



Conservatoire Botanique National
Sud-Atlantique

PLAN DE CONSERVATION DES BERGES A ANGELIQUE DES ESTUAIRES

Etude comparative des semences d'angéliques :
biométrie, germination et flottaison

2012





Dans le cadre du plan de conservation des berges à angélique des estuaires, sept études menées sur différentes thématiques, ont permis d'établir l'état des lieux des connaissances sur l'angélique et ses habitats et des outils opérationnels pour les gestionnaires des berges ont été produits.

Les rapports produits par le CBNSA dans le cadre de ce programme inter-régional sont les suivants :

-  **Plan de conservation des berges à angélique des estuaires**
-  Etat des lieux des acteurs des berges et perception du patrimoine naturel des berges
-  Angélique des estuaires et cortège floristique des berges du bassin Adour-Garonne
-  Etude comparative des semences d'angéliques : biométrie, germination et flottaison
-  Apport préliminaire de la génétique : un complexe d'espèces du genre *Angelica* sur la façade atlantique
-  Mégaphorbiaies oligohalines à angélique des estuaires, et autres habitats des berges du bassin Adour-Garonne
-  La cartographie, outil au service de l'évaluation de l'état de conservation des berges et de la fonctionnalité du corridor écologique : proposition d'une méthodologie et expérimentation sur la partie aval de la Garonne
-  Technique mixte de restauration expérimentale de berges et restructuration naturelle de la végétation : Condat, site pilote sur la Dordogne
-  Outils méthodologiques et opérationnels pour les gestionnaires des berges

Ce rapport est :

Etude comparative des semences d'angéliques : biométrie, germination et flottaison





Prospections de terrain :

**Frédéric BLANCHARD, Hervé CASTAGNÉ,
Marc DAUMAS, Sandrine LORiot, Ludovic OLICARD**



Saisie des données :

Sandrine LORiot

R E G I O N



Rédaction :

Sandrine LORiot, Alexandre QUENNESON

AQUITAINE

Crédit Photographique :

Sandrine LORiot



Relecture :

Hervé CASTAGNÉ, Laurence PERRET, Coralie PRADEL



Référence à utiliser pour toute citation de l'étude

QUENNESON A., CASTAGNÉ H., LORiot S., 2011. – Etude comparative des semences d'angéliques : biométrie, germination et flottaison. Conservatoire botanique national Sud-Atlantique, 26p.



Conservatoire Botanique National Sud-Atlantique

Domaine de Certes
47 avenue de Certes
33980 AUDENGE
Tél. : 05 57 76 18 07

Site internet CBNSA : www.cbnsa.fr

Site internet angélique : www.angeliquedesestuaires.fr

Courriel : cbsa.info@laposte.net



Sommaire

1. Contexte et objectif de l'étude.....	6
2. Présentation succincte des espèces.....	6
3. Matériels et méthodes.....	7
3.1. Matériel végétal.....	7
3.1.1. Les échantillons.....	7
3.1.2. Les échantillons témoins.....	7
3.2. Les tests.....	7
4. Résultats et analyse.....	8
5. Conclusion.....	8
Annexes.....	9



1. Contexte et objectif de l'étude

L'angélique des estuaires (*Angelica heterocarpa*) est une espèce patrimoniale et protégée, endémique des estuaires et des rivières tidales associées du sud-ouest de la France, inféodée aux berges soumises à marées dynamiques d'eau douce à faiblement salée. Son aire de répartition comprend, du nord au sud, le bassin de la Loire et le bassin Adour-Garonne (estuaire et affluents soumis à marée de la Charente, de la Gironde, de l'Adour et de la Nivelle).

Sur l'inter-région Aquitaine Poitou-Charentes, elle cohabite parfois avec l'angélique sauvage, une espèce commune appelée aussi angélique des bois (*Angelica sylvestris* subsp. *sylvestris*). L'identification des deux taxons, très proches morphologiquement, peut s'avérer délicate car certains spécimens possèdent des caractères morphologiques intermédiaires entre ces deux espèces, qui pourraient laisser supposer qu'il existe des hybridations. Une étude a été menée sur l'ensemble de l'aire de répartition de l'angélique des estuaires afin de caractériser les relations génétiques à l'intérieur du complexe *Angelica* sp. et la structuration génétique des populations sur les différents bassins versant concernés.

Aucune différenciation génétique n'a à ce jour été mise en évidence entre les taxons du genre *Angelica*, ce qui permet de les considérer comme un complexe d'espèces qui échangent des gènes. L'absence de structure observée entre taxons ne veut pas dire que ces taxons ne sont pas des espèces à part entière. Les différences taxonomiques existent sur un plan morphologique, l'identification étant réalisée sur la base de critères relatifs aux feuilles et aux semences (critères principaux utilisés dans les flores), et semblent correspondre à des adaptations locales aux environnements de berges pour *A. heterocarpa*. Au vu de ces résultats, l'appartenance taxonomique des échantillons n'est pas prise en compte dans cette étude et on ne considère que la taille des ailes.

Les objectifs de cette étude sont :

- de disposer de critères morphologiques de détermination basés sur les semences pour rattacher d'un point de vue taxonomique les individus intermédiaires à l'une ou l'autre des espèces ; critères plus précis et discriminants que ceux décrits dans les différentes flores : par analyse biométrique ;
- d'améliorer les connaissances sur les espèces *Angelica heterocarpa* et *Angelica sylvestris* subsp. *sylvestris*, notamment d'un point de vue écologie (germination, dissémination) : par l'intermédiaire de tests de germination et de flottaison.

2. Présentation succincte des espèces

✓ *Angelica heterocarpa*

Répartition : euatlantique sublittorale endémique du sud-ouest de la France.

Écologie : berges vaseuses soumises à marée d'eau douce à faiblement salée et préférentiellement ensoleillées.

Description : foliole lancéolée et semence à ailes étroites.



✓ *Angelica sylvestris* subsp. *sylvestris*

Répartition : eurasiatique, elle s'étend de l'ouest de l'Europe jusqu'en Asie centrale.

Écologie : plante de mi-ombre qui peut se trouver en pleine lumière et sur sol humide (bois frais et humides, bord des cours d'eau, marécages...).

Description : foliole et semences à ailes larges.



3. Matériels et méthodes

3.1. Matériel végétal

3.1.1. Les échantillons

Une banque séminale d'*Angelica sp.* a été constituée en 2007 puis complétée en 2008 par le CBNSA. Elle regroupe au total 51 accessions (35 en 2007 et 16 en 2008). Les récoltes ont été réalisées sur les berges de l'ensemble de l'aire de répartition de la plante avec des lots :

- typés *Angelica heterocarpa* avec des semences à ailes étroites ;
- dits « intermédiaires » qui ont été prélevés sur des spécimens présentant des caractères morphologiques intermédiaires entre les 2 espèces, notamment au niveau des semences, et qui regroupent des semences à ailes étroites, intermédiaires et larges ;
- *Angelica sylvestris* subsp. *sylvestris* avec des semences à ailes larges qui ont été récoltées sur les bords de la Seudre.

Taxons	Cours d'eau	Nombre d'accessions	Année de récolte
<i>Angelica heterocarpa</i> et <i>Angelica sp.</i> (lots de semences dites "intermediaries")	Charente	9	2007
	Gironde	8	2007
	Garonne	3	2007
	Dordogne	2	2007
	Adour	11	2007
	Aran	1	2007
	Bidouze	3	2007
	Arday	3	2007
	Nive	4	2007
	Gaves réunis	1	2008
	Nivelle	3	2008
<i>Angelica sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Seudre	3	2007
Total		51	2007-2008

Les lots de semences sont conservés dans des piluliers et stockés dans une armoire à température ambiante depuis leur récolte.

3.1.2. Les échantillons témoins

Afin de constituer les échantillons témoins, des lots de semences des 2 taxons ont été récoltés sur des populations « références ».

Pour *Angelica sylvestris* subsp. *sylvestris*, 10 accessions ont été constituées à partir de semences récoltées hors contexte rivulaire (bord de route, prairie sous peupleraie).

Pour *Angelica heterocarpa*, 4 accessions ont été constituées et envoyées par le CBN de Brest à partir de semences récoltées sur le bassin de Loire, territoire où il n'existe pas d'ambiguïté taxonomique.

3.2. Les tests

Pour les critères d'identification basés sur les semences : analyse biométrique.

Pour le volet « connaissance » de l'expérience :

- tests de germination :
 - en milieu aqueux avec différentes concentrations de sel de façon à « reproduire » les conditions de vie de l'angélique des estuaires ;
 - en boîte de pétri pour des tests de levée de dormance.
- tests de flottaison en milieu aqueux avec différentes concentrations de sel de façon à « reproduire » les conditions de vie de l'angélique des estuaires.



4. Résultats

Les résultats des 4 tests effectués par le CBNSA et le test réalisé par le CBN de Brest sont présentés dans les annexes de ce document.

5. Conclusion

Les tests de germination effectués en laboratoire par le CBN de Brest en 2006 afin d'évaluer la capacité germinative de lots de semences d'*Angelica heterocarpa* ont révélé que :

- le taux de germination maximal de l'angélique des estuaires est de 65% ;
- la lumière n'est pas nécessaire à la germination des semences ;
- les semences conservent leur capacité de germination après 9 années de stockage en congélateur ;
- il ne semble pas y avoir de phénomène de dormance ;
- le tégument constitué d'une couche de liège ne constitue pas un obstacle à la germination ;
- l'amplitude de germination va de 15°C à 30°C avec un optimum autour de 20°C.

Ces tests centrés sur l'angélique des estuaires ont permis d'améliorer les connaissances relatives aux conditions de germination de la plante.

Le CBNSA a lui aussi entrepris en 2008 des tests de germination et de flottaison ainsi que des mesure biométriques sur des semences fraîches d'angélique issues de sa banque séminale.

L'appartenance taxonomique n'a pas été prise en compte et seule la largeur des ailes des semences a été considérée : les semences testées sont à ailes larges (caractère de l'angélique sauvage), intermédiaires et étroites (caractères de l'angélique des estuaires). Ces tests, effectués ont montré que :

- le taux de germination maximal est de 77% pour les semences à ailes étroites testées en solution aqueuse non salée ;
- les semences à ailes étroites possèdent une meilleure capacité germinative en milieu aqueux que les autres types de semences (ailes intermédiaires et larges) ;
- la capacité germinative observée diminue avec l'augmentation de la salinité et cela quelque soit le type de semences ;
- il n'y a pas de différence significative entre les différents types de semences qui présentent toutes une excellente flottabilité, durable dans le temps ;
- la salinité du milieu ne semble pas affecter la capacité des graines à flotter ;
- les résultats de l'analyse biométrique mettent en évidence l'existence d'un continuum morphologique entre les semences à ailes larges, caractéristiques de l'angélique sauvage, et les graines à ailes étroites des individus typiques d'angélique des estuaires.

Les résultats des tests comparatifs sont cohérents avec l'écologie des deux espèces d'angélique : l'angélique des estuaires voit ses semences disséminées par les marées d'eau douce à faiblement salée alors que les semences d'angélique sauvage peuvent être disséminée par les eaux douces ou germer directement à proximité du pied mère en contexte peu humide.



Annexes

Les différents tests réalisés

Test 1 : étude de la biométrie des semences	p10
Test 2 : étude de la flottaison	p14
Test 3 : étude de la germination en milieux aqueux	p18
Test 4 : étude de la levée de dormance	p21
Test 5 : étude des conditions de germination d' <i>Angelica heterocarpa</i> par le CBN de Brest	p23
Banque séminale <i>Angelica sp.</i> Du CBNSA	p26



Test 1 Etude de la biométrie des semences

➤ Objectif

L'objectif est de disposer de critères morphologiques de détermination basés sur les semences pour rattacher d'un point de vue taxonomique les individus aux caractères morphologiques intermédiaires à l'angélique des estuaires ou l'angélique sauvage ; critères plus précis et discriminants que ceux décrits dans les différentes flores.

➤ Protocole

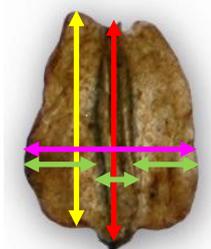
Les mesures ont été effectuées sur respectivement 30 semences provenant de 29 lots issus de la banque séminale du CBNSA, soit au total 870 semences. Les semences sont à ailes étroites, intermédiaires et larges.

Lots de semences utilisés pour l'étude des critères de détermination des angéliques

Matériel végétal	Taxons	Localisation	Nombre de lots
Echantillons	<i>Angelica heterocarpa</i> et spécimens « intermédiaires »	Charente et affluents	6
		Gironde et affluents	4
		Adour et affluents	8
		Nivelle	2
	<i>Angelica sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Seudre	2
Témoins	<i>Angelica heterocarpa</i>	Loire	4
	<i>Angelica sylvestris</i> subsp. <i>sylvestris</i>	Hors contexte rivulaire	3
Total			29

Plusieurs paramètres ont été mesurés sur chaque semence à l'aide d'un micromètre, à savoir :

- la longueur de la semence ■ ;
- la longueur du corps de la semence ■ ;
- la largeur de la semence ■ ;
- la largeur maximale de l'aile gauche ■ ;
- la largeur maximale de l'aile droite ■ ;
- la largeur maximale du corps ■ ;
- la masse des 30 semences.



Mesure des semences à l'aide d'un micromètre



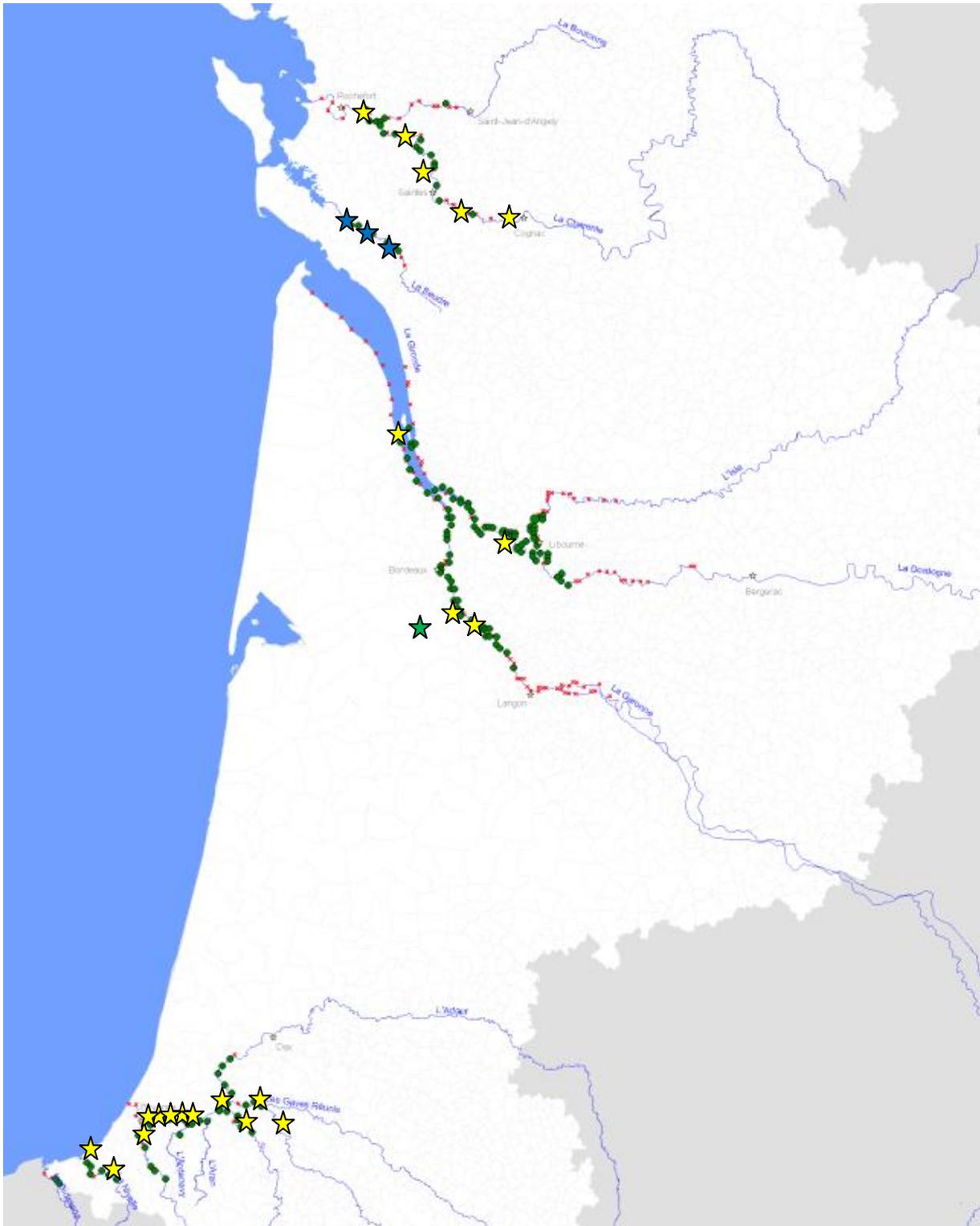
➤ Résultats et analyse

Sur l'ensemble des critères mesurés, les plus discriminants apparaissent comme étant les rapports :

- largeur maximale de la semence / largeur maximale du corps de la semence ;
- longueur maximale de la semence / largeur maximale de la semence.



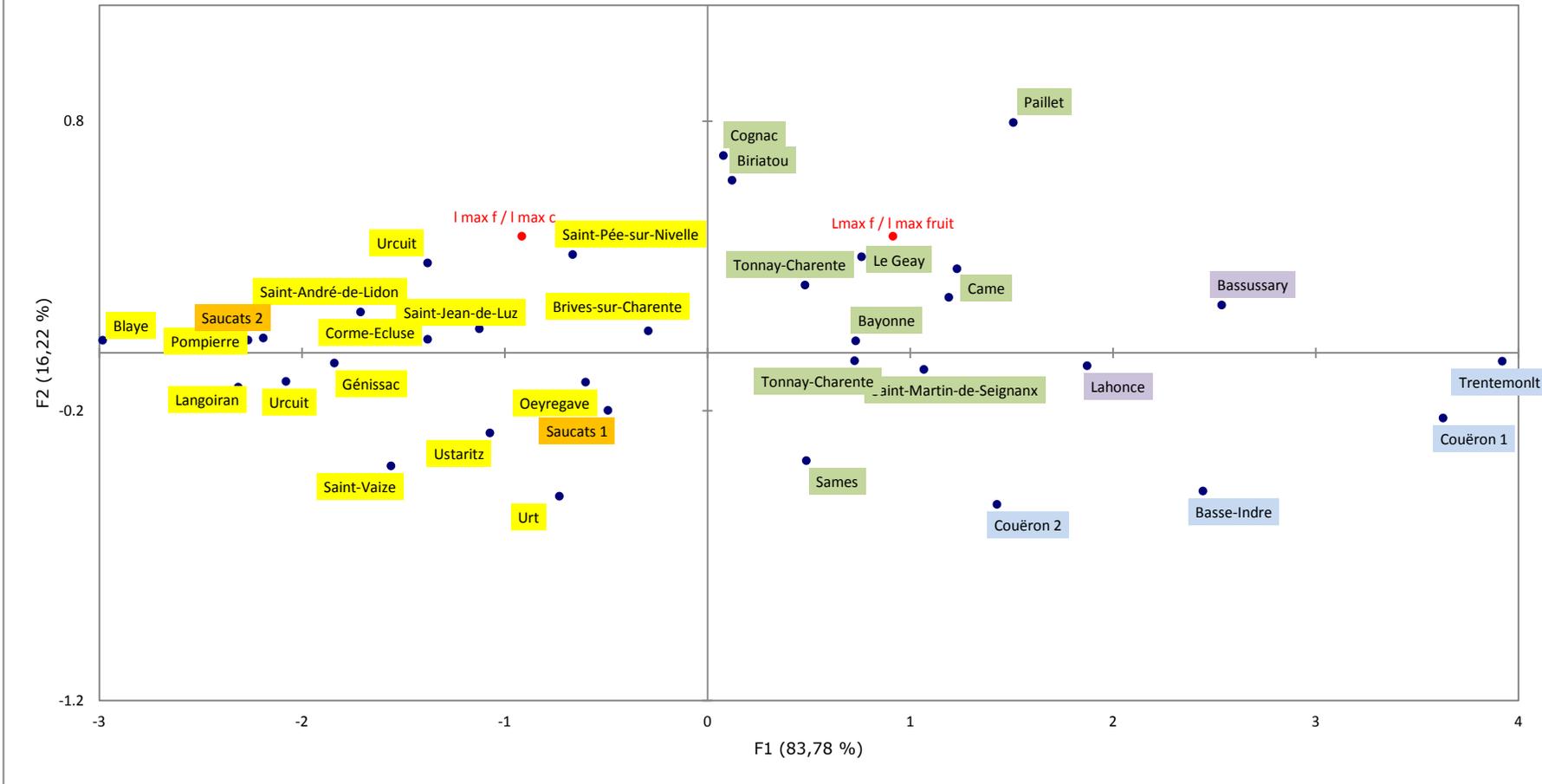
Carte de répartition des stations échantillonnées sur l'inter région
pour la conduite des analyses biométriques sur les semences



- ★ Stations d'*Angelica heterocarpa* avec lots typés *Angelica heterocarpa* et dits « intermédiaires ».
- ★ Stations de « référence » pour *Angelica sylvestris subsp. sylvestris*.
- ★ Station d'*Angelica sylvestris subsp. sylvestris* en contexte rivulaire (Seudre).



Analyse statistique des mesures faites sur les semences
Biplot (axes F1 et F2 : 100,00 %)



■ Loire (référence *Angelica heterocarpa*, 44)

■ CBNSA ailes décrites comme « étroites »

■ CBNSA ailes décrites comme « larges »

■ Saucats (référence *Angelica sylvestris*, 33)

■ CBNSA ailes décrites comme « intermédiaires »



L'analyse statistique des données permet de discriminer les échantillons témoins d'angélique sauvage récoltés hors contexte rivulaire et les échantillons d'angélique des estuaires collectés sur la Loire.

Elle ne permet pas de rattacher nettement les échantillons des cours d'eau de l'inter-région Aquitaine Poitou-Charentes à l'un ou l'autre des lots référence, et ce quel que soit le cours d'eau.

Les semences à ailes qualifiées de « larges » ont des caractéristiques morphologiques proches de celles des semences d'*Angelica sylvestris* subsp. *sylvestris*. Les semences à ailes « étroites » et « intermédiaires » ont des caractéristiques morphologiques plus proches de celles des semences de référence d'*Angelica heterocarpa*.

➤ Conclusion

L'analyse détaillée de la morphologie des semences collectées sur les berges ne permet pas de lever les incertitudes sur l'identité taxonomique des lots « intermédiaires ».

En effet, ces résultats mettent en évidence l'existence d'un continuum morphologique entre les semences à ailes larges, caractéristiques d'*Angelica sylvestris* subsp. *sylvestris*, et les graines à ailes étroites des individus typiques d'*Angelica heterocarpa*. Ces résultats sont cohérents avec ceux de l'analyse génétique, réalisée sur l'ensemble du bassin Adour-Garonne, qui témoignent de l'existence d'un complexe d'espèces échangeant des gènes et ne présentant pas de différences génétiques significatives entre elles.



Test 2

Etude de la flottaison en milieu aqueux

➤ Objectif

Améliorer les connaissances sur les espèces en testant le pouvoir de flottaison des semences en fonction de la salinité et des caractéristiques des ailes des semences (capacité de dissémination par hydrochorie).

➤ Protocole et conditions expérimentales

Expérimentation n°1

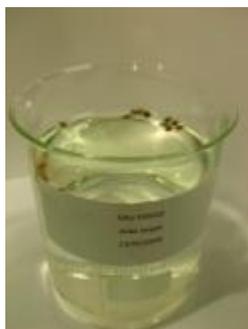
En milieu aqueux (bécher) avec 3 conditions de salinité :

- eau douce ;
- eau salée 0,5 g.L⁻¹ ;
- eau salée 5 g.L⁻¹.

3 « catégories » de semences (15 semences de chaque lot ci-dessous) :

- ailes courtes
Borde Chuherine, Maisonnave, GUICHE (Adour)
- ailes intermédiaires
Du Cap Horn vers Groliot, PAILLET (Garonne)
- ailes larges
Lassus, SAUCATS

Nombre de répétitions : 2
Total de semences testées : 270
Début du test : 13 février 2008
Fin du test : 10 avril 2008



Béchers utilisés pour le test de flottaison



Expérimentation n°2

En milieu aqueux avec une seule condition de salinité : eau salée 0,5 g.L⁻¹.

3 catégories de semences (15 semences de chacun des lots suivants)

- ailes courtes ;
- ailes intermédiaires ;
- ailes larges ;

Ailes	Relevé	Station
Larges	LO-18-07	<i>Pétrichon</i> , URT (Ardanavy)
	LO-HC-FB-02-07	<i>Ile Bouchaud</i> , SAINT-GENES-DE-BLAYE (Gironde)
	SL-13-07	<i>Entre Palis et Lartigue</i> , SAINT-BARTHELEMY (Adour)
	SL-45-07	<i>Pompierre</i> , LE CHAY (Seudre)
	LO-19-07	<i>Sahatari</i> , BRISCOUS (Ardanavy)
Intermédiaires	SL-39-07	<i>Le Moulin du Pas</i> , SAINT-ANDRE-DE-LIDON (Seudre)
	MD-SL-01-07	<i>Le Port du Roy</i> , QUINSAC (Garonne)
	SL-25-07	<i>De la gare vers Eliza</i> , JATXOU (Nive)
	SL-43-07	<i>Pont vers Soubirat</i> , CORME-ECLUSE (Seudre)
	SL-20-07	<i>L'Ile, Plaine du Haut</i> , OEYREGAVE (Gaves Réunis)
	LO-26-07	<i>Elhorga</i> , SAINT-PEE-SUR-NIVELLE (Nivelle)
	HC-16-07	<i>Camithio</i> , SAMES (Bidouze)
	HC-11-07	<i>Port de l'Aiguette</i> , LAHONCE (Adour)
Etroites	SL-04-07	<i>Du Cap Horn vers Groliot</i> , PAILLET (Garonne)
	HC-09-07	<i>Pont SNCF</i> , BAYONNE (Adour)
	SL-16-07	<i>Depuis Larroque vers le Sablon</i> , BARDOS (Aran)
	HC-15-07	<i>La Barthe du Hour</i> , GUICHE (Bidouze)
	LO-15-07	<i>Martinaskoenea</i> , BASSUSSARY (Nive)

Nombre de répétitions : 1

Nombre total de semences testées : 270

Début du test : 11 avril 2008

Fin du test : 24 juin 2008



➤ **Résultats**

Expérimentation n°1

Le tableau suivant détaille les résultats obtenus au cours de cette manipulation.

				Eau douce	Eau salée 0,5 g.L ⁻¹	Eau salée 5 g.L ⁻¹
Ailes étroites	Répétition 1	3*15 semences	Semences coulées	0	0	0
	Répétition 2	3*15 semences	Semences coulées	0	0	0
TOTAL				0	0	0
%				0%	0%	0%
Ailes intermédiaires	Répétition 1	3*15 semences	Semences coulées	0	0	0
	Répétition 2	3*15 semences	Semences coulées	0	0	1
TOTAL				0	0	1
%				0%	0%	1%
Ailes larges	Répétition 1	3*15 semences	Semences coulées	0	0	0
	Répétition 2	3*15 semences	Semences coulées	0	1	0
TOTAL				0	1	0
%				0%	1%	0%

Le pourcentage de semences coulées sur l'ensemble du test est équivalent à 0,7% (soit 2 semences sur 270) et seuls 2 lots ont vu des semences couler. Les semences à ailes étroites n'ont pas coulé.

Les semences ont coulé uniquement en présence d'une solution aqueuse salée.



Expérimentation n°2

Le tableau suivant détaille les résultats obtenus au cours de cette manipulation.

Ailes	Relevé	Station	Semences coulées
Larges	LO-18-07	<i>Pétrichon</i> , URT (Ardanavy)	0
	LO-HC-FB-02-07	<i>Ile Bouchaud</i> , SAINT-GENES-DE-BLAYE (Gironde)	0
	SL-13-07	<i>Entre Palis et Lartigue</i> , SAINT-BARTHELEMY (Adour)	0
	SL-45-07	<i>Pompierre</i> , LE CHAY (Seudre)	0
	LO-19-07	<i>Sahatari</i> , BRISCOUS (Ardanavy)	0
% de semences coulées			0%
Intermédiaires	SL-39-07	<i>Le Moulin du Pas</i> , SAINT-ANDRE-DE-LIDON (Seudre)	0
	MD-SL-01-07	<i>Le Port du Roy</i> , QUINSAC (Garonne)	1
	SL-25-07	<i>De la gare vers Eliza</i> , JATXOU (Nive)	0
	SL-43-07	<i>Pont vers Soubirat</i> , CORME-ECLUSE (Seudre)	0
	SL-20-07	<i>L'Ile, Plaine du Haut</i> , OEYREGAVE (Gaves Réunis)	0
	LO-26-07	<i>Elhorga</i> , SAINT-PEE-SUR-NIVELLE (Nivelle)	8
	HC-16-07	<i>Camithio</i> , SAMES (Bidouze)	0
	HC-11-07	<i>Port de l'Aiguette</i> , LAHONCE (Adour)	0
% de semences coulées			7,5%
Etroites	SL-04-07	<i>Du Cap Horn vers Groliot</i> , PAILLET (Garonne)	0
	HC-09-07	<i>Pont SNCF</i> , BAYONNE (Adour)	0
	SL-16-07	<i>Depuis Larroque vers le Sablon</i> , BARDOS (Aran)	3
	HC-15-07	<i>La Barthe du Hour</i> , GUICHE (Bidouze)	0
	LO-15-07	<i>Martinaskoenea</i> , BASSUSSARY (Nive)	0
% de semences coulées			4%

Le pourcentage de semences coulées sur l'ensemble du test est de 4,4% (soit 12 semences sur 270) et seuls 3 lots ont vu des semences couler. Les semences à ailes larges n'ont pas coulé et 66% des semences coulées proviennent d'un même lot (le lot concerné n'est peut-être pas de bonne qualité avec des semences immatures ou non viables).

➤ Conclusion

Il n'y a pas de différences significatives entre les différents types de semences qui présentent toutes une excellente flottabilité, durable dans le temps (expérimentation réalisée pendant plus de 2 mois). La salinité du milieu ne semble pas affecter la capacité des graines à flotter.



Test 3 Etude de la germination en milieu aqueux

➤ Objectif

Améliorer les connaissances sur les espèces en testant le taux de germination des semences en conditions aqueuses variables.

➤ Protocole et conditions expérimentales

En milieu aqueux (bécher) avec 3 conditions de salinité :

- eau douce ;
- eau salée 0,5 g.L⁻¹ ;
- eau salée 5 g.L⁻¹.

3 « catégories » de semences (15 semences de chaque lot ci-dessous) :

- ailes courtes (Borde Chuherine, Maisonnave, GUICHE (Adour)) ;
- ailes intermédiaires (du Cap Horn vers Groliot, PAILLET (Garonne)) ;
- ailes larges (Lassus, SAUCATS (hors contexte rivulaire)).

Nombre de répétitions : 2
Total de semences testées : 270
Début du test : 13 février 2008
Fin du test : 10 avril 2008



Béchers utilisés pour le test de germination



Piluliers de semences



Semence germée d'angélique



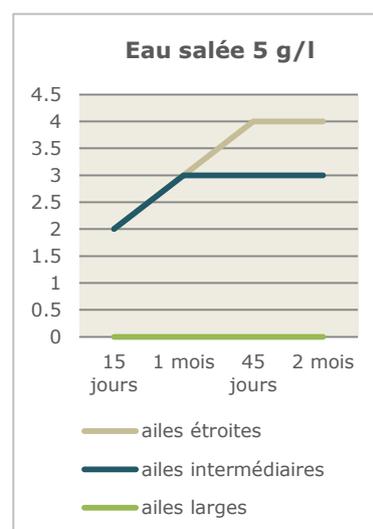
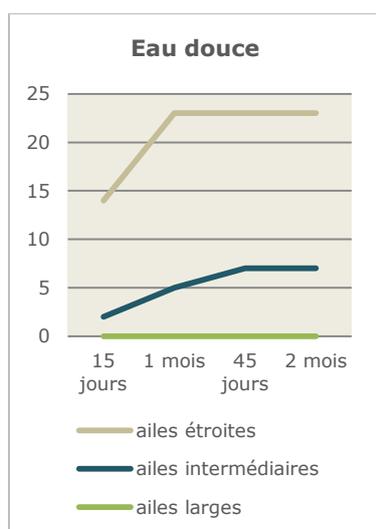
➤ Résultats et analyse

Le tableau suivant détaille les résultats obtenus au cours de cette manipulation.

				Eau douce	Eau salée 0,5 g.L ⁻¹	Eau salée 5 g.L ⁻¹
Ailes étroites	Répétition 1	3*15 semences	Semences germées	13	12	1
	Répétition 2	3*15 semences	Semences germées	10	5	3
% de germination				77%	57%	13%
Ailes intermédiaires	Répétition 1	3*15 semences	Semences germées	3	4	0
	Répétition 2	3*15 semences	Semences germées	4	3	0
% de germination				23%	23%	0%
Ailes larges	Répétition 1	3*15 semences	Semences germées	0	0	0
	Répétition 2	3*15 semences	Semences germées	0	0	0
% de germination				0%	0%	0%

Le tableau suivant reprend le cumul du nombre de semences germées pour les différentes « catégories » de semences et les différentes concentrations par intervalle de 15 jours entre le 13 février et le 10 avril 2008.

		15 jours	1 mois	45 jours	2 mois
eau douce	ailes étroites	14	23	23	23
	ailes intermédiaires	2	5	7	7
	ailes larges	0	0	0	0
0,5 g.L-1	ailes étroites	14	18	18	18
	ailes intermédiaires	0	1	7	7
	ailes larges	0	0	0	0
5 g.L-1	ailes étroites	2	3	4	4
	ailes intermédiaires	2	3	3	3
	ailes larges	0	0	0	0



Les semences à ailes étroites ont un taux de germination nettement supérieur à celui des semences à ailes intermédiaires et cela quel que soit la concentration en sel (77% contre 23% en eau douce, 57% contre 23% à 0,5 g.L⁻¹ et 13% contre 0% à 5 g.L⁻¹). Le taux de germination pour les semences à ailes larges est nul quel que soit la concentration. Plus la concentration en sel augmente, plus le taux de germination des semences diminue (77% en eau douce à 13% à 5 g.L⁻¹ pour les semences à ailes étroites par exemple).

Un test identique a été effectué 6 mois plus tard (18 juillet 2008 au 31 octobre 2008) avec les mêmes lots de semences. Les résultats ne sont pas présentés ici mais seulement 2 semences à ailes intermédiaires ont germées.

Conclusion

Les résultats sont cohérents avec l'écologie des 2 espèces qui cohabitent sur les berges des cours d'eau soumis à marée douce à faiblement salée :

- les semences à ailes courtes possèdent une meilleure capacité germinative en milieu aqueux que les autres types de semences ;
- la capacité germinative observée diminue avec l'augmentation de la salinité.

La comparaison des tests identiques effectués à 6 mois d'intervalle montre que les semences ne réagissent pas de la même manière. Ce fait peut vraisemblablement être attribué à une :

- entrée en dormance ;
- et/ou
- perte de viabilité.



Test 4 Etude de la levée de dormance

➤ Objectif

Tester l'effet de prétraitement des semences sur les taux de germination. En effet, le taux de germination des semences diminue avec le temps de conservation à température ambiante (J. DUVAL, 1992). L'hypothèse, courante chez les végétaux, d'une entrée en dormance des semences est posée mais il aurait également été intéressant de réaliser des tests de viabilité par coloration au Tétrazolium. En effet, une perte de viabilité pourrait également expliquer ce constat.

➤ Protocole et conditions expérimentales

En milieu aqueux (bêcher) ou en boîte de pétri (imbibition) avec 3 conditions de salinité :

- eau douce ;
- eau salée 0,5 g.L⁻¹ ;
- eau salée 5 g.L⁻¹.

3 « catégories » de semences (15 semences de chaque lot ci-dessous) :

- ailes courtes (Borde Chuherine, Maisonnave, GUICHE (Adour)) ;
 - ailes intermédiaires (du Cap Horn vers Groliot, PAILLET (Garonne) et du pont SNCF, BAYONNE (Adour)) ;
- ailes larges (Lassus, SAUCATS (hors contexte rivulaire)).

Ailes	Accession	Relevé	Station
Etroites	33	HC-14-07	Borde Chuherine, Maisonnave. GUICHE (Adour)
Intermédiaires	37	HC-09-07	Pont SNCF, BAYONNE (Adour)
Intermédiaires	15	SL-04-07	Cap Horn, PAILLET (Garonne)
Larges	01	LO-SL-07	Lassus, SAUCATS

2 prétraitements successifs :

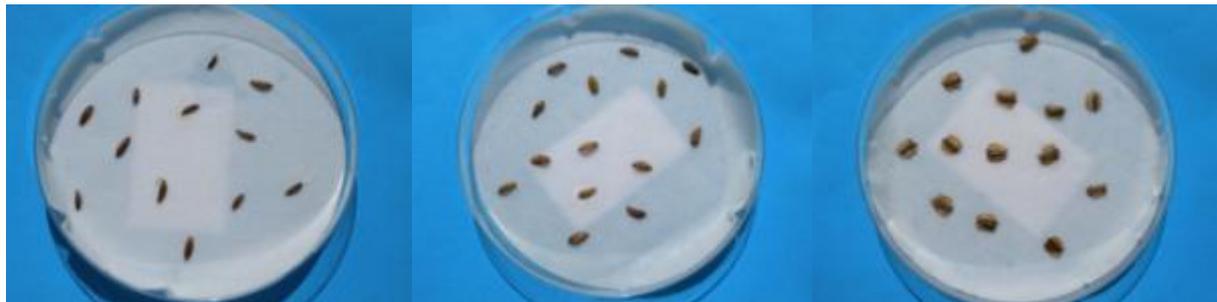
- prétraitement par trempage dans l'eau pendant 18h à température ambiante ;
- prétraitement par le froid à 5°C pendant 6 semaines = stratification.

La stratification correspond au passage des semences pendant un temps défini à des températures basses mais positives. Le froid ne lève la dormance que si les semences sont imbibées. L'imbibition est réalisée pendant 18h à température ambiante puis pendant 6 semaines à 5°C avec des concentrations en sel différentes (boite de Pétri ou en milieu aqueux).

Nombre de répétitions : 1
Total de semences testées : 180
Début du test : 9 avril 2009
Fin du test : 26 juillet 2009



Prétraitement général	Conditionnement	Durant 6 semaines	Durant 2 mois
15 semences dans un pilulier d'eau douce 18 h à température ambiante	Bécher	Salinité 0 ; 0,5 g.L ⁻¹ ; 5 g.L ⁻¹ 5°C	Salinité 0 ; 0,5 g.L ⁻¹ ; 5 g.L ⁻¹ température ambiante
		Salinité 0 ; 0,5 g.L ⁻¹ ; 5 g.L ⁻¹ température ambiante	
	Boîte de Pétri	Salinité 0 ; 0,5 g.L ⁻¹ ; 5 g.L ⁻¹ 5°C	Salinité 0 ; 0,5 g.L ⁻¹ ; 5 g.L ⁻¹ température ambiante
		Salinité 0 ; 0,5 g.L ⁻¹ ; 5 g.L ⁻¹ température ambiante	



Boîtes de Pétri avec semences testées

➤ Résultats

Trois germinations ont été observées :

- 1 germination de semence à ailes intermédiaires ; Bécher - salinité 0 - 5°C pendant 6 semaines - température ambiante ;
- 2 germinations de semences à ailes intermédiaires ; Pétri - salinité 0,5 g.L⁻¹ ; température ambiante.

Conclusions

Les résultats ne permettent pas de conclure définitivement. Il semble que les différents prétraitements ne sont pas efficaces pour réaliser une levée de dormance des semences d'angélique. Toutefois, l'hypothèse d'une perte de viabilité des semences testées lors de leur stockage ne peut être écartée.



Test 5

Etude des conditions de germination d'*Angelica heterocarpa* par le CBN de Brest

LACROIX P., FIGUREAU C.. 2006. – *Plan de conservation de l'angélique des estuaires (Angelica heterocarpa Lloyd) dans l'estuaire de la Loire. Bilan du programme d'actions 2005-2006.* – Conservatoire botanique national de Brest, 23 p + annexes.

➤ Contexte

Le CBN de Brest dispose de plusieurs lots de semences d'angélique des estuaires, récoltés en 1997 et conservés au sein de sa banque séminale à -18°C. Ces semences n'ont jamais été testées. Un lot constitué en 1989 a fait l'objet d'un premier test qui s'est soldé par un échec total et on apprend dans la littérature que le pouvoir germinatif des semences d'*Angelica sp.* diminue rapidement avec la durée de conservation, surtout lorsque la conservation a lieu à température ambiante (J. DUVAL, 1992).

Les conditions de germination d'*Angelica heterocarpa* sont mal connues. Il semblerait que la germination se fasse de façon assez hétérogène à partir de 16°C (REDURON) et dans un spectre de température allant de 16°C à 35°C (FIGUREAU & RICHARD). L'optimum de germination se situerait aux alentours de 20°C. Il semblerait que les semences entrent en dormance pendant leur conservation (REDURON). La dormance permet à la plante de germer uniquement lorsque les conditions sont complètement favorables pour la survie des plantules. Cette période de dormance peut durer entre quelques semaines et plusieurs années. Ceci est dû à des propriétés de la graine qui empêchent la germination.

➤ Objectif

Plusieurs objectifs sont assignés à cette étude :

- mettre en évidence l'influence de la température et de la lumière sur la germination ;
- montrer la présence éventuelle de substances inhibitrices au sein des semences ;
- vérifier si il existe une inhibition tégumentaire du fait de la présence de liège au niveau de la semence ;
- tester l'efficacité des prétraitements à base de nitrate de potassium et d'acide gibbérellique, produits censés lever les dormances.

➤ Protocoles

Pour permettre la sortie de dormance des semences et ainsi améliorer les taux de germination des graines d'angélique, plusieurs traitements sont proposés :

- un prétraitement à 5°C pendant 6 semaines dans du sable ou de la vermiculite humide avant le semis (LAUFER 1984) ;
- les semences peuvent être trempées dans l'eau pendant 6 heures à 10°C avant le semis (CSERESNYES & BALEANU 1986) ;
- l'extraction préalable des akènes avant le semis pour surmonter la dureté des téguments ;
- des traitements à base d'hormones végétales pour lever la dormance des graines ;
- une stratification (prétraitement au froid) permettrait la levée de dormance (BERNARD 1991).

Dix tests pour chacun des six lots de semences suivants seront réalisés.

Lots	000017F01	970091F98	970093F98	970094F97	970095F98	970096F98
Année de récolte	2000	1997	1997	1997	1997	1997
Année de stockage	2001	1998	1998	1997	1998	1998
Temps de stockage	5 ans	8 ans	8 ans	9 ans	8 ans	8 ans
Nombre de semences	5500	1900	1100	1400	1800	1000



Les dix tests font varier différents facteurs :

Facteurs lumière et température	test 1	Semences arrosées à l'eau et placées à température ambiante (présence de lumière).
	test 2	Semences arrosées à l'eau et placées à l'obscurité, en incubateur, avec une augmentation progressive de la température de 5 à 35°C.
Présence éventuelle d'inhibiteurs de germination au sein de la graine	test 3	Prétraitement des graines par trempage dans l'eau pendant 18h à température ambiante. Ainsi, les graines sont débarassées des éventuelles substances qui pourraient nuire à la germination. Puis, le test est réalisé dans les mêmes conditions que le test 1 (arrosage à l'eau et température ambiante).
	test 4	Prétraitement des graines par trempage dans l'eau pendant 18h à température ambiante. Ainsi, les graines sont débarassées des éventuelles substances qui pourraient nuire à la germination. Puis, le test est réalisé dans les mêmes conditions que le test 2 (arrosage à l'eau et incubateur).
Problème de germination lié au tégument de la graine	test 5	Extraction de l'embryon puis arrosage à l'eau et température ambiante.
	test 6	Extraction de l'embryon puis arrosage à l'eau et incubateur.
Problème de dormance	test 7	Les graines sont arrosées à l'aide d'une solution d'acide gibbérellique GA3 à 0,05% et placées à température ambiante.
	test 8	Les graines sont arrosées à l'aide d'une solution d'acide gibbérellique GA3 à 0,05% et placées à l'incubateur.
	test 9	Les graines sont arrosées à l'aide d'une solution de nitrate de potassium KNO3 à 0,2% et placées à température ambiante.
	test 10	Les graines sont arrosées à l'aide d'une solution de nitrate de potassium KNO3 à 0,2% et placées à l'incubateur.

➤ Résultats et analyse

Tous les lots testés présentent des germinations. La plupart des lots ont des taux de germination relativement bons, jusqu'à 65% de germination à l'incubateur avec extraction de l'embryon sur le lot 970094F97.

Seul le lot 970093F98 obtient de très mauvais résultats : pas plus de 5% de germinations quel que soit le test.

Lots	000017F01	970091F98	970093F98	970094F97	970095F98	970096F98
Temps de stockage	5 ans	8 ans	8 ans	9 ans	8 ans	8 ans
Meilleur taux de germination à température ambiante	35% (GA3 et extraction embryon)	40% (eau)	5% (GA3)	50% (extraction embryon)	45% (KNO3 et extraction embryon)	45% (extraction embryon)
Meilleur taux de germination à l'incubateur	55% (GA3)	50% (GA3 et extraction embryon)	5% (eau et KNO3)	65% (extraction embryon)	60% (KNO3)	35% (eau et extraction embryon)

Les germinations commencent à partir de 15°C à l'incubateur et à une température ambiante de 20°C environ.

Les meilleurs taux de germination à température ambiante et à l'incubateur sont obtenus par les traitements suivants :

- dans 7 cas sur 17 la meilleure méthode est celle de l'extraction d'embryon ;
- dans 4 cas sur 17 la meilleure méthode est celle de l'arrosage à l'aide d'une solution d'acide gibbérellique GA3 ;
- dans 3 cas sur 17 la meilleure méthode est celle de l'arrosage à l'eau ;
- dans 3 cas sur 17 la meilleure méthode est celle de l'arrosage à l'aide d'une solution de nitrate de potassium KNO3.



➤ Conclusion

Le meilleur taux de germination obtenu s'élève à 65% pour le lot 970094F97 qui a été stocké durant 9 ans, ce qui est relativement correct. Il semblerait donc que la germination ne soit pas particulièrement menacée par les longues durées de stockage. Néanmoins, il faudrait contrôler le taux de germination dans quelques années pour s'assurer qu'il reste stable.

D'après les taux de germination obtenus, nous pourrions dire qu'il n'y a pas de phénomène de dormance chez les semences d'angélique des estuaires.

De même il semble que l'extraction de l'embryon ne soit pas nécessaire au bon déroulement de la germination. En effet, la germination a lieu aussi bien chez les graines sans téguments que chez les graines entières. La germination s'effectue aussi bien à l'incubateur (donc en l'absence de lumière) que dans une pièce soumise aux variations journalières de luminosité. On peut donc dire que la lumière n'est pas indispensable à la germination des semences d'angélique des estuaires.

Les résultats du test 7 qui évalue les conditions de germinations révèlent que les semences germent aussi bien en incubateur (obscurité) qu'à la lumière du jour. Mais également que l'extraction d'embryon, l'arrosage des semences à l'aide d'une solution d'acide gibbérellique, l'arrosage des semences à l'eau et l'arrosage des semences à l'aide d'une solution de nitrate de potassium sont les tests qui présentent les taux de germination les plus élevés. En revanche le prétraitement des semences par trempage dans l'eau pendant 18 heures à température ambiante ne montre pas de résultats aussi bons que ceux obtenus par les méthodes précédemment citées.



Banque séminale d'*Angelica sp.* du CBNSA

Numéro accession	Date de récolte	Dpt.	Commune	Lieu-dit	Fleuve
1	07/11/2007	17	Corme-Ecluse	Pont vers Soubirat	Seudre
2	07/11/2007	17	Le Chay	Pompierre	Seudre
3	06/11/2007	17	Saint-André-de-Lidon	Le Moulin du Pas	Seudre
4	03/10/2007	33	Quinsac	Le Port du Roy	Garonne
5	11/10/2007	33	Paillet	Du cap Horn vers Groliot	Garonne
6	11/10/2007	33	Paillet	Du cap Horn vers Groliot	Garonne
7	01/09/2007	33	Blaye	Ile Sans Pain rive droite	Gironde
8	20/08/2007	33	Blaye	Ile Sans Pain rive droite	Gironde
9	20/08/2007	33	Blaye	Ile Sans Pain rive droite	Gironde
10	20/08/2007	33	Saint-Genès-de-Blaye	Ile Bouchaud rive droite	Gironde
11	21/08/2007	33	Saint-Genès-de-Blaye	Ile Bouchaud rive droite	Gironde
12	18/10/2007	40	Oeyregave	L'Ile - Plaine du Haut	Gaves
13	18/10/2007	40	Saint-Barthélemy	Entre Palis et Lartigue	Adour
14	17/10/2007	40	St-Martin-de-Seignanx	De Lapurdy à les Peys	Adour
15	23/10/2007	40	Pey	Pont de la D33	Adour
16	23/10/2007	64	Jatxou	De la gare vers Eliza	Nive
17	17/10/2007	64	Bassussary	Martinaskoenea	Nive
18	17/10/2007	64	Bassussary	Martinaskoenea	Nive
19	17/10/2007	64	Ustaritz	Notre Dame de la Nive	Nive
20	22/10/2007	64	Saint-Pée-sur-Nivelle	Elhorga	Nivelle
21	18/10/2007	64	Guiche	La Barthe du Hour	Bidouze
22	18/10/2007	64	Guiche	Borde Chuherine-Maisonnavé	Adour
23	19/10/2007	64	Came	Le Port	Bidouze
24	18/10/2007	64	Sames	Camithio	Bidouze
25	17/10/2007	64	Bayonne	Pont SNCF	Adour
26	17/10/2007	64	Bayonne	Pont SNCF	Adour
27	17/10/2007	64	Bayonne	Pont SNCF	Adour
28	17/10/2007	64	Lahonce	Port de l'Aiguette	Adour
29	18/10/2007	64	Urcuit	Pérée	Adour
30	18/10/2007	64	Bardos	Larroque vers le Sabalon	Aran
31	18/10/2007	64	Urt	Pétrichon	Arday
32	22/10/2007	64	Saint-Pée-sur-Nivelle	Olha	Nivelle
33	18/10/2007	64	Urcuit	Parcours sportif Oyharzabal	Arday
34	18/10/2007	64	Brisous	Sahatari	Arday
35	22/10/2007	64	Saint-Jean-de-Luz	Collège de Chantaco	Nivelle
36	26/08/2008	17	Tonnay-Charente	Halte nautique 1	Charente
37	26/08/2008	17	Tonnay-Charente	Halte nautique 2	Charente
38	26/08/2008	17	Tonnay-Charente	Entre l'Usine et le Silo 1	Charente
39	26/08/2008	17	Tonnay-Charente	Entre l'Usine et le Silo 2	Charente
40	26/08/2008	17	Le Geay	L'Hopiteau	Charente
41	02/09/2008	17	Sainte-vaize	Port de Pierre	Charente
42	02/09/2008	17	Le Mung	En aval de l'Ecluse	Charente
43	02/09/2008	17	Le Mung	En aval de l'Ecluse	Charente
44	08/09/2008	40	Sainte-Marie-de-Gosse	De Horgave à Betjean	Adour
45	08/09/2008	40	Sainte-Marie-de-Gosse	De Horgave à Betjean	Adour
46	08/07/2008	33	Vayres	Quai de Saint-Pardon	Dordogne
47	06/10/2008	16	Cognac	Parc François 1er	Charente
48	16/10/2008	33	Génissac	Port	Dordogne
49	21/08/2008	33	Blaye	Ile Nouvelle	Gironde
50	21/08/2008	33	Blaye	Ile Nouvelle	Gironde
51	18/09/2008	33	Blaye	Ile Nouvelle	Gironde

