

Note de recherche forestière n° 62

Extraction des graines de pin rouge à l'aide d'un traitement de congélation

Stéphan MERCIER¹

Résumé

Une nouvelle technique utilisant la congélation a été mise au point pour extraire le maximum de graines des cônes de pin rouge sans nuire à leur viabilité. Ce traitement consiste à immerger les cônes dans l'eau durant 12 heures, puis à les congeler à -20°C durant une période de 24 heures. Au terme de cette période, les cônes sont décongelés durant 5 heures à la température ambiante avant d'en extraire les graines selon la technique usuelle, c'est-à-dire à l'aide d'un séchage à 70°C durant 10 heures dans un four à convection. Le traitement de congélation permet d'extraire en moyenne trois fois plus de graines par cône (et jusqu'à 12 fois dans certains cas) que la technique conventionnelle sans altérer significativement la viabilité des semences. En effet, le rendement en graines des cônes traités par congélation est en moyenne de 112,8 graines par cône alors que celui de la technique usuelle est estimé à 36,8 graines par cône. Toutefois, le traitement de congélation n'est pas en mesure d'extraire plus de graines des cônes récalcitrants que la technique usuelle. De plus, le peu de graines provenant de ces derniers cônes s'avère être de mauvaise qualité que les graines de cônes normaux (dits orthodoxes) puisque leur pourcentage de germination est plus faible. Vraisemblablement, ces cônes ont avorté au cours de la saison, ce qui explique qu'ils sont significativement plus courts que les cônes orthodoxes ($F = 111,97$ et $Pr > F = 0,0001$). Toutefois, l'écart de longueur est si minime (5,8 mm) qu'il serait difficile de détecter une telle différence à l'oeil nu.

Mots-clés : Graine, cône, extraction, pin rouge, *Pinus resinosa*, congélation, rendement en graines, pourcentage de germination, longueur des cônes, cône récalcitrant.

Abstract

Extraction of red pine seeds using a freezing treatment. A new technique using freezing was adapted to extract a maximum of seeds from red pine cones without decreasing their viability. The cones were immersed into water during 12 hours, followed by freezing at -20°C during 24 hours. At the end of this period, cones are thawed at room temperature during about 5 hours before drying at 70°C during 10 hours. Freezing treatment increased by an average of three times (up to 12 times in certain cases) the number of seeds extracted per cone as compared to the usual technique, without affecting seed viability. Seed yield after the freezing treatment is 112,8 seeds per cone whereas the usual technique may extract only 36,8 seeds per cone. However, the freezing treatment does not extract more seed from recalcitrant cones than the usual technique. Furthermore, the few seeds coming from the recalcitrant cones are less resistant to freezing than seed from normal cones; their germination percentages are lower. It is probable that recalcitrant cones have aborted during the summer. This would explain why they are significantly shorter than normal cones ($F = 111,97$ and $Pr > F = 0,0001$). However, the difference in length between the two types of cone is so small (5,8 mm) that it would be difficult to detect.

Key words : Seed, cone, extraction, red pine, *Pinus resinosa*, freezing, seed yield, germination percentage, cone length, recalcitrant cone.

¹ Ingénieur forestier, M.Sc., chargé de recherches sur les semences et les pollens au Service de l'amélioration des arbres.

Introduction

L'extraction des graines consiste à ouvrir rapidement les cônes sans altérer leur viabilité. Dans la majorité des cas, cette extraction se réalise en chauffant les cônes durant plusieurs heures, bien que cette température ne doive pas dépasser un seuil critique (RIETZ 1941, CARMICHAEL 1958).

L'extraction des graines de la plupart des pins à cônes sérolineux nécessite un prétraitement qui consiste à faire bouillir les cônes durant quelques secondes (p. ex. entre 30 et 60 secondes pour les cônes du *Pinus contorta* var. *latifolia*) pour éliminer la résine contenue entre les écailles (HELLUM et WANG 1985, YOUNG et YOUNG 1992). D'autres auteurs ont trouvé qu'il était possible d'améliorer le rendement en graines chez certaines espèces résineuses en immergeant les cônes dans l'eau durant une période variant entre 5 et 24 heures avant le séchage (FLEMING et HAAVISTO 1986, YOUNG et YOUNG 1992).

En ce qui concerne les cônes du pin rouge (*Pinus resinosa*), il n'existe actuellement aucun traitement particulier pour faciliter l'extraction des graines. Ces cônes n'exigent aucune post-maturation mais YOUNG et YOUNG (1992) mentionnent qu'un entreposage des cônes durant 2 à 60 jours à l'air libre facilite la désarticulation des écailles. Toutefois, dans bien des cas, les écailles ne se désarticulent pas suffisamment pour permettre aux graines de sortir du cône. La méthode la plus utilisée pour ouvrir ces cônes consiste donc à les chauffer durant 9 heures à 55 °C avec une humidité relative de 20 % (YOUNG et YOUNG 1992). ELIASON et HEIT (1940) précisent que des expositions à la chaleur supérieures à 12 heures combinées à une humidité relative supérieure à 65 % altèrent significativement la viabilité des graines.

Toutefois, cette technique n'est pas suffisante pour récupérer le maximum de graines contenues dans les cônes de pin rouge. D'une part, les cônes immatures et ceux attaqués par les insectes sont très difficiles à ouvrir (EDWARDS 1986). D'autre part, on observe fréquemment chez cette espèce le phénomène du *casehardening* – que l'on pourrait traduire littéralement par « durcissement de l'enveloppe » – qui résulte d'une incapacité des écailles à fléchir en raison d'un séchage rapide des couches externes alors que les couches internes demeurent humides, empêchant ainsi l'humidité déjà présente de s'échapper (EDWARDS 1981).

FOURNIER (1986) réussit à éliminer le phénomène du *casehardening* chez le cèdre (*Cedrus*) en désarticulant complètement les cônes. Il utilise couramment cette technique à grande échelle à la Sécherie de la Joux en France; pour ce faire, il immerge les cônes durant 10 heures dans l'eau, puis les congèle à -5 °C durant également 10 heures, pour terminer avec une phase de repos de 5 heures à la température ambiante. Au terme de ces trois phases, les cônes passent dans un trieur cylindrique qui effectue la désarticulation et le triage des graines.

L'objet de cette étude consiste donc à mettre au point une technique simple permettant d'extraire le maximum de graines de pin rouge sans nuire à leur viabilité. Pour ce faire, nous nous sommes inspirés des travaux de FOURNIER (1986)

en congelant les cônes de pin rouge avant leur séchage conventionnel. Idéalement, cette technique devrait être aussi efficace pour les cônes normaux (dits *orthodoxes*) que pour les cônes *récalcitrants*, définis comme étant des cônes demeurant fermés après l'extraction. À priori, nous avons remarqué que les cônes *récalcitrants* étaient de plus faibles dimensions que les cônes *orthodoxes* et c'est pour cette raison que la relation entre la longueur des cônes et leur facilité à s'ouvrir après l'extraction a également été étudiée au cours de cette expérience.

Matériel et méthodes

Récolte des cônes

Les cônes de pin rouge ont été récoltés au début du mois de septembre 1991 dans une plantation de 35 ans située au sud-ouest de la périphérie du village de Pont-Rouge (46° 45' N. ; 71° 42' O.). Un total de 401 cônes provenant de 10 arbres a été cueilli à raison de 40 cônes par arbre (41 pour l'arbre n° 8). Ces 40 cônes ont été par la suite répartis en quatre sacs de 10 cônes (un sac contenant 11 cônes). Les cônes ont été par la suite entreposés dans un séchoir à l'air libre situé à l'extérieur durant une période de 15 semaines.

Extraction des cônes

Après cette période d'entreposage, nous avons sélectionné aléatoirement deux sacs (répétitions) de cônes par arbre, destinés à être extraits à l'aide d'un traitement dit de *congélation* alors que les deux autres répétitions servaient de témoin (technique usuelle). Le traitement de congélation consistait dans un premier temps à envelopper les cônes de chacune des deux répétitions dans un tissu de « coton à fromage ». Ces cônes ont été par la suite immergés dans l'eau durant une période de 12 heures, puis immédiatement placés dans un congélateur à -20 °C durant une période de 24 heures. Au terme de cette période, les cônes étaient décongelés à la température de la pièce durant environ 5 heures. Ces cônes ainsi traités étaient placés avec les cônes témoins dans un four à convection pour être séchés à 70 °C durant 10 heures. L'extraction des graines s'est faite par brassage mécanique des cônes dans un sac de papier Kraft. Le désailage a été obtenu par le frottement mécanique des graines entre elles dans un sac de coton. Le nettoyage final a été réalisé au moyen d'une souffeuse à graines (*Seedblower*) dont la vitesse était constante pour tous les lots de semences. Les graines étaient conservées dans des flacons à scintillation à 4 °C.

Paramètres évalués

Pour chaque répétition, nous avons mesuré le rendement en graines, défini comme étant le nombre de graines par cône, le pourcentage de germination et la longueur des cônes.

Le pourcentage de germination a été réalisé à l'intérieur de plats de germination avec un substrat humide (*Kimpak*) supporté par une grille sous laquelle une petite quantité d'eau ozonisée était maintenue. Quatre groupes de 50 graines de chaque lot étaient placés dans les plats sans

stratification préalable. Les plats de germination ont été placés dans un germoir de type *Convion G-30* avec une alternance de 16 heures de lumières à 30 °C et de 8 heures d'obscurité à 20 °C durant 28 jours. Les graines étaient considérées comme germées lorsque les cotylédons étaient apparents.

La longueur des cônes a été mesurée selon la technique décrite par MERCIER *et al.* (1991). Les cônes qui sont demeurés partiellement ou entièrement fermés après l'extraction étaient considérés comme récalcitrants.

Traitement des données

L'approche visant à déterminer s'il existe une différence entre les deux méthodes d'extraction des graines, en considérant comme variables dépendantes le nombre de graines extraites et le pourcentage de germination, est une analyse de la variance à modèle mixte. Ce modèle est utilisé lorsque certains facteurs sont fixes alors que d'autres sont aléatoires (KIRK 1982); il s'écrit comme suit :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + (\alpha\gamma)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad [1]$$

où : Y_{ijk} = variable dépendante : nombre de graines extraites ou pourcentage de germination selon le cas

μ = constante

α_i = effet dû au génotype de l'arbre; $i = 1, \dots, 10$

γ_j = effet dû à la méthode d'extraction; $j = 1, 2$

$(\alpha\gamma)_{ij}$ = effet d'interaction entre le génotype de l'arbre et la méthode d'extraction

ε_{ijk} = terme d'erreur

k = unité expérimentale (c.-à-d. tous les cônes regroupés dans un même sac); $k = 1, 2$.

L'analyse de la covariance a été utilisée pour évaluer le taux de cônes récalcitrants qui n'a pas été contrôlé lors de l'expérience (KIRK 1982). À priori, ce taux semble avoir un effet sur le nombre de graines extraites et le pourcentage de germination. Le modèle correspondant à l'analyse de la covariance est :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + (\alpha\gamma)_{ij} + \beta (\chi_{ijk} - \bar{\chi}_{...}) + \varepsilon_{ijk} \quad [2]$$

où $\beta (\chi_{ijk} - \bar{\chi}_{...})$ = effet de la covariable.

Résultats

Rendement en nombre de graines extraites

Le tableau 1 démontre que le rendement en graines n'est pas significativement différent d'un arbre à l'autre à un niveau de signification de 5 %. Toutefois, ce rendement est significativement plus élevé lorsque les cônes ont subi le traitement de congélation. La figure 1 montre que les cônes extraits à l'aide de la technique usuelle ont un rendement en graines moyen de 36,8 graines par cône, comparativement à 112,8 graines par cône pour le traitement de congélation. En somme, la congélation préalable des cônes permet d'extraire en moyenne trois fois plus de graines que la technique usuelle (jusqu'à 12 fois pour l'arbre 9).

Il existe une interaction entre le génotype de l'arbre et la méthode d'extraction utilisée en ce qui concerne le nombre de graines extraites mais il n'existe aucune interaction pour le pourcentage de germination.

Pourcentage de germination

De manière générale, le pourcentage moyen de germination pour l'ensemble des lots est considéré comme très raisonnable puisqu'il est de 70,9 %. Ce pourcentage varie toutefois significativement d'un arbre à l'autre. Par ailleurs, les graines extraites par la technique usuelle ont un pourcentage moyen de germination de 75,0 % alors que les graines provenant des cônes extraits selon la nouvelle technique ont un pourcentage de germination de 66,7 % (figure 2). Cette différence n'est cependant pas significative à un seuil de 5 % bien que la valeur du $Pr > F$ soit près de cette limite (tableau 1). À l'instar du rendement en graines, aucune interaction n'a été révélée entre le pourcentage de germination des graines des arbres et celui des traitements (tableau 1).

Effet des cônes récalcitrants

La longueur moyenne des cônes étudiés dans ce dispositif était de $45,1 \pm 4,8$ mm. L'analyse de la variance fait ressortir que la longueur est uniforme pour les cônes d'un même arbre mais qu'elle varie significativement d'un arbre à l'autre ($F = 111,97$ et $Pr > F = 0,0001$). De plus, les cônes orthodoxes sont significativement plus longs que les cônes récalcitrants ($F = 54,10$ et $Pr > F = 0,0001$). En fait, on estime que les cônes orthodoxes sont en moyenne 5,8 mm plus longs que les cônes récalcitrants.

Le tableau 2 fait ressortir que le taux de cônes récalcitrants n'influence pas le rendement en graines. Ceci traduit en fait que le traitement de congélation n'est pas en mesure d'extraire davantage de graines de ces cônes que la technique usuelle. Par contre, le pourcentage de germination des graines provenant des cônes récalcitrants congelés est significativement inférieur à celui des graines des cônes récalcitrants témoins (tableau 2). Il n'existe aucune interaction significative à un seuil de 10 % entre le traitement et l'arbre en ce qui concerne le pourcentage de germination.

Tableau 1. Influence de la méthode d'extraction et de l'arbre sur le rendement en graines et sur le pourcentage de germination

Facteur	dl ¹	Variable			
		Nombre de graines extraites		Pourcentage de germination	
		Moyenne des carrés	Pr > F	Moyenne des carrés	Pr > F
Modèle	19	125 061	0,0001	9 785	0,1181
Erreur	20	13 038		5 980	
Arbre	9	5 376	0,0890	864	0,0073
Traitement	1	57 760	0,0050	689	0,0585
Arbre x traitement	9	2 102	0,0140	147	0,8633

¹ Degré de liberté

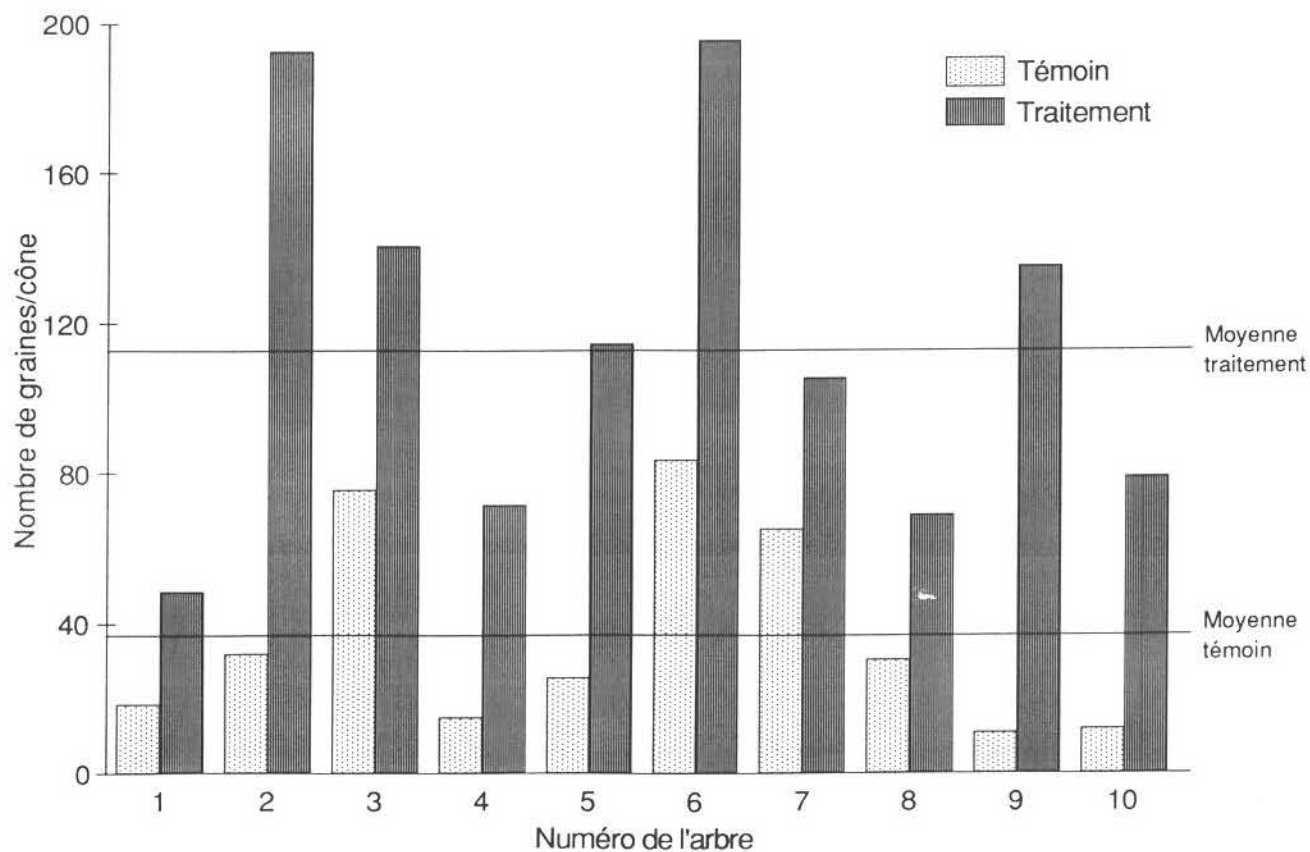


Figure 1. Rendement en graines des cônes de pin rouge selon la technique usuelle d'extraction et le traitement de congélation, pour chacun des arbres.

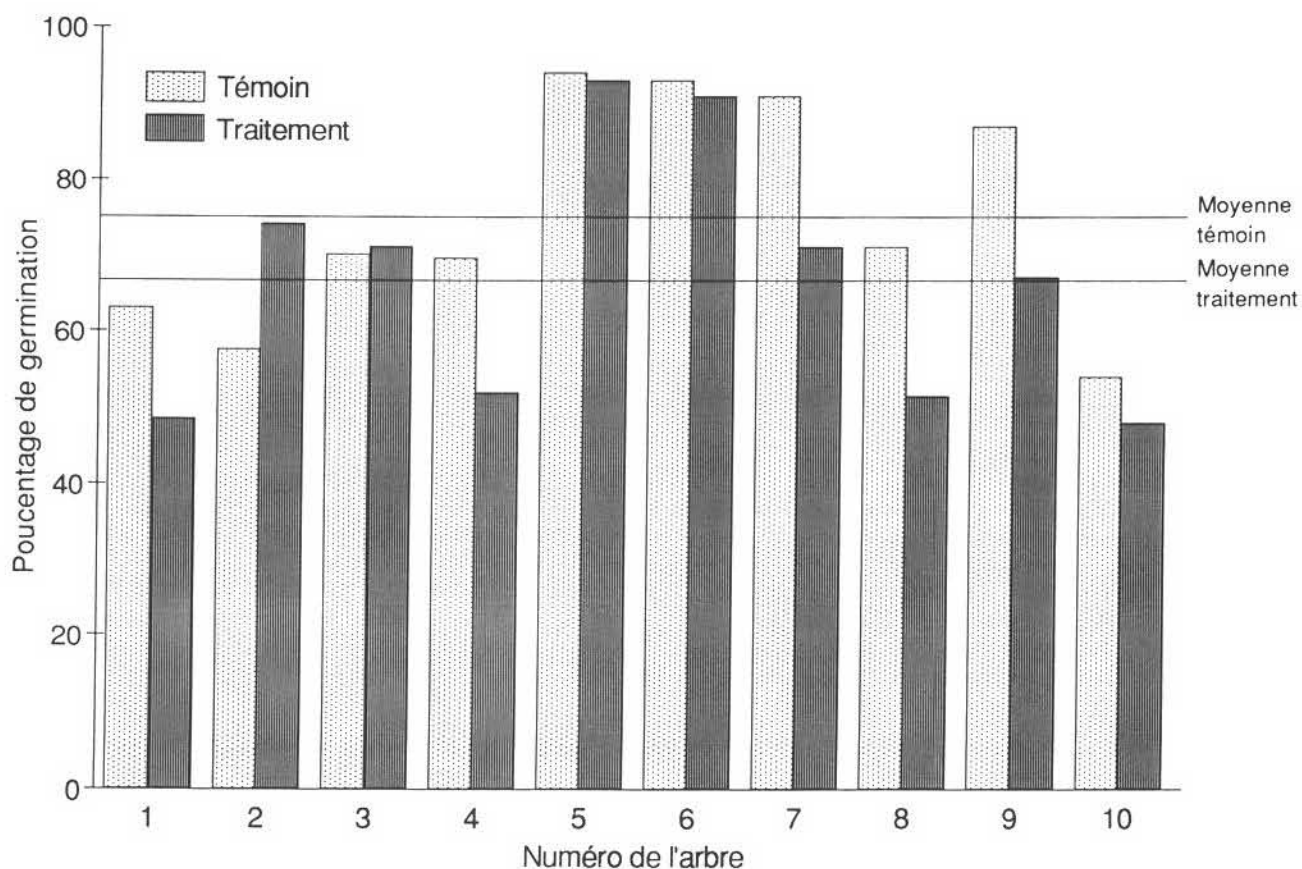


Figure 2. Pourcentage de germination des graines de pin rouge extraites selon la technique usuelle et selon le traitement de congélation, pour chacun des arbres.

Tableau 2. Influence du taux de cônes récalcitrants, de l'arbre et de la méthode d'extraction sur le rendement en graines

Facteur	dl ¹	Variable			
		Nombre de graines extraites		Pourcentage de germination	
		Moyenne des carrés	Pr > F	Moyenne des carrés	Pr > F
Modèle	20	125 326	0,0001	11 227	0,0340
Erreur	19	12 772		4 537	
Taux de cônes récalcitrants	1	266	0,5370	1442	0,0238
Arbre	9			438	0,0776
Traitement	1			657	0,0750
Arbre x traitement	9			162	0,7185

¹ Degré de liberté

Discussion

GRENIER (1992) évalue qu'il est possible d'extraire à grande échelle environ 13 graines par cônes de pin rouge. Cette valeur est trois fois plus faible que celle que nous avons obtenue avec les cônes témoins. Ce phénomène s'explique par le fait que nous avons traité dans cette expérience un nombre plus restreint de cônes. Malgré cette observation, le traitement de congélation s'avère davantage efficace que la technique de séchage usuelle. En fait, cette nouvelle technique permet d'extraire trois fois plus de graines que la technique usuelle et jusqu'à 12 fois dans certains cas.

Cette nouvelle technique est d'autant plus intéressante à utiliser qu'elle n'altère pas significativement le pouvoir germinatif des graines. Le faible écart observé entre les deux techniques peut s'expliquer de deux manières. D'une part, il est possible que les graines de faible vigueur provenant des cônes récalcitrants supportent difficilement les conditions du traitement de congélation. Plus probablement, l'extraction d'une quantité plus importante de graines permet d'obtenir des semences de moins bonne qualité. En ce sens, DAoust (1994) a constaté chez l'épinette blanche que les graines qui ont un meilleur pourcentage de germination s'extrait plus facilement que les graines vides ou de piètre qualité.

Par ailleurs, les pourcentages de germination observés dans cette étude sont supérieurs à ceux mesurés à grande échelle, qui sont estimés à 52 % (GRENIER 1992). Il est également intéressant de remarquer que les pourcentages de germination sont élevés même si la température de séchage est supérieure à celle suggérée par YOUNG et YOUNG (1992). Les graines de pin rouge sont donc beaucoup plus résistantes aux conditions extrêmes (congélation et séchage) que l'on aurait pu le supposer initialement.

Le traitement de congélation n'est pas en mesure d'extraire davantage de graines à partir des cônes récalcitrants que la technique usuelle. Il est probable que ces cônes ont avorté au cours de la saison de croissance ou, du moins, qu'ils ont été infestés et qu'aucune technique ne serait en mesure d'extraire davantage de graines viables de ces cônes.

La longueur moyenne des cônes de pin rouge étudiés dans ce dispositif confirme parfaitement les valeurs mentionnées par GRENIER (1992), qui les situe entre 4 et 5 cm. Cette moyenne tient compte des cônes récalcitrants qui sont statistiquement plus courts que les cônes orthodoxes de 5,8 mm. Toutefois, cet écart de longueur entre les deux types de cônes est si faible qu'il serait difficile de détecter une telle différence à l'oeil nu. Dans cet optique, la longueur des cônes ne peut être considérée comme un bon indicateur de l'état d'un cône. On devrait par conséquent se donner d'autres moyens pour éliminer les cônes récalcitrants. Chose certaine, les cônes récalcitrants sont morphologiquement différents des cônes orthodoxes.

Le traitement de congélation devrait éventuellement être testé à grande échelle, comme c'est le cas à la Sécherie de la Joux (FOURNIER 1986). Il pourrait même être éventuellement pratiqué avec des cônes d'autres espèces difficiles à

faire ouvrir comme par exemple les cônes de mélèze. Il pourrait même être utilisé pour extraire les graines de cônes plus faciles à ouvrir de manière à maximiser les rendements en graines. Une telle avenue devrait être envisagée avec l'avènement des vergers à graines, ou lors de croisements dirigés, caractérisés tous les deux par de faibles quantités de cônes dont les graines ont une grande valeur génétique et économique.

Remerciements

Mes sincères remerciements s'adressent à M. Carol Parent, du Service de l'amélioration des arbres, qui a procédé à la récolte et au traitement des cônes. Je profite également de l'occasion pour souligner la qualité du travail de Mme Lorraine Caouette et M. Silviu Nedelca du Bureau de la statistique du Québec, qui ont réalisé les analyses statistiques des données.

Cette étude s'inscrit dans le cadre du projet de recherche n° 3410-032080 (02-01) du Service de l'amélioration des arbres.

Références

- CARMICHAEL, A.J., 1958. *Determination of the maximum air temperature tolerated by Red pine, Jack pine, White spruce and Black spruce seeds at low relative humidities*. For. Chron. 34 : 387-392.
- DAoust, G., 1994. Communication personnelle. Centre de foresterie des Laurentides, Sainte-Foy, Québec.
- EDWARDS, D.G.W., 1981. *Cone collection and processing effects on seed quality and yield*. Dans : R.F. Huber (éd.). Proc. High-quality Collection and Production of Conifer Seed Workshop, November 14 1979, Edmonton. Information Report NOR-X-235 : 12-37.
- EDWARDS, D.G.W., 1986. *Cone prediction, collection, and processing*. Dans : Proc. Conifer Tree Seed in the Inland Mountain West Symposium, Missoula, MT, August 5-6, 1985 : 78-102.
- ELIASON, E.J. et C.E. HEIT, 1940. *The results of laboratory tests as applied to large scale extraction of Red pine seed*. J. Forest. 38 : 426-429.
- FLEMING, R.L. et V.F. HAAVISTO, 1986. *A case for improving the efficiency of seed extraction from Black spruce [Picea mariana (Mill) B.S.P.] cones*. Tree Planter 37(4) : 7-11.
- FOURNIER, D., 1986. *Traitement et conservation des graines à la Sécherie de la Joux*. Office national des Forêts, Bull. techn. 16 : 41-53.
- GRENIER, J., 1992. *Petit manuel des semences forestières au Québec*. Ministère des Forêts, Direction de l'assistance technique, Service de la production de plants. 59 p.

HELLUM, A.K. et B.S.P. WANG, 1985. *Lodgepole pine seed : seed characteristics, handling and use*. Dans : B.M. Baumgartner (éd.). Proc. of Lodgepole Pine, the Species and its Management Symposium. May 14-16, 1984, Vancouver : 187-197.

KIRK, R.E., 1982. *Experimental design*. 2^e édition. Brook and Cole. 534 p.

MERCIER, S., T. MORISSETTE et D. BLANCHETTE, 1991. *Évaluation des cônes de pin gris en vue de la récolte de semences de qualité*. Ministère des Forêts, Direction de la recherche. Mémoire de recherche forestière n° 101. 42 p.

RIETZ, R.C., 1941. *Kiln design and development of schedules for extracting seed from cones*. U.S.D.A. Techn. Bull. No. 773. 70 p.

YOUNG, J.A. et C.G. YOUNG, 1992. *Seeds of woody plants in North America*. Dioscorides Press, Portland OR. 407 p.



Gouvernement du Québec
Ministère des Ressources
naturelles

ISSN 0834-4833
ISBN 2-550-24330-7
Dépôt légal 1995
Bibliothèque nationale du Québec
Bibliothèque nationale du Canada
© Gouvernement du Québec 1995

RN95-3049