



Petite massette
(*Typha minima* Hoppe)



Caractéristiques germinatives et comportement à la conservation des semences

décembre 2011

Noémie FORT, CBNA
Catherine LAMBELET, CJB Genève



Sommaire

Introduction	3
1. Présentation de l'espèce.....	4
2. Présentation du projet	11
3. Méthodologie mise en place pour l'étude sur la germination.....	12
4. Résultats des travaux de germination	14
Conclusions et discussion	19
Bibliographie	20

Introduction

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'appel à projet 2009 du Pôle Départemental de Recherche sur la Biodiversité du Conseil Général de l'Isère.

Le Laboratoire d'Ecologie Alpine, le Conservatoire Botanique National Alpin et le Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève se sont réunis pour proposer le projet suivant : **Diversité génétique, fonctionnement et germination des populations de petite massette (*Typha minima* Hoppe). Importance des populations iséroises pour la conservation de l'espèce.**

Ce rapport présente les résultats obtenus par le CBNA et le Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève sur les aspects liés à la germination.

1. Présentation de l'espèce

Petite massette, *Typha minima*

Hoppe

Protection nationale, annexe 1

Convention de Berne, annexe I

Livre rouge National tome II

Livre rouge Rhône-Alpes,

Liste rouge des Hautes-Alpes,

Catégorie patrimoniale pour les Hautes-Alpes : A2

Liste rouge de Savoie



Famille : Typhacées

Description :

C'est une plante élancée, de 25-75 cm de haut, présentant de longs rhizomes et des tiges fertiles et stériles. Les nombreuses feuilles de ces dernières (1 à 3 mm de large) donnent un aspect dense aux populations. Les feuilles des tiges fertiles sont extrêmement courtes, plus ou moins réduites à des gaines basales. Les fleurs mâles (formées par les étamines) et femelles (formées d'ovaires et de soies) terminent la tige en deux inflorescences superposées. L'inflorescence femelle, de couleur brun rouge est 1,5 à 2 fois plus longue que large et persiste longtemps. C'est elle qui confère à la plante une allure de massue.

Remarques et particularités :

La seule présence de la petite massette suffit à caractériser un type d'habitat naturel d'intérêt communautaire prioritaire (annexe I de la Directive Habitats) : formations riveraines à petite massette de l'étage collinéen des régions alpine et périalpine et d'Alsace.

Données biologiques :

Type biologique

Hémicryptophyte ou géophyte rhizomateux.

Phénologie

La floraison est échelonnée de mai à juin.

Système de reproduction

Reproduction sexuée et reproduction végétative (elle se propage par stolons jusqu'à former des clones denses).

Type de dissémination

Anémochorie : les graines, volantes sont disséminées par le vent.

Hydrochorie : les graines, mais aussi des fragments de rhizomes ou des mottes entières peuvent être disséminées par l'eau.

Banque de semences du sol

Les akènes mûrs ont un pouvoir germinatif important (90%), mais ne germent plus après 1 an : la petite massette aurait donc une banque de semence du sol transitoire de type I.

Ecologie :

Espèce pionnière, héliophile sur sables fluviaux ou graviers parfois couverts de vase, riches en bases, bien irrigués en été, compacts à granulométrie fine et généralement calcaires. Elle occupe des associations végétales d'atterrissement lacunaires au dessous du niveau des hautes eaux, soit dans les lits secondaires à courant lent des rivières, soit sur des bancs de graviers, soit dans des bras morts récents. Elle dépend d'une forte dynamique fluviale puisque ce sont les crues qui recréent sans cesse de nouveaux bancs à recoloniser et l'empêchent d'être étouffée par d'autres espèces. En l'absence d'inondations, les stations de petite massette évoluent vers des saulaies puis des aulnaies.

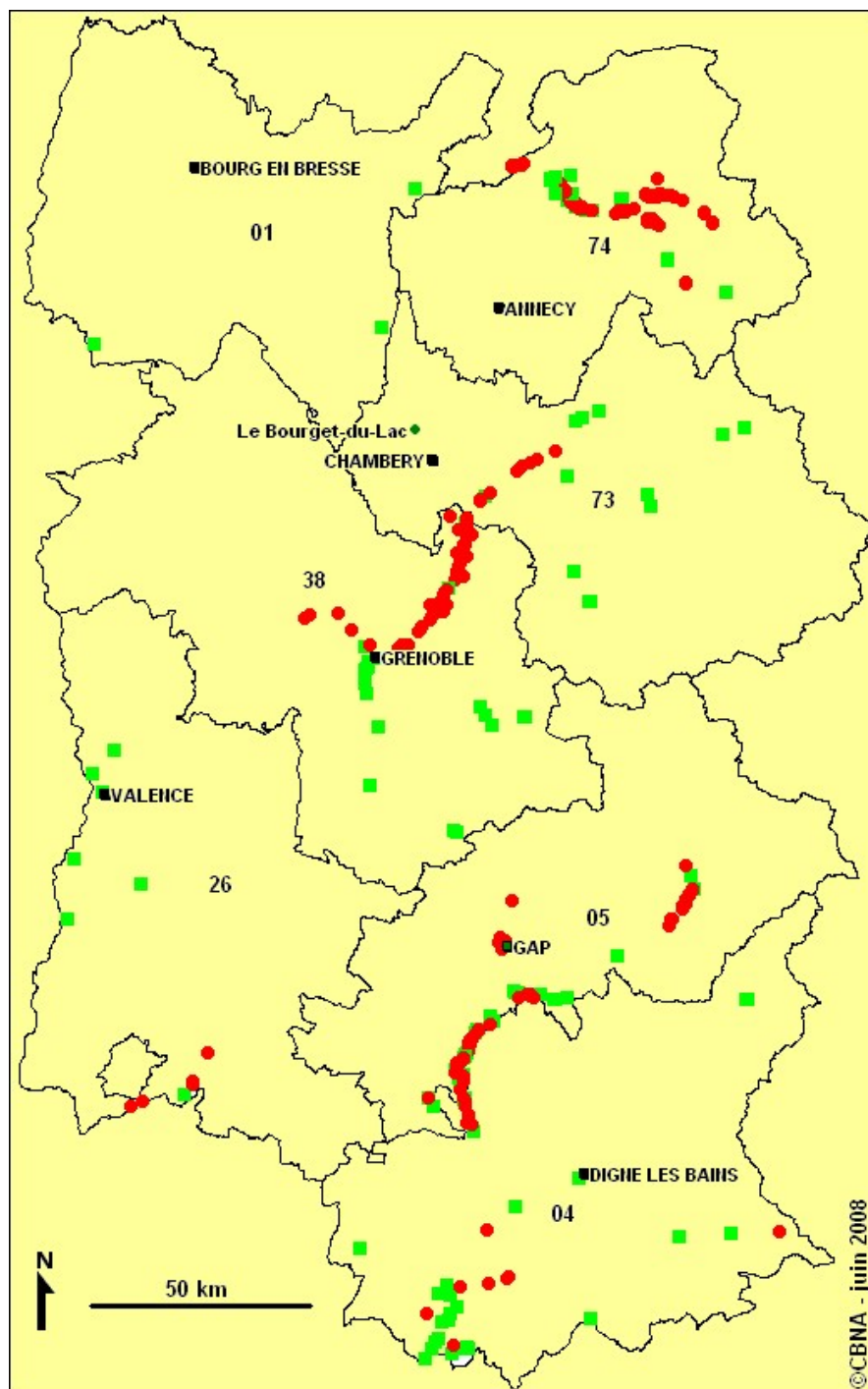
Répartition :

Mondiale : Eurasiatique pré-alpine (sub) méridionale-continentale à aire de répartition très morcelée.

Europe : grands réseaux fluviaux de l'arc alpin, péninsule italienne, secteurs isolés du Danube et des Balkans.

France : Alsace (près de Strasbourg), Rhône-Alpes (Drôme : vallée de l'Eygues, Châteauneuf de Bordette ; Haute-Savoie : vallées de l'Arve et du Giffre ; Savoie et Isère : vallées de l'Isère et de l'Arc), Provence-Alpes-Côte d'Azur (Hautes-Alpes et Alpes de Haute-Provence : Vallée de la Durance).

Carte de répartition sur le territoire d'agrément du CBNA



Localisation de l'espèce

● Station connue ou revue depuis 1990

■ Station non revue depuis 1990

Agglomérations

- Siège CBNA
- Antenne CBNA
- Préfectures

Limites administratives

□ Départements

Etat des populations :

L'espèce est en régression : elle n'a pas été revue récemment dans l'Ain et a disparu des vallées du Rhône et de l'Isère dans la Drôme. Les populations drômoises actuelles sont très marginales, en limite d'aire ; elles sont en outre très précaires.

La petite massette est encore bien présente sur la vallée de la Durance dans les Hautes-Alpes mais en régression assez nette dans les Alpes de Haute-Provence : de nombreuses stations n'ont pas été revues récemment autour de Volx, Oraison, Gréoux-les-Bains, Annot, Digne et la Condamine Chatelard...

Dans le cadre du curage de la Durance à Sisteron, des pieds de petite massette ont été détruits. Des réimplantations étaient prévues mais elles n'ont pas encore eu lieu.

En Haute-Savoie, de nombreuses stations notées sont susceptibles d'avoir disparu (en particulier celles liées aux annexes hydrauliques et perturbations anthropiques - gravières, sablières-). Dans la vallée du Giffre, plusieurs stations sont impactées par les sports mécaniques. Une station de Taninges (74) a disparu suite au réaménagement du site en base de ski nautique.

En Savoie on trouve la petite massette dans la vallée de l'Isère, en aval d'Albertville mais les stations amont n'ont pas été revues récemment. La petite massette a été revue récemment du côté de St-Rémi de Maurienne et St-Etienne de Cuine. La station de Randens est menacée par des décharges de matériaux de démolition.

En Isère, l'espèce est bien présente dans la vallée du Grésivaudan, mais ces populations sont menacées par l'aménagement de l'Isère amont. En aval de Grenoble, les dragages de l'Isère, effectués à la fin des années 1980 pour la réalisation du barrage de Saint-Egrève et de l'autoroute Grenoble-Valence, ont détruit la quasi totalité des stations de l'espèce entre Grenoble et Saint-Gervais. Les populations des vallées du Drac et de la Romanche ont également disparu.

Globalement, les populations de petite massette sont menacées par l'aménagement (curage, recalibrage, endiguement, l'aménagement de chemins carrossables, l'exploitation de graviers, des projets de l'industrie hydroélectrique, l'abaissement de la nappe ou du lit...) des cours d'eaux et la concurrence végétale.

Conservation

Conservation *ex situ*

Banque de semences CBNA : 25 stations

Banque de semences CJBG : 9 stations

Le bon état de conservation des graines en banque de semences dépend d'un stockage immédiat après récolte dans des conditions sèches (travaux C. Lambelet, CJB Genève).

Dans ces conditions, la perte de viabilité des lots en chambre froide et en congélation est très faible (résultats de l'étude présentée dans ce rapport).

Conservation *in situ*

Des réimplantations de petite massette (réintroduction/renforcement de population) ont eu lieu en Suisse. Nous avons pu obtenir un retour des expériences des Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève (CJBG). Sur les quatre réimplantations réalisées depuis 1999, une seule population présente encore quelques individus mais les effectifs sont en régression rapide. Le CJBG a donc mené en 2006 une étude pour définir les caractéristiques écologiques des sites potentiels de réimplantation de l'espèce.

Etude des caractéristiques germinatives

Evaluation des caractéristiques germinatives des graines fraîches : la stratification défavorise significativement la germination (37% contre 64% sans stratification). ; pas de différence significative entre les différents régimes thermo-périodiques (10°C obsc, 15°C obsc, 20°C obsc, 12h 25°C/obsc, 12h 20°C obsc). Il semble qu'il n'y ait pas d'effet lumière même si seules deux modalités ont été testées (résultats de l'étude présentée dans ce rapport).

Etude des caractéristiques culturales

La culture de petite massette est réalisée au CBNA à partir de fragments de rhizome prélevés *in situ* (en septembre, période durant laquelle le prélèvement affecte le moins la plante). La culture de ces fragments ne pose techniquement pas de difficultés : ils sont disposés à environ 10-15 cm de profondeur dans un bassin comportant un substrat composé de 40% de tourbe, 25% de terreau, 25% de terre franche et de 10% de sable ; régulièrement hydraté.

Préconisations :

Mise en place d'un Plan National d'Actions pour la conservation de l'espèce : en projet

Prise en compte de l'espèce et de son habitat dans les aménagements

Compléments d'étude sur l'écologie et la dynamique de l'espèce

Elaboration d'un protocole commun de suivi : en cours avec le Réseau de la Conservation Alpes-Ain

Mise en place d'un suivi global

Elaboration d'un protocole de stockage conservatoire des semences : réalisé dans le cadre de cette étude

Renforcement de population, création d'un réseau de populations sources

Auteurs :

N. Fort (CBNA), F. Gourgues (Gentiana), P. Freydier (CPNS), D. Lopez-Pinot (ASTERS)

Références bibliographiques :

ATWATER B.R., 1980. Germination, dormancy and morphology of the seeds of herbaceous ornamental plants. In *Seed Science & Technology*, 8, 523-573.

Base de données Flore & Conservation. Données internes CBNA/ASTERS/GENTIANA/PN Vanoise.

CHAS,E., LE DRIANT,F., DENTANT,C., GARRAUD,L., VAN ES,J., GILLOT, P., REMY, C., GATTUS,J.C., SALOMEZ,P., QUELIN,L., BOURNERIAS,M., MANSION,D., 2006, Atlas des plantes rares ou protégées des Hautes-Alpes, Naturalia Publications, Société Alpine de Protection de la Nature, Conservatoire Botanique National Alpin de Gap-Charance, Turriers – Conservatoires botaniques nationaux alpin et méditerranéen,1, 311p.

DELAHAYE,T.,PRUNIER, P. ,2006. Inventaire Commenté et liste rouge des plantes vasculaires de Savoie. Bulletin spécial n°2, Société mycologique et botanique de la région chambérienne.

KÖLHER C., 2006. Recherche de sites favorables pour la réimplantation de *Typha minima* dans le canton de Genève. Travail de diplôme, Ecole d'ingénieur de Lullier, Conservatoire et Jardin Botaniques de Genève, 62p.

OFEFP, CPS, CRSF, PRONATURA, 1999, Fiches pratiques pour la conservation.

Date de création : février 2008

Date de modification : mars 2011

2. Présentation du projet

La petite massette (*Typha minima*) est une espèce menacée dans toute l'Europe, son milieu d'origine ayant été partout profondément dégradé. Elle vit en effet dans les portions à fonctionnement dynamique des cours d'eau alpins dans les sections tressées – anastomosées où le renouvellement et les dépôts latéraux sont importants. Si l'endiguement de ces rivières peut, dans un premier temps, avoir un effet favorable à l'espèce par la favorisation du colmatage, la stabilisation du milieu lui est en revanche défavorable car elle redoute la concurrence des espèces pionnières et profite des modifications régulières des rives pour recoloniser les espaces libérés. C'est donc une espèce très dynamique, relativement fugace de début de succession.

C'est une espèce eurasiatique pré-alpine subméditerranéenne-continentale à aire de répartition très morcelée. En France, la petite massette subsiste à l'état naturel sur quelques bassins versants : Arc + Isère, Durance + Eygues, Var, Arve + Giffre et en Alsace. On la trouve aussi en Suisse, où elle a très fortement régressé depuis 1960 (quelques stations naturelles sur le Rhin, réintroduite en Valais), en Italie (Dora Riparia et Dora Baltea) et en Autriche (lac de Constance et Lech).

La seule présence de la petite massette suffit à caractériser un type d'habitat naturel d'intérêt communautaire prioritaire (annexe I de la Directive Habitats) : « formations riveraines à petite massette de l'étage collinéen des régions alpine et périalpine et d'Alsace ». Code Corine Biotope : 54.33 ; code Natura 2000 : 7240*.

De nombreuses études ont permis de bien caractériser son habitat (Camenich 2000; Galeuchet 1998, Muller 1991, Köhler 2006, Werner 1998). En revanche il reste beaucoup de point à éclaircir concernant sa biologie : conditions de germination des semences (caractéristiques germinatives, évolution du potentiel germinatif dans le temps), mode de reproduction majoritaire (graines ou reproduction végétative), mode et distance de dispersion, ces deux derniers point conditionnant la diversité génétique de l'espèce.

D'après différentes études, les graines de petite massette perdent rapidement leur **pouvoir germinatif** après leur dispersion. Par exemple Galeuchet *et al.* (2002) rapportent une germination immédiate proche de 90%, une germination réduite de moitié 7 mois plus tard et plus aucune germination au bout d'un an. Ces données sont surprenantes au regard des connaissances sur les espèces très fugaces comme les annuelles qui ont une banque de graines importante avec une longue durée de survie des graines dans le sol. Cependant, des espèces pionnières pérennes comme les saules ou les peupliers perdent leur viabilité en quelques semaines en conditions naturelles. On peut donc se poser la question de la viabilité des graines et de la présence d'une banque de graines chez *Typha minima*, une possibilité étant que les graines qui n'ont pas germé après la période de stockage soient viables et entrées en dormance prolongée.

Une seule **étude génétique** a été menée en 1998 sur des échantillons de Suisse (Galeuchet *et al.* 2002 et 2005) en utilisant des marqueurs enzymatiques. Cette étude a montré une diversité globalement faible et une forte reproduction clonale importante à l'intérieur de plusieurs stations.

Dans le cadre du projet d'aménagement Isère Amont, une étude génétique a été demandée par le Symbhi en janvier 2009 afin d'évaluer la diversité des populations iséroises et de mieux comprendre le fonctionnement de l'espèce sur cette rivière. Les analyses ont été réalisées au LECA en utilisant des marqueurs AFLP et ont montré une diversité génétique assez importante mais très variable entre populations et diminuant de l'amont vers l'aval, une très faible structuration des populations iséroises et une clonalité significative mais moins importante que dans l'étude Suisse. La reproduction et la dispersion semblent se faire essentiellement par graines, même si un même clone peut être retrouvé dans des stations assez distantes.

Les différences entre l'étude suisse et la nôtre peuvent avoir deux origines : (i) les marqueurs AFLP sont plus variables que les marqueurs enzymatiques et permettent donc d'estimer de façon plus précise la clonalité (les deux études ne sont pas directement comparables) et (ii) les populations iséroises ont été moins impactées par la régression de l'espèce et/ou fonctionnent différemment. Dans le 2^e cas, elles seraient un réservoir potentiel important en termes de biodiversité pour cette espèce.

Objectifs

Le but de ce projet est double :

1- Approfondissement des connaissances sur la germination de la petite massette :

- étude des caractéristiques germinatives et plus particulièrement de l'évolution du potentiel germinatif de ces semences au cours du temps (notamment après des durées variables de stockage)
- comparaison du potentiel germinatif des semences de petite massette en fonction de leur origine géographique (Durance, Isère, Arc/Giffre)

2- Analyse génétique des populations de différents bassins versants (Durance, Isère, Arc/Giffre) en utilisant les mêmes marqueurs génétiques (AFLP).

3. Méthodologie mise en place pour l'étude sur la germination

Les semences sont mises à germer dans des boîtes de Pétri en plastique de 9 cm de diamètre sur une couche simple de papier filtre Whatmann n°13. Ce support est régulièrement imbibé avec de l'eau déminéralisée. Au CJBG, les tests sont réalisés sur agar agar.

L'imbibition est réalisée jusqu'au voisinage de saturation du papier filtre. Les boîtes de Pétri sont alors placées dans différentes étuves et enceintes de germination.

Les relevés de germination sont réalisés régulièrement tous les deux jours. On entérine la germination lorsque la radicule a visiblement percé le tégument et s'est allongée ou, dans le cas, d'embryons isolés, lorsque la radicule s'est indubitablement allongée. Les données relevées au cours des tests sont mentionnées sur une fiche de suivi.

50 semences ont été disposées par boîte de Pétri et chaque modalité a été réalisée en 3 répliquats.

La durée des tests est de 8 semaines.

La stratification, passage au froid humide (4°C obscurité), est d'une durée de 4 semaines.

3.1 Etude des caractéristiques germinatives

Matériel végétal : 10 populations, récoltes 2009/2010

Modalités : strat/no strat, 10/15/20 °C obsc, alt 25/20°C lum/obsc (12h/12h)
(+ alt 25/20°C obsc (12h/12h) 3 pops)

3.2 Comparaison du potentiel germinatif des semences de petite massette en fonction de leur origine géographique (Durance, Isère, Arc/Giffre)

Matériel végétal : 10 populations, récoltes 2009/2010

Modalités : strat/no strat, 10/15/20 °C obsc, alt 25/20°C lum/obsc (12h/12h)
(+ alt 25/20°C obsc (12h/12h) 3 pops)

3.3 Evolution du potentiel germinatif après conservation

Matériel végétal : 3 populations, récoltes 2009

Modalités : alt 25/20°C (12h/12h)

Mode de conservation : Co = congélateur -18°C réalisé au CJB Genève ; Cf =
Chambre froide 4°C réalisé au CBNA

Temps de conservation : T0 = graines fraîches ; T1 = 12 semaines (3 mois) ; T2
= 1 an

4. Résultats des travaux de germination

4.1 Etude des caractéristiques germinatives

4.1.1 Effet de la lumière

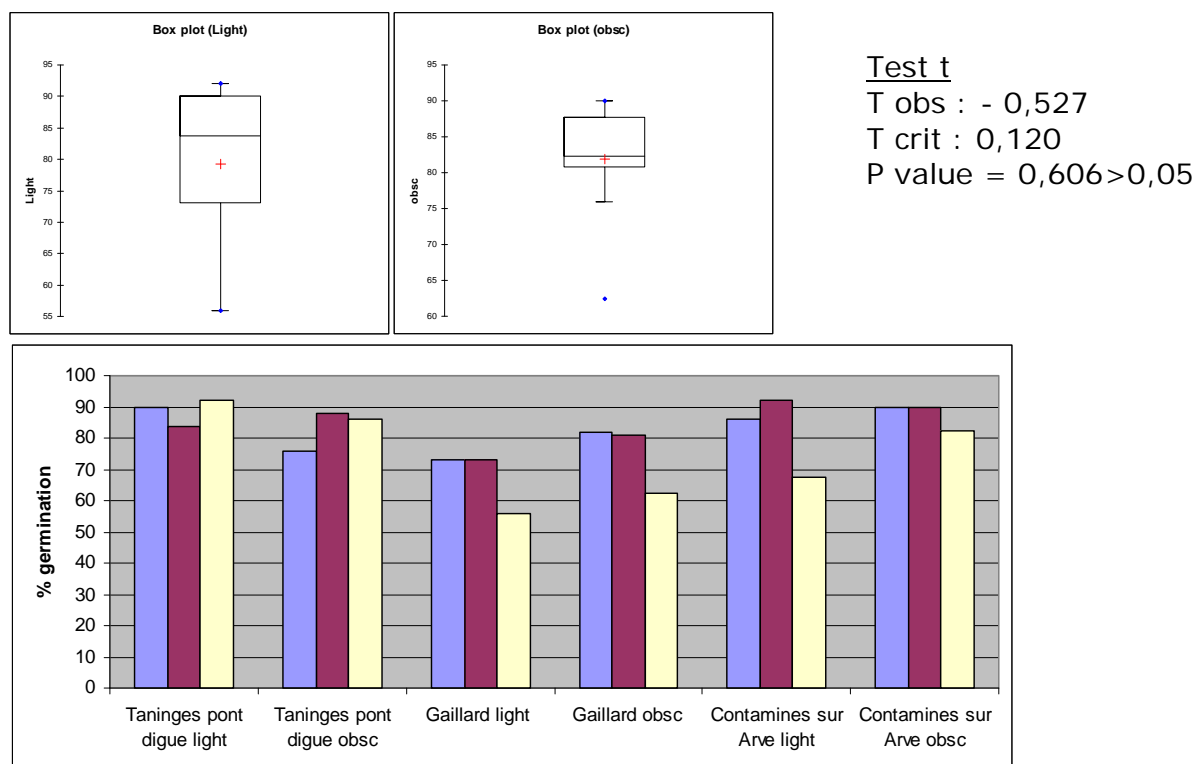
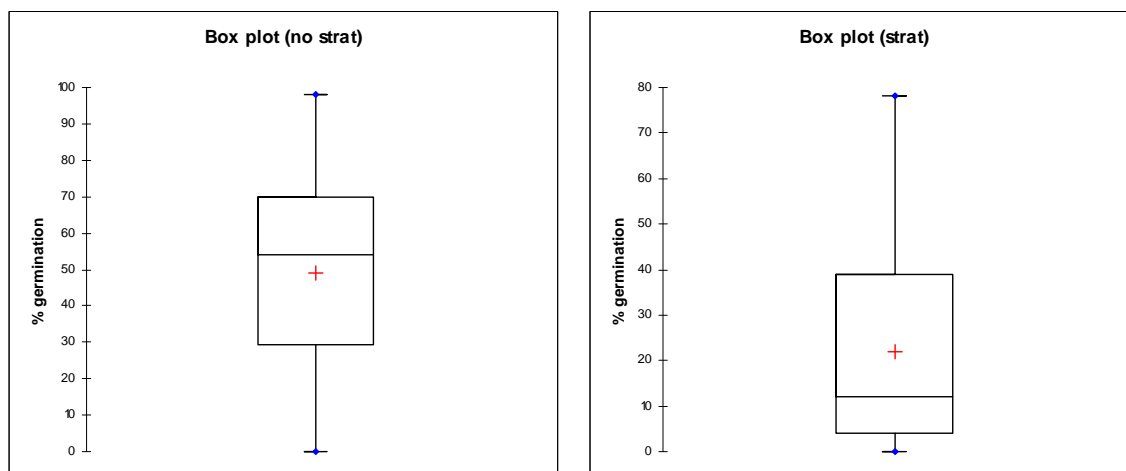


Figure 1 : Effet de la lumière sur la germination de la petite massette

Les résultats présentés sur la figure 1 montrent que dans les conditions testées alt 25/20°C (12h/12h), la lumière n'a aucune influence sur la germination de la petite massette.

4.1.2 Effet de la stratification sur la germination de la petite massette

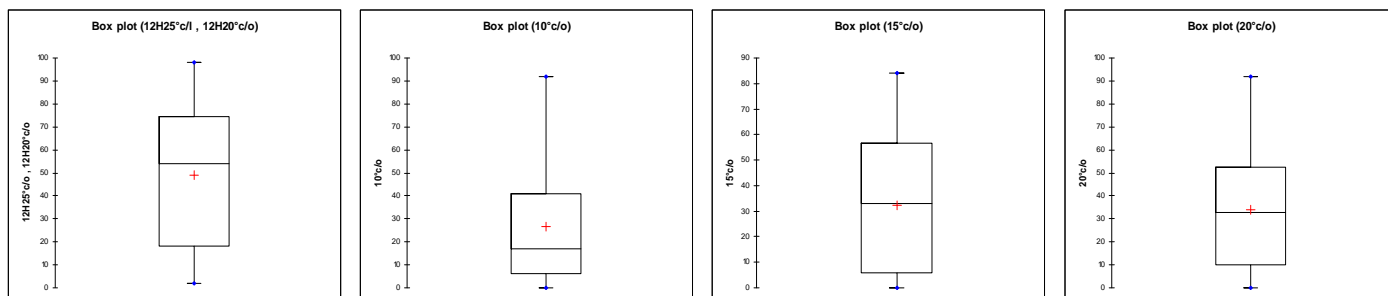


Mann Withney test : significative difference (p value < 0,0001)

Figure 2 : Effet de la stratification sur la germination de la petite massette

Les résultats présentés sur la figure 2 montrent que dans les conditions testées la stratification défavorise la germination de la petite massette.

4.1.3 Effet du régime thermopériodique sur la germination de la petite massette



Kruskall Wallis test : significative difference (K obs = 19,7 > K crit = 7,8)

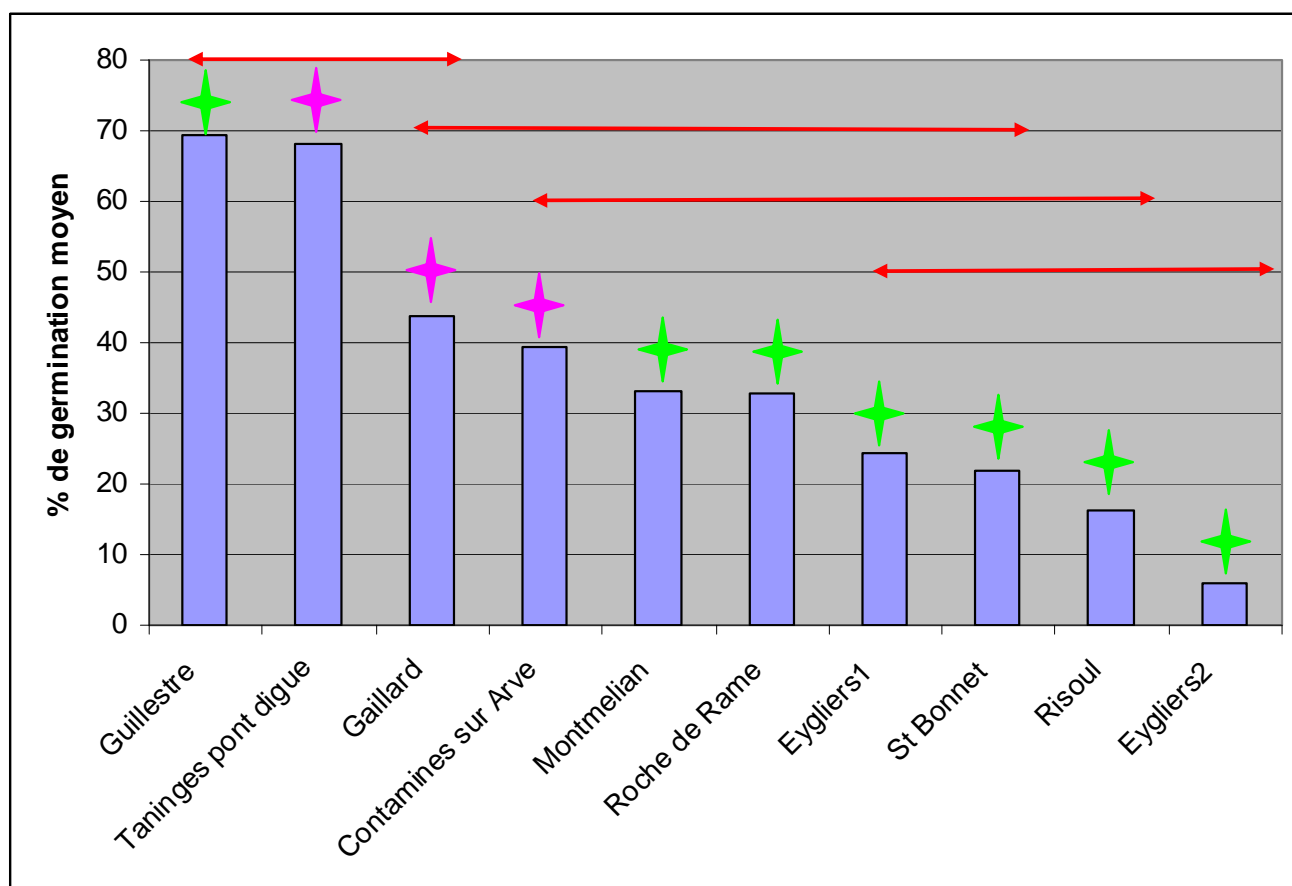
Dunn test : best 12h25°C obsc/12h20°C obsc = 12h25°c obsc/12h20°C obsc

Figure 3 : Effet du régime photothermopériodique sur la germination de la petite massette

Les résultats présentés sur la figure 3 montrent que dans les conditions testées (alt15/20, 10/15/20°C obscurité), le régime thermopériodique a un effet significatif sur la germination de la petite massette.

La condition la plus favorable est 12h 25°C/12h 20°C.

4.2 Comparaison du potentiel germinatif des semences de petite massette en fonction de leur origine géographique (Durance, Isère, Arc/Giffre)



Etoile rose : récolte 2009 ; Etoile verte : récolte 2010
Test de Kruskal Wallis et Dunn : 4 groupes (cf. flèches rouges)

Figure 4 : Effet de la provenance géographique sur la germination de la petite massette

Les résultats présentés sur la figure 4 montrent que toutes les populations n'ont pas le même pouvoir germinatif. Les populations de Guillestre et de Taninges pont Digue ont des pourcentages de germination significativement supérieurs aux autres.

4.3 Evolution du potentiel germinatif après conservation

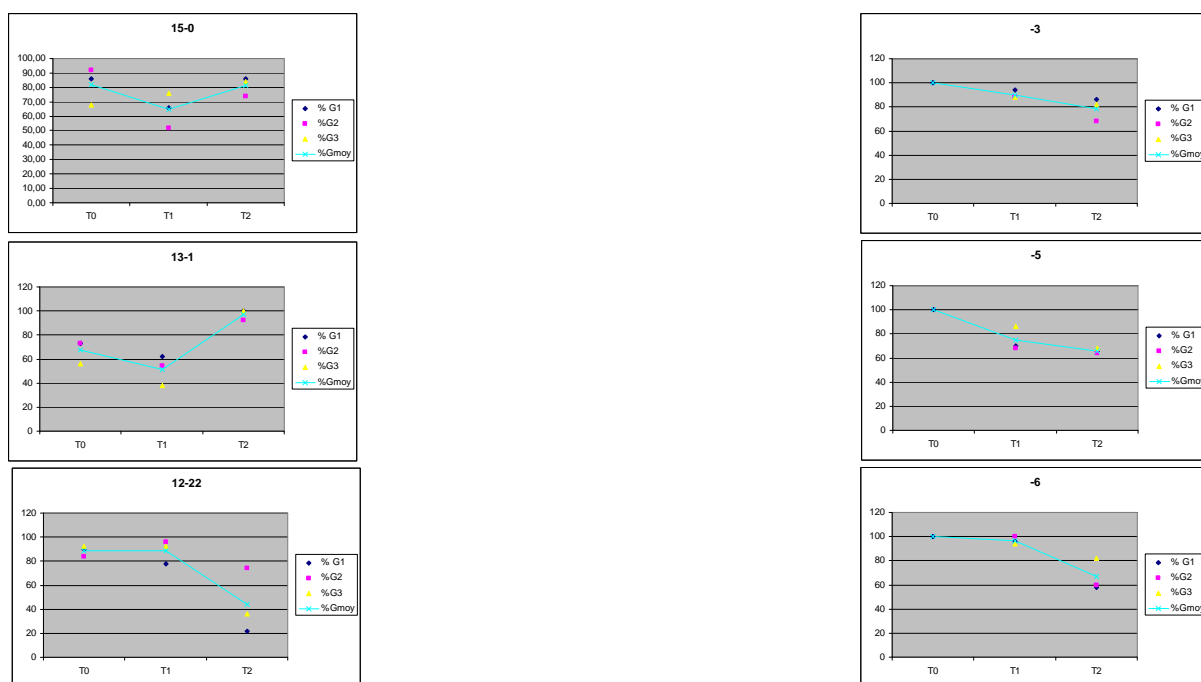


Figure 5 : Effet au cours du temps du stockage en congélation sur la germination de la petite massette

Les résultats de la figure 5 montrent que le pouvoir de germination de la petite massette diminue au cours du temps lors du stockage en congélateur.

Le pourcentage de germination initial sur graines fraîches (T0) est en moyenne de 84%. Au bout d'un an il est de 71% ce qui est toujours élevé.

La perte de viabilité au cours du stockage en congélateur est de 7% en 3 mois et de 15% en 1 an.

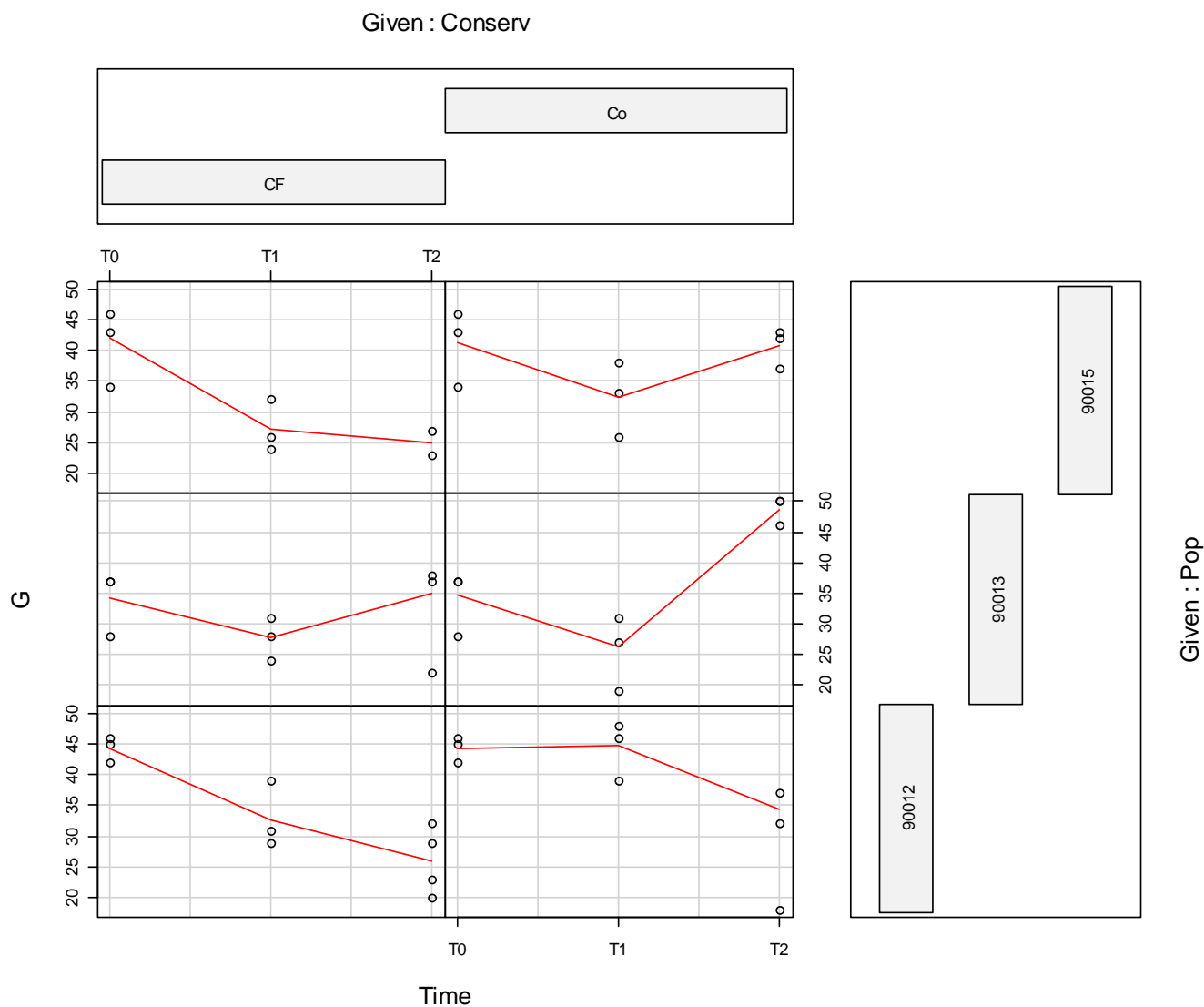


Figure 6 : Effet au cours du temps du stockage en congélation et en chambre froide sur la germination de la petite massette

Les résultats de la figure 6 présentent une comparaison entre l'effet du stockage dans le temps en congélateur et en chambre froide de la germination de la petite massette.

On observe la même tendance pour la germination en chambre froide qu'en congélateur, cependant la différence entre les deux modes de stockage n'est pour l'instant pas significative.

Malgré tout, les résultats indiquent un meilleur pourcentage de germination après conservation au congélateur (cf. tableau 1).

% germination	T0	T1	T2
frais	79,5		
Co		68,2	78,8
Cf		58,6	49,3

Tableau 1 : Germination des graines de petite massette avant (frais) et après stockage en congélateur (Co) et en chambre froide (Cf).

Conclusions et discussion

Cette étude a permis de préciser les conditions de germination de la petite massette sur 3 points :

- une exposition prolongée à la lumière n'a pas d'effet sur la germination de la petite massette
- la stratification défavorise la germination de la petite massette, ce qui signifie *in situ* que la majorité des graines germent avant l'hiver
- la recette germinative de la petite massette est : 12h 25°C lumière/12h 20°C obscurité (la présence de lumière n'est utile que pour le développement des germinations en vue de repiquage et plantation), ce qui signifie *in situ* que la majorité des graines germeront pendant les mois de juillet et août.

Il existe des différences significatives de pouvoir germinatif entre les populations. Ceci constitue un résultat très intéressant qui serait à mettre en relation avec la diversité génétique, la taille et le taux de floraison des populations, ainsi que le nombre de populations en amont. Néanmoins, la maturité des graines, l'année de récolte sont aussi des facteurs importants à intégrer dans l'analyse. Cet axe pourra faire l'objet d'approfondissements ultérieurs.

Cette étude a mis en évidence qu'il est possible de conserver la petite massette en banque de semences, ce sur quoi les expériences précédemment citées dans la littérature avaient un doute.

Le stockage en congélateur n'induit qu'une perte de germination de 15% en un an.

Une condition préalable et nécessaire est de conserver au sec (20% d'humidité relative) les graines de petite massette dès la récolte.

Le nombre de graines souhaité en banque de semences (pour des renforcements par exemple) doit donc tenir compte de cette perte de viabilité au cours du temps et l'intégrer dès la récolte.

Compte tenu de la diversité génétique de l'espèce, mise en évidence par Till *et al.* dans l'autre partie de cette étude, il est essentiel de pouvoir travailler avec des graines et le fait de pouvoir les stocker avec les techniques standards de banque de semences représente un atout majeur pour la conservation de l'espèce.

La prolongation de cette expérience au-delà d'un an permettra de préciser l'efficacité du stockage en chambre froide et congélateur sur des durées plus longues.

Bibliographie

CAMENISCH, M., 2000: Erhaltung und Wiederansiedlung des Kleinen Rohrkolbens (*Typha minima* Hoppe) in Graubünden. Abschlussbericht, Amt für Landschaftspflege und Naturschutz des Kantons Graubünden, Chur.

GALEUCHET, D.J., 1998: Stirbt der kleine Rohrkolben (*Typha minima*) in Europa aus? Diplomarbeit am Institut für Systematik und Botanik der Universität Zürich.

GALEUCHET, D.J.; HOLDEREGGER, R.; RUTISHAUSER, R.; SCHNELLER, J., 2002: Isozyme diversity and reproduction of *Typha minima* populations on the upper River Rhine. *Aquat. Bot.* 74: 19–32.

GALEUCHET, D.J.; HOLDEREGGER, R., 2005: Erhaltung und Wiederansiedlung des Kleinen Rohrkolbens (*Typha minima*) – Vegetationsaufnahmen, Monitoring und genetische Herkunftsanalysen. *Bot. Helv.* 115: 15–32.

KÖHLER, C., 2006: Recherche de sites favorables pour la réimplantation de *Typha minima* Hoppe dans le canton de Genève. Diplomarbeit, Ecole d'Ingénieurs, Lullier.

MÜLLER, N., 1991: Verbreitung und Rückgang des Zwergrohrkolbens (*Typha minima* Hoppe). *Hoppea* 50: 323–341.

WERNER, P., 1998: Essais de réintroduction de la petite massette *Typha minima* sur le Rhône de Finges VS et recommandations pour la revitalisation des grandes rivières alpines. *Bull. Murithienne* 116: 57–67.