Forêts, Faune et Parcs
Québec

Direction de la recherche forestière

Avis technique
SGRE-12

Titre :	**Validation de la méthode utilisée au laboratoire du Centre de semences forestières de Berthier pour déterminer la germination des graines de lots de pin blanc**
Responsable :	Fabienne Colas
Collaboration :	Michèle Bettez (Centre de semences forestières de Berthier, CSFB), Josianne DeBlois (DRF)
Équipe technique :	Christiane Corriveau et Jean-Pierre Faust (CSFB)
Date :	Septembre 2016

1- Contexte

Les graines de pin blanc (*Pinus strobus* L., PIB) sont stratifiées avant leur livraison aux pépinières forestières pour la production de plants. La stratification est un traitement par le froid humide qui permet de lever la dormance des graines, de mieux synchroniser leur germination et de limiter les effets négatifs de températures suboptimales durant la période de germination.

Le processus de stratification opérationnelle comprend 4 étapes : amorçage (trempage dans l'eau courante durant 24 à 48 h), stratification en sac à +3 °C durant 28 jours, désinfection des graines par trempage durant 3 heures dans une solution de peroxyde d'hydrogène à 3 % et finalement, séchage partiel pour réduire la teneur en eau des graines à environ 15 ± 1 % pour améliorer la conservation des graines jusqu'à leur ensemencement.

Lors de la création des lots dans l'inventaire après leur extraction, le laboratoire du Centre de semences forestières de Berthier (CSFB) détermine la germination des graines de PIB selon les recommandations de l'Association internationale d'essais de semences (ISTA 2009), avec un test double (pourcentage de germination des graines non stratifiées [$PGNS$] et stratifiées [PGS]).

Durant la conservation du lot dans la banque, la germination est réévaluée tous les deux ans, conformément à la grille de fréquence en vigueur au CSFB. Dans ce cas, seul le test stratifié (PGS) est repris.

On peut citer tout ou partie de ce texte en indiquant la référence
© Gouvernement du Québec

2700, rue Einstein, bureau B.1.155
Québec (Québec) G1P 3W8
Tél : 418 643-7994 poste 6526
Télécopieur : 418 643-2165
Courriel : fabienne.colas@mffp.gouv.qc.ca
http://www.mffp.gouv.qc.ca/forets/connaissances/recherche/index.jsp

Pour des raisons pratiques, il y a plusieurs différences dans la préparation des graines qui vont être expédiées en pépinière et de celles dont la germination est évaluée au laboratoire :

1. Lors des tests en laboratoire, les graines sont stratifiées (sans amorçage) en chambre froide à +3 °C durant 28 jours, directement dans les plats de germination tapissés de Kimpak^{MD} (substrat cellulosique). Les plats sont ensuite transférés dans le germoir pour la période de germination (28 jours supplémentaires) sans que les graines ne soient séchées entre-temps. Rappelons qu'avant la livraison des lots aux pépinières, les 28 jours de stratification se font plutôt en sac.
2. Lors des tests en laboratoire, les graines ne sont pas désinfectées. Or, les graines de PIB sont très souvent porteuses de champignons mycéliens qui profitent des conditions chaudes et humides du germoir pour proliférer. Selon le degré de contamination des graines, ces champignons peuvent nuire à la germination et induire un résultat de germination biaisé. Parfois, le taux de germination obtenu lors du test peut être inférieur à la réalité. En d'autres occasions, des écarts excessifs entre les répétitions font en sorte que le test doit être repris, ce qui retarde l'obtention des résultats.
3. Durant le test au germoir, les températures alternent entre 20 °C (durant 16 h par jour) et 28 °C (durant 8 h). Or, au printemps en pépinière, les températures sont variables et souvent plus faibles. Une autre séquence de températures en germoir (p. ex. : 16 h à 10 °C et 8 h à 20 °C, soit les températures utilisées pour évaluer la germination de graines d'espèces feuillues) pourrait mieux refléter les conditions opérationnelles et réduire les écarts observés. Des températures plus froides pourraient aussi réduire la prolifération des champignons pendant la germination.

Rappelons que les quantités de graines sont allouées pour la production de plants en fonction du pourcentage de germination obtenu en laboratoire. Toutefois, on observe parfois que les lots en pépinière germent tantôt mieux, tantôt moins bien que ce laissaient entrevoir les résultats en germoir.

Dans cet essai, nous avons voulu tester si les résultats des tests de germination de PIB réalisés au CSFB étaient modifiés par l'utilisation de conditions de stratification plus proches de la méthode opérationnelle. Nous avons aussi vérifié si une modification des températures en germoir influençait la germination des graines de PIB et la prolifération de champignons sur celles-ci.

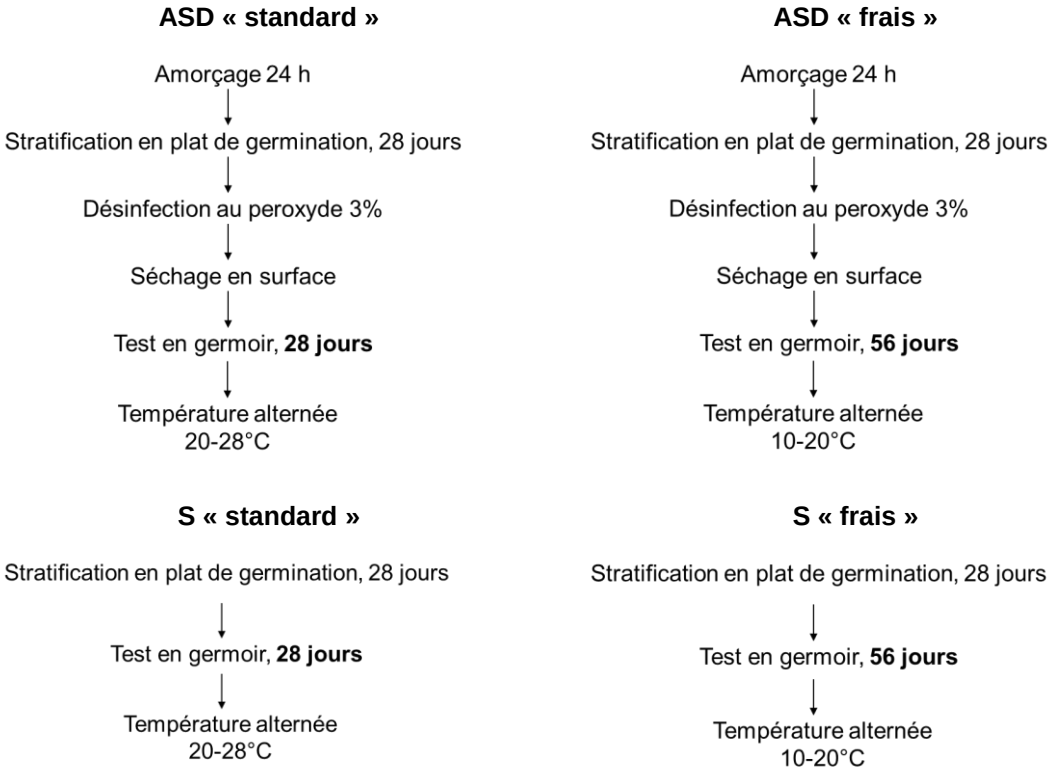
2- Dispositif expérimental

Nous avons sélectionné 10 lots de graines de PIB dans la banque du CSFB parmi ceux qui avaient été distribués lors de l'ensemencement 2014 et qui n'étaient pas épuisés, ainsi que ceux de la banque dont le test de germination devait être repris en 2014. Les années de récolte des lots variaient de 2008 à 2013.

Nous avons comparé 4 traitements :

- **ASD « standard »** : graines amorcées, stratifiées et désinfectées au peroxyde d'hydrogène (ASD), mises à germer en germoir à 20–28 °C (température « standard »).
- **ASD « frais »** : graines amorcées, stratifiées et désinfectées au peroxyde (ASD), mises à germer en germoir à 10–20 °C (température « fraîche »).
- **S « standard »** : graines stratifiées (S) seulement, mises à germer en germoir à 20–28 °C (température « standard »). Il s'agit des conditions actuellement utilisées pour les tests en laboratoire au CSFB.
- **S « frais »** : graines stratifiées (S) seulement, mises à germer en germoir à 10–20 °C (température « fraîche »).

Les 4 traitements sont schématisés ci-dessous.



La durée normale du test de germination est de 28 jours (ISTA 2009). Cependant, dans le cas des tests se déroulant avec les températures alternées de 10–20 °C, aucun semis n'avait levé après 28 jours. La durée du test a donc été doublée (56 jours).

Pour chaque lot/traitement, nous avons évalué :

- le pourcentage de germination stratifié (PGS, en %)
  - $PGS = \frac{Nombre\ de\ plantules\ germées\ à\ la\ fin\ du\ test}{100}$

- la valeur germinative (VG) du lot stratifié (Czabator 1962), calculée en 2 étapes :
  - $IG = \frac{Nombre\ total\ de\ graines\ germées\ en\ X\ jours}{X\ jours\ de\ germination\ accumulés}$
  - $VG = IG_{max} \times Moyenne\ journalière$

où IG_{max} est la valeur maximale atteinte par l'indice de germination (IG) au cours de la durée du test. La **moyenne journalière** est la valeur d'IG calculée à la fin du test de germination.

3- Analyses statistiques

Une analyse de la variance a été effectuée sur le pourcentage de germination stratifié et la valeur germinative du lot stratifié à l'aide de la procédure MIXED de SAS (version 9.4, SAS Institute 2013). Le modèle retenu inclut un facteur à effets fixes, soit les quatre traitements, et un facteur à effets aléatoires correspondant aux lots :

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

y_{ij} = Mesure obtenue sur l'échantillon du lot j ayant été soumis au traitement i;

μ = Moyenne générale;

α_i = Effet fixe du traitement i;

(i = ASD « standard » (1), ASD « frais » (2), S « standard » (3), S « frais » (4));

β_j = Effet aléatoire du lot j (j = 1 à 10), $\beta_j \sim N(0, \sigma^2_{lot})$;

ε_{ij} = Erreur aléatoire associée à la mesure obtenue sur l'échantillon du lot j ayant été soumis au traitement i, $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2_{\varepsilon})$;

Un test de comparaisons multiples basé sur des simulations (*simulate*) a été fait lorsque l'effet des traitements était significatif au seuil de 5 % pour déterminer où se situaient les différences. Les comparaisons d'intérêt correspondaient à celles permettant de tester l'effet des températures pour chacune des préparations et l'effet des préparations pour chaque température : 1) ASD « standard » *vs* ASD « frais »; 2) S « standard » *vs* S « frais »; 3) ASD « standard » *vs* S « standard » et 4) ASD « frais » *vs* S « frais ».

L'hypothèse de normalité des résidus a été testée à l'aide de la statistique de Shapiro-Wilk alors que l'homogénéité des variances a été vérifiée de façon graphique.

4- Résultats et discussion

Les résultats moyens obtenus pour les 10 lots par traitement sont présentés ci-dessous.

Tableau 1 : Résultats moyens (± erreur type) du pourcentage de germination stratifié (PGS) et de la valeur germinative stratifiée (VGS) obtenus des lots de PIB testés pour les 4 traitements (n = 10).

Traitement	Étapes précédant la germination	Température du germoir	PGS (%)	VGS
ASD « standard »	Amorçage, stratification, désinfection	20–28 °C	93,9 ± 1,0	15,6 ± 0,4
ASD « frais »	Amorçage, stratification, désinfection	10–20 °C	93,3 ± 1,0	3,5 ± 0,4
S « standard »	Stratification seulement	20–28 °C	95,5 ± 1,0	16,5 ± 0,4
S « frais »	Stratification seulement	10–20 °C	93,4 ± 1,0	3,5 ± 0,4

Les différences de pourcentage de germination stratifié (PGS) observées entre les traitements sont faibles et non significatives (p = 0,099). Les traitements ASD, qui reproduisent la stratification opérationnelle (amorçage, stratification et désinfection), n'induisent pas de différence de germination par rapport aux traitements S (stratification seule) ($p \geq 0{,}298$). La température du germoir n'influence pas le pourcentage de germination stratifié (traitements « standard » *vs* « frais ») ($p \geq 0{,}117$). De plus, nous n'avons constaté aucune différence dans la prolifération des champignons à la surface des graines en fonction de la température du germoir.

La valeur germinative (VGS) des graines des traitements avec une température de germination plus fraîche a été réduite significativement ($p < 0{,}001$), par un facteur d'au moins 4. Ce résultat était prévisible, puisque le nombre de jours de test est considéré dans le calcul et que la durée du test a été doublée de 28 à 56 jours. À température « standard » ou « fraîche », les valeurs germinatives ne sont pas significativement différentes lorsque les graines sont amorcées, stratifiées et désinfectées (ASD) ou seulement stratifiées (S) ($p \geq 0{,}072$).

5- Conclusion

La modification des conditions du test de germination du PIB pour refléter les conditions de la stratification opérationnelle n'a pas influencé significativement le pourcentage de germination ni la valeur germinative des graines de PIB pour les tests effectués à des températures de 20–28 °C. Puisque cette nouvelle procédure est plus complexe et longue à réaliser, nous ne recommandons pas de procéder au changement.

La réduction de la température du germoir a réduit significativement la valeur germinative, donc la vitesse de germination. Le pouvoir germinatif du lot est atteint, mais au bout d'un temps plus long. Les températures plus faibles n'ont pas influencé l'éventuelle prolifération des champignons sur les graines. Puisque le résultat de germination équivaut à celui obtenu avec une alternance de température standard de 20–28 °C et que l'effet sur la prolifération des champignons n'est pas apparent, nous ne recommandons pas de modifier les conditions de température du test.

6- Recommandation

Les conditions prescrites pour le test de germination en laboratoire des graines de PIB sont inchangées :

- Stratification des graines dans le plat de germination durant 28 jours;
- Germination durant 28 jours dans un germoir avec une alternance de températures réglée à 20–28 °C.

7- Références

Czabator, F.J., 1962. *Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination.* Forest Science 8(4): 386–396.

[ISTA] International Seed Testing Association, 2009. *Règles internationales pour les Essais de Semences 2009*. Basserdorf (Suisse).

SAS Institute, 2013. *SAS 9.4 Online Documentation*. SAS Institute Inc., Cary, NC. Disponible en ligne à [http://support.sas.com/documentation/94/index.html].