et Fernandez (1989) et notre étude.

VACCINIUM MYRTILLUS

Vaccinium myrtillus présente une tétrade tetraédrique avec un duplicolpus droit sans endocolpus visible, une ornementation meso-aperturale verruquée ou tessellée, une ornementation polaire verruquée ou lisse puis une longueur de duplicolpus relativement importante de 19.91 µm en moyenne et un diamètre de 37.84 µm en moyenne. La classification CART utilise les critères suivants : non présence de l'endocolpus et ornementation meso-aperturale rugulo-verruquée ou tessellée et polaire rugulo-verruquée ou lisse. Cette espèce apparaît dans plusieurs clés de détermination dont la clé de Mateus, où elle est caractérisée par une exine fine, une ornementation polaire lisse ou scabrée, une ornementation meso-aperturale tessellée ou verruco-tessellée et un diamètre entre 35 et 45 µm. Dans la clé de Ramil Rego *et al.* (1992), les critères discriminants sont une tétrade de diamètre de plus de 35 µm, une exine fine et des marges fines alors que dans celle de Diez et Fernandez (1989), ils sont une tétrade tétraédrique ayant un diamètre de tétrade inférieur à 47 µm, une ornementation granulée et polaire fossulée, une ectoaperture comprise entre 14 et 19 µm.

Les critères communs aux différentes classifications sont les mêmes que pour *Erica tetralix* soit un diamètre de la tétrade et une longueur du duplicolpus relativement grands avec encore une fois des différences notables d'ornementation.

ERICA VAGANS

Pour *Erica vagans*, nous avons observé une tétrade tétraédrique avec un duplicolpus droit, un endocolpus non visible et une ornementation polaire verruco-tessellée, un duplicolpus de longueur 16.12 µm en moyenne et un diamètre inférieur à 38 µm en moyenne. L'analyse CART utilise quant à elle comme pour la plupart des autres espèces classées les données d'endoaperture, non présente dans ce cas, et d'ornementation, verruco-tessellée en polaire polaire ainsi qu'un diamètre de la tétrade inférieur à 38 µm. *Erica vagans* est décrite dans la clé de détermination de Diez et Fernandez (1989) par une tétrade tétraédrique, un diamètre compris entre 33 µm et 47 µm, une ornementation fossulée et une ectoaperture dont la taille se situe entre 18 et 22 µm.

Les paramètres caractérisant *Erica vagans* communs dans les différentes classifications sont l'ornementation, taille de la tétrade et taille du duplicolpus. Néanmoins, nous remarquons une différence de taille d'ectoaperture (duplicolpus) et d'ornementation entre les données de Diez et Fernandez et nos données.

DABOECIA CANTABRICA

Le pollen de *Daboecia cantabrica* est défini par la forme de la tétrade (tétraédrique), un duplicolpus droit, la non présence de l'endocolpus, une ornementation meso-aperturale verruco-tessellée, une ornementation polaire lisse et par un diamètre de taille relativement petite (en moyenne de 30.71 µm) et une exine plutôt fine (2.1 µm en moyenne). L'analyse CART, quant à elle, utilise plus de critères pour classer *Daboecia cantabrica* que pour la plupart des autres espèces. Les critères discriminants sont les suivants : non présence d'un endocolpus, une ornementation polaire lisse, un diamètre inférieur à 35 µm et un angle inférieur à 147°. Pour la clé de détermination utilisée par Mateus, (1989), les critères les plus significatifs sont la taille du duplicolpus (court à très long), une exine fine, une ornementation polaire lisse ou scabrée et meso-aperturale scabrée ou tessellée, une tétrade mesocentrique ou ectocentrique. Pour la clé de Ramil Rego *et al.* (1992), *Daboecia cantabrica* est identifiée par un diamètre de taille inférieure à 35 µm, une organisation mesocentrique ou ectocentrique, une ornementation polaire lisse ou scabrée, meso-aperturale verruco-tessellée et une exine de taille 2 à 3 µm.

Les critères communs sont l'ornementation polaire lisse, une taille de la tétrade relativement petite, une épaisseur de l'exine fine. L'ornementation méso-aperturale reste variable d'une étude à l'autre. Le critère associé à un faible angle entre les grains dans notre étude est concordant avec l'organisation méso- à ectocentrique utilisée par Mateus (1989) et Ramil Rego *et al.* (1992).

ERICA ERIGENA

Pour *Erica erigena*, nous constatons la présence d'un duplicolpus droit et micro-irrégulier, la non présence de l'endocolpus, une ornementation polaire scabrée ou lisse, une ornementation meso-aperturale tessellée ou verruco-tessellée, un diamètre de 30.05 µm en moyenne et angle de 159 ° de moyenne. Pour CART, les critères discriminants sont encore une fois l'ornementation et le diamètre de la tétrade (inférieur à 35 µm) ainsi qu'un angle supérieur à 147°.

La clé de détermination de Mateus (1989) utilise les critères : exine fine, ornementation polaire scabrée ou lisse, une ornementation meso-aperturale tessellée ou verruco-tessellée, une tétrade endocentrique et une marge de largeur moyenne ou grande. La clé de Ramil Rego et al. (1992) sépare cette espèce par une tétrade

régulière et endocentrique, un diamètre inférieur à 35 µm et celle de Diez et Fernandez (1989), par une tétrade tétraédrique, une ornementation granulée et une tétrade de 27 à 30 µm.

Nous retrouvons comme points communs entre nos analyses et les clés de détermination, l'ornementation ainsi que le diamètre de la tétrade ainsi qu'une tétrade plutôt sphérique.

Ce groupe apparaît un peu plus hétérogène. Nous pouvons noter qu'*Erica tetralix* et *Vaccinium myrtillus* ont des tailles de pollen supérieures aux autres espèces du groupe. La taille de l'angle entre les grains dans CART permet de différencier *Daboecia cantabrica* et *Erica erigena.*

6.5 Conclusion

La comparaison de nos analyses avec les clés de détermination existantes a mis en évidence une relative correspondance entre les critères retenus pour les clés de détermination et les critères qui ressortent de l'ensemble des analyses multivariées. Par ailleurs pour les analyses CART, les critères retenus sont eux moins nombreux et correspondent toujours à ceux que l'on retrouve au sein des variables les plus contributives des analyses multivariées associés principalement à l'ornementation puis plus rarement au diamètre de la tétrade, la longueur du duplicolpus et l'angle entre les grains. On constate que dans nos analyses la présence (ou plutôt l'observation au microscope optique) de l'endocolpus est un critère déterminant qui n'a pas été identifié dans les autres études étant donné que la plupart utilise des observations MEB. L'ornementation apparaît quant à elle comme un critère discriminant majeur dans toutes les études. Or nous avons mis en évidence la grande variabilité de caractérisation de l'ornementation entre les études, remettant en cause l'identification pollinique de certaines espèces.

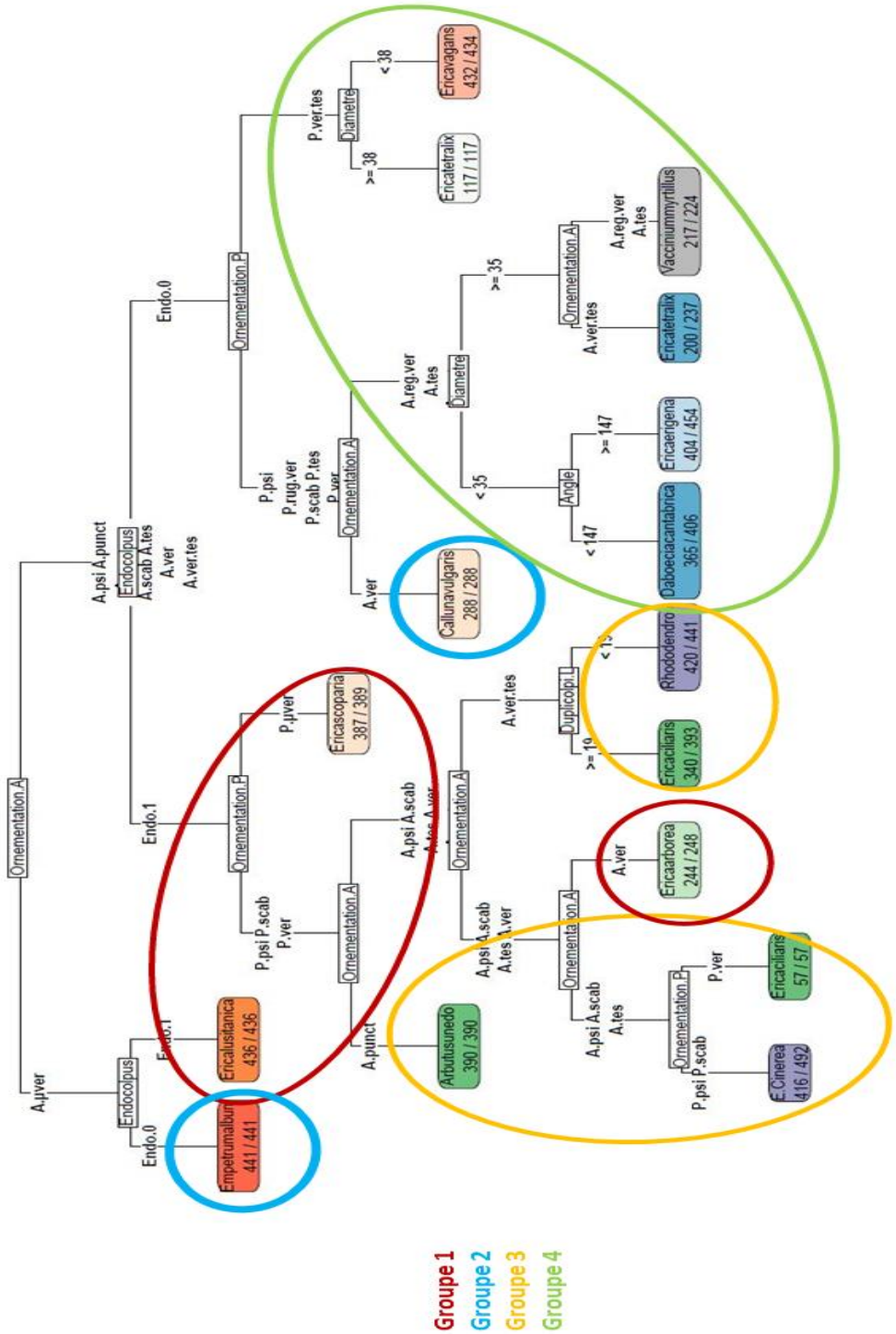


Fig 54: Analyse CART synthèse groupes d'espèces

CONCLUSION

Afin de caractériser le pollen de différentes espèces d'Ericaceae provenant du sud-ouest de la France, nous avons procédé à l'analyse de critères morphologiques relatifs à l'agencement des grains, au système apertural

et à la structure de l'exine. Un total de 7255 pollens appartenant à 14 espèces d'Ericaceae différentes ont été mesurés.

Cette étude a montré qu'aucun trait morphologique unique ne peut être utilisé pour distinguer le pollen des 14 espèces d'Ericaceae étudiées présentes principalement en Aquitaine. La morphologie du pollen de chaque espèce est très variable selon les caractères, avec un important degré de chevauchement des traits entre les espèces. Les principaux traits morphologiques qui apparaissent comme les plus discriminants sont la taille du grain, l'ornementation, la présence de l'endoaperture, la taille de la tétrade, l'angle, la longueur du duplicolpus.

La taille du grain a permis de constituer trois groupes, un de petite taille (inférieure à 35 µm), moyenne taille (de 35 à 50 µm), et grandes tailles (50 µm de taille moyenne). L'ornementation soit uniforme soit zonale permet aussi de distinguer des groupes d'espèces caractéristiques. Compte tenu des différentes terminologies employées, la prudence est toutefois recommandée pour la caractérisation des ornementations identifiées pour chaque pollen. La présence ou « l'absence » de l'endoaperture joue un rôle important comme élément de classification dans CART. Cet élément décisif n'apparaissait dans les clés de déterminations antérieures vu qu'une endoaperture est toujours observée au MEB. De façon similaire, l'utilisation du microscope optique pour nos analyses ne permet pas d'atteindre le niveau de caractérisation des ornementations possible avec le MEB mais fournit aux palynologues analysant des échantillons fossiles des critères applicables à leurs observations. La taille du duplicolpus est un élément quantitatif utilisé pour préciser la caractérisation de certaines espèces.

La modélisation CART en complément des différentes analyses multivariées utilisées montre qu'un seul caractère ne permet pas la séparation du pollen. Les analyses multivariées permettent quant à elles une classification par groupe d'espèces qui sont complémentaires de la classification de CART. Nous distinguons par cette méthode quatre groupes d'espèces, le premier groupe constitué par *Calluna vulgaris* et *Corema alba*, le second comprend *Erica scoparia*, *Erica lusitanica*, et *Erica arborea*, le troisième *Erica cinerea*, *Arbutus unedo*, *Erica ciliaris* et *Rhododendron ferrugineum*, le quatrième, *Erica tetralix*, *Vaccinium myrtillus*, *Erica vagans*, *Daboecia cantabrica* et *Erica erigena*. Nos analyses multivariées restent cohérentes en rapport avec les résultats des clés de détermination existantes, ceci malgré la mise en évidence de certains biais pouvant affecter les données dans ces clés. En effet, nous avons insisté dans l'étude de la nécessité de tenir compte d'un nombre de pollens, d'échantillons et de sites suffisants pour prendre en considération la variabilité intra-spécifique. Nos résultats par ailleurs ne montre pas de changement de taille du pollen 90 jours après traitement ce qui consolide la robustesse de nos mesures.

BIBLIOGRAPHIE

ALBOUKADEL KASSAMBARA and Fabian Mundt (2017). factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.5. https://CRAN.R-project.org/package=factoextra

ANDERSEN, S.T. (1960). Silicone oil as a mounting medium for pollen grains. *Danmarks Geologiske Undersøgelse Series* IV, 4, 1–24.

ANDERSON, M. J., & Santana-Garcon, J. (2015). Measures of precision for dissimilarity-based multivariate analysis of ecological communities. *Ecology letters*, *18*(1), 66-73.

AYTUG, B. (1960). Quelques mensurations des pollens de Pinus sylvestris L. *Pollen et Spores*, 2, 305–309.

BARTON, A., Nurse, A., Michaud, K., & Hardy, S. (2011). Use of CART analysis to differentiate pollen of red pine (Pinus resinosa) and jack pine (P. banksiana) in New England. *Quaternary Research, 75*(1), 18-23. doi:10.1016/j.yqres.2010.09.012

BECKER, B. J. (1988). Synthesizing standardized mean-change measures. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*, *41*(2), 257-278.

BEDINGER D. (1992). The Remarkable Biology of Pollen, *The Plant Cell*, Vol.4., 879-887.

BIRKS, H. H. (1993). "The importance of plant macrofossils in late-glacial climatic reconstructions: An example from western Norway: A contribution to the 'North Atlantic seaboard programme' of IGCP-253, 'Termination of the Pleistocene'." Quaternary Science Reviews **12**(8): 719-726.

Marjorie Blamey Christopher grey-Wilson (2003) *La flore d'Europe Occidentale*, , Flammarion,

BORG, I., & Groenen, P. J. Modern multidimensional scaling: theory and applications. 2005. *New York, NY*, *10013*.

BREIMAN, L., Friedman, J.H., Olshen, R.A., Stone, C.J.(1984). Classification and regression trees. Wadsworth, Belmont.

DAVID, V. (2017). *Traitement de données en sciences environnementales*. ISTE Editions.

DESPRAT S., Diaz Fernandez P.M., Coulon T., Ezzat L., Pessarossi-Langlois J., Gil L., Morales-Molino C., Sanchez-Goni M.F. (2015) Pinus nigra (European black pine) as the dominant species of the last glacial pinewoods in south-western to central Iberia: a morphological study of modern and fossil pollen, *Journal of Biogeography*, vol 42, issue 10, 1998-2009. doi: 10.1111/jbi.12566 .

DIEZ, M.J. and Fernandez, I. (1989). Identification of Spanish Ericaceae by pollen morphology. Pollen Spores 31: 215–227.

DRAY, S., & DUFOUR, A. B. (2007). The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of statistical software*, *22*(4), 1-20.

ERDTMAN. G. 1943. An introduction to pollen analysis. - Chronica Botanica Co., Waltham, Mass

ERDTMAN, G. 1952. Pollen hlorpliology and Plant taxonomy. Angiosperms. - Almqvist & Wiksell, Stockholm.

FAEGRI, K., & DEUSEOVERBECK £, P. (1960). Size variations in pollen grains with different treatments. *Pollen et spores*, *2*(2), 293-298.

FAEGRI K. et IVERSEN J.(1989), Textbook of pollen analysis, (4th edn by Faegri, K., Kaland, PE & Krzywinski, K.), Wiley, New York.

GOWER, J. C. “A General Coefficient of Similarity and Some of Its Properties.” *Biometrics*, vol. 27, no. 4 (1971), pp. 857–871. *JSTOR*, JSTOR, www.jstor.org/stable/2528823.

GUIRY, M. D., & Guiry, G. M. (2011). AlgaeBase. World-wide electronic publication, Nat. Univ. Ireland, Galway.

HUNTLEY, B. (1993). "The use of climate response surfaces to reconstruct palaeoclimate from Quaternary pollen and plant macrofossil data." Philosophical Transactions of the Royal Society of London B 341: 215-224.

HUNTLEY B. 2001. Reconstructing past environments from the Quatern-ary palaeovegetation record. Biology and Environment. Proceedings of the Royal Irish Academy 101B : 1–18.

IVERSEN, J., & Troels Smith, J. (1950). Pollenmorfologiske definitioner og typer. *Danmarks geol. unders*, *3*(8), 54.

JACKSON.ST et BOOTH RK (2007), Plant macrofossil methods and studies Validation of pollen studies, *Elsevier*, 2413-2422.

JULVE, P. H. (1998). Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. *Institut Catholique de Lille, Lille*.

JULVE, P. (2017). Baseveg. Répertoire synonymique des groupements végétaux de France. Version: 16 février 2015.

KIM, K. H., Nilsson, S., & Praglowski, J. (1988). A note on the pollen morphology of the Empetraceae. *Grana*, *27*(4), 283-290.

KRON, K.A., Judd, W.S., Stevens, P.F. et al. Bot. Rev (2002) 68: 335. https://doi.org/10.1663/0006-8101(2002)068[0335:PCOEMA]2.0.CO;2

LE, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of statistical software*, *25*(1), 1-18.

LINDBLADH, M., O'Connor, R., & Jacobson, G. L. (2002). Morphometric analysis of pollen grains for paleoecological studies: classification of Picea from eastern North America. *American Journal of Botany*, *89*(9), 1459-1467.

LINDBLADH, M., Brunet, J., Hannon, G., Niklasson, M., Eliasson, P., Eriksson, G., & Ekstrand, A. (2007). Forest history as a basis for ecosystem restoration—a multidisciplinary case study in a South Swedish temperate landscape. *Restoration Ecology*, *15*(2), 284-295.

MAKELA, E.M. (1996) Size distinctions between Betula pollen types – A review. Grana, 35, 248–256.

MASCLEF, A. (1987). Atlas des plantes de France. Ed. Belin, Vol 1 & 2.

MARTIN, H.A. (1969) The palynology of some Tertiary and later deposits in New South Wales . PhD Thesis, University of New South Wales, Sydney.

MATEUS J.E.(1989), Pollen morphology of Portuguese Ericales, *Revista de Biologia*, 14 : 135-208

MAY, L. & LACOURSE, T. (2012) Morphological differentiation of *Alnus* (alder) pollen from western North America. *Review of Palaeobotany and Palynology* 180, 15-24.

MELTSOV, V., Poska, A. & Saar, M. (2008) Pollen size in Carex: the effect of different chemical treatments and mounting media. *Grana*, 47, 220–233.

MOORE, P.D., Webb, J.A. & Collinson, M.E. (1991) *Pollen analysis.* pp. 216. Blackwell scientific publication, Oxford.

OLDFIELD F.(1959), The pollen morphology of some of the West European Ericales-Preliminary descriptions and a tentative key to their identification, *Pollen Spores* 1, 19-48.

PAGES, J. (2004). "Analyse Factorielle de Donnees Mixtes." *Revue Statistique Appliquee* 4: 93–111.

OVERBECK, H., & Sante, G. W. (1934). *Saar-atlas*.

PAQUEREAU M.M. (1959), Détermination générique et spécifique du pollen de quelques Ericacees, Extrait des P.-V. de la Société Linnéenne de Bordeaux 97, 1-7.

POTONIE, R. (1934). Zur Mikrobotanik des eocänen Humodils des Geiseltals. *Arbeiten aus dem Institut für Paläobotanik und Petrographie der Brennsteine*, *4*, 25-125.

R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

PRENTICE, C. (1988). Records of vegetation in time and space: the principles of pollen analysis. Vegetation history. B. Huntley and T. Webb. Dordrecht, Springer Netherlands**:** 17-42.

PUNT, W. (1994). Glossary of pollen and spore terminology. *LPP Contributions series*, *1*.

PUNT, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S., & Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*, *143*(1-2), 1-81.

RAMIL REGO P.(1992), J.A. Rodriguez, P.S. Otera, Clava polinica de las Ericaceae gallegas, *Lazaroa* 13 :33-40

REILLE (1990), Leçons de palynologie et d'analyse pollinique, A.Pons, Edtions du CNRS.

REITSMA (1969), Size modification of recent pollen grains under different treatments, *Review of Paleobotany and Palynology*, Volume 9, Issues 3–4, December 1969, Pages 175-202.

SARWAR (2007); Pollen morphology of Enkianthus (Ericaceae) and its taxonomic significance AHMED K. M. GOLAM SARWAR1 & HIDEKI TAKAHASHI, PHD.

SCHWERY, O, Onstein, R.E., Bouchenak-Khelladi, Y., Xing, Y., Carter R.J., Linder, H.P., (2015), As old as the mountains: the radiations of the Ericaceae, *New Phytologist Trust.*

SCHULER, L. & Behling, H. (2011). Poaceae pollen grain size as a tool to distinguish past grasslands in South America: a new methodological approach. *Vegetation History and Archaeobotany*, 20, 83–96.

THERNEAU, T.M., Atkinson, B., Ripley, B.(2009). Rpart: Recursive partitioning. R package. ttp://CRAN.R-project.org/package=rpart 2009Version 3.1-45.

TORGERSON, W. S. (1958). Theory and methods of scaling. Oxford, England: Wiley.

VISSET L. (1971). Quelques pollens actuels en microscopie electronique a balayage**.** *Compt. R. Hebd. Seances Acad*. Sci., D (Paris) 273. (11): 946-948 .

VISSET, L. (1972). Complements pour la determination au microscope electronique a balayage des Ericacees du Massif Amoricain. *Bull. Soc. Sci. Nat. Ouest France*, *70*, 13-16.

VISSET, L. (1975). Etude au microscope électronique à balayage des pollens des espèces européennes du genre Erica L. *Bulletin de la Société Botanique de France*, *122*(5-6), 203-211.

VISSET L. 1977. Les pollen d'Ericacées et la metallisaton par pulverisation cathodique. Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l4Ouest de la France 75: 35 –40.

YANG, S., Zheng, Z., Huang, K., Zong, Y., Wang, J., Xu, Q., Rolett, B.V. & Li, J. (2012) Modern pollen assemblages from cultivated rice fields and rice pollen morphology: application to a study of ancient land use and agriculture in the Pearl River Delta, China. The Holocene 22 , 1393 –1404

ANNEXES

Annexe 1.

Julve, Ph., 1998 ff. Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la Flore de France. Version [date de la version utilisée]. Programme Catminat. <http://perso.wanadoo.fr/philippe.julve/catminat.htm>

valence écologique (Julve 2005-2009)

L : lumière

1 : hypersciaphiles

2 : sciaphiles

3 : intermédiaires

4 : hémisciaphiles

5 : intermédiaires

6 : hémihéliophiles

7 : intermédiaires

8 : héliophiles

9 : hyperhéliophiles

T : Température

1 : alpines à nivales, altiméditerranéennes

2 : subalpines, oroméditerranéennes

3 : montagnardes

4 : collinéennes, psychroatlantiques

5 : planitiaires à montagnardes

6 : planitiaires thermophiles, thermoatlantiques, thermocontinentales, subméditerranéennes, supraméditerranéennes

7 : euryméditerranéennes, méditerranéo-atlantiques

8 : mésoméditerranéennes

9 : thermoméditerranéennes à subdésertiques

C : Continentalité

1 : marines à maritimes

2 : hyperocéaniques

3 : océaniques

4 : subocéaniques

5 : intermédiaires

6 : précontinentales

7 : subcontinentales

8 : continentales

9 : hypercontinentales

HA : Humidité atmosphérique

1 : aéroxérophiles

2 : intermédiaires

3 : aéromésoxérophiles

4 : intermédiaires

5 : aéromésohydriques

6 : intermédiaires

7 : aéromésohygrophiles

8 : intermédiaires

9 : aérohydrophiles

HE : Humidité édaphique

1 : hyperxérophiles (sclérophiles, ligneuses microphylles, réviviscentes)

2 : perxérophiles (caulocrassulescentes subaphylles, coussinets)

3 : xérophiles (velues, aiguillonnées, cuticule épaisse)

4 : mésoxérophiles

5 : mésohydriques

6 : mésohygrophiles

7 : hygrophiles (courtement inondables, en semaines)

8 : hydrophiles (longuement inondables, en mois)

9 : amphibies saisonnières (hélophytes exondés une partie minoritaire de l'année)

10 : amphibies permanentes (hélophytes semiémergés à base toujours noyée)

11 : aquatiques superficielles (0-50cm)

12 : aquatiques profondes (1-3m)

R : Réaction du sol (pH)

1 : hyperacidophiles

2 : acidophiles

3 : intermédiaires

4 : acidoclines (pH<5,5)

5 : intermédiaires

6 : neutroclines (pH>5,5)

7 : neutrophiles

8 : basophiles

9 : hyperbasophiles

N : Nutriments du sol
(surtout anions azotés et phosphatés, puis également cations potassiques)

1 : hyperoligotrophiles

2 : oligotrophiles

3 : intermédiaires

4 : mésooligotrophiles

5 : mésotrophiles

6 : mésoeutrophiles

7 : intermédiaires

8 : eutrophiles

9 : polytrophiles

S : Salinité (surtout Chlorures, également sodium),
modifié d'après Scherfose 1990 et Ellenberg & al. 1992

0 : ne supportant pas le sel

1 : hyperoligohalines, [0-0,1% Cl-]

2 : peroligohalines, [0,1-0,3% Cl-]

3 : oligohalines, [0,3-0,5% Cl-]

4 : mesooligohalines, [0,5-0,7% Cl-]

5 : mesohalines, [0,7-0,9% Cl-]

6 : mesoeuhalines, [0,9-1,2% Cl-]

7 : euhalines, [1,2-1,6% Cl-]

8 : polyhalines, [1,6-2,3% Cl-]

9 : hyperhalines, [>2,3% Cl-]

Tx : Texture du sol

1 : argile

2 : intermédiaire

3 : limon

4 : sable fin

5 : sable grossier

6 : graviers

7 : galets

8 : blocs, fentes des parois

9 : dalle

MO : Matière organique du sol et type d'humus

1 : lithosol, arénosol

2 : mull carbonaté

3 : mull actif

4 : mull acide

5 : moder

6 : mor, hydromor, xéromor

7 : ranker, tangel

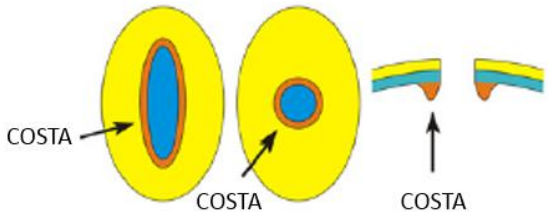
8 : anmoor, gyttja

9 : tourbe

Annexe 2 : Définition et illustration des termes palynologiques utilisés basés sur Punt et al,1994, 2007 et Mateus, 1989.

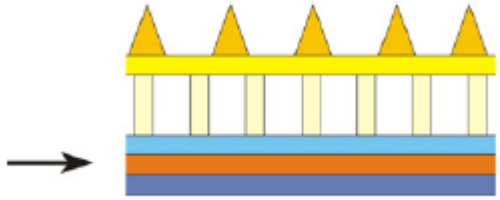
Canalis : Rainures résultant de l'absence locale de la couche de sexine 2.

Costa : Epaississement de la nexine / endexine bordant une endoaperture, ou suivant le contour d'une ectoaperture.

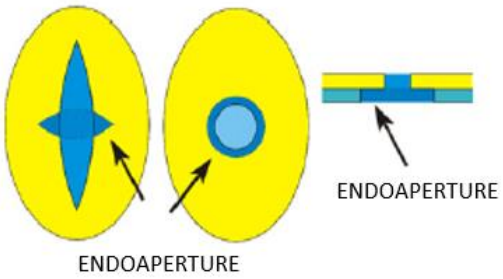


Duplicolpus (pluriel duplicolpi) : Synonyme de « double sillons» (Oldfield, 1959) ; double ectoaperture résultant de la congruance de deux ectocolpi partagés par deux grains dans la tétrade (fig 4).

Endexine : Partie interne de l'exine qui reste relativement non tachée avec la fuchsine de base au microscope optique et qui a une plus haute densité d'électrons des sections au Microscope Electronique à Transmission.



Endoaperture : Ouverture dans la couche interne du grain de pollen.



Exculpture : Modèle d'ornementation de la sexine résultant d'un système d'éléments sculpturaux positifs.

Exine : Couche externe de la paroi pollinique, très résistante aux acides et bases, composée principalement de sporopollénine.

Insculpture : Modèle d'ornementation de la sexine résultant d'un système d'éléments sculpturaux négatifs.

Microverrucate : Ornementation constituée de microverrucae (verruca de moins d'un micron).

Psilate : Décrit un pollen avec une surface lisse.

Punctae : Ornementation constituée de punctae (perforations, ou petites dépressions rondes de la sexine, de moins d'un micron de diamètre séparées unes à une par une distance plus grande que un micron).

Rugulo-verrucate : Sexine ornementation constituée de rugulae (verruca de voies latérales allongées dont la longueur est deux fois plus grande que la largeur).

Scabrate : Décrit des éléments d'ornementation de toute forme et dans toutes les directions, inférieures à 1 micron.

Sexine : Couche extérieure et sculptée de l'exine, située au-dessus du nexine.

Tesselate : Ornementation semi-tectate résultant de la présence d'un système de canalis et de tesselae (petite portion de la sexine entourée de canalis).

Tetrade : Terme général pour un groupe de quatre grains de pollen unis, soit en tant qu'unité de dispersion ou en tant que stade de développement (fig 4).

Vallis : Elément sculptural négatif constitué de dépressions superficiellement marquées résultant du modèle compressé des paquets d'éléments exculputuraux.

Verrucate : Elément de la sexine formé de verrues, larges de plus de 1 micron, plus larges qu'elles ne sont élevées et non contractées à la base.

Annexe 3: Résumé du nombre de pollen mesuré par espèces et par station et échantillon.

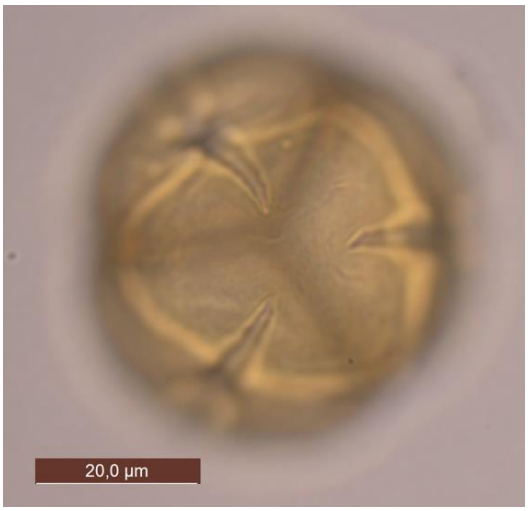
	Calluna vulgaris		*Arbutus unedo*		*Daboecia cantabrica*		*Erica arborea*		*Erica ciliaris*		*Erica cinerea*		*Erica erigena*	
Nombre de pollen mesuré par espèce	**384**		**567**		**586**		**325**		**655**		**554**		**577**	
Nombre de pollen mesuré par station	LaBrede	384	La Lagune	254	Aspe	327	Jaikibel	195	AA	130	Hostens	123	AB	577
			Pyla	313	La Rhune	129	Luzaga	65	BA	195	La Lagune	125		
					St Martin	130	Navacerrada	65	La Rhune	68	Pyla	61		
									St Aubin	262	site A	126		
											site B	119		
Nombre de pollen mesuré par échantillon	LaBrede1	64	LaLagune10	65	Aspe1	66	Jaikibel1	65	AA1	65	Hostens1A	61	AB11	65
	LaBrede2	64	LaLagune1A	63	Aspe3	65	Jaikibel1b	65	AA2	65	Hostens2A	62	AB13	64
	LaBrede3	64	LaLagune8	63	Aspe5	65	Jaikibel2	65	BA1	65	LaLagune1B	64	AB15	65
	LaBrede4	64	LaLagune9	63	Aspe7	65	Luzaga1A	65	BA2	65	LaLagune2	61	AB2	63
	LaBrede5	64	Pyla2	64	Aspe9	66	Navacerrada1	65	BA3	65	Pyla3	61	AB3	64
	LaBrede6	64	Pyla4	63	LaRhune11	65	AA1	0	LaRhune1A	68	siteA1	63	AB4	63
			Pyla5	63	LaRhune12	64			StAubin1A	65	siteA3	63	AB5	64
			Pyla6	61	StMartin1	65			StAubin1B	66	siteB1	62	AB7	64
			Pyla7	62	StMartin2AA	65			StAubin2	66	siteB2	57	AB9	65
									StAubin3	65				

	Erica lusitanica		*Erica scoparia*		*Empetrum album*		*Rhododendron ferruginum*		*Vaccinium myrtillus*		*Erica tetralix*		*Erica vagans*	
Nombre de pollen mesuré par espèce	**584**		**521**		**587**		**583**		**323**		**433**		**576**	
Nombre de pollen mesuré par station	BB	261	Hostens	455	CB	587	Bareges	193	Suscous	130	AC	123	D	256
	CA	65	Luzaga	66			St Martin	390	Iraty	129	Hostens	123	La Rhune	258
	LaTeste	258							Lac de Goude	64	La Rhune	125	St Martin	62
Nombre de pollen mesuré par échantillon	BB1	66	Hostens2B	66	CB15	66	StMartin3	130	Iraty1B	65	AC4	61	D1	65
	BB2	65	Hostens1B	65	CB1	65	Bareges1	63	Suscous2	65	AC5	62	D1B	63
	BB3	65	Hostens3A	65	CB13	65	Bareges2	65	Suscous3	65	BC2	62	D2	65
	BB4	65	Hostens4A	65	CB14	65	Bareges3	65	Iraty1A	64	Hostens3B	62	D3	63
	CA1	65	Hostens5	65	CB16	65	StMartin1A	65	lacdegoude1	64	Hostens4B	61	laRhune2	65
	LaTeste1	64	Hostens6	65	CB17	65	StMartin1B	65	AA1	0	laRhune10	63	laRhune4	65
	LaTeste10	64	Hostens7	64	CB18	66	StMartin2AB	65			laRhune7	62	laRhune5	65
	LaTeste3	65	Luzaga1B	66	CB2	65	StMartin2BA	65					laRhune9	63
	LaTeste7	65			CB20	65							StMartin2BB	62

Annexe 4 : Planche photo des espèces en vue polaire et équatoriale.

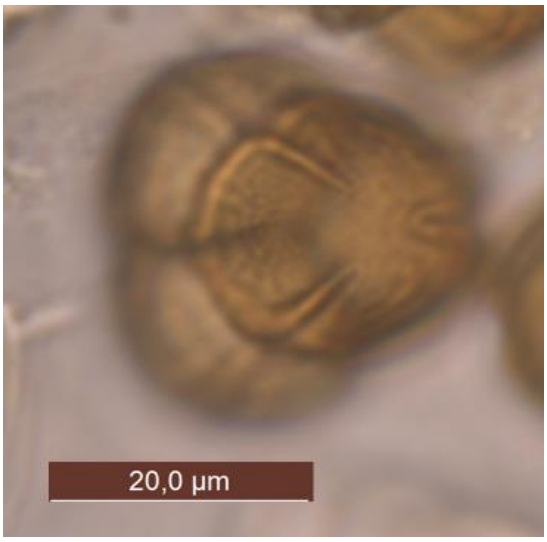
VUE EQUATORIALE

VUE POLAIRE

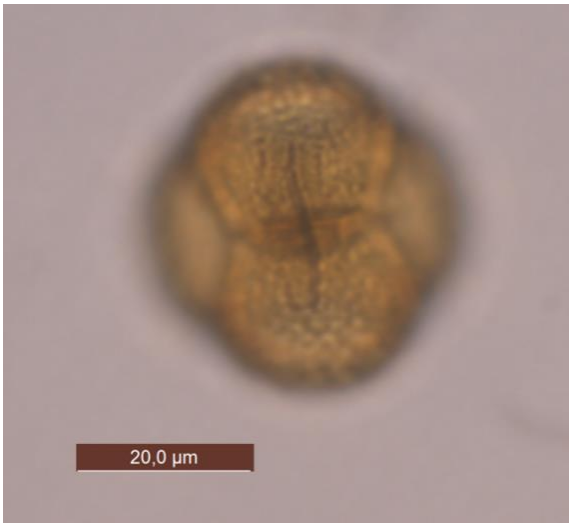


Arbutus unedo

Calluna vulgaris

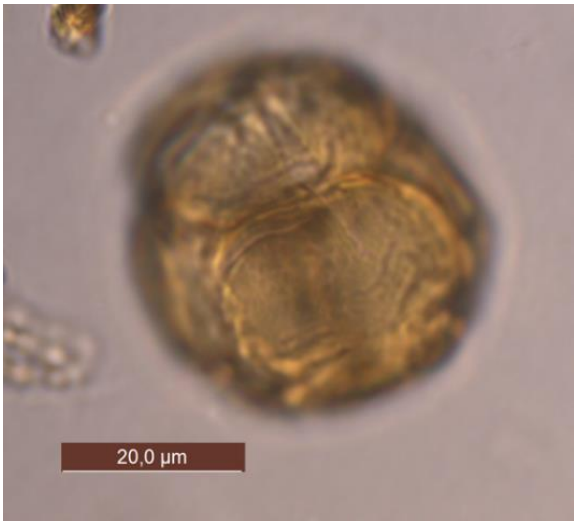


Daboecia cantabrica

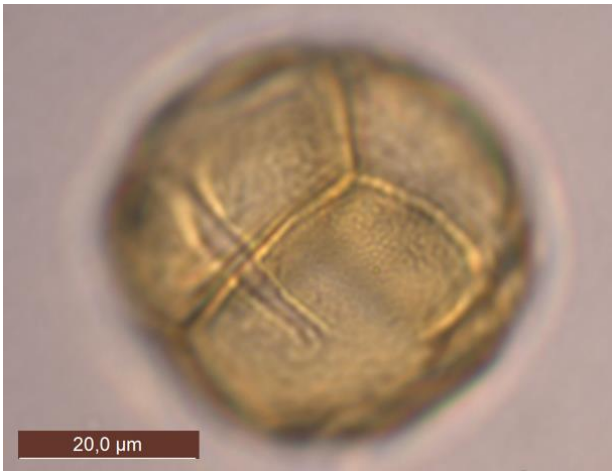


Empetrum album

Erica arborea

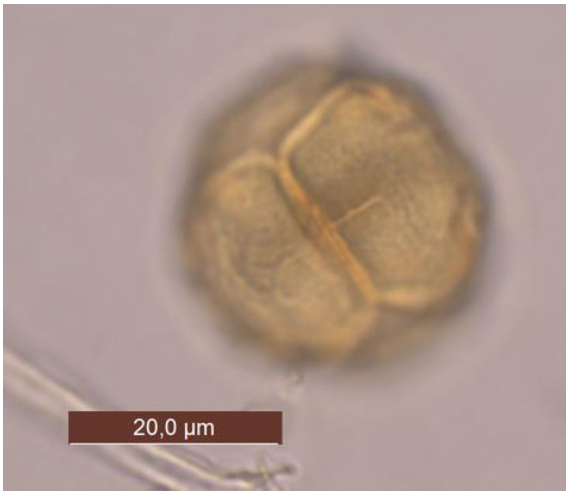


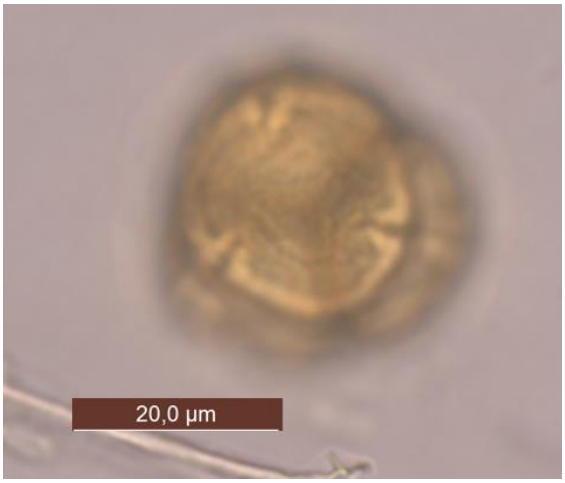
Erica ciliaris



Erica cinerea

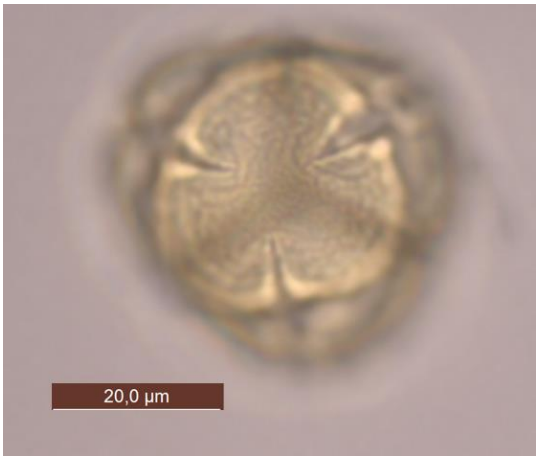
Erica erigena



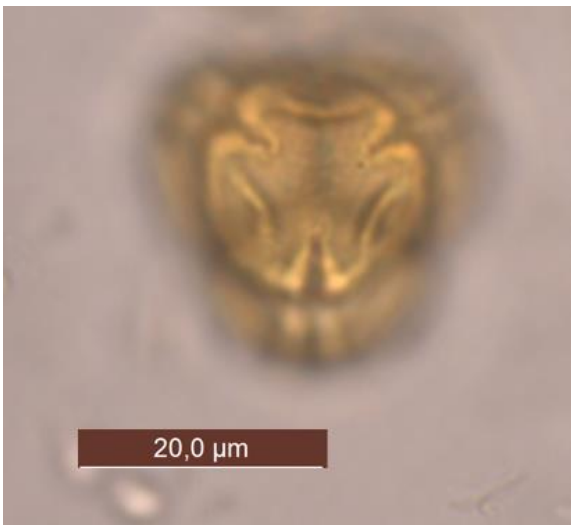


Erica lusitanica

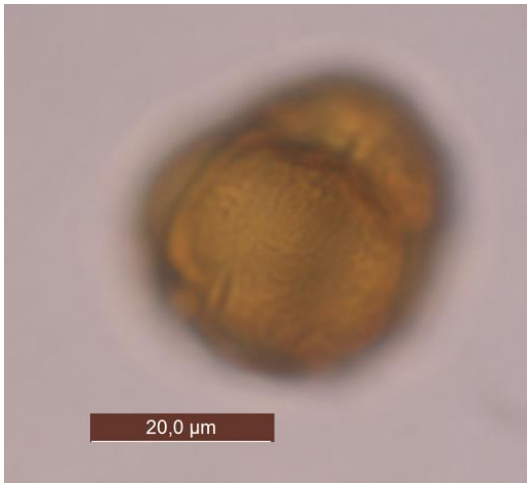
Erica scoparia



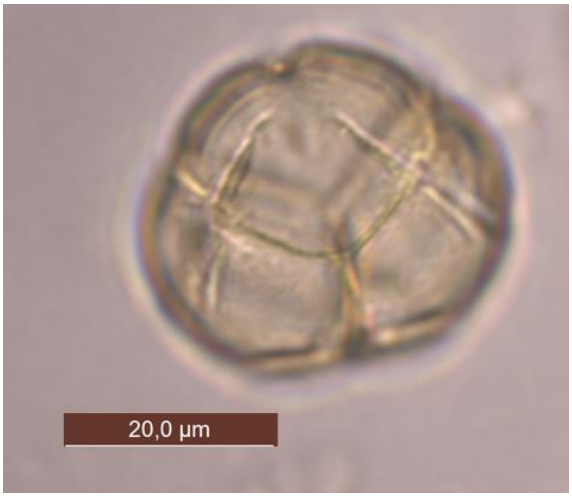
Erica tetralix



Erica vagans



Rhododendron ferrugineum

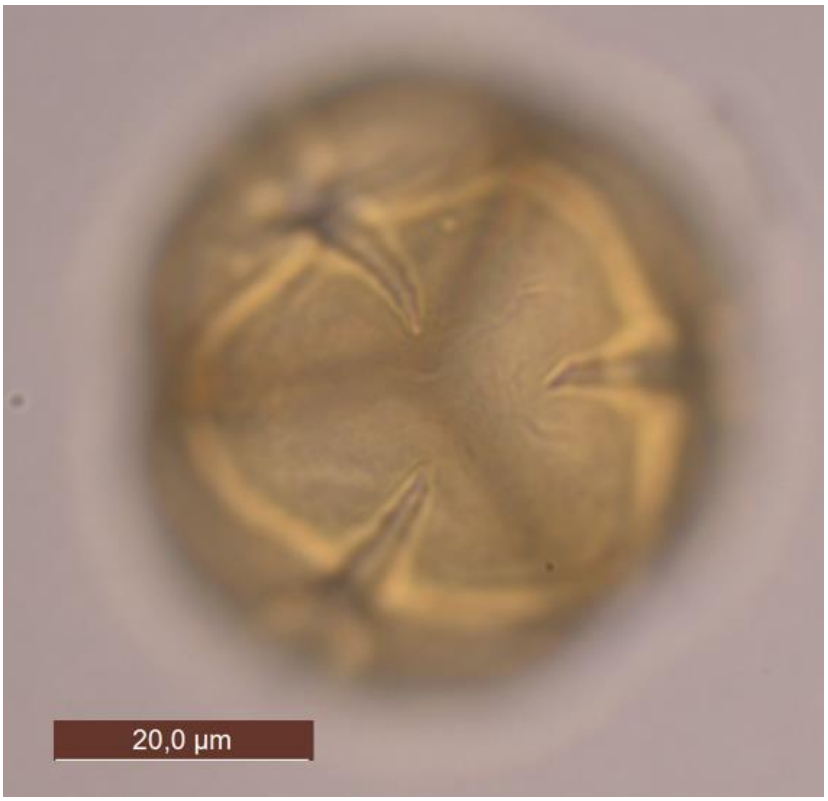


Vaccinium myrtillus

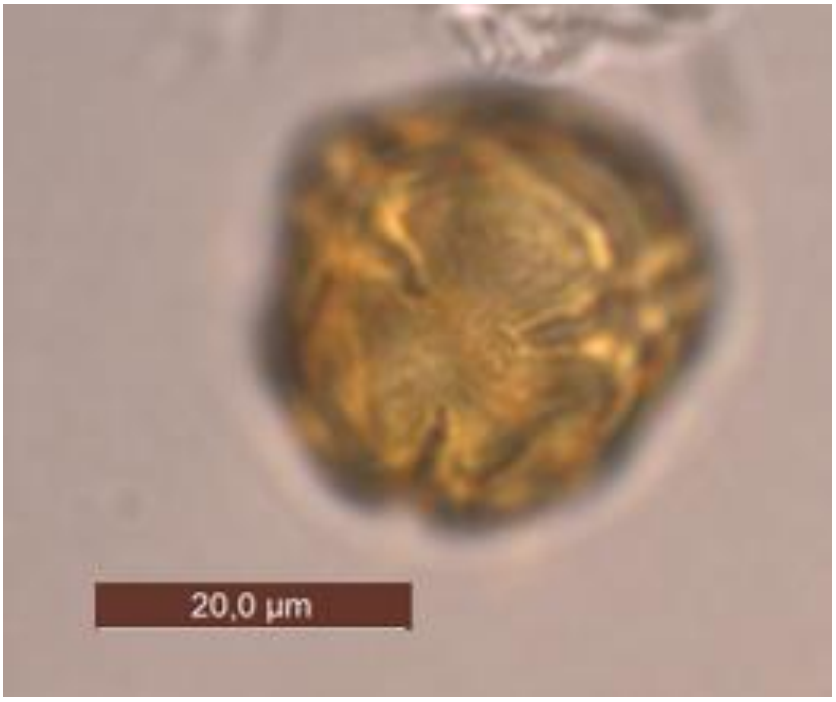
Annexe 5 : Ornementations des Ericaeae étudiées pour les zones polaires aperturales et meso-aperturales

ORNEMENTATIONS ERICACEAE

- **Ornementations polaires-aperturales**

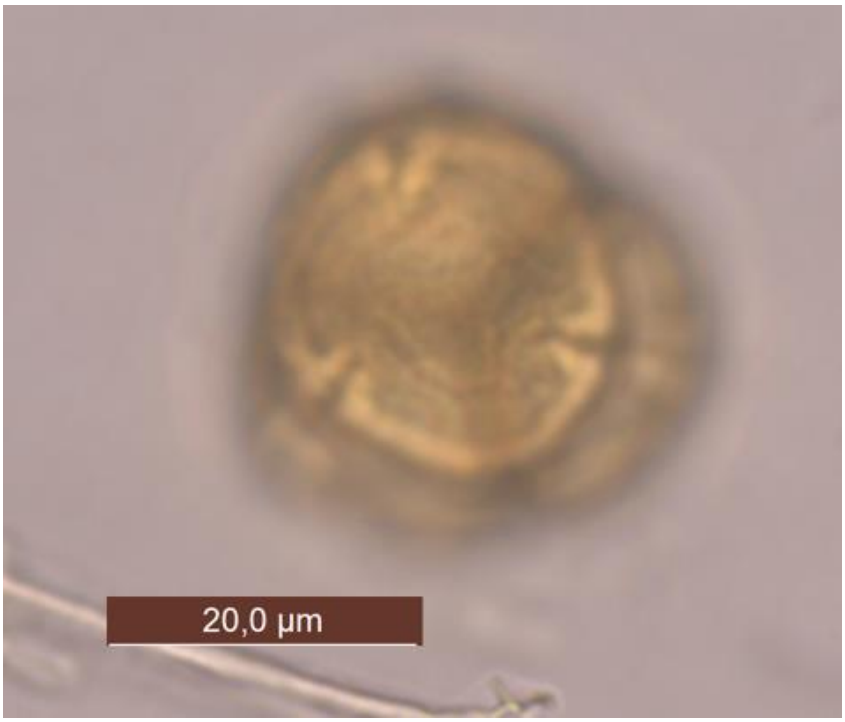


Lisse (*Arbutus unedo*)



Scabrée (*Erica erigena*)

Verruquée (Calluna vulgaris)

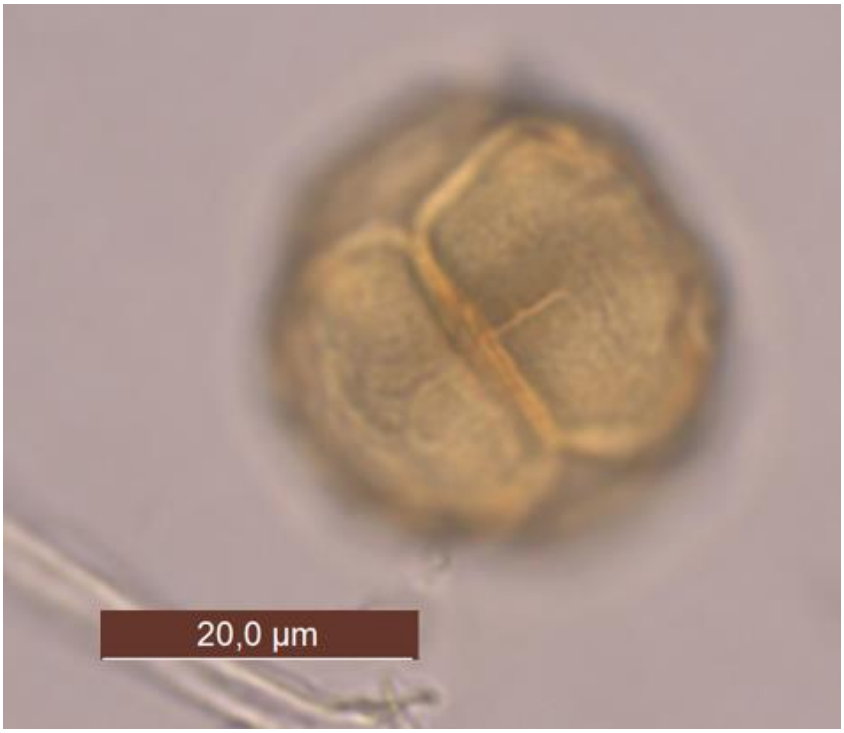


Microverruquée (Erica lusitanica)

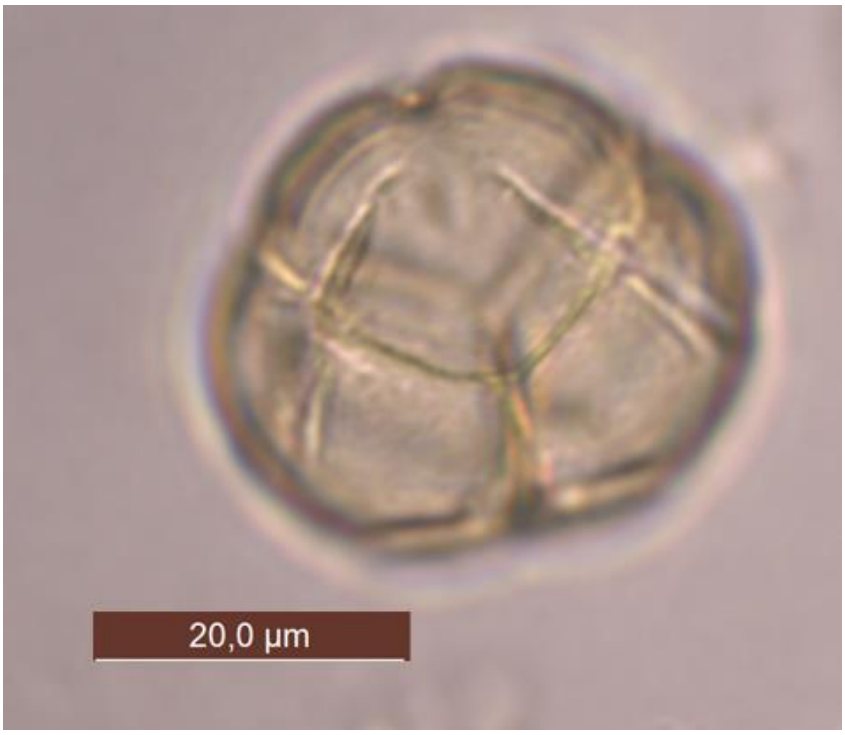
Rugulo-verruquée (Vaccinium myrtillus)

- **Ornementations meso-aperturales**

Verruquée (Erica scoparia)



Microverruquée (Erica lusitanica)



Rugulo-verruquée (Vaccinium myrtillus)

Verruquée-tesselée (Daboecia cantabrica)

Punctae (Arbutus unedo)

Annexe 6 :

Data summary

	TETRADE															EXINE					SYSTÈME APERTURAL																	
	Agencement des grains	Diamètre de la tétrade			Rayon de la tétrade			Rayon du grain			Angle entre les grains			Epaisseur de l'exine			Ornementation méso-aperturale	Ornementation polaire	Régularité du bord du duplicolpus	Distance inter-duplicolpi			Longueur du duplicolpus			Largeur du duplicolpus			Longueur de la marge du duplicolpus			Largeur de la marge du duplicolpus			Endocolpus
	Tetrade regulière	Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum				Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum	Minimum	Moyenne	Maximum	Endoaperture présente
Calluna vulgaris	**T.reg** *(T.irreg, plane)*	27,8	37,3	52,5	13,4	19,4	26,3	6,1	9,9	14,2	82,7	136,2	168,2	1,3	2,3	4,0	**A.ver**	**P.ver**	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	3,89	7,56	16,4	5,2	9,76	28,4	0	0,37	3,25	4,12	13	32,6	2,47	4,13	13,7	**Endo 0**
Empetrum album	**T.reg**	27,4	34,9	47,2	14,6	18,6	22,9	6,8	9,0	11,8	69,2	134,0	166,6	1,1	2,4	3,8	**A.microver**	**P.microver**	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	5,56	11,7	18,2	8,81	14,4	21,1	0,64	1,31	2,21	11,8	17,8	25	2,9	4,74	6,94	**Endo 0**
Erica arborea	**T.reg**	22,7	29,3	41,4	10,5	15,2	24,3	5,0	7,2	11,2	92,5	142,0	172,3	1,2	2,2	3,8	**A.ver**	**P.ver**	**dupli.dr**	4,26	7,66	12,1	10,7	15,7	25,4	0,54	1,21	2,45	13,7	18,5	28,4	2,32	4,26	6,67	**Endo 1**
Erica lusitanica	**T.reg**	28,4	40,5	52,8	13,6	20,7	28,4	6,3	9,9	14,0	90,8	141,1	166,3	1,2	**2,6**	4,7	**A.microver**	**P.microver**	**dupli.dr**	5,66	11,2	19,4	11,9	20	29,2	0,55	1,38	2,78	14,6	23,9	33,7	3,05	6,02	8,93	**Endo 1**
Erica scoparia	**T.reg**	25,9	32,4	40,9	12,4	16,5	22,1	5,4	7,7	11,4	105,2	141,9	172,4	1,3	2,3	3,6	**A.ver**	**P.microver**	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	4,88	8,49	13,3	11,2	17,2	24,5	0,68	1,33	2,27	15,3	20,4	28,3	3,45	5,07	7,09	**Endo 1**
Arbutus unedo	**T.reg**	40,3	**49,1**	57,9	20,6	**24,7**	31,7	7,8	11,5	**16,6**	114,1	151,4	171,6	0,6	2,2	4,2	**A.punct** *(A.ver.tes)*	**P.psi**	**dupli.dr**	7,17	12,2	20	16,6	**26,1**	37,7	0,73	1,59	3,61	21,6	**31,7**	42,2	3,85	6,21	10,2	**Endo 1**
Erica ciliaris	**T.reg**	27,7	39,9	48,5	15,8	20,3	25,3	7,0	9,8	15,3	97,6	140,3	169,8	1,1	2,3	3,8	**A.ver.tes** *(A.tes)*	**P.ver** *(P.psi)*	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	4,14	10,1	19,1	14,9	22,6	29,5	0,79	**1,88**	4,48	17,8	26,1	33	3,93	6,35	9,4	**Endo 1**
Erica cinerea	**T.reg**	30,3	46,2	59,6	13,7	23,7	30,4	6,4	**11,8**	16,9	114,9	150,9	174,5	0,5	2,1	4,3	**A.scab** *(A.tes)*	**P.psi** *(P.scab)*	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	6,7	12,7	25	11,9	23	33,1	0,69	1,67	4,1	15,5	28,5	38,8	2,56	**6,46**	11	**Endo 1**
Rhododendron ferruginum	**T.reg**	29,2	39,4	46,8	15,4	20,6	25,2	6,9	10,3	13,6	98,9	143,4	169,4	1,5	2,4	3,6	**A.ver.tes**	**P.psi**	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	7,33	**14,6**	20	8,76	15,8	22,7	0,85	1,83	3,42	13	19	25,9	3,55	5,84	8,85	**Endo 1**
Daboecia cantabrica	**T.reg**	21,9	30,7	40,4	10,7	16,4	35,6	4,3	7,8	10,7	75,4	129,7	166,4	1,2	2,1	3,2	**A.ver.tes**	**P.psi**	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	3,7	8,22	12,5	9,99	17,4	24,4	0,71	1,26	2,16	12,8	20	26,7	2,2	4,37	6,65	**Endo 0**
Erica erigena	**T.reg**	22,0	30,1	36,2	10,9	15,7	20,3	5,1	7,4	10,8	128,6	**159,4**	179,9	0,7	1,9	3,1	**A.ver.tes** *(A.tes)*	**P.scab** *(P.psi)*	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	3,99	7,5	13,1	9,22	16,6	23,1	0,31	1,13	2,67	13,7	21,1	27,6	2,68	4,98	8,25	**Endo 0**
Vaccinium myrtillus	**T.reg**	23,6	37,8	45,3	12,1	19,5	24,8	5,5	9,3	12,9	114,5	144,2	172,6	1,0	2,3	3,7	**A.rug.ver** *(A.tes)*	**P.rug.ver** *(P.psi)*	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	5,79	10,6	16	11,1	19,9	26,8	0,82	1,69	3,1	13,3	23,5	30,9	2,94	5,42	8,17	**Endo 0**
Erica tetralix	**T.reg**	33,6	41,9	51,8	16,1	21,4	26,8	7,4	10,4	14,0	81,5	133,5	163,1	0,9	2,0	3,1	**A.ver.tes** *(A.tes)*	**P.psi** *(P.ver tes, P.scab)*	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	7,08	11,8	17,4	11,2	21,3	30,5	0,62	1,86	4,08	14	25,7	34,8	3,61	6,09	10	**Endo 0**
Erica vagans	**T.reg**	20,8	29,4	37,3	11,4	15,2	19,9	5,5	7,5	10,5	65,3	124,9	165,1	1,0	1,7	3,1	**A.ver.tes**	**P.ver.tes**	**dupli.dr et** *dupli.irreg*	3,89	7,14	13,1	10,3	16,1	21,8	0,47	1,03	1,9	14,4	19,4	25,9	2,72	4,07	5,93	**Endo 0**

Annexe 7 : Clés de déterminations Mateus (1989) et Ramil Rego *et al.*(1992).

		ESPECES	critère qualitatif	critère quantitatif	Monotropa hypopitis type	Erica terminalis	Calluna vulgaris type	Arctostaphylos uva-ursi type	Rhododendron ponticum type	Corema album type (1)	Erica Australis type (1)	Arbutus unedo type	Arctostaphylos uva-ursi	Vaccinium myrtillus type	Erica umbellata type	Erica ciliaris	Daboecia cantabrica type	Erica erigena type	Erica mackaiana	Erica cinerea type	Rhododendron ferruginerum	Erica vagans y multiflora	Erica tetralix	Erica scoparia type	Erica australis type (2)	Erica arborea type (1)	Corema album type (2)	Erica arborea type (2)
		critères morpho																										
MATEUS (1989)	**1a.**	grains free Monotropa hypopitis type	X		x																							
	1b.	grains united **2.**	X				x	x	x	x	x	x		x	x		x	x		x				x	x	x	x	x
	2a.	Tetrad irregular; duplicolpi very short, 3,4 or 5 in each grain, verrucate Calluna vulgaris type	X	X			x																					
	2b.	Not this combinaison of characters **3.**						x	x	x	x	x		x	x		x	x		x				x	x	x	x	x
	3a.	Tetrad big or very big (D>35 microns), spheric endocentric tetrad, circular or ogival, ornementation scabrate to verrucate Arctostaphylos uva-ursi type	X	X				x																				
	3b.	Not this combinaison of characters **4.**							x	x	x	x		x	x		x	x		x				x	x	x	x	x
	4a.	Duplicolpi short to very short (D/p<3) **5.**		X					x	x	x																x	x
	4b.	Duplicolpi medium-short to very long (D/p>3) **9.**		X								x		x	x		x	x		x				x	x	x		
	5a.	Tetrad big or very big (D>35 microns) **6.**		X					x	x	x				x													
	5b.	Tetrad small or medium (D<35 micron) **18.**		X																							x	x
	6a.	Exine thick, lateral outline ogival circular, never facetted or elliptical; duplicolpi very short **7.**	X	X					x	x																		
	6b.	Exine very thin, outline of single grains facetted, elliptical or circular, but never ogival; duplicolpi never very short **8.**	X	X							x				x													
	7a.	Tetrad mesocentric to open endocentric; size very big (D>45 microns), polar-apertural zone psilate, mesoapertural zone smooth to scabrate Rhododendron ponticum type	X	X					x																			
	7b.	Tetrad mesocentric to ectocentric; size large to big (D<45 microns); lateral outline ogival, duplicolpi distinctly verrucate or microverrucate Corema album type (1)	X	X						x																		
	8a.	Ornementation verrucate or microverrucate Erica Australis type (1)	X								x																	
	8b.	Ornementation clearly zonated, poles (psilate or scabrate), mesoapertural zone (scabrate or tessellate) **10.**	X												x													
	9a.	Exine thin ; ornementation psilate or scabrate at the poles, never distinctly verrucate; scabrate or tessellate in the mesoapertural zone **10.**	X	X								x		x			x	x		x								
	9b.	Not this combianaison of characters **15.**																						x	x	x		
	10a.	Tetrad big, D>45 microns, endocentric closed; poles psilate, ornementation punctuate in mesoapertural zone; duplicolpi open (distinct margins); polar view triangular (single grain), apertures at the sides Arbutus unedo type	X	X								x																
	10b.	Mesoapertural zone tesselate or verrucate-tessellate **11.**	X											x	x		x	x		x								
	11a.	Tetrad usually big (45 microns >D>35 microns), very thin exine; duplicolpi short to medium-long Vaccinium myrtillus type		X										x														
	11b.	Not this combinaison of characters **12**													x		x	x		x								
	12a.	Tetrad usually ectocentric to mesocentric **13.**	X												x		x											
	12b.	Tetrad endocentric; costae medium to broad; endocanalis deep to moderately sunken, surrounding completely the costae **14**	X															x		x								
	13a.	Tetrad bigger than 35 microns, ectocentric to mesocentric, tetrad angles deep; duplicolpi long to very long (D/p>4,5) Erica umbellata type	X	X											x													
	13b.	Tetrad small or medium, usually less than 35 microns, endocentric open to mesocentric Daboecia cantabrica type	X	X													x											
	14a.	Tetrad small, occasionally medium, endocentric closed; lateral outline of single grains distincly ogival Erica erigena type	X	X														x										
	14b.	Tetrad medium to very big, endocentric; lateral outline circular or elliptical; duplicolpi short to very long, polar inner area can be small Erica cinerea type	X	X																x								
	15a.	Ornementation uniform, relatively smooth, usually a verrucato-tessellate pattern; tetrad mesocentric; duplicolpi long to very long **13**	X																									
	15b.	Ornementation uniform, clearly verrucate to microverrucate; tetrad endocentric open; duplicolpi short medium to long **16**	X	X																				x	x	x		
	16a.	Duplicolpi medium-long to long (D/p>4); ornementation a prominent verrucate patterns; poles salient resulting from an abrupt thickening of the exine at the poles Erica scoparia type		X																				x				
	16b.	Duplicolpi short to medium (D/p<4); ornementation verrucate to rugulato-verrucate exine thickness **17.**		X																					x	x		
	17a.	Tetrad big (D>35 microns); exine medium-thick to thin, lateral outline usually facetted; polar field with high density of elongated verrucae or microverrucae Erica australis type (2)	X	X																					x			
	17b.	Tetrad usually medium (D<35 microns); exine thick; polar field verrucate with a low density of elements Erica arborea type (1)	X	X																						x		
	18a.	Tetrad ectocentric to mesocentric; duplicolpi usually very short, lateral outline usually ogival, circumjuncteral endocanalis frequent and neat Corema album type (2)	X	X																							x	
	18b.	Tetrad usually endocentric open, duplicolpi very short to short; lateral outline of single grains circular, rarelly slightly ogival Erica arborea type (2)	X	X																								x

		ESPECES	critère qualitatif	critère quantitatif	Monotropa hypopitis type	Erica terminalis	Calluna vulgaris type	Arctostaphylos uva-ursi type	Rhododendron ponticum type	Corema album type (1)	Erica Australis type (1)	Arbutus unedo type	Arctostaphylos uva-ursi	Vaccinium myrtillus type	Erica umbellata type	Erica ciliaris	Daboecia cantabrica type	Erica erigena type	Erica mackaiana	Erica cinerea type	Rhododendron ferrugineum	Erica vagans y multiflora	Erica tetralix	Erica scoparia type	Erica australis type (2)	Erica arborea type (1)	Corema album type (2)	Erica arborea type (2)
		critères morpho																										
RAMIL REGO (1992)	1a.	Tetrade irregular. Granos individuales 3-4-5 colporados Calluna vulgaris					x																					
	1b.	Tetrada regular, 3-colporados 2									x	x			x		x	x		x				x	x	x		x
	2a.	vista polar triangulares, aperturas en los lados Arbutus unedo										x																
	2b.	vista polar nunca triangulares 3									x				x		x	x		x				x	x	x		x
	3a.	Diametro menor de 50 microns 4									x				x		x	x		xx				x		x		x
	3b.	Diametro mayor de 50 microns 14													x					x					x			
	4a.	Tetrada entre 35-50 microns de diametro 5.									x			x	x					x				x				x
	4b.	tetrada menor de 35 microns de diametro 10.															x	x		x						x		
	5a.	Contorno ectocentrico o mesocentrico. Angulos marcados. Granos c.o.e . circulares, ogivales, facetados Erica umbellata													x													
	5b.	Contorno endocentrico. Angulos poco notorios 6									x			x						x				x				x
	6a.	Ornementacion verrugada y/o cubierta por pequenas verrugas, nunca teselada 7									x													x				x
	6b.	Ornementacion verrugada. Zonada, psilada a psilada-escabrida en el area polar y teselada en la zona mesoapertural. 9												x						x								
	7a.	Diametro mayor de 40 microns. Diametro de los granos individuales menor de 30 microns Erica australis									x																	
	7b.	Diametro menor de 40 microns 8																						x				x
	8a.	Exina ensachada en los polos, en lateral gruesa capa polar que se continua con las costillas. Contorno lateral con los polos sobresalientes Erica scoparia																						x				
	8b.	Exina de grosor uniforme o gradualmente ensanchada hacia los polos. El contorno lateral, no presenta los polos sobresalientes Erica arborea																										x
	9a.	Ornementacion debil. Endoaperturas con margenes finos y difusos, extremos agudos. Exina entre 1-1.5 micron Typo polinico Vaccinum myrtillus												x														
	9b.	ornementacion burda y evidente. Margenes gruesos y notorios. Extremos mas o menos rectangulares, Exina de 2-2.5 microns Tipo polinico Erica cinerea																		x								
	10a.	Tetrada mesocentrica o ectocentrica 11.															x									x		
	10b.	Tetrada endocentrica 12.																x		x						x		
	11a.	Ornementacion zonada, area polar psilada o psilada-escabrida, zona mesoapertural verrugada-teselada. Exina entre 2-3 microns Daboecia cantabrica.															x											
	11b.	Ornementacion uniforme, verrugada. Endoaperturas, proximas a la pared interna de la tetrada. Exina entre 2-3 microns.																								x		
	12a.	Tetrada endocentrica cerrada. Granos de la base de la tetrada en c.o.e. ogivales Erica erigena type																x										
	12b.	Tetrada endocentrica cerrada o abierta. Granos de la base de la tetrada en c.o.e. nunca ogivales 13.																		x						x		
	13a.	Ornementacion uniforme, verrugada. Exina mayor o igual a 2.5 microns Erica arborea																								x		
	13b.	Ornementacion zonada, area polar psilada-escabrida. Zona mesoapertural verrugosa, con elementos teselados. Exina de 2-2.5 microns tipo Erica cinerea																		x								
	14a.	Contorno de la tetrada ectocentrico o mesocentrico. Angulos muy marcados. Granos c.o.e . circulares, ligeramente facetados Erica umbellata													x													
	14b.	Contorno de la tetrada endocentrico. Angulos poco notorios 15.																		x					x			
	15a.	Ornementacion uniforme, claramente verrugada , nunca con elementos teselatos Erica australis																							x			
	15b.	Ornementacion zonada, area polar psilado-escabrida o con verrugas. Zona mesoapertural verrugosa, con evidentes elementos teselados Tipo polinico Erica cinerea																		x								

		ESPECES	critère qualitatif	critère quantitatif	Monotropa hypopitis type	Erica terminalis	Calluna vulgaris type	Arctostaphylos uva-ursi type	Rhododendron ponticum type	Corema album type (1)	Erica Australis type (1)	Arbutus unedo type	Arctostaphylos uva-ursi	Vaccinium myrtillus type	Erica umbellata type	Erica ciliaris	Daboecia cantabrica type	Erica erigena type	Erica mackaiana	Erica cinerea type	Rhododendron ferruginerum	Erica vagans y multiflora	Erica tetralix	Erica scoparia type	Erica australis type (2)	Erica arborea type (1)	Corema album type (2)	Erica arborea type (2)
		critères morpho																										
DIEZ E FERNANDEZ (1989)	1a.	Polen en monadas *Erica terminalis*				x																						
	1b.	Polen en tetradas 2.					x		x		x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
	2a.	Tetradas irregulares o romboidales *Calluna vilgaris*					x																					
	2b.	Tetradas tetraédricas 3.							x		x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
	3a.	Con fibras de viscina *Rhododendron ponticum*							x																			
	3b.	Sin fibras de viscina 4.									x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
	4a.	Tetradas esferoidales 5.										x	x															
	4b.	Tetradas no esferoidales, mas o menos angulares o lobulados 6.									x			x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
	5a.	Tetrads de 48-57 microns; ectoaberturas de 28-31 microns y superficie psilado-punteada *Arbutus unedo*										x																
	5b.	Tetradas de 39-46 microns; ectoaberturas de 20-25 microns y superficie fosulada *Arctostatophylos uva-ursi*											x															
	6a.	Tetrada poco compacta; limite de los granos de polen muy marcadodo o contorno claramente lobilado *Erica umbellata*													x	x												
	6b.	Tetradas compacta o muy compacta: limite de los granos de polen poco marcado o contorno poco lobulado o sin lobulos 7.									x			x				x	x	x	x	x	x	x	x	x		x
	7a.	Tetradas de mas de 47 microns *Erica australis*									x														x			
	7b.	Tetradas de menos de 47 microns												x				x	x	x	x	x	x	x		x		x
	8a.	Ornementacion granulada, con los elementos ornementales claramente individualizados a modo de verrugas al MEB 9.														x								x		x		x
	8b.	Ornementcion granulada, con los elementos ornementales poco patentes al MEB, o fosulada 11.												x				x	x	x	x	x	x					
	9a.	Tetradas de 39-46 microns *Erica ciliaris y Erica andevalensis*														x												
	9b.	Tetrada de hasta 38 microns 10.																						x		x		x
	10a.	Elementos ornementales a modo de verrugas escabridas *Erica scoparia*																						x				
	10b.	Elementos ornementales a modo de verrugas psiladas *Erica arborea, Erica lusitanica, Daboeacia cantabrica*																								x		x
	11a.	Superficie con elementos ornementales poco patentes al MEB 12.																x	x									
	11b.	Superficie fosulada 13.												x						x	x	x	x					
	12a.	Tetradas de 27-30 microns *Erica erigena*																x										
	12b.	Tetradas de 35-42 microns *Erica mackaiana*																	x									
	13a.	Superficie fosulada en las mesoscopolias; psilada o escabrida alredor de las aperturas 14.																		x	x							
	13b.	Superficie claramente fosulada 15.												x								x	x					
	14a.	Tetradas de 40 o mas microns *Erica cineraea*																		x								
	14b.	Tetradas de menos de 40 microns *Rhododendron ferruginerum y Vacinum uliginosum*																			x							
	15a.	Tetradas de menos de 33 microns *Erica vagans y Erica multifliora*																				x						
	15b.	Tetradas de 33 o mas microns 16.												x									x					
	16a.	Fosulas muy densa : ectoaperturas de 18-22 microns *Erica tetralix*																					x					
	16b.	Fosulas muy dispersas; ectoaberturas de 14-19 microns *Vaccinum myrtillus*												x														

Annexe 8 : Coordonnées des stations

STATION	PAYS	LATITUDE	LONGITUDE	ESPECE	ACRONYME
LaLagune	France	44°32'	1°14'	Arbutus unedo	Arbu la Lagune
Pyla	France	44°35'	1°12'	Arbutus unedo	Arbu Pyla
LaBrede	France	44°40'	0°31'	Calluna vulgaris	Cal vul la Brede
Aspe	France	42°59'	0°36'	Daboecia cantabrica	Dabo Aspe
LaRhune	France	43°18'	1°38'	Daboeciacantabrica	Dabo La Rhune
StMartin	France	42°58'	0°47'	Daboeciacantabrica	Dabo St Martin
Hostens	France	44°29'	0°38'	E.Cinerea	E Cine Hostens
LaLagune	France	44°32'	1°14'	E.Cinerea	E Cine La Lagune
Pyla	France	44°35'	1°12'	E.Cinerea	E Cine Pyla
siteA	France	43°18'	1°38'	E.Cinerea	E. Cine Cestas
siteB	France	43°18'	1°38'	E.Cinerea	E. Cine La Rhune
CB	France	44°31'	1°15'	Empetrumalbum	Emp La Salie-Nord
Jaikibel	Espagne	43°22'	1°49'	Ericaarborea	E.Arbo Jaikibel
Luzaga	Espagne	40°58'	2°26'	Ericaarborea	E.Arbo Luzaga
Navacerrada	Espagne	40°43'	4°0'	Ericaarborea	E .Arbo Navacerrada
AA	France	44°44'	0°40'	Ericaciliaris	E.Cilia Balizac
BA	France	44°29'	0°26'	Ericaciliaris	E.Cilia Cestas
LaRhune	France	43°18'	1°38'	Ericaciliaris	ECilia La Rhune
StAubin	France	44°54'	0°43'	Ericaciliaris	E.Cilia St Aubin
StAubin	France	44°54'	0°43'	Ericaciliaris	E.Cilia St Aubin
AB	France	44°44'	0°40'	Ericaerigena	E.Eri St Sauveur
BB	France	44°44'	0°40'	Ericalusitanica	E Lusi Cestas
CA	France	44°44'	0°40'	Ericalusitanica	E.Lusi Cestas
LaTeste	France	44°38'	1°9'	Ericalusitanica	E.Lusi La Teste
Hostens	France	44°29'	0°38'	Ericascoparia	E Sco Hostens
Luzaga	Espagne	40°58'	2°26'	Ericascoparia	E.Sco Luzaga
AC	France	44°44'	0°40'	Ericatetralix	E.Tetra Balizac
BC	France	44°29'	0°26'	Ericatetralix	E.Tetra Cestas
Hostens	France	44°29'	0°38'	Ericatetralix	E.Tetra Hostens
laRhune	France	43°18'	1°38'	Ericatetralix	E.Tetra La Rhune
D	France	44°24'	0°17'	Ericavagans	E.Vag Pompejac
laRhune	France	43°18'	1°38'	Ericavagans	E.Vag La Rhune
StMartin	France	42°58'	0°47'	Ericavagans	E.Vag St Martin
Bareges	France	42°53'	0°3'	Rhododendron	Rhodo Bareges
StMartin	France	42°58'	0°47'	Rhododendron	Rhodo St Martin
Iraty	France	42°59'	1°4'	Vacciniummyrtillus	Vacci Iraty
lacdeGoude	France	42°49'	0°8'	Vacciniummyrtillus	Vacci Lac de Gaube
Suscous	France	43°01'	0°45'	Vacciniummyrtillus	Vacci Irubelakakoa