

Direction de la recherche forestière

Titre :	Détermination du nombre de milliers de semences au kilogramme au Centre de semences forestières de Berthier : évaluation de la précision de la méthode utilisée
Responsables :	Fabienne Colas et Isabelle Auger
Collaboration :	Michèle Bettez (Centre de semences forestières de Berthier) et Anne Savary (Direction générale de la production de semences et de plants forestiers)
Équipe technique :	Christiane Corriveau et Jean-Pierre Faust (Centre de semences forestières de Berthier)
Date :	Février 2014

1- Contexte

Tous les lots de semences entreposés au Centre de semences forestières de Berthier (CSFB) sont caractérisés conformément aux normes de qualité internationales édictées par l'Association Internationale sur les essais de semences (ISTA 2009). Parmi les données qui caractérisent un lot de semences, le nombre de milliers de semences au kilogramme (ci-après désigné ks/kg) en est une de première importance. En effet, combinée, entre autres, avec le pourcentage de germination du lot, cette valeur permet d'allouer aux différentes pépinières forestières la quantité suffisante de semences pour atteindre les objectifs fixés pour chacune de leurs productions de plants.

En 2012, dans le cadre du processus de certification ISO 9001:2008, le CSFB a fait parvenir un questionnaire aux pépiniéristes afin de vérifier leur degré de satisfaction envers les services qu'il fournit. Parmi les quelques points à améliorer, certains pépiniéristes ont évoqué un manque de semences pour atteindre les objectifs de production. Ils soupçonnaient un manque de précision de la valeur du ks/kg.

Au laboratoire du CSFB, lors de la détermination du ks/kg d'un lot, 8 échantillons de 100 graines sont pesés séparément; la moyenne de la masse de ces 8 répétitions sert au calcul du ks/kg selon l'équation [1]. Si le coefficient de variation¹ (CV) est inférieur à 4, cette moyenne est retenue pour calculer le ks/kg. Dans le cas où le CV est supérieur à 4, conformément à la norme ISTA, le système SEMENCES signale que 8 nouveaux échantillons de 100 graines doivent être pesés, et la moyenne est calculée avec

¹ Le coefficient de variation (CV) permet d'évaluer le pourcentage de variation dans un groupe par rapport à sa moyenne. Cet indice correspond au rapport, exprimé en pourcentage, de l'écart type sur la moyenne.

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

les 16 répétitions. De plus, toute répétition qui diffère de la moyenne de plus de 2 fois l'écart type doit être écartée du calcul (ISTA 2009). Ces calculs et les validations associées sont automatisés dans le système SEMENCES.

$$Nb \text{ de milliers de semences / kg} = \frac{100 \times 1000}{Masse \text{ moyenne}_{100 \text{ graines}}} \quad [1]$$

Afin de répondre aux commentaires reçus sur la précision du ks/kg, le personnel du CSFB a d'abord déterminé de nouveaux ks/kg pour les lots où un manque de semences avait été signalé. Les résultats ont montré de faibles variations par rapport à la valeur initiale déterminée lors de l'extraction des graines. Les nouvelles valeurs étaient supérieures ou inférieures aux valeurs compilées dans la banque du CSFB, avec des écarts variables. Devant ces constats, le CSFB a demandé à la Direction de la recherche forestière (DRF) de vérifier si la méthode de détermination du ks/kg actuellement utilisée était suffisamment précise pour fournir une valeur fiable.

Pour ce faire, il a fallu évaluer la précision actuelle de la méthode ainsi que le gain de précision associé à l'augmentation éventuelle du nombre d'échantillons à peser. Également, était-il suffisant d'avoir 100 graines par répétition, ou faudrait-il augmenter ce nombre à 200?

L'épinette noire (EPN, *Picea mariana* [Mill.] B.S.P.), l'épinette blanche (EPB, *P. glauca* [Moench] Voss) et le pin gris (PIG, *Pinus banksiana* Lamb.) représentent plus de 90 % de l'allocation annuelle de semences au CSFB (soit de 250 à 445 millions de semences selon les années). L'étude s'est concentrée sur ces 3 essences.

2- Matériel

Pour chacune des 3 essences étudiées, 12 lots de semences ont été sélectionnés, ayant un ks/kg représentatif de la gamme de valeurs associées aux lots présents dans l'inventaire du CSFB pour l'espèce en question. Les lots choisis étaient du type *Extraction*, c'est-à-dire que leur composition n'avait pas été modifiée depuis leur extraction (aucun mélange ni regroupement).

Pour chacune des essences, nous avons déterminé le nombre de lots de type *Extraction* dans l'inventaire, puis examiné la répartition de ces lots selon leur ks/kg. Sachant que 12 lots seraient étudiés, le nombre de lots à choisir dans chaque intervalle de ks/kg a été calculé. La sélection des lots proprement dite s'est ensuite faite en fonction des critères suivants :

- quantité minimale de 250 g de graines par lot,
- idéalement, sources différentes.

Exemple de l'épinette noire : la sélection du type de lot *Extraction* a permis d'identifier 79 lots. Le ks/kg variait de 700 à 800 pour la moitié de ceux-ci, de 800 à 900 pour 35 %, et de 900 à 1 000 pour 15 %. Puisque l'étude de 12 lots est nécessaire, 6 lots ont été choisis dans le premier groupe, 4 lots dans le second et 2 dans le troisième. Le tableau 1 décrit les lots utilisés pour l'essai.

Tableau 1 : Description des lots de semences utilisés pour l'étude de la précision du nombre de milliers de semences au kilogramme (ks/kg) pour l'épinette blanche (EPB), l'épinette noire (EPN) et le pin gris (PIG). Données extraites du système SEMENCES. En gras, les lots utilisés pour bâtir les graphiques présentés à la figure 1.

Essence	# essai	Source	Lot	ks/kg à l'extraction (= ks/kg _{initial})
EPB	1	EPB-V1-ROM-1-0	2004-018-1-1	328
	2	EPB-V2-PLU-1-0	2012-056-1-1	330
	3	EPB-L1-SFD-2-2	2006-031-2-1	330
	4	EPB-V1-ROB-1-0	2004-017-1-1	340
	5	EPB-V2-PBE-1-0	2008-050-6-1	345
	6	EPB-V1-LAS-1-0	2003-037-1-4	352
	7	EPB-V1-EST-1-0	2003-041-5-2	361
	8	EPB-V2-PBE-1-0	2006-027-1-2	375
	9	EPB-V1-AVE-1-0	2006-124-1-1	378
	10	EPB-V1-WEV-1-3	2003-025-2-2	384
	11	EPB-V1-DRO-1-0	2006-024-1-	397
	12	EPB-V1-SFD-1-0	2003-019-1-2	412
EPN	1	EPN-V2-PLU-1	2012-055-1-2	716
	2	EPN-V1-DSA-2	2006-061-1-1	735
	3	EPN-V2-PGP-1	2011-073-1-2	736
	4	EPN-V1-DSA-2	2009-034-1-1	750
	5	EPN-V1-DOL-2	2011-020-3-1	760
	6	EPN-V1-RAG-2	2005-072-2-1	780
	7	EPN-V1-LAU-2	2006-102-2-1	801
	8	EPN-V2-PTR-1	2011-084-1-1	826
	9	EPN-T1-CEL-1	2007-060-2-1	837
	10	EPN-V1-GAO-2	2009-061-2-1	844
	11	EPN-V1-GAR-2	2012-014-1-2	902
	12	EPN-N0-141-2	2009-093-1-2	947
PIG	1	PIG-V2-PGP-1-0	2012-054-1-1	187
	2	PIG-V1-CHS-1-2	2012-002-1-2	231
	3	PIG-V1-ROS-2-0	2009-003-1-2	244
	4	PIG-V1-BRI-2-0	2010-046-2-2	246
	5	PIG-T1-CAR-1-2	2007-003-1-1	264
	6	PIG-T1-CAR-1-2	2009-074-2-1	270
	7	PIG-N0-060-2-0	1999-093-1-1	281
	8	PIG-V1-LAV-1-2	2008-001-2-14	296
	9	PIG-N0-079-2-0	2000-273-1-1	302
	10	PIG-N0-140-1-0	2010-015-1-5	311
	11	PIG-V1-LAV-1-2	2009-004-2-1	312
	12	PIG-V1-LAV-1-2	2010-005-3-4	320

Le prélèvement des graines dans les contenants de conservation de la banque a été fait selon la norme en vigueur au CSFB.

3- Méthode

3.1. Pesée des échantillons

3.1.1. Épinette noire

Pour chacun des lots, 50 échantillons de 100 graines ont été comptés manuellement puis pesés individuellement sur une balance ayant une précision de 0,0001 g. Par la suite, 25 échantillons de 200 graines ont été formés en regroupant deux à deux les 50 échantillons de 100 graines, puis pesés. Vingt-cinq nouveaux échantillons ont ensuite été comptés et pesés.

3.1.2. Épinette blanche et pin gris

Cinquante échantillons de 100 graines ont été pesés, pour chacun des 12 lots d'EPB et de PIG, sur une balance ayant une précision de 0,0001 g. Pour ces 2 essences, lorsque le résultat d'une pesée semblait trop haut ou trop bas comparativement aux autres, le nombre de graines de l'échantillon était recompté pour valider le résultat.

3.2. Détermination de l'erreur relative sur la mesure du nombre de milliers de semences au kg

Afin de vérifier que 50 répétitions est suffisant pour bien estimer le CV d'un lot, une simulation par rééchantillonnage avec remise a été effectuée à partir des 50 résultats d'un lot, en faisant varier la taille de rééchantillonnage de 4 à 50 et en calculant le CV correspondant. La variation du CV en fonction de la taille de rééchantillonnage a ensuite été représentée graphiquement.

L'erreur relative sur la mesure du nombre de milliers de semences au kg d'un lot a été déterminée par l'équation suivante :

$$E = Z_{1-\alpha/2} \times CV / \sqrt{n} \quad [2]$$

où E est l'erreur relative sur le ks/kg d'un lot estimé à partir de n répétitions de 100 graines, CV est le coefficient de variation du lot, et $Z_{1-\alpha/2}$ est la valeur de la loi de normale pour un niveau de confiance donné. La valeur de Z utilisée est de 2,575 pour un niveau de confiance de 99 %. Le CV d'un lot a été estimé à partir de 50 répétitions de 100 graines. On a fait varier n de 2 à 50 afin de déterminer le gain de précision en fonction de la taille d'échantillon.

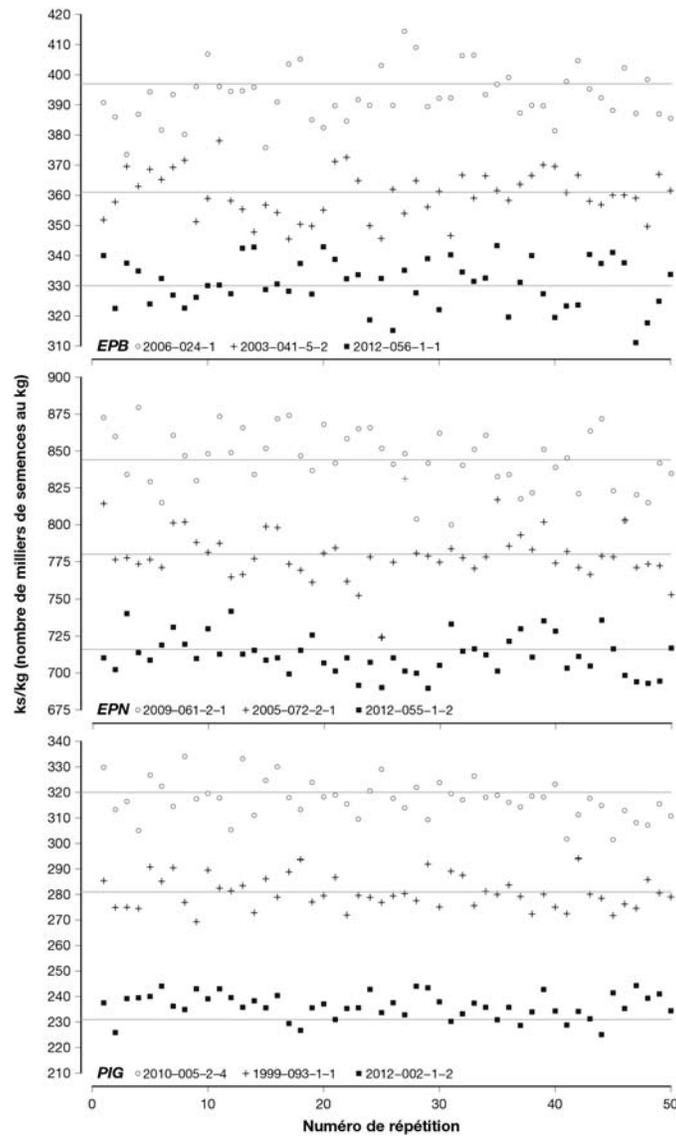
L'erreur relative maximale associée au ks/kg d'une essence a été déterminée à partir de l'équation [2] en utilisant le CV maximal observé parmi les 12 lots. L'erreur relative moyenne a été calculée en utilisant le CV moyen des 8 lots les plus variables. Pour l'EPN, l'erreur relative a été calculée pour les répétitions de 100 et de 200 graines.

4- Résultats

4.1. Masse des échantillons

La pesée des échantillons de 100 graines a permis de déterminer le ks/kg de chacun des lots. Les 50 répétitions ont des masses variables. Les masses mesurées, transformées en ks/kg, sont présentées à la figure 1.

Figure 1 : Nombre de milliers de semences au kg calculé lors du présent essai (ks/kg₂₀₁₃) pour chacune des 50 répétitions de 100 graines, pour 3 lots ayant des ks/kg initiaux différents, et ce, pour les 3 essences de l'essai (EPB, EPN et PIG). Chaque ligne horizontale correspond au ks/kg_{initial} du lot.



Pour les 3 essences, des différences ont été observées entre le $ks/kg_{initial}$ et celui déterminé lors du présent essai. Ces différences sont positives ($ks/kg_{initial} > ks/kg_{2013}$), négatives ($ks/kg_{initial} < ks/kg_{2013}$) ou nulles ($ks/kg_{initial} = ks/kg_{2013}$). Les écarts absolus sont illustrés à la figure 2, et les statistiques descriptives pour les différences relatives (en pourcentage) sont fournies dans le tableau 2. Pour l'EPB, on observe 4 différences négatives (variation de -1,9 à -0,2 %) et 8 positives (variation de 0,2 à 7,0 %). Pour l'EPN, on note 3 différences négatives (de -4,6 à -0,6 %), 7 positives (de 0,6 à 2,4 %) et 2 nulles. Enfin, pour le PIG, 4 différences négatives (de -2,3 à -0,3 %), 7 positives (de 0,1 à 4,2 %) et une nulle.

Figure 2 : Variations du nombre de milliers de semences au kg (ks/kg) pour les 3 essences de l'essai : pour chaque lot, la valeur a été déterminée lors de l'extraction ($ks/kg_{initial}$, pour 8 répétitions de 100 graines) et lors du présent essai (ks/kg_{2013} , pour 50 répétitions de 100 graines).

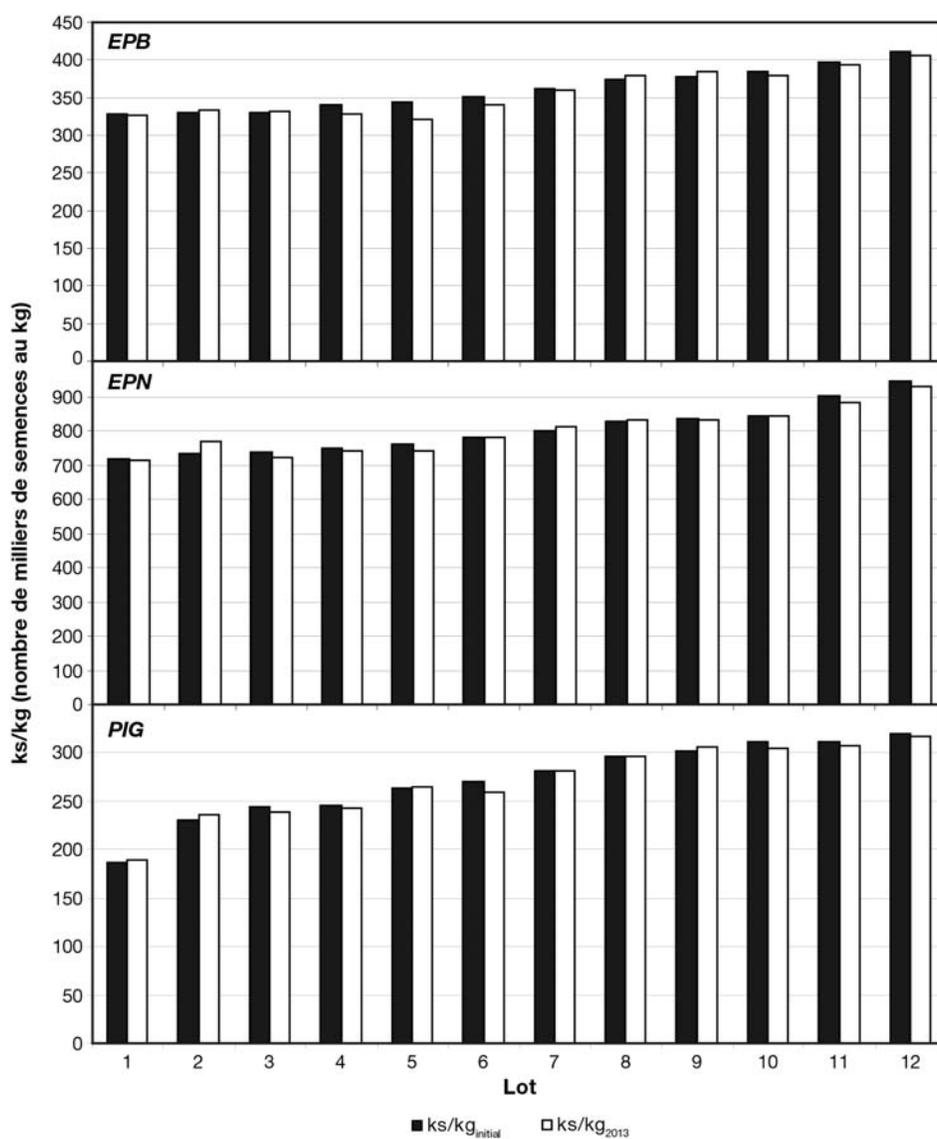


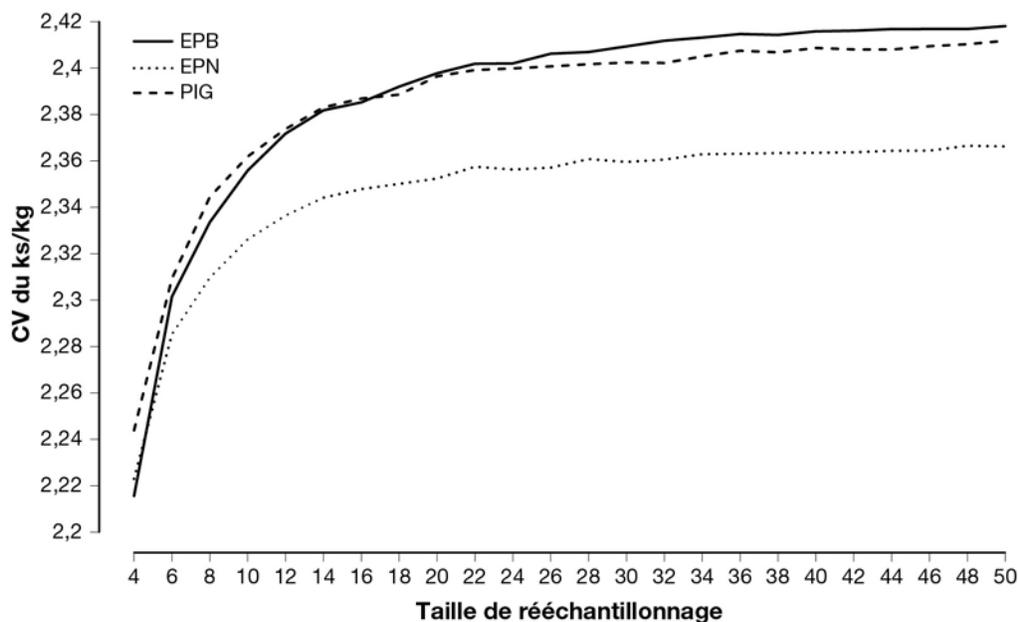
Tableau 2 : Différences, en pourcentage, observées entre le $ks/kg_{initial}$ et celui déterminé lors du présent essai (ks/kg_{2013}). Ces données ont été calculées pour les 12 lots de chacune des 3 essences.

Essence	Moyenne des différences (%)	Écart-type	Différence minimale (%)	Différence maximale (%)
EPB	1,1	2,4	-1,9	7,0
EPN	0,3	1,9	-4,6	2,4
PIG	0,6	1,8	-2,3	4,2

4.2. Précision du nombre de milliers de semences au kg

La figure 3 présente l'évolution du CV d'un lot en fonction de la taille de rééchantillonnage. Pour les 3 essences, le CV est stable en approchant de 50 répétitions. Pour chaque essence, tous les lots ont le même comportement.

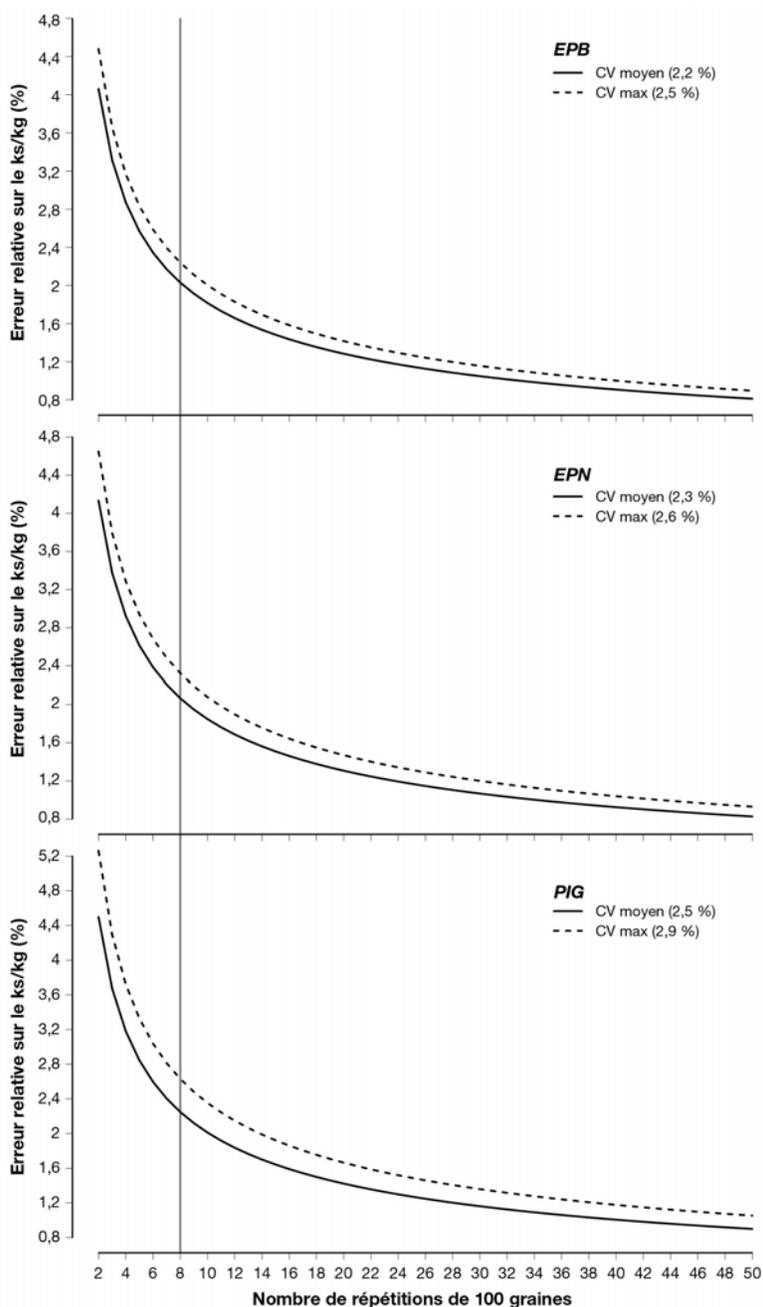
Figure 3 : Valeur du CV du nombre de milliers de semences au kg (ks/kg) d'un lot, estimé par simulation par rééchantillonnage avec remise de 50 répétitions de 100 graines, en fonction de la taille de rééchantillonnage pour les 3 essences de l'essai. Un lot représentatif de chaque essence est illustré.



L'erreur relative sur le nombre de milliers de semences au kg en fonction du nombre de répétitions pour les 3 essences est présentée à la figure 4. L'erreur relative pour 8 répétitions, soit le nombre de répétitions actuellement utilisé au CSFB, varie de 2,0 à 2,2 % pour l'EPB, de 2,1 à 2,3 % pour l'EPN et de 2,2 à 2,6 % pour le PIG. En utilisant le ks/kg moyen de chacune des essences, l'erreur relative maximale représente 7,7 milliers de semences pour l'EPB ($ks/kg_{moy} = 348$), 18,9 milliers de semences pour l'EPN

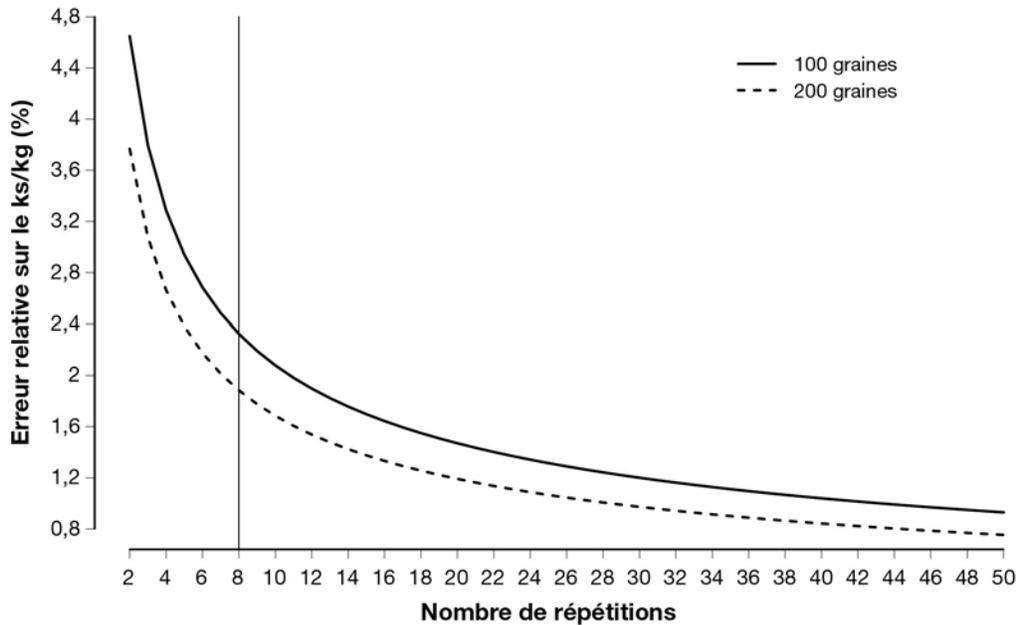
($ks/kg_{moy} = 824$) et 7,2 milliers de semences pour le PIG ($ks/kg_{moy} = 278$). Pour les 3 essences, l'erreur augmente rapidement avec la diminution du nombre de répétitions à moins de 8, mais diminue moins rapidement quand on augmente le nombre de répétitions au-dessus de ce seuil (Figure 4).

Figure 4 : Erreur relative sur le nombre de milliers de semences au kg (ks/kg) d'un lot en fonction du nombre de répétitions de 100 graines, pour les 3 essences de l'essai et un niveau de confiance de 99 %. L'erreur relative est calculée avec le CV maximal des lots (ligne pointillée) et le CV moyen des 8 lots les plus variables (ligne continue). Une barre verticale a été placée pour un nombre de répétitions de 8 qui correspond à la méthode actuellement utilisée au CSFB.



Pour l'EPN, l'erreur relative a été calculée pour des répétitions de 100 et de 200 graines. Pour 8 répétitions, l'erreur relative varie de 2,1 à 2,3 % avec des répétitions de 100 graines, et de 1,6 à 1,9 % avec 200 graines (Figure 5).

Figure 5 : Erreur relative maximale sur le nombre de milliers de semences au kg (ks/kg) d'un lot d'épinette noire en fonction du nombre de graines par échantillon (100 ou 200), pour un niveau de confiance de 99 %.



5- Discussion

5.1. Précision du ks/kg

Cet essai a permis de déterminer de nouvelles valeurs de ks/kg pour 12 lots représentatifs de l'inventaire de la banque du CSFB des 3 essences étudiées (EPB, EPN et PIG). Des différences positives ($ks/kg_{initial} > ks/kg_{2013}$), négatives ($ks/kg_{initial} < ks/kg_{2013}$) ou nulles ($ks/kg_{initial} = ks/kg_{2013}$) ont été observées par rapport aux valeurs initiales déterminées lors de l'extraction des lots.

Si le ks/kg_{2013} est supérieur au $ks/kg_{initial}$, cela veut dire que, selon ce calcul, on a plus de semences par kg, donc que l'utilisation de la donnée de 2013 mènerait à une allocation plus importante de semences pour le même lot, par rapport à l'utilisation de la donnée initiale. Inversement, si le ks/kg_{2013} est inférieur au $ks/kg_{initial}$, selon le calcul, il y a moins de semences par kg, et donc, l'utilisation de la donnée de 2013 mènerait à une allocation moins importante de semences pour le même lot par rapport à l'utilisation de la donnée initiale. Les données ne permettent pas de dégager une tendance claire. Aucune surestimation ou sous-estimation systématique n'a été révélée, puisque le nombre de différences positives, négatives ou nulles variait entre les essences, et que les écarts étaient également variables.

La technique de simulation par rééchantillonnage avec remise a permis de montrer que 50 répétitions de 100 graines sont suffisantes pour bien estimer le CV d'un lot. Cette vérification permet de valider la qualité des CV qui servent à calculer la précision du ks/kg. Le CV maximal et le CV moyen (calculé en utilisant les 8 lots les plus variables) ont été déterminés pour les 3 essences. Les valeurs du CV moyen varient de 2,2 à 2,5 %. Celles du CV maximal varient de 2,5 à 2,9 %, ce qui est inférieur à la limite fixée par l'ISTA (4 %) pour valider la mesure.

Connaissant les CV maximal et moyen, nous pouvons déterminer, pour chaque essence, l'erreur relative de la mesure du ks/kg en fonction du nombre de répétitions de pesées de 100 graines effectuées. Nous avons choisi d'être plus sévères sur la précision de l'estimation, en établissant un niveau de confiance de 99 % plutôt que le seuil habituel de 95 %.

Si l'on déterminait à nouveau le ks/kg lors de chaque expédition, la donnée serait-elle plus fiable? Dans cet essai, 50 répétitions de 100 graines ont été pesées, au lieu des 8 requises par le test normé de l'ISTA. On observe toujours des différences entre les répétitions. Rien ne dit que si on prélevait à nouveau 50 répétitions dans les mêmes lots, on obtiendrait le même résultat, puisqu'on s'attend à une variation de 2,5 à 2,9 %, ce qui est inférieur à la limite imposée par le test actuel qui est de 4.

La nature même du test implique de vivre avec une certaine incertitude. Dans le cas des 3 essences étudiées, l'erreur relative varie de 2,0 à 2,6 %, ce qui est très acceptable. Si on voulait réduire l'incertitude, il faudrait faire un beaucoup plus grand nombre de pesées par lot. Ceci réduirait l'erreur potentielle, mais ne l'éliminerait pas. La figure 4 montre qu'avec 50 répétitions, l'erreur est encore de près de 1 %.

Cet essai a également montré qu'il ne serait pas justifié d'augmenter la taille de l'échantillon à peser de 100 à 200 graines, compte tenu du surcroît de travail que cela impliquerait, puisque cela n'apporterait pas de gain significatif de précision.

5.2. Impacts pour le pépiniériste

La donnée du ks/kg est très importante à l'étape de l'allocation des semences pour la production de plants. En effet, le pépiniériste doit recevoir la quantité de graines nécessaires pour atteindre les objectifs de sa production. La quantité totale de semences viables par production est calculée en tenant compte du pourcentage de germination du lot, de sa pureté, du ks/kg, du facteur d'ensemencement (nombre de semences viables [sv] allouées par cavité) de l'essence et du récipient, ainsi que du facteur de sécurité de la production (pourcentage de cavités additionnelles fourni afin de couvrir les aléas de la culture).

Le facteur d'ensemencement varie selon le taux de germination du lot, l'essence produite et le récipient utilisé. Pour les productions à facteurs d'ensemencement régulier (de 2,0 à 2,5 semences viables / cavité) le facteur de sécurité est fixé à 1,10. Depuis quelques années, certains producteurs utilisent des facteurs réduits (de 1,2 à 1,5 semences viables par cavité) pour l'EPB, l'EPN et le PIG, auquel s'ajoute un facteur de sécurité de 1,15. Par exemple, pour un lot d'EPN germant à 100 %, avec un

objectif de 100 000 plants, un facteur d'ensemencement réduit de 1,2 sv / cavité et un facteur de sécurité de 1,15, le producteur recevra 138 000 graines², soit 38 % de plus que l'objectif. En détail, cette quantité correspond à 20 % de graines supplémentaires pour le facteur d'ensemencement, marge dans laquelle se trouve inclus le CV du ks/kg, et 15 % pour le facteur de sécurité.

Puisque l'erreur relative sur la détermination du ks/kg varie de 2,0 à 2,6 %, et que cette erreur peut être positive ou négative, il est établi que celle-ci n'aura peu ou pas d'impact sur la quantité de semences allouées. Selon nous, compte tenu des différents facteurs entrant dans le calcul de la quantité de graines allouées totales (facteur d'ensemencement et facteur de sécurité), l'erreur relative sur la détermination du ks/kg ne réduit pas non plus les chances d'atteindre les objectifs de production des pépiniéristes.

Un semoir de précision est l'outil privilégié pour s'assurer d'utiliser la bonne quantité de graines par alvéole. Néanmoins, il est recommandé que le pépiniériste réalise un suivi précis de l'opération d'ensemencement. L'inventaire d'un minimum de 1 % des récipients (jusqu'à un maximum de 100 récipients, selon le nombre de récipients de la culture) permettra de s'assurer de la fiabilité de l'ensemencement, surtout pour les cultures ayant des facteurs d'ensemencement réduits.

6- Recommandation

La méthode actuellement utilisée au CSFB pour la détermination du ks/kg (8 pesées de 100 graines par lot et validation de la donnée avec un coefficient de variation inférieur à 4) est fiable et doit être maintenue dans sa forme actuelle.

7- Références

ISTA, 2009. *Règles Internationales pour les Essais de Semences 2009*. Édité par l'Association internationale d'essais de semences. Bassersdorf (Suisse).

8- Résumé

En 2012, dans le cadre du processus de certification ISO 9001:2008, le Centre de semences forestières de Berthier (CSFB) a fait parvenir un questionnaire aux pépiniéristes afin de vérifier leur degré de satisfaction envers les services qu'il fournit. Parmi les quelques points à améliorer, certains pépiniéristes ont évoqué un manque de graines pour atteindre les objectifs de production. Ils soupçonnaient un manque de précision de la valeur du nombre de milliers de semences au kg (ks/kg).

À la demande du CSFB, une étude exhaustive a été réalisée par la Direction de la recherche forestière afin d'analyser la précision de la méthode utilisée pour la détermination du ks/kg, qui obéit aux normes internationales édictées par l'Association internationale sur les essais de semences (ISTA). Douze lots représentatifs de l'inventaire de la banque du CSFB ont été sélectionnés pour chacune des 3 principales essences du programme de reboisement québécois.

² 100 000 x 1,2 x 1,15 = 138 000

La conclusion de cette étude rigoureuse est que la méthode utilisée au CSFB est fiable, et qu'elle doit donc être maintenue dans sa forme actuelle.

Pour garantir l'utilisation optimale des graines allouées, qui tient compte du facteur d'ensemencement et du facteur de sécurité des cultures, les pépiniéristes sont invités à réaliser un suivi précis de l'opération d'ensemencement. L'inventaire d'un minimum de 1 % des récipients (jusqu'à un maximum de 100 récipients, selon le nombre de récipients de la culture) leur permettra de s'assurer de la fiabilité de l'ensemencement, surtout pour les cultures ayant des facteurs d'ensemencement réduits.

Fabienne Colas, biol., DESS

Équipe production de semences et plants
Service génétique, reproduction et écologie

Isabelle Auger, stat. ASSQ, MSc.

Équipe de Biométrie
Service du soutien scientifique