



CJBG

LABORATOIRE DE CONSERVATION

**MANUEL DE FONCTIONNEMENT
DE LA BANQUE DE SEMENCES**

**Genève,
ville durable**

www.ville-geneve.ch



VILLE DE
GENÈVE

Une institution
Ville de Genève



Directeur
Pierre-André Loizeau

Réalisation technique
Florian Mombrial



Référencement bibliographique

Mombrial, F, C. Lambelet-Haueter & R. Palese 2016. *Laboratoire de conservation – Manuel de fonctionnement de la Banque de semences*. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève.



Manuel de fonctionnement de la Banque de semences

Florian Mombrial, Catherine Lambelet-Haueter & Raoul Palese

avec la collaboration de Cédric Fawer, Charlène Heiniger et Céline Buchschacher

Table des matières

<i>I – Introduction</i>	7
1 – Conservation des espèces végétales menacées	8
2 – Généralités	9
1 – Définition	9
2 – Objectifs généraux	9
3 – Locaux et matériel	10
4 – Les différentes étapes de la gestion des semences	12
5 – Les différents types de stockage	14
6 – Tests de « viabilité »	16
7 – Tests de germination	18
8 – Protocoles parallèles	19
<i>II – Protocoles</i>	21
1 – Récolte des semences	22
1 – Objectif	22
2 – Planification et préparation	22
3 – Matériel	23
4 – Méthode	23
5 – Données sur la récolte	26
2 – Réception et enregistrement des lots	27
1 – Objectif	27
2 – Méthode	27
3 – Maturation et séchage des semences	30
1 – Objectif	30
2 – Méthode	30
4 – Nettoyage des semences	33
1 – Objectif	33
2 – Matériel	33
3 – Méthode	34
5 – Contrôle des lots de semences	40
1 – Objectif	40
2 – Généralités	40
3 – Matériel	40
4 – Méthode	41

6 – Préparation des lots pour le conditionnement	45
1 – Objectif	45
2 – Etudes préalables	45
3 – Méthode	45
7 – Conditionnement des lots	51
1 – Objectif	51
2 – Locaux et matériels	51
3 – Méthode	53
8 – Conservation des lots	61
1 – Objectif	61
2 – Liste du matériel	61
3 – Méthode	61
9 – Déstockage et réhydratation des lots	65
1 – Objectif	65
2 – Méthode	65
10 – Tests de germination	66
1 – Objectif	66
2 – Généralités	66
3 – Méthode	68
<i>III – Annexes</i>	73

I

Introduction

1 – Conservation des espèces végétales menacées

La conservation de la biodiversité est une des préoccupations majeures de notre temps et les jardins botaniques sont appelés à y jouer un rôle-clé. Dans cette perspective, l'une des cinq missions fondamentales des Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève (CJB) est de « protéger » ou contribuer à la protection du patrimoine végétal, notamment en conservant et en multipliant des espèces menacées.

Un outil particulièrement utile à la conservation des espèces végétales menacées sous nos climats est le stockage à long terme de semences viables. Cette collection *ex situ* du matériel génétique de populations menacées est particulièrement importante dans nos régions soumises à une forte pression anthropique. Un des objectifs de la *Stratégie mondiale pour la Conservation des plantes 2011-2020* (voir annexe D), issue de la *Convention sur la diversité biologique* (voir annexe E), mentionne explicitement que chaque nation se doit de conserver **au moins 75% des espèces de plantes menacées dans des collections ex situ, avec un minimum de 20% restant disponible pour des programmes de récupération et de rétablissement**. Quant à la *Stratégie européenne de conservation des plantes* (voir annexe F), une proportion de **50% des espèces menacées conservées en banque de gènes** est recommandée. La technique du stockage en Banque de semences (BS) est un des moyens les plus appropriés pour atteindre un tel objectif. On estime en effet qu'au minimum 90% des espèces de plantes à fleurs sont adaptées à cette forme de conservation (Hong *et al.*, 1996; Black *et al.*, 2006).

Dans cette perspective, les CJB ont peu à peu mis en place, à partir de 1999, une BS destinée à la conservation de semences orthodoxes d'espèces menacées en Suisse. Le laboratoire de conservation des CJB entretient et développe cet outil de conservation *ex situ*.

Le présent manuel des procédures employées dans la BS des CJB a pour but de fixer une pratique élaborée et améliorée régulièrement depuis une quinzaine d'années. Il est issu de l'étude des procédures de plusieurs BS européennes, notamment du réseau ENSCONET (*Millenium seed bank of Kew Garden (MSB)*, *Fédération des Conservatoires botaniques nationaux de France (FCBN)*, *Réseau Italien des Banques de Semences (RIBES)*, *Banco de Intercambio de semillas de Madrid* et *Banco de germoplasma de Valencia*) ainsi que de notre propre expérience dans ce domaine. Le système de conditionnement et de stockage a été adapté à la situation des CJB et aux conditions climatiques dans la zone de récolte (Suisse et régions limitrophes).

2 – Généralités

1 – Définition

Une Banque de semences est un type de banque de gènes : on y conserve des semences de plantes cultivées ou sauvages dans le but de les préserver d'une disparition totale. La BS des CJB est destinée à la conservation à long terme de lots de graines de plantes sauvages indigènes menacées de Suisse. L'accent est mis sur différents projets et sur la sauvegarde de la biodiversité végétale régionale et cantonale (en collaboration avec les services de l'Etat de Genève et de la Confédération helvétique compétents dans ce domaine).

2 – Objectifs généraux

L'objectif principal d'une BS consiste à lutter contre l'érosion de la biodiversité de la flore à un échelon régional et/ou national. Cela consiste plus particulièrement à :

- **conserver à long terme** des lots suffisants de semences de populations indigènes d'espèces végétales rares, menacées ou disparues à l'échelon national, régional ou cantonal;
- avoir **à disposition du matériel végétal indigène** pour des projets d'**introduction**, de **réintroduction** et/ou de **renforcement** de populations d'espèces rares et menacées ou totalement disparues (localement ou à plus grande échelle), ou pour des projets de recherche sur la biologie des semences.

Dans cette optique, la récolte de différents lots de semences au sein d'un même taxon augmente la représentativité de la variabilité génétique entre populations. Ceci est particulièrement utile pour disposer d'échantillons proches géographiquement en cas d'opérations de réintroduction ou de renforcement de station. Les différents protocoles doivent également garantir que les échantillons de semences récoltés sont le plus représentatifs possible de la variabilité génétique naturelle au sein de la population échantillonnée (voir protocole n° 1 – *Récolte des semences*, p. 20).

Le maintien de la « viabilité » et de l'intégrité génétique des lots de graines est l'objectif technique principal d'une BS. Leur conservation à long terme nécessite des protocoles adaptés à des semences orthodoxes, basés principalement sur les lois de Harrington (1972). Dans un intervalle de température et d'humidité relative données, ces lois postulent un doublement de la longévité des semences à maturité lorsqu'on diminue la température ambiante de 6 °C ou le taux d'humidité de 1% (équation de « viabilité »).

3 - Locaux et matériel

Pour mener à bien les objectifs cités précédemment, les CJB disposent d'un laboratoire de conservation constitué de plusieurs locaux :

- un laboratoire (photo n° 1) dans lequel sont effectués la préparation des lots pour le conditionnement, les tests de « viabilité » et les tests de germination. Il comprend, entre autres, 6 chambres de cultures programmables (température et lumière) dont 4 avec possibilité de faire varier les deux paramètres (thermopériode et photopériode), et 2 avec uniquement la possibilité de faire varier la photopériode, (la température est donc fixe). Il comprend également un congélateur servant au stockage des semences destinées aux tests de germination et divers appareils comme des étuves, des balances de précision, un hygromètre, etc.
- un local technique (photo n° 2) pour la réception et le nettoyage (van mécanique de marque Agriculex) des lots de semences;
- une chambre sèche (photo n° 3) permettant de maintenir une humidité relative plus ou moins constante de 15% pour le stockage et le séchage des semences avant conditionnement ;
- une chambre de congélation (photo n° 4) maintenue à -18 °C pour la conservation des semences conditionnées hermétiquement;
- un local de stockage (photo n° 5) pour le matériel et un congélateur de secours.



Photo n° 1 : Le laboratoire des CJB avec les chambres de culture

Photo n° 2

Local technique: à gauche, les contenants pour la réception des lots et sur la partie droite, l'AgriCulex, une balance et une loupe binoculaire.



Photo n° 3

Chambre sèche avec au premier plan, les bocaux en attente de vérification avant leur stockage en courte ou longue durée.



Photo n° 4

Chambre de congélation: à gauche, les bocaux «longue durée»; à droite, le meuble de stockage des bocaux «courte durée».



Photo n° 5

Local de stockage comprenant (au premier plan à droite) un réfrigérateur et un congélateur de secours (au fond du local).



4 - Les différentes étapes de la gestion des semences

La gestion des semences, de la récolte à l'utilisation après stockage, doit être réalisée en respectant des règles précises appliquées minutieusement. Ce manuel de fonctionnement élaboré pour la BS des CJB se décompose en **10 protocoles principaux** (voir schéma n° 1, p. 13) :

1. *Récolte des semences*
2. *Réception et enregistrement des lots de semences*
3. *Maturation et séchage des semences*
4. *Nettoyage des semences*
5. *Contrôle des lots de semences*
6. *Préparation des lots pour le conditionnement*
7. *Conditionnement des lots*
8. *Conservation des lots*
9. *Déstockage et réhydratation des semences*
10. *Tests de germination*

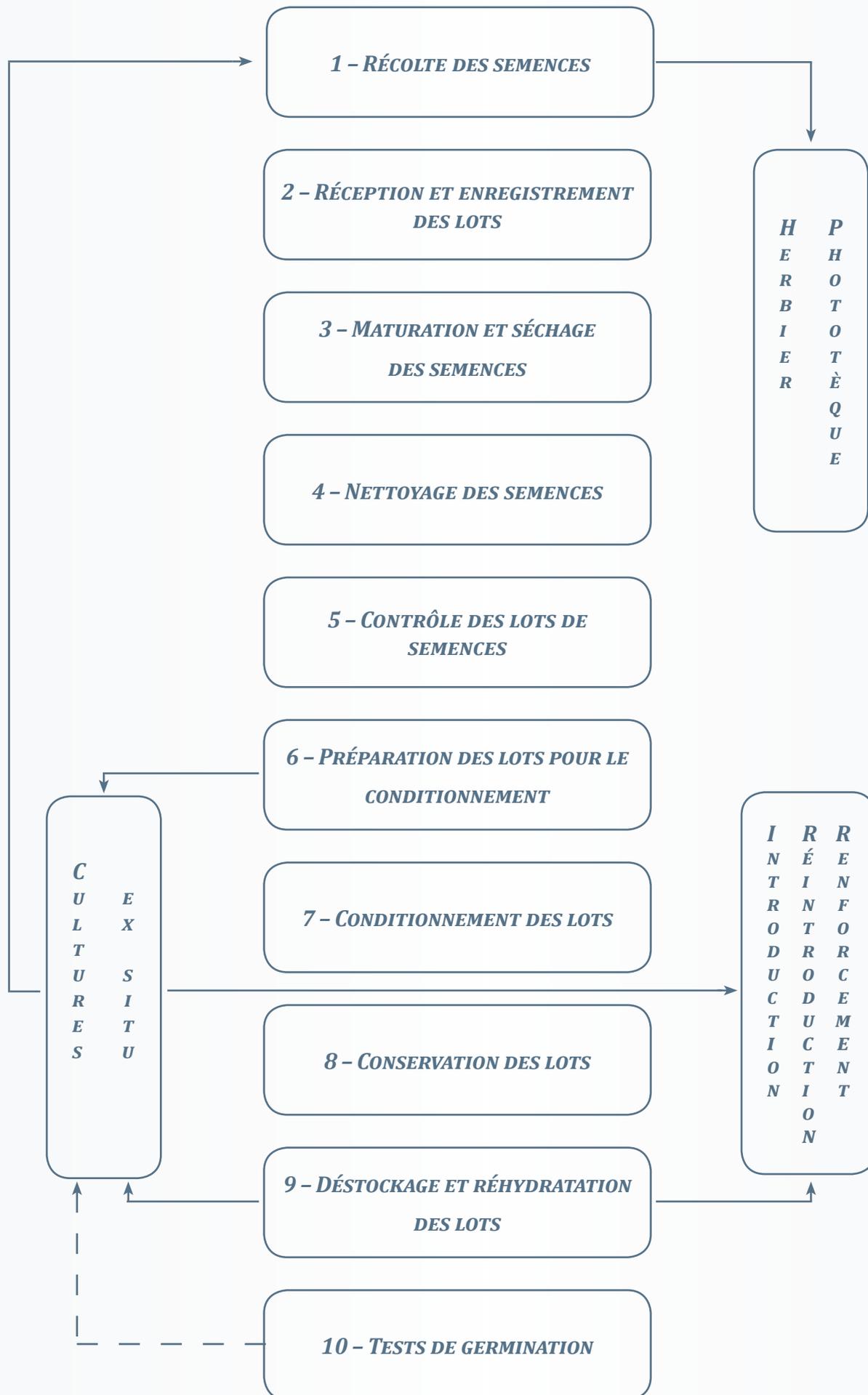
Chaque protocole est détaillé dans le chapitre 2 (voir p. 19). Pour chacun d'eux, les objectifs, la marche à suivre et éventuellement une liste de matériel sont indiqués.

Les protocoles 1 à 9 décrivent la gestion du stock de semences proprement dite. Le 10^{ème} est, quant à lui, un protocole parallèle qui traite des tests de germination (TG). Réalisés idéalement après 6 mois de stockage des lots dans la chambre de congélation, ces tests servent à évaluer la « viabilité » des lots. Si le nombre de graines récoltées est suffisant, au moins une portion de chaque lot est réservée pour effectuer ces tests.

Tout au long de ces différentes étapes, la traçabilité du lot est garantie par :

- une fiche de suivi du lot de semences, établie dès son arrivée au laboratoire et classée après stockage (voir figures n° 1 & 2);
- l'outil informatique de gestion des collections vivantes des CJB : le SIBG - JIC, prochainement remplacé par le logiciel Botalista.

Schéma n° 1 : fonctionnement général de la Banque de semences



5 - Les différents types de stockage

Dans la BS des CJB, les lots de semences sont répartis en quatre catégories, selon deux types de stockage :

1. un **stockage longue durée (LD)**, collection de base destinée à conserver les lots de semences à long terme (en principe plusieurs dizaines d'années). Cette collection peut être utilisée en cas de besoin, par exemple pour des projets de réintroduction, s'il y a suffisamment de semences. Pour une question de sécurité, elle est dédoublée entre :

- la chambre de congélation des CJB (**collection LD_{CJB}**);
- la chambre de congélation des collections de plantes cultivées de l'Agroscope de Changins (AC) à Nyon (**collection LD_{AC}**). Une convention entre les CJB et l'AC a été signée en ce sens (voir annexe G).

Pour certains projets, le lot dédoublé peut être stocké dans un autre emplacement.

Ex : les lots « MSB » sont stockés au *Millenium Seed Bank* (Kew Garden - GB).

2. un **stockage courte durée (CD)**, collection active utilisée pour :

- les tests de germination après conditionnement et stockage dans la chambre de congélation afin de tester la « viabilité » des semences conservées (**collection TG**);
- différentes utilisations (**collection CD** proprement dite) : programmes de sauvegarde (plans d'action, introductions, réintroductions, renforcements de stations), culture *ex situ* de multiplication (cas des lots de trop petite taille), projets de recherche ponctuels sur la biologie de la germination (tel que le projet concernant *Typha minima*¹ (Fort & Lambelet, 2011) mené en collaboration avec le Conservatoire Botanique National Alpin, CBNA).

La répartition des semences entre ces différentes catégories, ainsi qu'au sein de des collections est réalisée selon un schéma préétabli (voir protocole n° 2 – *Réception et enregistrement des lots*, p. 27 & protocole n° 6 – *Préparation des lots pour le conditionnement*, p. 45).

[1] La nomenclature utilisée dans cet ouvrage suit celle de l'ISFS (Aeschimann & Heitz, 2005) et de la banque de données nationale Info Flora (www.infoflora.ch).

Figure n° 1

Fiche de suivi des lots

Recto

Identité	Nettoyage
Taxon :	Hotte d'aspiration / Vents / Tamis (taille inf.) :
Localité :	Agriculex (puissances) :
N° collecteur : _ _ / _ _ _ _ _ / _ _	Autre :
N° S A : _ _ _ _ _ S / Parents : _ _ _ _ _ S _	Post-maturation / Parasites / Endommagées
Date de récolte : _ _ / _ _ / _ _	Effectif original
Récolté par :	Nb compté : _ _ _ Poids pesé :mg
Herbier : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non Photo : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	Poids total : mg
Historique <small>(entrée/sortie CS, nettoyage, traitement, conditionnement)</small>	Nb total (A) :graines
Intervention	Indénombrables rH :% / T :°C
Date	Viabilité
Intervenant	Nb TV (B) : _ _ _ Nb viable : _ _ _
	Taux de viabilité : _ _ %
	Nb total pondéré :graines
	Répartition
	Nb TG (C) : Reste [= A-(B+C)] :
	Nb CD : graines
	Nb LD : graines
	Nb tube(s) : CD : _ _ LD : _ _

Culture *ex-situ*
 Culture *ex-situ* : oui non Culture *ex-situ* terminée le : _ _ / _ _ / _ _ /

N° Spécimen Acquis associé(s) :

Contexte (stockage BS, plan d'action, collaboration,...) :

Notes :

Figure n° 2

Fiche de suivi des lots

Verso

6 - Tests de « viabilité »

Les *tests de « viabilité » (TV)* servent à évaluer l'état sanitaire des semences récoltées. Une graine est considérée comme viable si elle présente suffisamment de tissus vivants lui permettant de germer dans des conditions environnementales favorables, pour peu que toute dormance éventuelle ait été levée (Roberts, 1973). Ces tests consistent à évaluer l'état histologique des semences, pour déterminer la proportion de semences apparemment viables et non viables (semences trouées, moisies, vides, avortées, etc.). Le taux de « viabilité » qui en découle fournit une première indication sur la faculté germinative d'un lot de semences.

Plusieurs techniques sont à disposition :

- la radiographie des lots, technique très performante mais qui, de par son coût élevé, n'est actuellement pas envisagée aux CJB;
- le « cut-test », qui consiste à couper la graine en deux (photo n° 6) pour visualiser les tissus internes, généralement sous la loupe binoculaire (photo n° 7). Comme dans de nombreuses BS (voir protocole n° 5 – *Contrôle des lots de semences*, p. 40), ***les CJB pratiquent essentiellement cette technique***;
- le passage au van mécanique (photos n° 8 & n° 9), technique plus aléatoire qui élimine les semences trop légères, donc en principe vides (technique délicate et réservée à un personnel qualifié). Aux CJB, cette technique est réalisée lors du nettoyage des lots (voir protocole n° 4 – *Nettoyage des semences*, p. 33);
- le test au tetrazolium, d'interprétation délicate, dans lequel la viabilité est évaluée grâce au changement de couleur après trempage dans une solution de tetrazolium;
- l'examen des embryons excisés mis à croître en laboratoire après trempage, une technique exigeant des analystes très expérimentés.

Aux CJB, les tests dits de « viabilité » sont dans la plupart des cas des « cut-tests » évaluant l'état sanitaire des semences, effectué après un nettoyage éliminant dans la mesure du possible les semences vides.



Les indications obtenues lors d'un « cut-test » ne doivent en aucun cas mener à jeter un lot, les graines estimées visuellement non viables pouvant finalement l'être.

Photo n° 6

Test de viabilité

Afin d'observer la viabilité des graines, on effectue un « cut-test ». Il consiste à couper en deux les graines à l'aide d'une pince et d'un scalpel.



Photo n° 7

Loupe binoculaire

La plupart des contrôles de tests de germination et des tests de viabilité sont réalisés sous la loupe binoculaire.

Photo n° 8

Agriculex

Vanneuse mécanique qui sépare les différents matériaux en fonction de leur poids et de leur résistance à l'air.



Photo n° 9

Agriculex (tamis)

Tamis de la vanneuse mécanique. De tailles de maille différentes, ils permettent de séparer les semences des résidus.

7 - Tests de germination

Les *tests de germination (TG)* constituent une étape indispensable pour estimer l'efficacité des conditions de conservation des lots de semences stockés dans une BS.

En fonction de leurs moyens, les gestionnaires des différentes BS développent des procédures de routine plus ou moins régulières et/ou intenses pour réaliser ces tests. Il n'existe donc pas de consensus généralisé concernant ce protocole.

Une contrainte majeure est de pouvoir disposer d'autant d'incubateurs que de programmes de tests à mener en parallèle. En raison de la place disponible et de leur coût, le nombre de ces appareils est limité aux CJB.

En ce qui concerne la fréquence des tests, les premiers résultats de germination après une trentaine d'années, notamment effectués à Madrid, au MSB ou au CBN méditerranéen de Porquerolles, indiquent des taux de survie très satisfaisants pour des conteneurs demeurés totalement hermétiques. Les pertes de « viabilité » précoces s'expliquent par des fuites au niveau des conteneurs et par la pénétration d'air ambiant. Ces résultats suggèrent que des tests répétitifs, tous les 5 ans par exemple, comme ils étaient pratiqués dans les débuts des BS, représentent plutôt une perte de temps. Si le conditionnement est effectué correctement, les tests ne sont donc nécessaires que tous les 30, voire 50 ans.

Le test de l'aptitude à la germination des semences présente certaines difficultés en raison de la diversité entre espèces, entre populations et de la présence de différents types de dormance. Ces tests n'ont donc de sens que si on tente de lever la dormance grâce à différentes techniques qui tiennent compte des connaissances sur l'espèce. Une difficulté supplémentaire provient de la quantité de matériel disponible : comme les espèces recherchées sont menacées et constituent donc souvent des populations de petite taille, il est très souvent impossible de disposer de suffisamment de semences pour effectuer de nombreux tests de germination. Selon les BS, entre 20 et 150 graines sont utilisées par test.

Le choix du protocole de tests standards de germination consacrés à l'évaluation de la « viabilité » des lots stockés suit, dans la plupart des BS, un schéma général dit « de routine » pratiqué sur tous les lots. Il peut être variable ou adapté pour une espèce donnée en fonction des résultats déjà acquis ou des sources de documentation extérieures (base de données des Royal Botanic Gardens de Kew ou d'ENSCONET par exemple). En cas d'échec des tests standards et en fonction du nombre de semences disponibles, de nouveaux tests peuvent être envisagés.

En raison des limites techniques, les résultats des tests de germination ne constituent donc qu'une indication. L'ETSIA de Madrid conseille vivement de renoncer aux tests de germination en cas de conflit d'intérêt avec les possibilités de conservation.

8 – Protocoles parallèles

D'autres protocoles vont de pair avec la gestion de la BS proprement dite :

- la *gestion des échantillons témoin, des photographies et des observations annexes* associées aux récoltes (document annexe);
- la *procédure des cultures ex situ* (voir annexe J);

II

Protocoles

1 – Récolte des semences

1 – Objectif

Le but de la récolte de semences est de constituer un échantillon représentatif de la diversité génétique intra station du taxon considéré.

Il faut donc procéder à un *échantillonnage* le plus exhaustif possible de cette diversité. On applique pour ce faire le principe de précaution, dans la mesure où les études sur la biologie de la reproduction, les flux de gènes et la répartition de la variabilité génétique au sein du taxon sont la plupart du temps inconnus. L'application de ce principe n'évite cependant pas que la récolte d'une portion reste une phase de *sélection anthropique*.

La collecte doit bien évidemment se faire dans le *respect de la station* et des individus échantillonnés. La priorité de récolte des taxa est évaluée avant chaque campagne de récolte, en fonction de leur statut de menace ainsi que des stocks de semences présents dans la BS.

2 – Planification et préparation

Dans les cas d'*espèces protégées* par la loi, une demande d'autorisation est déposée auprès de l'autorité compétente (en Suisse, les cantons). Idéalement, les services de protection de la nature des différents cantons compétents en Suisse veulent recevoir les demandes d'autorisation avec les listes de taxa en début d'année. Pour les autres pays, la procédure est plus longue (6 mois à une année pour la France).

Des visites préliminaires, des repérages ou des indications fournies par des tiers permettent une bonne identification du taxon et une localisation précise de la station. Des connaissances préalables sur la biologie de l'espèce (p. ex. : production potentielle de semences, morphologie du fruit et de la semence à maturité, époque de maturité) aident considérablement lors de la phase de planification des récoltes (époque de récolte, nombre de passages à effectuer, etc.). A cet effet, la consultation préalable de l'herbier ainsi que de monographies peut aider. Certaines espèces produisent des graines d'apparences morphologiques différentes, ce qui peut parfois induire en erreur (identification, maturité).

Pour chaque campagne de récolte, une planification précise est nécessaire. Elle implique la consultation des données sur la répartition des taxa retenus, l'établissement d'un itinéraire, l'organisation pratique sur le terrain ainsi que la connaissance des lots de semences déjà récoltés pour les espèces ciblées.

3 – Matériel

- Enveloppes de récolte (aux CJB « Banque jaune » de Gössler, 3 tailles);
- Ciseaux, couteau, sécateur, gants;
- Matériel de détermination, loupe;
- Boîte à herboriser;
- Bordereaux de récolte vierges, matériel pour écrire;
- GPS et autres matériels de localisation;
- Cartes de localisation des espèces cible ;
- Presse ;
- Matériel de photographie;
- Sacoques de récolte (les sacoques sont à disposition au local technique de la BS; elles comprennent des enveloppes de tailles différentes, crayons, gomme, loupe, GPS, flores pour la détermination, ciseaux et sécateurs);
- Caisses pour stocker les enveloppes et les presses;
- Tenue de terrain adaptée;
- Armoire de dessiccation (ou cabinet de séchage) transportable avec Silica gel.

4 – Méthode

- A. Principes généraux :** la récolte des semences s'effectue par *temps beau et sec, au hasard, à travers toute la population, à tous les niveaux du plant et de l'inflorescence*. Ne pas négliger les individus particuliers, chétifs, ou marginaux. Eviter cependant les graines parasitées. Récolter le plus proprement possible sans endommager la plante-mère. On peut stocker des inflorescences entières (la tête en bas) dans l'enveloppe, si elles sont très sèches, voire des feuilles et des tiges à condition que l'enveloppe soit suffisamment grande pour que l'air circule et que le matériel ne moisisse pas.
- B. Maturité :** *les graines doivent être récoltées à maturité*. Idéalement, on récolte les semences le plus près possible du moment où elles se détachent d'elles-mêmes de la plante-mère. Parfois cela vaut la peine de récolter une plante pas tout à fait mûre si les circonstances l'imposent. Les graines de certains taxa achèvent parfois leur maturité pendant le séchage.

- C. Périodes de récolte :** la récolte doit être effectuée tout au long de la maturité des semences. Deux récoltes sont recommandées au minimum, mais ce n'est pas toujours possible et cela dépend du taxon. Certaines espèces comme la nielle des blés (*Agrostemma githago*), les coquelicots (*Papaver* sp.), les silènes (*Silene* sp.) produisent des graines stockées dans le fruit pendant un certain temps. Mais de nombreuses autres espèces, notamment parmi les lamiacées, les scrophulariacées, les centaurées, etc., mûrissent sur une longue période et nécessitent plusieurs passages pour récolter chaque fois la part de graines mûres. Pour certaines espèces, cette tâche s'avère particulièrement difficile, car leurs semences chutent immédiatement au sol lorsqu'elles ont atteint la maturité. Certaines espèces (*Viola* sp., *Euphorbia* sp., etc.) expulsent les graines à distance, ce qui rend aussi leur récolte plus difficile. Il est parfois nécessaire de récolter des semences tombées à terre (p. ex. : *Medicago minima*). Il est souhaitable de récolter plusieurs années de suite sur une même station.
- D. Echantillonnage :** *il faut récolter sur un minimum de 40 plantes-mère* pour couvrir une diversité génétique considérée comme suffisante. Parfois cela n'est évidemment pas possible. S'il s'agit d'une espèce très rare, aux populations de très faibles effectifs, on récolte un minimum de matériel. Toutefois, s'il existe des stations où l'espèce est plus abondante, elles doivent être privilégiées. *Un effectif de 100 plantes est très satisfaisant.* Il est préférable de récolter peu de graines (bien réparties) sur un maximum de plantes-mère. Pour les petites populations d'espèces rares/menacées/protégées, on limite la récolte *à 30% de la production sur chaque plante-mère.*
- E. Quantité de graines :** en ce qui concerne les espèces annuelles, il faut éviter d'épuiser une station dont la population est réduite en récoltant trop de graines. *La récolte sera limitée à 30% de la quantité estimée produite par la population.* Le stock semencier de nombreux taxa annuels ou bisannuels est encore présent dans le sol tant que l'on voit des plantes. Pour les messicoles, par exemple, la part du stock germant chaque année pour donner des plantules est estimée, selon les espèces, entre 2 et 9% (près de 100% pour *Agrostemma githago*, qui est une exception). La longévité des graines dans le sol est dépendante de l'espèce (pas de dormance pour *Agrostemma githago*, 7-8 ans pour *Centaurea cyanus*, 40-50 ans pour *Papaver rhoeas*, 80 ans pour certains *Rumex*, etc.).
- F. Regroupement des échantillons :** certains spécialistes considèrent que l'état physiologique des semences varie tous les 15 jours environ et que l'on a alors affaire à une nouvelle accession. *Passé ce délai, il est donc nécessaire de stocker chaque récolte dans des enveloppes séparées constituant des lots distincts.*

- G. Récolte :** il faut impérativement utiliser des conditionnements secs et poreux, dans notre cas des enveloppes en papier cartonné. Le plastique est à proscrire. Les inflorescences sont introduites dans l'enveloppe de récolte à l'envers pour que les graines matures tombent au fond de l'enveloppe. **Il est indispensable d'indiquer sur l'enveloppe de récolte le numéro de collecteur** (voir ci-dessous) **au crayon à papier** (ceci permet la réutilisation des enveloppes) **ainsi que le nom de l'espèce**. En général, ces indications sont également inscrites sur une enveloppe de plus petit format prévue pour le stockage après nettoyage, enveloppe qui est introduite dans l'une des enveloppes plus grandes contenant le matériel récolté. S'il y a plusieurs enveloppes de récolte pour un seul lot, le numéro de collecteur est répété sur chacune d'elles. Dans ce cas, il faut numéroter chaque enveloppe : 1/N, 2/N, etc., N étant le nombre total d'enveloppes. Il est important que l'enveloppe de récolte soit assez grande afin que les graines, inflorescences, plantes, etc. ne soient pas comprimées et que l'air circule suffisamment dans l'enveloppe. Une fois rempli, le bordereau de récolte de semences CJB (voir annexe H) est introduit dans l'enveloppe.
- H. Stockage :** une fois remplies, les enveloppes sont stockées dans des caisses munies d'aération, largement ouvertes sur le haut, en position verticale. En cas de déplacement sur plusieurs journées, il faut prévoir un stockage approprié durant la nuit.
- I. Armoire de dessiccation :** pour certaines semences, il est parfois nécessaire de se munir également d'une armoire de dessiccation ou cabinet de séchage avec une couche de Silica gel, afin de mettre immédiatement les semences en atmosphère sèche (ex : *Typha minima*). Lors des déplacements, les enveloppes de récolte doivent être tenues en position verticale et ouvertes sur le haut. Il faut régulièrement contrôler le taux d'humidité de l'armoire et renouveler le Silica gel le cas échéant.
- J. Récoltes insuffisantes :** lorsque l'échantillon est vraiment très petit (soit inférieur à une centaine de graines), on procède généralement, dans la mesure des moyens disponibles, à une **culture de multiplication** afin d'augmenter la quantité de semences conservées au froid. Dans ce cas, la culture *ex situ* est confiée au secteur « Rocailles & Conservation » (voir Annexe J).

5 - Données sur la récolte

Lors de récolte de semences, un bordereau de récolte (voir annexe H) est rempli et un **numéro de collecteur unique** est attribué à chaque lot.

Ce **numéro de collecteur** lié au lot comporte trois éléments :

- les initiales du récolteur (ex : FM pour Florian Mombrial);
- la date de la récolte : Année Mois Jours de récolte (ex : 20140422);
- le numéro de la récolte (/1).

Exemples :

- FM20140422/01; c'est à dire la première récolte de la journée du 22 avril 2014, effectuée par Florian Mombrial;
- CF20140804/02; c'est à dire la deuxième récolte de la journée du 4 août 2014, effectuée par Cédric Fawer;

Lorsque des photographies sont effectuées ou des échantillons récoltés (par exemple une partie de la plante à mettre en herbier ou un échantillon de sol de la station), le même numéro est utilisé pour identifier ces éléments.

Sur le bordereau de récolte (voir annexe H), les informations importantes liées à la **récolte** sont indiquées (date, collectif, etc.) : la **localisation** de la station (localité, coordonnées géographiques, altitude, etc.), la **population échantillonnée** (taille de la population, nombre d'individus échantillonnés, etc.) ainsi que des **éléments de gestion** (menaces existantes, mesures à préconiser).

2 – Réception et enregistrement des lots

1 – Objectif

L'objectif est de mettre en place le suivi des lots de semences, d'enregistrer les informations liées au lot dans la base de données, de contrôler le degré de maturité des semences et, éventuellement, de leur permettre de finir leur maturation en conditions ambiantes avant l'étape de séchage dans la chambre sèche (voir protocole n° 3 – *Maturation et séchage des semences*, p. 30).

2 – Méthode (voir schéma n° 2, p. 29)

Dans le local technique sont entreposés trois contenants (caisses bleues, photo n° 10) pour accueillir les récoltes dans leur enveloppe. Dans l'ordre ils sont destinés à accueillir (de gauche à droite) :

1. Stockage des récoltes mures;
2. Maturation et/ou séchage (enregistré ou en cours d'enregistrement);
3. Enregistré SIBG - JIC, prêt pour la CS.

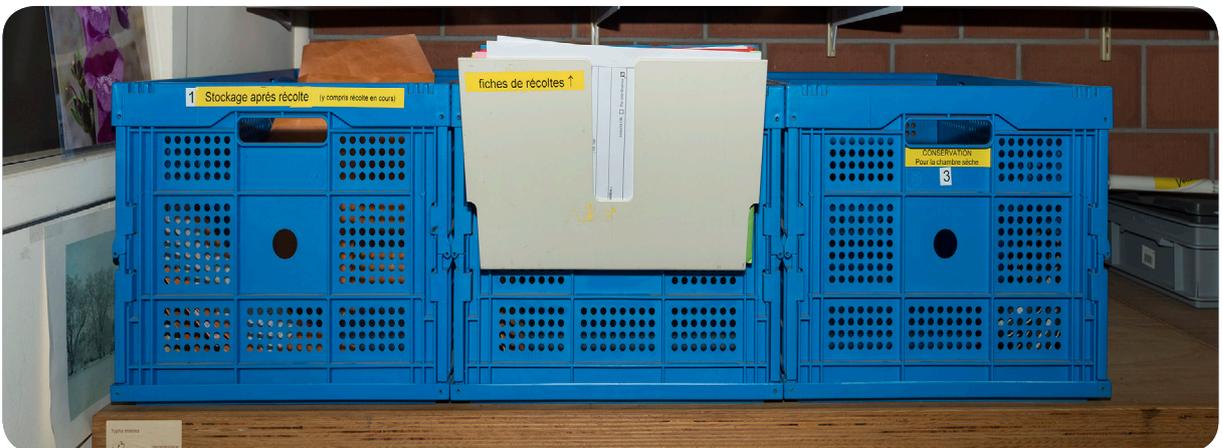


Photo n° 10 : contenants du local technique

Suite à la récolte, les enveloppes contenant les lots de semences sont déposées :

- soit dans le **contenant 1 « Stockage des récoltes mures »**, si les semences sont prêtes à être introduites dans la CS (champ « Maturité OK » coché sur le bordereau de récolte);
- soit dans le **contenant 2 « Maturation et/ou séchage »** si les semences nécessitent d'être mûries et/ou séchées (champ « Pas mûr/douteux » coché sur le bordereau de récolte).

Les enveloppes sont stockées verticalement, pas trop pressées, largement ouvertes sur le haut.

Une **fiche de suivi des lots récoltés** (voir figures n° 1 & 2) est créée pour chaque nouveau lot. Le numéro de collecteur (issu du bordereau de récolte) est immédiatement inscrit sur cette fiche et celle-ci est fixée à l'enveloppe de récolte à l'aide d'un trombone.

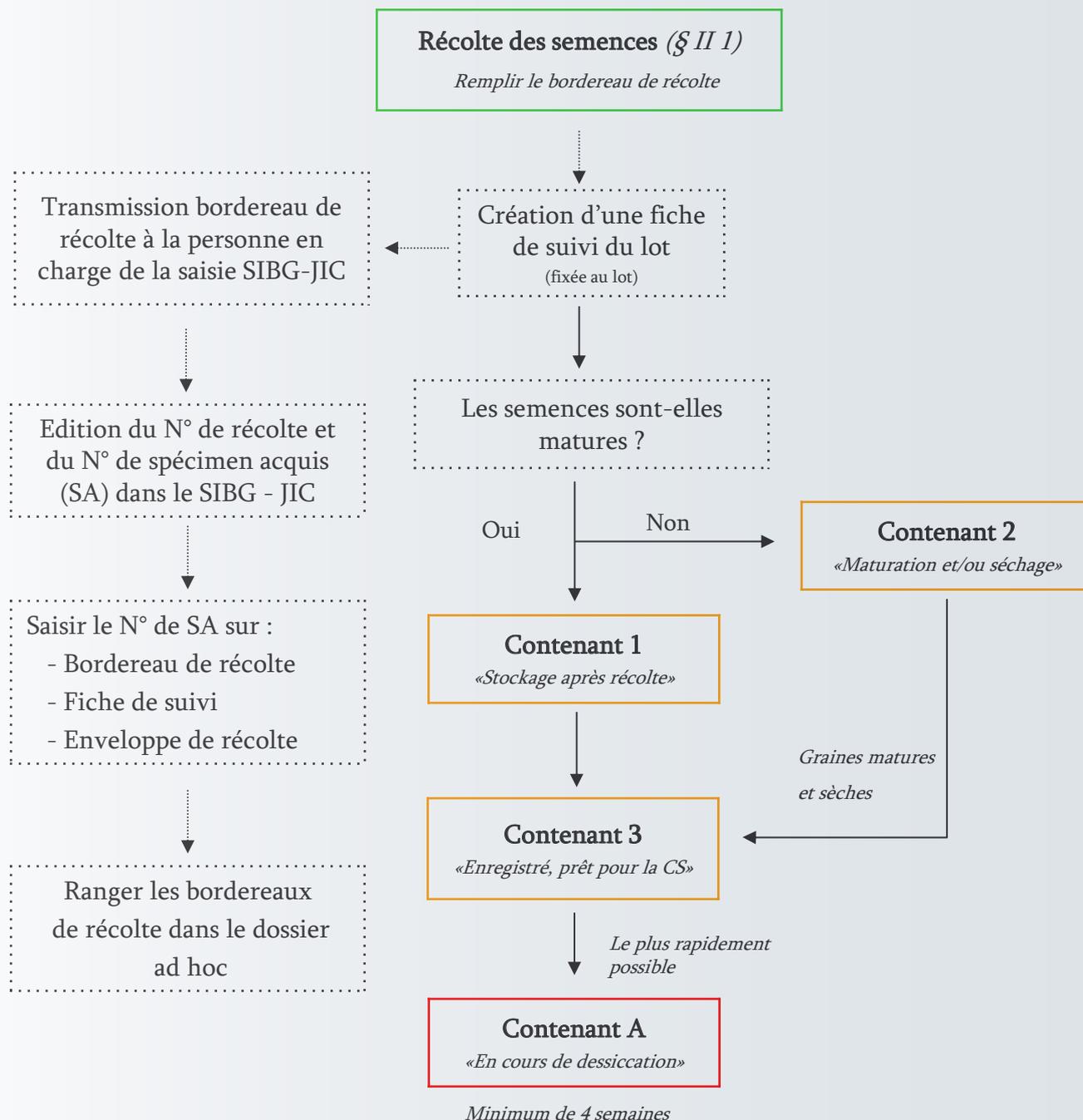
Le **bordereau de terrain**, destiné à recueillir les informations sur les espèces d'intérêt (càd les espèces inscrites sur la liste rouge nationale et / ou cantonale) sur la station de l'espèce récoltée (voir annexe I), est mis dans la fourre « à enregistrer » dans le porte-document fixé sur le contenant 2 (ou rempli directement sous forme informatique et stocké dans le repertoire « Campagnes de terrain »). Les données de ce bordereau de terrain sont, ensuite, saisies dans la base de données d'Info Flora (<https://www.infoflora.ch/fr/mes-observations/carnet-en-ligne.html>), via le carnet en ligne.

Le **bordereau de récolte**, destiné au recueil des informations concernant le taxon récolté, est également placé dans la fourre « à enregistrer » dans le porte-document fixé sur le contenant 2. Les informations figurant sur ce bordereau sont ensuite saisies dans l'application SIBG - JIC accessible via l'intranet des CJBG (<https://intrapps.ville-ge.ch/sibg-jic>) par la personne en charge de la saisie. Un numéro de récolte et un numéro de spécimen acquis (SA) sont générés par l'application. Ces numéros sont uniques et associés à une seule accession (ou lot). Une fois l'édition de ce numéro de spécimen acquis définitivement établi, il est retranscrit sur :

- le bordereau de récolte;
- l'enveloppe de récolte de semences;
- la fiche de suivi.

Les bordereaux de récolte sont ensuite déposés dans la fourre « bordereaux enregistrés » prévue à cet effet. Ils sont par la suite archivés dans un classeur qui regroupe tous les bordereaux de récolte.

Schéma n° 2 : réception et enregistrement des lots



Terrain

Local technique

Chambre sèche

→ Déplacement des lots

-.-> Saisie d'informations

3 – Maturation et séchage des semences

1 – Objectif

L'objectif de cette étape est de contrôler le degré de maturité des semences, de leur permettre de terminer si nécessaire leur maturation en conditions ambiantes, puis de les soumettre à une période de séchage dans la chambre sèche pour abaisser leur taux d'humidité. Une fois les graines considérées comme parvenues à maturité, elles seront stockées en attente de nettoyage dans la CS.

Idéalement, *les graines doivent être récoltées lorsque leur maturation est terminée*. Cela permet leur séchage immédiat. Dans la pratique, il n'est pas toujours possible de les récolter au bon moment et ce pour diverses raisons (plantes dont les graines tombent juste avant maturité, conditions météorologiques, temps à disposition insuffisant, etc.). Chez certains taxa, il existe aussi différents stades de maturation sur la même plante (maturité échelonnée).

En pratique, il faut adopter le principe de *récolter des semences prêtes à tomber ou tombant à la moindre secousse* (ENSCONET, 2009a; Boillot *et al.*, 2007). Ceci n'est cependant pas valable pour tous les taxa. *Dans le cas où elles sont récoltées immatures, les semences nécessitent une période de maturation*, sans qu'il soit en pratique possible de savoir si cette maturation aura, entièrement ou partiellement, l'effet escompté.

Le processus de maturation se poursuit même lorsque le fruit est séparé de la plante mère. Une maturation incomplète compromet les chances de survie et de germination des graines. Cependant, une maturation prolongée trop longtemps peut aboutir à l'effet inverse : vieillissement des semences et diminution de leur capacité germinative. Certains taxa nécessitent en outre une phase de maturation après la chute des semences.

2 – Méthode

A. Maturité des semences: il existe diverses techniques pour *évaluer la maturité des graines* comme la spectrophotométrie, la mesure du taux d'humidité directe, etc. Ces méthodes sont inapplicables dans la gestion de la BS des CJB, car elles nécessitent des ressources techniques qui ne sont actuellement pas disponibles aux CJB.

En l'absence d'une méthode fiable et accessible pour évaluer le degré de maturation des graines, on se base avant tout sur l'expérience empirique du technicien de conservation.

Celui-ci utilise différents critères visuels :

- la plante-mère est-elle sèche ?
- le fruit est-il sec ?
- les graines ont-elles une couleur (verte, blanche) ou une texture (graines molles, ayant l'air pleines d'eau, vides, etc.) pouvant indiquer qu'elles sont immatures ?
- en cas de doute (si le stock est suffisant), le « cut-test » (voir protocole n° 5 – *Contrôle des lots de semences*, p. 40) peut également être pratiqué pour aider à la décision.

Il faut être particulièrement attentif au cas des *Fabaceae*, notamment aux graines de taille importante, qui peuvent ne sécher que très lentement malgré une apparente maturité.

B. Méthodes de maturation alternatives: chez certaines espèces, entreposer les graines dans une atmosphère à forte saturation en humidité (80%) leur permet d'achever leur maturation en perdant le moins possible de leur pouvoir de germination. Il faut cependant faire attention à éviter le développement de champignons (p. ex. pour *Digitalis purpurea* (Hay *et al.*, 1997) ou *Rhododendron* sp. (Hay *et al.*, 2006)).

Par exemple, une période de pré séchage à plus haute humidité relative (7 jours à 73% ou 4 jours à 100%) augmente le taux de germination et la « viabilité » des graines de *Digitalis purpurea* (Hay *et al.*, 1997). D'autre part, un séchage plus lent peut aussi être bénéfique; par exemple, le stockage des graines dans des boîtes en plastique (avec une aération sur le couvercle) placées dans la chambre sèche améliore le taux de germination de *Solanum dulcamara* (Probert *et al.*, 2007).

Ces exemples ne sont pas généralisables à tous les types de graines. Sans indication bibliographique ou connaissance particulière, la procédure standard est appliquée.

C. Méthode de séchage: le séchage a pour but de **conserver la « viabilité » des semences le plus longtemps possible**, en maintenant le métabolisme de l'embryon en état de dormance. Les graines soumises à un environnement humide peuvent être attaquées par des champignons, vieillir plus rapidement ou encore initier une germination. Un séchage lent est en général mieux supporté qu'un séchage rapide pouvant provoquer un choc hydrique.

La procédure de séchage standard consiste en un séchage de **4 semaines minimum en chambre sèche à environ 15% d'humidité relative**. Les lots de semences peuvent rester plus longtemps dans la chambre sèche sans que cela ne leur cause de dommage, ni de perte de « viabilité » (p. ex. en attendant le conditionnement).

D. Marches à suivre

1. **Préparation des fruits charnus** : ils sont préalablement dépulpés avant la maturation / le séchage des graines (voir protocole n° 4 – *Nettoyage des semences*, p. 33). A ce stade, les semences doivent être considérées comme immatures et, par conséquent, doivent être séchées en conditions ambiantes durant 1 à 2 semaines.

2. **Maturation des semences dans le local technique** : selon que les semences du lot nécessitent une maturation ou non, on applique l'une des deux méthodes suivantes :

• **Semences considérées comme mures**

Les lots de semences sont déposés dans le contenant 3 « Enregistré SIBG - JIC, prêt pour la CS ». Les enveloppes de récolte y sont stockées debout, pas trop pressées, largement ouvertes sur le haut.

• **Semences considérées comme immatures**

- Les lots sont déposés dans le contenant 2 « Maturation et/ou séchage ». Les enveloppes de récolte sont stockées debout, pas trop pressées, largement ouvertes sur le haut (idem que ci-dessus);

- L'inscription « post-maturation » de la fiche de suivi est entourée pour indiquer que les semences doivent être mures;

- Les lots sont mélangés régulièrement pour les uniformiser et favoriser leur aération;

- Les lots sont régulièrement contrôlés afin de suivre l'évolution de leur état de maturité;

- Une fois considérés comme mures, généralement après 2 à 3 semaines, les lots sont déplacés dans le contenant 3 « Enregistré SIBG - JIC, prêt pour la CS ».

3. **Séchage en chambre sèche** : les lots du contenant 3 « Enregistré SIBG - JIC, prêt pour la CS » sont le plus rapidement possible transférés dans la CS, puis mis à sécher dans le contenant A « Séchage - Dessiccation ». Lors de ce déplacement, la date d'entrée dans la CS est inscrite sur la fiche de suivi. Les semences doivent y rester un mois au minimum avant d'être conditionnées. Suite à la dessiccation, elles sont déplacées dans le contenant B « Prêt pour nettoyage ».

4 – Nettoyage des semences

1 – Objectif

Le nettoyage des lots de semences vise à obtenir idéalement ***une collection constituée uniquement de semences saines***. Dans la mesure du possible, le matériel végétal ou animal indésirable (restes des enveloppes du fruit, de tiges, de feuilles, insectes, débris divers) et les semences visuellement en mauvais état (brisées, parasitées, peu ou mal développées, etc.) sont éliminés. Cette étape permet de diminuer le volume de stockage, de réduire le risque de contamination par des agents pathogènes, de dénombrer plus précis les semences et de faciliter leur utilisation ultérieure. Le nettoyage doit donc être mené le plus soigneusement possible, sans causer de dommages physiques aux semences et en conservant le maximum de semences paraissant viables.

Principe de nettoyage : ***obtenir un lot le plus pur possible*** (c'est à dire sans corps étrangers) ***avec des semences présentant un maximum de diversité morphologique***, plutôt que de viser à obtenir un lot pur à 100% mais qui aura conduit à la perte de graines et à leur homogénéisation (donc à une perte de représentativité de la diversité génétique du lot).

2 – Matériel

- aspirateur
- balayette
- brosses de différentes rigidités
- ciseaux
- contenant en carton pour les débris
- enveloppes papier pour les semences nettoyées (8 x 5 cm et 12 x 20 cm)
- gants pour les espèces toxiques et/ou piquantes
- hotte d'aspiration (intégrée au local)
- masques antipoussière
- papier abrasif
- pilons en bois
- sous-main cartonné
- tamis de mailles différentes (40 tamis de maille de 0,14 mm à 8 mm)
- vanneuse de marque Agriculex
- vans manuels (plateaux en inox)

3 – Méthode (voir schéma n° 3, p. 35)

A. Préparation des lots : les lots à nettoyer, stockés dans le contenant B « Prêt pour nettoyage » sont sortis au fur et à mesure de la chambre sèche pour être amenés d'abord dans la graineterie (local de nettoyage) puis dans le local technique, avec leur fiche de suivi. Entre chaque lot, la place de travail est nettoyée à l'aide d'un aspirateur pour éviter tout mélange entre différents lots. Il faut éviter de nettoyer des semences destinées à la Banque de semences en même temps que celles destinées à l'Index seminum.



Les lots sortis de la CS pour nettoyage doivent impérativement être ramenés dans cette dernière en fin de journée même si le nettoyage n'est pas terminé.

Au début du nettoyage, la date et les initiales du nettoyeur sont inscrites sur la fiche de suivi du lot. Les enveloppes contenant les semences nettoyées sont déposées dans le contenant C « Prêt pour conditionnement » de la CS avec leur fiche de suivi annotée à l'intérieur. Lorsque le nettoyage du lot n'est pas finalisé à la fin de la séance, les enveloppes sont déposées dans le contenant B « Prêt pour nettoyage » de la CS en attendant la finalisation du nettoyage.

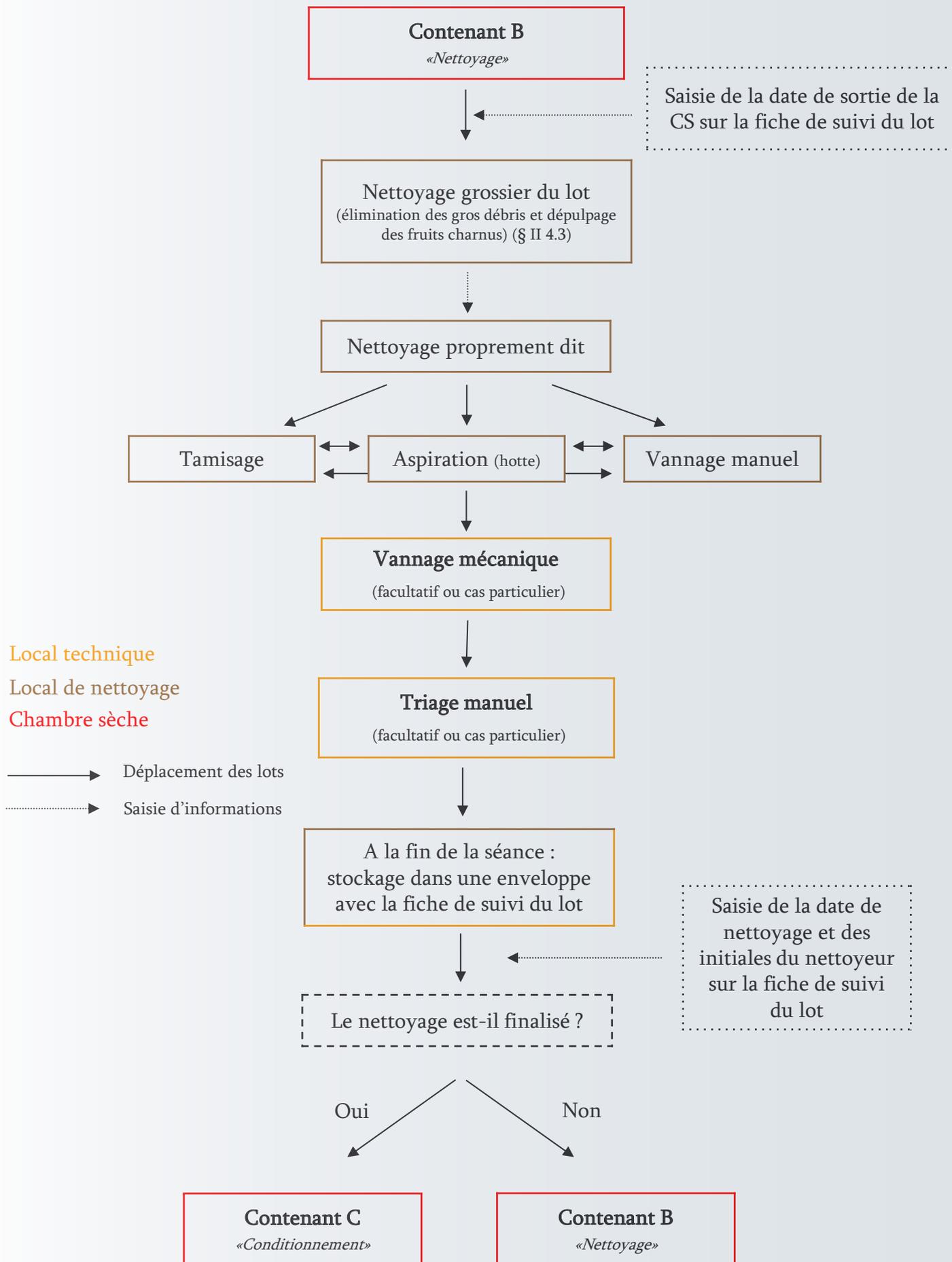


Plusieurs méthodes de nettoyage existent (voir ci-dessous); une observation préalable des semences permet de visualiser leur morphologie et de définir la ou les méthodes à utiliser.

B. Nettoyage grossier : l'enveloppe du lot à traiter est ouverte dans la graineterie sur une table propre (un seul lot travaillé à la fois) et les semences épanchées sur un van pour le nettoyage. Il faut être attentif au fait qu'une récolte peut être répartie entre plusieurs enveloppes (dans ce cas, une numérotation de type : 1/N, 2/N, etc. figure sur l'enveloppe, voir protocole n° 1 – Récolte des semences, p. 20). Le nettoyage grossier consiste à enlever les gros débris végétaux à la main (tiges, feuilles, restes de fleurs, etc.) et à extraire les semences de la pulpe des fruits charnus (voir point C. ci-dessous) pour empêcher les phénomènes de moisissure et de dégradation par des parasites. Les déchets sont jetés dans les cartons *ad hoc*.

C. Extraction des semences des fruits charnus : les fruits charnus sont dépulés manuellement sous 48h après leur récolte (dans la mesure du possible) sous l'eau afin de limiter le développement de champignons et d'éviter les processus de fermentation qui risquent d'altérer les capacités germinatives des semences. S'il n'est pas envisageable d'effectuer cette opération dans les 48h, les fruits doivent être conservés au réfrigérateur entre 0 et 5 °C. Lorsque les fruits charnus sont secs à la récolte ou ont été

Schéma n° 3 : nettoyage des semences



stockés pour le séchage, ils peuvent être auparavant réhydratés dans des bassins d'eau pendant quelques heures à quelques jours selon l'espèce, ce qui facilite le dépulpage et la séparation des graines. Après le lavage, les semences sont séchées en les étalant en fines couches sur un papier absorbant, pour permettre une circulation d'air. Celles qui nécessitent une maturation sont traitées selon le protocole n° 3 – *Maturation et séchage des semences*, p. 30.

D. Nettoyage:

- 1. *Nettoyage manuel à l'aide de tamis*** : il s'agit d'une méthode de nettoyage qui fait appel à l'utilisation de tamis de mailles différentes. Les graines passent à travers des tamis de maille de plus en plus fine, tandis que les débris végétaux sont retenus. La maille du dernier tamis doit retenir les semences tout en laissant passer la poussière. A l'aide d'un pilon en bois, on applique une pression plus ou moins forte sur les fruits afin d'émietter les organes floraux et fructifères. A la fin de l'opération, il faut vérifier qu'il ne reste aucune semence dans les différents tamis. L'utilisation d'une loupe binoculaire est parfois nécessaire pour identifier les semences et affiner le nettoyage. Cette opération est répétée avec des tamis de maille de plus en plus petite. Au final, le matériel recueilli est constitué des semences, accompagnées de débris de taille similaire, mais généralement de poids différent. Selon la qualité du matériel recueilli, l'utilisation d'un système de séparation par gravitation (vannage manuel ou mécanique) peut ensuite être appliquée pour éliminer au maximum le matériel indésirable.
- 2. *Nettoyage complémentaire à l'aide d'un plateau en inox (vannage manuel)*** : le lot de semences (ou une partie) est déposé sur le van. Un mouvement visant à propulser les matériaux en l'air avec une légère inclinaison vers l'arrière est effectué. Les matériaux les plus légers sont ainsi expulsés à l'extérieur du plateau. Cette opération est effectuée au-dessus d'un carton à déchets. Pour maîtriser cette pratique, qui nécessite une dextérité particulière, il est nécessaire de s'exercer avec des semences non destinées à la conservation. Cette opération est répétée jusqu'à ce qu'un maximum d'impuretés soit éliminé. L'opération doit être interrompue avant l'élimination de semences viables et nécessite donc un œil averti. Pour les collections contenant encore des impuretés, le nettoyage se poursuit à l'aide du vannage mécanique.

3. Nettoyage complémentaire à l'aide de l'Agriculex (vannage mécanique) : la vanneuse mécanique Agriculex (photo n° 8) est située dans le local technique. Elle permet de séparer les matériaux les plus légers d'un lot de semences (débris végétaux, graines vides, etc.). Pour certaines espèces dont les semences sont particulièrement légères (ex. : *Betula* sp.) ou pour éliminer du matériel plus lourd que les semences (graviers, sables), l'aspiration est inversée : ce sont les semences qui sont « éliminées » des résidus. Cet outil permet de finaliser le nettoyage des semences de petite à moyenne taille, en limitant les pertes de graines. Il faut néanmoins utiliser cette machine avec une grande attention : ***il existe un risque important de normalisation des semences selon leur poids et leur taille, ce qui peut conduire à un appauvrissement de la variabilité génétique du lot.*** Les personnes utilisant cette vanneuse doivent tout d'abord être formées avec des lots d'exercice par les responsables de la Banque de semences.

Marche à suivre :

- a. Vérifier que le récupérateur de déchets et le couvercle sont correctement placés;
- b. Vérifier que l'obturateur est en position « 0 »;
- c. Vérifier que la machine est branchée;
- d. Déposer les semences, en fonction de leur taille, dans un tamis *ad hoc* (photo n° 9);
- e. Augmenter progressivement le flux d'air de façon à ce que les débris végétaux et les semences vides soient séparés des semences paraissant saines. Dans le cas de matériel plus lourd, ce sont les semences qui sont écartées;
- f. Examiner le matériel se trouvant dans l'exutoire (si nécessaire à la loupe binoculaire). Vérifier qu'il soit constitué uniquement de débris végétaux ou, à l'inverse, uniquement de graines paraissant saines;
- g. Si le matériel présent dans l'exutoire est mixte (débris végétaux et graines paraissant saines), il faut alors réajuster le débit d'air jusqu'à obtention d'un produit uniquement constitué de débris végétaux ou de graines paraissant saines.

L'objectif final est de privilégier la quantité finale de semences paraissant saines plutôt que d'essayer d'obtenir un lot sans impureté qui peut conduire à une homogénéisation du lot et donc à une perte de diversité. Si l'Agriculex ne permet pas de séparer les semences paraissant saines des impuretés (débris végétaux, semences vides) une séparation manuelle doit être envisagée (voir ci-dessous et schéma n° 3, p.35).

4. Nettoyage complémentaire par tri manuel : les lots dont la proportion d'impuretés (débris végétaux, semences infectées) est élevée et qui ne peuvent être purifiés à l'aide d'un système de séparation par gravitation (plateau de vannage, Agriculex), ainsi que les espèces dont les semences sont de très petite taille (*Orchidaceae*, *Orobanchaceae*, *Plumbaginaceae*, etc.), font l'objet d'un triage manuel.

Marche à suivre :

- a. Etaler les semences sur une surface plane;
- b. Eliminer les semences infectées ainsi que les impuretés à l'aide d'une pincette (en général sous la loupe binoculaire).

5. Cas particuliers : il peut s'avérer nécessaire de manipuler et frotter préalablement les semences récoltées sur un support *ad hoc* (p. ex. un tapis de séchage pour la vaisselle), parfois en y ajoutant un abrasif (sable p. ex.), afin de faciliter l'ouverture des fruits. Le péricarpe de certains fruits secs indéhiscents (de type akène) peut s'avérer particulièrement résistant à un nettoyage mécanique et, dans ce cas, l'action qui consiste à extraire les semences du fruit peut conduire à leur destruction. Il est alors préférable de conserver les fruits entiers ou tenter d'extraire les graines manuellement du fruit. Chez certaines composées comme chez les *Filago* sp. ou les *Gnaphalium* sp., il n'est pas possible de séparer la semence des enveloppes externes du fruit même manuellement et le lot ne pourra donc pas être nettoyé totalement. Ces lots fourniront des données incomplètes pour certains paramètres (pesage, comptage des semences, etc.). Les semences huileuses sont très difficiles à nettoyer (p. ex. *Carpesium cernuum*). Il est dans ce cas utile d'ajouter de la cendre au lot pendant le nettoyage. Pour ces cas bien spécifiques, seul un nettoyage manuel est possible.

F. Entreposage du lot nettoyé : une fois le nettoyage considéré comme satisfaisant, l'ensemble du lot nettoyé est versé dans une enveloppe de petit format (8 x 5 cm et 12 x 20 cm) avec sa fiche de suivi annotée (date de la sortie de la CS, date de nettoyage, initiales du nettoyeur, etc.). Les enveloppes sont ensuite ramenées dans la chambre sèche dans le contenant C « Prêt pour conditionnement ».

G. Sécurité

- **Protection contre les particules fines et irritantes** : certains lots sont très poussiéreux ou contiennent des éléments très fins, volatils et/ou irritants (spores de champignons, débris végétaux fins, etc.). Il est donc recommandé de porter un masque anti-poussière et de travailler sous la hotte d'extraction d'air située au-dessus des tables de nettoyage.
- **Utilisation de gants** : certaines espèces sont toxiques, urticantes ou piquantes. Dans ce cas, l'utilisation de gants permet de limiter ces effets indésirables.
- **Toxicité** : en cas de doute sur la toxicité d'une espèce, manipuler les semences avec des gants et utiliser un masque anti-poussière. Si les semences ont été récoltées dans un environnement pollué, il faut agir de même. Il est nécessaire de se laver les mains au savon après chaque séance de nettoyage.

H. Saisie des données : la fiche de suivi du lot (voir figures n° 1 & 2) doit être annotée à la sortie du lot de la chambre sèche et à la fin du nettoyage. Les champs suivants, sous la rubrique « Historique », doivent être renseignés :

- **intervention** : sortie CS ou entrée CS;
- **date** : la date du jour de l'intervention;
- **intervenant** : les initiales de l'intervenant.

Les données seront saisies ultérieurement dans le SIBG - JIC, en même temps que la création du lots de graines.

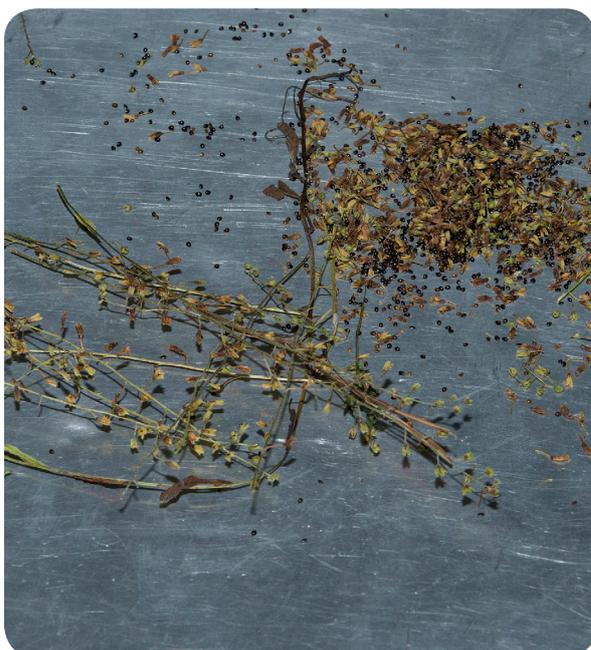


Photo n° 11 : graines avant nettoyage



Photo n° 12 : graines nettoyées

5 – Contrôle des lots de semences

1 – Objectif

L'objectif du contrôle d'un lot de semences nettoyé est d'obtenir un lot de qualité optimale prêt à être conditionné. Plusieurs informations concernant le lot sont relevées lors de ce contrôle (poids, teneur en eau, taux de « viabilité », nombre de semences). Ces données servent notamment à la future répartition des lots.

2 – Généralités

Le contrôle des lots se fait en plusieurs étapes (voir schéma n° 4, p. 49) :

- A - contrôle de la qualité du nettoyage;
- B - mesure de la teneur en eau de la semence;
- C - pesage du lot et dénombrement des semences;
- D - test de « viabilité » (si le nombre de semences est suffisant).

Pour ce faire, les lots sont transférés de la chambre sèche (contenant C « Prêt pour conditionnement ») dans le local technique pour un **maximum de 12h**, y compris pour l'étape suivante « *Préparation des lots pour le conditionnement* ». L'espace de travail doit être nettoyé avec un aspirateur (actuellement marque « Dyson ») avant utilisation, un contrôle minutieux doit être effectué pour qu'il n'y ait pas de semences parasitées. Entre l'examen de chaque lot, un nouveau nettoyage de la place de travail est effectué.

3 – Matériel

- aspirateur manuel petit format
- balance de précision (0.01 mg)
- compteur de graines (modèle « Contador »)
- coupelles, boîtes de Pétri, etc.
- diverses pincettes pour la manipulation des graines
- hygromètre avec container de mesure de la teneur en eau (marque « Rotronic »)
- loupe binoculaire
- microtome
- ordinateur (saisie dans le SIBG - JIC)
- pinceaux pour le nettoyage des divers contenants
- scalpel, lame de rasoir
- support pour la coupe des semences (permet de fixer les semences pour la coupe)

4 – Méthode (voir schéma n° 4, p. 49)

- A. Contrôle de la qualité des semences:** il consiste à passer les graines sous la loupe binoculaire pour vérifier si le lot comporte des impuretés pouvant nuire à la conservation des semences (insectes, cailloux, moisissures, etc.). Les semences sont déposées dans une coupelle pour le contrôle, en plusieurs fois si nécessaire. Si la quantité d'impuretés est élevée, un nettoyage plus fin doit être opéré. La présence de semences endommagées doit être reportée sur la fiche de suivi. Ce dernier contrôle permet de valider la qualité du nettoyage; si celui-ci est jugé insatisfaisant, une étape supplémentaire de nettoyage peut être envisagée.
- B. Mesure du taux d'humidité des semences :** avant d'effectuer le pesage, le taux d'humidité des semences doit être mesuré à l'aide d'un hygromètre à compartiment (photo n° 15). L'hygromètre mesure l'humidité relative de l'air en équilibre avec les semences déposées dans une chambre scellée. Lors de cette étape, il faut être attentif à ne pas trop souffler sur les échantillons, réduire au maximum la manipulation des semences et éviter de toucher l'intérieur du compartiment de mesure.

Marche à suivre :

Un échantillon de semences est déposé dans le compartiment *ad hoc* de l'hygromètre. Le volume de semences doit occuper au moins 50% de la totalité du compartiment. Si l'échantillon de semences est trop petit, il faut réduire le volume du compartiment à l'aide d'une plaque en aluminium (photo n° 16). La température de l'échantillon doit être équilibrée à celle du compartiment avant de commencer les mesures. Si les semences ont un manteau imperméable et si la quantité de semences est suffisante, elles doivent être coupées et écrasées immédiatement avant d'être placées dans le compartiment de l'hygromètre.

Familles incluant des espèces dont les graines sont dotées d'un manteau imperméable induisant une dormance physiologique (Détails sous Baskin, 2003) :

- *Cistaceae*
- *Convolvulaceae* incl. *Cuscutaceae*
- *Cucurbitaceae*
- *Fabaceae* (*Caesalpinioideae*, *Mimosoideae* et *Papilionoideae*)
- *Geraniaceae*
- *Malvaceae* (incl. *Tiliaceae*)
- *Rhamnaceae*

Pour permettre à l'ensemble air-semences d'atteindre le point d'équilibre, l'échantillon doit rester environ **30 minutes** dans le compartiment refermé. Il est recommandé de prendre périodiquement des mesures pour s'assurer que l'équilibre a bien été atteint au moment de la lecture finale. Ensuite, la mesure de l'humidité relative (rH) à l'équilibre et la température à laquelle la mesure a été prise sont notées sur la fiche de suivi du lot sous les rubriques « rH » et « T. ». L'appareil doit être calibré régulièrement.

C. Pesage du lot de semences : la totalité du lot de semence est pesée à l'aide d'une balance de précision (photo n° 14) de marque « Ohaus - Pionner PA214C ». La précision de la mesure du poids est de l'ordre du milligramme.

D. Dénombrement des semences : cette procédure sert à estimer le nombre de semences d'un lot et à les répartir selon leurs futures utilisations (voir schéma n° 4, p. 49). Deux méthodes peuvent être employées :

1. Comptage exhaustif des semences du lot : la Banque de semences dispose d'un compteur de graines (modèle « Contador », photo n° 13). L'ensemble du lot est déposé dans la trémie du compteur de graines. Le comptage s'effectue à l'aide d'une cellule photoélectrique. Le compteur à disposition est efficace pour des graines de 0,3 à 15 mm de diamètre.

2. Estimation de l'effectif du lot : une balance de précision de marque « Ohaus - Pionner PA214C » est à disposition dans le laboratoire de conservation. Avant utilisation, cette balance est contrôlée (tarage, vérification qu'il ne reste aucune graine dans le boîtier, etc.). La totalité du lot est pesée. Un échantillon de 50 graines est ensuite extrait par comptage manuel sous la binoculaire ou par comptage mécanique à l'aide du compteur de graines (voir point 1). Suite au pesage des 50 graines, le nombre total de graines est estimé, selon la formule :

$$\text{Nombre total de graines} = (P_{\text{tot}} \times 50) / P_{50} \quad (P : \text{poids})$$

La première méthode étant plus précise, elle sera privilégiée, même pour des lots d'effectifs élevés. Cependant, si le compteur de graines n'est pas disponible (comptage en cours), et que le temps à disposition est limité, la seconde méthode sera alors employée.

Les données suivantes sont saisies dans le SIBG - JIC :

- le poids total du lot;
- le nombre de graines compté : 50 ou la totalité du lot selon la méthode de dénombrement utilisée;
- le poids de l'échantillon pesé : 50 graines ou la totalité du lot selon la méthode de dénombrement utilisée.

Dans le cas du dénombrement par estimation de l'effectif du lot, le nombre de semences total est calculé automatiquement par le SIBG - JIC. Ces données sont également reportées sur la fiche de suivi du lot sous la rubrique « Effectif original ».



Photo n° 13 : compteur de graines



Photo n° 14 : balance de précision



Photo n° 15 : hygromètre



Photo n° 16 : plaques d'aluminium pour limiter le volume de l'hygromètre

D. Test de « viabilité » ou « cut-test » : dans les protocoles des CJB, le test de « viabilité » (TV) permet d'obtenir le pourcentage de graines entières et apparaissant saines (voir chap. I - Introduction - 6 - *Test de « viabilité »*, p. 14).

En théorie, il est nécessaire de faire des tests de « viabilité » pour chaque lot de graines. Certains tests de « viabilité », comme le « cut-test », détruisent les semences; ils doivent donc être effectués sur un nombre réduit de semences par lot. Aux CJB, les deux tests principaux sont le « cut-test » et le test visuel (pour les semences difficile ou impossible à couper, p. ex. : *Typha minima*).

Le nombre de graines utilisées pour le test de « viabilité » dépend de l'effectif total du lot :

Tableau n° 1 : Nombre de semences utilisées en fonction de l'effectif du lot

Effectif total (Nb tot)	Nb tot < 100	100 < Nb tot < 500	Nb tot > 500
Dénombrement	Effectif entier	Estimation par pesage ou comptage exhaustif	
Test « viabilité »	Aucun	Sur 10% de l'effectif	Sur 50 semences

Marche à suivre :

Sous la loupe binoculaire, les semences sont examinées puis sectionnées une à une à l'aide d'un scalpel et d'une pince, afin de vérifier si elles semblent saines (voir photos n° 17 & 18). Le résultat du test correspond au nombre de graines paraissant saines rapporté au nombre total de graines observées (en %).

Ce résultat est saisi dans le SIBG - JIC (onglet « Test viabilité / Nouveau ») afin de pouvoir générer le calcul du taux de « viabilité ». Les données sont également reportées sur la fiche de suivi (rubrique « Viabilité »).



Photo n° 17 : graine viable



Photo n° 18 : graine non-viable

6 – Préparation des lots de semences pour le conditionnement

1 – Objectif

Cette étape consiste à répartir les lots de semences entre les différents types de stockage en fonction des effectifs du lot et des objectifs envisagés pour la récolte.

2 – Etudes préalables

Avant de conditionner les semences, il faut s'assurer, grâce aux sources bibliographiques à disposition (voir annexe B), que les semences sont *orthodoxes*, c'est-à-dire qu'elles peuvent être déshydratées sans dommage puis entreposées pendant de longues périodes à basse température. Dans le cas contraire, il s'agit de semences récalcitrantes ou intermédiaires. Il faut alors documenter les meilleures conditions de stockage et prévoir une procédure à part (taux d'humidité et température de stockage différents). Ce cas est très rare car la grande majorité des espèces cible produit des semences orthodoxes. Pour certains taxa, la biologie des semences est mal connue et peut poser problème. Certaines semences ont une « viabilité » naturelle très courte. Parmi les espèces cibles de la Banque de semence des CJB, les *Typhaceae*, les *Orchidaceae* ou les *Orobanchaceae* sont des exemples à étudier avant stockage. Sans données existantes, la procédure standard est appliquée. Des recherches particulières sont envisagées dans la mesure du possible.

3 – Méthode (voir schéma n° 4, p. 49)

Lors de cette étape, les différentes données concernant le lot traité et son nettoyage, les informations saisies sur la fiche de suivi du lot, seront également enregistrées dans le SIBG - JIC (onglet : « Edition du lot de graines »).

- A. Répartition des semences d'un lot entre différents types de stockage** (voir tableau n° 2 , p. 47) : suite à la réalisation du *test de « viabilité »* (voir I - Introduction - *Test de « viabilité »*, p. 14), le nombre total de graines considérées comme viables est défini selon la formule ci-dessous :

$$\text{Nombre total de graines viables} = \% \text{ graines viables} \times \text{Nombre total de graines}$$

C'est à partir du nombre de graines total et du nombre de graines viables à disposition que l'on va pouvoir définir le nombre de tubes et leur répartition entre les différents types de collection.

1. **Les collections « longue durée » (LD)** sont destinées à une conservation longue et ne sont pas manipulées, sauf exception. Elles sont prioritaires. Pour une question de sécurité, cette collection est séparée en deux parties égales :

- la chambre de congélation des CJB (**collection LD_{CJB}**);
- la chambre de congélation des collections de plantes cultivées de l'Agroscope de Changins (AC) à Nyon (**collection LD_{AC}**);
- pour certains projets, le lot dédoublé peut être stocké à un autre emplacement que l' AC. P. ex. : les lots des projets financés par le « **MSB** » sont pour moitié stockés dans leur locaux (Royal Botanic Gardens, Kew).

2. **Les collections « courte durée » (CD et TG)** se répartissent en deux :

- **collection TG** : les graines sont destinées aux tests de germination (voir protocole n° 10 - *Tests de germination*, p.66);
- **collection CD** : les graines sont stockées pour des projets de réintroduction, de renforcement de populations ou pour des cultures *ex situ* de multiplication (voir Annexe J). Les graines de cette collection peuvent parfois être utilisées pour des programmes de recherche sur les conditions de germination concernant certains taxa.

Ces collections « courte durée » ne sont envisagées que si le nombre de graines est suffisant. Lorsque l'effectif est vraiment très réduit (< 100 graines viables), l'ensemble du lot est conditionné en « courte durée ». Il est alors destiné à une culture de multiplication *ex situ* afin de produire d'avantage de semences que le nombre initialement récolté.

Selon notre procédure de routine (voir protocole n° 10 – *Tests de germination*, p. 66), la **collection TG** comprend 150 graines, ce qui permet de réaliser, pour chaque lot, un test de germination incluant 3 réplicats de 50 graines chacun. Lorsque le nombre total de graines viables du lot est inférieur à 3000 graines, la collection **TG** du lot est diminuée en conséquence et se compose de :

- 50 graines, si le nombre total de graines viables est compris entre 500 et 3000;
- aucune graine, si le nombre total de graines viables est inférieur à 500.

Tableau n° 2 : Répartition des semences dans les collections en fonction du nombre total de graines et du nombre de graines estimées viables

Nombre total de graines	<i>Nb gr. < 100</i>	<i>100 < Nb gr. < 500</i>		<i>Nb gr. > 500</i>	
Test de viabilité	Aucun	10% de l'effectif		50 graines	
Nombre de graines viables	/	<i>Nb gr. V < 100</i>	<i>100 < Nb gr. V < 500</i>	<i>500 < Nb gr. V < 3000</i>	<i>Nb gr. V > 3000</i>
Test de germination	Aucun		Aucun	50 gr. (2 x 25 gr.)	150 gr. (3 x 50 gr.)
Répartition des graines	Totalité du lot en CD pour multiplication		Uniquement LD (LD _{CJB} & LD _{AC})	- TG : 50 gr. - LD _{CJB} : 1/3 (Total -50) - LD _{AC} : 1/3 (Total -50) - CD : 1/3 (Total -50)	- TG : 150 gr. - LD _{CJB} : 1/3 (Total -150) - LD _{AC} : 1/3 (Total -150) - CD : 1/3 (Total -150)

B. Répartition dans les contenants : afin de déterminer le nombre de tubes nécessaires pour contenir le lot, on procède empiriquement. Le contenu d'un tube est évalué en tenant compte du nombre total de semences, de leur taille et du volume à disposition. Chaque tube est rempli en prévoyant un espace vide de 4 cm à l'extrémité, en prenant en compte un minimum de 1 cm de coton hydrophile et environ 1 cm pour l'étiquette « intra-tube » et le Silica gel (voir la phase de préparation des tubes p. 55). Cette estimation permet de définir le nombre de tubes nécessaires en fonction des différents types de stockage. En saisissant le nombre de tubes nécessaires dans le système, celui-ci calculera alors automatiquement le nombre de semences par tube. Le contenu destiné à chaque tube est réparti à parts égales dans un nombre équivalent de récipients adéquats (boîtes de Pétri en verre borosilicaté), qui sont ensuite déplacés dans la chambre sèche en vue du conditionnement du lot. Une fois les graines réparties équitablement, elles sont prêtes pour le transfert dans les tubes, qui seront scellés dans la chambre sèche. Les données concernant la répartition des graines dans les tubes sont reportées sur la fiche de suivi sous la rubrique « Répartition » (type de stockage, nombre de tubes, nombre de graines).

C. Impression des étiquettes : deux étiquettes sont produites afin d'assurer la traçabilité des tubes : l'une dénommée « intra-tube », destinée à être placée à l'intérieur des tubes, l'autre appelée « extra-tube », destinée à être collée directement sur le tube (photos n° 19 & 20).

Les informations inscrites sur ces 2 étiquettes sont :

- « intra-tube » : le n° SA;
- « extra-tube » : le n° SA, le code-barres correspondant, le nom latin de l'espèce, la date de conditionnement et le n° du tube.

Les tubes « courte durée » sont identifiés par le code « **CD** », ceux qui sont destinés aux tests de germinations par le code « **TG** » et les lots de conservation « longue durée » par l'absence d'indication. L'impression des étiquettes se fait à partir du SIBG - JIC en sélectionnant l'icône appropriée : avec le pictogramme de droite (T), le nombre d'étiquettes « intra-tube » est généré pour l'ensemble des tubes; avec le pictogramme de gauche (E), ce sont les étiquettes « extra-tube » qui sont générées.



Photo n° 19 (gauche): étiquette « intra-tube »
Photo n° 20 (droite): étiquette « extra-tube »



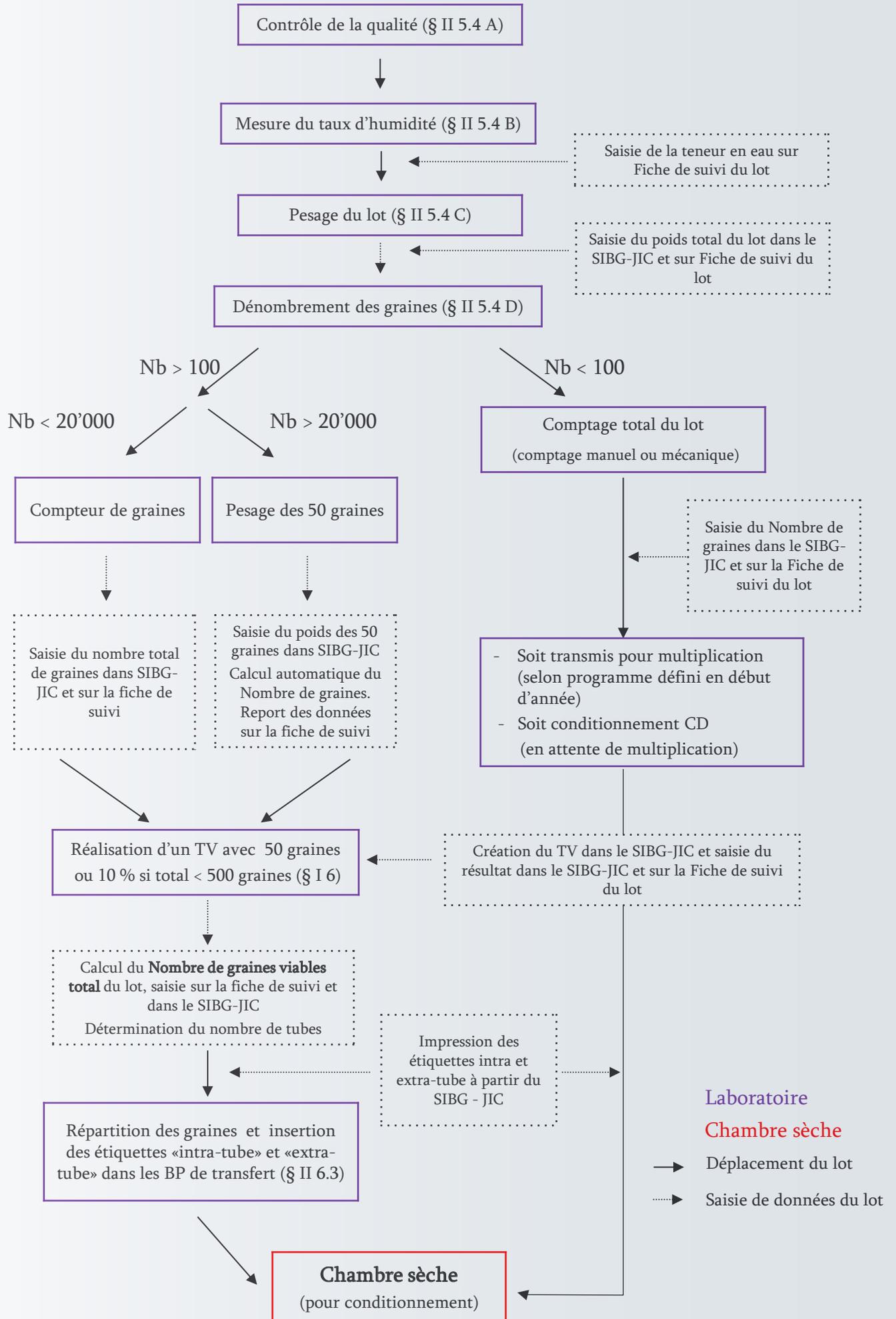
Il est important de planifier la répartition des semences entre les tubes avant l'impression des étiquettes.

Une fois le type d'étiquette choisi, l'imprimante est sélectionnée :

- « Brother PT 9700 PC (intra tube) » pour les étiquettes « intra-tube »;
- « Brother PT 9700 PC » pour les étiquettes « extra-tubes ».

Après avoir vérifié que l'imprimante « Brother » est sous tension (voyant vert allumé) et que le ruban 18 mm est correctement introduit, l'impression peut être lancée.

Schéma n° 4 : contrôle et préparation des lots pour le conditionnement



Les étiquettes « intra-tubes » sont immédiatement réparties dans les boîtes de Pétri en verre borosilicaté à raison d'une par coupelle, ceci pour ne pas perdre l'information liée à chaque échantillon. Les étiquettes « extra-tubes » accompagnent les lots pour être ensuite collées sur les tubes après que ceux-ci aient été scellés.

D. Préparation des lots dans la chambre sèche : une fois les échantillons préparés dans les BP et les deux types d'étiquettes imprimés, l'ensemble est déplacé dans la chambre sèche pour le conditionnement proprement dit. Les échantillons en attente de conditionnement (photo n° 21) sont stockés sur la table de travail de la chambre sèche.



Photo n° 21 : échantillons en attente de conditionnement



Photo n° 22 : sonde hygrométrique



Photo n° 23 : armoire de dessiccation

7 – Conditionnement des lots de semences

1 – Objectif

Le conditionnement correspond à *l'ensemble des processus visant à introduire les semences dans un contenant scellé hermétiquement pour la conservation*. Cette étape permet d'isoler les semences afin de prévenir leur contamination et de les maintenir à un niveau d'humidité et de température constant.

2 – Locaux et matériels

La *chambre sèche* est un local à atmosphère contrôlée. Il s'agit d'une ancienne chambre frigorifique, située au sous-sol dans le laboratoire de conservation, dont le taux d'humidité est contrôlé par deux cellules de séchage de l'air (déshumidificateurs). Ils sont installés dans le local technique jouxtant le laboratoire. Ces deux déshumidificateurs fonctionnent alternativement toutes les 12h : si l'un d'eux tombe en panne, l'autre prend automatiquement le relais. Les appareils sont réglés pour que règne dans la chambre sèche:

- une humidité relative (rH) moyenne d'environ 15%;
- une température d'environ 20 °C.

Le confinement est réalisé dans une *double enceinte de sécurité*. La première est constituée par des tubes en pyrex scellés à la flamme, contenant un peu de Silica gel de type « Self indicating Orange to green Silica gel ». Ce Silica gel, stocké dans la chambre sèche (environ 15% de rH) sert à tamponner l'humidité en cas de perte d'étanchéité. Grâce à sa propriété de changer de couleur en fonction du taux d'humidité, il est également un bon indicateur visuel de l'humidité relative au sein du tube (voir échantillon étalon – photo n° 25). L'enceinte extérieure est constituée par des bocaux de type « conserve » de 1.5 litre avec joint étanche de la marque « Le Parfait » (photo n° 24), contenant du Silica gel qui sert d'indicateur du taux d'humidité. Ce lit de Silica gel d'environ 5 cm d'épaisseur sert également de stabilisateur pour les éprouvettes qui y sont entreposées et tamponne un éventuel excès d'humidité.

Liste du matériel:

- plan de travail;
- ordinateur permettant la prise de données, connecté au réseau;
- différents types de coupelles et contenants (photo n° 26);
- tubes à essai en pyrex à paroi épaisse (180 x 18 mm);
- bocaux de marque « Le Parfait » pour stockage des tubes (photo n° 24);
- support en bois pour les tubes;
- Silica gel de marque « GeeJay Chemicals Ltd. » de deux types : blanc (non indicateur du taux d'humidité) et coloré (indicateur du taux d'humidité variant de l'orange au vert, photo n° 25);
- coton hydrophile;
- entonnoir en verre borosilicaté sur support métallique (photo n° 27);
- instruments de laboratoire : pincette longue pour les étiquettes « intra-tubes » (25 cm)
- pincette pour le scellage, tige borosilicatée aplanie (pour le tassage des matériaux dans les tubes à essai), coupe-tube et briquet;
- caisses et étagères pour stocker les lots de semences;
- chalumeau et bonbonnes de gaz de propane et de dioxygène avec détendeur;
- lunettes de protection (photo n° 28);
- sondes « Rotronic » pour le contrôle de l'humidité et de la température ambiante;
- récipient pour recevoir les déchets de verre, p. ex. produits par le scellage des tubes;
- aspirateur;
- bacs plats pour l'entreposage du Silica gel en couche fine afin qu'il atteigne le taux d'humidité relative de la chambre sèche;
- 2 armoires de dessiccation;
- lecteur de code-barres.



Photo n° 24: bocal de marque « Le Parfait »

Test des bocaux:

L'étanchéité des bocaux utilisés pour le stockage doit être vérifiée régulièrement. A cette fin, un bac est à disposition dans le local technique. Le bocal à tester doit être rempli de Silica gel à 0%, c'est-à-dire sec, bien refermé et placé au fond du bac dans l'eau, de manière à ne pas flotter. Il est alors testé durant une période d'un mois au minimum. A chaque livraison de nouveaux bocaux, un test d'étanchéité doit être effectué. En effet, des différences de fabrication entre les lots de matériel sont très souvent constatées.

3 - Méthode

- A. Généralités :** étant donné les conditions climatiques régnantes à Genève, l'usage d'une chambre sèche est indispensable pour le séchage des semences : elle permet la dessiccation de celles-ci après maturation. Les semences y sont entreposées avant et après nettoyage et peuvent y rester pendant plusieurs mois.



Photo n° 25 : échantillon étalon de Silica gel coloré



Photo n° 26 : coupelles



Photo n° 27 : entonnoir en verre borosilicaté

Les conditions de séchage des semences sont déterminées selon une méthode standard présentée dans le « ENSCONET Curation Protocol & Recommendation » et en utilisant les dernières données issues de la recherche. Une **humidité ambiante relative de 15%** est recommandée, ce qui correspond, selon le taux de matière grasse de la semence, à un taux d'humidité des graines de 3,5 à 6,5%. Le séchage doit être effectué à une température comprise entre 10 et 20 °C.

La durée de dessiccation nécessaire pour chaque espèce est inconnue : elle dépend du taux d'humidité de la graine lors de son arrivée, de ses propriétés morphologiques et physiologiques et du taux d'humidité régnant dans la chambre sèche. **Une période standard de 4 semaines de déshydratation** en chambre sèche à 15% d'humidité relative après maturation est considérée comme appropriée.

La méthode du **double conditionnement** (deux enceintes de sécurité) est appliquée aux CJB : après séchage, les semences sont conditionnées directement dans la chambre sèche, dans des **tubes en verre scellés à la flamme**. L'utilisation d'un mélange de gaz propane et de dioxygène est nécessaire pour former une flamme bien dirigée et ainsi faire fondre les tubes en pyrex. Les tubes scellés sont ensuite placés dans un **bocal à fermeture hermétique**. Cette double enceinte est suffisante puisque le tube scellé à la flamme est totalement hermétique pour autant que le scellage soit correctement effectué.

B. Marche à suivre :

1. Préparation du local : avant de pénétrer dans la CS pour réaliser une session de conditionnement, la lampe témoin, située à droite du local, doit être actionnée (celle-ci indique que la lumière est allumée dans la CS et s'éteindra au bout de 2h, signifiant ainsi que l'on doit quitter les lieux). L'espace de travail doit être propre avant les opérations de conditionnement (aspiration du plan de travail avant chaque session et entre chaque lot). Un contrôle de l'outillage est également réalisé (présence de tubes en suffisance, des pincettes, des lunettes de protection, etc.).

La saisie des données est effectuée directement dans le SIBG - JIC. Pour ce faire, un poste de travail est à disposition dans la chambre sèche. **Ce poste informatique doit rester allumé en permanence** pour permettre l'enregistrement des données des sondes (température et humidité) en temps réel. Une session spécifique qui ne doit pas être modifiée est prévue à cet effet.

2. Préparation des lots dans les tubes : afin d'éviter des mélanges, on ne traite qu'un lot à la fois. Une dizaine de tubes à sceller en pyrex, entreposés sur des supports en bois, sont préparés pour le conditionnement des semences : on y insère quelques millimètres de *Silica gel coloré* puis du *coton hydrophile* non tassé sur 1 cm environ (photo n° 29). Après remplissage, ils sont mis en attente sur des supports en bois (photo n° 36).

Dans le SIBG - JIC, le numéro de spécimen acquis (SA) du lot à traiter est recherché à partir du code-barres qui figure sur les étiquettes déposées préalablement dans des coupelles (utilisation d'un lecteur de code-barres). Une vérification des champs concernant la gestion du lot est effectuée (date d'entrée en chambre sèche, date de nettoyage du lot, nettoyeur, nombre de graines disponibles pour le test de germination et pour le test de « viabilité », date de conditionnement du lot). Après cette vérification, les tubes sont traités un à un, sur la place de travail :

1. les semences, déposées en attente dans les coupelles, sont introduites dans un tube à l'aide d'un entonnoir fixé à un support, au contact direct du coton hydrophile. Après introduction des semences, il doit demeurer un espace terminal vide de 4 cm à l'extrémité du tube (voir figure n° 3);
2. du *coton hydrophile* est ensuite introduit et tassé au moyen d'une tige borosilicatée aplatie (minimum 1 cm d'épaisseur de coton tassé);
3. quelques millimètres de *Silica gel* sont ajoutés;
4. l'*étiquette « intra-tube »* est insérée dans le tube;
5. le tube ainsi prêt à être scellé à la flamme (photo n° 30) est déposé sur un porte-éprouvettes.

3. Scellage des tubes : seule une personne ayant suivi une formation d'environ 2h avec les responsables du laboratoire sont habilitées à réaliser cette opération. On utilise un mélange de gaz propane et d'oxygène afin de produire une flamme de température suffisamment élevée.

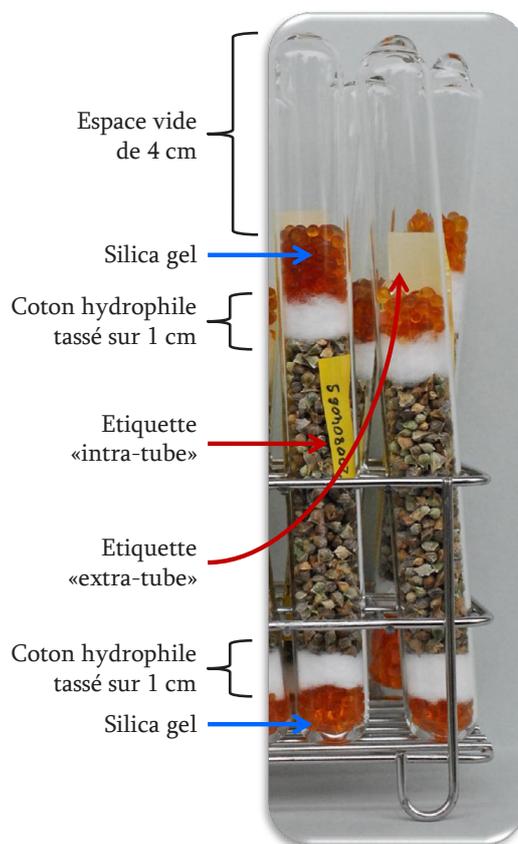


Figure n° 3 : remplissage des tubes

Précautions d'usage



- cette manipulation comporte des **risques d'inflammation et de brûlures graves**;
- ne jamais souder un tube sans avoir été formé et avoir testé l'opération sur un tube vide;
- vérifier que rien ne se trouve dans le périmètre de la flamme;
- vérifier que les **lunettes de protection** et les différents outils soient prêts;
- **obligatoire** : porter les lunettes de protection (photo n° 28).

Déroulement du scellage :

1. ouvrir le robinet de la bouteille de gaz propane au maximum;
2. allumer la flamme à l'aide d'un briquet, puis ouvrir le robinet de la bouteille d'oxygène très doucement (mm par mm) jusqu'à ouverture complète. La flamme doit bleuir (photo n° 32) sans s'éteindre. **Si la flamme s'éteint, rallumer immédiatement ou couper le gaz**;
3. la flamme est préréglée; elle doit être de couleur bleue à blanchâtre, d'une longueur inférieure à 10 cm. Si ce n'est pas le cas, il faut alors effectuer des réglages de l'alimentation en gaz, à l'aide des molettes (photo n° 33);
4. saisir un tube par le milieu, à l'extrémité des doigts de façon à pouvoir le faire tourner, l'ouverture vers la flamme (photo n° 34);
5. chauffer progressivement l'extrémité ouverte (à 2-3 cm du sommet);
6. une fois le tube préchauffé, le placer à la pointe de la zone « blanche » de la flamme en tournant le tube continuellement. Lorsque le verre rougit et se déforme, saisir l'extrémité avec la pincette et l'étirer légèrement en tournant doucement de manière à ce que la partie supérieure du tube se ferme complètement (photos n° 31 & 35);
7. retirer progressivement le tube de la flamme et déposer les résidus de pyrex sur le plan de travail ignifugé;
8. placer le tube sur le porte-éprouvettes (photo n° 36) pour refroidissement (**attention, risque de brûlure**);
9. après refroidissement du tube, coller l'étiquette «extra-tube», de manière à pouvoir lire le nom du haut vers le bas du tube;
10. une fois l'ensemble des tubes scellés, les résidus de pyrex sont stockés dans le bac prévu à cet effet.

Il arrive parfois que les tubes se fissurent quelques jours après le scellement. Ils sont donc stockés en chambre sèche pendant une période minimale d'une semaine, ce qui permet de vérifier leur étanchéité et, dans le cas de rupture du tube, de maintenir les graines contenues dans les conditions d'humidité de la chambre sèche avant de réitérer le scellage du tube.

Une fois le scellage des tubes accompli, les fiches de suivi des lots sont rassemblées et stockées par ordre alphabétique dans une boîte désignée à cet effet dans la CS.

4. *Rangement des tubes* : les tubes sont déposés dans un bocal numéroté (voir protocole n° 8 – *Conservation des lots*, p. 61). Le numéro du bocal, attribué à chaque tube, est saisi dans le SIBG - JIC dans l'onglet : « Edition d'un sachet/tube pour le spécimen acquis ».

Chaque bocal est rempli d'une couche de **5 cm de Silica gel** (50% blanc / 50% coloré). Cette couche sert d'indicateur d'humidité et de support pour stabiliser les tubes dans le bocal. Un **maximum de 18 tubes** est stocké par bocal. Lorsque le bocal est rempli, il est déposé sur l'étagère étiquetée « Prêt pour la conservation ». Le bocal reste stocké quatre semaines dans la chambre sèche pour vérifier son étanchéité.

5. *Fin du travail de conditionnement* : avant de quitter la CS, il faut veiller à ce que les **bombonnes de gaz propane et d'oxygène soient correctement fermées**, et que le matériel soit rangé. La chambre sèche doit être nettoyée **à la fin de chaque séance** de travail.



Photo n° 28 : lunettes de protection



Photo n° 29 : tubes préparés pour le conditionnement



Photo n° 30 : tube rempli, prêt pour le scellage



Photo n° 31 : tubes scellés

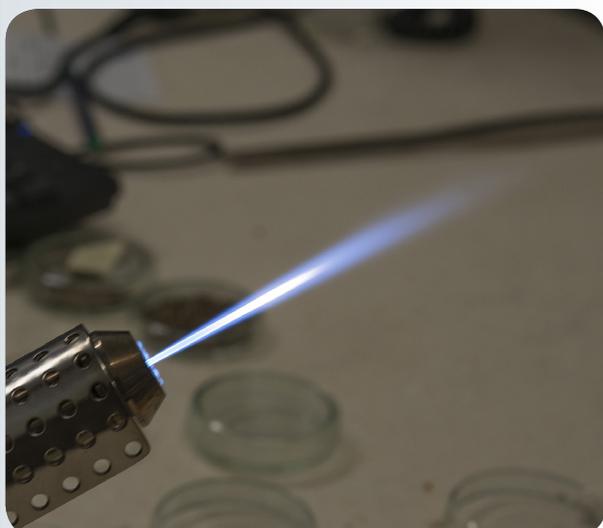


Photo n° 32 : flamme idéale du chalumeau



Photo n° 33 : molettes de réglage de la flamme



Photo n° 34 : saisie correcte du tube lors du scellage



Photo n° 35 : scellage du tube

F. Sécurité : dès que le taux d'humidité dans la chambre sèche atteint la valeur seuil inférieure à 10%, le déshumidificateur s'arrête de fonctionner et se réenclenche lorsque cette valeur remonte au-dessus de 18%.

Une **alarme** se déclenche si le **taux d'humidité dépasse le seuil critique de 30%**. Il en est de même en cas de coupure de courant sans redémarrage des déshumidificateurs. Etant donné que le scellage à la flamme a lieu dans ce local et que ce dernier consomme l'oxygène présent dans le local, un système d'apport d'air externe a été installé pour la sécurité de l'utilisateur. **Pour des raisons de santé, le temps passé par un collaborateur dans la CS est strictement limité à 2 heures consécutives.**

Des sondes hygrométriques de marque « Rotronic » installées dans la chambre sèche (photo n° 22) assurent un contrôle continu du taux d'humidité relative et de la température. Ces données sont visibles par le biais d'un logiciel spécifique : « HW4 ». Un logger externe de marque « Rotronic », situé à l'extérieur de la chambre sèche, enregistre en permanence ces données. Elles sont également lisibles sur l'écran de l'appareil. Elles sont accessibles sur le réseau informatique dans le dossier « ROTRONIC » qui se trouve sous : « S:\CoSI\2-Groupe Conservation\Labo conservation\B - Banque de semences\2 - Gestion BS\1 - Contrôles\relevé testeurs\ ». **Le poste informatique de la CS doit donc rester allumer en permanence.**

Le **taux de CO₂** est également mesuré à l'aide d'un capteur situé dans la chambre sèche (photo n° 22). Ces **données ne sont pas enregistrées**. Une alarme sonore se déclenche lorsque la valeur mesurée atteint 1400 ppm. La **valeur limite d'exposition du CO₂ est de 5000 ppm** (SUVA 1903.f). L'inhalation d'air contenant des concentrations plus élevées peut provoquer les troubles suivants :



- **10'000 ppm** (1%) : gêne respiratoire;
- **20'000 ppm** (2%) : maux de tête et signes de fatigue au bout de quelques heures;
- **30'000 ppm** (3%) : la respiration devient difficile, maux de tête, diminution de l'acuité auditive;
- **entre 50'000 et 100'000 ppm** (5 - 10%) : respiration très difficile, la vue se brouille et les oreilles sonnent, perte de conscience possible en quelques minutes;
- **au dessus de 100'000 ppm** (> 10%) : perte de conscience rapide **qui peut aboutir à la mort.**

Un interrupteur pour la lumière se trouve à l'extérieur et est muni d'un témoin lumineux qui indique la présence éventuelle d'une personne dans la CS.

En cas de problème, ***il faut immédiatement aviser les entreprises concernées.*** En cas ***d'augmentation non contrôlée du taux d'humidité, les échantillons non conditionnés doivent alors être entreposés dans les armoires de dessiccation*** de la chambre sèche avec du Silica gel (photo n° 23). Le taux d'humidité dans ces armoires est contrôlé au moyen d'un hygromètre de marque « Tynitag » placé à l'intérieur. En cas de nécessité, les fours situés dans le local technique de marque « JAR S10 » permettent de sécher le Silica gel.



Photo n° 36 : support en bois pour les tubes

8 – Conservation des lots de semences

1 – Objectif

Le stockage vise à conserver les semences le plus longtemps possible, au plus proche de leur état initial. Les lots sont en général conservés plusieurs dizaines d'années. Il est communément admis que le succès du stockage dépend des trois facteurs principaux suivants :

1. le degré initial d'humidité de la semence;
2. la qualité de la semence au moment de la récolte;
3. la température de stockage, combinée avec le degré d'humidité relative.

Pour des semences orthodoxes, conservées entre 0 °C et 50 °C, avec une humidité relative (rH) de 5 à 14%, les lois de Harrington (1972) prédisent un doublement de la longévité de la semence lorsqu'on baisse la température de 5 °C et la rH de 1% (Ellis & Roberts, 1980; Ellis & Roberts, 1998; Roberts & Ellis, 1989; Pritchard & Dickie, 2003). La théorie actuellement admise parle de 200 à 300 années de conservation possible (Pritchard & Nadarajan, 2008).

Ainsi, certains contrôles et le suivi des lots devront être effectués durant plusieurs dizaines d'années. Ce qui implique de disposer d'infrastructure pérennes et d'une organisation qui peut être transmise dans le temps lors d'éventuels changements de collaborateurs.

2 – Liste du matériel

- bocaux de marque « Le Parfait » pour le stockage des tubes (photo n° 24);
- Silica gel de marque « GeeJay Chemicals Ltd. » de deux sortes : blanc (non indicateur du taux d'humidité) et coloré (indicateur du taux d'humidité variant de l'orange au vert);
- vêtements contre le froid (vestes, bonnets et gants).

3 – Méthode

Le stockage à court ou long terme des semences conditionnées s'effectue suite à ***un contrôle final de l'ensemble des données liées à chaque bocal. Il est réalisé conjointement par deux personnes 2 à 3 fois par an.*** Il s'agit de valider la cohérence des informations du SIBJ - JIC avec les données inscrites sur l'étiquette de chaque tube et de chaque bocal. Lors de ce contrôle, la « date de vérification » est saisie dans le SIBG - JIC. Une fois la vérification effectuée, les bocaux sont déplacés dans leur lieu de stockage. Pour une question

de sécurité, la collection longue durée est dédoublée : la première moitié des lots (collection « **LD_{CJB}** ») est stockée aux CJB, et la seconde moitié (collection « **LD_{AC}** ») est généralement stockée à l'Agroscope de Changins à Nyon. Lorsque le nombre de tubes est impair, le stockage « **LD_{CJB}** » est privilégié.

A. Lieux de stockage : aux CJB, le lieu de stockage principal est la *chambre de congélation*. Il concerne les collections « **LD_{CJB}** » et « **CD** ». Le dédoublement de la collection longue durée (collection « **LD_{AC}** ») est actuellement stocké dans la chambre de congélation des collections de plantes cultivées de l'AC à Nyon. La collection « **TG** » est, quant à elle, stockée dans un congélateur spécialement dédié à cette collection. Il se trouve dans le laboratoire de conservation. Pour certains projets particuliers, le dédoublement de la collection longue durée peut se faire à d'autres emplacements et suit alors la procédure utilisée par l'institution partenaire destinataire du lot dédoublé.



Photo n° 37 : étiquetage des différents bocaux pour le stockage des tubes

B. Conditions de stockage : les bocaux contenant les semences déshydratées sont entreposés à -18 °C soit dans des congélateurs, soit dans la chambre de congélation (principal lieu de stockage). Bien que ces conditions ne soient pas idéales pour toutes les espèces, il semble néanmoins qu'elles soient favorables à une conservation à long terme pour une grande majorité d'entre elles. Un taux d'humidité relative trop élevé (supérieur à 40%) ou une température trop basse (inférieure à - 35 °C) diminue la survie à long terme de la plupart des graines (Hong *et al.*, 1996).

C. Rangement des bocaux : la numérotation alpha-numérique inscrite sur le bocal correspond au type de stockage et à son emplacement (photo n° 37) :

1. Stockage longue durée

a. Numérotation des bocaux pour le stockage des collections « **LD_{CJB}** » : **CEx**

C : identifiant de la colonne du rayonnage de stockage

code numérique allant de 1 à 11

E : identifiant de l'étagère du rayonnage de stockage

code alphabétique allant de A à G

x : numéro du bocal allant de 1 à 18

Exemple dans la photo n° 37: le bocal identifié par le code «1E1» est un bocal contenant des collections «**LD_{CJB}**» stocké dans la colonne 1 et sur l'étagère 1 des rayonnages.

b. Numérotation des bocaux pour le stockage des collections « **LD_{AC}** » : **Cx**

Contrairement cas des bocaux stockés aux CJB, on ne fait pas ici référence à un lieu de stockage précis: chaque bocal est simplement numéroté au fur et à mesure de leur création.

C : correspond à « Changins »

x : numéro du bocal allant de 1 à ∞

Les bocaux de la collection « **LD_{AC}** » sont régulièrement livrés à l'AC où deux rayonnages sont actuellement occupés par la collection des CJB. Les collaborateurs des CJB sont accompagnés par ceux de l'AC lors de la livraison des bocaux « **LD_{AC}** ». Le rythme d'intégration des collections nécessite au moins une visite par année. Lorsque les bocaux sont livrés à l'AC, une liste des acquisitions est fournie (voir annexe J) à la personne de contact. Il s'agit actuellement de Madame Beate Schierscher-Viret, responsable du projet Biodiversité des plantes cultivées dans la section Ressources phylogénétiques (joignable au 022 363 47 26).

2. Stockage courte durée : les lots «courte durée» se répartissent en deux collections ayant chacune leur propre numérotation. Les bocaux « **TG** » sont stockés dans le congélateur du laboratoire de conservation tandis que les bocaux « **CD** » sont stockés dans un meuble à part situé dans la chambre de congélation des CJB.

a. Numérotation des bocaux pour le stockage des lots « **TG** » : **TGx**

x : numéro du bocal allant de 1 à ∞

Exemple dans la photo n° 37: le bocal identifié par le code «TG17» est le 17ème bocal contenant des lots destinés aux tests de germination

b. Numérotation des bocaux pour le stockage des lots « **CD** » : **CDtx**

t : identifiant du tiroir

x : numéro du bocal allant de 1 à 12

Exemple dans la photo n° 37: le bocal identifié par le code «CDc18» est un bocal contenant des lots «courte durée» stocké dans le tiroir c et portant le numéro 18

D. Vérification du conditionnement : lorsque de nouveaux bocaux sont transférés dans une chambre de congélation (collections « **LD_{CJB}** », « **LD_{AC}** » et « **CD** ») ou dans le congélateur (collection « **TG** »), une vérification visuelle (coloration du silica gel) des bocaux déjà stockés est réalisée. Lors de ce transfert, la « date de mise en congélation » est saisie dans le SIBG - JIC (onglet « Bocal / Edition »). Au bout de quelques années, 6 à 8 ans, les joints des bocaux doivent également être contrôlés et changés si nécessaire. Cette opération nécessite le rapatriement du bocal en CS. Il faut laisser le bocal se réchauffer pendant 12h, puis changer le joint, vérifier le silica gel, refermer le bocal et le remettre en place. Pour sélectionner les bocaux à vérifier, la date d'entrée dans le congélateur fait foi.

9 – Déstockage et réhydratation des lots de semences

1 – Objectif

Le déstockage des lots doit permettre l'utilisation des semences stockées: le but de cette procédure est donc de préserver leur état de viabilité et leur intégrité génétique.

Cette étape est risquée et ne doit en aucun cas aboutir à une détérioration du lot. C'est pourquoi chaque décongélation ne doit avoir lieu que pour une raison bien déterminée et être planifiée à l'avance.

2 – Méthode

Après le choix des lots à décongeler, en général des « TG » ou des « CD », exceptionnellement des « LD », le bocal les contenant doit être localisé. Ce bocal doit être prélevé dans le congélateur concerné et amené directement en CS pour y *être laissé 12 h* afin qu'il atteigne la température ambiante, soit environ 18 °C. Une ouverture précoce du bocal pourrait porter atteinte aux semences en raison de la glace qui se formerait sur les parois de celui-ci. Le bocal est ensuite ouvert avec précaution et les tubes recherchés sont extraits et déposés sur des supports. Les autres tubes contenus dans le bocal sont également vérifiés (étiquetage, Silica gel) et éventuellement retirés en cas de problème, afin de les reconditionner. Une fois le Silica gel renouvelé et le joint vérifié, le bocal est refermé, puis disposé sur l'étagère étiquetée « Prêt pour la conservation » (voir protocole n° 7 – *Conditionnement des lots de semences*, p. 57). Toutes ces opérations de manipulation des bocaux et des tubes (entrée ou sortie du congélateur, de la CS, etc.) sont consignées dans le SIBG - JIC. Ainsi, la date et la nature de chaque manipulation sont enregistrées pour chacun des tubes et des bocaux et peuvent être retracées. Une fois amenés à la bonne température, les tubes sont déplacés dans le local technique. Ils sont ensuite délicatement ouverts à l'aide d'une mini disqueuse de marque « DREMEL ». «Les semences sont laissées à température et humidité ambiante pendant 48h afin de permettre leur lente réhydratation. Une utilisation trop rapide des semences prêterait leur germination (réhydratation trop rapide). Si l'humidité ambiante dans le local technique est trop basse (< 50%), il faut alors éviter de réhydrater les lots à ce moment-là.

Les semences provisionnées pour les tests de germination sont ensuite traitées selon les procédures définies dans le protocole n° 10 – *Tests de germination*, p. 66. Les semences destinées à la multiplication des lots ou à d'autres projets, tels que des projets de réintroduction, sont quant à elles confiées aux jardiniers du secteur « Rocailles & Conservation » (voir Annexe J).

10 – Tests de germination

1 – Objectif

L'objectif de ce protocole est d'obtenir, en combinaison avec les résultats du « test de viabilité » effectué lors du protocole n° 5 – *Contrôle des lots de semences*, p. 40, une estimation du taux de viabilité des lots de semences conservés au froid dans le congélateur. Une graine est considérée comme viable lorsqu'elle présente les caractéristiques morphologiques et physiologiques permettant sa germination (Roberts, 1973).

Actuellement, les tests qualitatifs décrits dans ce protocole visent à évaluer d'une part la « viabilité » des semences d'un lot, d'autre part leur capacité germinative. Ces tests permettent d'estimer la proportion de graines contenues dans un lot capables de germer pour produire éventuellement un nouvel individu. Il existe d'autres tests pour déterminer certaines caractéristiques morphologiques et physiologiques des semences. Cependant, des recherches physiologiques plus poussées sur les lots (type de dormance, conditions de germination optimales, etc.) ne peuvent faire partie des procédures de routine dans le contexte actuel.

2 – Généralités

A. Viabilité des lots avant conditionnement : elle est définie dans nos procédures comme *le nombre de semences d'un lot apparemment viables et susceptibles de donner naissance à une plantule* (ENSCONET, 2009b).

Aux CJB, le test principal utilisé pour évaluer cette viabilité est le « cut-test » (protocole n° 5 – *Contrôle des lots de semences*, p. 44). *Il est remplacé par une observation directe* dans le cas de semences ne se prêtant pas à un tel « cut-test » (p. ex. *Typha minima*). En théorie, il est nécessaire de faire des tests de viabilité pour chaque lot de graines. Comme les tests de viabilité détruisent les semences, ils doivent donc être effectués sur des sous-échantillons des lots considérés.

Le « taux de viabilité » (TxV) est le résultat du « cut-test » ou du contrôle visuel pratiqué avant conditionnement et correspond au pourcentage de graines entières apparaissant saines.

B. Viabilité des lots conditionnés : elle est déterminée par des tests de germination de routine, complétés si nécessaire par des tests adaptés aux exigences de l'espèce. D'un point de vue pratique et surtout observable en laboratoire, on définit comme germination la rupture observée des téguments, provoquée par l'allongement de la radicule ou, en l'absence de téguments, de l'allongement de celle-ci (Côme, 1970). On considère donc une semence comme germée lorsque la radicule est visible (GENMEDOC, 2004-2006).

Le « Taux de Germination » (TxG) est le résultat du test de germination : il correspond à la moyenne des pourcentages de graines qui ont germé au terme des traitements effectués pour les différents réplicats (de 1 à 3 réplicats).

C. Estimation de la viabilité des lots : elle est obtenue en combinant les deux résultats « TxV » et « TxG ».

Le « Taux de Germination Pondéré » (TxGP) est le résultat de la pondération du taux de germination (TxG) par le taux de viabilité (TxV). Il constitue l'estimation obtenue pour chaque lot de son taux de viabilité réel tel que défini au paragraphe n° 1 - *Objectifs* de ce protocole, p. 66.

Une seule série de tests de germination est effectuée, après au minimum 6 mois de stockage en chambre froide. Il n'est en effet pas possible, par manque de ressources, d'effectuer deux séries de tests, dont l'une avant stockage. Le but le plus important en termes de conservation étant d'évaluer au plus près les possibilités de germination d'un lot après stockage au froid, le choix s'est porté sur cette solution.

La mise en germination est effectuée dans des séries de boîtes de Pétri (BP) contenant un milieu de culture constitué d'agar-agar 0,7% sans nutriment. Ce milieu ayant tendance à sécher après 4 semaines, on conserve les BP une fois remplies dans des sacs de plastique hermétiquement fermés ou emballées dans un film de paraffine.

Si le nombre de graines disponibles et le temps à disposition le permettent, des tests supplémentaires avec des conditions de traitement différentes peuvent être effectués, selon la bibliographie à disposition. Par exemple, pour la germination des *Orobanchaceae*, des phytohormones sont nécessaires et des essais de germination ont été conduits sur les deux espèces stockées en BS (D'Inverno *et al.*, 2014).

La répartition des semences d'un lot pour les TG se fait de la manière suivante:

Tableau n° 3 : Nombre de graines utilisées dans les TG en fonction du nombre de graines récoltées

Nombre total de graines	<i>Nb gr. < 100</i>	<i>100 < Nb gr. < 500</i>		<i>Nb gr. > 500</i>	
Test de viabilité	Aucun	10% de l'effectif		50 graines	
Nombre estimé de graines viables par le test de viabilité	/	<i>Nb gr. V < 100</i>	<i>100 < Nb gr. V < 500</i>	<i>500 < Nb gr. V < 3000</i>	<i>Nb gr. V > 3000</i>
Test de germination	Aucun		Aucun	50 gr. (2 x 25 gr.)	150 gr. (3 x 50 gr.)

3 - Méthode

A. Recherches bibliographiques : plusieurs bases de données en ligne peuvent être consultées afin de trouver les meilleures conditions possibles à la germination de chaque espèce, en termes de température et de photopériode. Des indications sur le type de prétraitement à envisager afin de lever d'éventuelles dormances sont également répertoriées dans ces bases de données (ENSCONET, Millenium Seed Bank - Kew, Banque de graines Alpes-Méditerranée, GENMEDOC). De plus, l'ensemble des résultats des « TG » effectués aux CJB, ainsi que les conditions et prétraitements appliqués pour chaque espèce sont enregistrés dans un fichier excel stockés sous: S:\CoSI\2-Groupe Conservation\Labo conservation\B - Banque de semences\1 - Tests germination\B - classement - familles (un classeur par famille, une feuille par espèce).

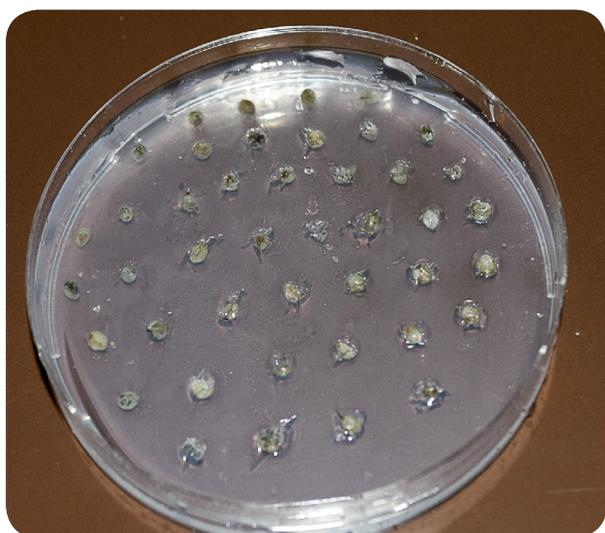


Photo n° 38 : tests de germination au T0

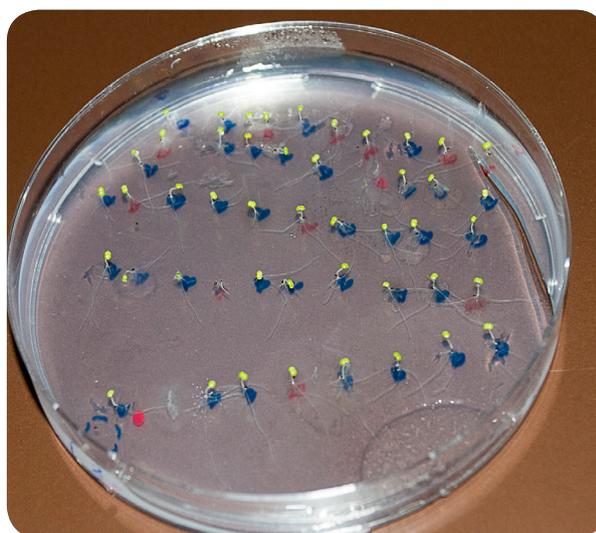


Photo n° 39 : tests de germination au Tfin

- Si la recherche bibliographique a déjà été réalisée, on sélectionne le prétraitement et les conditions de germination (traitement) les plus appropriés.
- Une recherche complémentaire sur les bases de données en ligne (voir la liste des références ci-dessous) doit être effectuée.
- Si aucune donnée n'est présente, il faut réaliser une étude bibliographique (revues scientifiques spécialisées, articles en ligne, etc.). Toutes les données sur des prétraitements et traitements qui apportent des informations utiles sont alors synthétisé par taxon.
- Le prétraitement et les conditions de germination semblant les plus favorables d'après les données bibliographiques sont sélectionnés pour le test.
- Si aucune donnée n'est présente ni dans les fichiers de bibliographie ni après une recherche bibliographique, le « TG » est alors effectué selon les conditions standards (voir p. 71).

Liste des références bibliographiques à consulter obligatoirement :

- Ensconet : <http://enscobase.maich.gr/>
- Kew : <http://data.kew.org/sid/sidsearch.html>
- Endnotes : articles référencés dans notre dossier biblio: « Biblio-Conservation.enl »

B. Comptage et répartition des semences : après ouverture du tube « TG », les semences sont précisément comptées et réparties en deux ou trois réplicats, selon le nombre de graines à disposition (voir tableau n° 3, p. 68).



Les tubes destinés aux « TG » doivent impérativement être sortis du congélateur 24h avant le début du test.

C. Prétraitements : les principaux prétraitements effectués sont:

- la scarification (mécanique ou chimique);
- la stratification (sur substrat humide, frigo à 4 °C);
- le trempage de 24 à 48 h (température variable selon besoins);
- l'exposition à la chaleur (pas fréquent pour les espèces des climats tempérés);
- l'exposition à un produit chimique (acide gibbérellique, nitrate de potassium KNO_3 , etc.);
- l'entreposage dans un sac de polyéthylène hermétique (*Trifolium* spp.);
- l'enlèvement de certaines structures de la semence (élaiosome chez *Melampyrum* spp. p. ex.).

En outre, il est parfois conseillé de stériliser la surface des graines, particulièrement dans le cas des orobanches et des graines qui passent par une phase de stratification ou si les semences sont manifestement infestées par des moisissures. Le but principal étant de prévenir la contamination des cultures par les champignons. **Attention, toutes les graines ne supportent pas la stérilisation.** Il faut donc se renseigner en consultant la littérature.

Un exemple de stérilisation est fourni par Sauer & Burroughs (1986), qui obtiennent de bons résultats avec la pratique suivante :

1. rincer les graines avec de l'éthanol à 70% pendant 30 secondes;
2. immerger les graines dans de l'hypochlorite de sodium (NaClO) à 1% pendant 2 minutes puis agiter;
3. rincer 3-4 fois à l'eau distillée.

L'éthanol permet à l'hypochlorite de sodium de mouiller toute la surface des graines sans qu'il subsiste de bulle d'air microscopique ou anfractuosités qui peut servir de refuge aux spores .

Pour plus de détails sur les méthodes de prétraitement et les familles ou genres concernés, on peut consulter avantageusement les différents manuels de conservation des semences de l'APAT, d'ENSCONET ou de GENMEDOC (Boillot *et al.*, 2007; ENSCONET, 2009b; GENMEDOC, 2004-2006).

D. Mise en BP et étiquetage : les graines sont déposées, sans tri préalable (viables et non viables) sur le support de germination (agar-agar 0,7%) doté ou non de compléments de germination (HCl, acide gibbérellique, etc.).

Si le taux de viabilité du « cut-test » est inférieur à 40% et si les semences sont considérées comme non viables ou ont l'air vraiment mortes (enveloppes vides par exemple), il faut trier les semences et ne semer que celles qui semblent viables (ceci est valable surtout pour des espèces qui produisent un très grand nombre de semences dont beaucoup stériles, comme chez *Typha minima* p. ex.).

Sur la BP, on note:

- la date de début du test;
- le n° de spécimen acquis;
- le nom de l'espèce;
- le n° SIBG - JIC du test,
- le n° de la chambre de culture.

E. Incubation : on place les réplicats dans la chambre de culture réglée selon les conditions de germination choisies. Si les conditions optimales de germination ne sont pas connues pour une espèce donnée on applique les conditions standards soit:

- substrat à l'agar-agar 0.7% en BP;
- photopériode de 12h de jour et 12h de nuit;
- température de 25 °C de jour et 10 °C de nuit.

F. Contrôle et durée des tests : un contrôle des BP est effectué deux fois par semaine en éliminant les graines germées. Dans le cas d'une espèce particulièrement rare et/ou menacée, il peut être décidé de conserver les semences germées et de les transplanter pour une culture *ex situ*. Ceci est rendu possible par l'utilisation d'agar, qu'il est possible de prélever autour de la graine germée.

La durée standard d'un « TG » est de 8 semaines. Passé ce délai et si le taux de germination moyen des réplicats est inférieur à 50%, le test est prolongé de 8 semaines.

Si au bout de 16 semaines le taux de germination est toujours inférieur à 50%, on applique une des options suivantes:

- le test de germination est abandonné;
- les conditions de traitement sont modifiées. Dans ce cas, la durée de prolongement et les conditions de traitement sont à définir au cas par cas. L'option la plus fréquente est de modifier le cycle des températures jour/nuit pour 8 autres semaines;
- s'il s'agit du cas particulier d'une espèce qui nécessite plus de 16 semaines pour germer (telles que certaines *Cyperaceae*), on choisit alors de prolonger le test dans les mêmes conditions de température/photopériode.

G. Saisie des données : après chaque contrôle, les résultats sont saisis dans le fichier excel adéquat. Les fichiers de saisie se trouvent sous : S:\CoSI\2-Groupe Conservation\Labo conservation\B - Banque de semences\1 - Tests germination\A - Classement - Familles (un classeur excel par famille, une feuille par espèce). Dans le cas où les semences ont été triées, c'est-à-dire que seules les semences apparemment saines ont été semées, il faut entrer dans le SIBG - JIC un taux de germination fictif (« $TxG_{\text{trouvé}}$ »*« TxV ») afin que la pondération effectuée automatiquement n'exprime pas un faux résultat.

Dans le cas où il s'avère que le « TxV » a été sous-estimé, les graines ayant été estimées non viables ayant en partie ou en totalité germé lors du « TxG », il faut alors prendre en compte comme « $TxG_{\text{pondéré}}$ » le « $TxG_{\text{trouvé}}$ ». Le « TxV » doit donc être corrigé dans la feuille de calcul excel à 100%.

III

Annexes

Liste des annexes

- A – Lexique
- B – Bibliographie
- C – Acronymes
- D – Extrait de la Stratégie globale pour la Conservation des plantes 2011-2020
- E – Extrait de la Convention sur la diversité biologique
- F – Stratégie européenne de Conservation des plantes
- G – Convention Agroscope ACW
- H – Bordereau de récolte de semences CJB
- I – Bordereau de terrain
- J – Procédure des cultures *ex situ*
- K – Plan des bâtiments

A – Lexique

Le lexique proposé ici est adapté aux thématiques abordées dans cet ouvrage.

Accession: action d'ajouter, acquisition. Correspond ici à un nouveau lot de semences (définition voir ci-dessous).

Akène: fruit sec indéhiscent à graine unique dont l'enveloppe externe (péricarpe) n'est pas soudée à la graine.

Anthropique: qui se rapporte à l'espèce humaine; qui est causé par l'homme ou qui a une origine humaine.

Ecotype: population d'une espèce donnée, qui présente des adaptations à des conditions écologiques particulières. Chez les plantes, l'écotype peut être assimilé à une « variété » naturellement sélectionnée par des conditions locales particulières.

Elaïosome: excroissance charnue attachée aux graines de certaines espèces. Ils sont riches en lipides et en protéines et servent à l'attraction d'agents de dispersion tels que les fourmis (myrmécochorie).

Espèce: dans ce manuel espèce désigne une espèce collective, une espèce ou une sous-espèce (soit l'équivalent d'un taxon).

Germination: rupture des téguments de la semence provoquée par l'allongement de la radicule ou, en l'absence de téguments, de l'allongement de celle-ci (Côme, 1970). On considère donc une semence comme germée lorsque la radicule est visible.

Histologie: science qui étudie les tissus biologiques.

Indéhiscent: se dit d'un fruit qui ne s'ouvre pas spontanément lorsque la graine a atteint la maturité.

Lot de semences: correspondant à la récolte des semences d'une espèce donnée, à une date donnée en un lieu donné.

Messicole: les messicoles, ou plantes messicoles, sont des plantes inféodées aux cultures de céréales traditionnelles (coquelicot et bleuet par exemple).

Orthodoxes: se dit des semences qui sont tolérantes à la dessiccation jusqu'à un faible taux d'humidité (2 à 6%) - soit 10-12% d'humidité relative - et pour lesquelles l'équation de viabilité de Harrington (1972) est vérifiée (corrélation négative entre température et longévité à un taux donné d'humidité).

Péricarpe: enveloppe externe du fruit issue de l'évolution de la paroi de l'ovaire.

Photopériode: durée quotidienne des phases jour-nuit.

Récalcitrantes: contrairement aux semences dites orthodoxes, des semences récalcitrantes ne peuvent être desséchées sans leur occasionner des dommages.

Spécimen acquis: dans le cadre de ce document, synonyme de lot de semences, lorsque celui-ci a été enregistré dans le SIBG - JIC.

Stratification: type de prétraitement destiné à lever la dormance des semences de certaines espèces en leur faisant passer une période donnée à basse température afin reproduire l'effet d'un passage hivernal (stratification froide ou vernalisation).

Taxon, Taxa (pl.): ensemble d'organismes vivants apparentés (monophylétiques) formant un groupe de rang systématique indéterminé. Un taxon peut aussi bien être une sous-espèce, une espèce, un genre, une famille, un ordre, etc.

Thermopériode: durée quotidienne des alternances de températures.

Van ou vanneuse: instrument permettant de séparer les semences des débris végétaux en utilisant la différence de masse entre ces deux fractions. Il peut être manuel ou mécanique.

Viabilité: une graine est considérée comme viable si elle présente suffisamment de tissus vivants lui permettant de germer dans des conditions environnementales favorables pour peu que toute dormance éventuelle ait été levée (Roberts, 1973).

B – Bibliographie

Publications :

- AESCHIMANN, D. & C. HEITZ (2005). *Index synonymique de la flore de Suisse et territoires limitrophes*. 2^{ème} ed. CRSF-ZDSF, Genève.
- BASKIN, C. (2003). Breaking physical dormancy in seeds - focusing on the lens. *New Phytologist* 158: 229-232.
- BLACK, M., BEWLEY, J.D. & P. HALMER (2006). *The Encyclopedia of Seeds. Science, technology and uses*. CAB International, Wallingford, UK. CAB International. Cromwell Press, Trowbridge.
- BOILLOT, F., CHAMBIGE, C., MATHEZ, J., & M. VIREVAIRE (2007). Manuel pour la récolte, l'étude et la gestion *ex situ* du matériel végétal. *Conservatoire Botanique Méditerranéen de Porquerolles*. Edition en français, corrigée et amendée à partir de l'original en italien: BACCHETTA, G., FENU, G., PIOTTO & M. VIREVAIRE (2006). *Manuale per la raccolta, studio, conservazione e gestione ex situ del germoplasma*. APAT, Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici, Rome.
- CÔME, D. (1970). *Les obstacles à la germination*. Masson & Cie, Paris.
- D'INVERNO, M., C. LAMBELET & F. MOMBRIAL (2014). *Conservation d'orobanches menacées à Genève*. *Feuille Verte* 45 : 18-19.
- ELLIS, R.H. & E.H. ROBERTS (1980). Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany* 45: 13-30.
- ELLIS, R.H. & E.H. ROBERTS (1998). How to store seeds to conserve biodiversity. *Nature* 395: 758-758.
- ENSCONET (2009a). *Manuel de Collecte de Graines pour les espèces sauvages*. Royal Botanic Gardens, Kew. Universidad Politécnica, Madrid.
- ENSCONET (2009b). *ENSCONET Curation Protocols & Recommendations*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- FORT, N. & C. LAMBELET (2011). *Petite massette (Typha minima Hoppe) - Caractéristiques germinatives et comportement à la conservation des semences*. RAPPORT LECA - CBNA - CJB, NON. PUBL.
- GENMEDOC (2004-2006). *Pratiques de germination dans les banques de semences du réseau GENMEDOC*. Banque de semences de la méditerranée, FEDER.
- HARRINGTON, J.F. (1972). Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. (1972). *Seed Biology, Vol. III: Insects and seed collection, storage, testing, and certification*. Academic Press, New York, Londres.
- HAY, F.R., PROBERT, R.J. & S.A. COOMBER (1997). Development of desiccation tolerance and longevity in seeds from detached capsules of foxglove (*Digitalis purpurea* L.). *Annals of Botany* 79: 419-427.
- HAY, F., KLIN, J., & R. PROBERT (2006). Can a post-harvest ripening treatment extend the longevity of *Rhododendron* L. seeds? *Scientia Horticulturae* 111: 80-83.
- HONG, T.D., LININGTON, S. & R.H. ELLIS (1996). *Seed Storage Behaviour: a Compendium. Handbook for Genebanks: No 4*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- PRITCHARD, H.W. & V. DICKIE (2003). Predicting Seed Longevity: the use and abuse of seed viability equations. In: SMITH, R.D., DICKIE, J.B., LININGTON, S. H. & R.J. PRITCHARD (2003). *Seed Conservation: turning science into practice*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- PRITCHARD, H.W. & J. NADARAJAN (2008). Cryopreservation of Orthodox (Desiccation tolerant) Seeds. In: REED, B.M. (2008). *Plant Cryopreservation: A Practical Guide*. Springer, Corvallis.
- PROBERT, R., ADAMS, J., CONEYBEER, J., CRAWFORD, A. & F. HAY (2007). Seed quality for conservation is critically affected by pre-storage factors. *Australian Journal of Botany* 55: 326-335.

- ROBERTS, E.H. (1973). Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology* 1: 499-514.
- ROBERTS, E.H. & R.H. ELLIS (1989). Water and seed survival. *Annals of botany* 63: 39-52.
- SAUER, D.B. & R. BURROUGHS (1986). Desinfection of seed surfaces with sodium-hypochlorite. *Phytopathology* 76: 745-749.
- SECRÉTARIAT DE LA CONVENTION SUR LA BIODIVERSITÉ (2002). *Stratégie Mondiale pour la Conservation des Plantes 2011-2020*. Secrétariat de la Convention sur la Biodiversité, Botanic Gardens Conservation International, Surrey.
- SUVA - PROTECTION DE LA SANTÉ (2015). *Valeurs limites d'exposition aux postes de travail 2015, réf 1903.f*. suvapro, Lucerne.

Sites internet :

- ENSCONET: <http://cordis.europa.eu/documents/documentlibrary/127976201EN6.pdf>
- FÉDÉRATION DES CONSERVATOIRES BOTANIQUE NATIONNAUX DE FRANCE: <http://www.fcbn.fr/>
- MILLENIUM SEED BANK: <http://www.kew.org/kew-science/people-and-data/resources-and-databases/millennium-seed-bank-resources>
- RÉSEAU ITALIEN DES BANQUES DE SEMENCES: <http://www.ccb-sardegna.it/fre/bancagermo.html>
- BANCO DE INTERCAMBIO DE SEMILLAS DE MADRID : <http://www.mataderomadrid.org/ficha/3041/banco-de-intercambio-de-semillas.html>
- BANCO DE GERMOPLASMA DE VALENCIA : <https://www.comav.upv.es/index.php/es/servicios-54/germoplasma-es>

C – Acronymes

AC	Agroscope de Changins (<i>Station de recherche agronomique de la Confédération</i>)
BP	Boîte de Pétri
BS	Banque de semences
CBNA	Conservatoire Botanique National Alpin
CJB	Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève
CD	Courte durée
CS	Chambre sèche
ETSIA	Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas
ISFS	Index Synonymique de la Flore de Suisse et territoires limitrophes
SIBG - JIC	Système d'information botanique de Genève - Jardin, Index seminum, Conservation (<i>Outil de gestion des données informatiques des CJB</i>)
LD	Longue durée
MSB	Millenium Seed Bank
rH	Humidité relative
RIBES	Réseau Italien des Banques de Semences
TG	Test de germination
TxGP	Taux de germination pondérée
TV	Test de viabilité
TxG	Taux de germination
TxV	Taux de viabilité
SA	Spécimen acquis

D – Extrait de la « *Stratégie mondiale pour la Conservation des plantes 2011-2020* »



العربية | English | Español | **Français** | Русский

Créez votre compte | Identifiez-vous

[La Convention](#)
[Protocole de Cartagena](#)
[Protocole de Nagoya](#)
[Programmes](#)
[Information](#)
[Secrétariat](#)

Stratégie mondiale pour la conservation des plantes

Stratégie 2011-2020 mise à jour

Introduction

Contexte et consultations

Programme

Décisions de la CdP

Stratégie mondiale 2011-2020

Vision

Énoncé de mission

Objectifs

Justificatif

Principes généraux

Objectifs 2011-2020

Mise en oeuvre de la stratégie

Justificatifs techniques, étapes importantes et indicateurs

Guide de la SMCP

Mise en œuvre

Examen approfondi

Résolutions et initiatives connexes

Mécanisme de coordination souple

Correspondants nationaux

Rapport sur la conservation des plantes

Trousse d'information SMCP

Informations connexes

Réunions

Documents

> Programmes > Stratégie mondiale pour la conservation des plantes > Programme > Stratégie mondiale > Objectifs

Objectifs 2011-2020

Objectif I : La diversité des plantes est bien comprise, documentée et reconnue;

- Objectif 1 : Une liste en ligne de toutes les espèces de plantes connues
- Objectif 2 : Dans la mesure du possible, une évaluation du statut de conservation de toutes les espèces de plantes connues, dans le but de guider les actions de conservation.
- Objectif 3 : Des données informatives, de recherche et d'autres données connexes ainsi que des méthodes nécessaires pour mettre en oeuvre la stratégie développée et partagée.

Objectif II : La diversité des plantes est conservée de façon urgente et effective;

- Objectif 4 : Au moins 15 pour cent de chaque région écologique ou de chaque type de végétation est maintenu par le biais d'une gestion et/ou d'une restauration efficaces.
- Objectif 5 : Au moins 75 pour cent des aires les plus importantes en ce qui a trait à la diversité des plantes de chaque région écologique est protégé avec une gestion effective établie pour la conservation des plantes et leur diversité génétique.
- Objectif 6 : Gestion durable d'au moins 75% des terres vouées à la production dans chaque secteur et conforme à la conservation de la diversité des plantes
- Objectif 7 : Conservation in situ d'au moins 75% des espèces de plantes menacées connues.
- Objectif 8 : Inclusion d'au moins 75% des espèces de plantes menacées connues dans des collections ex situ, de préférence dans le pays d'origine, avec au moins 20% restant disponibles pour des programmes de récupération et de rétablissement.
- Objectif 9 : Conservation de 70% de la diversité génétique des cultures et des plantes sauvages apparentées et d'autres espèces de plantes importantes au plan socio-économique, tout en respectant, préservant et maintenant les connaissances locales et celles des autochtones
- Objectif 10 : Mise en place de plans de gestion effectifs pour prévenir de nouvelles invasions biologiques et gérer les zones importantes pour la diversité des plantes qui sont envahies

Objectif III: La diversité des plantes est utilisée d'une manière qui soit durable et équitable;

- Objectif 11 : Aucune espèce de flore ou de faune sauvages n'est menacée d'extinction par le commerce international.
- Objectif 12 : Tous les produits basés sur des plantes sauvages ont une source durable
- Objectif 13 : 3. Maintien ou augmentation, tel qu'approprié, des connaissances, des innovations et des pratiques provenant des communautés autochtones et locales associées aux ressources végétales pour appuyer l'utilisation coutumière, les moyens d'existence durables, la sécurité alimentaire locale et la santé.

Objectif IV: L'éducation et la sensibilisation sur la diversité des plantes, son rôle pour les moyens de subsistance durables et leur importance pour toute forme de vie sur Terre sont promus;

- Objectif 14 : Incorporation de l'importance de la diversité des plantes et de la nécessité de sa conservation dans les programmes de communication, d'éducation et de sensibilisation du public

Objectif V: Les capacités et l'engagement du public nécessaires à la mise en oeuvre la Stratégie ont été développés.

- Objectif 15 : Le nombre de personnes formées, travaillant avec les moyens appropriés, suffit pour répondre aux besoins nationaux pour atteindre les objectifs de la stratégie
- Objectif 16 : Établissement ou renforcement aux niveaux national, régional et international des institutions, réseaux et partenariats pour la conservation des plantes afin d'atteindre les objectifs de la stratégie

E – Extrait de la « Convention sur la Diversité Biologique »

- 7 -

maîtriser les risques associés à l'utilisation et à la libération d'organismes vivants et modifiés résultant de la biotechnologie qui risquent d'avoir sur l'environnement des impacts défavorables qui pourraient influencer sur la conservation et l'utilisation durable de la diversité biologique, compte tenu également des risques pour la santé humaine;

h) Empêche d'introduire, contrôle ou éradique les espèces exotiques qui menacent des écosystèmes, des habitats ou des espèces;

i) S'efforce d'instaurer les conditions nécessaires pour assurer la compatibilité entre les utilisations actuelles et la conservation de la diversité biologique et l'utilisation durable de ses éléments constitutifs;

j) Sous réserve des dispositions de sa législation nationale, respecte, préserve et maintient les connaissances, innovations et pratiques des communautés autochtones et locales qui incarnent des modes de vie traditionnels présentant un intérêt pour la conservation et l'utilisation durable de la diversité biologique et en favorise l'application sur une plus grande échelle, avec l'accord et la participation des dépositaires de ces connaissances, innovations et pratiques et encourage le partage équitable des avantages découlant de l'utilisation de ces connaissances, innovations et pratiques;

k) Formule ou maintient en vigueur les dispositions législatives et autres dispositions réglementaires nécessaires pour protéger les espèces et populations menacées;

l) Lorsqu'un effet défavorable important sur la diversité biologique a été déterminé conformément à l'article 7, réglemente ou gère les processus pertinents ainsi que les catégories d'activités;

m) Coopère à l'octroi d'un appui financier et autre pour la conservation *in situ* visée aux alinéas a) à l) ci-dessus, notamment aux pays en développement.

Article 9. Conservation ex situ

Chaque Partie contractante, dans la mesure du possible et selon qu'il conviendra, et au premier chef afin de compléter les mesures de conservation *in situ* :

a) Adopte des mesures pour conserver *ex situ* des éléments constitutifs de la diversité biologique, de préférence dans le pays d'origine de ces éléments;

b) Met en place et entretient des installations de conservation *ex situ* et de recherche pour les plantes, les animaux et les micro-organismes, de préférence dans le pays d'origine des ressources génétiques;

c) Adopte des mesures en vue d'assurer la reconstitution et la régénération des espèces menacées et la réintroduction de ces espèces dans leur habitat naturel dans de bonnes conditions;

/...

- 8 -

d) Réglemente et gère la collecte des ressources biologiques dans les habitats naturels aux fins de la conservation *ex situ* de manière à éviter que soient menacés les écosystèmes et les populations d'espèces *in situ*, excepté lorsque des mesures *ex situ* particulières sont temporairement nécessaires, conformément à l'alinéa c) ci-dessus;

e) Coopère à l'octroi d'un appui financier et autre pour la conservation *ex situ* visée aux alinéas a) à d) ci-dessus, et à la création et au maintien de moyens de conservation *ex situ* dans les pays en développement.

*Article 10. Utilisation durable des éléments constitutifs
de la diversité biologique*

Chaque Partie contractante, dans la mesure du possible et selon qu'il conviendra :

a) Intègre les considérations relatives à la conservation et à l'utilisation durable des ressources biologiques dans le processus décisionnel national;

b) Adopte des mesures concernant l'utilisation des ressources biologiques pour éviter ou atténuer les effets défavorables sur la diversité biologique;

c) Protège et encourage l'usage coutumier des ressources biologiques conformément aux pratiques culturelles traditionnelles compatibles avec les impératifs de leur conservation ou de leur utilisation durable;

d) Aide les populations locales à concevoir et à appliquer des mesures correctives dans les zones dégradées où la diversité biologique a été appauvrie;

e) Encourage ses pouvoirs publics et son secteur privé à coopérer pour mettre au point des méthodes favorisant l'utilisation durable des ressources biologiques.

Article 11. Mesures d'incitation

Chaque Partie contractante adopte, dans la mesure du possible et selon qu'il conviendra, des mesures économiquement et socialement rationnelles incitant à conserver et à utiliser durablement les éléments constitutifs de la diversité biologique.

/...

F – « Stratégie européenne de conservation des plantes »

La Stratégie européenne de conservation des plantes

Pour sa part, l'Europe a affiché, à travers la **stratégie européenne pour la biodiversité**, son ambition d'inverser la tendance de perte de biodiversité d'ici à 2010.

La Stratégie européenne de conservation des plantes est une initiative conjointe du Conseil de l'Europe et de Planta Europa, qui a été reconnue comme une contribution à la Stratégie mondiale pour la conservation des plantes adoptée par la Convention sur la diversité biologique (CDB) (décision VI/9).

The 42 targets in the European Plant Conservation Strategy are arranged under the same five objectives as these Global targets.

La Stratégie mondiale pour la conservation des plantes est conçue comme un cadre d'action au niveau régional, national et mondial. La Stratégie mondiale et la Stratégie européenne visent toutes deux cinq grands objectifs : connaître et recenser la diversité végétale, conserver la diversité végétale, utiliser la diversité végétale de manière durable, éduquer et sensibiliser le public à la diversité végétale et renforcer les capacités en matière de conservation de la diversité végétale.

Au cours de cette conférence, les délégués de 38 pays européens ont fixé les objectifs à atteindre par Planta Europa et ses partenaires d'ici à 2007. Il s'agit d'objectifs clairement définis, réalistes et mesurables et, pour chacun d'eux, un partenaire de Planta Europa s'est engagé à jouer un rôle moteur. Il est souhaitable que d'autres organisations se joignent à ces partenaires pour aider à la réalisation de ces objectifs ambitieux.

La Stratégie définit également des orientations à long terme venant compléter les objectifs de Planta Europa. Alors que ces derniers portent en général sur les actions à entreprendre par les ONG et les organismes techniques spécialisés, les orientations à long terme, qui figurent sous l'intitulé « Propositions d'action à long terme au niveau européen », s'adressent principalement aux pouvoirs publics.

L'ambition ultime et le but général de la Stratégie ont aussi été définis :

Ambition ultime : Un monde où la valeur de la flore sauvage est reconnue, à la fois aujourd'hui et pour demain.

But général : Enrayer la perte de diversité de la flore sauvage en Europe

Depuis la conférence de Planta Europa, la Stratégie européenne de conservation des plantes a fait l'objet de consultations approfondies : les objectifs ont été précisés et de nouveaux partenaires ont manifesté leur volonté de soutenir sa mise en œuvre. Avant sa reconnaissance par la CDB lors de la 6^e Conférence des Parties, un projet de stratégie avait été soumis, en novembre 2001, à l'Organe subsidiaire chargé de fournir des avis scientifiques, techniques et technologiques (SBSTTA) de la CDB (UNEP/CBD/SBSTTA/7/10/INF) ; ce dernier avait accueilli favorablement ce projet en le qualifiant de « **contribution utile à la conservation des plantes au niveau mondial** ».

La Stratégie européenne de conservation des plantes représente une contribution importante à la mise en œuvre des articles 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 17 et 18 de la CDB, ainsi qu'à la Stratégie paneuropéenne de la diversité biologique et paysagère (PEBLDS).

Le Sixième programme d'action, approuvé par le Conseil des ministres de l'UE en juin 2001, formule un objectif ambitieux : celui d'arrêter la perte de biodiversité d'ici à 2010. Ce programme inclut la mise en œuvre de cinq plans d'action sectoriels pour la biodiversité, qui ont été publiés par la Commission européenne en mars 2001 ; ces plans sont l'expression de l'engagement de la Communauté européenne à mettre en œuvre la CDB.

La Stratégie mondiale pour la conservation des plantes offre un cadre propre à faciliter l'harmonisation des initiatives existantes en matière de conservation des plantes (on trouvera une brève présentation de la législation européenne pertinente à l'annexe 1). Une dimension européenne représente un élément important dans ce cadre car :

L'Union européenne est Partie à la CDB.

Le Conseil de l'Europe a signé un mémorandum de coopération avec la CDB.

La Convention de Berne du Conseil de l'Europe est un instrument pionnier en matière de conservation de la nature.

55 Etats ont approuvé la Stratégie paneuropéenne de la diversité biologique et paysagère.

Les Etats européens ont accepté de consacrer quelque 13 % de leur territoire au réseau Natura 2000.

Elle encouragera le développement d'actions transnationales.

La coopération entre initiatives nationales et internationales de conservation des plantes sera renforcée.

Le réseau Planta Europa apparaît de plus en plus comme une force essentielle pour la conservation des plantes en Europe.

1. CONNAITRE ET RECENSER LA DIVERSITE VEGETALE

•

1.9	Publication sur Internet de la liste des taxons de plantes européennes menacés présents dans des collections <i>ex situ</i> .	BGCI	Eurogard
-----	---	------	----------

2. Conserver la diversité végétale

2.5	Conservation dans des banques de gènes de 80 % de la diversité génétique de 50% des espèces menacées au niveau régional et national (l'ordre de priorité étant déterminé par la gravité de la menace). – D'ici à 2004 : recensement des taxons conservés dans les collections européennes de matériel génétique et des lacunes à combler.	ECP/GR EUFORGEN BGCI	IPGRI RBG Kew
-----	---	----------------------------	------------------

3. Utiliser la diversité végétale de manière durable

4. Eduquer et sensibiliser le public a la diversité végétale

4.2	Elaboration d'un rapport, accompagné de recommandations, sur le traitement actuel de la conservation des plantes dans les programmes scolaires et universitaires nationaux de tous les pays européens.	Botanical Gardens European Consortium (BGCI et IABG)	UICN : Groupe Education Conseil de l'Europe
-----	--	--	---

5. Renforcer les capacités en matière de conservation de la diversité végétale

G – Convention Agroscope ACW



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie DFE

Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW
Direction

CONVENTION

Entre

Station de recherche Agroscope Changins-Wädenswil ACW
1260 Nyon

et

Conservatoire et Jardin botaniques, Ville de Genève
1292 Chambésy

Pour la conservation de semences d'espèces sauvages menacées de la collection du
Conservatoire et Jardin botaniques de Genève

Les deux centres conviennent de ce qui suit:

1. ACW accepte la collection de semences d'espèces sauvages menacées du Conservatoire et Jardin Botanique de Genève d'environ 400 accessions.
2. Il est convenu que les accessions seront conservées dans les installations de conservation à long terme d'ACW à une température d'au moins -15°C . Le Jardin Botanique de Genève emballera les accessions dans des récipients adaptés à la conservation à long terme. Le Jardin Botanique de Genève décidera le moment du remplacement de ce stockage de sécurité.
3. Le Jardin Botanique de Genève fournira à ACW une copie sur papier des données passeport de toutes les accessions dupliquées. En plus, cette information sera envoyée à ACW sous forme électronique.
4. Il est convenu que les accessions reçues ne seront pas distribuées à des tiers par ACW. Il est convenu par les deux parties que ce germoplasme ne sera pas utilisé comme collection active, mais comme sauvegarde contre la perte des ressources génétiques. Aucune évaluation, régénération, etc. de ces accessions n'est admise. Des demandes d'autres institutions pour la semence seront dirigées vers le Jardin Botanique de Genève.
5. Tous les frais engendrés pour le transfert des accessions vers ACW sont à la charge du Jardin Botanique de Genève. Tous les frais pour la conservation dans le congélateur sont à la charge d'ACW. Dans le cas de perte totale ou partielle, les frais pour l'envoi des accessions et/ou données du Jardin Botanique de Genève à ACW, sont à la charge du Jardin Botanique de Genève.
6. Au cas où la collaboration entre ACW et le Jardin Botanique de Genève devait être interrompue, ACW informera le Jardin Botanique au moins une année à l'avance. Les frais de transfert des accessions vers le Jardin Botanique de Genève ou vers une autre institution seront à la charge d'ACW.

Nyon, le 11 août 2006

Station de recherche
Agroscope Changins-Wädenswil ACW
Directeur général

Dr Jean-Philippe Mayor

Chambésy, le 25 août 2006

Conservatoire et Jardin botaniques
Ville de Genève
Sous-directeur

Pierre-André Loizeau

H – Bordereau de récolte de semences



Banque de semences
Secteur Conservation
Bordereau de récolte de semences



No Collecteur : <small>Ex : FM20120807/1.</small>		No SA (CJB) :	N° Récolte (CJB) :
Taxon :			
Date de récolte :	Collectif:	Herbier :	oui non
		Photo(s) :	oui non
Nom de la localité :			
Commune :	Canton/autre subd. :	Pays :	
Coordonnées : X(Longitude) :		Y(Latitude) :	
Type coordonnées : GPS <input type="checkbox"/> carte topo <input type="checkbox"/> orthophoto <input type="checkbox"/> Précision (m) : 1 5 10 25 50 100			
Altitude inf. :		Alt. sup. :	
Description localité : Milieu selon Phytosuisse: (facultatif)			
Description de l'échantillon :			
Maturité OK <input type="checkbox"/> Pas mûr/douteux <input type="checkbox"/>			
Remarques récolte :			
Station :		Substrat :	
		Milieu (selon TypoCH):	
Surface station :	Etat station :		
Etat population :			
Nbre individus population :		Nbre de pieds mère échantillonnés :	
Menaces :			
Mesures :			
Remarque pour gestionnaire (pas dans le JIC) :			

J – Procédure de cultures *ex situ*

Procédures de cultures <i>ex situ</i>					
Type de culture	Contexte	Objectif	Durée de la culture	Effectif recherché	Nombre de cultures Maximum
<i>Culture de conservation</i>	Espèces ne pouvant être conservées sous forme de graine (espèces récalcitrantes, stériles, etc.)	Conservation de l'écotype local	Aucune limitation dans le temps	Dépend du nombre de graines et / ou d'individus fournis avec un minimum si possible de 80 individus	Indéterminé
<i>Culture de sauvetage</i>	Opérations urgentes de prélèvement réalisées pour conserver une station d'une espèce menacée	Maintien en l'état des individus prélevés afin de les réintroduire dans un milieu "naturel"	Fixée par le programme en coordination avec les différents acteurs	Dépend du nombre d'individus prélevés et du projet	Maximum de 5 espèces pour une production de 500 à 1000 individus selon l'espèce. Au delà, la décision est prise en séance de Conservation ou en cas de nécessité en discussion directe avec les responsables (CL, RP, NF, SP et FB)
<i>Culture de (Ré)introduction / renforcement</i>	Projets de renforcement et/ou de réintroduction d'espèces sont mise en route (plan d'action , etc.)	Fixé par le programme	En général assez courte (1 à 4 ans, parfois plus)	Dépend du projet	
<i>Culture expérimentale</i>	Espèces difficiles à faire germer et à cultiver	Améliorer la connaissance des conditions de culture	Après un ou deux cycles de fructification avec un taux de floraison considéré comme acceptable par les experts	Aucun	Selon les disponibilités de culture. La priorité de ces cultures passe après les cultures de multiplication et de sauvetage / réintroduction
<i>Culture de multiplication</i>	Quantité de semences récoltées en nature trop faibles (moins de 100 graines viables) ou pour régénérer les lots de semences (courte durée de conservation)	Production de semences pour la BS	Autant de cycles de fructification nécessaires pour atteindre l'effectif requis de semences avec un maximum de 5 années consécutives	Un minimum de 5000 graines si possible	Un maximum de 15 espèces en tenant compte des autres cultures. Une moyenne de 10 cultures par année est envisagée (Vivace et annuelle)

