



SOP pour le prélèvement d'échantillons de plantes de luzerne à des fins d'analyse

N° de référence : Q364-0171

Berne, juillet 2023

Il est essentiel d'appliquer une méthode de prélèvement standardisée pour pouvoir comparer les résultats dans le cadre du monitoring national des plantes de luzerne génétiquement modifiées. Les présentes instructions contiennent un protocole de travail détaillé pour le prélèvement d'échantillons de luzerne.

Moment du prélèvement

Le meilleur moment pour l'échantillonnage est **pendant la floraison de juin à septembre**. La luzerne peut alors être identifiée sans ambiguïté au moyen des fleurs. Le cas échéant, elle peut aussi l'être à l'aide de ses fruits (graines).

Matériel par échantillon

- **Prélever si possible une jeune feuille** (donc à trois folioles, d'une taille totale d'au moins 2,5 x 2,5 cm) par plante (cf. [Annexe 1](#), « Identification de la luzerne »)
- Prélever **toute la plante** pour les spécimens de très petite taille ou les plantules (sans terre)

En cas d'incertitude quant à l'espèce, prélever **toute la plante** avec (le cas échéant) **les fleurs** et/ou **les fruits**, pour faciliter son identification ultérieure.

Conditionnement des échantillons et saisie des données

-  Poser les échantillons dans des **sachets refermables en plastique (Minigrip)** et inscrire **distinctement le nom de l'échantillon**.
- La saisie des données sur le terrain se fait avec **l'application OGM** (www.ogm-monitoring.ch) sur le smartphone ou la tablette. Pour que les données puissent être saisies en ligne, il faut au préalable demander à l'OFEV un compte pour l'application (e-mail à contact.releases@bafu.admin.ch). Toutes les données peuvent être saisies directement dans le champ de l'application. Les noms des échantillons sont uniques et sont générés automatiquement par le système dès que l'échantillonnage est lancé. Les noms des échantillons doivent également être inscrits sur les sacs en plastique.

Prélèvement d'échantillons sur le terrain

- **Site d'une densité ≤ 30 plantes / 4 m^2 (population diffuse) :**

- **Prélever du matériel sur chaque plante.**
- Le matériel prélevé peut être regroupé dans des **échantillons composites** comptant 10 échantillons au maximum par sachet (**une** feuille par plante).

Règle générale : il est possible de regrouper dans un même échantillon composite le matériel prélevé sur les plantes poussant sur une surface de $10 \times 10 \text{ m}$. Si les plantes sont plus espacées, constituer des échantillons séparés (cf. échantillons composites 1, 2 et 3 ; **illustration 1**).

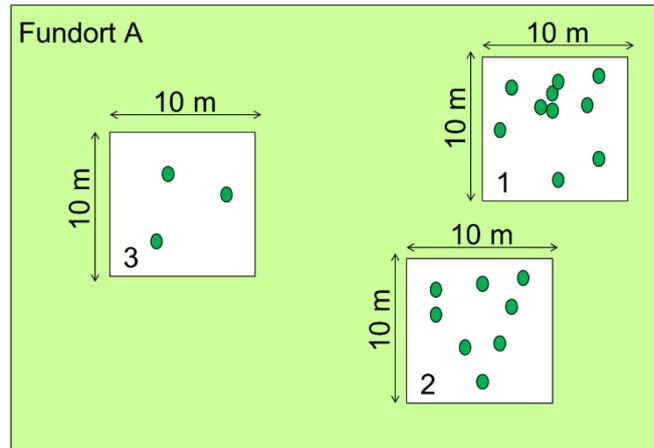


Illustration 1 : Les plantes poussant sur une surface de $10 \times 10 \text{ m}$ peuvent être regroupées dans un échantillon composite. Si elles sont plus espacées, il faut constituer des échantillons séparés (cf. échantillons 1, 2 et 3).

- **Site d'une densité > 30 plantes / 4 m^2 (population dense) :**

- Estimer le nombre total de plantes et le noter sur le formulaire de saisie.
- Effectuer des **prélèvements sur 20 % des plantes, mais sur dix plantes au moins**, et constituer des échantillons composites (cf. échantillon 4, **illustration 2**).

La transition entre les sites à faible densité et ceux à forte densité de plantes est progressive. Si, à côté d'un site à forte densité, se trouvent d'autres plantes de luzerne en densité plus faible, le matériel prélevé sur ces plantes est regroupé dans un autre échantillon (cf. échantillon 4, **illustration 2**).

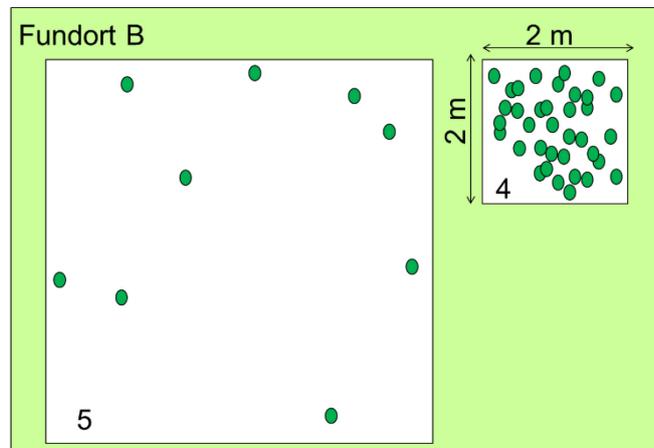


Illustration 2 : En cas de densité > 30 plantes / 4 m^2 , estimer et noter le nombre total de plantes et effectuer des prélèvements sur 20 % des plantes, mais sur dix plantes au moins, et constituer des échantillons composites (cf. échantillon 4, 40 plantes au total, prélèvements sur dix plantes). Si d'autres plantes de luzerne se trouvent sur le site, mais en densité plus faible, le matériel prélevé sur ces plantes est regroupé dans un autre échantillon composite (cf. échantillon 5).

- **Terrain privé :**

Lorsque des échantillons sont prélevés sur des terrains privés (p. ex. des terrains d'entreprises), le canton concerné doit être impérativement informé à l'avance, et le propriétaire foncier doit avoir donné son consentement.

Transport et stockage

- **Transport :**

- Déposer les échantillons **dans des sachets en plastique**.
- Stocker les échantillons **dans un sac isotherme** si les températures sont élevées ou s'il s'écoule plus de quatre heures entre le moment du prélèvement et le moment où les sachets sont entreposés au réfrigérateur (ne pas les poser directement sur les éléments réfrigérants pour éviter qu'ils gèlent).

- **Stockage :**

- Les échantillons **peuvent se conserver cinq à sept jours au réfrigérateur** avant d'être analysés.
- S'ils ne peuvent pas être traités dans ce délai (extraction d'ADN, test Quickstix), il faut les congeler.
- Des **échantillons de réserve** doivent être constitués **pour l'ensemble du matériel analysé** afin de pouvoir refaire les analyses. Ils doivent être **annotés clairement**, puis congelés. Il faut veiller à ce que les feuilles congelées ne soient pas abîmées, sinon il n'est plus possible de déterminer avec précision combien de plantes de luzerne GM sont contenues dans les échantillons composites.

Envoi des échantillons

- Les échantillons frais ou congelés peuvent être **envoyés par la poste dans un emballage isolant (boîte en polystyrène, sac isotherme) avec des éléments réfrigérants** à condition que les échantillons soient livrés dans les 24 heures (ne pas placer les échantillons sur les éléments réfrigérants pour éviter qu'ils gèlent).
- Les sachets en plastique contenant les échantillons doivent être étanches pour éviter tout écoulement de liquide.
- Il faut absolument veiller à ce que les feuilles congelées contenues dans un échantillon composite restent intactes.

Annexe 1

Identification de la luzerne

Introduction

La plante connue en Suisse sous le nom de luzerne est la **luzerne cultivée (*Medicago sativa*, Alfalfa)**, provenant à l'origine du sud-ouest de l'Asie. Elle est cultivée presque exclusivement pour produire du fourrage¹ (souvent dans des mélanges comportant différentes sortes de trèfle et de l'herbe) et en tant que fixateur d'azote dans le cadre de la rotation des cultures. La période de récolte est fonction de la teneur en protéines souhaitée (récolte précoce : teneur élevée en protéines mais rendement inférieur ; récolte tardive : teneur faible en protéines mais rendement supérieur). En Suisse, la luzerne est exploitée jusqu'à quatre fois par an. La plante cultivée peut revenir à l'état sauvage, c'est pourquoi elle est si largement répandue.

Une autre variété de luzerne pousse naturellement sous nos latitudes : la **luzerne jaune (*Medicago falcata*)**. *M. falcata* et *M. sativa* sont très similaires, à part la couleur des fleurs, qui est jaune dans le cas de *M. falcata* et bleuâtre à violette dans celui de *M. sativa*. Les deux espèces produisent souvent des hybrides (*M. sativa* x *falcata* ou *M. varia*, appelée luzerne bigarrée ou luzerne bâtarde). Sur les sites comportant les deux espèces, on trouve même davantage d'hybrides que d'individus purs de *M. falcata*. *M. varia* est elle aussi cultivée comme fourrage. Les différents hybrides disponibles se distinguent notamment par la proportion dans laquelle les espèces parentales ont contribué à la composition de leur génome.

L'espèce indigène (*M. falcata*) et les espèces échappées de cultures (*M. sativa* et *M. varia*) colonisent les milieux rudéraux comme les bords de chemins ou les talus, ainsi que les pelouses sèches² (*M. falcata* et *M. varia*) ou les pelouses mi-sèches (*M. sativa* et *M. varia*).

Caractéristiques botaniques de la luzerne cultivée³

La luzerne cultivée présente les caractéristiques suivantes (cf. illustrations 3 et 4) :

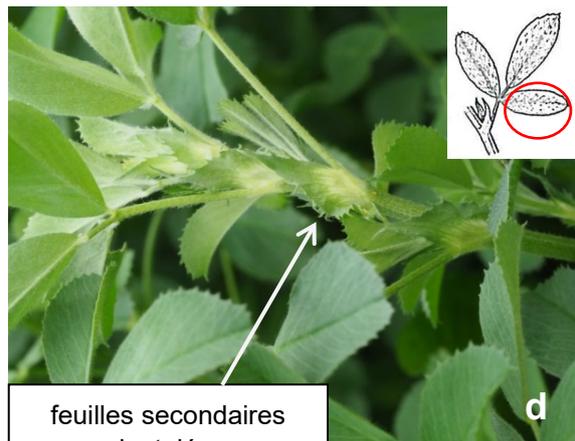
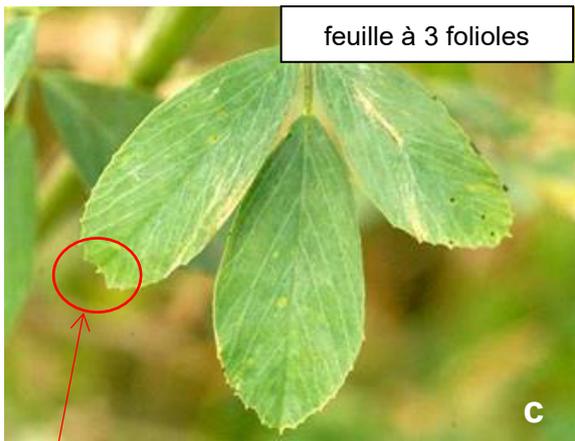
- **Plante** : 30-90 cm de hauteur, dressée. La tige est dressée, rameuse et souvent légèrement pubescente.
- **Feuilles** : **alternes, à 3 folioles, avec foliole médiane pétiolulée**, jusqu'à 3 cm de longueur, sommet arrondis ou tronqués à dents aigües (cf. illustration 3c).
- Les folioles sont obovales, dentées et mucronées, vert sombre en dessus, gris-vert et pubescentes de poils fins appliqués en dessous. La nervure médiane des folioles se termine en pointe. La foliole médiane est pétiolulée. Les folioles latérales sont longuement acuminées et dentées (cf. illustration 3d).
- **Fleurs** : **du bleu clair ou foncé jusqu'au violet**, en grappes terminales serrées de 5 à 25 fleurs, à symétrie bilatérale (fleurs papilionacées), de 8 à 11 mm de longueur chacune (cf. illustrations 3a et 3b).
- **Fruits** : **gousses enroulées en 1,5 à 3 spirales**, d'un diamètre de 4 à 6 mm (cf. illustration 3f).

¹ Une quantité relativement très faible est plantée afin de produire des pousses.

² Définition des pelouses sèches et mi-sèches : cf. <https://www.infoflora.ch/fr/>

³ Sources : <https://www.infoflora.ch/fr/> ou Flora Helvetica (Konrad Lauber / Gerhart Wagner, Haupt Verlag)

Illustration 3 : *M. sativa* (fleur [a, b], feuilles [c, d] et plantes entières sans fleur [e], fruit de *M. sativa x falcata* (luzerne bâtarde ; le fruit peut parfois avoir moins de tours de spires que celui de *M. sativa* [f])⁴

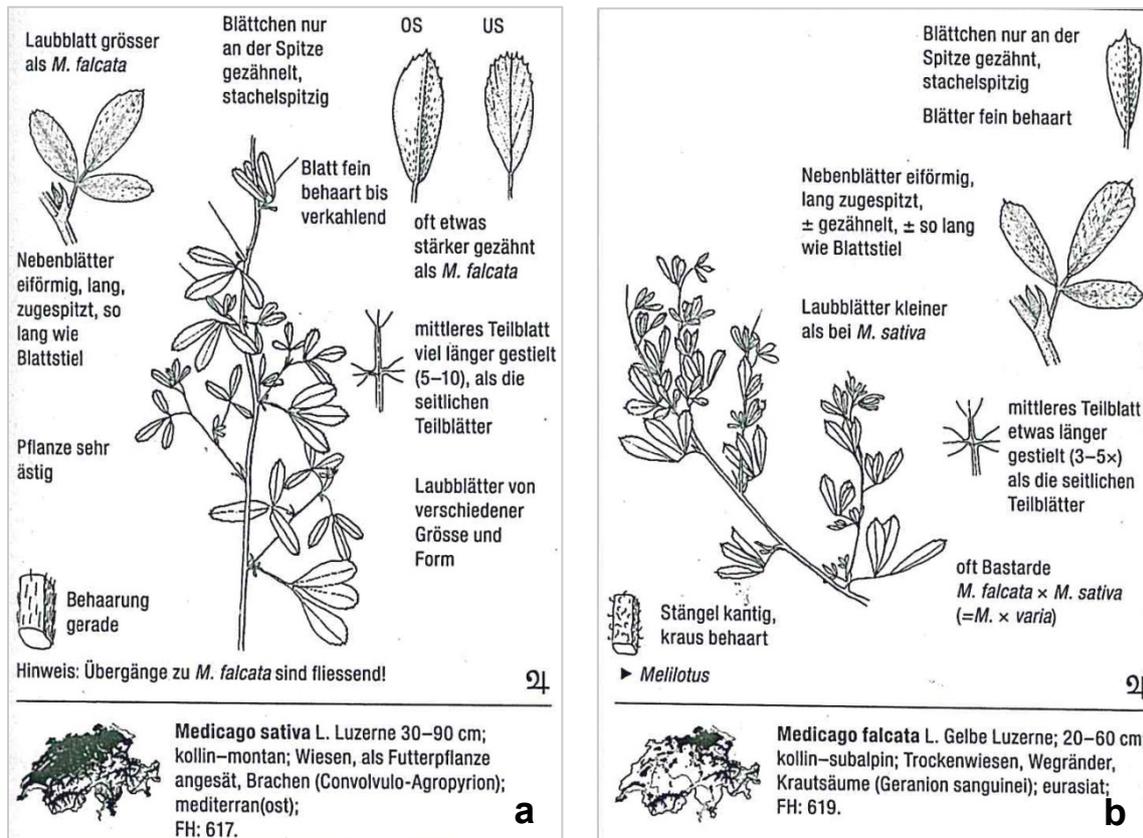


Particularité : dent minuscule dans un petit creux au milieu de la feuille (caractéristique permettant une différenciation par rapport aux espèces de trèfles ; voir ci-dessous)



⁴ Source : Josef Hartmann Projekte Naturschutz GmbH, Coire

Illustration 4 : Représentation schématique de *M. sativa* (a) et *M. falcata* (b) provenant de *Flora vegetativa* (Stefan Eggenberg / Adrian Möhl, Haupt Verlag)



Confusion avec des espèces apparentées

REMARQUE : Le prélèvement de quelques plantes identifiées de manière erronée comme étant de la luzerne cultivée ne pose aucun problème, car leur espèce peut être déterminée a posteriori avant l'analyse de la présence de transgènes dans le Laboratoire cantonal de Bâle-Ville, sur la base des feuilles et fleurs et/ou fruits disponibles. Au cas où cela ne serait pas possible en raison de l'insuffisance quantitative ou qualitative du matériel récolté, ces plantes seraient saisies comme étant négatives lors des analyses de la présence de transgènes. Elles fausseraient donc uniquement le nombre total d'échantillons ou le pourcentage de luzerne génétiquement modifiée sur un certain site. Mais l'évaluation quantitative du pourcentage de plantes génétiquement modifiées n'est pas judicieuse en règle générale, sauf si ce pourcentage est comparé sur plusieurs années sur le même site et si les échantillons individuels de plantes sont prélevés de manière très systématique.

Dans la pratique, la luzerne cultivée **en fleurs** peut être confondue uniquement avec l'espèce hybride *M. varia*. Cette dernière a des fleurs qui sont de couleur aussi bien bleue-violette que jaune, voire bicolores ; cf. [illustration 5](#)). La luzerne cultivée se distingue néanmoins clairement de *M. falcata* car ses fleurs sont d'une autre couleur (*M. sativa* du bleu au violet, *M. falcata* jaune). *M. varia*, par contre, a des caractéristiques qui varient entre toutes celles des deux espèces d'origine. Une certaine similitude existe également avec *Trigonella caerulea* (trigonelle bleue ; cf. [illustration 6](#)), dont les feuilles sont cependant d'une forme ovale beaucoup plus allongée, et dont la prolifération à l'état sauvage est très limitée (un site près du lac de Zurich).

Illustration 5 : Luzerne hybride ou bâtarde (*M. varia*) (fleurs de deux couleurs)



Illustration 6 : Trigonelle bleue (*Trigonella caerulea*)⁵



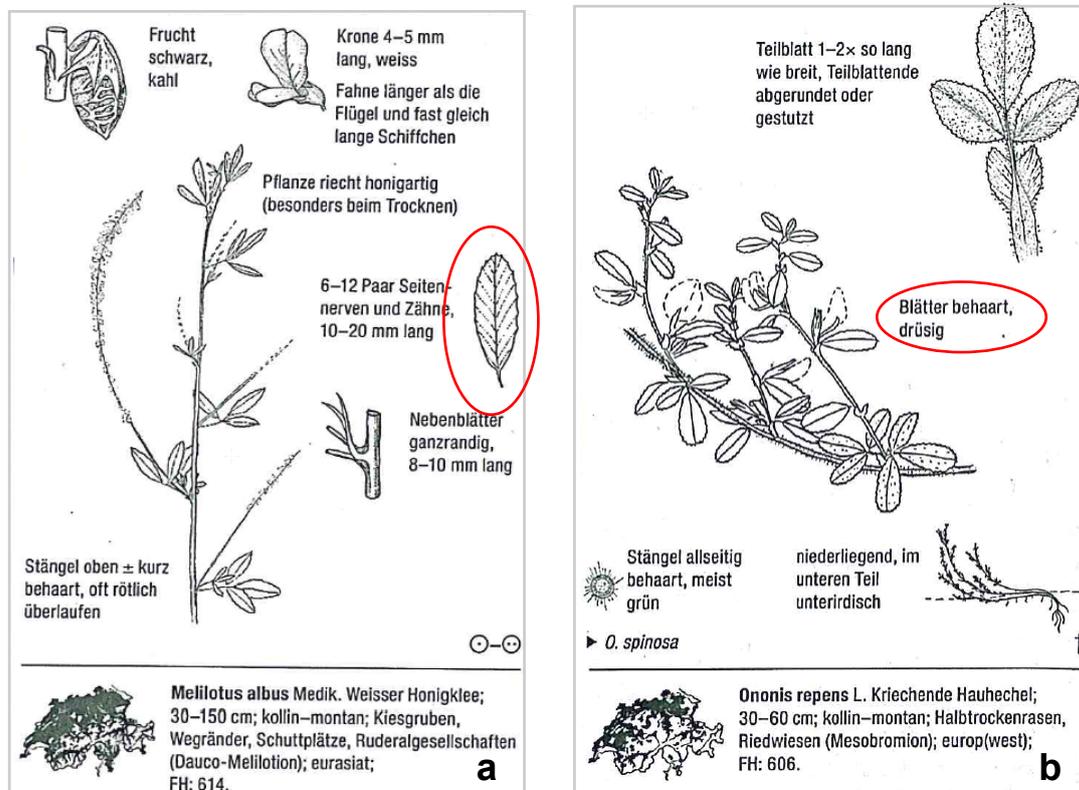
© K. Lauber - Flora Helvetica - Haupt Verlag

⁵ Source : Inflorea ou K. Lauer, Flora Helvetica (Haupt Verlag)

Sans fleurs ni fruits, la luzerne cultivée peut être confondue avec un bon nombre d'espèces de trèfle (*Trifolium* spp.), bugrane (*Ononis* spp.) ou mélilot (*Melilotus* spp.), ainsi qu'avec le lotier corniculé (*Lotus corniculatus*) ; tous ont en effet des feuilles à trois folioles. Les caractéristiques suivantes permettent de les différencier :

Espèces similaires	Caractéristique de différenciation	Caractéristique présente chez la luzerne cultivée
Lotier corniculé (<i>Lotus corniculatus</i>)	Folioles non dentées ; cinq folioles dont les deux folioles inférieures simulent des stipules (légèrement éloignées des trois folioles supérieures)	Folioles dentées ; trois folioles bien nettes
Différentes espèces de bugrane (<i>Ononis</i> spp.)	Présence de poils glanduleux (= collants !) ou d'épines	Pour la luzerne cultivée, absence de poils glanduleux ; jamais d'épines
Différentes espèces de mélilot (<i>Melilotus</i> spp.)	Folioles de forme allongée ovale ou linéaire et dentées tout autour	Folioles obovales, dentées seulement à la pointe
Différentes espèces de trèfle (<i>Trifolium</i> spp.)	Peuvent être dentées ou non ; absence de caractéristique spécifique de la luzerne cultivée ou sauvage	Minuscule dent à la pointe de la feuille, souvent dans un petit creux ⁶ .

Illustration 7 : Espèces qui, à l'état végétatif, peuvent être confondues avec la luzerne cultivée : *Melilotus albus* (a), *Ononis repens* (b) et *Trifolium dubium* (c) ; tiré de Flora vegetativa (Stefan Eggenberg / Adrian Möhl, Haupt Verlag)



⁶ Dans le cas de *M. sativa* et *M. falcata*