



CONSERVATOIRE  
BOTANIQUE NATIONAL  
FRANCHE-COMTÉ



OBSERVATOIRE RÉGIONAL  
DES INVERTÉBRÉS

## CONSERVATION *EX SITU* D'ESPÈCES VÉGÉTALES MENACÉES SUR LE TRACÉ DE LA LGV RHIN-RHÔNE

Constitution d'une banque de semences pour l'avenir  
- Bilan 2022 - 2024



**Photo(s) de couverture :**

- Station de *Linum leonii* (J. Amiotte-Suchet)
- Fruits de *Linum leonii* (J. Amiotte-Suchet)
- Test de germinations (J. Amiotte-Suchet)

**Date de publication :** décembre 2024

**Référence bibliographique :**

Dreux T., Reymann J. & Vuillemenot M., 2024. Conservation *ex situ* d'espèces végétales menacées sur le tracé de la LGV Rhin-Rhône ; Constitution d'une banque de semences pour l'avenir – Bilan 2022 – 2024. Conservatoire botanique national de Franche- Comté – Observatoire régional des Invertébrés, 76 p. + annexes.



# CONSERVATION *EX SITU* D'ESPÈCES VÉGÉTALES MENACÉES SUR LE TRACÉ DE LA LGV RHIN-RHÔNE

## Constitution d'une banque de semences pour l'avenir

BILAN 2022 - 2024

**RÉSUMÉ :** Soutenu par SNCF Réseau dans le cadre des mesures supplémentaires pour l'environnement du tracé de la Ligne à grande vitesse Rhin-Rhône, ce projet d'une durée de trois ans a eu pour but de constituer une banque de semences, viables et stockées à long terme, pour des espèces végétales rares et menacées de disparition. Une telle banque est un outil essentiel pour la conservation de la biodiversité végétale menacée, qui rend possible, par la suite, d'éventuels projets de restauration, de renforcement ou de réintroduction de ces espèces dans des milieux naturels. Ce rapport décrit toutes les étapes qui ont été nécessaires pour parvenir à la constitution de cette banque de semences. Il présente les espèces concernées par ce programme. Il restitue, pour chacune, les résultats issus des observations de terrain et des manipulations en laboratoire, en particulier ceux des tests de germination qui apportent des informations précieuses sur leur culture *ex situ* et leur conservation à long terme. Enfin, pour chaque espèce, des perspectives d'actions sont envisagées.

**Relevés de terrain :** Thomas Dreux, Brendan Greffier, Hubert Guimier, Christophe Hennequin, Emmanuelle Lehimas, Corentin Nicod, Julie Reymann et Marc Vuilleminot

**Manipulations en laboratoire :** Thomas Dreux, Emmanuelle Lehimas, Julie Reymann et Marc Vuilleminot

**Rédaction :** Thomas Dreux, Julie Reymann et Marc Vuilleminot

**Relecture :** Yorick Ferrez

**Étude réalisée par** le Conservatoire botanique national de Franche-Comté – Observatoire régional des Invertébrés (CBNFC-ORI)

**Remerciements pour leur collaboration à cette étude :**

- les collègues impliqués dans la conservation *ex situ* au sein du réseau des CBN et Jean-François Thomas au Service Jardin botanique de la Ville de Lyon pour les échanges d'informations
- Arthur Passard, étudiant en L3 Sciences de la Vie, parcours Biologie-écologie à l'Université de Franche-Comté, stagiaire au CBNFC-ORI en avril 2022 sur la préparation du plan de récolte du projet SNCF Réseau *ex situ*
- Dominique Girardet, cadre diplômé pour l'escalade du Club USB Montagne de Baume-les-Dames, pour son encadrement technique



# SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	1
<b>CONTEXTE .....</b>	<b>1</b>
La conservation ex situ, mission du CBNFC-ORI.....	1
Conservation ex situ des espèces menacées sur le tracé de la LGV Rhin-Rhône .....	2
MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	5
<b>ANALYSE DE LA BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>5</b>
<b>RÉCOLTE DES GRAINES.....</b>	<b>5</b>
Repérage initial des lieux de récolte .....	5
Tentatives de récolte et récoltes.....	6
Pré-séchage .....	6
<b>TRI ET PRÉPARATION DES LOTS.....</b>	<b>7</b>
Nettoyage des semences.....	7
Constitution des lots .....	7
Dessiccation des semences .....	8
<b>TESTS DE VIABILITÉ .....</b>	<b>8</b>
Principes.....	8
Prétraitement .....	9
Traitement.....	9
<b>CONSERVATION LONGUE DURÉE.....</b>	<b>10</b>
RÉSULTATS.....	11
<b>DÉROULEMENT DES RÉCOLTES.....</b>	<b>11</b>
Conditions météorologiques.....	11
<b>CARTE DES STATIONS.....</b>	<b>12</b>
FICHES ESPÈCES.....	13
<b>DESCRIPTION DES FICHES ESPÈCES.....</b>	<b>13</b>
<b>ADÉNOCARPE À PETITES FEUILLES – ADENOCARPUS COMPLICATUS SUBSP. PARVIFLORUS (DC.) GARCÍA ADÁ, G.LÓPEZ &amp; P.VARGAS .....</b>	<b>15</b>
<b>APHANE À PETITS FRUITS – APHANES AUSTRALIS RYDB.....</b>	<b>19</b>
<b>CONOPODE DÉNUDÉ – CONOPODIUM MAJUS SUBSP. MAJUS (GOUAN) LORET .....</b>	<b>22</b>

<b>FOUGÈRE À CRÊTES - <i>DRYOPTERIS CRISTATA</i> (L.) A.GRAY</b>	<b>25</b>
<b>ÉPILOBE À FEUILLES LANCÉOLÉES - <i>EPILOBIUM LANCEOLATUM</i> SEBAST. &amp; MAURI</b>	<b>29</b>
<b>AGRIPAUME CARDIAQUE - <i>LEONURUS CARDIACA</i> L.</b>	<b>33</b>
<b>NIVEOLE D'ÉTÉ - <i>LEUCOJUM AESTIVUM</i> L.</b>	<b>37</b>
<b>LINDERNIE COUCHÉE - <i>LINDERNIA PROCUMBENS</i> (KROCK.) PHILCOX</b>	<b>41</b>
<b>LIN DE LÉO - <i>LINUM LEONII</i> F.W.SCHULTZ</b>	<b>44</b>
<b>ORLAYA À GRANDE FLEURS - <i>ORLAYA GRANDIFLORA</i> (L.) HOFFM.</b>	<b>48</b>
<b>OROBANCHE DE BARTLING - <i>OROBANCHE BARTLINGII</i> GRISEB.</b>	<b>52</b>
<b>GRANDE OROBANCHE - <i>OROBANCHE ELATIOR</i> SUTTON</b>	<b>56</b>
<b>GRAND POLYCNÈME - <i>POLYCNEMUM MAJUS</i> A.BRAUN EX BOGENH.</b>	<b>60</b>
<b>PRIMEVÈRE À OREILLETES - <i>PRIMULA LUTEA</i> VILL.</b>	<b>63</b>
<b>STELLAIRE DES MARAIS - <i>STELLARIA PALUSTRIS</i> EHRH. EX HOFFM.</b>	<b>67</b>
 CONCLUSION	 71
 GLOSSAIRE	 72
 BIBLIOGRAPHIE	 74
 ANNEXE	 76



## INTRODUCTION

# CONTEXTE

## LA CONSERVATION EX SITU, MISSION DU CBNFC-ORI

### Une mission de service public

Le Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, organisme à but non lucratif, exerce une mission de service public. Agréé par le Ministère de la Transition écologique, il appartient au réseau des conservatoires botaniques nationaux, dont les missions en faveur de la diversité végétale et fongique sont reconnues d'intérêt général. Ces cinq missions d'intérêt général ont été redéfinies dans le Décret n° 2021-762 du 14 juin 2021 relatif aux conservatoires botaniques nationaux<sup>1</sup>.

À ce titre, le CBNFC-ORI participe à l'élaboration et à la mise en œuvre de l'inventaire du patrimoine naturel, procède à l'identification et à la conservation des éléments rares et menacés et prête son concours scientifique et technique à l'État, aux établissements publics et aux collectivités territoriales, ainsi qu'aux opérateurs qu'ils ont mandatés, conformément aux dispositions de l'article L. 414-10 du Code de l'environnement.

Parmi les missions du CBNFC-ORI, modifiées par décret le 14 juin 2021, figure la « conservation ex situ de matériel végétal et fongique, notamment à travers la gestion de collections conservatoires et de banques de graines et autres diaspores ».

### L'ex situ au CBNFC-ORI jusqu'en 2021

À la suite de l'adoption d'une stratégie de conservation ex situ validée par le conseil scientifique du CBNFC-ORI en 2008, ce dernier s'est doté des premières infrastructures nécessaires pour constituer une banque séminale, grâce à la dotation de l'État et de la Région. Pour ce faire, du matériel dédié a été acquis (congélateur, réfrigérateur, étuve réfrigérée, dessiccateur, balance de précision, tamis, etc.) et des récoltes de semences d'espèces végétales, essentiellement celles soumises à un plan de conservation régional ou national, ont été réalisées. Le plus souvent, ces semences ont été conditionnées pour être stockées à très basse température dans la salle de conservation du CBNFC-ORI, mais il est arrivé aussi que des lots de semences ou des germinations soient confiés à des jardins botaniques (Besançon, Nancy, Mulhouse, Lyon, Genève, Lausanne, Neuchâtel) et le sont encore pour certaines.

Disposant des espaces de cultures et du savoir-faire nécessaires, ces derniers peuvent ainsi conserver des plants, permettant éventuellement leur étude ex situ par le Conservatoire botanique (conditions de développement, comportement de la plante à différents paramètres, dates de floraison et de fructification, etc.), mais les jardins botaniques peuvent aussi produire des semences (par multiplication sexuée) et des plants par bouturage, permettant de disposer de suffisamment de matériel

<sup>1</sup>

<https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT00004366470>  
6

végétal pour réaliser des opérations de renforcement ou de réintroduction d'espèces végétales menacées dans les milieux naturels. Tel est le cas, par exemple, pour *Saxifraga hirculus* L. dans les tourbières du Haut-Doubs et du Haut-Jura.

### Perspectives d'évolution de l'Ex situ Au CBNFC-ORI

À court et moyen termes, l'exercice de cette mission de conservation ex situ va significativement évoluer pour le CBNFC pour deux raisons :

- en 2022, la Région et la DREAL BFC ont formulé officiellement leur demande de création d'un CBN juridiquement autonome ayant comme territoire d'agrément la totalité de la Bourgogne Franche-Comté. En 2025, un CBN BFC sera créé, sous la forme d'un Établissement public de coopération environnementale (EPCE) comptant une vingtaine d'adhérents constituants (l'État, l'OFB, l'ONF, le Parc National de Forêts, la Région, les départements de Bourgogne Franche-Comté, les quatre parcs naturels régionaux et quatre communes et intercommunalités). Cet EPCE sera en capacité de demander le renouvellement de l'agrément national qui échoit en Bourgogne comme en Franche-Comté au 31 décembre 2025. Au 1<sup>er</sup> janvier 2026, l'équipe bourguignonne du CBN du Bassin parisien et l'équipe du CBNFC-ORI se rejoindront dans cet EPCE. Ainsi, à partir de cette date, la mission de conservation ex situ s'exercera sur l'ensemble du territoire Bourgogne Franche-Comté, et les infrastructures techniques du laboratoire de conservation ex situ du CBNFC actuel bénéficieront à l'ensemble du territoire également ;
- un projet de construction de bâtiment est en cours de conception sur le Campus de la Bouloie à Besançon, pour offrir au CBN BFC des locaux définitifs et la possibilité de disposer enfin d'un jardin conservatoire. Cette perspective permet d'envisager le déploiement à grande échelle de la mission de conservation ex situ en faveur des espèces végétales menacées du territoire Bourgogne Franche-Comté.

supplémentaires LGV Rhin-Rhône. Deux objectifs prioritaires ont été attribués à ces mesures :

- interventions en faveur de la biodiversité :
  - mise en valeur (protection, gestion, entretien, restauration) des milieux naturels d'intérêt patrimonial jouxtés par la LGV, comme les ensembles d'écosystèmes particulièrement menacés que sont les zones humides, les abords de cours d'eau, les habitats aquatiques, les pelouses sèches et les prairies permanentes ;
  - conservation d'espèces menacées ;
- interventions en faveur de l'écologie des paysages :
  - actions visant à favoriser les continuités biologiques et rompre les isolements de milieux et espaces fragiles, comme par exemple la restauration de haies, de vergers ou de ripisylves et le reméandrement de cours d'eau.

Par ailleurs, SNCF Réseau souhaitait que chaque projet puisse contenir un volet de solidarité économique pour les territoires.

### Contribution du CBNFC-ORI

Sur ces bases, le CBNFC-ORI a proposé d'agir en faveur de stations d'espèces végétales menacées de disparition dans le territoire concerné par le tracé de la LGV. Au sein des sous-bassins versants traversés par la ligne, l'ambition était de constituer une banque séminale de ces espèces, sélectionnées pour leur vulnérabilité et pour leur présence essentiellement dans les milieux naturels d'intérêt patrimonial de ce territoire.

La constitution d'une banque de semences est un outil majeur de conservation ex situ pour le végétal. Lorsque des stations d'espèces menacées viennent à être dégradées, voire détruites, elle permet éventuellement d'envisager des projets de restauration, de renforcement ou de réintroduction de ces espèces dans des milieux naturels, grâce à la culture des semences ou des spores récoltées et conservées.

## CONSERVATION EX SITU DES ESPÈCES MENACÉES SUR LE TRACÉ DE LA LGV RHIN- RHÔNE

### Appel à projets pour la biodiversité

En 2021, SNCF Réseau a lancé un appel à projets complémentaire au programme de mesures



FIGURE 1 – Tri des spores de *Dryopteris cristata* (E. Lehimas)

La production de plants permet ainsi d'envisager l'amélioration de l'état de conservation des populations affaiblies (en effectif ou génétiquement) dans la nature. Il peut s'agir de renforcer, avec ces plants, les populations existantes, de recréer des populations disparues, voire de créer de nouvelles populations permettant de connecter des populations trop isolées et de réactiver ainsi les flux de gènes. Certes, les opérations de multiplication de graines, de mise en culture et de réimplantation sur site se soldent dans de nombreux cas par des échecs ou des résultats mitigés, mais s'il n'y a pas eu de sauvegarde préalable du patrimoine génétique d'une espèce dans un territoire, alors ce type d'opérations ne peut même pas être envisagée.

L'intérêt de cette banque de semences prélevées dans le territoire traversé par la LGV est accru par l'origine locale du matériel végétal disponible *in fine*. En cas de projets de restauration, les plants produits à partir des graines (ou des spores) seraient adaptés génétiquement à ce territoire et ne risqueraient pas d'occasionner de pollutions génétiques.

Au-delà de l'intérêt direct pour la conservation des espèces concernées, cet appel à projets a été perçu par le Conservatoire botanique comme une réelle opportunité de donner un essor à sa mission de conservation *ex situ* :

- en acquérant du matériel de laboratoire supplémentaire et plus performant ;
- en accroissant significativement le volume d'activités du Conservatoire botanique dans ce

domaine, ayant pour effet d'améliorer l'expérience du personnel du Conservatoire botanique et de permettre la pérennisation de l'emploi d'une jardinière-botaniste au sein CBNFC ORI.

Le soutien de SNCF Réseau à ce projet a conduit à sa mise en œuvre de 2022 à 2024.

## Espèces concernées

### Sélection initiale

Les espèces végétales visées par le projet ont été proposées sur la base d'une sélection de taxons menacés en France ou en Franche-Comté :

- possédant au moins une station dans l'aire du projet (ou en limite) du tracé de la LGV ;
- produisant des semences ou des spores en capacité de survivre à la dessiccation et/ou à la conservation longue durée au froid (congélation ou réfrigération) ;
- occupant préférentiellement des milieux naturels d'intérêt patrimonial et diversifiés.

Le principe était de récolter des semences ou des spores dans toutes les stations de ces espèces, au sein de l'aire du projet. Initialement, une liste de douze espèces, correspondant à 17 stations, a été proposée, complétée par une liste de six autres espèces de remplacement, correspondant à six autres stations, au cas où des stations des taxons prioritaires ne puissent pas être récoltées (disparition de la station, non apparition de la plante lors des prospections, etc.).

### Difficultés

#### Destruction de stations

Lors de la préparation du terrain pour organiser les repérages avant les premières récoltes en 2022, il est apparu que les milieux naturels de deux taxons avaient récemment été détruits : l'œillet à delta (*Dianthus deltoides* L.) et la potentille couchée (*Potentilla supina* L.). Puis, dès les premières recherches de terrain, il a été constaté que deux autres stations d'espèces sélectionnées avaient été détruites :

- une des deux stations d'agripaume cardiaque (*Leonurus cardiaca* L.)<sup>2</sup> ;
- la station d'aphane à petits fruits (*Aphanes australis* Rydb.) de Germigney (70) ; en remplacement de cette dernière, l'autre station

<sup>2</sup> Station d'Offemont (90).

franc-comtoise de l'espèce, située à Breuches (70) a été choisie.

Ces situations illustrent la vulnérabilité des taxons concernés par ce projet et la nécessité de préserver des habitats fonctionnels.

#### Disparition de stations

L'une des deux stations contemporaines de grande douve (*Ranunculus lingua* L.) présentes dans l'aire du projet a été recherchée (Saulnot, 70) en vain durant les trois années du projet. Il a été conclu que l'espèce avait disparu en raison de l'évolution du milieu, passant d'une magnocariçaie à une phragmitaie.

Concernant la stellaire des marais (*Stellaria palustris* Hoffm.), les stations de Les Aynans (70), Saint-Sulpice (70) et Jallerange (25) n'ont pas été retrouvées durant ces trois années, malgré des recherches annuelles et la présence d'habitats favorables.

#### Impossibilité de récolte

À Vitreux, en 2022, aucun individu de grande douve n'a été retrouvé en raison d'un pointage peu précis. En 2023, des informations supplémentaires sur la localisation de la station ont été récupérées et le 13 juin quelques individus ont été retrouvés, confirmant l'existence encore actuelle de cette station. Malheureusement, au moment de la récolte les parties terminales avaient disparu, probablement parce qu'elles avaient été consommées par des animaux. En 2024 (30 juillet et 8 août) aucun individu n'a été trouvé car la zone ciblée était inaccessible en raison des fortes précipitations.

À propos de la stellaire des marais, seules les stations d'Aillevans (70) et de Marnay (70) ont été revues en période de floraison durant les prospections de ces trois années de projet. Néanmoins, malgré l'accord des exploitants agricoles de laisser une bande non fauchée afin de protéger ces plantes jusqu'à fructification, une seule récolte a pu être réalisée durant tout le projet, à Aillevans. À Marnay, la stellaire des marais ne parvenait pas à être retrouvée au moment de la fructification ; tandis qu'à Aillevans, en 2024 par exemple, plus d'une centaine de pieds ont été retrouvés, mais en raison des fortes précipitations printanières, à chaque passage, les plants étaient à différents stades de développement, avec très peu de fruits mûrs disponibles.

### Liste finale

Finalement, les récoltes se sont portées sur les quinze taxons suivants.

#### Forêts et lisières forestières

- l'adénocarpe de Lainz (*Adenocarpus complicatus* subsp. *parvifolius* (DC.) García Adá, G.López & P.Vargas)
- le dryopteris à crêtes (*Dryopteris cristata* (L.) A.Gray)
- l'épilobe à feuilles lancéolées (*Epilobium lanceolatum* Sebast. & Mauri)
- l'agripaume cardiaque (*Leonurus cardiaca* L.)

#### Étangs, bords de rivière, marais et prairies inondables

- la lindernie couchée (*Lindernia procumbens* (Krock.) Philcox)
- la nivéole d'été (*Leucojum aestivum* L.)
- la stellaire des marais (*Stellaria palustris* Hoffm.)

#### Pelouses sèches, tontures et prairies maigres

- l'aphane à petits fruits (*Aphanes australis* Rydb.)
- le conopode dénudé (*Conopodium majus* subsp. *majus* (Gouan) Loret)
- le lin de Léo (*Linum leonii* F.W.Schultz)
- l'orlaya à grandes fleurs (*Orlaya grandiflora* (L.) Hoffm.)
- l'orobanche de Bartling (*Orobancha bartlingii* Griseb.)
- la grande orobanche (*Orobancha elatior* Sutton)
- le grand polycnème (*Polycnemum majus* A.braun ex Bogenh.)

#### Parois et corniches

La primevère à oreillettes (*Primula lutea* Vill.)



Bordereau de suivi (J. Amiotte-Suchet)

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### ANALYSE DE LA BIBLIOGRAPHIE

Les méthodes de collecte et d'analyse employées dans ce programme s'appuient sur de nombreux travaux réalisés par d'autres conservatoires botaniques, ainsi que par des banques de graines internationales. La première étape du programme a consisté à rassembler des informations sur les méthodologies et les taxons sélectionnés.

Concernant les données sur les conditions de germination des espèces, deux bases de données ont été principalement utilisées : la Seed Information Database (SID) et la Virtual Seed Bank (ENSCONET). Les informations écologiques des espèces sont issues essentiellement de la consultation de l'Atlas de la flore rare et protégée de Franche-Comté (Ferrez *et al.*, 2001), de la base de données Taxa du CBNFC-ORI et de la Société botanique de Franche-Comté, et de Flora Gallica (Tison & de Foucault, 2014). Enfin, les données spécifiques aux graines ont été obtenues grâce à l'Atlas des graines et des fruits de la flore du centre et de l'est de l'Europe (Bojňanský & Fargašová, 2009) et au livre Seeds (Baskin & Baskin, 2011).

Le réseau des conservatoires botaniques a été sollicité afin d'obtenir des informations sur les protocoles et les résultats des tests de germination pour des taxons ou des espèces apparentées. Des rapports des CBN sur la conservation *ex situ* (Demonty *et al.*, 2014, Morel, 2010) ont également été consultés, de même que ceux du Conservatoire et jardin botanique de Genève (Mombrial *et al.*, 2016).

### RÉCOLTE DES GRAINES

#### REPÉRAGE INITIAL DES LIEUX DE RÉCOLTE

Les variations météorologiques interannuelles influent sur la phénologie des espèces et obligent à effectuer chaque année, sur chaque station une visite de repérage afin d'estimer le moment idéal des récoltes pour disposer de graines matures. Cette phase de repérage indispensable permet :

- d'identifier l'espèce à ses différents stades de développement ;
- d'évaluer le stade de développement et l'effectif de la population ;
- de marquer l'emplacement exact de chaque individu (GPS et/ou marqueur physique) ;
- d'obtenir plus d'information sur la biologie de l'espèce.

## TENTATIVES DE RÉCOLTE ET RÉCOLTES

Ensuite, chaque station est visitée au minimum deux fois pour chercher à effectuer deux récoltes. En fonction des espèces, davantage de visites peuvent être nécessaires, surtout lorsque la floraison est très échelonnée. Ces sorties multiples peuvent parfois être vaines, en raison :

- des conditions météorologiques (trop froides ou trop humides, retardant la fructification et la maturation, ou au contraire trop chaudes ou trop sèches, avançant la fructification et la maturation) ;
- des facteurs environnementaux des sites, en lien avec la gestion (évolution des dates de fauche ou de mise en pâturage) ou d'autres composantes écologiques, comme la consommation des inflorescences par les herbivores sauvages.

À titre informatif, un récapitulatif des dates de sortie et des actions menées (repérage ou récolte) pour chaque station est fourni en annexe 1.

Pour plusieurs espèces, des partenariats avec des gestionnaires locaux (exploitants agricoles, collectivités locales) ont été mis en place pour permettre ou faciliter les récoltes (Figure 2). La collecte de la primevère à oreillettes a été encadrée par un membre d'une association d'escalade afin de sécuriser chaque sortie.

Les récoltes s'effectuent, dans la mesure du possible, par temps dégagé et sec afin d'éviter le surplus d'humidité au sein de l'échantillon qui serait néfaste pour la conservation à long terme des semences. Idéalement, ces deux récoltes permettent d'obtenir un lot de graines en début de fructification et un autre en fin de fructification, ce qui permet d'augmenter la diversité du patrimoine génétique du lot constitué *in fine*. La récolte est précautionneuse afin d'éviter au maximum d'endommager les plantes au-delà des parties récoltées (graines, gousses, capsules ou rameaux selon les cas). Les graines sont collectées dans des sacs en kraft ou dans des enveloppes en papier (Figure 3).



**FIGURE 2 — Repérage et mise en exclos des plants de *Linum leonii* (T. Dreux)**

Lors de chaque récolte, un maximum d'environ 10 % des fruits de la population sont prélevés, en veillant à les prélever sur un maximum d'individus, sans sélection d'apparence des individus et au sein de toute l'aire de présence de l'espèce, afin d'avoir un échantillon représentatif. Ainsi, en prenant en compte les deux récoltes, un maximum de 20 % des graines de la population est récolté, afin de limiter l'impact sur la population locale. Si l'effectif de la population ou si le nombre de graines matures est trop faible, aucune récolte n'est réalisée.

Sur le terrain, les informations suivantes sont consignées : date, conditions météorologiques, espèce, localisation, récolteur, nombre de fruits par individus prélevés, etc.

## PRÉ-SÉCHAGE

De retour du terrain, les sacs en kraft et les enveloppes en papier sont disposées, ouverts, au laboratoire dans un garde-manger en attendant le tri (Figure 4). Ce mode de stockage permet aux semences de commencer de sécher si les conditions extérieures étaient humides et de laisser les semences terminer progressivement leur maturation à température ambiante, en les mettant à l'abri des ravageurs éventuels. Cette phase, qualifiée de pré-séchage ou de post-maturation, peut durer de quelques jours à quelques mois. Durant cette période d'attente, il convient de surveiller que les semences ne soient pas altérées par des moisissures ou des insectes.



FIGURE 3 – Récolte (J. Amiotte-Suchet)



FIGURE 4 – Garde-manger en bas à gauche de l'étagère, incubateur en bas à droite et dessiccateurs en haut (J. Amiotte-Suchet).

## TRI ET PRÉPARATION DES LOTS

### NETTOYAGE DES SEMENCES

En laboratoire, plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour nettoyer et purifier les récoltes. Le tri des graines peut être fait :

- manuellement, à l'aide de tamis de différents maillages disposés sur un fond coloré afin de faciliter le repérage des graines (Figure 5) ;
- à l'aide d'une trieuse à colonne d'air (Figure 6), pour les formes de graines adaptées et pour les lots conséquents de graines<sup>3</sup>.

### CONSTITUTION DES LOTS

Après le tri, la pesée précise d'un échantillon de 100 graines permet d'estimer le nombre total de graines présentes dans le lot. Un numéro d'accession (identifiant unique) est attribué à chaque lot pour assurer sa traçabilité dans la durée. Les graines du lot sont alors conditionnées dans un tube en verre.



FIGURE 5 – Tamisage des graines (J. Amiotte-Suchet).

<sup>3</sup> Ce qui n'arrive que très rarement lorsqu'il s'agit de récolte d'espèces menacées.

## DESSICCATION DES SEMENCES

Par la suite, le tube en verre est transféré dans un dessiccateur (Figure 4) avec du silicagel. Un hygromètre est utilisé pour surveiller le taux d'humidité dans le dessiccateur. Le lot reste en dessiccation jusqu'à ce que le degré d'humidité se stabilise. En général, le temps de dessiccation moyen est de deux jours, avec un taux d'humidité final d'environ 10-15 %.

En principe, suite au tri, le lot est placé directement dans le dessiccateur car les graines ont déjà subi un pré-séchage, permettant un abaissement progressif de leur taux d'humidité. Toutefois, lorsque le tri du lot intervient, pour des raisons de disponibilité, dès la réception des graines au laboratoire, alors le tube en verre est alors placé systématiquement dans le garde-manger au moins une dizaine de jours.



FIGURE 6 – Colonne à air pour le tri de certaines graines (T. Dreux)

## TESTS DE VIABILITÉ

### PRINCIPES

Pour évaluer la viabilité d'un lot de graines, des tests de germination sont réalisés :

- l'année de la récolte, avant la mise en congélation des graines déshydratées, sur un sous-lot de graines individualisées à cet effet (T0);
- certaines années suivantes sur d'autres sous-lots de graines décongelées et individualisées également à cet effet (T1, T2, etc.), lorsque le nombre de graines du lot est suffisant pour pouvoir se permettre de détruire cette partie des graines.

Les préconisations bibliographiques varient concernant la fréquence de réalisation des tests de viabilité. Cela dépend de la quantité de graines en stock et de la disponibilité du personnel de conservation ex situ. L'objectif du premier test (T1) est d'évaluer si le lot de graines a été conditionné dans de bonnes conditions (absence d'air et d'humidité). S'il est généralement à réaliser entre un et quatre ans après la récolte, dans le cadre de ce projet SNCF Réseau, il a été réalisé à n+2. Si le pouvoir germinatif du T1 est proche de celui du T0, alors il peut être considéré que le lot ne devrait pas se dégrader par la suite. Il s'avère alors peu utile de consommer de nouvelles graines et du temps pour réaliser un nouveau test de viabilité au cours des années suivantes. S'il existe un doute, un deuxième test (T2) peut être réalisé malgré tout (par exemple autour de n+5). La confirmation des bons résultats du T1 permet potentiellement alors de reporter les prochains tests dans trente, voire cinquante ans (Mombrial et al., 2016). Si les résultats du T1 indiquent d'emblée une diminution significative (< 85 %) du pouvoir germinatif initial (T0), une nouvelle récolte doit être prévue pour tenter de disposer de graines de meilleure qualité.

Trente graines sont placées dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, sur papier filtre, disposées en trois rangées de dix pour faciliter le comptage (Figure 7). Le papier filtre est humidifié avec de l'eau distillée jusqu'à saturation, en prenant soin de ne pas noyer les graines. Les boîtes de Pétri sont ensuite placées dans des boîtes rectangulaires, au fond desquelles du papier absorbant humidifié est ajouté, afin de maintenir une ambiance humide. Certains lots peu fournis ont été testés avec vingt graines.



FIGURE 7 – Tests de germination (T. Dreux)

## PRÉTRAITEMENT

Pour la majorité des espèces, un ou plusieurs prétraitements sont nécessaires pour parvenir à la germination. Il s'agit de méthodes de substitution à différents phénomènes naturels qui permettent de lever la dormance des graines. Ainsi, pour la plupart des taxons, une phase de stratification à froid d'environ sept semaines est réalisée, afin de reproduire les conditions hivernales. Les boîtes rectangulaires contenant les boîtes de Pétri sont placées dans un réfrigérateur à une température de 5°C. En fonction des espèces, des prétraitements supplémentaires, comme l'ajout d'acide gibbérélique ou la scarification des graines, peuvent être nécessaires. Ces détails sont décrits dans les tableaux de la rubrique « Protocoles testés » des fiches espèces.

## TRAITEMENT

Une fois le prétraitement terminé, les boîtes de Pétri sont placées en incubateur dans des conditions contrôlées de température et de lumière, selon des plages horaires déterminées en fonction des espèces et destinées à reproduire des conditions climatiques extérieures (Figure 8).

Avec un nombre d'étuves limité, il est impossible de tester un protocole différent pour chaque espèce. Les tests sont donc réalisés avec un protocole de base convenant à une majorité d'espèces, à savoir 16°C, 12h de lumière et 12h de nuit. Par la suite, ce protocole est modifié si les résultats ne sont pas satisfaisants ou que

les conditions citées dans la bibliographie sont trop différentes.

L'humidité à l'intérieur et à l'extérieur des boîtes est régulièrement vérifiée et maintenue stable tout au long du test. Pour certaines espèces, de l'acide gibbérélique (AG) est utilisé pour stimuler la germination. Pour plus d'information, tous les protocoles utilisés spécifiques à chaque espèce sont détaillés dans les tableaux de la rubrique « Protocoles testés » des fiches espèces.



FIGURE 8 – Étuve (T. Dreux)

## CRITÈRES MESURÉS

Les boîtes de Pétri sont vérifiées tous les deux jours sous loupe binoculaire, en raison de la petite taille de certaines graines. Une graine est considérée comme germée lorsque la radicule atteint 1 mm (ou la taille de la graine pour les plus petites), et morte lorsqu'elle devient molle et généralement moisie.

Les paramètres suivants sont mesurés :

- pourcentage de germination cumulé : (nombre de graines germées / nombre de graines testées) x 100 ; les graines toujours viables en fin de test sont prises en compte dans le calcul et sont considérées comme non germées ;
- délai germinatif (DG) : durée avant la première germination qui commence dès la sortie du prétraitement et donc à la mise en incubateur ;
- période germinative (PG) : durée entre la première et la dernière germination.

Une fois le test terminé<sup>4</sup>, les graines restantes sont ouvertes afin de vérifier si elles sont viables ou non. La graine est considérée non viable lorsqu'elle est vide. Les graines non viables ne sont pas prises en compte dans le calcul du taux de germination.

Un protocole de germination est généralement considéré comme satisfaisant lorsqu'il permet d'obtenir un taux de germination d'au moins 70 % (Demonty & Dixon, 2014).

## CONSERVATION LONGUE DURÉE

Les lots « frais » préparés et testés après dessiccation sont placés en congélation à -22°C. Ils sont placés dans des contenants en verre adaptés à leurs volumes, puis dans des sachets thermosoudables opaques et sous vide, dans lesquels des billes de silicagel ont été ajoutées pour réduire encore tout risque d'humidité à l'intérieur (Figures 9, 10 et 11). Dans chaque sachet, les graines sont placées dans des tubes étiquetés. Lorsque le stock est suffisant, des tubes contenant 30 graines sont également préparés pour effectuer les tests T1 et T2. Ces lots pourront être sortis du congélateur les années suivantes afin de réaliser des tests de viabilité ou pour entreprendre des actions de réintroduction en milieu naturel.



FIGURE 9 – Soudure d'un sachet thermosoudable (J. Amiotte-Suchet)



FIGURE 10 – Insertion de silicagel dans un sachet thermosoudable (J. Amiotte-Suchet)



FIGURE 11 – Congélateurs (J. Amiotte-Suchet)

<sup>4</sup> Généralement au terme de huit semaines.



Test de germination d'*Orobanche bartlingii* sur *Libanotis pyrenaica* (J.Reymann)

## RÉSULTATS

# DÉROULEMENT DES RÉCOLTES

## CONDITIONS MÉTÉOROLOGIQUES

Le programme s'est déroulé sur trois années qui ont présenté des conditions météorologiques contrastées et marqués d'événements inhabituels. Il a fallu multiplier les passages, pour parvenir parfois à ne récolter qu'à une reprise au lieu des deux fois prévues, voire dans quelques cas à ne jamais réussir à récolter certaines années pour certaines stations.

### 2022

L'année a été caractérisée par un printemps chaud et sec, des températures douces avec plusieurs pics de chaleur et une faible pluviométrie globale. Le déficit pluviométrique a été très marqué en mai et en juillet.

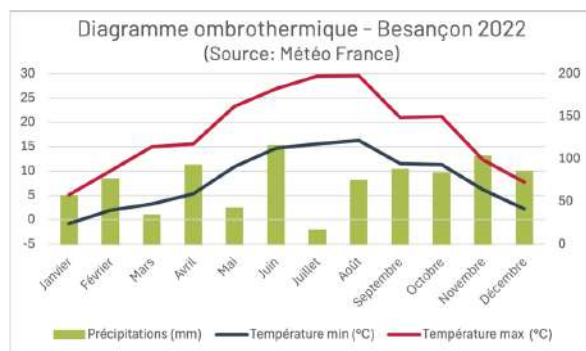


FIGURE 12 – Diagramme ombrothermique 2022

### 2023

L'année a été marquée par une faible pluviométrie hivernale (déficit important en février notamment) et donc une mauvaise recharge des nappes, suivie de périodes caniculaires en été et début d'automne.

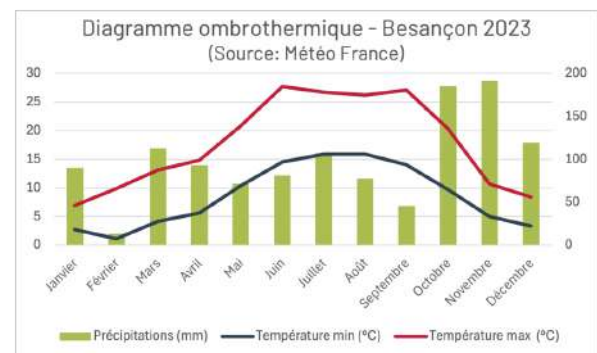


FIGURE 13 – Diagramme ombrothermique 2023

L'épilobe à feuilles lancéolées n'a pas été retrouvée du tout en 2023, alors que la gestion de sa station n'a pas évolué. Les conditions météorologiques pourraient en être la cause ; ce phénomène n'avait jamais été rapporté auparavant en Franche-Comté.

Sur la station d'orlaya à grandes fleurs, lors de la première sortie de récolte, une grande partie des plants étaient desséchés, certains présentaient une seconde floraison mais les tiges portaient des fruits avortés. Les récoltes de graines ont donc été

affectées. De la même façon, la production de semences du lin de Léo a été perturbée par les faibles précipitations du mois de juin.

## 2024

L'année a été caractérisée par des précipitations nettement supérieures à la moyenne, de février à juin. L'été a été marqué par des orages localement violents et deux vagues de chaleur, en juillet et en août.

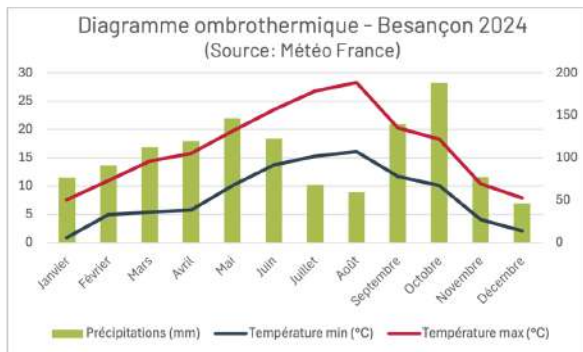


FIGURE 14 – Diagramme ombrothermique 2024

En 2024, certaines espèces ont présenté une floraison, et donc une fructification, plus précoce (comme la primevère à oreillettes ou le conopode dénudé), tandis que d'autres ont présenté une phénologie plus tardive (comme l'épilobe à feuilles lancéolées). En outre, certaines espèces comme le lin de Léo ou la stellaire des marais ont eu une période de floraison et de fructification très étendue, avec des individus à tous les stades de développement à chaque visite, ce qui a compliqué la récolte.

## CARTE DES STATIONS

La localisation communale des stations récoltées est présentée sur la figure 15.



FIGURE 15 – Localisation communale des stations de récolte des quinze espèces.

N.B. : la station de récolte d'*Aphanes australis*, excentrée par rapport à la ligne, est un site choisi en remplacement après le constat de destruction de la station initialement prévue, en l'absence de site plus proche.

## FICHES ESPÈCES

# DESCRIPTION DES FICHES ESPÈCES

Les informations relatives aux quinze taxons récoltés sont synthétisées sous forme de fiches. La première page décrit le taxon et ses semences, tandis que les pages suivantes détaillent la banque de semences, exposent les résultats des tests de germination puis proposent des perspectives d'actions.

## PORTRAIT

Cette première partie présente le taxon<sup>5</sup> en Franche-Comté :

- statuts de protection au niveau national et en Franche-Comté ;
- statuts sur les listes rouges nationale (UICN, 2018) et régionale (Ferrez, 2014) ;
- niveau de rareté en Franche-Comté ;
- nombre de stations connues de manière contemporaine<sup>6</sup> en Franche-Comté ;
- chorologie, écologie et type biologique ;
- une photographie de l'espèce.

Les données proviennent principalement de l'Atlas de la flore rare et protégée de Franche-Comté (Ferrez *et al.*, 2001), de la base de données du CBNFC-ORI et de la SBFC et de Flora Gallica (Tison & de Foucault, 2014).

## PHÉNOLOGIE

Les informations proviennent des données centralisées par le CBNFC-ORI et la SBFC. Des plages de floraison et de fructification relativement constantes sont représentées en vert foncé, tandis que des plages étendues en vert clair traduisent les variations phénologiques des années exceptionnelles.

## CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Un tableau synthétise les caractéristiques morpho-anatomiques des semences, accompagnées d'illustrations. Certaines informations, comme le type de dormance, ne figurent pas systématiquement dans toutes les fiches. Cela indique que ces données n'ont pas pu être trouvées. Les photographies, réalisées au

macroscope sur cinq graines, montrent les semences disposées sur un support transparent avec un fond gris, afin d'améliorer la perception des couleurs et des détails.

Les observations ont été faites à la loupe binoculaire et complétées grâce à l'Atlas des graines et des fruits de la flore d'Europe centrale et de l'Est (Bojňanský & Fargašová, 2009).

## STATIONS ET RÉCOLTE

Cette partie présente la ou les stations de récoltes retenues pour les espèces du programme. Chaque station est décrite succinctement avec une photographie associée si disponible. Les informations clés concernant la récolte y sont également décrites.

## BANQUE DE SEMENCES

Un tableau récapitule les lots de graines conservés au sein de la banque de semences du CBNFC-ORI, y compris les lots récoltés antérieurement à ce projet SNCF Réseau. Pour chaque lot, les informations suivantes sont précisées : le programme pour lequel le lot a été récolté, la date, la commune, le numéro d'accession, le nombre de graines, la durée de pré-séchage et de dessiccation.

## TESTS DE GERMINATION

### ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette section présente la bibliographie disponible sur les conditions de germination des espèces.

### PROTOCOLES TESTÉS

Ensuite, le premier tableau décrit l'ensemble des protocoles de tests de germinations testés au sein du CBNFC-ORI. Celui-ci présente le numéro du protocole, le ou les prétraitement(s) (PT), le substrat, le type d'arrosage et les conditions de température et de

<sup>5</sup> La nomenclature des noms scientifiques suit le référentiel TAXREF version 17.

<sup>6</sup> Au cours des vingt dernières années.

photopériode (L pour lumière et O pour obscurité) dans lesquelles ont été réalisés les tests.

## RÉSULTATS

Le second tableau résume les résultats de tous les tests de germinations réalisés. Il décrit :

- les identifiants des accessions et des tests ;
- s'il s'agit du premier test sur graines fraîches (T0) réalisé avant congélation, ou bien du premier test réalisé après congélation (T1) ;

Ainsi différents tests peuvent être présentés pour un même lot. Toutefois, le T1 n'a pas pu être réalisé pour toutes les espèces puisque dans certains cas les quantités de graines récoltées en 2022 étaient faibles.

- le numéro du protocole appliqué, en référence au tableau qui précède et qui liste les variantes de protocoles utilisées ;
- la durée (en jours) écoulée avant la première germination, à partir du début de la stratification lorsqu'il y en a, sinon à partir du traitement ;
- la durée (en jours) de la germination, de la première à la dernière graine qui germe. Ici le temps est généralement compté à partir du début du traitement puisque le suivi lors de la stratification n'est pas aussi régulier. Ainsi, pour certaines graines ayant germé exclusivement au cours de la stratification au froid, la durée de germination (lors du traitement) apparaît nulle.
- le taux de germination présenté est le taux de germination réel. Il ne s'agit pas du taux de germination corrigé (où les graines viables en fin de test sont décomptées) qui est plus élevé.

## PROTOCOLE RETENU

Le dernier tableau présente le protocole donnant les meilleurs résultats. Celui-ci pourra servir de référence afin de produire des plants pour d'éventuels projets de conservation *in situ* ou afin d'évaluer l'état de conservation d'un lot stocké au sein de la banque de semences au cours du temps.

## PERSPECTIVES

Sur la base des informations des rubriques précédentes, un premier bilan sur la représentativité des accessions et sur l'efficacité des mesures de conservation *ex situ* est établi. Lorsque cela s'avère pertinent, des perspectives d'actions sont proposées.

## ADÉNOCARPE À PETITES FEUILLES – *ADENOCARPUS COMPLICATUS* SUBSP. *PARVIFLORUS* (DC.) GARCÍA ADÁ, G.LÓPEZ & P.VARGAS

*Fabaceae*

### PORTRAIT

Statut de protection	Franche-Comté
Liste rouge (France)	LC
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	1
Chorologie	Méditerranéen-atlantique
Écologie	Espèce héliophile, sols caillouteux acides (lisières, friches, coupes forestières...)
Type biologique	Chaméphyte / Nanophanérophyte



FIGURE 16 – *Adenocarpus complicatus* subsp. *parviflorus* (T. Dreux).

### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Réniforme
Structure externe	Aucune
Ornementation	Lisse
Type de semence	Exalbuminée
Poids de 100 graines (g)	0,54 g
Longueur moyenne (10 graines)	2,5 mm
Largeur moyenne (10 graines)	2,3 mm



FIGURE 17 – *Adenocarpus complicatus* subsp. *parviflorus* (T. Dreux).

## STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines provient de l'unique station de Franche-Comté, située à Champagny (39)<sup>7</sup>. Elle se trouve en lisière de forêt, dans le bois de l'Abergement, sur un substrat sableux acide, au bord de la D87 et plus récemment à proximité d'un transformateur électrique installé lors de la création de la LGV Rhin-Rhône (Figure 18). Depuis les premières observations précisant des effectifs (en 2014), la population semble connaître une dynamique favorable, en ayant presque doublé ses effectifs (environ 20 individus actuellement).

En 2017, cette station avait fait l'objet d'une expertise par le CBNFC-ORI, grâce au soutien de SNCF Réseau (Billant, non publié). Les menaces identifiées concernaient la concurrence avec les ronces, l'entretien parfois trop sévère de la végétation autour du poste électrique et la gestion sylvicole de la parcelle adjacente. Des préconisations avaient été partagées avec la commune concernée et mises en œuvre (travaux d'entretien léger).

La question du renforcement de la population existante ou de la création de nouvelles populations

dans les forêts environnantes avait été posée par la municipalité de Champagny, étant concernée par un projet éolien impliquant des mesures compensatoires pour l'environnement. Ce sujet pourrait être à nouveau abordé, sous réserve de trouver des sites favorables.



FIGURE 18 – Station d'*Adenocarpus complicatus* subsp. *parviflorus* (E. Lehimas)

## BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU I – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Programme	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 17-012	État-région	08/11/2017	Champagny	104	2 mois	0 jour
NS 22-006	SNCF Réseau	05/07/2022		347	5 mois	2 jours
NS 22-021	SNCF Réseau	13/09/2022		45	3 mois	2 jours
NS 23-012	SNCF Réseau	30/06/2023		55	4 mois	6 jours
NS 23-025	SNCF Réseau	11/08/2023		432	3 mois	1 jour
NS 24-015	SNCF Réseau	09/07/2024		116	17 jours	3 jours
NS 24-021	SNCF Réseau	30/07/2024		500	13 jours	2 jours

## TESTS DE GERMINATION

### ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après ENSCONET, les conditions optimales de germination pour cette espèce sont les suivantes : scarification des graines à l'aide d'un scalpel, suivie d'une alternance de 12h de lumière et 12h d'obscurité à une température de 16°C, dans un milieu contenant 1 % de gélose (100 % de germination).

<sup>7</sup> En limite avec la commune de Pointre (39).

## PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU II – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement 1	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Scarification	-	Papier filtre	Eau déminéralisée	17,5°C	12h L / 12h O
2	Stratification froid humide (5°C/O) : 8 - 10 jours	Scarification sur papier de verre 120	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
3	Stratification froid humide (5°C/O) : 9 semaines	Scarification sur papier de verre 120	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
4	Stratification froid humide (5°C/O) : 7 semaines	-	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
5	Stratification froid humide (5°C/O) : 5 semaines	Scarification sur papier de verre 120	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
6	Stratification froid humide (5°C/O) : 7 semaines	Scarification sur papier de verre 120	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

## RÉSULTATS

TABLEAU III – Résultats des tests de germination de la population d'*Adenocarpus complicatus* subsp. *parviflorus*.

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 17-012	180117-1	T0	1	-	-	90,0
NS 22-006	230111-6	T0	2	13	66	90,0
NS 22-021	230111-19	T0	2	22	49	63,3
NS 23-025	231120-24	T0	3	69	8	100,0
NS 23-012	231120-37	T0	4	-	-	0,0
NS 22-006	240617-4	T1	5	77	28	96,7
NS 24-015	240802-27	T0	6	63	7	86,7
NS 24-021	240802-33	T0	6	56	4	36,7

Les taux de germination obtenus sont globalement très satisfaisants, avec une moyenne de 70,4 %. Le taux de germination nul observé pour le test n°231120-37 peut s'expliquer par l'absence de scarification des graines. Il est donc possible de conclure que la scarification est indispensable, car aucune germination ne se produit tant que ce prétraitement n'a pas été effectué. Une fois les graines scarifiées, la germination est rapide.

Le taux plus faible du test 230111-19 alors que le protocole est identique au test 230111-6, peut venir de la date de récolte, effectuée en septembre alors que la plupart des autres récoltes ont été faites en juillet.

La stratification ne semble pas indispensable puisque des taux de 90 % peuvent être obtenus sans, mais elle semble tout de même bénéfique puisque le meilleur taux a été obtenu avec un stratification de 9 semaines (231120-24). Par ailleurs, le test T1 réalisé deux ans après la récolte de 2022 (240617-4), montre des résultats excellents, avec un taux de germination de 96,7 %. Cela suggère que la congélation n'altère pas la viabilité des graines.

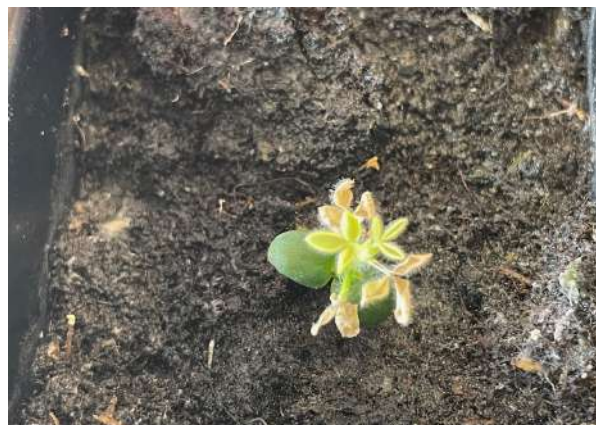
## PROTOCOLE RETENU

Protocole	Prétraitement 1	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
3	Stratification froid humide (5°C/O) : 9 semaines	Scarification sur papier de verre 120	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

## PERSPECTIVES

Les stocks de graines pour cette espèce sont globalement satisfaisants : 1600 graines sont désormais disponibles dans la banque séminale du conservatoire, en provenance de l'unique population franc-comtoise. En outre, les tests de germination montrent globalement de bons résultats et le protocole est bien maîtrisé. D'ici quelques années, il sera tout de même pertinent de poursuivre les récoltes afin de disposer aussi de matériel génétique plus récent. Dans la perspective de la création du CBN BFC, ces récoltes concerneront également la population bourguignonne située à proximité sur les communes de Vielverge et de Soissons-sur-Nacey (21).

Il serait également nécessaire de poursuivre les tentatives de mise en culture, car si la germination est homogène, le développement des plantules une fois en godet (Figure 19) s'est avéré plus délicat. La maîtrise du processus de mise en pépinière est tout aussi nécessaire en vue d'un programme de renforcement.



**FIGURE 19** – Jeune plant d'*Adenocarpus complicatus* subsp. *parviflorus* (T. Dreux)

## APHANE À PETITS FRUITS – *APHANES AUSTRALIS* RYDB.

### Rosaceae

#### PORTRAIT

Statut de protection	-
Liste rouge (France)	LC
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	1 <sup>8</sup>
Chorologie	Européenne
Écologie	Pelouses acidiphiles
Type biologique	Thérophyte



FIGURE 20 – *Aphanes australis* (E. Lehimas).

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Ovoïde
Structure externe	Aucune
Ornementation	Aucune
Type de dormance	Physiologique
Type de semence	Albuminée
Poids de 100 graines (g)	0,018 g
Longueur moyenne (10 graines)	1,09 mm
Largeur moyenne (10 graines)	0,84 mm



FIGURE 21 – Graines d'*Aphanes australis* (T.Dreux).

<sup>8</sup> Une deuxième station a été observée à Germigney (70) en 2009, mais elle a été détruite depuis.

STATION ET RÉCOLTE

La station de récolte initialement prévue se situait à Germigney (70), dans une prairie près d'un étang au lieu-dit les Prés de la Gaëche. Toutefois, la station avait disparu lors de la première visite en 2022, la prairie ayant été transformée en champ de maïs. L'ensemble des lots de graines provient donc de l'unique station restante de Franche-Comté située à Breuches (70). Il s'agit d'une pelouse rudérale autour du stade de foot et au pied du monument aux morts. Cette espèce étant très petite, la récolte des graines doit être très minutieuse et la maturité du fruit est souvent difficile à appréhender.

BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU IV – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-014	19/07/2022	Breuches	53	5 mois	2 jours
NS 22-022	23/06/2022		20	6 mois	2 jours
NS 23-001	06/06/2023		676	5 mois	1 jour
NS 23-016	06/07/2023		473	4 mois	1 jour
NS 24-007	24/06/2024		1313	25 jours	2 jours
NS 24-017	09/07/2024		1114	14 jours	2 jours

TESTS DE GERMINATION

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après le jardin botanique de Kew, les conditions optimales de germination sont les suivantes : à la lumière 12h sur 24 à 10°C durant 41 jours, dans un milieu comportant 1 % de gélose (91,4 % de germination). D'après le site ENSCONET, les conditions optimales de germination pour cette espèce sont les suivantes : alternance de 12h de lumière et 12h d'obscurité à une température de 16 °C, dans un milieu contenant 1 % de gélose (90 % de germination).

PROTOCOLES TESTÉS

Les deux protocoles énoncés produisant des résultats assez similaires, c'est le second protocole, plus classique, qui a été privilégié car il permet la mutualisation du traitement avec davantage d'espèces.

TABLEAU V – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 18 jours	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 9 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
3	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

RÉSULTATS

Les deux premiers tests (230111-14 et 230111-20) ont été réalisés sur 20 graines chacun en raison des quantités de graines limitées lors de ces premières récoltes. Le protocole standard a été appliqué pour les autres (30 graines).

TABLEAU VI – Résultats des tests de germination de la population d'*Aphanes australis*.

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-014	230111-14	T0	1	18	3	60,0
NS 22-022	230111-20	T0	1	21	11	65,0
NS 23-001	231120-01	T0	2	38	11	50,0
NS 23-016	231120-15	T0	2	38	26	73,3
NS 24-007	240802-19	T0	3	49	1	16,7
NS 24-017	240802-29	T0	3	49	1	16,7

Les taux de germination sont globalement peu satisfaisants pour tous les tests sauf pour le test 231120-15, avec un taux de germination moyen de 46,9 %. Il se peut que les lots de 2024 ne soient pas bons pour diverses raisons (graines non mures, graines défectueuses, etc.) ce qui expliquerait les résultats de ces tests. De plus, toutes les graines germées (5) des lots de 2024 ont germé pendant la période de stratification, d'où la durée de germination nulle. À noter que lors du tri des graines, certaines sont indirectement scarifiées, car pour enlever l'enveloppe externe du fruit, les fruits sont grattés sur le tamis afin de désagréger cette enveloppe. Cette abrasion a donc pu avoir une influence sur la germination des graines.

À noter qu'aucun test de germination des graines congelées (T1) n'a pu être réalisé pour le moment, étant donné le trop faible nombre de graines ayant pu être récoltées en 2022.

### PROTOCOLE RETENU

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 9 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

### PERSPECTIVES

Les stocks de graines pour cette espèce sont globalement satisfaisants, avec un total estimé à plus de 3600 graines. Cependant, les récoltes proviennent exclusivement d'une station. Une autre station franc-comtoise a été découverte en 2024 à Seveux (70). Il pourrait être utile de diversifier le patrimoine génétique en banque en allant récolter des graines de cette station, si elle se maintient.

À l'échelle régionale, cette espèce n'est toutefois pas prioritaire puisque, bien que rare en Bourgogne, elle n'y est pas menacée.

Enfin, des tests de germination sur les lots testés une première fois avant congélation en banque de semences doivent être réalisés, afin d'évaluer l'efficacité de leur conservation. Cela sera possible pour les lots 2024, et dans une moindre mesure ceux de 2023, en raison du nombre de semences disponibles.

## CONOPODE DÉNUDÉ – *CONOPODIUM MAJUS* SUBSP. *MAJUS* (GOUAN) LORET

*Apiaceae*

### PORTRAIT

Statut de protection	-
Liste rouge (France)	LC
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	1
Chorologie	Atlantique
Écologie	Pelouses, landes et ourlets mésophiles acidiphiles
Type biologique	Hémicryptophyte



FIGURE 22 – *Conopodium majus* subsp. *majus* (C. Hennequin).

### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Plano-convexe
Structure externe	Funicule
Ornementation	Lignes parallèles
Type de dormance	Morphophysiologique
Poids de 100 graines (g)	0,15 g
Longueur moyenne (10 graines)	3,05 mm
Largeur moyenne (10 graines)	1,37 mm



FIGURE 23 – Graines de *Conopodium majus* subsp. *majus* (T. Dreux).

## STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines proviennent de l'unique station de Franche-Comté située à Romagny-sous-Rougemont (90). La station se situe dans une clairière près de l'étang Saint-Léonard, intermédiaire entre une lande à *Avenella flexuosa* et une prairie oligotrophe embroussaillée.

La récolte est réalisée en tapotant l'ombelle au-dessus d'un drap ou d'un filet à papillon.

## BANQUE DE SEMENCES

**TABEAU VII –** Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-005	14/06/2022	Romagny-sous-Rougemont	127	6 mois	2 jours
NS 22-012	12/07/2022		333	5 mois	2 jours
NS 23-011	29/06/2023		4012	4 mois	1 jours
NS 23-023	11/07/2023		820	4 mois	1 jours
NS 24-004	24/06/2024		197	1 mois	3 jours

## TESTS DE GERMINATION

### ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après le jardin botanique de Kew, les conditions optimales de germination sont les suivantes : alternance 8h de lumière et 16h d'obscurité, à 5°C durant 147 jours, dans un milieu comportant 1 % de gélose (95 % de germination).

### PROTOCOLES TESTÉS

**TABEAU VIII –** Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement 1	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 5 semaines	Scarification graine à la pointe	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 9 semaines	Scarification graine à la pointe	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
3	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Scarification graine à la pointe	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

Afin de pouvoir débiter les tests le plus tôt possible, il a été décidé de regrouper ces tests avec les lots nécessitant une température de 16°, ce qui explique pourquoi nous n'avons pas suivi la température du protocole appliqué par Kew (5°C).

Les premiers tests démarrés sans scarification n'ont rien donné ; il a été tenté une légère scarification à la pointe de la graine, ce qui s'est rapidement traduit par les premières germinations.

RÉSULTATS

TABLEAU IX – Résultats des tests de germination de la population de *Conopodium majus*.

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-005	230111-5	T0	1	80	47	76,7
NS 22-012	230111-12	T0	1	89	28	63,3
NS 23-011	231120-11	T0	2	62	7	20,0
NS 23-023	231120-22	T0	3	54	0	3,3
NS 22-012	240617-9	T1	3	-	-	0,0
NS 24-004	240802-17	T0	3	-	-	0,0

Les taux de germination sont très variables, avec un taux moyen de 27,2 %. En 2022, le protocole 1 donne des résultats satisfaisants sur la première récolte, et des résultats un peu moins bons sur la deuxième récolte. En 2024, le T1 réalisé sur cette deuxième récolte (240617-9) n’a strictement rien donné. Cela peut laisser supposer que le lot conservé en congélation a perdu toute viabilité.

Les lots de 2023 ont eu une proportion de mortalité des semences bien plus élevée que les lots de l’année précédente sur une période de traitement identique. Cela semblait lié à des contaminations par des moisissures.

Toutefois, comme pour les T0 des lots récoltés en 2023 et en 2024, le mauvais résultat du T1 de 2022 peut aussi être attribué à la réalisation d’un protocole dont la période de stratification est plus longue. En outre, la scarification de la pointe de la graine a peut-être été insuffisante, ce qui n’a pas permis de déclencher correctement la germination. Il serait donc pertinent de tester un protocole dans lequel le péricarpe est complètement retiré. En effet, la première année, la scarification a d’abord été effectuée à la pointe, puis le péricarpe a été retiré progressivement sur les graines restantes non germées. Il est à noter que cette manipulation est très délicate et peut compromettre la viabilité de la graine.

PROTOCOLE RETENU

Le protocole suivant a montré les meilleurs résultats, mais il n’est pas entièrement satisfaisant :

Protocole	Prétraitement 1	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 5 semaines	Scarification graine à la pointe	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

PERSPECTIVES

Les stocks de graines pour cette espèce sont très variables en fonction des années et les résultats des tests de germination sont mitigés. Ils mériteraient donc d’être renouvelés à la fois pour préciser les modalités de prétraitement (période de stratification plus longue, scarification à la pointe légère et prononcée, suppression totale du péricarpe) et pour compléter les lots aux cas où certains seront effectivement considérés comme dégradés à l’analyse des résultats des prochains tests (T1/T2). La prochaine étape consistera donc à renouveler les tests sur les lots déjà conservés en banque de semences, afin d’évaluer l’efficacité de leur conservation.

À l’échelle régionale, l’espèce compte plusieurs populations dans le sud de la Saône-et-Loire. Des récoltes en provenance de quelques-uns de ces stations enrichirait et diversifierait le stock semencier.

## FOUGÈRE À CRÊTES – *DRYOPTERIS CRISTATA* (L.) A.GRAY

### *Dryopteridaceae*

#### PORTRAIT

Statut de protection	France
Liste rouge (France)	EN
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	3
Chorologie	Atlantique
Écologie	Espèce de basse altitude, milieux paratourbeux humide : prairies en contact de tourbières, saussaies et aulnaies marécageuses
Type biologique	Hémicryptophyte vivace



FIGURE 24 – *Dryopteris cristata* (T.Dreux).

#### PHÉNOLOGIE

Sporaison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
-----------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	En forme de « D »
Structure externe	Aucune
Ornementation	Aucune
Type de dormance	-
Longueur moyenne (10 spores)	63 µm
Largeur moyenne (10 spores)	43 µm



FIGURE 25 – Spores de *Dryopteris cristata* (T.Dreux).

## STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de spores proviennent de la station du marais de Saulnot (70), située au sein d'une aulnaie marécageuse et d'une cariçaie (Figure 26). Suite au bilan stationnel de l'espèce en 2004 (Nauche & Guyonneau, 2004), la description de cette station et la cartographie de la population de l'espèce ont été actualisées lors du plan de conservation (Vuilleminot, 2021). Les effectifs sont d'environ 300 individus répartis au sein d'une aire de présence de 1,4 ha. Pour l'heure, l'effectif important et l'absence de menace active ont permis de juger favorable l'état de conservation de cette population représentant l'une des plus importantes de France. Mais l'assèchement du marais constitue une menace potentielle qui aurait une conséquence fatale sur le *dryopteris* à crêtes qui a besoin de sols tourbeux longtemps engorgés.

Pour la récolte des morceaux de frondes sont délicatement prélevés et mis dans des enveloppes. Les sporanges, en séchant, libèrent leurs spores, ce qui facilite le tri.

## BANQUE DE SEMENCES

**TABEAU X –** Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Poids spores	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-031	22/07/2022	Saulnot	0,0079	5 mois	2 jours
NS 22-032	22/07/2022		0,0065	5 mois	2 jours
NS 23-015	06/07/2023		0,5793	4 mois	1 jours
NS 23-024	08/08/2023		-	3 mois	0 jour
NS 24-023	19/07/2024		0,0607	10 jours	2 jours
NS 24-027	29/06/2024		0,0047	2 mois	1 jour

Pour le lot NS 23-024, les spores étaient majoritairement vides et les spores n'ont pas pu être récupérées.

## TESTS DE GERMINATION

### ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Le protocole de semis et les méthodes de multiplication développée par le Jardin botanique de la ville de Lyon pour les ptéridophytes sont précisés dans un dossier sur les fougères (Thomas, 2012). Ces derniers sont effectués directement sur du terreau humidifié avec une photopériode de 12h de lumière et 12h d'ombre. Deux à quatre semaines sont généralement nécessaires pour obtenir des prothalles.



**FIGURE 26 –** Station de *Dryopteris cristata* (E. Lehimas).

## PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU XI – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement 1	Substrat	Contenant	Arrosage	Température	Photopériode
1	-	Terreau	Boîte de Petri	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
2	-	Terreau	Godet	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

## RÉSULTATS

TABLEAU XII – Résultats des tests de germination de la population de *Dryopteris cristata*.

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-031	230111-29	T0	1	24	-	100,0
NS 22-032	230111-30	T0	1	24	-	100,0
NS 23-015	231120-14	T0	1	7	-	100,0
NS 24-023	240904-38	T0	2	26	-	100,0
NS 24-027	240904-39	T0	2	26	-	100,0

Il est difficile d'estimer un taux de germination précis, car le nombre de spores déposées n'est pas connu. Cependant, des prothalles se sont développés, occupant toute la surface disponible, ce qui permet de supposer un taux de germination proche de 100 %. Pour obtenir une estimation plus représentative, il serait nécessaire de compter le nombre de spores disséminées et de prothalles formés, mais la faisabilité reste incertaine. Malgré cela, les tests de germination réalisés sur terreau en godet ou en boîte de Pétri montrent d'excellents résultats (Figure 27).



FIGURE 27 – Prothalles de *Dryopteris cristata* (J. Reymann).

## PROTOCOLE RETENU

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1 & 2	-	Terreau	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

## PERSPECTIVES

Les stocks de spores pour cette espèce sont très variables en fonction des années. Étant donné la taille des spores, il est impossible de les dénombrer de la même manière que les graines, mais les résultats sont très bons avec de faibles quantités. Il serait intéressant de poursuivre les tests initiés concernant la mise en culture, car pour le moment aucun sporophyte ne s'est développé.

Par ailleurs, il sera instructif de tester à court terme les lots congelés, afin d'évaluer leur résistance à ce mode de conservation. La conservation du pouvoir germinatif des spores de fougères est très peu documentée comparativement aux graines et de grandes différences de longévité existeraient entre les espèces (Roumier, 2022a). Les niveaux d'humidité et de températures idéales de conservation des spores à long terme sont discutées. Par convention, les conditions de stockage ont été établies à 4°C et à 20% d'humidité relative au moins, sachant que des températures négatives et sèches pourraient altérer la viabilité de ces spores. Néanmoins, l'absence de dessiccation pourrait aussi affectée la longévité de conservation des spores... Ces préconisations demeurent générales et les protocoles nécessitent d'être expérimentés selon les espèces.

Ainsi, si les résultats des tests des lots congelés s'avèrent négatifs, il conviendra de procéder à nouvelles récoltes, en testant différentes techniques : moindre dessiccation des spores, conservation au réfrigérateur (spores dans des enveloppes), voire mise en herbier de frondes sporangifères.

Selon les recommandations du plan de conservation (Vuilleminot, 2021), les enjeux très forts liés à cette espèce nécessitent de constituer une banque génétique des populations franc-comtoises de fougère à crêtes. Deux autres populations existent dans la montagne jurassienne, une dans le Jura et une découverte très récemment dans le Doubs. Des récoltes doivent donc être programmées dans ces stations, tout en veillant à renouveler périodiquement les prélèvements dans le marais de Saulnot pour faire face à la perte du pouvoir germinatif des spores au fil du temps.

Comme préconisé dans le plan de conservation, le renforcement de la population jurassienne pourrait être envisagé à moyen terme.

## ÉPILOBE À FEUILLES LANCÉOLÉES – *EPILOBIUM LANCEOLATUM* SEBAST. & MAURI

*Onagraceae*

### PORTRAIT

Statut de protection	-
Liste rouge (France)	LC
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	1
Chorologie	Atlantique
Écologie	Éboulis et rocaillles acides et arides
Type biologique	Hémicryptophyte vivace



FIGURE 28 – *Epilobium lanceolatum* (T.Dreux).

### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Lancéolée
Structure externe	Pappus
Ornementation	Ponctuée
Type de dormance	physiologique
Type de semence	Albuminée
Poids de 100 graines (g)	0,0056 g
Longueur moyenne (10 graines)	0,94 mm
Largeur moyenne (10 graines)	0,38 mm



FIGURE 29 – Graines d'*Epilobium lanceolatum* (T. Dreux).

STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines proviennent de la station historique de Franche-Comté, à Amange (39). Cette station se situe au sein de la forêt du massif de la Serre sur un talus rocheux gréseux et granitique le long de la D37. Afin de maintenir la population, une fauche adaptée a été convenue entre le CBNFC et le service des routes du Conseil départemental du Jura.

La base de données dispose de peu d'observations avec des effectifs indiqués de l'espèce. En 2022, un pointage systématique a totalisé 85 individus. En 2024, 50 individus ont été localisés.

L'effectif de la population est estimé entre 100 et 1000 individus en 2021 et 50 individus ont été recensé en 2024. En 2023, étonnamment, l'espèce n'a pas été retrouvée malgré plusieurs passages. À ce jour, lors des recherches au cours des dix dernières années de cette espèce, c'est la première année où il est observé une possible absence totale. La gestion du talus est restée inchangée en 2023, seules les conditions de chaleur et de sécheresse pourraient être en cause.



FIGURE 30 – Station d'*Epilobium lanceolatum* (M. Vuilleminot)

BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XIII – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-007	05/07/2022	Amange	4092	5 mois	2 jours
NS 24-022	30/07/2024		5931	11 jours	2 jours
NS 24-026	07/08/2024		7528	15 jours	4 jours

TESTS DE GERMINATION

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après le jardin botanique de Kew, les conditions optimales de germination sont les suivantes : à la lumière 12h sur 24, à 21°C, dans un milieu avec 1 % de gélose (93,33 % de germination). D'après le site ENSCONET, les conditions optimales de germination pour cette espèce sont les suivantes : alternance de 12h de lumière et 12h d'obscurité à une température de 21°C, dans un milieu contenant 1 % de gélose (90 % de germination).

PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU XIV – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement 1	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 2 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	24h 0
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	24h 0

RÉSULTATS

TABLEAU XV – Résultats des tests de germination de la population d'*Epilobium lanceolatum*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-007	230111-7	T0	1	17	45	76,7
NS 22-007	170624-5	T1	2	51	89	69,0
NS 24-022	240802-34	T0	2	63	23	10,0
NS 24-026	240902-37	T0	2	51	12	20,0

Les taux de germination varient considérablement, avec une moyenne de 43,9 %. Un temps de stratification plus court (deux semaines) pourrait avoir une influence positive sur le taux de germination, comme le suggère le protocole 1. Il est également possible que les deux récoltes de 2024 (NS 24-022 et NS 24-026) soient de moindre qualité, les graines n’ayant peut-être pas été récoltées à pleine maturité. En revanche, le test T1 (240617-5), réalisé deux ans après la récolte, affiche de bons résultats avec un taux de germination de 69 %, ce qui témoigne d’une bonne conservation du lot en banque de semences.



FIGURE 31 – Jeune plant d'*Epilobium lanceolatum* (T. Dreux).

## PROTOCOLE RETENU

Un protocole à l'obscurité a été initié par erreur lors des premiers tests. Étant donné les bons résultats avec ce dernier, le protocole n'a pas été rectifié pour les suivants. Au regard de la bibliographie, une alternance de 12h de lumière et 12h à l'obscurité serait peut-être à privilégier pour la suite.

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 2 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	24h 0

## PERSPECTIVES

Les stocks de graines de cette espèce sont très satisfaisants. Ils ne méritent pas de compléments pour l'instant à Amange. Cependant, il sera judicieux de diversifier génétiquement ce stock en récoltant des semences en provenance des deux autres stations franc-comtoises, présentes dans le sud du massif vosgien (une station en Haute-Saône et une station dans le Territoire de Belfort).

Concernant les récoltes de 2024, il sera nécessaire de réaliser le test T1 d'ici quelques années, afin d'évaluer la qualité de sa conservation en congélation, mais également pour tester de nouveau la viabilité des lots. Ce test permettra de déterminer si les résultats insatisfaisants sont dus à un protocole inadapté ou à une qualité insuffisante des lots. Il serait aussi intéressant de tester les protocoles issus de la bibliographie en alternant une phase de lumière et une phase d'ombre.

## AGRIPAUME CARDIAQUE – *LEONURUS CARDIACA* L.

### Lamiaceae

### PORTRAIT

Statut de protection	-
Liste rouge (France)	NT
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	1(-2)
Chorologie	Eurasiatique
Écologie	Friches nitrophiles bords de routes, chemins ou village
Type biologique	Hémicryptophyte



FIGURE 32 – *Leonurus cardiaca* (E. Lehimas).

### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Ovoïde-trapézoïde
Structure externe	Aucune
Ornementation	Aucune
Type d'embryon	Albuminé
Poids de 100 graines (g)	0,31 g
Longueur moyenne (10 graines)	1,88 mm
Largeur moyenne (10 graines)	0,84 mm



FIGURE 33 – Graines de *Leonurus cardiaca* (T. Dreux)

## STATIONS ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines provient des stations de Dannemarie-sur-Crête (25) (Figure 34) et d'Offemont (90). Toutefois, la station d'Offemont ayant disparu dès les premières prospections de terrain en 2022, des graines ont été récoltées dans un jardin à Burgille (25), où est cultivé de l'agripaume cardiaque en provenance de la station d'Offemont. Là-encore, cette situation démontre la vulnérabilité de ces stations d'espèces menacées.

Ces stations se situent dans des zones rudérales au sein de milieux herbacés riches et frais. Dans le Doubs, la population de la station comptait 19 individus en 2022, répartis sur quelques mètres carrés seulement.



FIGURE 34 – Station de *Leonurus cardiaca* à Dannemarie-sur-Crête (E. Lehimas)

## BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XVI – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-017	19/07/2022	Dannemarie-sur-Crête	3297	5 mois	2 jours
NS 22-025	22/07/2022	Burgille (Offemont)	34185	5 mois	2 jours
NS 23-026	11/08/2023	Dannemarie-sur-Crête	384	3 mois	1 jour
NS 23-030	20/09/2023	Burgille (Offemont)	9976	2 mois	1 jour
NS 24-025	08/08/2024	Dannemarie-sur-Crête	651	17 jours	5 jours

## TESTS DE GERMINATION

### ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après le jardin botanique de Kew, les conditions optimales de germination sont les suivantes : à la lumière 12h sur 24, à 16°C, dans un milieu avec 1 % de gélose et 250 mg/L d'acide gibbérellique (97 % de germination) ou à la lumière 12h sur 24, à 31°C, dans un milieu avec 1 % de gélose (94 % de germination). D'après le site ENSCONET, les conditions optimales de germination pour cette espèce sont les suivantes : alternance de 8h de lumière et 16h d'obscurité à une température de 25 °C, dans un milieu contenant 1 % de gélose et 250 mg/L d'acide gibbérellique (78 % de germination).

## PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU XVII – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 6 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

Le second protocole de Kew étant réalisé sans acide gibbérellique, nous avons fait le choix de ne pas l'utiliser pour tester nos lots.

## RÉSULTATS

TABLEAU XVIII – Résultats des tests de germination de la population de *Leonurus cardiaca*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-017	230111-17	T0	1	95	28	63,3
NS 23-026	231120-25	T0	2	-	-	0,0
NS 23-030	231120-26	T0	2	54	5	30,0
NS 22-017	240617-11	T1	1	70	16	16,7
NS 24-025	240902-36	T0	1	-	-	0,0

Les résultats des tests réalisés sont globalement mauvais avec un taux de germination moyen de 22 %. Seul le test 230111-17 présente un taux de germination correct (63,3 %). Le test réalisé deux ans après sur le même lot avec le même protocole (240617-11) présente un très faible taux de germination qui met en évidence une mauvaise conservation de cette espèce en banque de semences.

Les tests 231120-25 et 240902-36 n'ont donné aucun résultat. Dans le premier cas, la totalité des 30 graines sont mortes de moisissures au cours du test, révélant probablement une mauvaise qualité initiale des graines. Dans le deuxième cas, 29 graines étaient encore viables à la fin du test ; la qualité ne semble pas en cause dans l'absence de germination, aucune scarification n'ayant été pratiquée pour ce test, cela met en évidence son utilité.

Le lot NS 22-025 n'a pas été testé.



FIGURE 35 – Jeune plant de *Leonurus cardiaca* (T. Dreux)

## PROTOCOLE RETENU

A ce stade le protocole ayant fourni le meilleur résultat de TG est le suivant, toutefois d'autres paramètres semblent avoir été à l'œuvre (contamination des tests par des moisissures par exemple) et il devra encore être amélioré.

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 6 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

## PERSPECTIVES

Les stocks de graines pour cette espèce sont très satisfaisants quantitativement. En revanche, certains lots (NS 23-026 et NS 24-025) n'ont donné aucun résultat lors des tests de germination, tandis que les autres ont donné de mauvais résultats sur graines fraîches (NS 23-030) ou sur graines congelées (NS 22-017). Avant de conclure sur la non viabilité ou la faible viabilité de ces lots à l'état frais ou suite à la congélation, il est nécessaire d'approfondir les tests en expérimentant de nouveaux protocoles, notamment en utilisant de l'acide gibbérellique ou en testant une température de 31 °C comme indiqué dans certains protocoles de Kew. Par ailleurs, il serait utile de réaliser en parallèle des tests avec des lots scarifiés ou non, en effet lors du premier test une partie des graines avaient été scarifiées en fin de test, ce qui semble avoir influencé positivement la germination. Mais ce processus est particulièrement compliqué car la graine est très dure. Une scarification sur papier de verre serait peut-être plus adaptée qu'avec une lame.

Le lot NS 22-025 devra être testé.

Si les résultats sont favorables, alors il ne s'avèrera pas nécessaire de récolter de nouveau des graines dans les stations franc-comtoises. Par contre, il pourrait être judicieux de chercher à diversifier le patrimoine génétique des stocks en récoltant par la suite des semences au sein des stations bourguignonnes.

En Franche-Comté, l'agripaume cardiaque a toujours été rare et dispersé (Dehondt, 2017) et il est par ailleurs en forte régression en France (Tison & de Foucault, 2014). Le paradoxe de cette situation est que cette espèce apprécie les conditions eutrophes, que ce soient des friches rudérales ou des lisières forestières ; or ces milieux sont plutôt en progression (Dehondt, 2017). Lorsque la germination et la culture de cette espèce seront mieux maîtrisées au sein du CBNFC-ORI, des tests de création de populations *in situ* pourraient être envisagés.

## NIVEOLE D'ÉTÉ – *LEUCOJUM AESTIVUM* L.

### Amaryllidaceae

#### PORTRAIT

Statut de protection	France
Liste rouge (France)	NT
Liste rouge (FC)	EN
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	5
Chorologie	Méditerranéen
Écologie	Espèce hygrophile, berges de rivières à faible courant, prairies inondables
Type biologique	Hémicryptophyte



FIGURE 36 – *Leucojum aestivum* (E. Lehimas).

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Ronde
Structure externe	Aucune
Ornementation	Lisse
Type d'embryon	Albuminé
Poids de 100 graines (g)	3,62 g
Longueur moyenne (10 graines)	6,60 mm
Largeur moyenne (10 graines)	5,03 mm



FIGURE 37 – Graines de *Leucojum aestivum* (T.Dreux).

## STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines provient de Froidefontaine (90). La station se situe dans une saulaie marécageuse et une mégaphorbiaie à ortie au bord de la Bourbeuse et du canal du Rhône au Rhin (Figure 38). La population se compose de plus de 6500 individus. Chaque année, lors de la première visite, des sachets en toile ont été fixés à des piquets pour faciliter la récolte des fruits (Figure 39). Chez cette espèce, les fruits tombent rapidement au sol, ce qui justifie l'utilisation de cette méthode.



FIGURE 38 – Station de *Leucojum aestivum* (E. Lehimas)



FIGURE 39 – Fruit de *Leucojum aestivum* en sachet (E. Lehimas)

## BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XIX – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-002	31/05/2022	Froidefontaine	280	-	-
NS 23-010	29/06/2023		164	-	-
NS 23-019	11/07/2023		89	-	-
NS 24-006	25/06/2024		27	1 mois	3 jours
NS 24-018	11/07/2024		309	15 jours	3 jours

## TESTS DE GERMINATION

### ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après le jardin botanique de Kew, les conditions optimales de germination sont les suivantes : à l'obscurité, à 20°C durant 351 jours, dans un milieu avec 1 % de gélose (79,88 % de germination). D'après le site ENSCONET, les conditions optimales de germination pour cette espèce sont les suivantes : alternance de 12h de lumière à une température de 25 °C et 12 h d'obscurité à une température de 15 °C, dans un milieu contenant 1 % de gélose (100 % de germination). Enfin, une étude sur les populations turques (Çiçek et al., 2007) montre que la stratification au froid est inefficace pour lever la dormance de la graine, mais préconise au contraire six semaines de stratification chaude à 25°C (73 % de germination au bout de six mois).

### PROTOCOLES TESTÉS

Une période de stratification humide au froid a été initialement privilégiée en raison de l'écologie de l'espèce dans les stations franc-comtoises. En effet, les fruits tombent et passent l'hiver sur des substrats vaseux humides. Toutefois,

étant donné les mentions bibliographiques citées précédemment et notamment les études menées sur les populations méditerranéennes, une stratification chaude serait peut-être plus adaptée.

TABLEAU XX – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement 1	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 24 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	24h 0
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	24h 0
3	Stratification froid humide (5°C/0) : 19 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	24h 0
4	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérélique	20°C	24h 0

## RÉSULTATS

TABLEAU XXI – Résultats des tests de germination de la population de *Leucojum aestivum*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-002	230111-2	T0	1	-	-	0,0
NS 23-010	231120-10	T0	2	96	1	3,3
NS 23-019	231120-18	T0	3	-	-	0,0
NS 24-018	240802-30	T0	4	74	29	33,3

Les taux de germination sont très faibles, avec une moyenne de 9,2 %. Les trois premiers tests ont été réalisés sur des graines fraîches (sans phase de dessiccation car nous avons supposé que la dessiccation affecterait beaucoup le taux de germination), tandis que le test 240802-30 a été mené sur des graines déshydratées. Plusieurs facteurs pourraient expliquer le meilleur taux de germination observé pour ce dernier test, notamment l'ajout d'acide gibbérélique. Il est également important de souligner que les graines de nivéole moisissent très rapidement après leur sortie de stratification, ce qui pourrait contribuer à ces faibles taux.

## PROTOCOLE RETENU

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
4	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérélique	20°C	24h 0

## PERSPECTIVES

La maîtrise de la germination de la nivéole d'été est insuffisante actuellement. Il serait pertinent d'approfondir les tests en explorant de nouveaux protocoles, sans stratification au froid, mais éventuellement avec un trempage des graines dans une solution diluée de Javel (afin de réduire les moisissures) et avec ajout d'acide gibbérellique.

Ces tests seraient à conduire sur les lots disponibles, mais également sur de nouveaux lots à constituer, pour disposer d'un stock de semences suffisant et plus diversifié génétiquement. Depuis le plan de conservation de l'espèce en Franche-Comté (Greffier, 2020), la conduite de prospections complémentaires a permis de découvrir de nouvelles stations en basse vallée de la Loue jurassienne (Moretti, 2023). Les prochaines récoltes de semences devront concerner ces différentes provenances.

## LINDERNIE COUCHÉE – *LINDERNIA PROCUMBENS* (KROCK.) PHILCOX

### *Linderniaceae*

#### PORTRAIT

Statut de protection	France
Liste rouge (France)	EN
Liste rouge (FC)	EN
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	19
Chorologie	Eurasiatique
Écologie	Espèce thermophile, héliophile et collinéenne, étang en assec sur sols sablo-limoneux
Type biologique	Thérophyte



FIGURE 40 – *Lindernia procumbens* (E. Lehimas).

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Obovale
Structure externe	Aucune
Ornementation	Aucune
Type de semence	Albuminée
Type de dormance	Physiologique
Poids de 100 graines (g)	0,0004 g
Longueur moyenne (10 graines)	0,27 mm
Largeur moyenne (10 graines)	0,13 mm



FIGURE 41 – Graines de *Lindernia procumbens* (T. Dreux)

STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines proviennent d'une station située à Champagney (39). La station se situe autour de l'étang traversé par le ruisseau du Bief de Nilieu (Figure 42). L'effectif de la population a été estimé en 2023 à 1000 individus (Nicod & Planquais, 2023). Aucune récolte n'a pu être réalisée en 2024 en raison des fortes précipitations qui n'ont pas permis l'exondation de l'étang.



FIGURE 42 – Station de *Lindernia procumbens* (E. Lehimas)

BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XXII – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-018	19/07/2022	Champagney	31900	3 mois	2 jours
NS 22-023	22/07/2022		10266	3 mois	2 jours
NS 23-039	11/08/2023		18933	3 mois	-

TESTS DE GERMINATION

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les retours d'expériences concernant cette espèce sont limités et mettent surtout en valeur les difficultés rencontrées. Des tests ont été menés par le Conservatoire botanique du Massif central (Morel, 2010) en alternant 16h de lumière à 20 °C et 8h d'obscurité à 10 °C sur *Lindernia procumbens* et *L. dubia*, sans pré-traitement. Ces derniers ont très bien fonctionné pour *L. dubia* (81,3 %), mais n'ont donné aucun résultat pour *L. procumbens*, c'est pourquoi un pré-traitement à 5° à l'obscurité était suggéré dans les pistes d'amélioration.

## PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU XXIII – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 6 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	8h L / 16h O
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Sable grossier	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
3	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Sable-vase	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

Pour le protocole 3, le substrat de la lindernie couchée a été directement prélevé sur le site en 2022. Celui-ci a ensuite été étuvé pendant 1h à 90°C pour le stériliser.

## RÉSULTATS

TABLEAU XXIV – Résultats des tests de germination de la population de *Lindernia procumbens*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-018	230111-18	T0	1	-	-	0,0
NS 22-023	230111-21	T0	1	-	-	0,0
NS 23-039	240124-1	T0	2	-	-	0,0
NS 22-018	240617-12	T1	3	-	-	0,0
NS 22-023	240617-13	T1	3	-	-	0,0

Aucun des tests de germination n'a donné de résultats, malgré de nombreux protocoles expérimentés. Sur le substrat prélevé *in situ*, des bryophytes et un individu d'Astéracées (vraisemblablement *Erigeron annuus*) se sont développés, malgré un passage préalable à l'étuve. Pour une stérilisation plus efficace, le substrat devra donc être étuvé à 100°C environ 2 h, en l'imbibant largement avec de l'eau bouillante pour une meilleure conductivité thermique.

Il faut également remarquer que la taille des graines, particulièrement réduites, complique le suivi des tests sur les autres substrats que le papier filtre, car il n'est plus possible de les voir dès lors qu'elles y ont été déposées.

## PERSPECTIVES

Les stocks de graines pour cette espèce sont très satisfaisants avec un total approchant les 60000 graines. Cependant, les récoltes doivent être poursuivies dans d'autres stations de Franche-Comté afin de diversifier génétiquement les lots.

Il sera nécessaire d'approfondir les tests de germination en explorant de nouveaux protocoles. Parmi les pistes à envisager :

- tester un substrat plus frais en prolongeant le passage à l'étuve et la température (> 100°C) ;
- prolonger la stratification au froid humide ;
- tester une ou plusieurs submersions en pré-traitement (comme cela peut être préconisé pour d'autres espèces amphibies telles que *Damasonium alisma* Mill.) ;
- tester l'ajout d'acide gibbérellique ;
- tester le semis direct sur du terreau humide.

## LIN DE LÉO - *LINUM LEONII* F.W.SCHULTZ

### Linaceae

#### PORTRAIT

Statut de protection	-
Liste rouge (France)	NT
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	1
Chorologie	Centre-européenne
Écologie	Espèce de basse altitude, pelouse sèche marneuse pâturée en cours d'enrichissement
Type biologique	Hémicryptophyte vivace



FIGURE 43 – *Linum leonii* (M. Vuilleminot).

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Obovoïde
Structure externe	Aucune
Ornementation	Lisse
Type d'embryon	Exalbuminé
Poids de 100 graines (g)	0,24 g
Longueur moyenne (10 graines)	4,35 mm
Largeur moyenne (10 graines)	2,54 mm



FIGURE 44 – Graines de *Linum leonii* (T. Dreux).

STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines proviennent de l'unique station de Franche-Comté située à Archelange (39). Celle-ci se localise sur un coteau marno-calcaire bordant l'A36 ; trois sous-populations sont identifiées (Launay & Brugel, 2008). Les récoltes n'ont concerné que la sous-population située hors de l'emprise de l'autoroute, en raison de son accessibilité facilitée. Il s'agit ici d'une pelouse calcicole mésophile dominant pâturée pendant une période de l'année par des moutons à des fins conservatoires.

En 2023, la fructification a été plus tardive qu'en 2022, seulement 19 capsules ont pu être récoltées contre 47 à la même date l'année précédente. Cependant la seconde visite sur le site n'a pas permis une récolte satisfaisante, toutes les capsules restantes ayant mûri très rapidement et dispersé toutes leurs graines.

En 2024, les conditions pluvieuses du printemps et du début d'été ont significativement décalé la fructification et la maturation des graines de lin de Léo. Fin juin, une première récolte a pu être réalisée, mais celle-ci était très pauvre. Début juillet, alors que les moutons devaient rentrer sur le site, le Grand Dole, gestionnaire de cet espace naturel, a mis en place un exclos pour protéger la population de lin du broutage et du piétinement des ovins (Figure 2). Cela laissait espérer de nouvelles récoltes. Plus tard (fin juillet à

début août), d'autres prospections ont permis de constater que la floraison se poursuivait, tandis que les quelques capsules parvenues à maturité s'ouvraient trop rapidement, dispersant les graines au sol et empêchant ainsi de compléter le stock de semences.

Les récoltes pour ce taxon s'avèrent donc assez délicates car très dépendantes de la météorologie.



FIGURE 45 – Station de *Linum leonii* (M. Vuillemenot).

BANQUE DE SEMENCES

TABEAU XXV – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-001	31/05/2022	Archelange	284	20 jours	6 mois
NS 22-004	13/06/2022		297	6 mois	2 jours
NS 23-002	13/06/2023		123	5 mois	1 jour
NS 23-029	28/06/2023		21	5 mois	2 jours
NS 24-001	20/06/2024		79	1 mois	3 jours

TESTS DE GERMINATION

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Aucune donnée bibliographique n'a été trouvée pour cette espèce.

## PROTOCOLES TESTÉS

**TABLEAU XXVI – Synthèse des protocoles testés**

Protocole	Prétraitement	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 5 semaines	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau deminéralisée	16°C	12h L / 12h O
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 9 semaines	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau deminéralisée	16°C	12h L / 12h O
3	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau deminéralisée	16°C	12h L / 12h O

## RÉSULTATS

**TABLEAU XXVII – Résultats des tests de germination de la population de *Linum leonii*.**

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-001	230111-1	T0	1	112	66	83,3
NS 22-004	230111-4	T0	1	107	49	93,3
NS 23-002	231120-02	T0	2	49	51	56,7
NS 22-001	240617-1	T1	3	79	2	80,0
NS 22-004	240617-3	T1	3	73	8	70,0
NS 24-001	240802-14	T0	3	0	7	73,3

Les taux de germination sont globalement excellents, avec une moyenne de 76,1 %. Il apparaît que la suppression complète du péricarpe est indispensable, car aucune germination n'a été observée sans ce prétraitement, même en présence d'une scarification. Une fois le péricarpe retiré, la germination s'opère rapidement. Les tests réalisés deux ans après la première récolte (240617-1 et 240617-3) ont également montré de bons taux de germination, confirmant la qualité de la conservation des lots de 2022.

## PROTOCOLE RETENU

Protocole	Prétraitement	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 5 semaines	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau deminéralisée	16°C	12h L / 12h O

## PERSPECTIVES

Les stocks de graines pour cette espèce sont conséquents (environ 800 graines) mais insuffisants<sup>9</sup>. Pour augmenter les effectifs de graines en limitant l'impact du prélèvement, il conviendra d'envisager de nouvelles récoltes, mais toujours en petite quantité. Une diversification génétique pourra passer aussi par des récoltes dans les stations bourguignonnes.

À Archelange, la gestion de l'exclos, dans l'espace et dans la durée, nécessite d'être rediscutée avec le Grand Dole et l'éleveur de moutons. Le but est de permettre au lin de Léo de fleurir et d'aller au terme de sa fructification, sans en être empêché par les ovins. Néanmoins, ces derniers ont également un impact favorable sur la conservation de l'habitat, en évitant l'enfrichant et en maintenant le couvert herbacé très ouvert. Ainsi, il s'agira de redéfinir les contours de cet exclos et d'adapter les périodes de son maintien en fonction des conditions météorologiques au printemps et en début d'été.

Depuis plusieurs années, les suivis de cette espèce concernée par un plan de conservation révèlent une régression continue de sa présence sur ce coteau à Archelange, spatialement et quantitativement. Bien qu'il soit nécessaire d'identifier le mieux possible les facteurs de régression pour tenter de les corriger, il

pourra s'avérer également pertinent à moyen terme d'étudier la faisabilité de renforcer la population. Cela pourra s'envisager lorsque le CBN BFC sera doté d'un jardin conservatoire lui permettant de cultiver des plants.



FIGURE 46 – Jeune plant de *Linum leonii* (T. Dreux)

<sup>9</sup> Les recommandations générales de la conservation ex situ sont de l'ordre de plusieurs milliers de graines idéalement (Ensconet, 2009 ; Roumier, 2022b), afin de conserver une diversité génétique suffisante et de tenir compte de la proportion de

graines non viables, de la perte de viabilité d'une partie des graines au fur et à mesure du processus de conservation, de la consommation d'une partie des graines pour le suivi de la viabilité des lots, etc.

## ORLAYA À GRANDE FLEURS – *ORLAYA GRANDIFLORA* (L.) HOFFM.

*Apiaceae*

### PORTRAIT

Statut de protection	Franche-Comté
Liste rouge (France)	LC
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	1(2)
Chorologie	Méditerranéenne
Écologie	Espèce xérophile et calcaire des moissons
Type biologique	Thérophyte



FIGURE 47 – *Orlaya grandiflora* (E. Lehimas).

### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Ovoïde
Structure externe	Épine
Ornementation	Aucune
Type de semence	Exalbuminé
Poids de 100 graines (g)	0,7830 g
Longueur moyenne (10 graines)	7,94 mm
Largeur moyenne (10 graines)	3,69 mm



FIGURE 48 – Graines d'*Orlaya grandiflora* (T. Dreux).

## STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines proviennent de l'unique station de Franche-Comté située à Baume-les-Dames (25), sur une colline au bord du Doubs. L'originalité de cette station franc-comtoise est de correspondre à un habitat pseudoprimaire de l'espèce, c'est-à-dire des pelouses rocailleuses pentues, chaudes et ensoleillées, alors qu'ailleurs, comme en Bourgogne, elle occupe davantage des milieux secondaires (cultures extensives sur calcaire).

Lors d'une précédente expertise de cette station (Billant, 2015), plusieurs menaces actives avaient été identifiées, dont l'enfrichement et la fragmentation des pelouses. Les mesures de gestion préconisées ont été mises en œuvre par l'EPTB Saône et Doubs, en tant qu'opérateur du site Natura 2000 - Moyenne vallée du Doubs. Une seconde expertise (Hennequin, 2020) a mis en évidence des effets bénéfiques sur la population d'*Orlaya*.

L'évolution de cette station mérite d'être étudiée, sachant que les derniers comptages semblaient marquer une régression (400 individus en 2020 et 120 individus en 2023).

## BANQUE DE SEMENCES

Certains jours, plusieurs accessions ont été créées pour des récoltes réalisées dans des lieux différents de la station de Baume-les-Dames.

En 2023, le mois de juin ayant été particulièrement sec, une première récolte avait été effectuée plus tôt que l'année précédente. La récolte n'a pas été du tout satisfaisante, une partie des plants ayant complètement ou partiellement desséché. Néanmoins, des tiges présentaient de nouvelles inflorescences, ce qui a permis une nouvelle récolte trois semaines plus tard.



FIGURE 49 – Station d'*Orlaya grandiflora* (E. Lehimas)

TABLEAU XXVIII – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-009	12/07/2022	Baume-les-Dames	198	5 mois	2 jours
NS 22-010	12/07/2022		966	5 mois	2 jours
NS 22-011	12/07/2022		355	5 mois	2 jours
NS 23-004	23/06/2023		109	4 mois	7 jours
NS 23-021	11/07/2023		2427	4 mois	2 jours
NS 23-022	11/07/2023		2541	4 mois	6 jours
NS 24-024	30/07/2024		1678	17 jours	5 jours

## TESTS DE GERMINATION

### ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après le site ENSCONET, les conditions optimales de germination pour cette espèce sont les suivantes : 24h d'obscurité à une température de 16 °C, sur papier filtre (60 % de germination).

## PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU XXIX – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement 1	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 12 jours	-	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérellique	20°C	8h L / 16h O
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	8h L / 16h O
3	Stratification froid humide (5°C/0) : 8 semaines	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau déminéralisée	20°C	8h L / 16h O
4	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérellique	20°C	8h L / 16h O
5	-	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérellique	20°C	8h L / 16h O

## RÉSULTATS

TABLEAU XXX – Résultats des tests de germination de la population de *Orlaya grandiflora*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-009	230111-9	T0	1	48	62	53,3
NS 22-010	230111-10	T0	1	32	70	26,7
NS 22-011	230111-11	T0	1	28	77	35,3
NS 23-004	231120-04	T0	2	135	52	6,7
NS 23-021	231120-20	T0	2	124	31	6,7
NS 23-022	231120-21	T0	3	67	0	3,3
NS 22-009	240617-7	T1	4	91	14	38,7
NS 22-010	240617-8	T1	4	51	54	66,7
NS 24-024	240902-35	T0	5	21	0	10,0

Les tests de germination sur l'*Orlaya* n'ont pas donné de résultats très satisfaisants, avec un taux de germination moyen de 27,5 %. Malgré la diversité des protocoles testés, la variabilité des résultats rend difficile l'établissement de conclusions précises. Cependant, l'utilisation d'acide gibbérellique semble avoir une influence positive sur la germination. Les tests T1 (240617-7 et 240617-8), réalisés deux ans après la récolte de 2022, montrent des résultats différents de ceux des tests T0 effectués en 2022. Pour le lot NS 22-009, le taux de germination a augmenté, tandis que pour le lot NS 22-010, il a diminué.

## PROTOCOLE RETENU

Protocole	Prétraitement	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
4	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Suppression du péricarpe	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérellique	20°C	8h L / 16h O

## PERSPECTIVES

Il est essentiel de continuer les tests de germination en vue d'améliorer les protocoles favorables et d'évaluer l'efficacité de la conservation des graines en banque de semences.

Les récoltes de graines pour cette espèce présentent une forte variabilité selon les années, mais restent globalement satisfaisantes avec un stock total évalué à plus de 8 000 graines. En tenant compte de la proportion assez élevée de graines a priori non viables, il sera toutefois pertinent de poursuivre les récoltes au sein de la station de Baume-les-Dames, tout en s'intéressant aussi à d'autres stations, en Franche-Comté (Coteaux-du-Lizon, 39)<sup>10</sup> mais en Bourgogne également (côteaux en périphérie de Dijon).



FIGURE 50 – Jeune plant d'*Orlaya grandiflora* (T. Dreux)

<sup>10</sup> Une deuxième station franc-comtoise a été découverte en 2023 aux Coteaux-du-Lizon ; la spontanéité et le maintien de cette nouvelle station méritent d'être vérifiés.

## OROBANCHE DE BARTLING – *OROBANCHE BARTLINGII* GRISEB.

### *Orobanchaceae*

#### PORTRAIT

Statut de protection	Franche-Comté
Liste rouge (France)	VU
Liste rouge (FC)	EN
Rareté (FC)	Rare
Nombre de stations (FC)	10-15
Chorologie	Centre-européenne
Écologie	Ourlets thermophiles et xérophiles, parasite de <i>Libanotis pyrenaica</i> (L.) O.Scharwtz
Type biologique	Géophyte parasite



FIGURE 51 – *Orobanche bartlingii* (G. Bailly).

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Obovoïde
Structure externe	Aucune
Ornementation	Réticulé
Type de dormance	Albuminée
Poids de 100 graines (g)	0,0001 g
Longueur moyenne (10 graines)	0,3 mm
Largeur moyenne (10 graines)	0,16 mm



FIGURE 52 – Graines d'*Orobanche bartlingii* (T. Dreux)

## STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines proviennent d'une station située sur des pelouses calcaires à côté du Fort de Chaudanne à Besançon (25). Cette population est régulièrement visitée par le CBNFC dans le cadre du suivi de la flore menacée du Grand Besançon. Elle se composait de 19 individus en 2017 et seulement 1 à 3 individus ont été observés entre 2022 et 2024. La population subit en particulier les effets du piétinement des randonneurs qui lui sont néfastes.

## BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XXXI – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

Espèce	N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
<i>O. bartlingii</i>	NS 22-019	30/06/2022	Besançon	100	6 mois	2 jours
<i>O. bartlingii</i>	NS 23-005	27/06/2023		11499	4 mois	1 jour
<i>O. bartlingii</i>	NS 23-017	10/07/2023		10400	4 mois	1 jour
<i>O. bartlingii</i>	NS 24-013	08/07/2024		7300	18 jours	3 jours
<i>O. bartlingii</i>	NS 24-020	22/07/2022		11700	4 jours	3 jours
<i>L. pyrenaica</i>	NS 23-037	2023		-	-	-

Pour réaliser les tests de germination, une récolte de semences de libanotide des montagnes, la plante hôte de l'orobanche de Bartling, a dû être réalisée sur la même station.

## TESTS DE GERMINATION

### ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Au sein du CBN Alpin, de nombreux protocoles ont été testés et des graines germées ont été observées. Le protocole ayant montré les meilleurs résultats (24 % de germination) était le suivant : 12 h d'obscurité à 10 °C et 12 h de lumière à 20 °C où les graines étaient disposées sur un plant de *Libanotis pyrenaica* par réplicat.

### PROTOCOLES TESTÉS

Compte tenu de la petite taille des graines d'orobanches disponibles en quantité suffisante, les tests ont été effectués avec une cinquantaine de graines par réplicat.

TABLEAU XXXII – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	-	Papier filtre + plantule de <i>Libanotis pyrenaica</i>	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
2	-	Extraction de <i>Libanotis pyrenaica</i> sur papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

Le protocole appliqué pour faire germer les graines de libanotide des montagnes est le suivant : les graines ont été stratifiées pendant 7 semaines, puis exposées à une alternance de 12h de lumière et 12h d'obscurité à 16 °C. Pour le protocole 1, les plantules ont été placées sur du papier filtre, et les graines positionnées à proximité des racines de ces plantules. Pour le protocole 2, cinq plantules de libanotide ont été trempées dans de l'acétone pendant 24h, afin d'extraire les strigolactones, des hormones végétales qui entraînent la germination des graines d'orobanche. L'acétone a ensuite été versé sur du papier filtre, et les graines déposées sur le papier une fois l'acétone évaporée.

## RÉSULTATS

TABLEAU XXXIII – Résultats des tests de germination de la population d'*Orobanche bartlingii*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 23-005	231120-05	T0	1	72	10	2,0
NS 23-017	231120-16	T0	1	-	-	0,0
NS 24-013	240802-25	T0	2	-	-	0,0
NS 24-020	240802-32	T0	1	-	-	0,0

Les tests de germination ont échoué, avec seulement deux graines germées observées pour le test 231120-05. En outre, bien que des germinations aient été observées, ces dernières n'ont plus évolué ensuite malgré la proximité des racinelles de la plante hôte sur lesquelles elles sont censées se fixer. Un nouveau protocole avec une extraction de plante hôte a ensuite été testée sans plus de résultats.



FIGURE 53 – Tests de germination directement sur les racinelles de libanotide ; graine germée à droite (J. Reymann).

## PERSPECTIVES

Les stocks de graines pour cette espèce sont suffisants quantitativement, mais nécessiteraient d'être diversifiés génétiquement grâce à des récoltes au sein d'autres stations en Bourgogne Franche-Comté, par exemple celle de Quingey (25), ou d'Ancey (21).

Par ailleurs, il est essentiel de continuer les tests de germination en explorant de nouveaux protocoles afin de comprendre les conditions de germination de cette espèce, tout en évaluant l'efficacité de la conservation des graines en banque de semences (test T1 et T2). Pour les tests de germination, l'expérience du CBNA (Bonnet comm. pers.) montre qu'un dosage adapté de la strigolactone<sup>11</sup> est important. L'efficacité d'emploi de cette hormone sous forme naturelle, en parvenant à l'extraire de la plante hôte, ou sous la forme d'un analogue synthétique dénommé GR24, largement utilisé dans la recherche en biologie végétale pour étudier la communication entre les plantes et les organismes symbiotiques, reste à étudier.

Dans la nature, la régression sévère des populations d'orobanche de Bartling constatée ces dernières années dans la Chartreuse et dans le sud du massif du Jura (Bonnet comm. pers.) nécessite de nouveaux suivis en Franche-Comté pour observer la tendance dans ce territoire. Selon le CBNA, les recherches doivent se poursuivre sur les relations spatio-temporelles entre l'orobanche de Bartling et le libanotide des montagnes : variations saisonnières dans la production d'hormones induisant la germination, qui pourraient ne plus correspondre aux périodes de germination des graines d'orobanche par exemple, ou encore lien entre la concentration de l'hormone et la densité de plantes-hôtes.

La maîtrise de la germination et de la culture d'orobanche de Bartling serait vraiment utile pour envisager à moyen terme un renforcement de la population de Chaudanne en particulier. Dès à présent, il est nécessaire de revoir la gestion du site avec la Ville de Besançon afin de pallier la réduction des effectifs de cette plante concernée par un plan de conservation en Franche-Comté (Brugel, 2013).

---

<sup>11</sup> Phytohormone qui entraîne la germination des graines de phanérogames parasites.

## GRANDE OROBANCHE – *OROBANCHE ELATIOR* SUTTON

### Orobanchaceae

#### PORTRAIT

Statut de protection	-
Liste rouge (France)	DD
Liste rouge (FC)	CR
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	3
Chorologie	Centre-européenne
Écologie	Pelouse sèche calcicole (méso)xérophile, parasite de <i>Centaurea scabiosa</i> L.
Type biologique	Géophyte parasite



FIGURE 54 – *Orobanche elatior* (G. Bailly).

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Obovoïde
Structure externe	Aucune
Ornementation	Réticulé
Type de semence	Albuminée
Poids de 100 graines (g)	0,0001 g
Longueur moyenne (10 graines)	0,3 mm
Largeur moyenne (10 graines)	0,19 mm



FIGURE 55 – Graines d'*Orobanche elatior* (T. Dreux)

STATION ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines proviennent de l'une des trois stations subsistant en Franche-Comté (Greffier & Berrod, 2022). Elle se trouve à Besançon (25) sur la colline du fort de Chaudanne, au sein d'une pelouse calcaire. La population se composait de 20 individus en 2024. Cette même année, la moitié de la population de la grande orobanche a été piétinée par un évènement sportif au fort de Chaudanne (Figure 57).

Pour réaliser les tests de germination, une récolte de la centaurée scabieuse, la plante hôte de la grande orobanche, a été réalisée sur la même station.



FIGURE 56 – Piétinement de la station d'*Orobanche elatior* (8 juillet 2024, T. Dreux).

BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XXXIV – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

Espèce	N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
<i>O. elatior</i>	NS 22-020	30/06/2022	Besançon	10000	6 mois	2 jours
<i>O. elatior</i>	NS 23-006	27/06/2023		52399	4 mois	1 jour
<i>O. elatior</i>	NS 23-018	10/07/2023		32800	4 mois	1 jour
<i>O. elatior</i>	NS 24-014	08/07/2024		59500	18 jours	3 jours
<i>O. elatior</i>	NS 24-019	22/07/2022		54700	4 jours	3 jours
<i>C. scabiosa</i>	NS 23-038	2023		-	-	-

TESTS DE GERMINATION

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Aucune donnée bibliographique n'existe pour cette espèce.

PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU XXXV – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	-	Papier filtre + plantule de <i>Centaurea scabiosa</i>	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
2	-	Extraction de <i>Centaurea scabiosa</i> sur papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

Les mêmes protocoles que pour l’orobanche de Bartling ont été utilisés pour la grande orobanche mais cette fois-ci avec des graines de centaurée scabieuse en tant que plante hôte.

RÉSULTATS

TABLEAU XXXVI – Résultats des tests de germination de la population d’*Orobanche elatior*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 23-006	231120-06	T0	1	-	-	0,0
NS 23-018	231120-17	T0	1	-	-	0,0
NS 24-014	240802-26	T0	2	-	-	0,0
NS 24-019	240802-31	T0	1	-	-	0,0

Les tests de germination n’ont donné aucun résultat. Les graines d’orobanches ne semblent pas particulièrement se détériorer durant les tests, en revanche il est très délicat de maintenir la plantule de centaurée scabieuse en état sur la durée. Ces dernières germent assez rapidement selon les conditions classiques (16°C, 12h L / 12h O), puis des moisissures ont tendance à se développer rapidement sur les cotylédons dès l’apparition des premières feuilles. Différentes techniques ont été testées comme pratiquer une ouverture dans la boîte afin de faire sortir la plantule ou encore ne mettre qu’une plante hôte et la changer lorsqu’elle atteignait quelques feuilles, sans plus de résultat.



FIGURE 57 – Tests de germination directement sur les racines de centaurée scabieuse (J. Reymann).

## PERSPECTIVES

Les stocks de graines pour cette espèce sont très satisfaisants. Il est néanmoins essentiel de poursuivre les tests de germination en expérimentant de nouveaux protocoles, notamment pour mieux comprendre les conditions optimales de germination de cette espèce et évaluer l'efficacité de la conservation des graines en banque de semences (tests T1 et T2). Par exemple, le protocole du CBN Alpin pourrait être testé.

Par ailleurs, étant donné que la population est susceptible d'être fragilisée par la pression du piétinement, il est crucial de mettre en place des mesures de protection en partenariat avec la Ville de Besançon.

## GRAND POLYCNÈME – *POLYCNEMUM MAJUS* A.BRAUN EX BOGENH.

### Amaranthaceae

#### PORTRAIT

Statut de protection	-
Liste rouge (France)	LC
Liste rouge (FC)	EN
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	6(-7)
Chorologie	Européenne occidentale
Écologie	Cultures et friches eutrophiles, surtout sur calcaire
Type biologique	Thérophyte



FIGURE 58 – *Polycnemum majus* (J. Reymann).

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Obovoïde
Structure externe	Aucune
Ornementation	Lisse
Type de semence	Exalbuminé
Type d'embryon	Périphérique
Poids de 100 graines (g)	0,063 g
Longueur moyenne (10 graines)	1,49 mm
Largeur moyenne (10 graines)	1,21 mm

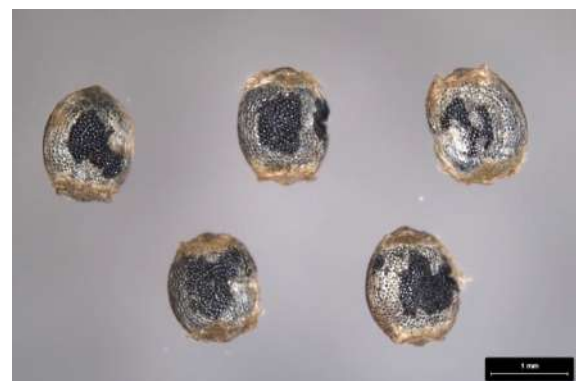


FIGURE 59 – Graines de *Polycnemum majus* (T.Dreux).

STATIONS ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines récoltés dans le cadre de ce programme provient de la station d'Andelnans (90), au lieudit le Bosmont, qui a été classée en ENS. Il s'agit de pelouses xérophiles occupant un terrain pentu orienté sud, sur des sols squelettiques laissant apercevoir des dalles ainsi que de nombreux cailloux et graviers disséminés sur toute la surface (Figure 60). Le polycnème se développe souvent sur les zones dénudées, telles que les bords de sentiers piétinés ou les zones érodées lors des pluies.

L'effectif de la population était de 710 individus en 2019. Les récoltes de 2022 et 2023 ont fourni très peu de graines, car seuls quelques dizaines d'individus à maturité étaient présents. En revanche, en 2024, la population a considérablement augmenté, dépassant les 1000 individus.



FIGURE 60 – Station de *Polycnemon majus* (J. Reymann)

BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XXXVII – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Programme	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 11-009	État-région	29/08/2011	Nancray	16	1 an et 4 mois	1 mois
NS 22-024	SNCF Réseau	24/10/2022	Andelnans	25	2 mois	2 jours
NS 23-027	SNCF Réseau	01/09/2023		38	2 mois	1 jour
NS 23-028	SNCF Réseau	01/09/2023		18	2 mois	1 jour
NS 24-029	SNCF Réseau	04/09/2024		569	11 jours	1 jour

TESTS DE GERMINATION

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après la base de données ENSCONET, les conditions optimales de germination sont les suivantes : à l'obscurité pendant 24 h à 6 °C sur papier filtre (68 % de germination).

PROTOCOLES TESTÉS

Les conditions mentionnées en bibliographie (6°C à l'obscurité) n'ayant rien donné en 7 semaines, le lot a ensuite été soumis à un traitement plus classique en incubateur avec alternance d'ombre et de lumière.

TABLEAU XXXVIII – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O

RÉSULTATS

TABLEAU XXXIX – Résultats des tests de germination de la population de *Polycnemum majus*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 24 - 029	240919-42	T0	1	12	9	36,7

Seule la récolte de 2024 a pu faire l’objet d’un test de germination en raison d’un nombre de graines disponibles enfin suffisants. Les résultats sont peu satisfaisants mais la phase de traitement n’a duré que trois semaines au moment de la restitution de ce rapport. Le taux corrigé pour ce lot (graines viables en fin de test déduites) est ainsi de 91,67 %. Il est également important de soulever le fait que les graines germent à une photopériode de 12 h de lumière et 12h d’obscurité à 16°C, malgré ce qui est indiqué dans la bibliographie. La germination est intervenue assez rapidement après le début du traitement.

PERSPECTIVES

Le stock total de la banque séminale atteint désormais quelques centaines de graines, dont la majorité est issue de la récolte de 2024. Le premier facteur limitant la démarche conservatoire est donc la variabilité des effectifs, s’agissant d’un thérophyte « à éclipse », qui se maintient certaines années avec un faible nombre d’individus. De plus le nombre de graines par individus peut être très limité, sans compter le fait que la maturité des graines est difficilement évaluable sur le terrain. Il sera donc crucial de poursuivre les récoltes sur le site d’Andelnans, mais également sur les autres stations de grand polycnème afin de constituer un stock représentatif des populations de Franche-Comté. Les autres stations récentes sont situées dans le secteur de la Petite montagne (39).

De plus, les tests de germination doivent être poursuivis et approfondis pour identifier un protocole efficace favorisant la germination des graines et pour évaluer la viabilité à long terme des graines conservées en banque de semences. Les résultats concernant les tests de germinations ont été tardifs, et ce en raison des faibles quantités récoltées les premières années.

## PRIMEVÈRE À OREILLETTES – *PRIMULA LUTEA* VILL.

### Primulaceae

#### PORTRAIT

Statut de protection	France
Liste rouge (France)	LC
Liste rouge (FC)	VU
Rareté (FC)	Très rare
Nombre de stations (FC)	3
Chorologie	Orophyte alpine
Écologie	Espèces saxicole et calciphile, fissures des parois calcaires escarpées et ensoleillées
Type biologique	Hémicryptophyte



FIGURE 61 – *Primula lutea* (E. Lehimas).

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Irrégulière
Structure externe	Aucune
Ornementation	Aucune
Type de dormance	Physiologique
Type de semence	Albuminé
Type d'embryon	Miniature
Poids de 100 graines	0,0183 g
Longueur moyenne (10 graines)	1,06 mm
Largeur moyenne (10 graines)	0,73 mm

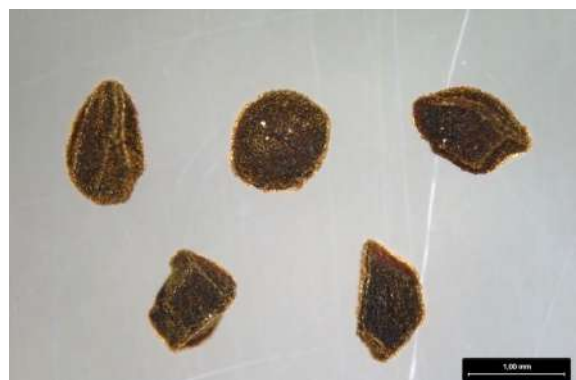


FIGURE 62 – Graines de *Primula lutea* (T.Dreux).

STATIONS ET RÉCOLTE

L'ensemble des lots de graines proviennent de l'une des trois stations de Franche-Comté ; elle se situe à Baume-les-Dames (25). Il s'agit de corniches calcaires en versant nord sous le belvédère de la Croix de Châtard. L'effectif de la population était de plus de 550 individus en 2022.

L'accès sécurisé aux barres rocheuses et la récolte ont nécessité l'encadrement technique d'un accompagnateur d'escalade.



FIGURE 63 – Station de *Primula lutea* (E. Lehimas)

BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XL – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-003	02/06/2022	Baume-les-Dames	2724	6 mois	2 jours
NS 22-013	19/07/2022		1802	5 mois	2 jours
NS 23-003	23/06/2023		2655	4 mois	1 jours
NS 23-020	11/07/2023		2003	4 mois	1 jours
NS 24-002	20/06/2024		1888	1 mois	3 jours

TESTS DE GERMINATION

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après la base de données ENSCONET, les conditions optimales de germination sont les suivantes : alternance de 8 h de lumière et 16 h d'obscurité à 20 °C sur papier filtre avec de l'acide gibbérellique (80 % de germination).

## PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU XLI – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 10 jours	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérélique	16°C	12h L / 12h O
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 8 jours	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
3	Stratification froid humide (5°C/0) : 9 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérélique	16°C	12h L / 12h O
4	Stratification froid humide (5°C/0) : 7 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérélique	16°C	12h L / 12h O

## RÉSULTATS

TABLEAU XLII – Résultats des tests de germination de la population de *Primula lutea*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-003	230111-3	T0	1	62	39	83,3
NS 22-013	230111-13	T0	2	56	35	83,3
NS 23-003	231120-03	T0	3	77	17	90,0
NS 23-020	231120-19	T0	3	79	21	83,3
NS 22-003	240617-2	T1	4	63	28	94,7
NS 22-013	240617-10	T1	4	63	35	80,0
NS 24-002	240802-15	T0	4	67	24	50,0

Les tests de germination montrent globalement de très bons résultats, avec un taux moyen de 80,7 %. Le temps de stratification ne semble pas avoir d'impact significatif sur le taux de germination. Les tests T1 (240617-2 et 240617-10), réalisés deux ans après la récolte de 2022, affichent également d'excellents taux de germination, ce qui témoigne de la bonne conservation des lots en banque de semences.



FIGURE 64 – Jeune plant de *Primula lutea* (T. Dreux)

## PROTOCOLE RETENU

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
3	Stratification froid humide (5°C/0) : 9 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbèrellique	16°C	12h L / 12h O

## PERSPECTIVES

Le stock de graines de la primevère à oreillette est très satisfaisant. Cependant, il serait pertinent d'effectuer des récoltes dans les autres stations de Franche-Comté afin de constituer un stock de graines génétiquement représentatif des populations. Cela rendrait possible, au besoin, la mise en place d'actions de renforcement ou de réintroduction de plants dans leur milieu naturel.

Le plan de conservation de l'espèce en Franche-Comté (Brugel, 2012) développe ces aspects, sachant qu'en tant qu'espèce montagnarde située dans le Doubs en situation abyssale (450 à 660 m d'altitude), les populations de primevère se révèlent probablement sensibles au changement climatique global et en particulier aux successions de saisons chaudes et sèches de ces dernières années.

## STELLAIRE DES MARAIS – *STELLARIA PALUSTRIS* EHRH. EX HOFFM.

### *Caryophyllaceae*

#### PORTRAIT

Statut de protection	Franche-Comté
Liste rouge (France)	VU
Liste rouge (FC)	VU
Rareté (FC)	Assez rare
Nombre de stations (FC)	36(-100)
Chorologie	Eurasiatique
Écologie	Prairies alluviales, prairies humides plus ou moins tourbeuses au bord de marais d'altitude
Type biologique	Hémicryptophyte



FIGURE 65 – *Stellaria palustris* (T. Dreux)

#### PHÉNOLOGIE

Floraison	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Fructification	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D

#### CARACTÉRISTIQUES DES SEMENCES

Forme	Réniforme pincé
Structure externe	Aucune
Ornementation	Granulée
Type de semence	Albuminé
Poids de 100 graines	0,0183 g
Longueur moyenne (10 graines)	1,38 mm
Largeur moyenne (10 graines)	0,95 mm



FIGURE 66 – Graines de *Stellaria palustris* (T. Dreux).

STATIONS ET RÉCOLTE

En Franche-Comté, le bilan stationnel (Piguet, 2020) recense 36 stations dans lesquelles la présence de l'espèce est avérée à la date de réalisation de cet état des lieux, mais également 63 stations potentielles, c'est-à-dire où la stellaire des marais a été observée par le passé et où, bien qu'elle n'y ait pas été formellement revue lors de cette étude, un habitat favorable est encore présent.

Initialement, dans le cadre de ce projet SNCF Réseau, cinq stations de récolte de la vallée de l'Ognon étaient prévues dans les communes suivantes : les Aynans (70), Saint-Sulpice (70), Jallerange (25) et Marnay (70). Cependant, soit la plante n'a pas été retrouvée, même si l'habitat était encore a priori favorable (les Aynans, Saint-Sulpice et Jallerange), soit elle a été observée en période de floraison (parfois piquetée) mais a été impossible à retrouver lors de la fructification. Pour les stations de Marnay et Aillevans, les exploitants agricoles avaient accepté de laisser une bande non fauchée afin de protéger la population ; mais elle n'a pas été retrouvée à Marnay une fois la floraison passée.

Finalement, l'unique lot de graine provient de la station d'Aillevans (70), en 2022. La station est située en bord

de prairie humide proche d'un marais (Figure 67). En 2023 et 2024, la stellaire des marais y a été revue en période de floraison, mais soit elle n'a pas été retrouvée lors de la fructification (2023), soit il était considéré que le peu de fruits disponibles n'autorisait pas de réaliser une récolte (2024).



FIGURE 67 – Station de *Stellaria palustris* (T. Dreux).

BANQUE DE SEMENCES

TABLEAU XLIII – Liste des lots disponibles et testés dans la banque de semences du CBNFC-ORI.

N° accession	Date(s) récolte	Commune	Nbre graines	Durée pré-séchage	Durée dessiccation
NS 22-008	07/07/2022	Aillevans	100	6 mois	2 jours

TESTS DE GERMINATION

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

D'après le site ENSCONET, les conditions optimales de germination sont les suivantes : à la lumière 8h sur 24, à 20°C durant 77 jours, dans un milieu avec 1 % de gélose et 250 mg/L d'acide gibbéréllique (100 % de germination).

## PROTOCOLES TESTÉS

TABLEAU XLIV – Synthèse des protocoles testés

Protocole	Prétraitement	PT 2	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
1	Stratification froid humide (5°C/0) : 6 semaines	Scarification au niveau du radicule	Papier filtre	Eau déminéralisée	16°C	12h L / 12h O
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 6 semaines	-	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérellique (200 ppm)	16°C	12h L / 12h O

## RÉSULTATS

Le test 170624-6 a été effectué sur un échantillon de 20 graines compte tenu du stock très limité.

TABLEAU XLV – Résultats des tests de germination de la population de *Stellaria palustris*

N° accession	N° test germination	Lot	Protocole	1 <sup>ère</sup> germination (jours)	Durée germination (jours)	% de germination
NS 22-008	230111-8	T0	1	80	35	43,3
NS 22-008	240617-6	T1	2	63	60	60,0

Le test de germination sur graines fraîches montre des résultats médiocres. Le test sur graines congelées, réalisé deux ans après la récolte, donne de meilleurs résultats, probablement en raison de l'ajout d'acide gibbérellique. Cela montre aussi que les graines supportent bien la congélation.

Les graines germées et mises en godets se sont bien développées, mais certains caractères morphologiques ont initialement soulevé des doutes sur la conformité de l'identité taxonomique de ces plantules (Figure 68). Après des observations approfondies des jeunes plants et une comparaison avec les photos des individus récoltés prises sur le terrain, il semble pourtant bien s'agir de la stellaire des marais, même si la forme des feuilles interpelle encore. La culture en godet du plant obtenu va être poursuivie afin de vérifier cela.



FIGURE 68 – Jeune plant supposé être *Stellaria palustris* (T. Dreux).

## PROTOCOLE RETENU

Protocole	Prétraitement	Substrat	Arrosage	Température	Photopériode
2	Stratification froid humide (5°C/0) : 6 semaines	Papier filtre	Eau déminéralisée + acide gibbérélique (200 ppm)	16°C	12h L / 12h O

## PERSPECTIVES

Le stock de graines de la stellaire des marais est très faible. Il est donc essentiel de réaliser de nouvelles récoltes dans les stations de Franche-Comté pour augmenter le nombre de graines en banque de semences et garantir un stock représentatif des populations régionales.

Le contexte prairial de la plupart des stations implique de collaborer activement avec les exploitants agricoles, pour les informer des récoltes souhaitées, pour recueillir leur accord de pénétration répétée dans les parcelles et pour qu'ils acceptent de conserver des bandes non fauchées afin que la stellaire des marais puisse aller un terme de sa fructification.

Des ajustements dans les méthodes de récolte sont nécessaires : par exemple, l'utilisation de sachets localisés sur les fruits pourrait faciliter la collecte.

Enfin, des tests de germination supplémentaires pourront être reconduits à 20°C avec 8h de lumière sur 24, afin d'identifier un protocole plus adapté.

## CONCLUSION

En termes de chiffres, ce projet SNCF Réseau mené de 2022 à 2024 s'est notamment traduit par :

- 115 visites de terrain permettant d'engendrer des connaissances sur une quinzaine de stations d'une quinzaine de taxons menacés en Franche-Comté ;
- 71 récoltes de graines et de spores réalisées, permettant de bancariser plus de 900 000 graines ;
- 76 tests de germination permettant d'évaluer la viabilité des graines et des spores collectés, la plupart du temps suivis d'une mise en culture en godets des plants obtenus ;
- l'acquisition de matériels de laboratoire supplémentaires et performants comme trois incubateurs, un congélateur, un dessiccateur ;
- la mobilisation et la formation de plusieurs personnes au sein de l'équipe du Conservatoire, à hauteur de 0,3 à 0,5 ETP selon les années.

Suite aux résultats obtenus, il s'agit désormais de poursuivre les actions initiées de différentes manières :

- suivre la bonne tenue à la congélation des lots de graines conservées ;
- tester de nouveaux protocoles pour les taxons sujets à une insuffisance des résultats de viabilité obtenus et à faible documentation (ex. : lindernie couchée et orobanches) ;
- augmenter la quantité de semences disponibles (ex. : stellaire des marais et grand polycnème) ;
- diversifier génétiquement les lots de semences disponibles (ex. : nivéole d'été et lindernie couchée), en récoltant des semences dans d'autres populations régionales ;
- régénérer les lots de graines lorsque le suivi de la viabilité des semences montre un affaiblissement dans la durée ;
- améliorer la maîtrise de la culture des plantules puis des jeunes plants (ex. : adénocarpe à petites feuilles), ce qui pourra s'envisager surtout lorsque le Conservatoire botanique sera doté de l'infrastructure adéquate (jardin, tunnels et serres) ;
- proposer, au besoin, des projets de renforcement ou de réintroduction de populations d'espèces menacées dans le territoire du tracé de la LGV Rhin-Rhône.

## GLOSSAIRE

**Accession** : identifiant unique attribué à un lot de graine récolté dans un lieu et à un moment donné.

**Acide gibbérellique** : hormone végétale stimulant la croissance et la germination des graines.

**Albuminée** : plantes dont les graines contiennent une substance nutritive appelée albumen. Celui entoure ou accompagne l'embryon dans la graine et sert de réserve pour sa croissance lors de la germination.

**Banque de semences** : installation conçue pour la conservation *ex situ* pour le stockage des graines d'espèces végétales.

**Boîte de Pétri** : petit récipient cylindrique et plat, en verre ou en plastique, utilisé ici pour les tests de germination.

**Chaméphyte** : plante dont les bourgeons persistent au ras du sol, protégés par la végétation ou la neige, et qui peut survivre aux conditions difficiles, comme le froid ou la sécheresse.

**Chorologie** : Répartition géographique d'un taxon.

**Conservation ex situ** : stratégies de conservation des organismes ainsi que de leur diversité génétique en dehors de leur milieu naturel.

**Conservation in situ** : stratégies de rétablissement ou de sauvegarde des organismes et de leur diversité génétique au sein de leur milieu naturel.

**Délai de germination / germinatif** : nombre de jours entre la première et la dernière graine germées d'un test de germination.

**Dessiccateur** : appareil utilisé pour retirer l'humidité de substance ou pour conserver les substances sensibles à l'humidité.

**Dessiccation** : processus de perte ou d'élimination de l'eau d'une substance, généralement par évaporation, afin de les assécher complètement.

**Dormance** : état physiologique dans lequel les graines ne germent pas immédiatement, même lorsque les conditions de croissance sont favorables qui permet à la graine de survivre à des conditions environnementales défavorables.

**Étuve** : voir Incubateur.

**Exalbuminée** : graines sans albumen (voir Albuminée).

**Funicule** : filament reliant une graine à son ovaire qui sert de passage aux nutriments et aux hormones nécessaires au développement de la graine.

**Géophyte** : plante dont les parties aériennes (tiges, feuilles, etc.) disparaissent pendant une période de l'année, souvent en hiver, mais dont parties souterraines (tubercules, bulbes, rhizomes, etc.) restent vivantes.

**Germination** : processus par lequel une graine se développe et commence à pousser pour devenir une nouvelle plante. Elle commence lorsque la graine absorbe de l'eau, ce qui active les enzymes nécessaires à la croissance. La radicule (première racine) perce la coque de la graine et s'enfonce dans le sol pour ancrer la plante et lui fournir de l'eau et des nutriments.

**Graine** : organe reproducteur des plantes issu de la fécondation de l'ovule qui contient un embryon, ainsi qu'une réserve de nourriture.

**Hémicryptophyte** : plante dont les parties vivantes, comme les bourgeons, sont situées près du sol, pour survivre pendant l'hiver.

**Incubateur (étuve)** : enceinte ventilée dont la température et la lumière peuvent être programmées selon des plages horaires (jour-nuit), de manière à reproduire des conditions climatiques extérieures adaptées à chaque espèce cultivée (= étuve).

**Morphophysiologique** : type de dormance se produisant lorsque les graines dont les embryons sont sous-développés présentent également des composantes physiologiques de la dormance. Ces graines nécessitent donc des traitements de rupture de dormance ainsi qu'une période de temps pour développer des embryons complètement développés.

**Orophyte** : plante qui vit principalement dans les régions montagneuses.

**Ornementation** : caractéristiques superficielles qui ornent la surface de la graine, comme des piquants, des ailes, des bosses ou des rugosités.

**Pappus** : structure située à l'extrémité de certaines graines ou fruits (chez les *Asteraceae* par notamment), constituée de poils, de soies ou de filaments servant généralement à favoriser la dispersion des graines par le vent.

**Phénologie** : étude des événements biologiques récurrents chez les plantes, et la manière dont ces événements (floraison, croissance, fructification, etc.) sont influencés par les facteurs climatiques, notamment les saisons.

**Plantule** : embryon encore inclus dans la graine.

**Prétraitement** : Action permettant de lever la dormance et de préparer les graines à la germination.

**Prothalle** : organisme haploïde résultant de la germination d'une spore.

**Scarification** : altération mécanique ou chimique de l'enveloppe des graines pour faciliter l'absorption de l'eau et déclencher la germination.

**Silicagel (gel de silice)** : matériau hygroscopique, c'est-à-dire qu'il a la capacité d'absorber l'humidité de son environnement. Il est utilisé ici pour contrôler l'humidité au sein des sachet de conservation et pour déshydrater les semences. Il se présente généralement sous forme de petites billes ou de granulés transparents, et il peut être régénéré en le chauffant pour évacuer l'humidité qu'il a absorbée.

**Spore** : cellule reproductrice capable de se développer en un nouvel individu sans nécessiter de fertilisation.

**Sporophyte** : organisme diploïde qui constitue la plante visible.

**Stratification** : mise des graines en période de froid et d'humidité contrôlées afin de lever la dormance et favoriser la germination.

**Taxref** : référentiel taxonomique mis en place par le Muséum national d'histoire naturelle.

**Tests de germination** : Expérience permettant de tester le potentiel de germination des graines en laboratoire sous condition contrôlées.

**Thérophyte** : plante annuelle dont le cycle de vie est très court, généralement une saison de croissance.

**Type biologique** : classification des plantes en fonction de leur adaptation aux conditions environnementales et de leur stratégie de croissance.

## BIBLIOGRAPHIE

- Baskin C.C., & Baskin J.M., 2011. Seeds : ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic press. 1<sup>re</sup> édition, . 665 p.
- Billant O., non publié. Préconisation de gestion conservatoire d'adénocarpe à feuilles pliées (*Adenocarpus complicatus* subsp. *parviflorus*). Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, 3 p.
- Billant O., 2015. Inventaire, suivi et préconisation de gestion conservatoire de l'Orlaya à grandes fleurs (*Orlaya grandiflora* L.) à Baume-les-Dames (25). Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, 7 p.
- Bojňanský V. & Fargašová A., 2009. Atlas of seeds and fruits of Central and East-European flora. The Carpathian Mountains region. Journal Of Paleolimnology, 42(2), 299-300. <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9319-6>
- Brugel E., 2012. Préservation de *Primula auricula* L. en Franche-Comté. Proposition d'un plan de conservation. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, 22 p. + annexe.
- Brugel E., 2013. Préservation d'*Orobanch bartlingii* Griseb. en Franche-Comté. Proposition d'un plan de conservation. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, 36 p.+ annexes.
- Çiçek E., Aslan M. & Tilki F., 2007. Effect of stratification on germination of *Leucojum aestivum* L. seeds, a valuable ornamental and medicinal plant. Research journal of agriculture and biological sciences 3 (4) : 242- 244.
- Dehondt F., 2017. L'agripaume cardiaque *Leonurus cardiaca* L., une plante rudérale et médicinale menacée en Franche-Comté. Société Botanique de Franche-Comté, Conservatoire botanique national de Franche-Comté, coll. Les Nouvelles Archives de la Flore jurassienne et du nord-est de la France n° 15 : 63-68.
- Demonty E. & Dixon L., 2014. Plantes patrimoniales de Provence-Alpes-Côte d'Azur : Perspectives régionales de récoltes de semences. Conservatoire botanique national alpin, Gap ; Conservatoire botanique national méditerranéen de Porquerolles, Hyères, 39 p.
- Demonty E., Dixon L. & Fort N., 2014. Collection de graines : Conservation et germination des plantes patrimoniales de Provence-Alpes-Côte d'Azur. Conservatoire botanique national alpin, Gap ; Conservatoire botanique national méditerranéen de Porquerolles, Hyères, 152 p.
- ENSCOBASE. Octobre 2024. (25 octobre 2024) <http://enscobase.maich.gr/germination.tml>
- ENSCONET, 2009. Manuel de collecte de graines pour les espèces sauvages. Edition 1 (mars 2009). European Native Seed Conservation Network, 20 p. + annexes.
- Ferrez Y.(coord.), 2014. Liste rouge régionale de la flore vasculaire de Franche-Comté. Évaluation du risque de disparition selon la méthodologie et la démarche de l'UICN. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, 12 p.
- Greffier B., 2020. Préservation de *Leucojum aestivum* L., 1759. Proposition d'un plan de conservation. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional de invertébrés, 17 p.
- Greffier B. & Berrod L., 2022. Connaissance de la flore rare ou menacée de Bourgogne-Franche-Comté : *Orobanch elatior*. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, Conservatoire botanique national du Bassin Parisien, 18 p.
- Hennequin C., 2020. Rapport d'expertise : Compte-rendu de la visite de la station d'*Orlaya grandiflora* à Baume-les-Dames. Conservatoire Botanique National de Franche-Comté, 6 p.
- Launay S. & Brugel E., 2008. Préservation de *Linum leonii* F.W. Schultz en Franche-Comté. Proposition d'un plan de conservation. Conservatoire Botanique National de Franche-Comté, 18 p. + annexes.

- Lehimas L., 2023. Résultats des tests de germination d'espèces menacées récoltées dans le cadre de plans de conservation - Année 2023. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, 7 p.
- Mombrial F., Lambelet-Haueter C. & Palese R., 2016. Laboratoire de conservation - Manuel de fonctionnement de la banque de semences. Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève, 89 p.
- Morel A., 2010. Amélioration des connaissances sur le genre *Lindernia* All. Conservatoire botanique national du Massif central, Région Rhône-Alpes, Département de la Loire, 35 p.
- Moretti M., 2023. Rapport des prospections *Leucojum aestivum* L.; secteur de la basse vallée de la Loue, inventaire 2023. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des Invertébrés, 10 p.
- Nauche G. & Guyonneau J., 2004. Connaissance de la flore rare ou menacée de Franche-Comté, *Dryopteris cristata* (L.) A. Gray. Conservatoire botanique de Franche-Comté, 12 p.
- Nicod C. & Planquais E., 2023. Connaissance de la flore rare ou menacée de Bourgogne - Franche-Comté : *Lindernia procumbens*. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des invertébrés, Conservatoire botanique national du Bassin parisien, 30 p.
- Piguet A., 2020. Connaissance de la flore rare et menacée de Franche-Comté. *Stellaria palustris* Ehrh. ex Hoffm. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional des invertébrés, 45 p. + annexes.
- Roumier A., 2022b. Stratégie de conservation ex situ. Conservatoire botanique national du Massif central / Région Auvergne Rhône-Alpes, 56 p.
- Roumier A., 2022b. Manuel de gestion de la banque de semences du Conservatoire botanique national du Massif central. Conservatoire botanique national du Massif central, 12 p.
- Seed Information Database. Février 2023. <https://ser-sid.org/> (25 octobre 2024)
- Thomas J.-F., 2012. Dossier fougères - Méthode de multiplication : semis au laboratoire. Sauvages & cultivées. Carnet du Jardin botanique de la ville de Lyon, n°4 : 22-23.
- Tison & Foucault, 2014. *Flora Gallica* - Flore de France. Société botanique de France, Biotope Éditions, Mèze, 1195 p.
- UICN France, FCBN, AFB & MNHN, 2018. La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Flore vasculaire de France métropolitaine. Paris, France, 31 p.
- Vuilleminot M., 2021. Préservation de *Dryopteris cristata* (L.) A. Gray en Franche-Comté. Proposition d'un plan de conservation. Conservatoire botanique national de Franche-Comté - Observatoire régional de invertébrés, 31 p. + annexes.

---

## ANNEXES

- Annexe 1 : synthèse des actions menées sur le terrain pour la constitution de la banque séminale.

## Annexe 1 : synthèse des actions menées sur le terrain pour la constitution de la banque séminale.

Taxons	Stations	Dates	Actions	Commentaires
<i>Adenocarpus complicatus</i> subsp. <i>parvifolius</i>	Champagney (39)	08/06/2022	Repérage	Des gousses sont déjà présentes mais encore bien vertes. Les individus sont majoritairement en fleur.
		05/07/2022	Récolte	Gousses récoltées bien mûres, certaines s'ouvrent spontanément.
		13/09/2022	Récolte	Presque aucune gousse fermée (prévoir second passage plutôt fin juillet/début août).
		30/06/2023	Récolte	
		08/08/2023	Récolte	
		09/07/2024	Récolte	Une vingtaine de gousses.
		30/07/2024	Récolte	Une centaine de gousses.
<i>Aphanes australis</i>	Germigney (70)	2022	-	Station détruite (Champ de maïs).
	Breuches (70)	14/06/2022	Repérage	Non retrouvé dans la prairie.
		23/06/2022	Repérage	Population de 50 individus (prélèvement de fruits qui semblaient mûrs).
		19/07/2022	Récolte	Les plants étaient entièrement secs.
		06/06/2023	Récolte	Une bonne récolte en plusieurs points de la station.
		06/07/2023	Récolte	
		11/06/2024	Repérage	
		24/06/2024	Récolte	Les plus grands individus se trouvaient en bordure du trottoir. Leurs bases étaient plus sèches que leurs apex (prélèvement des inflorescences à la base qui étaient donc les plus sèches).
<i>Conopodium majus</i> supsp. <i>majus</i>	Romagny-sous-Rougemont (90)	10/07/2024	Récolte	Prélèvement sur la base de plus de 50 tiges.
		14/06/2022	Repérage	En fleurs.
		12/07/2022	Récolte	Certains individus avaient déjà disséminé toutes leurs graines (prévoir une seconde récolte plus tôt).
		29/06/2023	Récolte	
		11/07/2023	Récolte	
		24/06/2024	Repérage	Plus aucun individu en fleurs. Fructification assez avancée. Certaines ombelles presque vides de fruits. D'autres avec des fruits encore verts et bien accrochés aux pétioles.
<i>Dryopteris cristata</i>	Saulnot (70)	10/07/2024	Récolte	Plus aucun individu visible. Remarque importante : environ 15% du site retourné par les sangliers = potentielle menace (effet sur la population locale de <i>C. majus</i> à suivre ?).
		23/06/2022	Repérage	Récolte de quelques fragments de frondes.
		22/07/2022	Récolte	
		06/07/2023	Récolte	
		09/08/2023	Récolte	
		19/07/2024	Récolte	Une dizaine de frondes avec des sores brunes à noires prélevées.

Taxons	Stations	Dates	Actions	Commentaires
<i>Epilobium lanceolatum</i>	Amange (39)	19/05/2022	Repérage	
		31/05/2022	Repérage	Vérification stade phénologique.
		13/06/2022	Repérage	Plusieurs individus en fleurs, certains en fruits.
		05/07/2022	Récolte	Nombreux fruits ouverts et vides. Certains plants n'ont pas ou peu de fruits.
		13/06/2023	Repérage	Non retrouvée.
		12/06/2024	Repérage	Individus majoritairement fleuris.
		24/06/2024	Repérage	Plusieurs individus bien développés (certains individus fauchés en bord de chemin), début de fructification mais aucun fruit à maturité.
		01/07/2024	Repérage	Davantage d'individus en fruits, mais pas toujours à maturité.
		30/07/2024	Récolte	Bonne récolte sur nombreux individus.
		07/08/2024	Récolte	81 capsules récoltées.
<i>Leonurus cardiaca</i>	Offemont (90)	14/06/2022	Repérage	Station disparue (zone tondue).
	Roye (70)	22/07/2022	Repérage	Non retrouvée.
	Dannemarie-sur-Crête (25)	08/06/2022	Repérage	19 tiges observées.
		05/07/2022	Repérage	Pas tout à fait mûr. Besoin d'une pince ou autre pour la récolte.
		19/07/2022	Récolte	Récolte sur plusieurs "niveaux" de chaque plants. Les graines se détachent toute seules en grattant avec un gant.
		08/08/2023	Récolte	
		25/07/2024	Repérage	Une dizaine d'individus en fin de floraison.
		08/08/2024	Récolte	Une seule récolte semble adaptée à la taille de la population.
<i>Leucojum aestivum</i>	Froidefontaine (90)	29/04/2022	Repérage	Population le long de la mare, et surtout derrière le bosquet.
		31/05/2022	Récolte	Progression vers la deuxième partie de la population rendue compliquée par les roseaux et les orties. Doute sur la maturité des gousses-graines, mais les hampes florales ont tendance à se pencher vers le sol, et certaines gousses étaient déjà partiellement mangées. Récolte en coupant à la base du fruit.
		07/07/2022	-	Aucun individu retrouvé. Progression vers la deuxième population très pénible. Pour 2023 : visite en début de fructification et pose de jalonettes et de sachets sur les fruits.
		23/05/2023	Repérage	Pose de 30 sachets, dont certains avec plusieurs fruits.
		15/06/2023	Repérage	Fruits pas encore mûrs.
		29/06/2023	Récolte	
		11/07/2023	Récolte	
		05/06/2024	Repérage	Individus retrouvés, pose de 30 sachets pointés.
		26/06/2024	Récolte	Première récolte : 11 sachets récupérés + 4 fruits ramassés par terre.
		11/07/2024	Récolte	45 fruits récoltés.

Taxons	Stations	Dates	Actions	Commentaires
<i>Lindernia procumbens</i>	Champagney (39)	05/07/2022	Repérage	Étang pas du tout desséché.
		13/09/2022	Repérage	Plante retrouvée en deux endroits autour du lac, une des station avec une très grande densité. Les capsules ne sont pas encore mures, deuxième visite dans 2 semaines.
		26/09/2022	Récolte	
		26/09/2023	Récolte	
		17/10/2023	Récolte	
		15/11/2024	Repérage	Niveau d'eau trop haut : végétation des rives exondées non exprimée.
		05/07/2022	Repérage	Étang pas du tout desséché.
<i>Linum leonii</i>	Archelange (39)	19/05/2022	Repérage	La population est très localisée, quasiment tous les individus sont en fruit mais les capsules ne sont pas encore mures.
		31/05/2022	Récolte	Prélèvement des capsules mures (à peine ouvertes), la capsule se détache facilement du réceptacle floral, les sépales restent en place. Mérite un deuxième passage car sur la partie gauche et supérieure du site les capsules étaient toutes immatures.
		13/06/2022	Récolte	Récolte sur les plants qui étaient immatures lors de la visite précédente.
		13/06/2023	Récolte	
		28/05/2024	Repérage	Zone délimitée et pointage.
		10/06/2024	Repérage	Fruits pas encore murs.
		16/07/2024	Récolte	Beaucoup d'individus encore fleuris. 4 fruits récoltés (quelques pieds broutés par les moutons).
		30/07/2024	Récolte	7 capsules récoltées (toujours peu d'individus à maturité). Discussion sur site d'un exclos permanent avec le Grand Dole.
<i>Orlaya grandiflora</i>	Baume-les-Dames (25)	01/08/2024	Récolte	6 capsules supplémentaires.
		02/06/2022	Repérage	Il restait trois populations à repérer mais une semblait dangereuse d'accès. Les populations rencontrées semblent par ailleurs suffisantes pour une récolte. Tous les individus sont en fleurs à ce jour.
		12/07/2022	Récolte	La plupart des fruits étaient mures (certains individus encore verts ou même encore en fleurs). Les feuilles ont disparu sur la majorité des plants.
		23/06/2023	Récolte	Fruits soit immatures, soit avortés.
		11/07/2023	Récolte	
		19/06/2024	Repérage	Population en pleine floraison avec quelques fruits verts.
		26/06/2024	Repérage	Trop tôt, population toujours en pleine floraison.
		10/07/2024	Repérage	Trop tôt, population toujours en pleine floraison.
<i>Orobanche bartlingii</i>	Besançon (25)	30/07/2024	Récolte	50% de la population mûre.
		08/06/2022	Repérage	Les individus sont déjà bien desséchés mais temps trop humide pour une récolte (un GPS plus précis est nécessaire).
		13/06/2022	Repérage	Un seul individu repéré par YF, un fruit prélevé mais non mature.
		30/06/2022	Récolte	Un fruit prélevé.
		30/05/2023	Repérage	3 individus observés.
		27/06/2023	Récolte	
		10/07/2023	Récolte	
		30/05/2024	Repérage	1 individu retrouvé en fleur.
		24/06/2024	Repérage	Fruits encore immatures.
		08/07/2024	Récolte	
		22/07/2024	Récolte	

Taxons	Stations	Dates	Actions	Commentaires
<i>Orobanche elatior</i>	Besançon (25)	13/06/2022	Repérage	Un fruit prélevé mais non mature.
		30/06/2022	Récolte	11 fruits prélevés sur 4 plants.
		30/05/2023	Repérage	Plusieurs individus observés.
		27/06/2023	Récolte	
		10/07/2023	Récolte	
		30/05/2024	Repérage	Plusieurs individus, à différents stades (38 pieds), fruits non matures.
		08/07/2024	Récolte	Les pieds ont été très endommagés lors du festival Grandes heures natures (24/06/2024) sur une partie de la station. 18 fruits récoltés (en partie sur des pieds cassés).
		22/07/2024	Récolte	20 fruits récoltés (en partie sur la zone dégradée).
<i>Polycnemum majus</i>	Andelnans (90)	14/06/2022	Repérage	Pas observé. Selon CH, apparaît seulement vers mi-juillet.
		12/07/2022	Repérage	Non retrouvé. Terrain très sec.
		22/07/2022	Repérage	Non retrouvé.
		29/08/2023	Récolte	
		04/09/2024	Récolte	Récolte minutieuse pendant 1h30 à récolter des capsules sur une trentaine de tiges.
<i>Primula lutea</i>	Baume-les-Dames (25)	04/05/2022	Repérage	Les individus sont en fin de floraison, apparition des premières capsules.
		02/06/2022	Récolte	Certaines fleurs n'ont pas donné de fruit. Doute sur la maturité des gousses / graines. Récolte de 10 % seulement pour l'instant.
		19/07/2022	Récolte	Récolte accompagnée par le président d'USB Montagne pour sécuriser l'accès. Les capsules sont mures et certaines sont vides.
		23/06/2023	Récolte	
		11/07/2023	Récolte	
		20/06/2024	Récolte	Beaucoup de tiges à tête coupée (prédation par les chamois probablement), ou à capsules déjà ouvertes et vides. Récolte de quelques individus. Pas de passage supplémentaire pertinent.
<i>Ranunculus lingua</i>	Saulnot (70)	14/06/2022	Repérage	Non retrouvé (mauvais pointage).
		23/06/2022	Repérage	Non retrouvé (trop tôt ?).
		22/07/2022	Repérage	Non retrouvé.
		15/06/2023	Repérage	Non retrouvé.
		19/07/2024	Repérage	Pointages imprécis.
	Vitreaux (25)	05/07/2022	Repérage	Non retrouvé (trop tôt ?).
		20/07/2022	Repérage	Non retrouvé.
		13/06/2023	Repérage	Retrouvée, pas encore en fleurs.
		10/07/2023	-	De nombreux individus ont été consommés, seuls 2 étaient en fruit mais non mûrs.
		08/08/2023	-	Toutes les parties terminales des plants ont été consommées.
		25/07/2024	Repérage	Non retrouvé. Recherche sur la station connue et aux alentours, en vain.
		08/08/2024	Repérage	Le niveau d'eau a baissé un peu mais toujours aucun individu.

Taxons	Stations	Dates	Actions	Commentaires
<i>Stellaria palustris</i>	Jallerange (25)	19/05/2022	Repérage	Prairie de fauche, les points répertoriés se situent au milieu et n'ont pas été retrouvés.
		31/05/2022	Repérage	Champ fauché.
		16/05/2023	Repérage	Non retrouvée.
		26/05/2023	Repérage	Non retrouvée.
		13/06/2023	Repérage	Non retrouvée.
		10/06/2024	Repérage	Végétation très développée, pas retrouvé aux pointages.
	Marnay (25)	31/05/2022	Repérage	Champ fauché, 6 tiges trouvées sur la partie centrale du champ non fauchée.
		20/07/2022	-	Non retrouvé.
		16/05/2023	Repérage	Non retrouvée même sur les points précis. Pose de jalonnets trop courtes.
		26/05/2023	Repérage	Retrouvée (zone délimitée).
		13/06/2023	Repérage	Individus difficiles à retrouver dans les hautes herbes, fruits pas encore mûrs.
		30/06/2023	-	Les individus repérés en juin n'ont pas été retrouvés.
	Les Aynans (70)	03/06/2024	-	Non retrouvée (milieu pourtant favorable). Présence de <i>S. graminea</i> .
		02/06/2022	Repérage	Point non retrouvé dans le champ (problème de précision ?).
	Saint-Sulpice (70)	05/06/2024	Repérage	Un seul pied retrouvé au même endroit qu'AP. L'exploitant va faucher quoiqu'il en soit.
		23/06/2022	Repérage	Non retrouvée.
	Aillelans (70)	05/06/2024	Repérage	Pâturage et herbe à ras. Peu favorable pour la stellaire.
		02/06/2022	Repérage	Champ fauché, belle population en marge du champ, autour des saules et le long de la mare.
		07/07/2022	Récolte	Certains fruits ouverts et des graines déjà disséminées. Certains plants encore en fleurs.
		23/06/2023	Repérage	Fruits immatures.
		09/08/2023	-	Non retrouvée.
		05/06/2024	Repérage	Plus d'une centaine d'individus observés (fauche le 12/05).
		27/06/2024	Repérage	Toujours au stade floraison.
		11/07/2024	Repérage	
		30/07/2024	-	Beaucoup d'individus, la plupart au stade végétatif, quelques-uns fleuris, un seul en fruits mais sans graines.



## CONTACTS

Conservatoire  
botanique national  
de Franche-Comté -  
Observatoire régional  
des Invertébrés

9 rue Jacquard  
BP 61738  
25043 Besançon Cedex  
03.81.83.03.58  
cbnfc@cbnfc.org

[WWW.CBNFC-ORI.ORG](http://WWW.CBNFC-ORI.ORG)

