

Titre :	Problème de germination des graines de mélèze hybride (MEJ x MEE et MEE x MEJ)
Année d'exécution :	2001
Responsable :	Fabienne Colas
Collaboration :	<u>DRF</u> : Fernand Gosselin, Martin Perron, Gaston Lapointe <u>DPSP</u> : Donatien Lévesque, Jacques Grenier, Équipe CSFB

1- Problématique

Les tests de germination réalisés au Centre de semences forestières de Berthier (CSFB) sur les graines issus de croisements dirigés de mélèze 2000 présentent des taux de germination extrêmement faibles à une exception près.

L'obtention des graines de mélèze hybride nécessite des investissements importants, tant en main d'œuvre qu'en matériel (de la récolte de pollen à la récolte des cônes en fin de saison). Ces graines doivent notamment approvisionner le Centre de bouturage de Saint-Modeste afin de devenir les futurs pieds-mère de mélèze pour les productions de boutures.

L'absence de germination des lots de graines issus des croisements dirigés occasionne des problèmes importants d'approvisionnement en graines pour le Centre de bouturage, et nuit à la constitution de réserves pour le CSFB.

Les croisements 2000 sont des reprises de ceux déjà effectués en 1998. Ces lots ont été utilisés pour la production de pieds-mère à Saint-Modeste, et les taux de germination, bien que peu élevés, étaient typiques de lots de mélèze hybride (de 25 à 50 %). On ne peut donc pas retenir l'hypothèse de l'incompatibilité des croisements.

2- Qualité du pollen utilisé lors des croisements dirigés 2000

Les pollens utilisés ont été récoltés au printemps 2000 dans l'arboretum de Lotbinière. La méthode de récolte utilisée a été la pose de sacs en polyéthylène transparent sur des groupes de branches. Bien que nous n'ayons pas testé tous les pollens récoltés puisque certains lots ont été épuisés lors de la pollinisation, les lots analysés au laboratoire avaient une très bonne viabilité, leur teneur en eau était faible, ce qui est un autre facteur traduisant la qualité.

La façon de réaliser les croisements correspond à celle utilisée les années antérieures qui a déjà donné d'excellents résultats. Les fleurs ont été pollinisées lorsque les bractées étaient à 90° par rapport à l'axe du cône, stade défini comme idéal.

Les sacs de pollinisation sont restés 6 semaines sur les branches, ce qui me semble beaucoup. Une fois les fleurs fermées, la présence de sac fermé n'est plus indispensable. Il est préférable de les remplacer par des sacs *Tergal*, qui permettent une bonne respiration du feuillage et des fleurs. Mais si le sac est enlevé rapidement après la fermeture des fleurs, il faut être prudent car les fleurs peuvent être arrachées lors de la manipulation!

3- Examen de coupe de graines

Des analyses ont été réalisées avec des graines de mélèze hybride issues des croisements dirigés DPSP 2000 (point 3.1), avec des graines produites par des croisements dirigés à la DRF (équipe REP et AMG) (point 3.2)

3.1. Croisements dirigés 2000 DPSP

Une trentaine de graines provenant de chacun des 6 lots ayant un très faible taux de germination ont été observées à la suite de coupes transversales. En général, le test de coupe est utilisé pour mesurer la longueur embryonnaire chez des essences comme le pin blanc et les épinettes. C'est la première fois que nous utilisons ce test, chez le mélèze, pour observer le développement du mégagamétophyte et de l'embryon.

Le tableau suivant regroupe les résultats des analyses effectuées, accompagnés de brefs commentaires.

Données CSFB			Analyse DRF		
Croisement	Rayons X	% germination	Analyse des graines		Commentaire
1925 x 1388	?	0	11 pleines 16 vides	40 % pl.	Tégument dur pour les graines vides
1925 x 8865	93	8	27 pleines 1 vide	96 %pl.	Graines de taille moyenne
1929 x 1973	86	1	20 pleines 9 vides	69 % pl.	Majorité de grosses graines
1986 x 1973	81	4	16 pleines 9 vides	64 % pl.	2 grosseurs de graines.
1972 x 1563	86	0	18 pleines 10 vides	64 % pl.	Taille des graines à peu près uniforme
8871 x 1972	92	21	20 pleines 9 vides	69 % pl.	Graines de taille moyenne, lot homogène

Bien que nous ne puissions pas tirer de conclusion statistiquement valable, quel que soit le croisement, le résultat donné par l'analyse des rayons X surestime le taux de graines pleines, à une exception près.

Dans les différents lots, la taille des graines est variable. Globalement on retrouve plus de grosses graines que de petites. En faisant un tri sommaire avant d'effectuer les coupes, je me suis rendue compte que l'on retrouve plus de graines vides parmi les graines plus petites. Il est important de

préciser qu'il s'agit là d'une observation qui ne repose pas sur un très grand nombre de graines, et qu'il faudra faire d'autres analyses avant de tirer des conclusions définitives.

De façon générale, les graines sont assez dures à couper, et ont un tégument particulièrement épais. Ceci peut être une raison pour laquelle on observe de très faibles taux de germination.

Vous trouverez dans les pages suivantes, des images prises sur des coupes transversales de graines. J'ai choisi les images les plus représentatives des graines observées.

Sur l'image 1 on retrouve la coupe d'une graine que je qualifierais de *normale*, son tégument est facile à couper et l'embryon bien développé. Certes, on peut observer un certain décollement du mégagamétophyte par rapport au tégument, mais pour le moment je n'ai aucun outil pour dire si cela est normal ou non. L'image 2 présente une graine bien développée, mais son tégument est très épais, ce qui rend la graine très difficile à couper. On remarque aussi le décollement du mégagamétophyte.

L'image 4 est à mon point de vue la plus spectaculaire, en raison de l'épaisseur très importante du tégument. On peut observer que le mégagamétophyte est à peine développé. Il est difficile de conclure si c'est l'épaisseur du tégument qui a entraîné l'avortement ou bien si c'est l'avortement qui a permis l'épaississement considérable du tégument. L'épaisseur du tégument doit rendre la graine opaque aux rayons X et celle-ci doit être considérée comme pleine.

Les images 5 et 6 montrent des graines vides typiques. Le tégument est épais et on observe la présence d'un reste de mégagamétophyte.

Parmi les graines analysées, les graines vides correspondent en majorité aux graines similaires à celles présentées aux images 5 et 6, pour les graines pleines voir l'image 2.

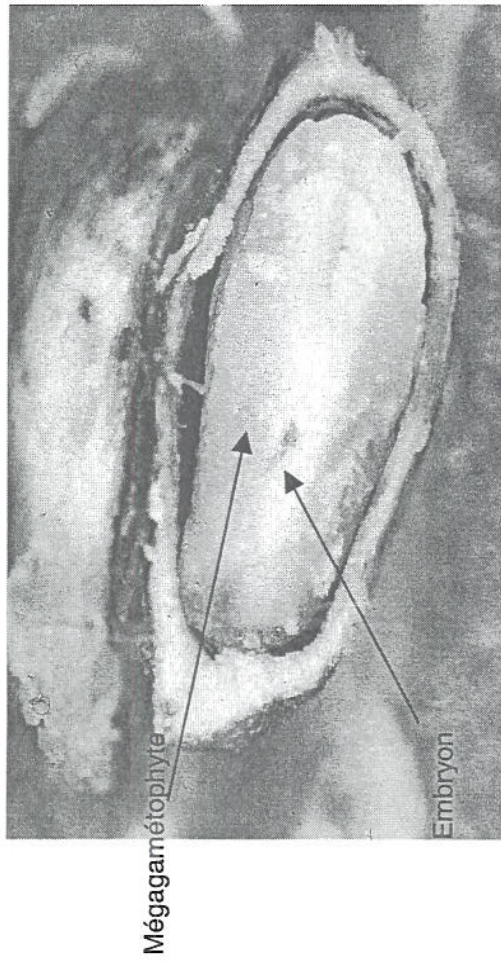


Image 1 : Graine pleine avec un tégument d'épaisseur normale

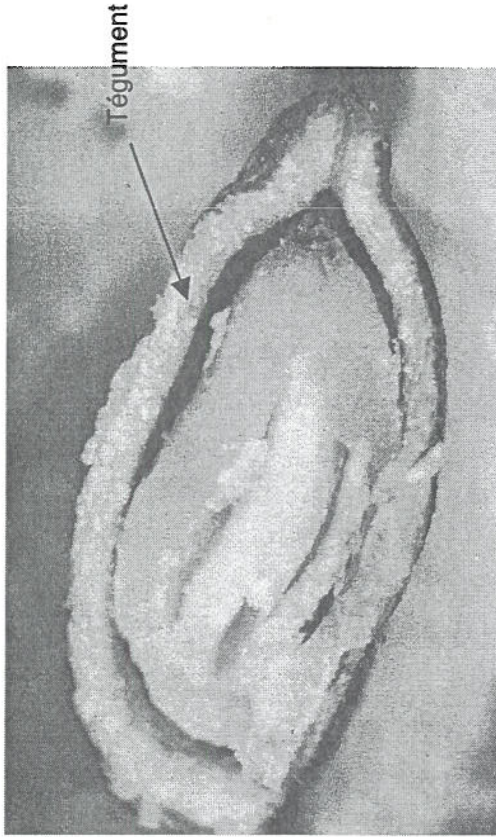


Image 2 : Graine pleine avec tégument très épais.



Image 3 : Graines pleines et vides



Image 5 : Graine totalement vide



Image 4 : Graine vide avec tégument très épais



Image 6 : Tégument normal absence de mégagamétophyte

3.2. Croisements dirigés effectués à la DRF (équipes REP et AMG)

Des graines issues de croisements réalisés dans les tunnels de Duchesnay (REP) et à Lotbinière (AMG) ont été coupées.

De façon générale, les graines sont faciles à couper, donc ont des téguments peu épais. Nous ne disposons pas de données d'analyse de rayons X puisque les extractions ont été réalisées à la DRF. Parmi les lots DRF testés, un (le 4) ressemble typiquement à un des lots de croisement dirigé DPSP. Il contient de nombreuses graines vides, et pour les pleines, leur tégument est très épais.

4- Tests de germination

Les pourcentages de germination ont été obtenus avec des *mini tests*, soit 4 fois 25 graines au lieu des 4 fois 100 graines préconisé par les normes du CSFB. Ce *mini test* est utilisé pour minimiser l'utilisation de graines pour les tests de germination, sachant que toutes les graines sont requises pour la production des pieds-mère à Saint-Modeste. La représentativité d'un *mini test* est questionnable principalement dans le cas de lots où le pourcentage de germination est pratiquement nul.

À la suite de la présente demande d'avis technique, nous avons débuté un test de germination en germoir avec les graines issues des croisements dirigés effectués dans les tunnels de Duchesnay au printemps 2000. Le test est fait dans les conditions du CSFB.

Bien que les résultats ne seront disponibles que le 24 avril, après 10 jours de culture nous avons une bonne idée des pourcentages de germination des trois lots choisis. Le lot numéro 4 (voir 3.2) est celui qui germe le moins bien, avec un taux qui ne devrait pas excéder 50 %. Ce lot est celui qui était le plus gros en nombre total de graines. Les 2 autres lots testés devraient avoir des taux de germination supérieurs à 80 %. Ceux-ci avaient des graines dont l'épaisseur du tégument était moyenne.

5- Conclusion

La présente analyse soulève plus de questions qu'elle n'offre de réponses. Il faut dire que nous allons débiter la deuxième année d'un projet de 5 ans sur la biologie florale des mélèzes. L'approfondissement de nos connaissances aidera à une meilleure compréhension de la germination des graines de mélèzes.

En raison des délais très courts pour la production de l'avis technique, il manque quelques données qui viendront enrichir la réflexion :

- Pourcentage de germination des croisements dirigés 2000 DPSP avec des tests complets (4 fois 100 graines).

- Coupe des graines des tests de germination n'ayant pas germé (les graines seront fournies par le CSFB). On pourra éventuellement confirmer que pour des graines pleines apparemment normales, l'épaisseur du tégument joue un rôle prépondérant.
- Pourcentage de germination des croisements dirigés 2000 DRF-REP.

Pour la suite du projet, nous allons nous concentrer sur l'amélioration de la germination des graines de mélèze hybride. Cette amélioration peut se dérouler à différents niveaux :

- **Niveau 1 : pollinisation.** • Vérifier si on peut observer une certaine part d'autofécondation dans les sacs. Bien que toutes les fleurs mâles doivent être éliminées, dans certains cas il peut en rester (surtout pour des sacs contenant beaucoup de fleurs), quel peut en être l'impact?
 - Déterminer si le pollen est appliqué au meilleur moment, voir si le critère de réceptivité des fleurs femelle (bractée à 90° par rapport à l'axe du cône) est valable.
- **Niveau 2 : traitement des graines.** • Mettre au point des techniques de triage des graines qui permettent d'éliminer le plus de graines vides possible. • Vérifier, à l'aide de colorations vitales, que les graines pleines avec des téguments épais ont un embryon viable. • Réaliser des tests d'abrasion du tégument pour améliorer la germination. • Développer un test de germination en conditions artificielles qui soit le plus représentatif possible des conditions de production en pépinière.

Bien sûr, la poursuite de la veille technologique enrichira nos réflexions.

Sainte-Foy, le 12 avril 2001

Fabienne Colas, biol., DESS
Équipe de R-D sur la reproduction des arbres
Service Génétique, reproduction et écologie

