



COMMISSION DES RESSOURCES GÉNÉTIQUES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE

Point 4.1 de l'ordre du jour provisoire

GROUPE DE TRAVAIL TECHNIQUE INTERGOUVERNEMENTAL SUR LES RESSOURCES PHYTOGÉNÉTIQUES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE

Neuvième session

Rome, 18-20 avril 2023

MISE EN ŒUVRE DES NORMES APPLICABLES AUX BANQUES DE GÈNES INTÉRESSANT LES RESSOURCES PHYTOGÉNÉTIQUES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE

TABLE DES MATIÈRES

	Paragraphe
I. Introduction	1-3
II. Contexte	4-7
III. Composantes principales du guide pratique de la conservation en banque de gènes des espèces produisant des semences récalcitrantes et du guide pratique de la cryoconservation	8-13
IV. Consultation d'experts	14
V. Suite que le Groupe de travail est invité à donner	15
<i>Annexe 1</i> : Avant-projet du guide pratique de la conservation en banque de gènes des espèces produisant des semences récalcitrantes	
<i>Annexe 2</i> : Avant-projet du guide pratique de la cryoconservation	

I. INTRODUCTION

1. La Commission des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture (ci-après «la Commission»), à sa 14^e session ordinaire, a approuvé les Normes applicables aux banques de gènes intéressant les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture¹ (ci-après «les Normes applicables aux banques de gènes»), élaborées conformément aux orientations données par la Commission². Les Normes applicables aux banques de gènes donnent des indications sur la conservation des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture (RPGAA) *ex situ*, dans des banques de semences, dans des banques de gènes sur le terrain, dans des cultures *in vitro* et par cryoconservation.

2. À sa 17^e session ordinaire, la Commission a demandé à la FAO d'élaborer des guides pratiques sur l'utilisation des Normes applicables aux banques de gènes³. À sa 18^e session ordinaire, elle a pris note de trois guides pratiques pour la mise en œuvre des Normes applicables aux banques de gènes et a demandé à la FAO de les achever et de les diffuser. La Commission a également demandé à la FAO d'élaborer d'autres guides pratiques sur la conservation en banque de gènes des espèces produisant des semences récalcitrantes et sur la cryoconservation⁴.

3. Le présent document fournit des informations actualisées relatives à l'achèvement des trois guides pratiques présentés à la dernière session de la Commission et propose les grandes lignes des deux autres guides pratiques sur la mise en œuvre des Normes applicables aux banques de gènes.

II. CONTEXTE

4. Les Normes applicables aux banques de gènes constituent la référence actuelle pour définir les meilleures pratiques scientifiques et techniques et tiennent compte des principaux instruments internationaux de politique en matière de conservation *ex situ* et d'utilisation des RPGAA. Elles constituent un outil important pour la mise en œuvre du deuxième Plan d'action mondial pour les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture⁵, qui est un élément d'appui du Traité international sur les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture⁶. Les Normes applicables aux banques de gènes encouragent la gestion active des banques de gènes, reconnaissant que les nombreuses banques de gènes dans le monde diffèrent grandement de par les espèces et la taille de leurs collections, ainsi que les ressources humaines et financières dont elles disposent.

5. En raison de capacités limitées et d'infrastructures insuffisantes, de nombreux pays ont des difficultés à assurer une conservation à long terme sûre des RPGAA. Les guides pratiques ont pour but de présenter les informations pertinentes contenues dans les Normes applicables aux banques de gènes en détaillant les différentes étapes à suivre dans le cadre des opérations menées dans les banques de gènes. Les guides pratiques visent à favoriser la mise en œuvre plus généralisée des Normes applicables aux banques de gènes et contribuent à la mise en place d'un système de conservation *ex situ* efficace et pérenne.

¹ FAO. 2014. *Normes applicables aux banques de gènes intéressant les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture* Rome. <http://www.fao.org/3/a-i3704f.pdf>.

² CGRFA-14/13/Report, paragraphe 102.

³ CGRFA-17/19/Report, paragraphe 65.

⁴ CGRFA-18/21/Report, paragraphe 100.

⁵ FAO. 2011. *Deuxième Plan d'action mondial pour les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture*. Rome. <https://www.fao.org/3/i2624f/i2624f00.pdf>.

⁶ <http://www.fao.org/plant-treaty/fr/>.

6. À la demande de la Commission⁷, à ce jour, la FAO a mis au point la version définitive de trois guides pratiques, destinés à compléter les Normes applicables aux banques de gènes:

- *Practical guide for the application of the Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture: Conservation of orthodox seeds in seed genebanks*⁸ (Guide pratique pour la mise en œuvre des Normes applicables aux banques de gènes intéressant les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture: conservation des semences orthodoxes dans des banques de gènes de semences);
- *Practical guide for the application of the Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture: Conservation in field genebanks*⁹ (Guide pratique pour la mise en œuvre des Normes applicables aux banques de gènes intéressant les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture: conservation dans des banques de gènes sur le terrain);
- *Practical guide for the application of the Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture: Conservation via in vitro culture*¹⁰ (Guide pratique pour la mise en œuvre des Normes applicables aux banques de gènes intéressant les ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture: conservation par culture *in vitro*).

7. Pour l'instant, les guides pratiques ont été publiés en anglais uniquement. Cependant, des ressources extrabudgétaires ont été obtenues pour une traduction en français. La FAO recherche activement un appui en nature ou des ressources extrabudgétaires afin de mettre les guides pratiques à disposition dans toutes les langues officielles de Nations Unies.

III. COMPOSANTES PRINCIPALES DU GUIDE PRATIQUE DE LA CONSERVATION EN BANQUE DE GÈNES DES ESPÈCES PRODUISANT DES SEMENCES RÉCALCITRANTES ET DU GUIDE PRATIQUE DE LA CRYOCONSERVATION

8. Les semences qui ne résistent pas à la dessiccation ou à la congélation, qui sont les processus habituels d'entreposage du germoplasme en banque de gènes de semences, sont appelées semences non orthodoxes ou récalcitrantes. Les semences récalcitrantes requièrent une manipulation particulière à court terme. La cryoconservation est une technique de conservation à long terme de matériels biologiques, y compris des espèces produisant des semences récalcitrantes, à des températures extrêmement basses qui stoppent les processus biochimiques et la plupart des processus physiques.

9. Un grand nombre de cultures de plantation, d'arbres fruitiers et d'espèces d'agroforesterie importantes à l'échelle mondiale produisent des semences récalcitrantes. La conservation *ex situ* de ces espèces requiert des connaissances et des techniques spécialisées permettant d'assurer l'entreposage à court terme sous hydratation le temps de la préparation à la plantation dans des banques de gènes sur le terrain, à la mise en culture *in vitro* ou à la cryoconservation. La conservation de ces espèces à long terme dans des banques de gènes sur le terrain ou par culture *in vitro* pose encore plus de difficultés. À cet égard, la cryoconservation revêt une importance croissante en tant que stratégie économique de conservation à long terme des RPGAA, en particulier pour les espèces qui:

⁷ CGRFA-17/19/Report, paragraphe 65.

⁸ FAO. 2022. *Practical guide for the application of the Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture: Conservation of orthodox seeds in seed genebanks*. Commission des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc0021en>.

⁹ FAO. 2022. *Practical guide for the application of the Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture: Conservation in field genebanks*. Commission des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc0023en>.

¹⁰ FAO. 2022. *Practical guide for the application of the Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture: Conservation via in vitro culture*. Commission des ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc0025en>.

produisent des semences récalcitrantes, ont des cycles de reproduction exceptionnellement longs ou ne peuvent se reproduire que végétativement.

10. L'élaboration de guides pratiques à l'appui de la conservation des espèces à semences récalcitrantes et de la cryoconservation atteste l'importance croissante de ces approches de conservation. Les avant-projets proposés sont fournis aux annexes I et II du présent document aux fins de leur examen par le Groupe de travail.

11. Les nouveaux guides pratiques seront en harmonie avec les trois guides publiés et leur structure sera alignée sur le chapitre 6 des Normes applicables aux banques de gènes. Les guides comporteront une section introductive donnant un bref aperçu de la conservation des espèces produisant des semences récalcitrantes et de la cryoconservation, respectivement. Cette section comprendra un tableau résumant les principes fondamentaux de la gestion des banques de gènes¹¹ et le fonctionnement correspondant de la banque de gènes, ainsi qu'un diagramme présentant les différentes étapes que subit le germoplasme avec la méthode de conservation concernée.

12. Les sections principales des deux guides pratiques donneront des indications générales sur les étapes à suivre et les décisions à prendre dans le cadre des méthodes de conservation respectives, notamment les activités clés présentées dans les Normes applicables aux banques de gènes. Une autre section donnera une vue d'ensemble de l'infrastructure et le matériel de base nécessaires. Les guides fourniront aussi des sources d'information importantes et des références. Le guide pratique sur les espèces produisant des semences récalcitrantes porte essentiellement sur la préservation de celles-ci à court terme et les étapes à suivre pour préparer les propagules à une conservation à long terme sur le terrain, *in vitro* ou par cryoconservation. Ce guide est prévu pour une utilisation en complément des autres guides pertinents.

13. Chaque guide pratique comportera une annexe portant sur les risques associés à chaque activité et les moyens de les atténuer.

IV. CONSULTATION D'EXPERTS

14. Une consultation d'experts sera menée au cours du second semestre de 2023 afin d'examiner et de débattre du contenu des deux guides pratiques proposés. La consultation sera menée auprès d'experts en physiologie des semences, en conservation des espèces de semences récalcitrantes et en cryoconservation.

V. SUITE QUE LE GROUPE DE TRAVAIL EST INVITÉ À DONNER

4. Le Groupe de travail souhaitera peut-être:

- recommander que la Commission prenne note de l'achèvement et de la publication des trois guides pratiques publiés par la FAO en 2022;
- recommander que la Commission demande à la FAO de diffuser les guides pratiques dans toutes les langues des Nations Unies et d'enjoindre les donateurs de fournir les fonds nécessaires à cet effet;
- examiner l'avant-projet du guide pratique de la conservation en banque de gènes des espèces produisant des semences récalcitrantes et l'avant-projet du guide pratique de la cryoconservation, et recommander que la Commission demande à la FAO de prendre en considération les observations et contributions du Groupe de travail dans l'élaboration de ces guides pratiques;

¹¹ Les principes fondamentaux de la gestion des banques de gènes sont les suivants: identification des accessions; préservation de la viabilité; préservation de l'intégrité génétique lors de l'entreposage et de la régénération; préservation de la santé du germoplasme; sécurité physique des collections; disponibilité, distribution et utilisation du germoplasme; disponibilité des informations; gestion volontariste.

-
- recommander que la Commission invite la FAO à organiser une consultation d'experts en ligne sur les projets de guide pratique et élabore plus avant ces derniers sur la base des observations reçues du Groupe de travail, de la Commission et de la consultation d'experts, aux fins de leur examen par le Groupe de travail à sa prochaine session.

Annexe 1: Avant-projet du guide pratique de la conservation en banque de gènes des espèces produisant des semences récalcitrantes

1. Introduction

- Introduction générale à la récalcitrance et à la biologie de l'entreposage des semences
- Aspects généraux de l'écologie des espèces à semences récalcitrantes
- Principales espèces de RPGAA produisant des semences récalcitrantes
- Possibilités de conservation à long terme des espèces à semences récalcitrantes

2. Acquisition du germoplasme

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés, mais sera modifiée pour ce qui concerne les activités relatives à l'acquisition d'espèces à semences récalcitrantes.

2.1 Germoplasme acquis dans le cadre de missions de collecte

- Accent mis sur la collecte, la manipulation et le transport des espèces à semences de grande taille ou des fruits mûrs
- Inclusion des politiques et procédures relatives à la collecte d'espèces sauvages
- Références croisées aux trois guides pratiques publiés, pour éviter les doubles emplois.

2.2 Germoplasme acquis par transfert ou don

3. Tests de comportement non orthodoxe et évaluation de la teneur en eau, de la vigueur et de la viabilité

- Utilisation des outils de prédiction et de modélisation disponibles
 - Corrélations écologiques et modèles prédictifs du comportement récalcitrant
 - Modélisation des populations pour caractériser le niveau de tolérance à la dessiccation
- Manipulation rapide des matériels dans des conditions contrôlées
 - Préparation des semences (par exemple, nettoyage pour enlever le tissu des fruits à chair tendre)
 - Réduction du risque de pré-germination, de contamination fongique, etc.
 - Entreposage à court terme dans des conditions d'humidité
- Méthodes directes de détermination de la tolérance des semences à la dessiccation
- Détermination de la teneur en eau
- Évaluation de la viabilité et de la vigueur des semences dans des conditions environnementales optimales

4. Entreposage à court terme sous hydratation des semences récalcitrantes

- Préservation de la santé du matériel génétique
 - Avantages/inconvénients de la désinfection de surface
- Détermination des conditions environnementales en fonction de l'espèce
 - Besoins en oxygène
 - Exigences en matière d'humidité
 - Exigences en matière de température
 - Besoins de conteneurs d'entreposage
- Pré-germination par entreposage à des températures non optimales pour la germination
- Surveillance régulière de la qualité des semences

5. Préparation des semences récalcitrantes / propagules à la conservation en banque de gènes

5.1 Banques de gènes sur le terrain

- Plantation de semences récalcitrantes issues de test de germination
- Plantation de semences récalcitrantes dès leur arrivée
- Plantation de semences récalcitrantes issues d'un entreposage à court terme sous hydratation
- Planification et mise en œuvre des banques de gènes sur le terrain
 - Des références croisées seront faites aux sections pertinentes du guide pratique sur la conservation en banque de gènes sur le terrain afin d'éviter les répétitions.

5.2 Culture *in vitro* et entreposage en croissance ralentie

- Germination de propagules de semences récalcitrantes pour obtenir des pousses apicales utilisées comme explants
 - Détermination des meilleures pratiques de germination
 - Produit dérivé des tests de germination
- Meilleures pratiques pour la mise en culture *in vitro*
 - Des références croisées seront faites aux sections pertinentes du guide pratique sur la conservation par culture *in vitro* afin d'éviter les répétitions.

5.3 Cryoconservation

- Isolation d'embryons ou d'axes à partir de semences récalcitrantes
- Meilleures pratiques pour la mise en cryoconservation
 - Des références croisées seront faites aux sections pertinentes du guide pratique sur la cryoconservation afin d'éviter les répétitions.

5.4 Conservation en banque du pollen

- Évaluation de la tolérance du pollen à la dessiccation
- Séparation du pollen bi- et tri-nucléé sur la base des difficultés de manipulation
- Évaluations de la viabilité du pollen
- Pollen tolérant à la dessiccation
- Emballage pour la conservation du pollen en banque
- Détermination de la température d'entreposage

6. Documents

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés et sera modifiée selon qu'il conviendra pour ce qui concerne les activités spécifiquement liées à la documentation des activités requises pour la conservation des espèces de semences récalcitrantes. Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation en banque de gènes sur le terrain, par culture *in vitro* et par cryoconservation afin d'éviter les répétitions.

7. Répartition

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés et sera modifiée pour ce qui concerne les activités spécifiquement liées à la répartition des semences récalcitrantes.

8. Personnel et sécurité

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés.

- 8.1 Personnel
- 8.2 Sécurité

9. Infrastructure et équipement

Cette section sera consacrée à l'infrastructure et à l'équipement nécessaires pour mener les activités spécifiquement liées à la conservation des espèces à semences récalcitrantes, en particulier l'entreposage à court terme sous hydratation. Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation en banque de gènes sur le terrain, par culture *in vitro* et par cryoconservation afin d'éviter les répétitions.

10. Références citées

11. Informations complémentaires

12. Annexe: Risques et mesures d'atténuation associées

L'annexe portera sur les risques inhérents aux activités spécifiquement liées à la conservation des espèces à semences récalcitrantes et les mesures d'atténuation associées. Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation en banque de gènes sur le terrain, par culture *in vitro* et par cryoconservation afin d'éviter les répétitions.

Matériel d'appui: Chaque section comportera un diagramme résumant les étapes et les activités liées à la section. Les sections ci-dessus seront assorties de tableaux et figures, selon les besoins.

Annexe 2: Avant-projet du guide pratique de la cryoconservation

1. Introduction

- Introduction générale à la cryoconservation et utilisation à des fins de conservation à long terme
- Espèces conservées par cryoconservation
 - Besoin de méthodes spécifiques des espèces
- Explants/propagules utilisés en cryoconservation
- Situation actuelle de la cryoconservation des RPGAA

2. Acquisition du germoplasme

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés et sera modifiée selon qu'il conviendra.

2.1 Germoplasme acquis dans le cadre de missions de collecte

2.2 Germoplasme acquis par transfert ou don

3. Évaluation de la teneur en eau, de la vigueur et de la viabilité

Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation des espèces à semences récalcitrantes afin d'éviter les doubles emplois.

- Maintenir la teneur en eau des propagules au niveau de récolte
 - Manipulation rapide des matériels dans des conditions contrôlées
 - Détermination de la teneur en eau de chaque propagule
- Détermination de la tolérance des semences orthodoxes et du pollen à la dessiccation avant cryoconservation
- Évaluation de la viabilité et de la vigueur des propagules dans des conditions environnementales optimales
- Évaluation de la capacité de régénération des propagules

4. Préparation des propagules à la mise en cryoconservation

Nombre de propagules à cryoconserver et à retirer aux fins de l'évaluation de la qualité. Compte tenu du niveau de régénération connu, suivant un protocole prédéterminé faisant appel à un modèle probabiliste.

4.1 Propagules pré-séchées

a. Semences orthodoxes

- Obtention d'une teneur en humidité optimale
- Emballage pour une utilisation à des températures extrêmement basses

b. Pollen

- Méthodes de traitement du pollen
- Équilibre de l'humidité relative à 50 pour cent
- Emballage

4.2 Propagules hydratées

- Réduction de la teneur en eau des propagules hydratées, comme les bourgeons dormants, les pousses apicales, les cultures cellulaires et les explants de semences récalcitrantes (embryons ou axes)
- Congélation contrôlée
 - Pré-conditionnement des pousses apicales encapsulées
 - Vitrification chimique des cellules de culture et encapsulation-vitrification

- Dessiccation sous congélation
- Refroidissement profond

5. Suivi de la viabilité pendant l'entreposage

Réchauffement de toutes les propagules retirées de l'entreposage à des rythmes appropriés pour réduire le plus possible le risque de cristallisation de la glace (propagules hydratées) ou limiter le stress lié à l'expansion (propagules séchées). Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des autres guides pratiques, selon les besoins.

5.1 Propagules pré-séchées

A) Semences orthodoxes

- Détermination des intervalles de suivi
- Tests de germination sur la base de procédures optimisées et documentées

b) Pollen

- Détermination des intervalles de suivi
- Conditions optimales appliquées aux tests de viabilité du pollen
 - Utilisation de boîtes d'agar ou de la culture *in vitro* des espèces pour évaluer la production de longs tubes polliniques
 - Test de la qualité du pollen entreposé à l'aide d'un colorant vital (diacétate de fluorescéine, par exemple)
 - Fertilisation des fleurs (*in vivo*) pour évaluer les ensembles de semences suivants

5.2 Propagules hydratées

- Retrait des cryoprotecteurs
- Réchauffement des propagules au bain-marie et transfert dans une culture *in vitro*
- Ajustement des conditions environnementales de repousse pour permettre la récupération du matériel cultivé
- Greffe des bourgeons dormants sur un porte-greffe

6. Évaluation de la qualité après cryoconservation

- Évaluation de la qualité sur la base de la régénération de plantes entières (phénotype normal et conformité au type) à partir de toutes les propagules cryoconservées
- Évaluation de la qualité du pollen sur la base des résultats de la fertilisation *in vivo* et de la germination des semences produites
- Détermination de l'intégrité génétique
- Évaluation de la charge virale
- Évaluation du microbiome

7. Régénération

- La régénération des accessions est optimale lorsque la viabilité ou la quantité tombe en dessous des seuils correspondants.
- Replantation directe pour obtenir des semences
- Germination des semences pour obtenir des pousses apicales à partir des semis (exemple d'espèces d'arbres)
- Récupération à partir des banques de gènes sur le terrain ou de la culture *in vitro*

8. Caractérisation et évaluation

Ces activités seront menées sur le terrain / sous serre ou, pour certaines caractéristiques, lors de la culture *in vitro* / dans des conditions de croissance ralentie. Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation en banque de gènes de semences, en banque de gènes sur le terrain et par culture *in vitro* afin d'éviter les répétitions.

9. Documents

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés et sera modifiée selon qu'il conviendra pour ce qui concerne les activités spécifiquement liées à la documentation des activités requises pour la cryoconservation. Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation en banque de gènes de semences, en banque de gènes sur le terrain et par culture *in vitro* afin d'éviter les répétitions.

10. Répartition

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés et sera modifiée pour ce qui concerne les activités spécifiquement liées à la répartition des échantillons cryoconservés.

11. Duplication de sécurité

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés et sera modifiée pour ce qui concerne les activités spécifiquement liées à la duplication de sécurité des accessions cryoconservées. Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation en banque de gènes de semences, en banque de gènes sur le terrain et par culture *in vitro* afin d'éviter les répétitions.

12. Personnel et sécurité

Cette section fera l'objet d'une harmonisation avec les trois guides pratiques publiés.

- 12.1 Personnel
- 12.2 Sécurité

13. Infrastructure et équipement

Cette section sera consacrée à l'infrastructure et au matériel nécessaires pour mener les activités spécifiquement liées à la cryoconservation. Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation en banque de gènes de semences, en banque de gènes sur le terrain et par culture *in vitro* afin d'éviter les répétitions.

14. Références citées

15. Informations complémentaires

16. Annexe: Risques et mesures d'atténuation associées

L'annexe portera sur les risques inhérents aux activités spécifiquement liées à la cryoconservation et les mesures d'atténuation associées. Des références croisées seront faites aux sections pertinentes des guides pratiques sur la conservation en banque de gènes de semences, en banque de gènes sur le terrain et par culture *in vitro* afin d'éviter les répétitions.

Matériel d'appui: Chaque section comportera un diagramme résumant les étapes et les activités liées à la section. Les sections ci-dessus seront assorties de tableaux et figures, selon les besoins.