

La conservation *ex situ* au Conservatoire botanique national méditerranéen de Porquerolles

Lara DIXON

*Conservatoire botanique national méditerranéen de Porquerolles, 34 avenue Gambetta,
83400 Hyères, France.*

Contact : l.dixon@cbnmed.fr

Résumé. Cette note brève décrit les protocoles utilisés pour la récolte, la conservation et la germination des semences des espèces végétales présentes en banque de semences au Conservatoire botanique.

Mots-clés : espèces végétales, récolte, semences, germination, conservation, *ex situ*.

Abstract. *Ex situ* conservation at the National Mediterranean Botanical Conservatory of Porquerolles. This short note presents protocols for harvest, storage and germination of plant species' seed stored in the seed bank at the Botanical Conservatory.

Keywords: plant species, harvest, seeds, germination, conservation, *ex situ*.

Le Conservatoire botanique national méditerranéen de Porquerolles (CBNMed) est un service du Parc national de Port-Cros. Il a été créé le 15 février 1979 par arrêté ministériel et a été agréé Conservatoire botanique national en 1990. Les missions du Conservatoire, définies par l'article L414-10 du code de l'environnement, sont de faire évoluer la connaissance par l'intermédiaire d'inventaires de la flore sauvage (indigène et exotique) et des habitats naturels sur son territoire d'agrément, de favoriser la conservation des espèces végétales menacées, rares, endémiques, protégées par la loi mais également les espèces à responsabilité patrimoniale; l'une des missions est également la diffusion de l'information auprès des différents acteurs et la mise à disposition de ses compétences en expertise des milieux naturels auprès des collectivités territoriales et des services de l'État.

Le territoire d'agrément du CBNMed s'étend sur l'ensemble de la région méditerranéenne française continentale et comprend les quatre départements méditerranéens de la Région Provence-Alpes-Côte d'Azur (Alpes-Maritimes, Bouches-du-Rhône, Var et Vaucluse) ainsi

que la Région Languedoc-Roussillon (Aude, Gard, Hérault, Lozère et Pyrénées-Orientales).

Le pôle conservation du CBNMed est composé de deux entités, la conservation *in situ* (en milieu naturel) et la conservation *ex situ* (en dehors du milieu naturel) par l'intermédiaire de collections variétales et d'une banque de semences. La conservation *ex situ* est essentielle dans certains cas notamment pour les espèces rares et menacées afin de les préserver d'une éventuelle disparition. Depuis 37 ans, le CBNMed conserve des semences d'espèces végétales patrimoniales de la région méditerranéenne française dans une banque de semences située sur l'île de Porquerolles. À l'heure actuelle le Conservatoire possède plus de 1 800 espèces. Cette banque de semences est alimentée tous les ans par de nouvelles récoltes de graines faites en milieu naturel sur l'ensemble du territoire d'agrément. Ces récoltes sont échantillonnées avec précision en couvrant au maximum la répartition des stations de l'espèce.

Protocole de récolte de graines pour la conservation *ex situ* des semences

Pour assurer la pérennité de l'espèce dans l'espace et dans le temps, lors de la récolte des semences, il est important de respecter quelques règles simples.

Avant tout, la récolte des espèces protégées est règlementée par la loi, elle est donc réservée au personnel du CBNMed et aux personnes déléguées par le Conservatoire botanique pour alimenter la banque de semences.

Avant la récolte

Dans certains cas, notamment pour les espèces difficilement identifiables en graines, il est nécessaire de se rendre sur la station lorsque l'espèce est en fleur afin de repérer précisément la localisation des individus. Ces visites préliminaires vont permettre également d'estimer la date de maturité des graines et donc de fixer une date de récolte (Bacchetta *et al.*, 2006).

La récolte

Les semences récoltées doivent être mises dans un **sachet en papier** (ou une enveloppe) minutieusement fermé par un ou plusieurs trombones ou agrafes. Il faut s'assurer qu'il n'y a pas de possibilité de fuite par les plis du sachet, sinon les obturer en repliant le papier et en agrafant les plis. En fonction de la taille des graines, il est préférable d'éviter les surfaces collantes afin qu'elles ne s'y fixent pas.

Sur ces enveloppes, il faut noter les informations suivantes :

- Nom de l'espèce
- Lieu (commune et lieu-dit) et/ou pointage GPS
- Date de récolte
- Nom du récolteur
- Nombre de pieds sur lesquels la récolte a été effectuée
- Estimation du nombre de pieds de la localité de récolte
- État d'avancement phénologique (début/pleine/fin de fructification)

Si une **même espèce** est récoltée dans plusieurs localités, elle fera l'objet de **plusieurs enveloppes** et chaque enveloppe possèdera les informations ci-dessus avec un nouveau pointage GPS.

Ces enveloppes doivent arriver assez rapidement à la banque de semences pour que les graines puissent être nettoyées et/ou placées en dessiccateur afin de ne pas commencer le processus de vieillissement, d'éviter le développement de champignons et d'écartier les éventuels parasites. Le cas échéant, il faut mettre les enveloppes dans un **endroit frais**, bien **ventilé** et **ombragé** (Rao *et al.*, 2006).

Les graines doivent être récoltées mûres et de préférence encore fixées sur la plante (mais presque prêtes à la dispersion, elles doivent se détacher facilement).

Quand cela est possible, il faut récolter les graines **avec le fruit** pour ne pas interrompre le procédé de maturité physiologique. Cependant le fruit peut paraître mûr alors que les graines ne le sont pas. Si le fruit est charnu, il faut les trier le plus rapidement possible sinon le risque de pourriture est alors très fort.

Si l'identification de la plante n'est pas sûre, prélever un échantillon d'**herbier** suffisamment grand pour que les botanistes du CBNMed puissent l'identifier.

La quantité nécessaire

Pour ne pas menacer l'espèce récoltée, il est important de ne pas prélever plus de **20 %** des graines mûres pour les espèces annuelles (Bacchetta *et al.*, 2006). Pour les espèces vivaces, le nombre de graines récoltées peut être un peu plus important que pour les annuelles.

Cependant afin d'exploiter au mieux les récoltes, il est nécessaire d'avoir une quantité de graines suffisante pour une conservation en banque de semences et la réalisation de tests de germination. Pour réaliser un test de germination, le CBNMed a besoin d'un minimum de **100 graines**. Si cette quantité n'est vraiment pas disponible, il est

possible d'en récolter moins à partir du moment où il y a au minimum 10 graines. Ces récoltes permettront d'agrémenter la photothèque semences en attendant des années plus productives permettant ainsi une meilleure récolte.

Si la récolte n'est pas possible pour différentes raisons (aucune graine viable, aucune graine présente sur la plante à cause de conditions météorologiques défavorables, etc.), il s'agit quand même d'une donnée d'observation flore qui nous renseignera sur la possibilité de récolter cette espèce les années suivantes. Si cette espèce est une espèce à statut et que la conservation *ex situ* s'avère difficile, il faudra développer ou favoriser des protections *in situ*.

Conservation

Une fois la récolte effectuée, les graines sont conservées en banque de semences selon trois méthodes, la congélation (-23°C), la lyophilisation (ultra-dessiccation) et la chambre froide (5°C). La longévité des graines peut varier en fonction des conditions naturelles et il est donc important qu'elles soient conservées dans des conditions stables afin d'en limiter le vieillissement et ainsi assurer leur conservation sur le long terme.

Dans le cadre de la gestion de cette banque de semences, le CBNMed réalise des tests de germination afin d'évaluer la viabilité des graines qu'il conserve. Les essais de germination permettent de définir le comportement germinatif d'une espèce, de s'assurer de la viabilité du lot et de produire des plants nécessaires à des renforcements de populations et des réintroductions. Il existe deux types de tests, les **tests de viabilité** qui sont réalisés sur les graines fraîches et les **tests de germination** qui sont effectués sur les graines tout au long de leur conservation. Ces derniers permettent de connaître l'évolution au cours de la conservation de la capacité germinative des graines constituant le lot et de mettre ainsi en évidence un éventuel effet de la méthode de conservation utilisée.

Avant chaque test, des recherches bibliographiques rapides sur l'espèce sont faites pour trouver des informations sur d'autres expérimentations de germination. Si cette information n'est pas disponible, il faut chercher au niveau du genre, de la famille d'espèces ayant les mêmes conditions écologiques. Si l'espèce a déjà été testée au Conservatoire, les tests ayant le plus grand pourcentage de germination seront réutilisés sur graines fraîches et graines conservées pour établir la viabilité du lot.

Tests de viabilité sur graines fraîches

- Si l'espèce a déjà été étudiée au Conservatoire, elle sera testée selon le protocole optimal défini lors des derniers tests de germination (Fig. 1).

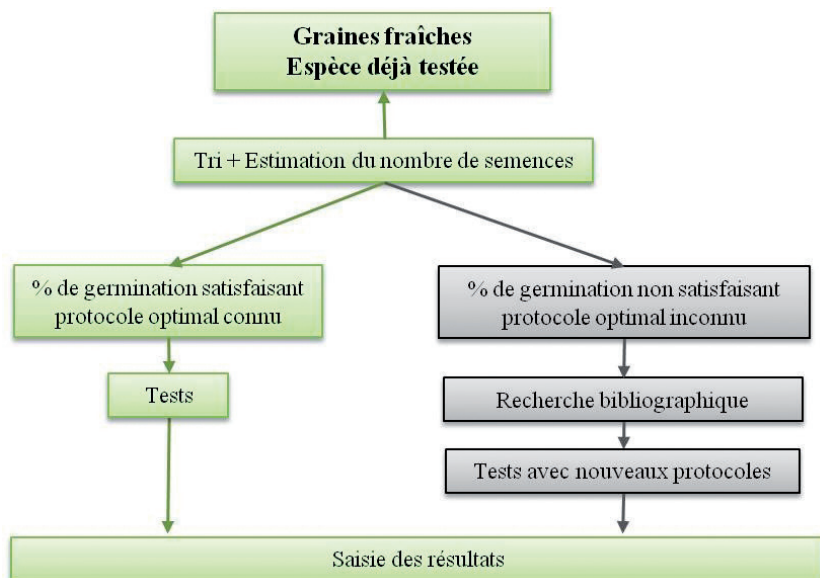


Figure 1. Protocole sur graines fraîches d'une espèce déjà testée.

- S'il s'agit d'une nouvelle espèce ou d'une espèce n'ayant jamais fait l'objet de tests de germination au Conservatoire, une recherche bibliographique rapide est nécessaire (Fig.2). Dans la majorité des cas les premiers tests réalisés sur le lot sont des essais en conditions standards :
 - Nombre de semences utilisées : généralement 140 en fonction de la taille du lot,
 - Support utilisé : boîte de Pétri avec du papier-filtre (filtre à café Melitta N°1, ø94 mm) imbibé d'eau déminéralisée,
 - 7 modalités de température et de lumière : 5°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, alternance 12h à 10°C/12h à 20°C à l'obscurité et une alternance 12h à 10°C obscurité/12h à 20°C lumière.
- Durée : en fonction des espèces.

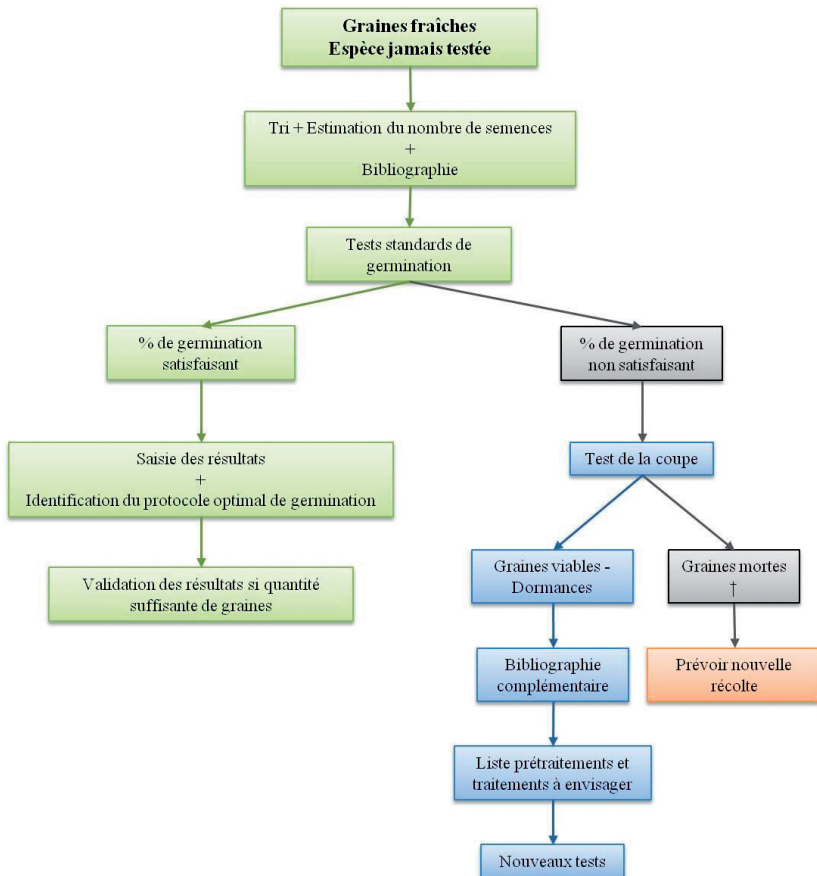


Figure 2. Protocole sur graines fraîches d'une nouvelle espèce.

- Selon les résultats obtenus lors de ces premiers tests, on peut évaluer les capacités germinatives du lot. Si les semences ont peu ou pas germé, plusieurs hypothèses sont possibles :
 - Graines non viables (visible en observant l'embryon suite à la coupe de la graine). Dans le cas où les semences sont mortes pendant le test suite à une infection fongique, les graines utilisées pour les prochains tests pourront être désinfectées avant la mise en boîte de Pétri.
 - Graines dormantes (dormance physiologique ou morphologique). Dans ce cas, il est nécessaire d'appliquer un prétraitement (stratification chaude ou froide, scarification, etc.) avant les prochains essais de germination.

Tests de germination sur graines en cours de conservation

- Pour les lots sur lesquels des tests de germination ont été réalisés et dont les pourcentages de germination sont satisfaisants, seul le protocole optimal de germination est appliqué (Fig. 3). Ces tests devraient être effectués, en théorie tous les 3 ans mais, dans la pratique, la quantité de graines des lots est souvent trop faible pour permettre des tests aussi réguliers, c'est pour cette raison que les semences sont testées lors de demandes spécifiques ou bien tous les 5 à 10 ans.
- Pour les lots sur lesquels des tests de germination ont été réalisés mais dont les pourcentages de germination ne sont pas satisfaisants, il s'avère alors nécessaire d'effectuer de nouveaux prétraitements et traitements et donc de réaliser de nouveaux protocoles (Fig. 3).
- Les lots n'ayant jamais fait l'objet de tests sont traités comme dans le cas de graines fraîches (Fig. 2) en prenant en compte un éventuel effet de la méthode de conservation lors de l'interprétation des résultats.

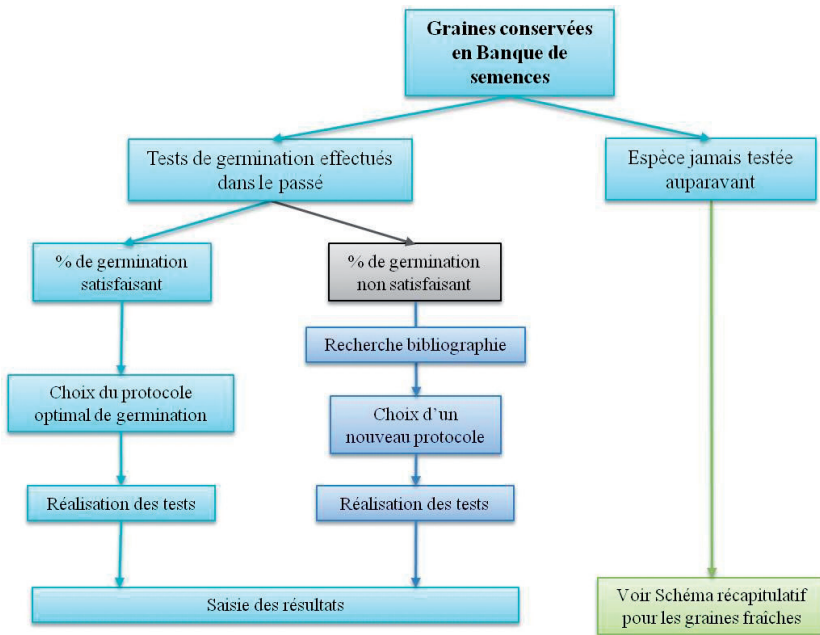


Figure 3. Protocole mis en place pour une espèce conservée.

Dans chaque cas, si le nombre de graines pour l'espèce considérée est insuffisant, il sera nécessaire de prévoir de nouvelles récoltes.

Conclusion

Ces actions de conservation ont permis la création d'une base de données (lots conservés, photothèque, tests de germination, etc.) qui répertorie les espèces conservées à Porquerolles. Cette base de données novatrice est accessible en ligne.

Les banques de semences sont l'un des moyens de contrer la perte de biodiversité due à des phénomènes naturels et anthropiques et ainsi de garantir un avenir aux espèces menacées. La conservation *ex situ* permet d'améliorer les connaissances sur les espèces végétales par l'intermédiaire d'itinéraires techniques de germination utiles pour mettre en place de meilleures stratégies de conservation *in situ* pour les espèces rares et/ou menacées. Dans certains cas extrêmes, la conservation *ex situ* apparaît comme l'unique possibilité de conservation des espèces grâce aux semences stockées. Ainsi des renforcements de populations peuvent être effectués pour sauvegarder les espèces en voie de disparition comme l'*Armeria belgenciensis* dont la seule station mondiale se situe dans le Var et compte moins de 300 individus. Cette espèce a été renforcée une première fois en 2008, cette action se poursuit encore aujourd'hui afin de garantir à terme le maintien de l'espèce.

Références

- RAO N.K., HANSON J., DULLO M.E., GHOSH K., NOWELL D. et LARINDE M., 2006. - Manuel de manipulation des semences dans les banques de gènes (Manuel pour les banques de gènes No. 8). Bioversity International, Rome, 165p.
- BACCHETTA G., FENU G., MATTANA E., PIOTTO B. & VIREVAIRE M., 2006. - Manuel pour la récolte l'étude, la conservation et la gestion *ex situ* du matériel végétal. Édition en français, corrigée et amendée à partir de l'original en italien : Manuale per la raccolta, studio, conservazione e gestione *ex situ* del germoplasma. Agenzia per la Protezione delle Ambiente. Rome, 244p.