

Description de la méthode de bouturage de *Posidonia oceanica*

Rédigé par le Dr Heike Molenaar, enseignante en Sciences de la Vie et de la Terre au Collège J. Valéri à Nice et chercheur indépendant travaillant en auto-entreprise N° Siret 82394924300013

Le présent document décrit la méthode de bouturage préconisée pour renforcer des secteurs d'herbier de *Posidonia oceanica* devenu clairsemé à cause d'une diminution de la luminosité, ou endommagé par des ancrages de bateaux, des engins tractés ou par la pose de câbles, de canalisations sous marines ou lorsqu'il a été dégradé par une pollution anthropique. Cette méthode ne pourra être mise en œuvre que si les facteurs de dégradation ne sont plus actifs.

Cette méthode peut également faire l'objet d'expériences pour comprendre les mécanismes intrinsèques du fonctionnement de la plante suite à des variations du niveau de la mer. En effet l'augmentation du niveau des océans dans le monde engendré par les changements climatiques touchera aussi le niveau de la mer Méditerranée et par conséquent les herbiers de Posidonie. Des expériences de bouturage dans différentes conditions permettraient de comprendre la photobiologie de la plante pour mieux appréhender son avenir face à cette élévation du niveau marin.

Cette méthode a été élaborée à partir d'expériences exhaustives sur près de 4 000 boutures transplantées *in situ* dans le cadre de ma thèse de Doctorat à l'Université de Nice-Sophia Antipolis et publiée dans des revues scientifiques internationales (voir VII- Références Bibliographiques). Elle garantit la survie et le développement des boutures à des taux supérieurs à 75% à long terme, à condition de respecter tous les paramètres requis pour la récolte, la manipulation, la préparation des boutures et la réimplantation dans un milieu favorable. Cette méthode doit également respecter l'utilisation d'un matériel spécifique non néfaste pour le milieu marin et pouvant être retiré après l'enracinement des boutures.

Cette méthode a fait l'objet d'un brevet français d'invention déposé par l'Université de Nice-Sophia Antipolis à l'Institut National de Propriété Industrielle le 15 septembre 1992 (brevet non renouvelé) et a été récompensée par le Premier Prix Développement Local de la Région Provence Alpes Côte d'Azur en mars 1993.

Table des matières

I- MATÉRIEL	3
II- MOYENS À LA MER	3
III- DESCRIPTION DE LA MÉTHODE	4
IV- CALENDRIER	8
V- IMPACT SUR LE MILIEU MARIN	8
VI- SUIVI DES BOUTURES	8
VII- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES CITÉES DANS LE TEXTE	9
ANNEXES	10
I-	

I- Matériel

I- a- Matériel nécessaire au bouturage :

- Tuteurs individuels de fixation en acier inoxydable ou galvanisé afin d'éviter toute corrosion néfaste à de nombreux organismes marins, d'une longueur de 18cm et recourbés à une extrémité pour fixer la bouture en dessous. Cette configuration permet de retirer aisément le piquet lorsque la bouture s'est enracinée.
- Liens de fixation en fil de fer plastifié pour éviter une oxydation néfaste au rhizome de Posidonie et à d'autres organismes présents près du substrat.
- Etiquettes en plastique pour identifier les lots transplantés.
- Contenants de 100 litres pour conserver les boutures après la récolte, pendant la préparation et avant la transplantation.
- Cordages marins pour descendre les contenants remplis de boutures préparées pour la transplantation.
- Petits flotteurs pour baliser les secteurs de transplantation.
- Filets à fermeture pour la récolte des boutures.

Des photographies de ce matériel sont présentées en Annexe 1.

I- b- Préparation du matériel :

- Chaque tuteur sera préalablement préparé avec un lien de fixation de 20 cm de long.
- Les tuteurs de fixation seront attachés par lots de 10.
- 3 filets de récolte seront distribués à chaque plongeur.
- Un cordage pour attacher les filets en fin de récolte sera positionné sous le bateau.
- Les récipients de 100 litres seront remplis d'eau de mer en surface.

II- Moyens à la mer

II- a- Moyens humains

- 1 expert du bouturage, plongeur détenteur du CAH, proposant le protocole, sa mise en œuvre et son suivi.
- 1 plongeur détenteur du CAH, préalablement formé à la méthode pour sa mise en œuvre.
- 1 plongeur détenteur du CAH, assurant la sécurité en surface et la manutention (préparation des piquets, levage des filets de récolte, remplissage des bacs d'eau de mer, immersion des boutures, aide à la fixation des boutures ...)
- 1 pilote du bateau.

II- b- Moyens maritimes

- 1 bateau permettant d'accueillir 3 plongeurs équipés de scaphandres autonomes et 2 récipients de 100 litres remplis d'eau de mer. Le bateau doit être équipé d'une hélice protégée par une cage à hélice car pendant toute l'opération de transplantation (récolte et réimplantation), il devra naviguer au dessus des plongeurs.
- Emplacement à terre en bord de mer pour la fixation sur piquets des boutures et leur conservation provisoire avant la réimplantation le jour même. En effet la récolte et la réimplantation doivent être réalisées le même jour, les boutures ne pouvant pas être conservées trop longtemps confinées dans des contenants à faible capacité (100L).

III- Description de la méthode

III- a- Sélection et récolte des boutures *in situ* :

* **Les boutures seront prélevées dans des secteurs où l'herbier est en équilibre avec une densité normale ou subnormale supérieure.** Elles seront prélevées en bordure d'herbier, en bordure de touffes isolées supérieures ou égales à 1m de diamètre ou en bordure de trous au milieu de l'herbier (Fig. 1). Le prélèvement doit être réalisé de façon à ne pas dégrader l'herbier « donneur » et ne devra pas dépasser 5% de sa densité.

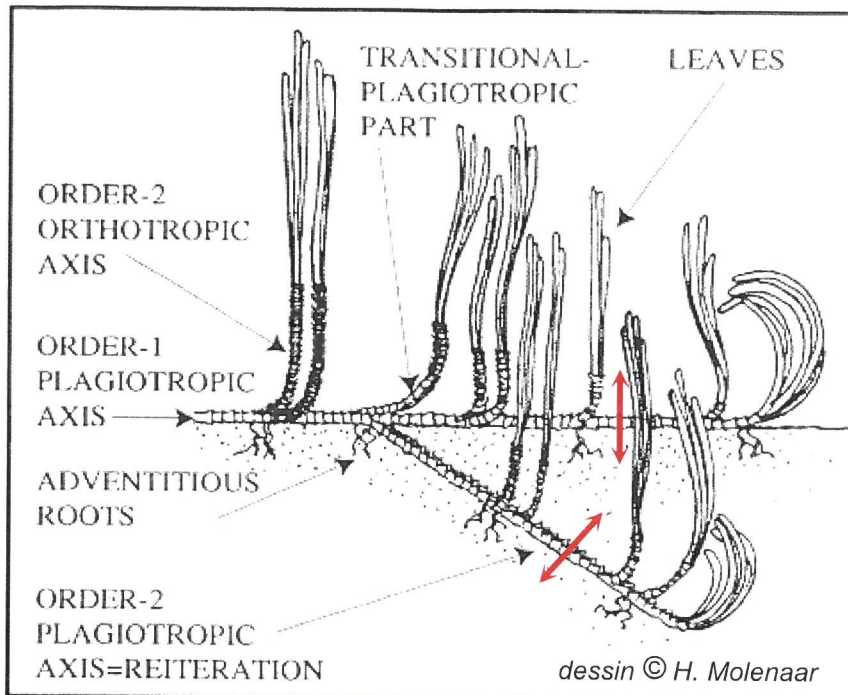


Figure 1 : Exemple du type de boutures prélevées

* Les boutures seront sélectionnées visuellement par le plongeur, prélevées manuellement une par une, *in situ* **sans outil de coupe**. Les segments à prélever seront de ce fait délicatement cueillis afin de les préserver.

Dans le cadre d'une opération de bouturage pour restaurer ou renforcer un herbier de Posidonie, les boutures doivent être prélevées à une profondeur égale ou plus profonde que la profondeur à laquelle elles seront réimplantées. En effet, il est préférable de remonter les boutures transplantées afin qu'elles bénéficient de davantage de lumière au travers de la colonne d'eau de leur nouvel environnement (Molenaar, 1992 ; Molenaar & Meinesz, 1992).

Dans le cadre d'expériences visant à comprendre la photobiologie de la plante, des boutures devront également être prélevées à faible profondeur et replantées à des profondeurs plus importantes pour comprendre si elles seront capables de s'adapter à une élévation lente du milieu marin.

* Les boutures seront sélectionnées selon les critères morphologiques indispensables à leur survie et à leur développement après la transplantation :

- **les boutures doivent être à croissance de type plagiotrope** (Molenaar, 1992 ; Molenaar *et al.*, 1993). Ce paramètre est un des plus importants pour la réussite des transplantations car ce type de boutures conserve sa position initiale et permet de coloniser rapidement le milieu avec une croissance moyenne de 6cm / an dans un herbier en bonne santé (Molenaar *et al.*, 2000). Si les boutures prélevées sont initialement orthotropes, elles se transformeront en plagiotropes (Meinesz *et al.*, 1991 ; 1993) mais mettront davantage de temps à coloniser leur nouveau substrat. Il est donc préférable de prélever directement des boutures à croissance plagiotrope.

- les boutures doivent porter un faisceau foliaire terminal et 2 à 3 faisceaux foliaires latéraux (Molenaar, 1992 ; Molenaar *et al.*, 1993). Ce paramètre laisse à la bouture une probabilité plus importante de survie car si un des faisceaux foliaires meurt, les autres prennent le relais pour assurer la survie de l'ensemble de la bouture (comme la branche d'un arbre prend le relais lorsque l'apex terminal de l'arbre est endommagé ou cassé).

- le rhizome portant le faisceau terminal et les ramifications doit présenter une longueur de 6 cm minimum (Meinesz *et al.*, 1992). Cette longueur est requise afin que l'extrémité coupée du rhizome puisse produire un cal de cicatrisation suffisamment éloigné de la ramification la plus propre sans avoir d'impact sur elle.

* Les racines éventuellement présentes sur les boutures seront conservées.

* Les épibiontes présents sur le rhizome et les feuilles seront conservés.

* Les boutures seront placées dans des filets de transport.

Quand le prélèvement des boutures sera terminé, les filets les contenant seront précautionneusement remontés en surface à bord du bateau et délicatement vidés dans des récipients de 100 litres fraîchement remplis d'eau de mer.

III- b- Sélection et fixation des boutures à terre :

Chaque bouture fera l'objet d'une inspection visuelle par l'expert du bouturage afin de vérifier qu'elle correspond aux critères de sélection assurant sa survie et son futur développement.

Chaque bouture sera fixée individuellement et solidement à un piquet à l'aide du lien préalablement accroché sur celui-ci, la bouture ne devant pas se détacher au cours des différentes manipulations.

Le rhizome en position horizontale sera placé dans la partie recourbée du piquet de telle sorte que lors de la réimplantation il reprenne la position initiale qu'il avait dans son herbier d'origine (Fig. 2).

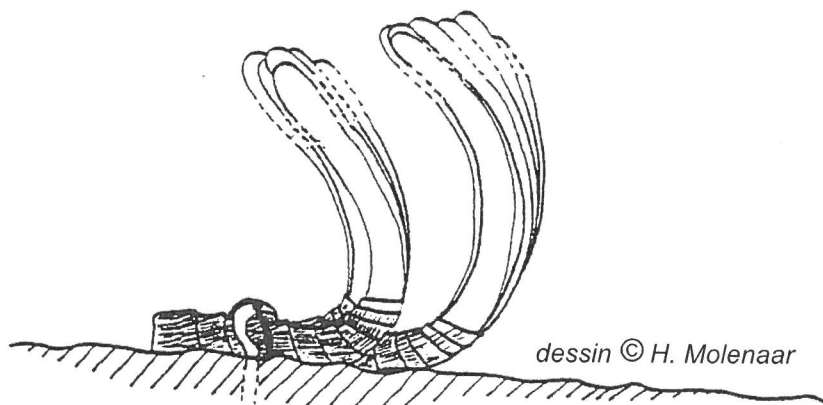


Figure 2 : Exemple de bouture et son tuteur

Il faudra veiller à ce que chaque bouture reste le moins de temps possible hors de l'eau de mer pendant sa fixation afin d'éviter tout dessèchement des feuilles, des racines, des rhizomes et des épibiontes.

Les boutures fixées sur leur tuteur seront attachées par bouquets de 10 pour faciliter le comptage et le transport.

Lorsque toutes les boutures seront fixées sur leur tuteur, **la plongée de réimplantation sera envisagée dans la même journée**. En effet, les boutures ne peuvent pas être conservées au-delà de quelques heures, confinées dans des bacs d'eau de mer à cause des risques d'anoxie et de putréfaction dus aux épibiontes.

III- c- Réimplantation des boutures *in situ* dans les sites d'accueil

Les récipients contenant les boutures fixées, préparées en surface et conservées dans l'eau de mer, seront placés sur l'embarcation qui les transporte jusqu'aux sites de réimplantation.

Pendant que les plongeurs chargés de la réimplantation se mettront à l'eau, les récipients remplis de boutures (attachées par lots de 10), seront immergés et lentement descendus à l'aide de cordages sur les fonds marins du site d'accueil.

Sous l'eau, chaque plongeur viendra chercher quelques lots de boutures et commencera la réimplantation. La réimplantation des boutures se réalisera manuellement, une par une : le tuteur de fixation sera planté verticalement dans le substrat de telle sorte que le rhizome de la bouture soit en position plagiotrope, identique à sa position initiale dans l'herbier de récolte (Fig. 2). Si la bouture présente des racines, celles-ci seront enfoncées délicatement dans le substrat en même temps que le tuteur.

III- c- Nombre de boutures et densité de transplantation:

Le nombre total de boutures utilisées dépend de la surface que l'on souhaite transplanter ou expérimenter. Afin que le taux de survie soit optimisé, il convient de transplanter au moins **50 boutures par mètre carré** soit 5 rangées de 10 boutures. Les boutures disposées sur une même ligne seront espacées de 10 cm maximum d'un rhizome à l'autre (Fig. 3). Cette distance est un des paramètres de réussite de la survie des boutures. En effet la plante a un comportement grégaire, les boutures ont tendance à coloniser le substrat en se rapprochant les unes des autres. Ainsi on peut espérer une survie supérieure à 75% avec l'apparition de nouvelles ramifications sur la totalité des boutures (Molenaar & Meinesz, 1995).

Les études ont montré que la disposition des boutures en cercles avec les faisceaux de feuilles vers l'extérieur ou vers l'intérieur ou bien une disposition des boutures tête-bêche n'a aucune incidence sur leur survie et leur développement (Molenaar, 1992 ; Meinesz *et al.*, 1993 ; Molenaar & Meinesz, 1995). Aussi une réimplantation en lignes est plus facile à mettre en œuvre. Cette disposition est également plus judicieuse pour la phase de suivi des boutures dans le temps et pour les différents prélèvements expérimentaux. Les rangées de boutures devront être espacées de 20cm (Fig. 3).

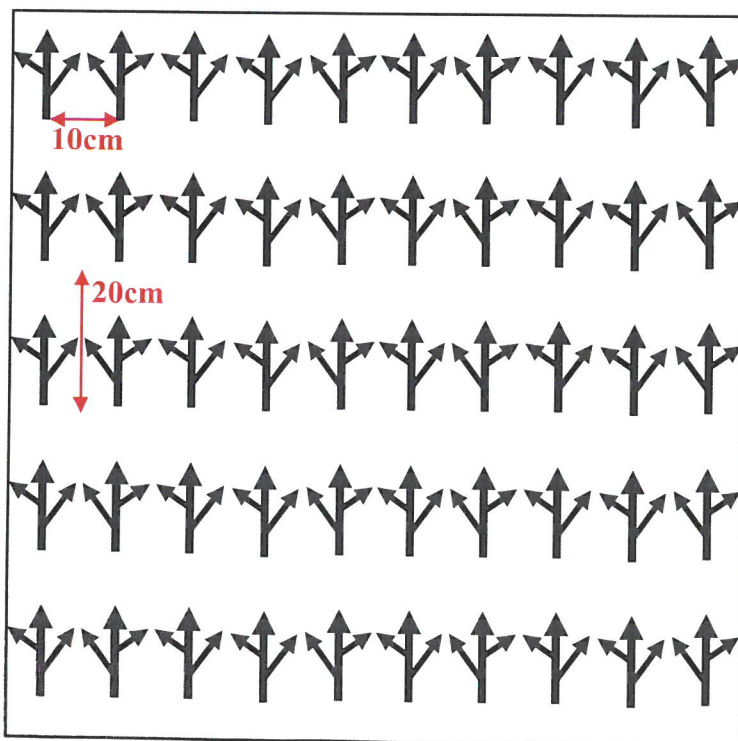


Figure 3 : Exemple de transplantation de 50 boutures par mètre carré. Les boutures sont espacées de 10cm et les rangées sont espacées de 20cm.

Comme vu précédemment, chaque bouture présente 3 ou 4 faisceaux foliaires (1 terminal et 2 ou 3 latéraux), ce qui donne une densité de transplantation de 150 à 200 faisceaux foliaires par mètre carré.

La transplantation par mètre carré n'a pas obligatoirement besoin d'être effectuée en continu. En effet, il peut être envisagé de faire des îlots (Fig. 4) avec chaque îlot espacé du suivant de 1 mètre. Dans le cadre

expérimental envisagé pour comprendre une éventuelle adaptation de la Posidonie aux variations du niveau marin, 5 répliquas doivent être réalisés pour deux profondeurs testées :

* Un lot de 250 boutures sera prélevé entre 1 et 5m de profondeur pour être transplantées entre 10 et 15m de profondeur sous forme de 5 lots de 50 boutures (Fig. 4). Les variations 1-5m et 10-15m dépendront des sites de prélèvement choisi pour les expériences. En effet sur les côtes françaises il est rare de trouver des herbiers de Posidonie au dessus d'une profondeur de 4-5m. Un lot de 250 boutures témoin sera prélevé entre 10 et 15m et replanté à la même profondeur.

* Un lot de 250 boutures sera prélevé entre 10 et 15m pour être transplantées entre 1 et 5m sous forme de 5 lots de 50 boutures. Là aussi ces variations dépendront des sites choisis pour l'expérience. Un lot de 250 boutures témoin sera prélevé entre 1 et 5m et sera replanté à la même profondeur.

Ainsi, 4 lots de 250 boutures chacun seront transplantés au total, soit 1 000 boutures.

Les îlots seront étiquetés pour les retrouver plus aisément lors des campagnes de suivi et de prélèvement expérimental.

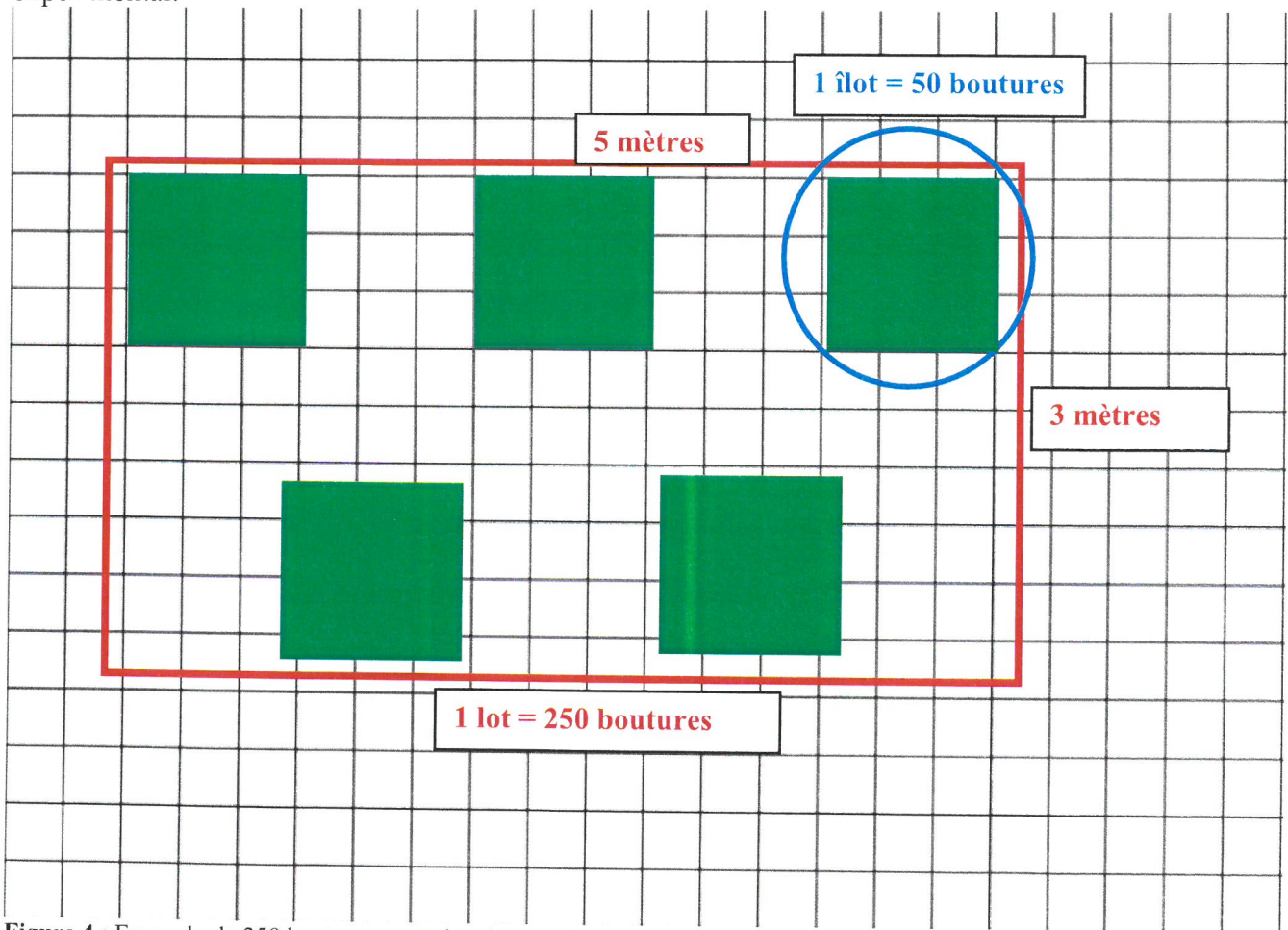


Figure 4 : Exemple de 250 boutures transplantées par îlots de 50 boutures sur une surface de 15 m².

III- d- Rendement

Les boutures doivent être prélevées le matin dans l'herbier « donneur », puis fixées à terre sur leur tuteur le plus rapidement après leur récolte et enfin réimplantées dans le site « receveur » le même jour.

Un plongeur formé à la récolte, à la fixation et à la réimplantation est capable de prélever 100 à 150 boutures en une plongée de 70 minutes, de les fixer sur leur tuteur en 90 minutes (1h30) et de les réimplanter en une plongée de 70 minutes.

En considérant l'exemple ci-dessus (Fig. 4), **2 plongeurs travaillant simultanément peuvent transplantés 250 boutures en une journée (2 plongées et 1h30 de fixation à terre).**

Pour mettre en place une expérience testant les 2 « échanges » de profondeurs avec les expériences témoin, soit 1 000 boutures au total, 4 jours seront nécessaires avec 2 plongeurs dans l'eau, un plongeur en sécurité en surface qui pourra aider à la fixation à terre des boutures.

IV- Calendrier

Les Posidonies fonctionnent selon une horloge biologique qui déclenche la formation des axes latéraux à deux saisons préférentielles : au printemps et en automne (Molenaar *et al.*, 2000). Les meilleures saisons de transplantation de boutures sont donc juste avant ou pendant le printemps et pendant l'automne (Meinesz *et al.*, 1992).

Au printemps les rhizomes à croissance plagiotrope présentent des rameaux nés à l'automne précédent et préparent leurs rameaux suivants. Ainsi, lorsqu'on prélève des boutures à 3 faisceaux foliaires au printemps, en réalité elles présentent déjà deux nouveaux rameaux (non encore visibles) qui deviendront visibles à l'automne suivant. Ces deux rameaux apparaîtront rapidement sur les boutures fraîchement transplantées. Si on les transpose en automne, les deux rameaux latéraux seront ceux du printemps précédent et deux nouveaux rameaux se prépareront et pourront donc se développer rapidement sur les boutures après leur transplantation. La probabilité de ramification est cependant plus élevée au printemps qu'en automne (Molenaar *et al.*, 2000), **il est donc toujours préférable de transplanter avant et pendant le printemps.**

V- Impact sur le milieu marin

V- a- Ancrage :

Le bateau n'effectue pas d'ancrage lors de la campagne de bouturage. En effet, pour le prélèvement des boutures, les plongeurs sont largués depuis l'embarcation avec leurs bouées de sécurité et le bateau reste au dessus à proximité. Le plongeur de sécurité resté à bord pourra récupérer plus facilement les filets remplis de boutures au fur et à mesure de la récolte.

Lors de la réimplantation des boutures dans les zones prévues, les plongeurs sont largués depuis l'embarcation sur le site de transplantation. Les boutures sont descendues dans les contenants et le bateau reste en navigation à proximité. Cela permet de descendre les boutures dans les contenants au fur et à mesure de la transplantation.

V- b- Turbidité :

Lors du prélèvement des boutures, celles-ci étant cueillies manuellement par les plongeurs formés à cette collecte, aucun impact de turbidité ne sera engendré à grande échelle. Seul un peu de sédiment sera soulevé à chaque bouture soigneusement prélevée.

Lors de la réimplantation des boutures, seul le tuteur de fixation sera enfoncé dans le substrat. Aucun soulèvement de sédiments ne sera à craindre car il n'y aura pas de technique de pré-trous, les tuteurs seront directement enfoncés dans le substrat.

VI- Suivi et prélèvements expérimentaux des boutures

Le suivi dans le temps des boutures transplantées sera effectué en même temps que les prélèvements pour la photobiologie. Le suivi consistera à vérifier si chaque bouture présente toujours ses 3 faisceaux foliaires bien vivants. Pour la photobiologie, entre 2 et 5 boutures devront être prélevées dans chaque îlot de 50 boutures, tous les mois pendant les 3 premiers mois de transplantation puis tous les deux mois.

II- Références bibliographiques citées dans le texte

- 1- MEINESZ A., CAYE G., LOQUES F. & MOLENAAR H., 1991. Growth and development in culture of orthotropic rhizomes of *Posidonia oceanica*. Aquatic Botany, 39 : 367-377.
- 2- MOLENAAR H., 1992. Etude de la transplantation de boutures de *Posidonia oceanica* (L.) Delile, phanérogames marines. Modélisation de l'architecture et du mode de croissance. Thèse de Doctorat des Sciences de la Vie, Univ. Nice-Sophia Antipolis, Fr. : 1-221.
- 3- MEINESZ A., MOLENAAR H., BELLONE E. & LOQUES F., 1992. Vegetative reproduction in *Posidonia oceanica*. I- Effects of rhizome length and transplantation season in orthotropic shoots. P.S.Z.N.I. : Marine Ecology, 13 (2) : 163-174.
- 4- MOLENAAR H. & MEINESZ A., 1992. Vegetative reproduction in *Posidonia oceanica*. II- Effects of depth changes on transplanted orthotropic shoots. P.S.Z.N.I. : Marine Ecology, 13 (2) : 175-185.
- 5- MEINESZ A., CAYE G., LOQUES F. & MOLENAAR H., 1993. Polymorphism and development of *Posidonia oceanica* transplanted from different parts of the Mediterranean into the National Park of Port-Cros. Botanica Marina, 36 (3) : 209-216.
- 6- MOLENAAR H., MEINESZ A. & CAYE G., 1993. Vegetative reproduction in *Posidonia oceanica*. Survival and development in different morphological types of transplanted cuttings. Botanica Marina, 36 (6) : 481-488.
- 7- MEINESZ A., MOLENAAR H. & CAYE G., 1993. Transplantations de phanérogames marines en Méditerranée. Bolletino di Oceanologia Teoretica ed Applicata, vol. XI, 3-4 : 183-190.
- 8- MOLENAAR H. & MEINESZ A., 1995. Vegetative reproduction in *Posidonia oceanica*. Survival and development of transplanted cuttings according to different spacings, arrangements and substrates. Botanica Marina, 38 : 313-322.
- 9- MOLENAAR H., BARTHELEMY D., REFFYE de P., MEINESZ A. & MIALET I., 2000. Modelling architecture and growth pattern of *Posidonia oceanica*. Aquatic Botany, 66 : 85-99.

