

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES

PAR  
MÉLANIE GAUDREAU  
Bachelière ès sciences (B.Sc)

AMORÇAGE ET SÉPARATION DES GRAINES D'ÉPINETTE NOIRE  
(*PICEA MARIANA* [MILL.] B.S.P.): AMÉLIORATION DE LA  
GERMINATION DES LOTS DE SEMENCES FORESTIÈRES

MAI 2005



### **Mise en garde/Advice**

Afin de rendre accessible au plus grand nombre le résultat des travaux de recherche menés par ses étudiants gradués et dans l'esprit des règles qui régissent le dépôt et la diffusion des mémoires et thèses produits dans cette Institution, **l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** est fière de rendre accessible une version complète et gratuite de cette œuvre.

Motivated by a desire to make the results of its graduate students' research accessible to all, and in accordance with the rules governing the acceptance and diffusion of dissertations and theses in this Institution, the **Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** is proud to make a complete version of this work available at no cost to the reader.

L'auteur conserve néanmoins la propriété du droit d'auteur qui protège ce mémoire ou cette thèse. Ni le mémoire ou la thèse ni des extraits substantiels de ceux-ci ne peuvent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

The author retains ownership of the copyright of this dissertation or thesis. Neither the dissertation or thesis, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

## RÉSUMÉ

Au Québec, l'épinette noire est l'essence la plus utilisée pour le reboisement. Toutefois, les lots employés pour la production des plants forestiers sont de qualité variable. L'intérêt d'améliorer la qualité des lots réside dans la diminution des coûts d'opération des pépinières et une utilisation optimale des graines disponibles. L'objectif général de cette étude est de vérifier l'efficacité de procédés de conditionnement et de sélection des graines dans le but d'améliorer la germination des lots de semences d'épinette noire destinés à la production de plants forestiers. Les expérimentations ont été effectuées sur trois lots de qualité distincte. Dans un premier temps, un traitement d'amorçage dans l'eau a été appliqué. Dans un second temps, des graines ont été séparées selon leur taille et leur densité. Une évaluation quantitative de leur contenu lipidique et protéique a ensuite été réalisée. La germination des semences a été évaluée lors de chaque étape. L'amorçage améliore la vitesse et le pourcentage de germination des semences. Le tamisage et la séparation par densité permettent de discriminer les semences selon leur pourcentage de germination, leur vitesse de germination et leur vigueur. L'impact des techniques de séparation est plus important lorsque la qualité du lot est faible. La séparation par densité est plus efficace que le tamisage pour sélectionner les semences selon leur potentiel de germination. Les quantités de protéines et de lipides contenues dans les semences n'expliquent pas les variations de germination observées entre les graines de tailles et de densités différentes. L'amorçage ne permettrait pas d'améliorer la production de plants en récipients. Toutefois, les techniques de séparation occasionneraient une augmentation de l'uniformité de la production des plants forestiers, si on semait séparément les différentes fractions obtenues. La revalorisation de certains lots de graines d'épinette noire dont le pourcentage de germination est jugé trop faible serait aussi possible en utilisant la séparation densimétrique. Des études ultérieures devraient cependant vérifier si ce traitement apporte des bénéfices à l'ensemble des lots de faible potentiel germinatif et si des résultats semblables peuvent être obtenus dans des conditions de culture réelles.

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Daniel Lord, mon directeur, dont la supervision et les conseils ont été très appréciés. Denis Walsh et Jacques Allaire méritent aussi ma gratitude, en particulier pour leur aide lors de la planification, l'expérimentation et les analyses statistiques. Je remercie également Jean-Pierre Girard (MRNF, Jonquière), qui est l'instigateur du projet, ainsi que le Centre de semences forestières de Berthier du MRNF, pour avoir fourni les semences d'épinette noire nécessaires aux expérimentations. Je voudrais finalement adresser mes remerciements au Consortium de recherche sur la forêt boréale commerciale pour son soutien financier.

## TABLE DES MATIÈRES

<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>II</b>
<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>III</b>
<b>TABLE DES MATIÈRES .....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>VIII</b>
<b>CHAPITRE I .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE II.....</b>	<b>11</b>
<b>MATÉRIEL ET MÉTHODES.....</b>	<b>11</b>
2.1 CARACTÉRISTIQUES DU MATÉRIEL VÉGÉTAL .....	12
2.1.1 Provenance.....	12
2.1.2 Morphologie et masse.....	12
2.1.3 Germination et viabilité.....	13
2.2 AMORÇAGE .....	16
2.2.1 Traitement d'amorçage dans l'eau.....	16
2.2.2 Dispositif expérimental.....	18
2.2.3 Analyses statistiques.....	20
2.3 TAMISAGE ET SÉPARATION DENSIMÉTRIQUE.....	22
2.3.1 Séparation par tamisage.....	22
2.3.2 Séparation par densité.....	23
2.3.3 Dispositif expérimental.....	24
2.3.4 Analyses statistiques.....	25
2.4 ANALYSES BIOCHIMIQUES .....	26
2.4.1 Contenu lipidique.....	26
2.4.2 Contenu protéique.....	27
2.4.3 Analyses statistiques.....	29
<b>CHAPITRE III .....</b>	<b>30</b>
<b>RÉSULTATS .....</b>	<b>30</b>
3.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL .....	31
3.2 AMORÇAGE .....	33
3.2.1 Effet de la température.....	33
3.2.2 Comparaison entre les provenances.....	36
3.2.3 Effet de la durée.....	37
3.2.4 Courbes de germination.....	38
3.2.5 Viabilité des semences non germées .....	40
3.3 SÉPARATION.....	41

3.3.1 Séparation par tamisage .....	41
3.3.2 Séparation par densité .....	49
3.3.3 Viabilité des semences non germées .....	54
3.4 ANALYSES BIOCHIMIQUES .....	58
<b>CHAPITRE IV .....</b>	<b>61</b>
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>61</b>
4.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL .....	62
4.2 AMORÇAGE .....	63
4.2.1 Effet de la température.....	63
4.2.2 Comparaison entre les provenances.....	66
4.2.3 Effet de la durée.....	67
4.3 SÉPARATION .....	71
4.3.1 Séparation par tamisage .....	71
4.3.2 Séparation par densité.....	74
4.4 ANALYSES BIOCHIMIQUES .....	79
<b>CHAPITRE V .....</b>	<b>82</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>82</b>
<b>CHAPITRE VI .....</b>	<b>85</b>
<b>RÉFÉRENCES .....</b>	<b>85</b>
<b>ANNEXE 1 .....</b>	<b>96</b>
<b>PARAMÈTRES DES COURBES DE GOMPERTZ .....</b>	<b>96</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques des lots de graines d'épinette noire utilisés.....	12
Tableau 2. Analyse de variance de la masse, de la longueur et de la largeur des graines d'épinette noire selon leur provenance.....	31
Tableau 3. Masse, longueur et largeur des graines d'épinette noire selon leur provenance. ....	31
Tableau 4. Analyse de variance du pourcentage de germination (GERM), de l'indice de germination maximal (IGMAX), du jour du pic (JPIC) et de la valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon la provenance ainsi que la température et la durée d'amorçage.. ....	34
Tableau 5. Pourcentage de germination des graines d'épinette noire selon la durée et la température d'amorçage. ....	35
Tableau 6. Pourcentage de germination, indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon la température d'amorçage. ....	36
Tableau 7. Pourcentage de germination, indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon la provenance. ....	36
Tableau 8. Indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon la durée d'amorçage. ....	37
Tableau 9. Analyse de variance de la proportion de semences non germées selon la provenance ainsi que la température et la durée d'amorçage.....	40
Tableau 10. Proportion de semences selon la taille du tamis, pour chacune des trois provenances utilisées.....	42
Tableau 11. Analyse de variance de la masse, de la longueur et de la largeur des graines d'épinette noire selon la taille du tamis, pour chacune des trois provenances utilisées.....	43
Tableau 12. Masse, longueur et largeur des graines d'épinette noire selon la taille du tamis, pour chacune des trois provenances utilisées. ....	44
Tableau 13. Analyse de variance du pourcentage de germination (GERM), de l'indice de germination maximal (IGMAX), du jour du pic (JPIC) et de la valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon leur taille et leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines. ....	45

Tableau 14. Pourcentage de germination, indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon leur taille, pour chacune des trois provenances utilisées. ....	46
Tableau 15. Proportion de semences selon la densité, pour chacune des trois provenances utilisées. ....	49
Tableau 16. Pourcentage de germination, indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. ....	50
Tableau 17. Analyse de variance de la proportion de semences non germées selon leur taille et leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines. ....	55
Tableau 18. Analyse de variance de la quantité de protéines et de lipides des graines d'épinette noire selon leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines. ....	58
Tableau 19. Contenu lipidique des graines d'épinette noire selon leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. ....	59
Tableau 20. Contenu en protéines totales, solubles et insolubles des graines d'épinette noire, pour chacune des trois provenances utilisées. ....	60
Tableau 21. Comparaison du contenu lipidique des graines d'épinette noire avec celui de deux autres espèces de conifères. ....	79
Tableau 22. Comparaison du contenu protéique des graines d'épinette noire avec celui d'autres espèces de conifères. ....	80
Tableau 23. Paramètres des équations de Gompertz décrivant l'évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences en fonction du temps, selon la provenance ainsi que la température et la durée d'amorçage. ....	97
Tableau 24. Paramètres des équations de Gompertz décrivant l'évolution du pourcentage de germination cumulatif en fonction du temps, selon la provenance et la taille des semences. ....	98
Tableau 25. Paramètres des équations de Gompertz décrivant l'évolution du pourcentage de germination cumulatif en fonction du temps, selon la provenance et la densité des semences. ....	98



## LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Stade à partir duquel les graines d'épinettes noires étaient dénombrées : présence d'un système racinaire, d'un hypocotyle et de cotylédons normaux..... 15
- Figure 2. Montage expérimental utilisé pour l'amorçage des graines d'épinette noire. La *colonne d'amorçage* est composée d'un cylindre transparent au bas duquel est fixé un entonnoir relié à un diffuseur d'air, permettant ainsi une bonne aération et une agitation constante..... 18
- Figure 3. Schéma d'un bloc du dispositif expérimental utilisé pour l'amorçage. Le dispositif a été répété dans le temps à cinq reprises. L'emplacement des températures et des lots a été attribué de façon aléatoire pour chaque bloc..... 19
- Figure 4. Séparation par densité : a) Les semences sont placées dans une solution de sucrose et débutent leur séparation, b) Après un certain temps, les semences se séparent en deux fractions. Les graines qui flottent sont classées comme étant d'une densité égale ou inférieure à la solution. Les graines qui coulent sont classées comme étant d'une densité supérieure à celle de la solution..... 24
- Figure 5. Évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences selon la provenance. La fonction de Gompertz a servi à tracer les courbes. Les paramètres des équations sont présentés en annexe (Tableau 23; témoins)..... 32
- Figure 6. Nombre de semences non germées retrouvées dans chaque catégorie, selon la provenance. Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon..... 33
- Figure 7. Effet de la température et de la durée d'amorçage sur l'évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences des trois provenances utilisées. La fonction de Gompertz a servi à tracer les courbes. Les paramètres des équations sont présentés en annexe (Tableau 23)..... 39
- Figure 8. Proportion de semences non germées retrouvées dans chaque catégorie suite au traitement d'amorçage, selon la provenance. Nombre total de graines non germées : 31,8 % (Y45), 21,5 % (L63) et 4,5 % (K13). Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine

complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon. ....	41
Figure 9. Effet du tamisage sur l'évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences des trois provenances utilisées. La fonction de Gompertz a servi à tracer les courbes. Les paramètres des équations sont présentés en annexe (Tableau 24). ....	48
Figure 10. Effet de la séparation densimétrique sur l'évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences des trois provenances utilisées. La fonction de Gompertz a servi à tracer les courbes. Les paramètres des équations sont présentés en annexe (Tableau 25). ....	53
Figure 11. Proportion des semences non germées retrouvées dans chaque catégorie selon leur taille, pour chacune des trois provenances utilisées. Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon. ....	56
Figure 12. Proportion des semences non germées retrouvées dans chaque catégorie selon leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon. ....	57

## **CHAPITRE I**

### **INTRODUCTION**

Une production de plants forestiers rentable exige une germination des semences qui est la plus rapide, uniforme et complète possible. Toutefois, lorsque les semences utilisées sont de qualité variable, cet objectif n'est pas toujours atteint. On doit alors procéder à l'éclaircie et au repiquage des plants, afin de s'assurer que le taux d'occupation des alvéoles soit maximal (Carlson, 1981), qu'il y ait uniformité de croissance et que les semis produisent des plants qui respectent les critères de qualité nécessaires au reboisement (MRNF, 2005). Mais cette manière d'opérer occasionne des coûts supplémentaires pour les pépiniéristes (Wenny, 1993). Alors, pour limiter l'ampleur des sommes investies dans cette étape, on n'utilise que les lots de semences qui ont un pourcentage de germination assez élevé. Ceci provoque une perte de diversité biologique, ainsi qu'une perte monétaire additionnelle dû au non-usage de certaines semences (El-Kassaby, 2000).

L'entreposage des semences est un autre élément essentiel à la production de plants forestiers. Il permet de compenser les années de faible récolte et d'assurer aux pépiniéristes un approvisionnement constant en semences de qualité (MRNF, 2005). Toutefois, il est reconnu que la germination des graines diminue avec le temps, même dans des conditions environnementales idéales et constantes (Roos, 1980; Mayer et Poljakoff-Mayber, 1989; Bewley et Black, 1994; Hilli et al., 2003). Les principales lésions métaboliques pouvant survenir durant le stockage sont la peroxydation des lipides, la perte de l'intégrité membranaire, la diminution de l'activité enzymatique, la réduction de la synthèse protéique et les dommages à l'ADN. Tous ces facteurs perturbent le métabolisme des graines, causant des irrégularités allant de la simple réduction de la vitesse de germination, à l'incapacité

d'initier les processus nécessaire à sa réalisation (Mayer et Poljakoff-Mayber, 1989; Bewley et Black, 1994). De plus, comme le métabolisme des semences est réduit durant l'entreposage à basse température, la réparation cellulaire et le remplacement des cellules mortes s'effectuent de manière moins efficace (Roos, 1980; Bradbeer, 1992). Un entreposage de longue durée affecte donc la vitesse, l'uniformité et le potentiel de germination des lots, ce qui peut entraîner l'arrêt de leur utilisation au cours des années si leur qualité ne permet plus de réaliser une production en pépinière rentable.

Au Québec, c'est le Centre de semences forestières de Berthier (CSFB)<sup>1</sup> qui assure le traitement, l'entreposage et la distribution des semences aux producteurs de plants destinés au reboisement. Les graines proviennent principalement de vergers, mais elles sont aussi recueillies en forêt naturelle (MRNF, 2005). Afin d'assurer la rentabilité de la production des plants en récipients, seuls les lots de semences qui ont un pourcentage de germination supérieur à 80 % sont distribués aux pépiniéristes (CSFB, comm. pers.). Chaque année, plus de 150 millions de plants sont produits et mis en terre. L'épinette noire (*Picea mariana* [Mill.] B.S.P.) représente plus de 60 % de ce nombre, ce qui en fait l'essence la plus fréquemment utilisée dans le cadre du programme de reboisement québécois (Parent et Fortin, 2003).

---

<sup>1</sup> Ministère des Ressources naturelles de la Faune du Québec (MRNF)

Considérant l'importance de l'épinette noire et les conséquences associées à l'utilisation de lots dont la qualité n'est pas optimale, il est primordial de développer des techniques permettant d'améliorer la germination des semences de cette espèce. L'augmentation de la qualité des lots de semences forestières permettrait alors la diminution des coûts d'opération occasionnés par les étapes de l'éclaircie et du repiquage, tout en assurant une utilisation optimale des lots de graines disponibles (Malek, 1992; Downie et al., 1993; Wenny, 1993). Elle permettrait aussi la rentabilisation des sommes investies pour la création des vergers (Colas et Pelletier, 2003), ainsi que celles engagées lors de l'entreposage et la récolte des semences.

L'application d'un traitement permettant de modifier le déroulement de la germination est une façon de hausser la qualité des lots de graines. L'amorçage est une technique d'hydratation qui consiste à faire tremper les semences dans l'eau ou une solution, dans des conditions qui ne permettent pas l'expansion de la radicule (Bettez et al., 1996). Ce terme rassemble plusieurs procédés qui peuvent être séparés en deux groupes, selon la manière dont l'eau est accessible aux semences. Dans le premier groupe, la disponibilité en eau est contrôlée; les semences ne peuvent donc pas atteindre le degré d'hydratation nécessaire à leur germination, ce qui prévient l'expansion de la radicule. Dans le second groupe, l'apport en eau n'est pas restreint; la germination est alors contrôlée par la régulation de la température ou de la durée de trempage (Taylor et al., 1998).

En permettant l'initiation des activités métaboliques dans les graines, l'amorçage occasionne une hausse de la vitesse, de l'uniformité et du potentiel de germination des semences d'une multitude d'espèces végétales (Bradford, 1986; Hill et al., 1989; Rowse, 1996; McDonald, 1998), incluant les conifères (Bourgeois et Malek, 1991; Downie et Bergsten, 1991a; Bergsten, 1993; Downie et al., 1993; Brand et Riov, 1999). Les effets rapportés sont toutefois très variables entre les espèces, les variétés, les lots de graines et les conditions de traitement. Le traitement d'amorçage pourrait aussi favoriser la réparation des dommages physiologiques subis durant l'entreposage (Copeland et McDonald, 1995; Wang et Berjak, 2000).

Peu d'études montrent les conséquences des différentes techniques d'hydratation sur la germination des semences d'épinette noire. Selon Flemming et Lister (1984), un amorçage des graines d'épinette noire réalisé en présence d'un agent osmotique, le polyéthylène glycol (PEG), permet l'amélioration de la vitesse de germination et de la vigueur des graines. Cependant, l'uniformité de la germination et le nombre total de graines germées ne sont pas affectés. Downie et al. (1993) ont montré que le PEG n'améliorait pas le pourcentage de germination des semences d'épinette noire et que l'uniformité et le pourcentage de germination n'étaient pas modifiés en présence d'une quantité limitée d'eau. D'après Rudolf (1950), un amorçage dans l'eau froide permet une augmentation de la vitesse de germination des graines d'épinette noire. Malek (1992) a aussi effectué des traitements d'amorçage de la germination sur les semences d'épinette noire. Les graines étaient soumises à trois types de traitements différents, soit le PEG, une solution de sels et

un amorçage dans l'eau. Seul l'amorçage dans l'eau était bénéfique à la germination; il permettait d'accélérer l'émergence des semis et de réduire le temps de production des plants produits en pépinière d'environ une semaine.

Les procédures de sélection et d'élimination sont une autre manière d'améliorer la qualité des lots de graines. En effet, ces derniers contiennent généralement un certain nombre de semences vides, mortes ou de faible viabilité. En séparant les semences qui ont une mauvaise germination de celles qui germent bien, il est possible d'augmenter la qualité globale des lots de graines. La discrimination des semences est souvent réalisée sur la base de leurs propriétés physiques comme la taille, la masse et la densité (Taylor et al., 1998).

La technique de séparation densimétrique, ou séparation par flottation, peut être réalisée en utilisant des liquides d'une densité plus faible que l'eau pour séparer les semences déshydratées selon leur densité (Simak, 1973). Ce procédé a été utilisé sur les graines de plusieurs conifères. Les différentes recherches ont permis de constater que la séparation par flottation était inefficace chez certaines espèces vu la trop faible différence de densité entre les graines vides et pleines. Pour d'autres espèces, la séparation donnait de bons résultats (McLemore, 1965; Brown, 1967; Lebrun, 1967; Simak, 1973). Cette technique ne permet toutefois pas de différencier les semences pleines et vivantes de celles qui sont pleines et mortes.



D'autres procédés de séparation densimétrique se sont montrés d'une plus grande efficacité que ceux se basant uniquement sur les propriétés physiques des semences déshydratées. La technique IDS (Incubation, Déshydratation, Séparation) utilise les différences entre les propriétés physiologiques des graines mortes et vivantes pour réaliser leur séparation (Bergsten, 1993). Lorsqu'elles sont imbibées et ensuite soumises à une période de déshydratation, les semences viables retiennent l'eau imbibée durant une plus longue période que les semences non viables, ce qui permet de les séparer selon leur densité. Cette technique a montré son efficacité chez l'épinette blanche (*Picea glauca* [Moench] Voss), le pin blanc (*Pinus strobus* L.), le pin gris (*Pinus banksiana* Lamb.) et le pin tordu (*Pinus contorta* Dougl. Ex Loud.), permettant une augmentation importante du pourcentage de germination des lots de semences forestières suite à l'élimination des graines de faible qualité (Simak, 1984; Downie et Bergsten, 1991b; Downie et Wang, 1992; Bergsten, 1993).

Les propriétés physiologiques des graines en cours d'imbibition ou de germination sont aussi utilisées pour séparer les semences de diverses qualités selon leur densité. Cette technique se base sur l'existence de différences dans la vitesse d'imbibition des graines viables, non viables et vides. Les semences dont le degré d'imbibition n'est pas le même ont une densité différente, ce qui permet leur discrimination (Simak, 1973; Hill et al., 1989). Simancik (1965) a montré que le tri densimétrique des graines imbibées permet d'augmenter la qualité des lots de plusieurs conifères (*Pinus sylvestris* L., *Pinus nigra* Arnold, *Larix decidua* Mill., *Picea abies* [L.] Karst., *Thuja orientalis* L.), car les graines de

plus grande qualité sont celles dont la densité est la plus élevée. Hill et al. (1989) ont aussi montré que la qualité des lots de certaines espèces agricoles peut être améliorée en séparant les graines par densité, après un traitement d'hydratation préalable. Dans cette étude, les semences de masse volumique élevée affichaient un meilleur pourcentage de germination et, dans certains cas, une meilleure uniformité et rapidité d'émergence de la radicule. Dans le même ordre d'idées, les travaux de Khademi et al. (1993) révèlent que le pourcentage de germination et la vigueur des semences imbibées de primevère (*Primula acaulis* [L.] Hill.) augmentent avec leur densité. Finalement, South et Young (1994) ont montré qu'il est possible de sélectionner les semences viables et non viables de pins et d'eucalyptus (*Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden) par une séparation densimétrique réalisée après l'imbibition des graines. Pour que la séparation soit réussie, les auteurs mentionnent que les graines doivent préalablement être triées selon leur taille et leur poids. Dans les pépinières où il est utilisé, ce procédé permet d'augmenter de façon importante le pourcentage de germination des lots de graines et élimine la nécessité du semis multiple.

De nombreuses études effectuées en agriculture montrent que la composition interne des graines est liée aux écarts de germination observés entre les semences de différentes densités. En effet, on a prouvé que les semences de haute densité avaient une plus grande vigueur (Roos, 1980; Hill et al., 1989). On a aussi montré que les graines qui affichent une meilleure germination et qui produisent les semis les plus vigoureux étaient celles qui contenaient le plus de substances de réserve (Bartee et Krieg, 1974; Ayers et al., 1976; Abdul-Baki, 1980). Ceci laisse croire que les semences de haute densité pourraient être de

meilleure qualité dû à leurs réserves nutritives. Les travaux de Khademi et al. (1993) indiquent justement que la quantité de protéines solubles semble être responsable des écarts de vigueur observés chez les semences de primevère de différentes densités. Lors de la germination, les enzymes déjà présents dans les graines métabolisent les substances de réserve, qui sont alors absorbées par l'embryon pour lui permettre de se développer jusqu'à ce qu'il devienne autotrophe (Raven et al., 1991; Taiz and Zeiger, 1992). On peut alors comprendre l'importance de la quantité de réserves nutritives retrouvées dans une graine. On rapporte finalement que chez le blé (*Triticum aestivum* L. cv. Logan), le ratio entre les protéines et l'amidon permet d'expliquer directement le mécanisme de la séparation densimétrique, puisque ces deux composantes ont une densité relative différente (Roos, 1980). Chez les conifères, les substances de réserve des graines sont principalement constituées de lipides et de protéines (Groome et al., 1991; Stone et Gifford, 1997). Ces deux composantes pourraient donc expliquer les différences de germination obtenues lors d'une séparation par densité.

Afin de pouvoir comparer différents lots ou diverses techniques de conditionnement, on doit procéder à une évaluation de la faculté germinative des semences selon une procédure uniforme. Un *test de germination* permet ainsi d'obtenir des informations sur le déroulement de la germination d'un groupe de graines (ISTA, 1999). La germination cumulative d'une population de semences se produit généralement selon une courbe sigmoïde (Bewley et Black, 1994; Farmer, 1997). On observe tout d'abord une période de latence durant laquelle aucune semence ne germe, suivie d'une augmentation rapide du

nombre de graines qui entrent en germination et, finalement, une décroissance progressive de la quantité de semences germées. Plusieurs manières d'évaluer de manière objective les informations obtenues lors des tests de germination sont rapportées dans la littérature (Scott et al., 1984). L'une d'elle consiste à calculer des indices représentant le pourcentage, l'uniformité et la vitesse de germination des semences, ainsi que leur vigueur (Czabator, 1962).

L'objectif général de cette étude est donc de vérifier l'efficacité de techniques de conditionnement et de sélection des semences d'épinette noire, dans le but d'améliorer la germination des lots destinés à la production commerciale de plants forestiers. Les objectifs spécifiques sont 1) l'amélioration de la germination des semences grâce à l'amorçage dans l'eau, 2) la discrimination et l'élimination des semences de faible potentiel germinatif par le tamisage et la séparation densimétrique. Afin de vérifier l'existence d'une relation entre le contenu lipidique et protéique des semences et le déroulement de la séparation par densité, des analyses biochimiques ont aussi été effectuées.

## **CHAPITRE II**

### **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## 2.1 CARACTÉRISTIQUES DU MATÉRIEL VÉGÉTAL

### 2.1.1 Provenance

Trois lots de graines d'épinette noire (*Picea mariana* [Mill.] B.S.P.) provenant du domaine de la pessière noire à mousses (région écologique 12B) ont été fournis par le Centre de semences forestières de Berthier (CSFB) (Tableau 1). Deux des lots ont été récoltés en forêt naturelle, en 1982 et en 1986, alors que les semences du troisième lot ont été recueillies en 1996 dans un verger à graines.

Tableau 1. Caractéristiques des lots de graines d'épinette noire utilisés.

Lot	Lieu de récolte	Code d'identification	Unité de gestion	Région écologique <sup>1</sup>	Lat	Long.	Année de récolte	% <sup>2</sup>
Y45	Naturel	EPN-NI-12B-Y45-024-86	24	12B	49°35"	71°30"	1986	77 %
L63	Naturel	EPN-NI-12B-L63-025-82	25	12B	49°15"	73°15"	1982	85 %
K13	Verger	EPN-V7-025-K13-026-96	26	12B	49°50"	74°50"	1996	97 %

<sup>1</sup> D'après Thibault (1987).

<sup>2</sup> Pourcentage de germination estimé par le Centre de semences forestières de Berthier (CSFB).

### 2.1.2 Morphologie et masse

Pour chaque lot, trois échantillons de 30 graines ont été prélevés de façon aléatoire. La longueur et la largeur de chacune des semences ont été mesurées à l'aide du logiciel MacSEED™ (Regent Instruments inc., 1998), tandis que la masse a été obtenue à l'aide d'une balance électronique Mettler MT5, à une précision de  $\pm 0,001$  mg.

Un test de Bartlett a permis de vérifier l'homoscédasticité des données. Une analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour comparer la longueur, la largeur et la masse des graines des trois provenances. La procédure GLM de SAS (SAS Institutes inc., 1990) a été employée pour un dispositif complètement aléatoire. Les moyennes ont ensuite été comparées par des tests de comparaisons multiples de Tukey (Kirk, 1995), au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ .

### **2.1.3 Germination et viabilité**

Le lit de germination était constitué de serviettes de papier Kimpack® humidifiées avec de l'eau déminéralisée et placées dans des boîtes de germination de plastique transparent (Wang et Ackerman, 1983). Les tests de germination ont été effectués dans des chambres à environnement contrôlé Conviron® CPM3023. L'humidité relative était maintenue à près de 100 % et la photopériode jour/nuit était de 16 h/8 h. Les températures étaient de 28 °C durant 8 h et de 20 °C durant 16 h, la période de jour couvrant celle où la température était la plus élevée. L'éclairage était fourni par des lampes fluorescentes à une densité du flux de photons photosynthétiques de  $18 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ . Une évaluation journalière de la germination était effectuée sur une période de 21 jours. Ces conditions de germination étaient les mêmes que celles prescrites pour l'épinette noire par l'Association internationale d'essais sur les semences (ISTA, 1999). Les tests de germination ont été effectués sans stratification préalable puisque les semences d'épinette noire sont

considérées non dormantes lorsque leur germination est effectuée en présence de lumière (Bettez et al., 1996; Farmer et al., 1984).

Lors des vérifications journalières, les plantules étaient évaluées selon le critère suivant : présence d'un système racinaire complet, d'un hypocotyle et de cotylédons bien développés. Ce critère a été préféré à la seule présence d'une radicule, car il montrait que la graine aurait permis le développement d'un semis normal dans des conditions de culture réelles (Wang, 1973; Bettez et al., 1996). L'ISTA (1999) mentionne aussi que lors d'un test de laboratoire, la germination d'une graine se définit par « l'émergence et le développement du semis, jusqu'à un stade où ses structures essentielles indiquent qu'il serait capable de se développer en un plant satisfaisant, dans des conditions favorables ». De plus, ce critère est aussi celui utilisé par le CSFB du ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec (MRNF) lors de la réalisation de ses tests de germination (Bettez et al., 1996). Un dénombrement des plantules était donc effectué lorsque les cotylédons devenaient visibles, c'est-à-dire lorsque des plantules émergées étaient observées (Figure 2). Les semences ayant débuté leur germination mais n'ayant pu former une plantule complète avant la fin du test étaient considérées comme des graines produisant des « semis peu vigoureux ».

Suite à l'évaluation de la germination, la viabilité des graines n'ayant pas débuté leur germination (pas de radicule) a été déterminée par un test au tétrazolum (Grabe, 1970; ISTA, 1999). Cette technique colorimétrique permet d'identifier les tissus vivants des graines suite à un trempage dans une solution de chlorure de tétrazolum.



Les semences pouvaient alors être séparées en catégories, selon leur viabilité. Certaines avaient un embryon et un endosperme vivants et normaux; elles étaient classées comme étant « viables ». D'autres graines étaient « non viables » puisque leur embryon n'était pas vivant ou que certaines de leurs composantes étaient anormales. Finalement, les semences complètement vides (pas d'endosperme ni d'embryon) ou celles contenant un endosperme sans embryon étaient classées « vides ».

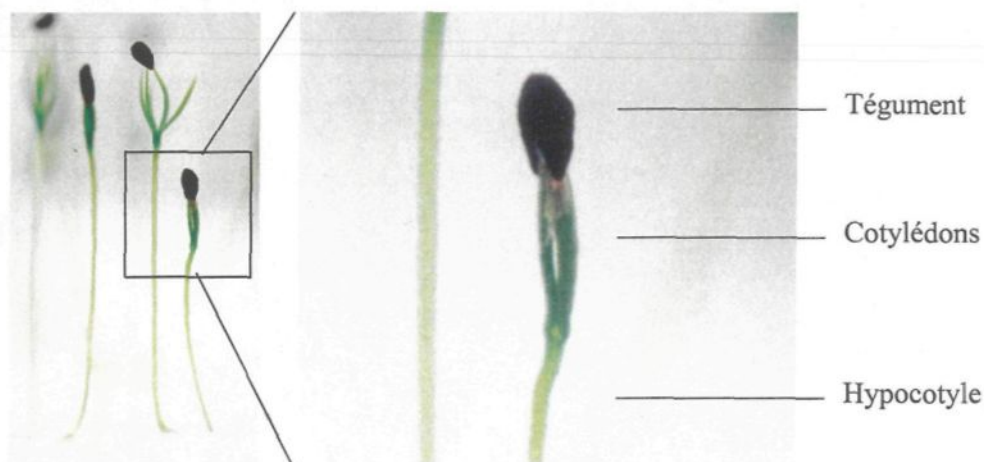


Figure 1. Stade à partir duquel les graines d'épinette noire étaient dénombrées : présence d'un système racinaire, d'un hypocotyle et de cotylédons normaux.

Les tests de germination ont permis de calculer quatre indices décrivant le déroulement de la germination des graines, soit le pourcentage de germination, l'indice de germination, le jour du pic et la valeur germinative (Czabator, 1962).

1. **Pourcentage de germination** =  $(\text{Nombre de graines germées} / \text{nombre de graines semées}) \times 100$

2. **Indice de germination (IG)** =  $\text{Nombre cumulatif de graines germées} / \text{nombre de jour depuis le début du test}$

3. **Jour du pic (JPIC)** = Jour où l'indice de germination est maximal

4. **Valeur germinative (VG)** = Indice de germination maximal  $\times$  (nombre total de graines germées / 21)

Le pourcentage de germination, aussi appelé potentiel de germination ou capacité germinative, montre dans quelle proportion le lot de graines a complété sa germination. L'indice de germination représente la vitesse de germination quotidienne moyenne de la composante vigoureuse d'un lot de graine, soit les graines qui germent entre le début de la courbe de germination et son point d'inflexion. Il indique si les semences germent rapidement et de manière synchronisée. Le jour du pic correspond à la journée où l'indice de germination est maximal et coïncide avec le point d'inflexion de la courbe de germination; il quantifie la rapidité avec laquelle un lot effectue sa germination. La valeur germinative intègre, dans un même paramètre, la vitesse et la capacité germinative des semences. Elle exprime la vigueur d'un lot et procure une indication de sa qualité (Czabator, 1962). La vigueur se définit comme étant « l'ensemble des propriétés qui caractérisent l'uniformité et la rapidité de l'émergence, ainsi que le potentiel de développement normal du semis, dans une grande variété de conditions environnementales » (AOSA, 1983).

## 2.2 AMORÇAGE

### 2.2.1 Traitement d'amorçage dans l'eau

L'amorçage consistait à faire tremper les graines dans l'eau déminéralisée, continuellement aérée (Boyer et al., 1988; Hill et al., 1989; Malek, 1992). Le dispositif

employé pour réaliser le traitement était semblable à celui présenté par Akers et Holley (1986). Chaque *colonne d'amorçage* était constituée d'un cylindre d'acrylique transparent au bas duquel était fixé un entonnoir relié à un diffuseur d'air (Figure 1). Le diffuseur permettait de maintenir élevée la teneur en oxygène de l'eau afin d'éviter une anaérobiose qui aurait pu avoir des impacts négatifs sur les semences (Bodsworth et Bewley, 1981; McDonald, 1998). L'entonnoir permettait aux graines de circuler continuellement à l'intérieur de la colonne, sans accumulation aux abords du diffuseur.

Les colonnes d'amorçage étaient situées à l'intérieur de chambres à environnement contrôlé Conviron® CPM3023 afin de maintenir l'eau à une température constante ( $\pm 0,1$  °C). L'éclairage était continu et fourni par des lampes fluorescentes à une densité du flux de photons photosynthétiques de  $18 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ .

Après le traitement d'amorçage dans l'eau, les semences ont été placées sur du papier filtre pour un séchage en surface. Elles ont ensuite été soumises aux conditions des tests de germination (Section 2.1.3).

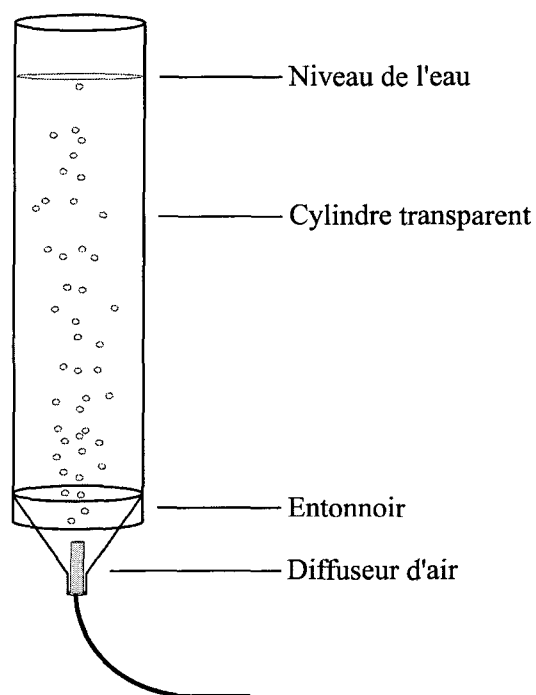


Figure 2. Montage expérimental utilisé pour l'amorçage des graines d'épinette noire. La colonne d'amorçage est composée d'un cylindre transparent au bas duquel est fixé un entonnoir relié à un diffuseur d'air, permettant ainsi une bonne aération et une agitation constante.

### 2.2.2 Dispositif expérimental

Quatre durées d'amorçage (0 h, 24 h, 48 h et 72 h) et trois températures de l'eau (5, 10 et 15 °C) ont été étudiées sur trois lots de graines (Y45, L63 et K13). L'expérience a été réalisée selon un dispositif en tiroirs subdivisés ou *split-split-plot* (Little et Hill, 1978) et est représentée de façon schématique à la Figure 3. Puisque plusieurs chambres de croissance ont été utilisées, un dispositif par bloc a permis de s'assurer que les conditions environnementales (luminosité et température) auxquelles étaient soumises les semences étaient uniformes durant toute l'expérimentation.

Trois chambres à environnement contrôlé Conviron® ont été utilisées simultanément. Chacune des chambres était réglée à une température différente (5, 10, 15 °C) qui lui avait été attribuée de façon aléatoire. Une chambre correspondait donc à une parcelle principale.

Chacune des chambres contenait trois colonnes d'amorçage. Chaque colonne contenait un lot de graines de provenance différente (K13, L63, Y45) qui lui avait été attribué de façon aléatoire. Une colonne correspondait donc à une sous-parcelle expérimentale.

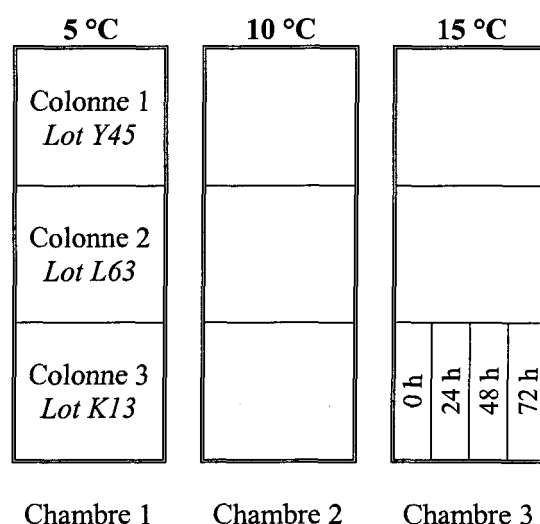


Figure 3. Schéma d'un bloc du dispositif expérimental utilisé pour l'amorçage. Le dispositif a été répété dans le temps à cinq reprises. L'emplacement des températures et des lots a été attribué de façon aléatoire pour chaque bloc.

Un échantillon de 100 graines (l'unité expérimentale) était prélevé dans chacune des colonnes, après une durée d'amorçage déterminée (0 h, 24 h, 48 h et 72 h). La durée d'amorçage correspondait donc à une sous-sous-parcelle expérimentale. Pour effectuer le

prélèvement, toutes les semences étaient retirées de la colonne d'amorçage. L'unité expérimentale (100 graines) était alors sélectionnée de manière aléatoire et le reste de l'échantillon était ensuite remis dans les colonnes pour continuer le traitement jusqu'au prochain prélèvement. Les graines n'ayant subi aucun traitement d'amorçage (durée 0 h) étaient soumises directement aux conditions des tests de germination et ont servi de témoin.

Pour l'évaluation de la germination, chacune des boîtes contenait les graines provenant d'une combinaison température  $\times$  lot différente. Les graines obtenues à la suite des quatre durées d'amorçage se retrouvaient à l'intérieur d'une même boîte, pour un total de 400 graines ( $4 \times 100$ ) par boîte. Les boîtes ont été distribuées dans les cabinets de croissance de façon aléatoire, selon le dispositif utilisé pour l'amorçage.

Ce dispositif, qui correspondait à un bloc, a été répété dans le temps à cinq reprises. L'expérience était donc constituée de 5 blocs  $\times$  3 températures  $\times$  3 lots  $\times$  4 durées, soit 180 unités expérimentales de 100 graines. Pour l'évaluation de la viabilité, seuls trois blocs ont pu être utilisés; l'expérience était donc composée de 3 blocs  $\times$  3 températures  $\times$  3 lots  $\times$  4 durées, soit 108 unités expérimentales de 100 graines.

### **2.2.3 Analyses statistiques**

Un test de Bartlett a permis de vérifier l'homoscédasticité des données. Certaines variables ont été transformées pour assurer l'homogénéité des variances; les analyses statistiques ont donc été effectuées sur l'arc sinus de la racine carrée du pourcentage de

germination et sur le logarithme en base 10 du jour du pic (Sokal et Rohlf, 1981). Une analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour comparer l'effet des températures, des lots, des durées d'amorçage et de leurs interactions sur les différents indices décrivant la germination. La somme des carrés des écarts a été partitionnée en contrastes polynomiaux afin de comparer entre eux les différents niveaux de température et de durée d'amorçage, ainsi que les trois lots. La procédure GLM de SAS (SAS Institute inc., 1990) a été employée pour un dispositif par bloc en tiroirs subdivisés (*split-split-plot*). Les analyses ont été réalisées en tenant compte des recommandations de Gates (1991) concernant les expériences factorielles incluant un niveau zéro. En effet, les graines qui subissaient un traitement d'une durée de 0 h n'étaient soumises à aucune température d'amorçage, car elles passaient directement à l'étape de l'évaluation de la germination. Ceci créait donc la nécessité de soustraire des degrés de liberté aux termes d'interaction incluant la température et la durée, au profit du terme d'erreur de la sous-sous-parcelle. Les moyennes étaient jugées différentes au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ .

L'évolution du pourcentage de germination en fonction du temps a été calculée en utilisant le modèle de croissance non linéaire de Gompertz :

$$Y = a \times \exp^{-\exp\left(\frac{x-c}{b}\right)}$$

Dans cette fonction, « Y » correspond au pourcentage de germination cumulatif prédit et « a » représente la valeur théorique maximale, ou asymptote, du pourcentage de

germination. Le paramètre « b » détermine la forme de la courbe, le paramètre « c » positionne la courbe le long de l'axe horizontal et « x » est le nombre de jour depuis le début de la germination. La fonction de Gompertz produit une courbe sigmoïde qui est asymétrique par rapport à son point d'inflexion (Draper et Smith, 1998; Tipton, 1984). La méthode Gauss-Newton du logiciel JMP<sup>®</sup> est la technique itérative qui a permis d'obtenir la convergence des courbes (SAS Institute inc., 2000).

## **2.3 TAMISAGE ET SÉPARATION DENSIMÉTRIQUE**

### **2.3.1 Séparation par tamisage**

Le tamisage a été réalisé avec trois tamis ayant des orifices circulaires de diamètre différent, soit 1,20 mm, 1,30 mm et 1,40 mm. Pour chacun des lots, trois échantillons de semences prélevés de manière aléatoire ont été placés sur les tamis qui étaient empilés en ordre croissant de diamètre d'orifice. Le tamisage a ensuite été réalisé par agitation mécanique, pour une durée de deux heures. Les semences de chacun des lots de graines ont donc été séparées en quatre fractions, selon leur taille: plus petites que 1,20 mm, de 1,20 à 1,30 mm, de 1,30 à 1,40 mm et plus grandes que 1,40 mm.

Dans chacune des fractions, un échantillon de 30 graines a été prélevé de façon aléatoire. La longueur et la largeur de chacune des semences ont été mesurées à l'aide du logiciel MacSEED<sup>TM</sup> (Regent Instruments inc., 1998), tandis que la masse a été obtenue à l'aide d'une balance électronique Mettler MT5, à une précision de  $\pm 0,001$  mg.



### 2.3.2 Séparation par densité

Des semences tamisées ont été amorcées à une température de 15 °C pendant 48 heures. Le choix de ces paramètres était en accord avec les résultats obtenus lors de l'expérimentation portant sur les conditions d'amorçage (Section 2.2).

Des solutions de sucrose ont été utilisées pour séparer les semences amorcées en quatre classes de densité : plus petit que 1,08 g·cm<sup>-3</sup>, de 1,08 à 1,10 g·cm<sup>-3</sup>, de 1,10 à 1,12 g·cm<sup>-3</sup> et plus grand que 1,12 g·cm<sup>-3</sup>. La densité des solutions a été vérifiée à l'aide d'un hydromètre.

Pour effectuer la séparation densimétrique, les graines ayant subi un traitement d'amorçage ont été placées dans des solutions de densité croissante, selon une technique adaptée de Hill et al. (1989), à l'aide d'un montage analogue à celui utilisé par Downie et Bergsten (1991b) (Figure 4). Lorsque les graines étaient mises dans une solution, deux fractions étaient formées. La fraction qui flottait était classée comme étant d'une densité égale ou inférieure au liquide. La fraction qui coulait était classée comme étant d'une densité plus grande que le liquide. Cette dernière était recueillie et transférée dans des solutions plus concentrées, jusqu'à ce qu'une classe de densité ait été attribuée à toutes les graines.

Après la séparation, les semences ont été rincées avec de l'eau courante déminéralisée durant 2 minutes, afin d'éliminer toute trace de sucrose. Elles ont ensuite été placées sur du

papier filtre pour un séchage en surface d'environ une heure. Une partie des semences a ensuite été soumise aux conditions des tests de germination, alors que l'autre était utilisée pour les analyses biochimiques (Section 2.4).

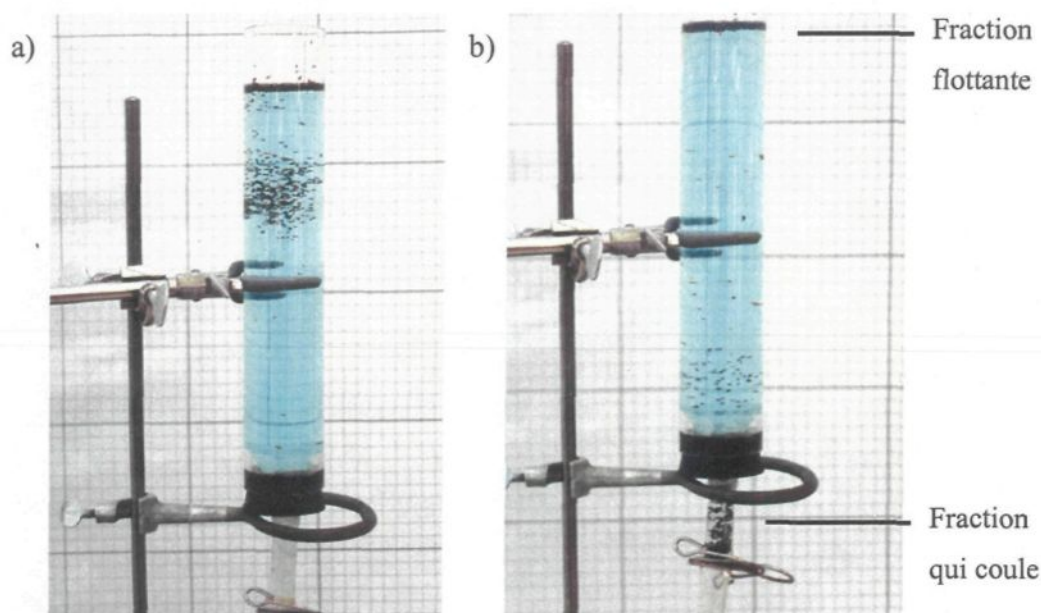


Figure 4. Séparation par densité : a) Les semences sont placées dans une solution de sucrose et débutent leur séparation, b) Après un certain temps, les semences se séparent en deux fractions. Les graines qui flottent sont classées comme étant d'une densité égale ou inférieure à la solution. Les graines qui coulent sont classées comme étant d'une densité supérieure à celle de la solution.

### 2.3.3 Dispositif expérimental

Chacun des trois lots de graines a été traité de façon indépendante. Une chambre à environnement contrôlé Conviron®, contenant quatre colonnes d'amorçage, a été utilisée pour réaliser le traitement. Chaque colonne contenait un échantillon de graines de taille différente, obtenu par tamisage, qui lui avait été attribué de façon aléatoire.

Pour l'évaluation de la germination, les graines séparées en quatre classes de densité se retrouvaient à l'intérieur d'une même boîte, pour un total de 400 graines ( $4 \times 100$ ) par boîte. Toutefois, pour certaines combinaisons, le nombre de graines était inférieur à 100 car le nombre de semences obtenues pour certaines classes de densité était trop faible. Les boîtes de germination ont été distribuées de façon aléatoire dans les chambres de croissance.

Le plan expérimental correspondait à un dispositif factoriel par bloc; chacune des combinaisons tamis  $\times$  densité étant répétée à trois reprises. Pour le lot Y45, l'expérience était constituée de 3 blocs  $\times$  3 tamis  $\times$  3 densités, soit 27 unités expérimentales de 100 graines. Pour les lots L63 et K13, le dispositif comprenait 3 blocs  $\times$  4 tamis  $\times$  4 densités, soit 48 unités expérimentales de 100 graines.

#### **2.3.4 Analyses statistiques**

Un test de Bartlett a permis de vérifier l'homoscédasticité des données. Une première analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour comparer la longueur, la largeur et la masse des graines des trois provenances. La somme des carrés des écarts a été partitionnée en contrastes polynomiaux afin de comparer les caractéristiques des semences issues des différentes classes de tamisage. La procédure GLM de SAS (SAS Institutes inc., 1990) a été employée pour un dispositif factoriel par bloc. Les moyennes étaient jugées différentes au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ . Chacun des lots de graines a été analysé séparément.

Une seconde analyse de variance (ANOVA) a permis de comparer l'effet du tamisage, de la séparation densimétrique et de leur interaction sur les différents indices de germination. Dans ce cas, la somme des carrés des écarts a été partitionnée en contrastes polynomiaux afin de comparer les différents niveaux de tamisage et de densité. La procédure GLM de SAS (SAS Institute inc., 1990) a été employée pour un dispositif factoriel par bloc. Les moyennes étaient jugées différentes au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ . Chacun des lots de graines a été analysé séparément.

## **2.4 ANALYSES BIOCHIMIQUES**

Des semences séparées par densité ont été placées dans des contenants de verre. Les contenants ont été mis en contact avec de la glace carbonique (-70 °C) afin que les graines soient congelées très rapidement. Les graines congelées ont ensuite été placées au lyophilisateur durant 24 heures pour éliminer l'eau qui les composait.

### **2.4.1 Contenu lipidique**

Un échantillon de 100 graines a été prélevé de façon aléatoire dans chaque fraction tamisage  $\times$  densité. La masse sèche des échantillons a été déterminée à l'aide d'une balance électronique Mettler MT5, à  $\pm 0,001$  mg.

Chaque échantillon a été broyé dans une solution composée de chloroforme – méthanol 2:1 (v/v) (Entenman, 1957; Gurr et James, 1980). Un homogénéisateur de verre (Potter-Elvehjem) a été utilisé pour broyer les graines en fines particules. La solution obtenue a été

centrifugée à 2500 rpm durant 15 minutes. La phase liquide, contenant les lipides, a été recueillie. Le culot a été ré-extrait deux autres fois. Les surnageants obtenus lors des trois extractions ont été combinés et transférés dans des vials dont la masse sèche avait été préalablement déterminée.

Le chloroforme – méthanol contenu dans les échantillons a été évaporé sous vide dans un entonnoir Buchner. Les vials, contenant les lipides sous forme solide, ont ensuite été séchés au dessiccateur afin d'enlever toute l'eau résiduelle. Leur masse a ensuite été déterminée. La différence de masse entre le contenant vide et le contenant avec les lipides a permis de trouver le contenu lipidique de l'échantillon de départ.

#### **2.4.2 Contenu protéique**

Un total de 100 graines a été prélevé de façon aléatoire dans chaque groupe de semences correspondant à une combinaison tamisage  $\times$  densité. La masse sèche des échantillons a été déterminée à l'aide d'une balance électronique Mettler MT5, à une précision de  $\pm 0,001$  mg.

L'extraction des protéines contenues dans les graines, ainsi que leur séparation en fractions soluble et insoluble ont été effectuées selon une méthode inspirée de celle présentée par Gifford et al. (1982).

Chaque échantillon a été broyé dans 1 ml de 0,05M sodium-phosphate, pH 7,5 (tampon d'extraction). Un homogénéisateur de verre (Potter-Elvehjem) a été utilisé pour broyer les graines en fines particules. La solution obtenue a été centrifugée à 20 000 g durant 30 minutes, à une température de 15 °C. Le surnageant, contenant les protéines solubles, a été conservé. Le culot a été ré-extrait deux autres fois à l'aide du même tampon d'extraction. Les surnageants obtenus lors des trois extractions successives ont été combinés et utilisés pour déterminer la quantité de protéines solubles contenues dans l'échantillon.

Le culot a ensuite été re-suspendu dans le tampon d'extraction. L'ajout d'un volume égal d'un autre tampon d'extraction, composé d'une solution de 65 mM de Tris-HCl (pH 6,8) – 2 % de SDS<sup>2</sup> (w/v) – 10 % de glycérol (w/v), a permis de solubiliser les protéines insolubles. L'homogénat obtenu a été centrifugé à 20 000 g durant 30 minutes, à une température de 15 °C. Le surnageant, contenant les protéines insolubles, a été conservé et le culot a été ré-extrait deux autres fois selon la même procédure. Les surnageants obtenus à la suite des trois extractions ont été combinés et utilisés pour déterminer la quantité de protéines insolubles contenues dans l'échantillon.

La détermination de la concentration en protéines a été effectuée par la technique colorimétrique de Lowry (Lowry et al., 1951; Bollag et Edelstein, 1992), en utilisant le

---

<sup>2</sup> Sodium dodecyl sulfate.

nécessaire d'analyse pour protéines compatible avec les détergents des laboratoires Bio-Rad (1987) et l'albumine de sérum bovin (BSA) comme standard.

### **2.4.3 Analyses statistiques**

Un test de Bartlett a permis de vérifier l'homoscédasticité des données. Une analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour comparer les pourcentages de lipides et de protéines contenues dans les semences de densités différentes. La somme des carrés des écarts a été partitionnée en contrastes polynomiaux pour comparer les différents niveaux de densité. La procédure GLM de SAS (SAS Institute inc., 1990) a été employée pour un dispositif factoriel par bloc. Les moyennes étaient jugées différentes au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ . Chacun des lots de graines a été analysé de façon indépendante.

## **CHAPITRE III**

### **RÉSULTATS**



### 3.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les semences des trois lots diffèrent significativement par leur masse ( $p < 0,0001$ ) et leur longueur ( $p = 0,0106$ ), mais leur largeur est semblable (Tableaux 2 et 3). Les graines récoltées dans un verger (lot K13) ont une masse et une longueur significativement plus grandes que les graines récoltées en milieu naturel (lots Y45 et L63; tableau 3).

Tableau 2. Analyse de variance de la masse, de la longueur et de la largeur des graines d'épinette noire selon leur provenance.

Source	dl	MASSE			LONGUEUR			LARGEUR		
		CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p
Lot	2	0,49	10,96	<0,0001	0,18	4,63	0,0106	0,02	1,67	0,1895
Erreur	267	0,04			0,04			0,01		

Tableau 3. Masse, longueur et largeur des graines d'épinette noire selon leur provenance.

LOT	N	MASSE (mg)	LONGUEUR (mm)	LARGEUR (mm)
Y45	90	1,06 ± 0,02 b	2,23 ± 0,02 b	1,17 ± 0,01 a
L63	90	1,00 ± 0,02 b	2,23 ± 0,02 b	1,20 ± 0,01 a
K13	90	1,15 ± 0,02 a	2,31 ± 0,02 a	1,19 ± 0,01 a

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur type.

NOTE : Les moyennes qui ne partagent pas la même lettre sont différentes au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ .

Le processus de germination des graines se déroule différemment selon la provenance (Figure 5). Les semences du lot Y45 germent pendant toute la durée du test de germination. Le pourcentage de germination augmente lentement jusqu'à la fin du test, mais reste bas (69,2 %). Dans le cas du lot L63, les semences germent d'abord rapidement et de façon

synchronisée, mais quelques semences germent tardivement (presque un plateau). Le pourcentage de germination final de 79,4 % est atteint peu de temps avant la fin du test de germination. Finalement, les semences du lot K13 germent simultanément et dans un très court laps de temps. Le pourcentage de germination final très élevé (96,8 %) est rapidement atteint et ne varie pratiquement pas jusqu'à la fin du test (plateau).

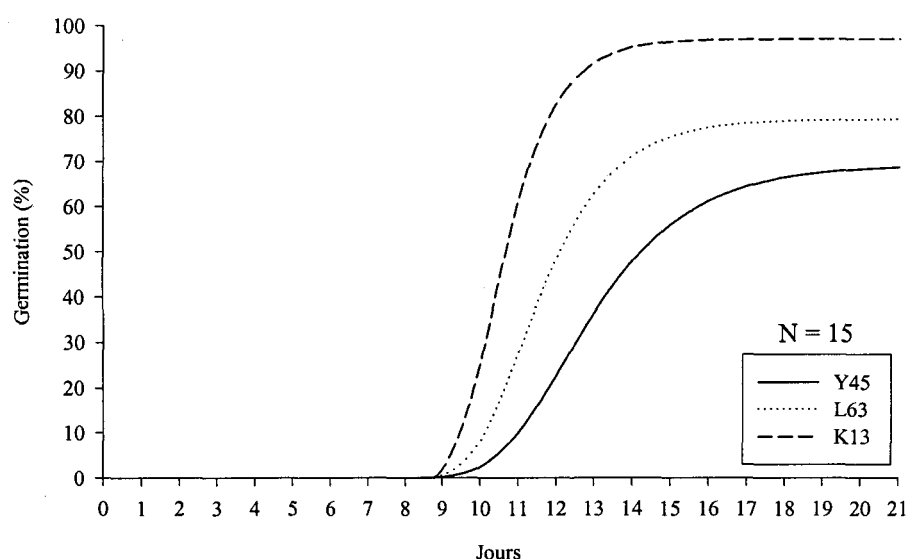


Figure 5. Évolution du pourcentage de germination cumulé des semences selon la provenance. La fonction de Gompertz a servi à tracer les courbes. Les paramètres des équations sont présentés en annexe (Tableau 23; témoins).

Dans chacun des lots utilisés, certaines semences ne germent pas. L'analyse au tétrazolium permet de connaître leur viabilité (Figure 6). Le lot Y45 se caractérise par un grand nombre de semences peu vigoureuses, qui germent lentement. Il contient aussi beaucoup de semences non viables, mais peu de semences vides ou viables. Le lot L63 contient principalement des semences non viables ou produisant des semis peu vigoureux, mais un moindre nombre de graines vides ou viables. Finalement, le lot K13 comporte très peu de graines peu vigoureuses, viables, non viables ou vides. Pour les deux lots récoltés en

milieu naturel (Y45 et L63), les semences peu vigoureuses et non viables représentent la majorité des semences non germées.

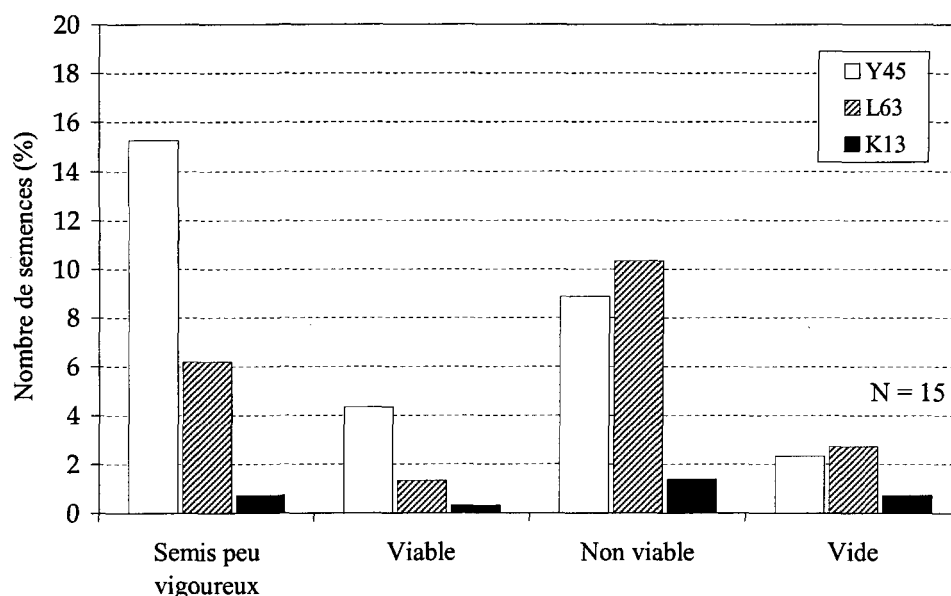


Figure 6. Nombre de semences non germées retrouvées dans chaque catégorie, selon la provenance. Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon.

## 3.2 AMORÇAGE

### 3.2.1 Effet de la température

Une interaction significative ( $T_L \times D_Q p = 0,0005$ ) entre la température et la durée d'amorçage est notée pour le pourcentage de germination; les différentes combinaisons de température et de durée de traitement expérimentées n'ont donc pas le même effet sur le nombre total de graines germées (Tableau 4).

Tableau 4. Analyse de variance du pourcentage de germination (GERM), de l'indice de germination maximal (IGMAX), du jour du pic (JPIC) et de la valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon la provenance ainsi que la température et la durée d'amorçage. Certaines variables ont été transformées pour assurer l'homogénéité des variances.

Source	dl	GERMTR <sup>1</sup>			IGMAX			JPICTR <sup>2</sup>			VG		
		CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p
PARCELLE PRINCIPALE													
Bloc	4	4,92			2,15			0,01			33,35		
T°	2	54,05	9,02	0,0089	3,01	7,18	0,0164	0,02	6,57	0,0205	70,41	7,51	0,0146
T <sub>L</sub>	1	88,12	14,71	0,0050	5,99	14,31	0,0054	0,02	8,89	0,0175	140,75	15,02	0,0047
T <sub>Q</sub>	1	19,97	3,33	0,1053	0,03	0,06	0,8101	0,01	4,25	0,0732	0,08	0,01	0,9305
Erreur	8	5,99			0,42			<0,01			9,37		
SOUS-PARCELLE													
Lot	2	7841,64	930,59	<0,0001	156,55	764,66	<0,0001	0,14	65,04	<0,0001	6075,37	1058,89	<0,0001
K13 vs L63	1	7236,43	858,77	<0,0001	110,38	539,14	<0,0001	0,03	12,59	0,0016	5072,21	884,05	<0,0001
L63 vs Y45	1	1373,45	162,99	<0,0001	50,09	244,66	<0,0001	0,12	57,96	<0,0001	1387,74	241,87	<0,0001
Y45 vs K13	1	14915,06	1770,02	<0,0001	309,19	1510,18	<0,0001	0,27	124,57	<0,0001	11766,15	2050,75	<0,0001
T° × Lot	4	8,75	1,04	0,4081	0,07	0,32	0,8613	<0,01	0,58	0,6818	0,85	0,15	0,9619
Erreur	24	8,43			0,20			<0,01			5,74		
SOUS-SOUS-PARCELLE													
Durée	3	85,09	9,85	<0,0001	0,15	0,60	0,6189	<0,01	3,92	0,0105	11,43	1,54	0,2060
D <sub>L</sub>	1	215,08	24,90	<0,0001				0,01	10,32	0,0017			
D <sub>Q</sub>	1	40,00	4,63	0,0335				<0,01	0,52	0,4713			
D <sub>C</sub>	1	0,18	0,02	0,8849				<0,01	0,90	0,3438			
T° × Durée	4	29,98	3,47	0,0103	0,44	1,75	0,1440	<0,01	1,26	0,2901	12,84	1,74	0,1462
T <sub>L</sub> × D <sub>Q</sub>	1	111,43	12,90	0,0005									
Lot × Durée	6	7,85	0,91	0,4915	0,16	0,64	0,6942	<0,01	0,72	0,6359	4,03	0,55	0,7725
T° × Lot × Durée	8	9,37	1,08	0,3790	0,23	0,89	0,5255	<0,01	0,82	0,5859	6,90	0,93	0,4916
Erreur	114	8,64			0,25			<0,01			7,38		

NOTE : *L* = variation linéaire; *Q* = variation quadratique; *C* = variation cubique.

<sup>1</sup> GERMTR = Arcsin (racine carrée (pourcentage de germination)) × 180/3,1416.

<sup>2</sup> JPICTR = LOG<sub>10</sub> (jour du pic).

La combinaison d'une période d'amorçage de 48 h et d'une température de 15 °C permet d'obtenir un gain de 2,1 % sur le pourcentage de germination des semences (Tableau 5). Certaines combinaisons occasionnent aussi une diminution du pourcentage de germination, principalement celles dont la durée est de 72 h. Aucune combinaison de durée et de température de traitement n'a révélé d'interaction significative pour les autres indices

décrivant la germination, soit l'indice de germination maximal, le jour du pic et la valeur germinative (Tableau 4).

Tableau 5. Pourcentage de germination des graines d'épinette noire selon la durée et la température d'amorçage.

TEMPÉRATURE (°C)	N	DURÉE (heures)	GERMINATION (%)
Témoin	45	0 h	81,8 ± 1,8
5 °C	15	24 h	81.5 ± 3,3
	15	48 h	77.4 ± 3,5
	15	72 h	77.1 ± 3,6
10 °C	15	24 h	82.9 ± 3,1
	15	48 h	81.2 ± 3,2
	15	72 h	79.0 ± 3,1
15 °C	15	24 h	81.2 ± 3,2
	15	48 h	83.9 ± 2,6
	15	72 h	79.3 ± 2,9

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur type.

La vitesse de germination des lots est affectée de manière significative (IGMAX  $p = 0,0164$  et JPIC  $p = 0,0205$ ) par la température utilisée lors du traitement d'amorçage; des relations linéaires significatives expliquent l'augmentation de l'indice de germination maximal ( $T_L p = 0,0054$ ) ainsi que la diminution du jour du pic ( $T_L p = 0,0175$ ) en fonction de la température (Tableau 4). Le nombre maximal de graines germées augmente de 5,2 à 5,8 graines·jour<sup>-1</sup> et le jour du pic est devancé d'une journée, passant de 13,8 à 12,8 jours (Tableau 6).

La température de l'eau influence significativement ( $p = 0,0146$ ) la valeur germinative des lots de semences forestières (Tableau 4). L'élévation de la température a permis une

augmentation linéaire ( $T_L p = 0,0047$ ) de cet indice, le faisant passer de 20,6 à 23,1 unités (Tableaux 4 et 6).

Tableau 6. Pourcentage de germination, indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon la température d'amorçage.

TEMPÉRATURE (°C)	N	IG MAX (graines·jour <sup>-1</sup> )	J PIC (jours)	VG
5 °C	45	5,2 ± 0,2	13,8 ± 0,2	20,6 ± 1,3
10 °C	45	5,5 ± 0,2	14,0 ± 0,4	21,9 ± 1,3
15 °C	45	5,8 ± 0,2	12,8 ± 0,2	23,1 ± 1,3

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur standard.

### 3.2.2 Comparaison entre les provenances

Le pourcentage final de germination, le jour du pic, l'indice de germination maximal et la valeur germinative sont significativement différents ( $p \leq 0,0016$ ) entre tous les lots de graines (Tableau 4). Les indices décrivant la germination des semences du lot Y45 sont les plus faibles, ceux du lot L63 sont de valeur moyenne, tandis que ceux du lot K13 sont les plus élevés (Tableau 7). Les lots issus de la forêt naturelle (Y45 et L63) présentent des indices de germination inférieurs à ceux du lot provenant d'un verger à graines (K13).

Tableau 7. Pourcentage de germination, indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon la provenance.

PROVENANCE	N	GERMINATION (%)	IG MAX (graines·jour <sup>-1</sup> )	J PIC (jours)	VG
Y45	60	68,2 ± 0,7	4,0 ± 0,1	15,4 ± 0,2	13,0 ± 0,3
L63	60	78,5 ± 0,6	5,3 ± 0,1	13,2 ± 0,1	19,8 ± 0,4
K13	60	95,5 ± 0,3	7,2 ± 0,1	12,3 ± 0,2	32,8 ± 0,4

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur type.

L'interaction entre la température d'amorçage et la provenance des graines s'est révélée non significative pour tous les indices étudiés (Tableau 4). Les lots de semences forestières réagissent donc de manière semblable à la hausse de la température d'amorçage.

### 3.2.3 Effet de la durée

La durée de l'amorçage influence aussi la vitesse de germination des semences puisque le jour du pic diminue linéairement ( $D_L p = 0,0017$ ) en fonction de la durée du traitement (Tableau 4); il passe de 13,9 jours à 13,2 jours, soit une diminution du temps moyen de germination de 0,7 jour (Tableau 8). Finalement, l'indice de germination maximal et la valeur germinative ne sont pas affectés par la durée du traitement d'amorçage (Tableau 4).

Tableau 8. Indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon la durée d'amorçage.

DURÉE (heures)	N	IG MAX (graines·jour <sup>-1</sup> )	J PIC (jours)	VG
0 h	45	5,5 ± 0,2	13,9 ± 0,3	22,0 ± 1,3
24 h	45	5,6 ± 0,2	13,7 ± 0,3	22,5 ± 1,3
48 h	45	5,4 ± 0,2	13,7 ± 0,3	21,8 ± 1,3
72 h	45	5,5 ± 0,2	13,2 ± 0,3	21,3 ± 1,3

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur type.

Les autres interactions impliquant la durée d'amorçage (lot × durée et température × lot × durée) se sont aussi révélées non significatives pour l'ensemble des indices décrivant la germination, indiquant que les lots réagissent de manière semblable au traitement d'amorçage (Tableau 4).

### 3.2.4 Courbes de germination

L'évolution du pourcentage de germination des semences avec le temps permet de visualiser les effets de la température et de la durée d'amorçage pour chacun des trois lots (Figure 7). Tout d'abord, une amélioration du pourcentage de germination final est visible lorsque l'amorçage est réalisé durant 48h à 15°C. Certains traitements ont par contre un effet négatif sur le pourcentage de germination final, comme ceux qui se prolongent durant 72 heures.

Ensuite, la germination des graines débute plus tôt au cours du test (déplacement des courbes vers la gauche) lorsque la température augmente. Les graines germent aussi de façon plus rapide et synchronisée (la pente des courbes de germination est plus prononcée) avec la hausse de la température. Pour une même température, plus la période d'amorçage est longue, plus les semences commencent à germer rapidement. La synchronisation de la germination n'est toutefois pas affectée, car la pente des courbes reste semblable peu importe la durée d'amorçage. Finalement, la progression de la germination cumulative est très différente d'une provenance à l'autre. Le lot K13 présente la germination la plus rapide et complète, alors que c'est le lot Y45 qui germe le plus lentement et de manière partielle.



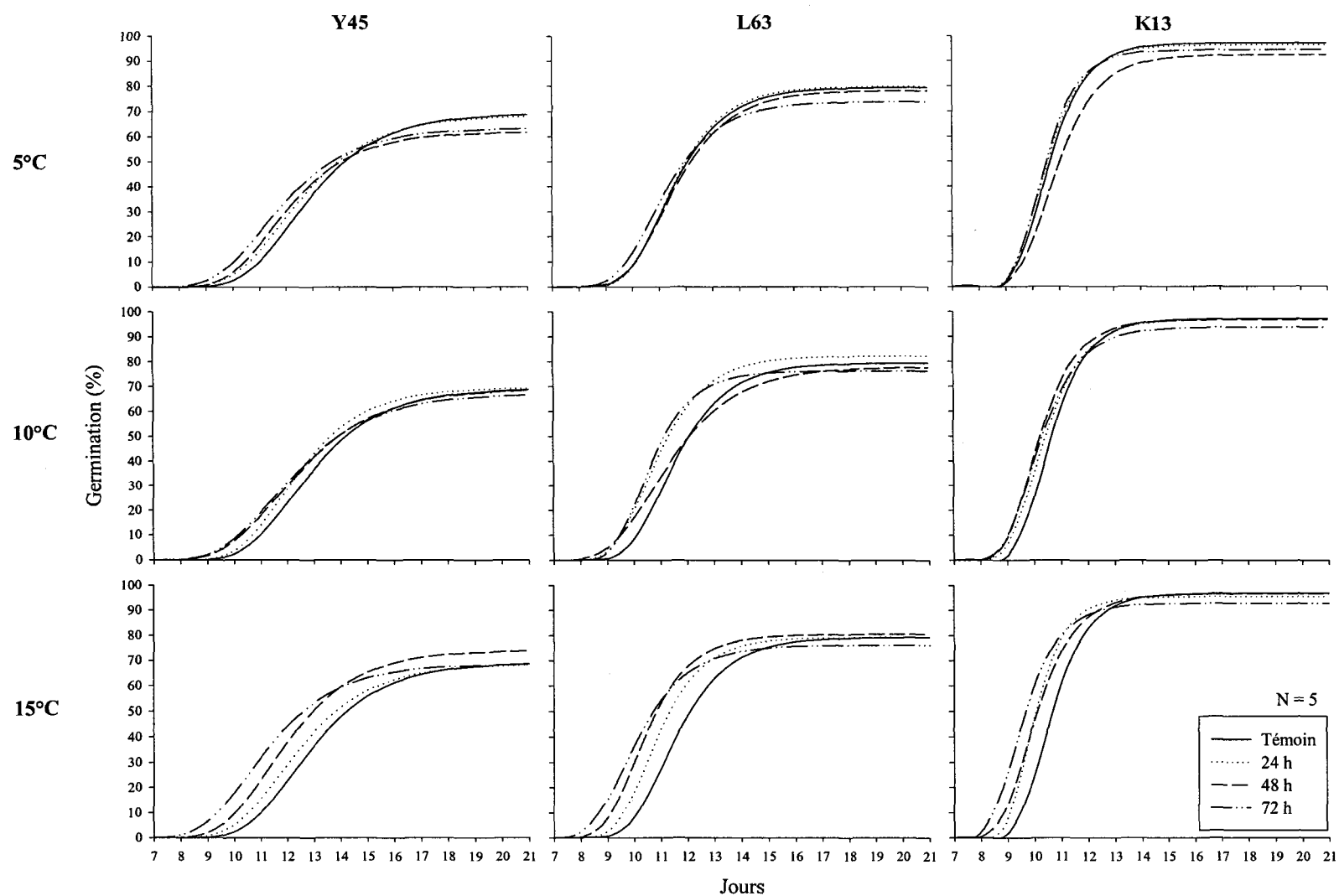


Figure 7. Effet de la température et de la durée d'amorçage sur l'évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences des trois provenances utilisées. La fonction de Gompertz a servi à tracer les courbes. Les paramètres des équations sont présentés en annexe (Tableau 23).

### 3.2.5 Viabilité des semences non germées

La proportion de semences non germées et leur distribution dans les diverses catégories de viabilité ne sont pas influencées par la température ou la durée de l'amorçage (Tableau 9).

Tableau 9. Analyse de variance de la proportion de semences non germées selon la provenance ainsi que la température et la durée d'amorçage.

Source	dl	SEMIS PEU VIGoureux			VIABLE			NON VIABLE			VIDE		
		CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p
PARCELLE PRINCIPALE													
Bloc	2	364,51			215,34			96,84			598,93		
T°	2	253,20	0,98	0,4507	15,12	0,16	0,8572	172,49	0,60	0,5934	41,68	0,11	0,8948
Erreur	4	258,60			94,38			289,29			364,79		
SOUS-PARCELLE													
Lot	2	6336,34	29,16	<0,0001	20,70	0,22	0,8050	2006,04	6,30	0,0135	2120,01	8,57	0,0049
K13 vs L63	1	672,22	3,09	0,1040	0,50	0,01	0,9430	144,50	0,45	0,5132	1343,35	5,43	0,0381
L63 vs Y45	1	6708,68	30,88	0,0001	34,72	0,37	0,5541	3584,22	11,26	0,0057	800,00	3,23	0,0974
Y45 vs K13	1	11628,13	53,52	<0,0001	26,89	0,29	0,6020	2289,39	7,19	0,0200	4216,68	17,04	0,0014
T° × Lot	4	194,83	0,90	0,4957	19,75	0,21	0,9275	344,35	1,05	0,4220	37,40	0,15	0,9589
Erreur	12	217,27			93,72			318,33			247,49		
SOUS-SOUS-PARCELLE													
Durée	3	197,96	0,62	0,6025	25,04	0,47	0,7038	171,59	0,77	0,5162	120,90	0,44	0,7248
T° × Durée	4	333,53	1,05	0,3891	53,01	1,00	0,4165	290,27	1,30	0,2803	100,10	0,36	0,8328
Lot × Durée	6	444,11	1,40	0,2299	36,33	0,68	0,6639	342,11	1,53	0,1833	176,68	0,64	0,6948
T° × Lot × Durée	8	211,76	0,67	0,7181	92,59	1,74	0,1075	186,96	0,84	0,5737	109,60	0,40	0,9166
Erreur	60	317,43			53,19			223,30			274,43		

NOTE : Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon.

Le lot Y45 contient un pourcentage significativement plus élevé ( $p \leq 0,0001$ ) de semis peu vigoureux que les lots L63 et K13 (Tableau 9 et figure 8). De plus, sa proportion de semences non viables est significativement plus basse que celles des deux autres lots ( $p = 0,0057$  et  $p = 0,0200$ ). Les semences viables représentent la même importance relative

chez les trois provenances. Finalement, le pourcentage de graines vides est significativement plus élevé ( $p = 0,0381$  et  $p = 0,0014$ ) pour le lot K13 que pour les lots L63 et Y45, qui sont semblables entre eux.

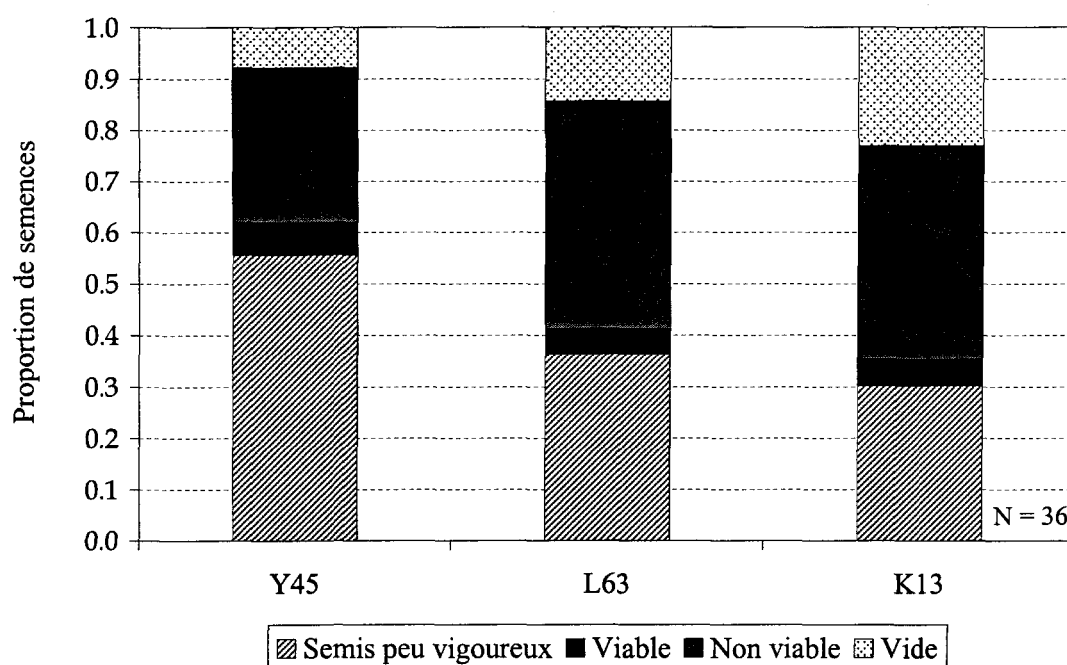


Figure 8. Proportion de semences non germées retrouvées dans chaque catégorie suite au traitement d'amorçage, selon la provenance. Nombre total de graines non germées : 31,8 % (Y45), 21,5 % (L63) et 4,5 % (K13). Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon.

### 3.3 SÉPARATION

#### 3.3.1 Séparation par tamisage

Les deux premières classes de tamisage (< 1,20 mm et 1,20-1,30 mm) représentent 82,9 %, 79,2 % et 76,6 % du nombre total des semences des lots Y45, L63 et K13. Dans le

cas du lot Y45, la quantité de très grosses semences ( $> 1,40$  mm) est seulement de 1,6 %. Puisque leur nombre était trop faible pour compléter les manipulations et pour assurer une bonne représentativité, ces dernières n'ont pas été soumises aux tests de germination.

Tableau 10. Proportion de semences selon la taille du tamis, pour chacune des trois provenances utilisées.

LOT	N	TAMIS (mm)	NOMBRE (%)
Y45	3	$< 1,20$	$47,6 \pm 1,4$
	3	$1,20 - 1,30$	$35,3 \pm 0,5$
	3	$1,30 - 1,40$	$15,5 \pm 0,6$
	3	$> 1,40$	$1,6 \pm 0,3$
L63	3	$< 1,20$	$47,8 \pm 2,1$
	3	$1,20 - 1,30$	$31,4 \pm 1,6$
	3	$1,30 - 1,40$	$10,4 \pm 0,5$
	3	$> 1,40$	$10,4 \pm 0,5$
K13	3	$< 1,20$	$32,7 \pm 1,0$
	3	$1,20 - 1,30$	$43,9 \pm 0,7$
	3	$1,30 - 1,40$	$15,9 \pm 0,6$
	3	$> 1,40$	$7,5 \pm 0,5$

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes  $\pm$  erreur type.

Pour les trois provenances étudiées, le tamisage permet d'obtenir des semences de masse significativement différente ( $p < 0,0001$ ) selon la taille du tamis (Tableau 11). La masse moyenne des graines des trois lots augmente de manière significative en fonction de la taille du tamis, les relations observées étant linéaires ( $T_L p < 0,0001$ ) et quadratiques ( $T_Q$  Y45  $p = 0,0161$ , L63  $p = 0,0002$ , K13  $p = 0,0177$ ; tableaux 11 et 12).

Tableau 11. Analyse de variance de la masse, de la longueur et de la largeur des graines d'épinette noire selon la taille du tamis, pour chacune des trois provenances utilisées.

Source	dl	MASSE			LONGUEUR			LARGEUR		
		CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p
Y45										
Bloc	2	0,03			0,03			0,01		
Tamis	3	3,41	108,92	< 0,0001	0,42	10,51	< 0,0001	1,55	226,17	< 0,0001
$T_L$	1	9,95	317,85	< 0,0001	1,24	30,60	< 0,0001	4,57	666,88	< 0,0001
$T_Q$	1	0,18	5,85	0,0161	0,04	0,89	0,3471	0,07	9,62	0,0021
$T_C$	1	0,10	3,05	0,0817	< 0,01	0,05	0,8229	0,01	2,02	0,1561
Erreur	354	0,03			0,04			0,01		
L63										
Bloc	2	0,02			0,01			0,01		
Tamis	3	2,35	115,82	< 0,0001	0,22	6,10	0,0005	0,98	149,77	< 0,0001
$T_L$	1	6,75	331,97	< 0,0001	0,60	16,98	< 0,0001	2,73	415,62	< 0,0001
$T_Q$	1	0,30	14,59	0,0002	0,01	0,30	0,5859	0,21	32,42	< 0,0001
$T_C$	1	0,02	0,91	0,3405	0,04	1,04	0,3089	0,01	1,26	0,2633
Erreur	354	0,02			0,04			0,01		
K13										
Bloc	2	0,04			0,05			< 0,01		
Tamis	3	3,60	145,34	< 0,0001	0,57	15,10	< 0,0001	1,40	291,05	< 0,0001
$T_L$	1	10,66	430,31	< 0,0001	1,66	44,36	< 0,0001	4,18	866,24	< 0,0001
$T_Q$	1	0,14	5,67	0,0177	< 0,01	0,01	0,9284	0,03	6,19	0,0133
$T_C$	1	< 0,01	0,02	0,8892	0,03	0,92	0,3371	< 0,01	0,71	0,4006
Erreur	354	0,02			0,04			< 0,01		

NOTE : L = variation linéaire; Q = variation quadratique; C = variation cubique.

NOTE : Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines.

La longueur est un autre facteur physique qui permet de discriminer ( $p \leq 0,0005$ ) les semences tamisées des trois provenances car elle augmente linéairement ( $T_L p < 0,0001$ ) avec la taille du tamis (Tableaux 11 et 12).

Finalement, le tamisage des graines d'épinette noire permet aussi d'obtenir des semences de largeurs significativement différentes ( $p < 0,0001$ ) dans le cas des trois provenances (Tableau 11). On note principalement des augmentations linéaires significatives ( $T_L p < 0,0001$ ) de la largeur des semences en fonction de la taille du tamis,

bien que des relations quadratiques significatives ( $T_Q$  Y45  $p = 0,0021$ , L63  $p < 0,0001$ , K13  $p = 0,0133$ ) soient aussi visibles (Tableaux 11 et 12).

Tableau 12. Masse, longueur et largeur des graines d'épinette noire selon la taille du tamis, pour chacune des trois provenances utilisées.

LOT	N	TAMIS (mm)	MASSE (mg)	LONGUEUR (mm)	LARGEUR (mm)
Y45	90	< 1,20	$0,93 \pm 0,02$	$2,20 \pm 0,02$	$1,07 \pm 0,01$
	90	1,20 - 1,30	$1,15 \pm 0,02$	$2,23 \pm 0,02$	$1,21 \pm 0,01$
	90	1,30 - 1,40	$1,25 \pm 0,02$	$2,29 \pm 0,02$	$1,29 \pm 0,01$
	90	> 1,40	$1,39 \pm 0,02$	$2,36 \pm 0,02$	$1,38 \pm 0,01$
L63	90	< 1,20	$0,87 \pm 0,01$	$2,19 \pm 0,02$	$1,11 \pm 0,01$
	90	1,20 - 1,30	$1,07 \pm 0,01$	$2,25 \pm 0,02$	$1,24 \pm 0,01$
	90	1,30 - 1,40	$1,17 \pm 0,01$	$2,26 \pm 0,02$	$1,31 \pm 0,01$
	90	> 1,40	$1,25 \pm 0,02$	$2,31 \pm 0,02$	$1,34 \pm 0,01$
K13	90	< 1,20	$0,99 \pm 0,01$	$2,27 \pm 0,02$	$1,09 \pm 0,01$
	90	1,20 - 1,30	$1,18 \pm 0,02$	$2,35 \pm 0,02$	$1,21 \pm 0,01$
	90	1,30 - 1,40	$1,33 \pm 0,02$	$2,38 \pm 0,02$	$1,30 \pm 0,01$
	90	> 1,40	$1,45 \pm 0,02$	$2,46 \pm 0,02$	$1,38 \pm 0,01$

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes  $\pm$  erreur type.

Suite aux tests de germination, seule la provenance Y45 montre une modification significative ( $p = 0,0428$ ) de son pourcentage de germination après le tamisage, cet indice augmentant de façon linéaire ( $T_L p = 0,0135$ ) avec le diamètre du tamis (Tableau 13). Un gain de 8,6 % est observé entre la fraction de plus faible diamètre et celle de plus grand diamètre (Tableau 14). Les deux autres provenances ne montrent aucune différence significative de pourcentage de germination suite au tamisage.

L'indice de germination des semences augmente d'une manière linéaire en fonction de la taille du tamis pour le lot Y45 ( $T_L p = 0,0178$ ) et pour le lot L63 ( $T_L p = 0,0028$ ), tandis que les variations de vitesse de germination du lot K13 ne sont pas significatives

(Tableau 13). Un gain de 0,6 graine-jour<sup>-1</sup> est observé entre les fractions de tamisage de plus petit et de plus grand diamètre des provenances Y45 et L63; les semences issues de tamis de grande taille germent plus rapidement que celles issues de tamis de faible taille (Tableau 14).

Tableau 13. Analyse de variance du pourcentage de germination (GERM), de l'indice de germination maximal (IGMAX), du jour du pic (JPIC) et de la valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon leur taille et leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines.

Source	dl	GERM			IG MAX			JPIC			VG		
		CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p
Y45													
Bloc	2	49,15			0,03			1,59			2,92		
Tamis	2	165,15	3,86	0,0428	0,97	3,89	0,0420	0,26	0,28	0,7594	30,88	4,23	0,0336
$T_L$	1	329,39	7,70	0,0135	1,75	6,97	0,0178				58,25	7,97	0,0122
$T_Q$	1	0,90	0,02	0,8860	0,20	0,81	0,3818				3,51	0,48	0,4984
Densité	2	1422,48	33,26	<0,0001	8,44	33,65	<0,0001	2,93	3,16	0,0697	272,30	37,28	<0,0001
$D_L$	1	2738,00	64,01	<0,0001	16,02	63,86	<0,0001				529,86	72,53	<0,0001
$D_Q$	1	106,96	2,50	0,1334	0,86	3,43	0,0824				14,75	2,02	0,1746
Tamis×Densité	4	25,09	0,59	0,6770	0,09	0,36	0,8321	1,15	1,24	0,3336	2,91	0,40	0,8067
Erreur	16	42,77			0,25			0,93			7,31		
L63													
Bloc	2	6,58			0,02			1,42			0,42		
Tamis	3	24,02	0,65	0,5906	0,70	3,68	0,0227	6,39	6,12	0,0022	20,58	2,64	0,0674
$T_L$	1				2,00	10,62	0,0028	8,82	8,44	0,0068			
$T_Q$	1				<0,01	<0,01	0,9606	8,33	7,98	0,0083			
$T_C$	1				0,08	0,43	0,5172	2,02	1,93	0,1748			
Densité	3	261,30	7,04	0,0010	1,98	10,48	<0,0001	3,72	3,57	0,0256	74,99	9,63	0,0001
$D_L$	1	110,70	2,98	0,0944	0,10	0,52	0,4766	9,60	9,19	0,0050	0,38	0,05	0,8274
$D_Q$	1	487,69	13,15	0,0011	3,77	19,98	0,0001	0,75	0,72	0,4034	148,02	19,00	0,0001
$D_C$	1	185,50	5,00	0,0329	2,06	10,93	0,0025	0,82	0,78	0,3835	76,58	9,83	0,0038
Tamis×Densité	9	42,11	1,14	0,3698	0,45	2,40	0,1315	2,00	1,92	0,0880	8,48	1,09	0,3049
Erreur	30	30,09			0,19			1,04			7,79		
K13													
Bloc	2	12,90			0,29			1,27			10,12		
Tamis	3	4,14	0,40	0,7562	0,93	2,64	0,0676	1,54	2,81	0,0563	16,35	1,47	0,2438
Densité	3	154,14	14,78	<0,0001	1,10	3,13	0,0402	0,51	0,94	0,4351	68,41	6,13	0,0022
$D_L$	1	248,06	23,79	<0,0001	0,36	1,03	0,3190				60,99	5,46	0,0263
$D_Q$	1	208,33	19,98	0,0001	1,30	3,69	0,0644				99,56	8,92	0,0056
$D_C$	1	6,02	0,58	0,4535	1,64	4,68	0,0387				44,66	4,00	0,0546
Tamis×Densité	9	8,27	0,79	0,6252	0,23	0,66	0,7399	0,47	0,86	0,5690	7,15	0,64	0,7536
Erreur	30	10,43			0,35			0,55			11,16		

NOTE : L = variation linéaire; Q = variation quadratique; C = variation cubique.

NOTE : Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines.

Tableau 14. Pourcentage de germination, indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon leur taille, pour chacune des trois provenances utilisées.

LOT	N	TAMIS (mm)	GERMINATION (%)	IG MAX (graines·jour <sup>-1</sup> )	JPIC (jours)	VG
Y45	9	< 1,20	66,2 ± 4,4	3,8 ± 0,3	15,2 ± 0,3	12,6 ± 1,8
	9	1,20 - 1,30	70,9 ± 4,5	4,3 ± 0,3	14,9 ± 0,4	15,1 ± 1,9
	9	1,30 - 1,40	74,8 ± 3,5	4,4 ± 0,3	15,0 ± 0,4	16,2 ± 1,6
	-	> 1,40	-	-	-	-
L63	12	< 1,20	74,5 ± 1,1	4,3 ± 0,1	15,8 ± 0,5	15,2 ± 0,5
	12	1,20 - 1,30	75,3 ± 2,0	4,5 ± 0,2	14,2 ± 0,3	16,5 ± 1,0
	12	1,30 - 1,40	76,5 ± 2,2	4,6 ± 0,2	14,4 ± 0,3	17,0 ± 1,1
	12	> 1,40	77,8 ± 2,6	4,9 ± 0,3	14,5 ± 0,3	18,4 ± 1,6
K13	12	< 1,20	94,9 ± 1,7	7,5 ± 0,2	11,6 ± 0,2	34,0 ± 1,3
	12	1,20 - 1,30	95,8 ± 1,1	7,4 ± 0,2	11,8 ± 0,3	34,0 ± 1,0
	12	1,30 - 1,40	94,3 ± 1,4	7,6 ± 0,2	11,3 ± 0,2	34,4 ± 1,2
	12	> 1,40	94,8 ± 0,8	8,1 ± 0,1	11,0 ± 0,2	36,4 ± 0,7

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur type.

Le jour du pic est significativement différent ( $p = 0,0022$ ) entre les diverses fractions de tamisage du lot L63, des relations linéaires et quadratiques significatives ( $T_L p = 0,0068$ ,  $T_Q p = 0,0083$ ) expliquant les variations de cet indice (Tableau 13). Les semences de petite taille (moins de 1,20 mm) germent plus tardivement que les autres, car elles atteignent leur jour du pic 1,3 jour après la seconde fraction la plus lente (Tableau 14). La vitesse de germination est maximale lorsque les semences ont une taille entre 1,20 et 1,30 mm, et elle décroît ensuite avec le diamètre du tamis. Les variations de vitesse mesurées par le jour du pic se sont révélées non significatives pour les deux autres lots (Y45 et K13); ces graines germent donc sensiblement à la même vitesse peu importe la fraction de tamisage (Tableaux 13 et 14).



Finalement, la valeur germinative du lot Y45 est significativement différente ( $p = 0,0336$ ) entre les fractions obtenues lors du tamisage et s'accroît de façon linéaire ( $T_L p = 0,0122$ ) en fonction du diamètre du tamis, augmentant ainsi de 3,6 unités (Tableaux 13 et 14). Pour les deux autres provenances (L63 et K13), les variations de la valeur germinative en fonction du diamètre du tamis sont non significatives; la vigueur de ces semences est donc semblable entre les diverses fractions de tamisage.

La progression de la germination cumulative montre aussi que les semences du lot Y45 germent différemment selon leur taille (Figure 9). En effet, la pente des courbes est plus prononcée chez les graines de grande taille, ce qui montre qu'elles germent de façon plus rapide et synchronisée que celles de petite taille. De plus, le plateau atteint par les courbes est plus haut, ce qui indique que le pourcentage de germination final est plus élevé chez les semences de grande taille. Pour le lot L63, les différences de germination sont moins marquées. Le pourcentage de germination final est semblable, mais la pente des courbes de germination se distingue légèrement, traduisant une augmentation de la vitesse et la synchronisation de la germination avec la dimension des semences. Finalement, toutes les semences du lot K13 suivent un processus de germination similaire peu importe leur taille.

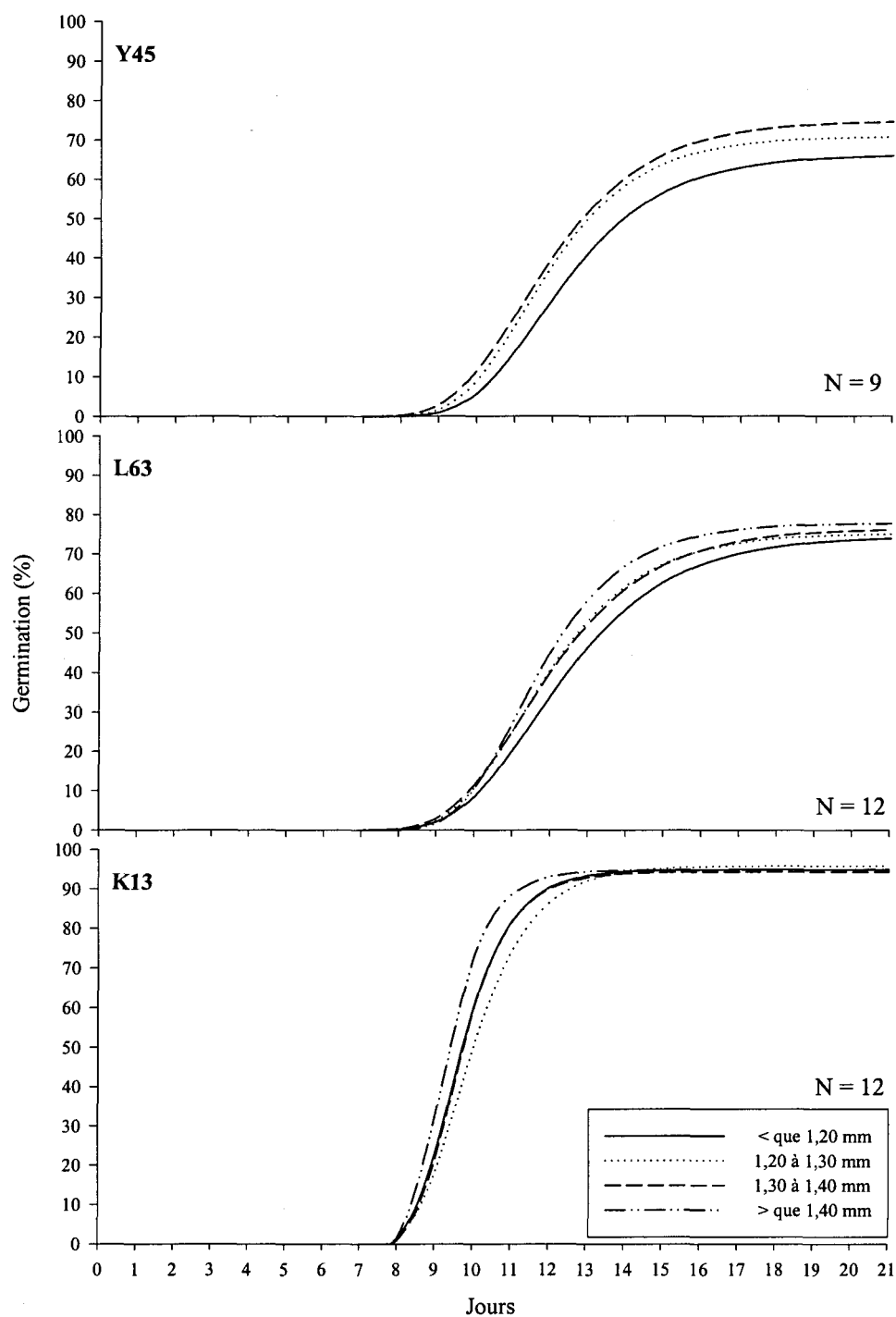


Figure 9. Effet du tamisage sur l'évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences des trois provenances utilisées. La fonction de Gompertz a servi à tracer les courbes. Les paramètres des équations sont présentés en annexe (Tableau 24).

### 3.3.2 Séparation par densité

Les semences de masse volumique élevée constituent une portion importante des trois lots utilisés (Tableau 15). Ce sont les semences d'une densité se situant entre 1,10 et 1,12 g·cm<sup>-3</sup> qui sont les plus nombreuses. La presque totalité des graines d'épinette noire se retrouve dans les fractions de densité supérieure à 1,08 g·cm<sup>-3</sup> : 95,4 % des semences pour le lot L63 et 95,6 % pour le lot K13. Dans le cas du lot Y45, la séparation densimétrique a permis d'obtenir seulement trois fractions; aucune graine de moins de 1,08 g·cm<sup>-3</sup> n'a été observée.

Tableau 15. Proportion de semences selon la densité, pour chacune des trois provenances utilisées.

LOT	N	DENSITÉ (g·cm <sup>-3</sup> )	NOMBRE (%)
Y45	-	< 1,08	-
	3	1,08 - 1,10	17,4 ± 2,4
	3	1,10 - 1,12	59,6 ± 2,8
	3	> 1,12	23,0 ± 2,8
L63	3	< 1,08	4,6 ± 0,2
	3	1,08 - 1,10	26,0 ± 1,8
	3	1,10 - 1,12	46,4 ± 4,2
	3	> 1,12	23,0 ± 3,3
K13	3	< 1,08	4,4 ± 1,2
	3	1,08 - 1,10	12,9 ± 0,6
	3	1,10 - 1,12	45,5 ± 3,1
	3	> 1,12	37,2 ± 4,8

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur type.

Des variations de pourcentage de germination sont visibles entre les semences de différentes densités des trois provenances ( $p \leq 0,0010$ ). Pour le lot Y45, le pourcentage de germination diminue ( $D_L p < 0,0001$ ) en fonction de la masse volumique des semences (Tableau 13). Pour le lot L63, les variations du pourcentage de germination sont

représentées par des relations quadratiques et cubiques significatives ( $D_Q p = 0,0011$ ,  $D_C p = 0,0329$ , tableau 13). Les graines dont la densité est inférieure à  $1,08 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  affichent les plus faibles pourcentages de germination. Le pourcentage de germination est maximal entre  $1,08 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  et  $1,10 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  et diminue avec l'augmentation de la masse volumique (Tableau 16). Pour le lot K13, les relations linéaires et quadratiques significatives ( $D_L p < 0,0001$  et  $D_Q p = 0,0001$ , tableau 13) confirment que les graines de très faible densité (moins de  $1,08 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) ont un pourcentage de germination plus bas que celui des autres semences, qui sont semblable entre elles (Tableau 16). Lorsqu'elles sont présentes, les graines dont la densité est inférieure à  $1,08 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  affichent toujours la plus faible germination totale. L'écart entre le pourcentage de germination minimal et maximal est de 24,7 % pour le lot Y45, de 12,8 % pour le lot L63 et de 7,9 % pour le lot K13.

Tableau 16. Pourcentage de germination, indice de germination maximal (IGMAX), jour du pic (JPIC) et valeur germinative (VG) des graines d'épinette noire selon leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées.

LOT	N	DENSITÉ ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	GERMINATION (%)	IG MAX (graines·jour <sup>-1</sup> )	JPIC (jours)	VG
Y45	-	< 1,08	-	-	-	-
	9	1,08 - 1,10	$81,6 \pm 2,1$	$5,0 \pm 0,2$	$14,9 \pm 0,3$	$19,5 \pm 0,9$
	9	1,10 - 1,12	$73,4 \pm 1,8$	$4,4 \pm 0,2$	$14,6 \pm 0,3$	$15,7 \pm 1,0$
	9	> 1,12	$56,9 \pm 3,0$	$3,1 \pm 0,2$	$15,7 \pm 0,4$	$8,6 \pm 0,9$
L63	12	< 1,08	$69,3 \pm 1,6$	$4,2 \pm 0,2$	$14,1 \pm 0,3$	$14,1 \pm 0,8$
	12	1,08 - 1,10	$82,1 \pm 2,2$	$5,2 \pm 0,2$	$14,2 \pm 0,3$	$20,6 \pm 1,3$
	12	1,10 - 1,12	$76,9 \pm 1,4$	$4,5 \pm 0,2$	$14,8 \pm 0,4$	$16,6 \pm 0,8$
	12	> 1,12	$74,9 \pm 1,7$	$4,2 \pm 0,1$	$15,3 \pm 0,4$	$15,1 \pm 0,7$
K13	12	< 1,08	$89,7 \pm 1,6$	$7,3 \pm 0,3$	$11,4 \pm 0,2$	$31,3 \pm 1,5$
	12	1,08 - 1,10	$96,5 \pm 0,7$	$8,0 \pm 0,2$	$11,2 \pm 0,2$	$36,9 \pm 0,7$
	12	1,10 - 1,12	$97,6 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,2$	$11,7 \pm 0,4$	$35,3 \pm 0,8$
	12	> 1,12	$96,1 \pm 0,7$	$7,7 \pm 0,2$	$11,5 \pm 0,3$	$35,2 \pm 0,8$

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes  $\pm$  erreur type.

L'indice de germination maximal est significativement différent ( $p \leq 0,0402$ ) selon la densité des semences des trois provenances, ces variations étant représentées par une relation linéaire pour le lot Y45 ( $D_L p < 0,0001$ ), des relations quadratiques et cubiques pour le lot L63 ( $D_Q p = 0,0001$ ,  $D_C p = 0,0025$ ) et une relation cubique pour le lot K13 ( $D_C p = 0,0387$ , tableau 13). La vitesse de germination est à son maximum lorsque les graines ont une densité entre 1,08 et 1,10 g·cm<sup>-3</sup> et diminue dans le cas des fractions subséquentes (Tableau 16). Les plus faibles valeurs sont observées pour les graines de densité inférieure à 1,08 g·cm<sup>-3</sup>, quand on les retrouve. L'importance de l'accélération de la germination entre les fractions est variable selon les lots : Y45 (+ 1,9 graine·jour<sup>-1</sup>), L63 (+ 1,0 graine·jour<sup>-1</sup>) et K13 (+ 0,7 graine·jour<sup>-1</sup>).

La vitesse de germination (jour du pic) des graines des provenances Y45 et K13 n'est pas influencée par leur densité, tandis qu'elle diminue de façon linéaire ( $D_L p = 0,0050$ ) en fonction de la masse volumique des semences du lot L63 (Tableau 13). Le jour du pic passe ainsi de 14,1 jours à 15,3 jours, soit une diminution de vitesse de 1,2 jour (Tableau 16).

La valeur germinative des graines des trois provenances varie significativement ( $p \leq 0,0022$ ) selon leur densité (Tableau 13). Cette variation est linéaire pour le lot Y45 ( $D_L p < 0,0001$ ), quadratique et cubique pour le lot L63 ( $D_Q p = 0,0001$ ,  $D_C p = 0,0038$ ), et linéaire et quadratique pour le lot K13 ( $D_L p = 0,0263$ ,  $D_Q p = 0,0056$ ). Le lot Y45 affiche une diminution de vigueur avec l'augmentation de la densité des graines (Tableau 16). Pour le lot L63, les semences les moins vigoureuses sont retrouvées à une densité inférieure à

1,08 g·cm<sup>-3</sup>, la vigueur atteint sa plus grande valeur entre 1,08 et 1,10 g·cm<sup>-3</sup>, et elle diminue en passant aux classes de densités supérieures. Les semences du lot K13 ont une valeur germinative semblable entre elles, excepté celles dont la densité est la plus faible (< 1,08 g·cm<sup>-3</sup>). La différence de vigueur entre les semences les moins vigoureuses et les plus vigoureuses est de 10,8 unités pour le lot Y45, de 6,5 unités pour le lot L63 et de 5,6 unités pour le lot K13.

Les interactions entre le tamisage et la séparation densimétrique sont non significatives pour les trois provenances; un tamisage préalable ne favorise donc pas la séparation des graines d'épinette noire selon leur densité (Tableau 13).

La progression de la germination illustre que la séparation densimétrique permet d'obtenir des graines qui ont un pourcentage de germination très différent selon leur densité, en particulier pour le lot Y45 (Figure 10). De plus, la pente des courbes est moins accentuée lorsque la densité augmente, ce qui montre que les semences plus denses germent plus lentement et de façon moins bien synchronisée que celles de faible densité. On note également que les semences de très faible densité présentent le plus faible pourcentage de germination final, lorsqu'elles sont présentes (lots L63 et K13).

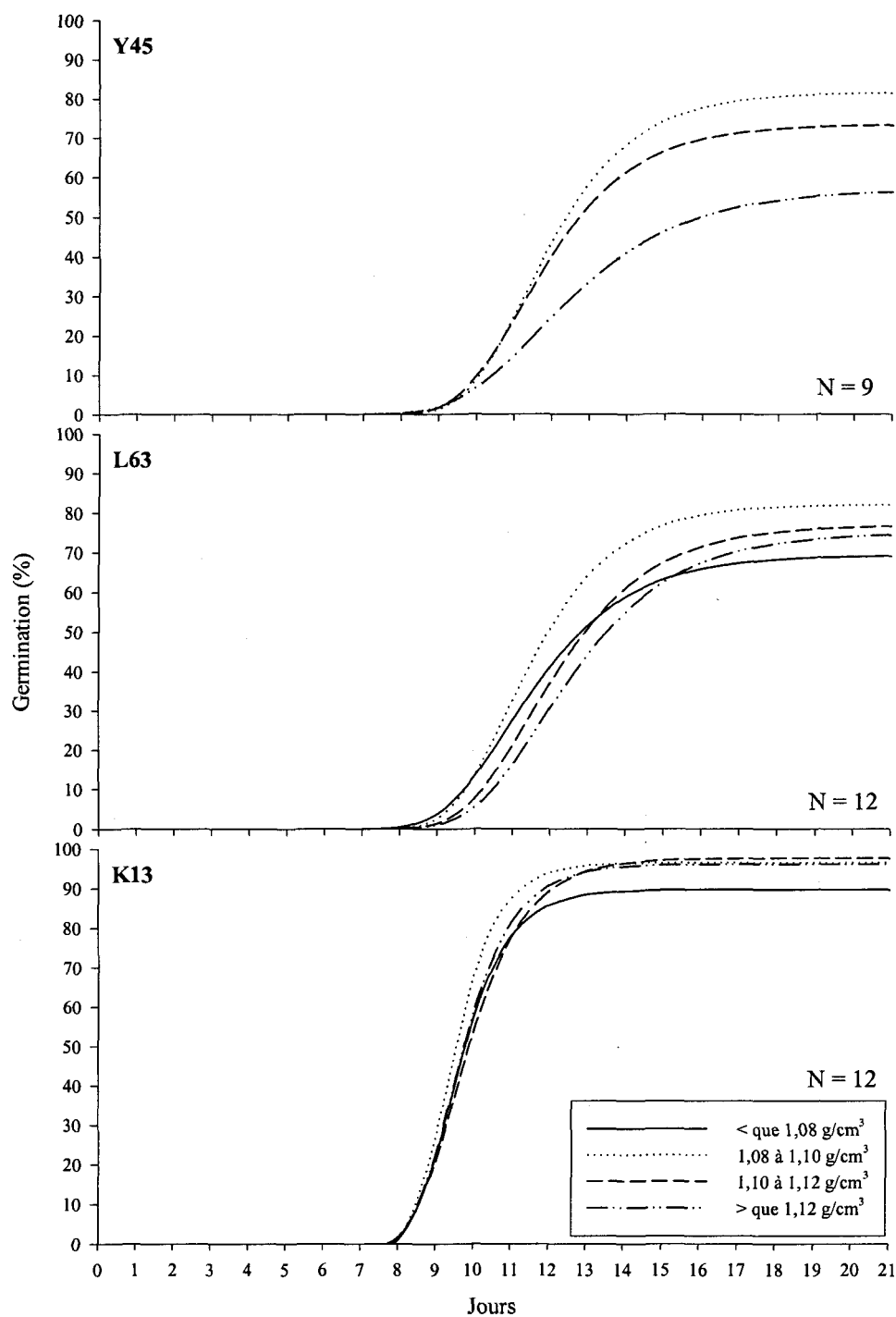


Figure 10. Effet de la séparation densimétrique sur l'évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences des trois provenances utilisées. La fonction de Gompertz a servi à tracer les courbes. Les paramètres des équations sont présentés en annexe (Tableau 25).

### 3.3.3 Viabilité des semences non germées

L'analyse de viabilité montre que pour les trois lots, la répartition des graines non germées (vides, non viables, viables ou produisant des semis peu vigoureux) est semblable peu importe la taille des semences (Tableau 17 et figure 11).

La distribution des différents types de semences non germées varie selon la densité, pour les lots Y45 et L63 (Tableau 17 et figure 12). Ainsi, la proportion de semences produisant des semis peu vigoureux augmente avec la densité, subissant une variation quadratique significative ( $D_Q p = 0,0256$ ) de 17,2 % pour le lot Y45, et une hausse linéaire significative ( $D_L p < 0.0001$ ) de 27,1 % pour le lot L63. Au contraire, la proportion de graines vides est significativement plus faible lorsque la densité est élevée, des relations linéaires et quadratique expliquant les variations observées (Y45  $D_L p = 0,0009$ ; L63  $D_L p < 0.0001$  et  $D_Q p = 0,0004$ ). La réduction du nombre de semences vides est de 12,7 % dans le cas du lot Y45 et de 16,1 % dans le cas du lot L63 (Figure 12). Les graines pleines non germées (viables et non viables) du lot Y45 et les graines viables du lot L63 se distribuent également entre les différentes fractions de densité. Finalement, une relation quadratique significative ( $D_Q p = 0,0006$ ) montre que pour le lot L63, une plus grande proportion de semences de densité moyenne (1,08 à 1,12 g·cm<sup>-3</sup>) sont non viables. La répartition des semences non germées du lot K13 ne varie pas selon leur densité (Tableau 17 et figure 12). La majorité des graines non germées des lots récoltés en milieu naturel (Y45 et L63) sont peu vigoureuses et non viables (Figure 11 et 12). Pour le lot



provenant d'un verger (K13), ce sont principalement des semences mortes (non viables ou vides) qui ne germent pas.

Tableau 17. Analyse de variance de la proportion de semences non germées selon leur taille et leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines.

Source	dl	SEMIS PEU VIGOUREUX			VIABLE			NON VIABLE			VIDE		
		CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p
Y45													
Bloc	2	25,59			42,33			64,93			37,93		
Tamis	2	66,04	0,41	0,6715	24,11	0,61	0,5536	58,93	0,45	0,6444	35,81	0,82	0,4594
Densité	2	667,59	4,13	0,0358	122,11	3,11	0,0724	128,70	0,99	0,3945	367,26	8,38	0,0032
$D_L$	1	355,56	2,20	0,1576							722,00	16,47	0,0009
$D_Q$	1	979,63	6,06	0,0256							12,52	0,29	0,6004
Tamis×Densité	4	73,59	0,46	0,7674	108,72	2,77	0,0637	43,15	0,33	0,8532	9,93	0,23	0,9196
Erreur	16	161,72			39,29			130,47			43,84		
L63													
Bloc	2	68,08			28,15			312,33			133,00		
Tamis	3	134,14	1,20	0,3252	15,83	0,28	0,8400	105,63	0,87	0,4686	35,07	0,69	0,5670
Densité	3	1510,81	13,56	<0,0001	105,17	1,85	0,1587	715,91	5,88	0,0028	740,35	14,50	<0,0001
$D_L$	1	4420,42	39,67	<0,0001				329,00	2,70	0,1106	1274,20	24,96	<0,0001
$D_Q$	1	5,33	0,05	0,8283				1813,02	14,89	0,0006	825,02	16,16	0,0004
$D_C$	1	106,67	0,96	0,3357				5,70	0,05	0,8301	121,84	2,39	0,1328
Tamis×Densité	9	195,38	1,75	0,1199	43,30	0,76	0,6501	125,02	1,03	0,4419	84,30	1,65	0,1455
Erreur	30	111,42			56,72			121,73			50,04		
K13													
Bloc	2	1380,08			16,00			658,94			77,08		
Tamis	3	254,75	0,29	0,8315	8,53	0,23	0,8724	357,35	0,68	0,5697	399,06	0,50	0,6877
Densité	3	1219,36	1,39	0,2641	2,69	0,07	0,9736	680,69	1,30	0,2925	671,39	0,83	0,4854
Tamis×Densité	9	753,66	0,86	0,5689	40,18	1,10	0,3924	668,74	1,28	0,2893	967,44	1,20	0,3295
Erreur	30	875,42			36,53			523,54			804,24		

NOTE : L = variation linéaire; Q = variation quadratique; C = variation cubique.

NOTE : Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines.

NOTE : Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon.

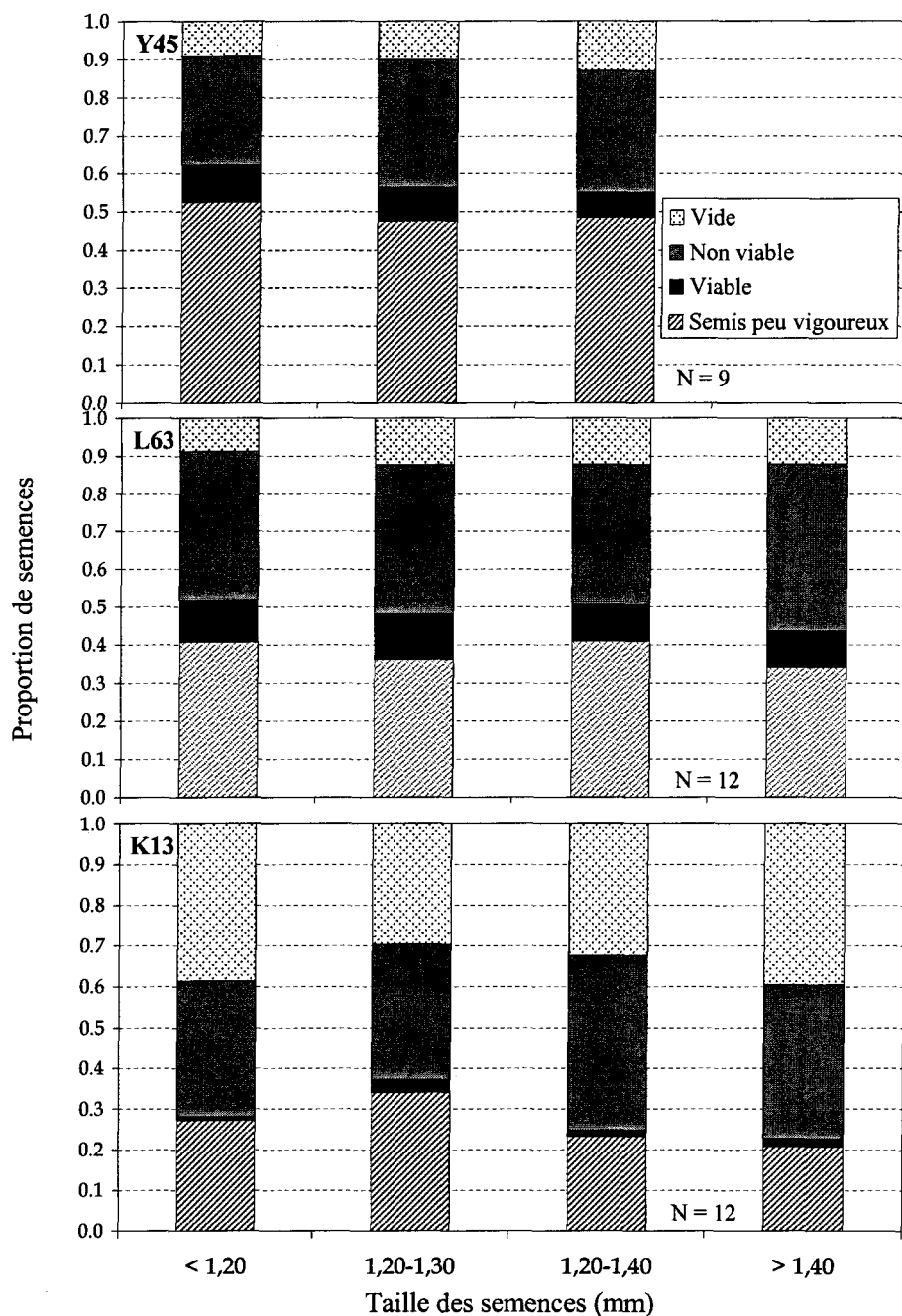


Figure 11. Proportion des semences non germées retrouvées dans chaque catégorie selon leur taille, pour chacune des trois provenances utilisées. Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon.

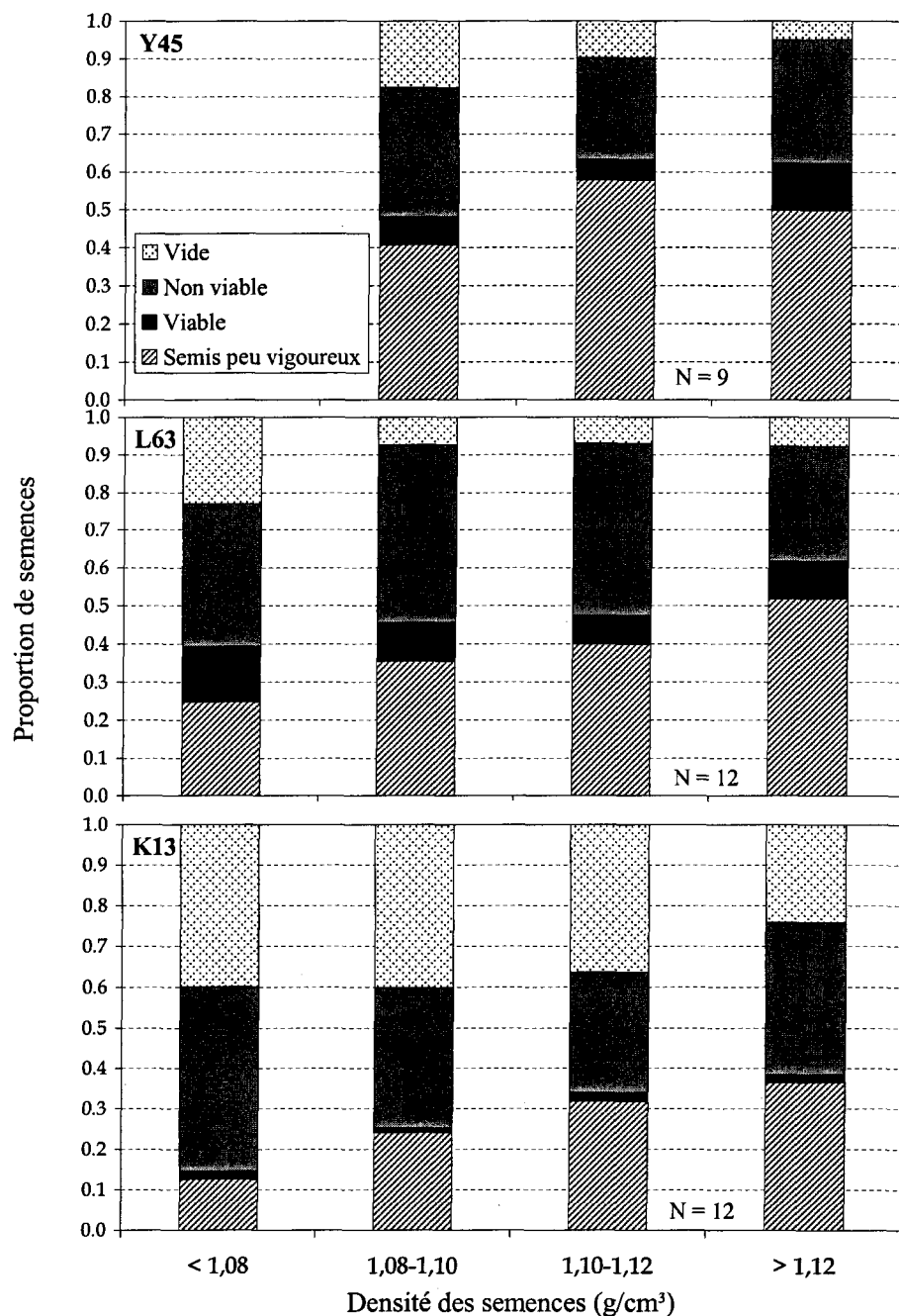


Figure 12. Proportion des semences non germées retrouvées dans chaque catégorie selon leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. Semis peu vigoureux : graine qui a produit un semis n'ayant pas complété sa germination avant la fin du test; Viable : Graine contenant un embryon viable; Non viable : graine contenant un embryon non viable; Vide : graine complètement vide (pas d'endosperme et d'embryon) ou contenant un endosperme sans embryon.

### 3.4 ANALYSES BIOCHIMIQUES

Les graines d'épinette noire de deux provenances (L63 et K13) présentent un contenu lipidique significativement différent ( $p < 0,0001$ ) selon leur densité, alors que les différences de contenu lipidique se sont révélées non significatives pour le lot Y45 (Tableau 18).

Tableau 18. Analyse de variance de la quantité de protéines et de lipides des graines d'épinette noire selon leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées. Les pourcentages ont été transformés pour assurer l'homogénéité des variances. Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines.

Source	dl	LIPIDES TOTAUX (% par graine)			PROTÉINES TOTALES*			PROTÉINES SOLUBLES			PROTÉINES INSOLUBLES			
		CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p	CM	F	p	
Y45														
Bloc	2	0,45			3,19			23,81				23,81		
Densité	2	1,50	2,51	0,1046	9,71	0,53	0,5952	236,31	1,31	0,2895	236,31	1,31	0,2895	
Erreur	22	0,60			18,27			180,07				180,07		
L63														
Bloc	2	0,99			17,52			104,81				104,81		
Densité	3	11,87	14,66	<0,0001	21,58	1,31	0,2845	154,03	1,00	0,4011	154,03	1,00	0,4011	
<i>D<sub>L</sub></i>	1	27,59	34,08	<0,0001										
<i>D<sub>Q</sub></i>	1	1,44	1,77	0,1914										
<i>D<sub>C</sub></i>	1	0,03	0,04	0,8423										
Erreur	42	0,81			16,50			153,62				153,62		
K13														
Bloc	2	0,12			1,99			2,00				2,00		
Densité	3	20,53	10,44	<0,0001	0,59	0,09	0,9652	13,36	0,53	0,6617	13,36	0,53	0,6617	
<i>D<sub>L</sub></i>	1	50,84	25,85	<0,0001										
<i>D<sub>Q</sub></i>	1	18,03	9,17	0,0045										
<i>D<sub>C</sub></i>	1	4,61	2,35	0,1341										
Erreur	42	1,97			6,58			25,04				25,04		

\* La quantité de protéines totales représente la somme des protéines solubles et insolubles.

NOTE : L = variation linéaire; Q = variation quadratique; C = variation cubique.

NOTE : Les analyses ont été effectuées séparément pour chacun des lots de graines.

Pour le lot L63, le contenu en lipides décroît de manière linéaire ( $D_L p < 0,0001$ ) avec l'augmentation de la densité des semences (Tableau 18), subissant une baisse de 1,6 %

(Tableau 19). Pour le lot K13, ce sont des relations linéaires et quadratiques significatives ( $D_L p < 0,0001$ ,  $D_Q p = 0,0045$ ) qui expriment la diminution de la quantité de lipides en fonction de l'augmentation de la densité des semences (Tableau 18); les graines de faible densité contiennent 3,4 % de lipides de plus que les graines de grande densité (Tableau 19).

Tableau 19. Contenu lipidique des graines d'épinette noire selon leur densité, pour chacune des trois provenances utilisées.

LOT	N	DENSITE (g·cm <sup>-3</sup> )	MASSE DES GRAINES (mg)	LIPIDES TOTAUX (%)
Y45	-	< 1,08	-	-
	9	1,08 - 1,10	0,99 ± 0,05	34,2 ± 0,2
	9	1,10 - 1,12	1,03 ± 0,05	33,7 ± 0,3
	9	> 1,12	1,03 ± 0,05	33,4 ± 0,3
L63	12	< 1,08	0,88 ± 0,03	36,0 ± 0,9
	12	1,08 - 1,10	0,96 ± 0,02	33,7 ± 0,2
	12	1,10 - 1,12	0,99 ± 0,02	32,8 ± 0,2
	12	> 1,12	0,99 ± 0,02	31,6 ± 0,2
K13	12	< 1,08	1,08 ± 0,05	37,7 ± 0,4
	12	1,08 - 1,10	1,09 ± 0,04	34,8 ± 0,5
	12	1,10 - 1,12	1,15 ± 0,05	34,6 ± 0,4
	12	> 1,12	1,17 ± 0,05	34,3 ± 0,2

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur type.

Les semences des trois lots ne montrent pas de différences significatives de contenu protéique, peu importe leur densité (Tableau 18). Les protéines constituent plus de 20 % de la masse sèche des graines des trois provenances (Tableau 20). Les protéines insolubles représentent 58 à 67 % de cette quantité.

Tableau 20. Contenu en protéines totales, solubles et insolubles des graines d'épinette noire, pour chacune des trois provenances utilisées.

LOT	N	MASSE DES GRAINES (mg)	PROTÉINES TOTALES* (%)	PROTÉINES SOLUBLES (% du total)	PROTÉINES INSOLUBLES (% du total)
Y45	27	1,11 ± 0,05	21,0 ± 0,4	36,8 ± 0,6	63,2 ± 0,6
L63	48	1,06 ± 0,05	22,9 ± 0,9	33,3 ± 1,4	66,7 ± 1,4
K13	48	1,30 ± 0,07	20,8 ± 0,6	41,6 ± 1,4	58,4 ± 1,4

NOTE : Les valeurs contenues dans le tableau sont des moyennes ± erreur type.

\* La quantité de protéines totales représente la somme des protéines solubles et insolubles

## **CHAPITRE IV**

### **DISCUSSION**

#### 4.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

La progression de la germination montre que les graines du lot Y45 sont d'une qualité inférieure, que celles du lot L63 sont de qualité moyenne et que les semences du lot K13 sont de qualité supérieure. Ces différences étaient attendues, car les trois provenances avaient été choisies sur la base de leur germination distincte, afin de permettre une comparaison des effets du traitement d'amorçage et des techniques de séparation (tamisage et densité) sur les semences de diverses qualités.

Les pourcentages de germination obtenus lors des expérimentations sont plus faibles que ceux évalués par le Centre de semences forestières de Berthier (CSFB), pour deux des lots (lots Y45 et L63; Tableau 1 et figure 5). Ces écarts peuvent être attribuables au fait que ces deux lots sont en dégénérescence rapide, suite à une longue période d'entreposage (17 et 13 ans). Par opposition, les semences dont la germination ne montre pas de divergence avec le CSFB ont été entreposées durant une période de 3 ans seulement avant les expérimentations. Il est reconnu que la germination des semences diminue avec le temps d'entreposage, même dans des conditions environnementales idéales et constantes (Roos, 1980; Mayer et Poljakoff-Mayber, 1989; Bewley et Black, 1994). Lorsque les conditions sont défavorables, la réduction de viabilité et la fréquence de mortalité en fonction du temps s'en trouvent augmentées. Les facteurs qui nuisent à la bonne conservation des graines sont une température et une humidité élevées, ainsi qu'une teneur en eau des semences qui est trop importante. De plus, les fluctuations des conditions de



stockage sont aussi néfastes à une préservation adéquate des semences. Finalement, la rapidité avec laquelle la germination diminue lors de l'entreposage dépend aussi des caractéristiques de chaque lot; dans les mêmes conditions, la réduction de viabilité sera plus rapide pour certaines provenances que pour d'autres.

Les différences de germination entre les lots peuvent être attribuées aux différences génétiques et physiologiques existant entre les provenances, aux conditions auxquelles ils ont été soumis, mais aussi à leur composition, soit la présence de divers types de semences qui ne germent pas ou qui germent lentement. Une quantité différente de ces graines constituait les trois lots. Ces divergences étaient souhaitables pour bien évaluer les effets des traitements d'amorçage et de séparation. En effet, les traitements prégerminatoires comme l'amorçage ont comme objectif de favoriser la germination des semences vivantes (viables ou peu vigoureuses), alors que les procédures de séparation permettent d'isoler les semences mortes (pleines ou vides) ou peu vigoureuses afin de les éliminer et d'augmenter la qualité des lots (Taylor et al., 1998).

## **4.2 AMORÇAGE**

### **4.2.1 Effet de la température**

Les indices de germination montrent qu'une température d'amorçage de 15 °C semble être plus favorable à la germination des semences d'épinette noire qu'une température de 5 °C ou de 10 °C. De plus, la combinaison d'une température de 15 °C et d'une durée de 48

heures permet une hausse du pourcentage de germination des lots. Cette observation correspond partiellement à la littérature. En effet, dans les autres études concernant l'amorçage des graines de conifères, la température bénéfique à la germination des semences n'est pas nécessairement de 15 °C et aucune amélioration du pourcentage de germination n'est rapportée. Toutefois, l'accélération de la germination observée dans la présente recherche est aussi notée. Pour l'épinette noire, les travaux de Malek (1992) révèlent qu'un amorçage effectué dans l'eau entre 18 °C et 22 °C permet d'accélérer l'émergence des semis produits en serre. Le pourcentage de germination très élevé (98 %) des semences avant les traitements n'a toutefois pas permis d'observer si l'amorçage avait un impact sur le pourcentage d'émergence. Rudolf (1950) a aussi montré qu'un amorçage dans l'eau froide causait une augmentation de la vitesse de germination des graines d'épinette noire. Chez le pin à encens (*Pinus taeda* L.), un amorçage dans l'eau réalisé à une température de 24 °C permettait de réduire le temps nécessaire à la germination des graines, mais n'affectait pas le pourcentage final de germination (Boyer et al., 1988). Dans cette étude, les graines avaient aussi une capacité germinative élevée (> 89 %).

En contrepartie, une température semblable à celle qui a permis d'obtenir les plus grands bénéfices sur la germination des graines d'épinette noire est rapportée dans d'autres types d'études. Lors d'expérimentations de la technique IDS (Incubation, Déshydratation, Séparation) sur plusieurs espèces de pins et d'épinettes, il a été observé qu'une incubation, c'est-à-dire un trempage sans restriction de la quantité d'eau disponible, effectuée à 15 °C, permettait l'imbibition des semences sans nuire à leur germination (Bergsten, 1993). Une

température supérieure causait une augmentation de la respiration et des risques d'effets négatifs sur la capacité germinative. Chez les semences de l'épinette noire et du pin tordu, cette température correspond aussi à celle utilisée pour réaliser de manière efficiente un traitement d'hydratation dans une solution osmotique (Flemming et Lister, 1984; Simak, 1984). De plus, elle est couramment choisie pour traiter les semences d'un grand nombre d'espèces, en horticulture et en agriculture (Bradford, 1986). Finalement, elle coïncide avec celle où la germination de l'épinette noire est la meilleure (Farmer et al., 1984). Leur étude sur l'interaction de la lumière, de la température et de la stratification a montré que les semences d'épinette noire entreposées à une température de 3 °C avaient une germination plus rapide et plus uniforme entre 10 °C et 20 °C.

Aux températures plus basses (5 °C et 10 °C), les effets bénéfiques de l'amorçage sont possiblement réduits parce que le déroulement des processus métaboliques nécessaires à la germination des graines sont dépendants de températures plus élevées (Mayer et Poljakoff-Mayber, 1989; Bewley et Black, 1994). Un autre facteur qui a pu contribuer à l'obtention de résultats moindres dans des conditions plus froides est l'une des propriétés physiques du médium utilisé pour réaliser l'amorçage. L'imbibition, qui est en partie un processus physique, dépendrait de la viscosité de l'eau, qui elle-même diminue avec la baisse de la température. De ce fait, l'absorption de l'eau par les semences serait réduite aux basses températures (Murphy et Noland, 1982).

#### 4.2.2 Comparaison entre les provenances

Le pourcentage de germination pouvant théoriquement être atteint suite à un traitement de conditionnement des semences comme l'amorçage était de 88,8 % pour le lot de faible qualité (Y45), 86,9 % pour le lot de qualité moyenne (L63) et 97,9 % pour le lot K13 qui est d'excellente qualité (Figures 5 et 6). En effet, les semences viables et peu vigoureuses sont celles qui peuvent bénéficier d'une stimulation de leurs processus métaboliques pour effectuer leur germination plus rapidement (Mayer et Poljakoff-Mayber, 1989; Bewley et Black, 1994; Bettez et al., 1996; McDonald, 1998).

Toutefois, les trois lots réagissent de manière semblable malgré les quantités différentes de semences qui auraient pu profiter de l'amorçage. La meilleure combinaison de traitement, qui est un amorçage à 15 °C durant 48 heures, occasionne une hausse moyenne du pourcentage de germination de seulement 2,1 %. Ce résultat est contraire à ce qui était attendu puisque des différences d'amplitude de réaction semblaient prévisibles vu la composition des lots de semences forestières utilisés.

Ceci peut s'expliquer par le fait que l'amorçage permet principalement aux semences d'initier leur germination plus hâtivement (déplacement des courbes vers la gauche) sans influencer de manière importante la qualité des processus métaboliques impliqués. Les augmentations de vitesse observées sont causées par la stimulation des activités métaboliques des graines (hydratation des composantes internes, activation des enzymes, synthèse protéique, formation d'ATP, mobilisation des substances de réserve, augmentation

de la respiration), ce qui fait que leur stade de développement est plus avancé au moment du semis (Mayer et Poljakoff-Mayber, 1989; Bourgeois et Malek, 1991; Bewley et Black, 1994; Bettez et al., 1996; McDonald, 1998; Dumroese, 2000). Un certain nombre de semences peu vigoureuses ont ainsi pu commencer leur germination au cours du traitement d'amorçage, ce qui leur a permis d'être dénombrées durant l'intervalle de 21 jours des tests de germination. Le fait d'initier la germination des graines avant le début des tests aurait ainsi eu comme conséquence directe d'augmenter le pourcentage de germination final des lots.

#### **4.2.3 Effet de la durée**

L'augmentation de la durée de l'amorçage occasionne une diminution de la valeur du jour du pic, indiquant que la germination des lots est plus précoce (déplacement des courbes vers la gauche); la réduction du temps de germination correspond approximativement au temps de traitement. De plus, l'uniformité et la vitesse de la germination des semences ne sont pas affectées puisque l'indice de germination maximal est semblable peu importe la durée de l'amorçage. Ceci semble confirmer que ce procédé de conditionnement permet à la germination de débiter plus tôt, sans modification de ses caractéristiques. Dans leurs expérimentations sur les semences de pin tordu, Boyer et al. (1988) concluent aussi que la réduction du temps de germination obtenue suite à l'amorçage est due au fait que les graines ont atteint un stade plus avancé de leur développement. Puisque la synchronisation de la germination (semences qui germent de manière simultanée ou non) n'est pas modifiée par le traitement, ces chercheurs soutiennent

que l'accélération obtenue équivaut à semer les graines plus tôt. Dans une autre étude portant sur le traitement des semences d'épinette noire, l'importance de l'accélération de la germination correspond aussi à la durée du traitement, ce qui appuie le fait que l'amorçage permet d'amener les graines à un stade plus avancé, sans modifier les caractéristiques de leur métabolisme (Malek, 1992).

Pour les combinaisons de traitement appliquées durant une période de 72 heures, une diminution du pourcentage de germination des semences est visible. Dans les études réalisées sur le pin à encens (Boyer et al., 1988) et sur l'épinette noire (Malek, 1992), les semences étaient traitées durant des périodes respectives de 3 jours et 6 jours, sans qu'il y ait mention d'effets négatifs sur la capacité germinative des graines. Dans la présente étude, une aération trop vigoureuse causant des chocs répétés entre les graines et le diffuseur d'air pourrait expliquer les plus faibles pourcentages de germination observés pour une durée de 72 heures. En effet, des lésions au tégument des graines ont été observées pour cette durée d'amorçage. La viabilité des semences peut sérieusement être réduite par des dommages faits au tégument, car ce dernier joue un important rôle de protection, empêchant la perte de minéraux, d'électrolytes et de composés organiques vers le médium environnant (Bewley et Black, 1994).

Les résultats de la présente recherche montrent donc que l'amorçage permet d'amener les semences à un stade plus avancé de leur germination; la germination débute plus tôt au cours du test puisqu'elle a déjà commencé durant le traitement d'amorçage (imbibition et

initiation des activités métaboliques). Un amorçage exécuté à une température de 15 °C durant une période de 48 heures permet ainsi d'obtenir un gain maximum de 2,1 % sur le pourcentage de germination final des semences. Toutefois, les avantages de cette technique sont contrebalancés par plusieurs facteurs, tels que l'applicabilité au niveau opérationnel et les possibilités d'entreposage.

Tout d'abord, la durée idéale du traitement d'amorçage correspond approximativement à la diminution du temps de germination. Le temps de production des plants forestiers ne serait donc pas réduit puisqu'une période en pépinière serait simplement remplacée par une période d'amorçage. De plus, le coût du matériel et des manipulations supplémentaires nécessaires à la réalisation du traitement d'amorçage seraient probablement trop élevés pour justifier une augmentation moyenne de 2,1 % du pourcentage de germination des semences.

Ensuite, ce sont des semoirs automatiques qui assurent la distribution des graines dans les alvéoles, lors de la production de plants forestiers. D'un point de vue opérationnel, il est donc souhaitable de retourner les semences à un état déshydraté avant de procéder à leur mise en terre. Mais des investigations réalisées sur des semences d'espèces agricoles montrent que les gains obtenus lors des traitements prégerminatoires peuvent être perdus lorsque les graines sont remises à un faible niveau d'humidité (Bodsworth et Bewley, 1981; McDonald, 1998; Taylor et al., 1998).

Finalement, la difficulté d'entreposer les graines traitées est un autre obstacle à l'utilisation commerciale de la technique de l'amorçage dans l'eau. En effet, le stockage est souhaitable pour que les semences soient disponibles en tout temps aux pépiniéristes. Chez l'épinette noire, les semences soumises à des conditions d'entreposage idéales ont montré un maintien de leur capacité germinative et un faible déclin de leur viabilité et de l'uniformité de leur germination (Flemming et Lister, 1984). Toutefois, lorsque ces mêmes graines étaient placées dans des conditions défavorables, elles présentaient une réduction marquée de viabilité par rapport aux graines témoins. Des réductions de longévité sont aussi rapportées chez plusieurs espèces utilisées en agriculture et en horticulture (Bodsworth et Bewley, 1981; McDonald, 1998; Taylor et al., 1998; Bruggink *et al*, 1999).

L'amorçage dans l'eau, bien que bénéfique à la germination lorsque réalisé à 15 °C durant 48 heures, ne permettrait donc pas d'améliorer la production de plants en récipients. En effet, le traitement n'influence pas de façon assez importante le pourcentage final et la vitesse de germination des lots de graines pour qu'il y ait un impact intéressant au niveau opérationnel. L'utilisation de techniques permettant la séparation des semences selon leur potentiel de germination serait donc une solution à privilégier pour améliorer la qualité des lots.



## 4.3 SÉPARATION

### 4.3.1 Séparation par tamisage

Les techniques de séparation ont la possibilité de cibler toutes les semences qui diminuent le pourcentage de germination. En effet, ces procédés de conditionnement des lots permettent à la fois d'éliminer les graines vides ou non viables, mais aussi celles qui sont peu vigoureuses.

Les semences des trois lots diffèrent par leur masse, tandis que leur largeur est semblable. Des graines de longueur supérieure sont retrouvées pour une seule provenance. Ces résultats correspondent à ceux de Walsh et Lord (1996), dans lesquels des semences de masses distinctes avaient aussi des dimensions comparables. Les tests de viabilité effectués sur les semences non germées montrent que les différences de masse moyenne pourraient, en partie, être attribuables à la présence de graines vides. Ces dernières sont en effet plus nombreuses chez les lots Y45 et L63, que chez le lot provenant d'un verger à graines (K13).

Le tamisage n'a pas le même effet chez les trois provenances et seulement un lot affiche une hausse de son pourcentage de germination final avec la masse et la dimension des semences. Walsh et Lord (1996) ont démontré que la masse, la longueur et la largeur sont des critères qui permettent de distinguer les graines d'épinette noire selon leur potentiel de germination et d'émergence. La masse serait toutefois un meilleur élément de

sélection que les deux autres paramètres. Wang et al. (1994) ont aussi montré que les semis les plus vigoureux et ayant un meilleur taux de survie étaient produits par les graines d'épinette noire les plus lourdes. Enfin, une augmentation de la germination avec la masse des semences a été rapportée pour plusieurs autres espèces végétales (Castro, 1999). Par contre, des travaux réalisés au ministère des Ressources naturelles du Québec, révèlent que la taille des graines d'épinette noire et blanche n'influence pas le pourcentage et la vitesse de germination (Brault et al., 1996). D'autres études mentionnent aussi que la dimension des graines n'influence pas la qualité de leur germination (Burgar, 1964; Castro, 1999).

L'absence de relation positive entre la masse des semences et leur pourcentage de germination peut s'expliquer par la manière de réaliser le tamisage. En effet, le tamisage permet d'effectuer un tri selon la largeur des semences. Puisqu'il y a peu de variabilité de taille chez les semences d'épinette noire, il peut donc en résulter un certain regroupement de masse dans des classes de tamisages différentes. Walsh et Lord (1996) ont montré que chez les semences d'épinette noire étudiées de manière individuelle, des augmentations de capacité germinative en fonction de la masse sont constatées, alors que cette relation n'est pas observée chez les semences tamisées. Ceci semble appuyer le fait qu'une trop grande variabilité de masse à l'intérieur d'une classe de tamisage peut masquer la relation existant avec la germination des semences. L'utilisation d'un nombre plus élevé de tamis aurait peut-être permis une séparation plus précise, et l'observation de relations entre la germination, la masse et la taille des graines.

Dans le cas du lot de meilleure qualité (K13), il était prévisible que les semences de masse et de dimension différentes aient sensiblement la même germination, car sa capacité germinative était déjà très élevée. En effet, cette provenance contenait un nombre réduit de graines peu vigoureuses (qui germent après la fin du test), non viables et vides. Il est donc normal que les écarts obtenus entre les différentes catégories de tamisage soient faibles.

Pour la provenance de moindre qualité, l'élimination des semences de faible potentiel germinatif, en vue d'augmenter le pourcentage de germination total du lot de graines est impossible, même si on retrouve des différences de capacité germinative entre les classes de tamisage. En effet, la quantité de semences à rejeter est trop importante pour le gain escompté. Les graines qui germent le moins bien constituent 47,6 % du lot et leur germination est seulement 8,6 % inférieure à celle des meilleures graines (Tableaux 10 et 14). Le tamisage n'offre donc pas la possibilité d'isoler et d'éliminer les semences qui ne peuvent pas germer, car ces dernières se répartissent également entre les fractions de tailles différentes.

Le tamisage reste néanmoins une bonne technique de séparation des semences de certains lots, lorsque le pourcentage et la vitesse de germination sont corrélés à la taille des graines. Dans ces cas, il serait possible de semer séparément les graines dont la capacité germinative est différente. En traitant les fractions de tamisage de la même manière que des lots qui présentent une germination distincte, les pépiniéristes pourraient uniformiser leurs cultures de plants forestiers. De plus, cette façon de procéder permettrait d'éviter le rejet de

certaines graines et l'élimination d'une partie du patrimoine génétique de l'espèce qui est une conséquence inhérente à cette pratique (El-Kassaby, 2000).

#### 4.3.2 Séparation par densité

Il est souvent mentionné que les semences de très faible densité sont celles qui ont la moins bonne germination, comme c'est le cas pour la laitue (*Lactuca sativa* L.), l'oignon (*Allium cepa* L.), la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), la primevère (*Primula acaulis* [L.] Hill.) et le soya (*Glycine max* [L.] Merr.) (Hill et al., 1989; Hoy et Gamble, 1985; Khademi et al., 1993). Ceci est observé dans la présente recherche, car les graines d'épinette noire de très basse densité sont celles dont la qualité (capacité germinative, vitesse de germination et vigueur) est la plus faible. Toutefois, la majorité des études indiquent aussi que la germination augmente avec la hausse subséquente de la densité. Les graines d'épinette noire des lots utilisés ont plutôt montré qu'il existe une densité où la germination est optimale et qu'une réduction de germination se produit dans les catégories de densité plus élevée. Chez certaines espèces végétales, il n'existe pas de relation entre la masse volumique et la capacité germinative des graines (Hill et al., 1989; Baalbaki et Copeland, 1997) et l'existence d'une densité optimale est rapportée dans le cas des semences de coton (*Gossypium hirsutum* L.) (Leffler et Williams, 1983).

La densité des semences déshydratées est principalement déterminée par leur composition chimique et leur degré de maturité. Plusieurs autres facteurs peuvent influencer la densité des semences imbibées, comme la température et la durée de l'amorçage, ainsi que

l'intégrité des membranes cellulaires. En altérant le processus d'hydratation, ces variables peuvent modifier la précision de la séparation densimétrique (Simak, 1973; Murphy et Noland, 1982; Leopold, 1983; Taylor et Kenny, 1985; Hill et al., 1989).

Le tri densimétrique des semences imbibées a été utilisé par Simancik (1965) afin d'augmenter la qualité des lots de plusieurs espèces de conifères. La base physiologique de son traitement était l'utilisation des divergences dans la vitesse d'imbibition des graines viables, non viables et vides. Cependant, l'obtention de différences de densité était liée à l'utilisation d'une durée de trempage précise et spécifique à chaque essence. Une période d'imbibition trop longue ne permettait pas d'effectuer de distinctions entre les semences n'ayant pas la même viabilité, car ces dernières avaient atteint le même niveau d'hydratation. Aussi, lors d'expérimentations utilisant la séparation par flottation et la technique IDS, des chercheurs ont noté qu'une quantité relativement importante de semences endommagées mécaniquement étaient recueillies à des densités élevées, car des lésions au tégument leur permettaient d'absorber l'eau plus rapidement (Simak, 1973; Simak, 1984). De plus, Downie et Bergsten (1991b) ont observé que des graines de viabilité différente pouvaient être de masse volumique semblable.

Les conditions d'amorçage précédant la séparation et la présence de graines endommagées ont donc pu influencer la répartition des semences au travers des différentes classes de densité. Une période d'amorçage trop longue aurait réduit les écarts de masse volumique entre les graines viables et non viables, ce qui leur aurait permis de se retrouver

à l'intérieur des mêmes catégories. L'existence d'une densité optimale et la diminution de germination observée aux densités élevées s'expliquent possiblement par cette distribution d'une partie des semences non viables et peu vigoureuses au travers des fractions de densités supérieures.

Le tamisage des semences n'a pas permis d'augmenter la précision de la séparation densimétrique des graines d'épinette noire. Pourtant, South et Young (1994) mentionnent qu'un tri selon la taille et le poids permet d'améliorer de façon importante la précision de la séparation par densité des graines de pins et d'eucalyptus. Les semences en cours de germination (vivantes) absorbent l'eau et changent de dimensions, mais non de masse. Elles se retrouvent donc avec une densité spécifique différente des semences qui ne germent pas, ce qui permet leur discrimination. Il est toutefois possible que le tamisage en seulement quatre catégories n'ait pas permis d'uniformiser de façon convenable la taille et la masse des graines, ce qui pourrait être une autre explication au patron observé de séparation par densité.

Tout comme le tamisage, le tri densimétrique des graines montre un effet variable selon la provenance. Ce résultat était prévisible, car la quantité de semences qui abaissent le pourcentage de germination (peu vigoureuses, non viables ou vides) est plus faible lorsqu'un lot est de bonne qualité. L'importance des améliorations pouvant être attendues est donc réduite en conséquence. Par exemple, chez le chou (*Brassica oleracea* L.) aucune

différence de germination et d'émergence n'a pu être observée lorsque la capacité germinative des lots était très élevée (98 %) (Hill et al., 1989).

La séparation densimétrique est toutefois une meilleure façon de discriminer les semences selon leur potentiel de germination que le tamisage, car les différences sont plus marquées entre les densités qu'entre les tailles des graines. Cette technique est surtout intéressante lorsqu'on considère l'écart important obtenu entre les fractions de plus faible et de plus haute germination (27,4 %), dans le cas du lot de qualité inférieure (Y45; tableau 16). L'utilisation de 17,4 % des graines de cette provenance permettrait de hausser le pourcentage de germination final de 12,4 %, lui faisant atteindre 81,6 % (Figure 5 et tableau 15). En montrant que la majorité des lots de moindre qualité réagissent de la même manière que celui utilisé, il serait possible de récupérer les lots de semences dont le pourcentage de germination trop faible empêche leur utilisation par les pépiniéristes. En effet, ce gain permet de dépasser la barre des 80 %, qui représente la limite inférieure nécessaire pour accomplir une production de plants forestiers rentable (CSFB, comm. pers.). La remise en circulation de provenances se situant près de cette limite serait donc possible, évitant ainsi des pertes monétaires et biologiques associées au non-usage de ces semences. Les lots récoltés en forêt naturelle lors d'une « mauvaise année » ou ceux ayant subi un entreposage prolongé sont ceux qui pourraient bénéficier d'une élimination partielle de leurs semences.

Afin de vérifier si les gains de potentiel germinatif observés permettraient vraiment la récupération d'une partie des semences constituant certaines provenances, il serait important de répéter les tests de séparation, mais de les faire suivre d'une expérience en serre, au lieu d'une évaluation de la germination. Ceci permettrait de simuler adéquatement les conditions d'une production commerciale et d'évaluer les bénéfices réels de cette procédure de discrimination des semences. En effet, plusieurs études montrent que les résultats obtenus lors de tests de germination ne sont pas toujours représentatifs de ceux obtenus en serre ou en conditions naturelles. Walsh et Lord (1996) ont observé que le pourcentage d'émergence des semis d'épinette noire cultivés en serre est généralement plus faible que le pourcentage de germination obtenu lors d'expériences réalisées dans des chambres de croissance. À l'opposé, les effets de la masse et de la densité des graines de soya se sont révélés plus importants en milieu naturel, sous des mauvaises conditions environnementales, que lors de tests en laboratoire (Hoy et Gamble, 1985, 1987). Des recherches montrent aussi que la densité des semences n'influence pas le pourcentage de germination du blé, mais qu'elle est positivement corrélée à l'émergence et à l'établissement des semis (Baalbaki et Copeland, 1997).

Cependant, cette technique de conditionnement n'est pas directement applicable dans le cadre de la production de plants en récipients. En effet, la réponse à la séparation est trop variable d'un lot à l'autre, les fractions de plus faible germination contiennent un trop grand nombre de semences de bonne qualité et cette méthode nécessite beaucoup trop de manipulations dans sa forme actuelle. Des recherches futures devraient donc tenter



d'améliorer la précision de la séparation densimétrique et son applicabilité au niveau opérationnel. Entre autres, des travaux portant sur les raisons qui engendrent les écarts de germination entre les graines de différentes densités pourraient aider à mieux comprendre le processus de séparation. De plus, il serait intéressant de vérifier si la majorité des lots de graines d'épinette noire de faible qualité peuvent être améliorés par la séparation densimétrique.

#### 4.4 ANALYSES BIOCHIMIQUES

Les graines d'épinette noire ont un contenu lipidique très semblable à celles de l'épinette de Norvège (*Picea abies* [L.] Karst.) et du sapin de Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) (Tableau 21). La quantité de protéines totales ainsi que les proportions de protéines solubles et insolubles contenues dans les semences sont aussi dans le même ordre de grandeur que celles d'autres conifères (Tableau 22).

Tableau 21. Comparaison du contenu lipidique des graines d'épinette noire avec celui de deux autres espèces de conifères.

ESPÈCE	MASSE DES GRAINES (mg)	LIPIDES (%)
<i>Picea mariana</i>		
Y45	1,02	33,8
L63	0,95	33,4
K13	1,13	34,9
<i>Picea abies</i> <sup>1</sup>	-	32-37
<i>Pseudotsuga menziesii</i> <sup>2</sup>	-	36-38

<sup>1</sup>Jankowski et Janson, 1999, Stolyhwo et Janson, 1999; <sup>2</sup>Ching, 1963a, 1963b.

Tout comme plusieurs espèces du genre *Pinus*, ce sont les protéines insolubles qui constituent la majeure partie des réserves protéiques des graines d'épinette noire des trois

provenances utilisées. Chez les conifères, les principales réserves des semences sont les lipides et les protéines. Ces substances nutritives sont entreposées dans le megagamétophyte et aussi dans l'embryon, mais dans une moindre mesure (Ching, 1966; Gifford, 1988; Gifford et Toley, 1989; Groome et al., 1991; Bewley et Black, 1994; Stone et Gifford, 1997). Ces réserves jouent un important rôle nutritif durant la germination, car ils permettent à l'embryon d'être approvisionné en acides aminés et en hydrates de carbone jusqu'à ce qu'il ait atteint son indépendance photosynthétique (Bewley et Black, 1994).

Tableau 22. Comparaison du contenu protéique des graines d'épinette noire avec celui d'autres espèces de conifères.

ESPÈCE	MASSE DES GRAINES (mg)	PROTEINES TOTALES* (% par graine)	PROTEINES SOLUBLES (% du total)	PROTEINES INSOLUBLES (% du total)
<i>Picea mariana</i>				
Y45	1,29	20,8	41,6	58,4
L63	1,06	22,9	33,3	66,7
K13	1,10	21,0	36,8	63,2
<i>Picea glauca</i> <sup>1</sup>	-	8-10	75-80	20-25
<i>Pinus albicaulis</i> <sup>2</sup>	90,4	10	64	36
<i>Pinus banksiana</i>	3,6	19	29	71
<i>Pinus caribaea</i>	15,7	19	20	80
<i>Pinus contorta</i>	3,3	24	37	63
<i>Pinus monticola</i>	17,5	19	42	58
<i>Pinus mugo</i>	6,4	23	33	67
<i>Pinus oocarpa</i>	19,7	18	28	72
<i>Pinus ponderosa</i>	44,4	15	42	58
<i>Pinus silvestris</i>	5,4	22	42	58

\* La quantité de protéines totales représente la somme des protéines solubles et insolubles.

<sup>1</sup> Gifford et Toley, 1989; <sup>2</sup> Gifford, 1988 (pour toutes les espèces de pins).

Les quantités de lipides contenues dans les graines d'épinette noire des trois lots ne permettent pas d'expliquer les écarts de germination observés entre les différentes catégories de densité, car la progression de ces deux paramètres est très différente. Puisque

le contenu lipidique des semences diminue avec la hausse de la densité, il est cependant raisonnable de croire que c'est la quantité de lipides présente dans les graines qui a permis leur séparation densimétrique. Cette observation serait conséquente avec la masse volumique des lipides et des protéines. En effet, une graine dont la proportion relative en lipides est plus élevée est moins dense; elle aura donc une plus grande propension à flotter.

Les différences de germination ne peuvent pas non plus être expliquées par le contenu protéique des semences d'épinette noire, car il est semblable peu importe la classe de densité. Plusieurs travaux ont porté sur les raisons biochimiques qui pourraient expliquer les variations de germination existant entre les graines de différentes densités. Khademi et al. (1993) ont montré que la capacité germinative et la viabilité des semences imbibées s'accroissent avec leur masse volumique. Ils ont aussi observé que la quantité de protéines solubles augmente avec la densité des graines mais que le contenu en protéines insolubles reste stable. Les auteurs concluent donc que les protéines solubles seraient responsables des écarts de germination observés entre les diverses catégories de densité. L'existence d'une relation entre la quantité de protéines de réserve, la densité et la vigueur des semences a été notée chez d'autres espèces utilisées en agriculture et en horticulture (Bartee et Krieg, 1974; Abdul-Baki, 1980; Taylor et al., 1982). Par opposition, les travaux de Leffler et Williams (1983) n'ont pas permis d'observer de lien entre le potentiel germinatif, la densité et les contenus lipidique et protéique des graines de coton. Aucune étude ne semble s'être penchée sur les relations entre la quantité de substances de réserve et la densité des semences de conifère.

## **CHAPITRE V**

## **CONCLUSION**

Cette recherche s'insère dans le cadre d'un projet visant à vérifier l'efficacité de la combinaison de techniques de conditionnement et de sélection des graines, dans le but d'améliorer la germination des lots de semences d'épinette noire utilisés pour la production commerciale de plants destinés au reboisement.

L'amorçage dans l'eau s'est révélé être un traitement bénéfique aux semences d'épinette noire lorsqu'il était réalisé à une température de 15 °C, durant une période de 48 heures. Toutefois, comme l'amélioration de la vitesse de germination correspond à la durée du traitement d'amorçage, que l'augmentation du pourcentage de germination est faible et que les effets de ce type de traitement suite à l'entreposage des semences ne sont pas connus, cette technique n'apporterait pas assez d'avantages pour être intéressante au niveau opérationnel. Quant à eux, les procédés de séparation permettraient une augmentation de l'uniformité de la production des plants forestiers et une diminution des coûts d'opération des pépiniéristes, si on semait séparément les différentes fractions obtenues. De plus, la séparation densimétrique, qui est le procédé qui a montré la meilleure capacité de discrimination des semences, permettrait la récupération d'une partie des lots de graines de faible potentiel germinatif qui ne sont plus utilisés par les pépiniéristes. Les lots concernés sont ceux récoltés en forêt naturelle lors d'une « mauvaise année » ou ceux ayant perdu leur vigueur suite à un entreposage prolongé.

Des recherches ultérieures devraient donc porter sur le raffinement de la méthode de séparation densimétrique et l'amélioration de son applicabilité au niveau opérationnel. Il

serait aussi intéressant de vérifier si la majorité des lots de graines de faible capacité germinative se comportent de façon similaire lors de la séparation densimétrique, et si les résultats des tests de germination sont représentatifs de ce qui pourrait être obtenu dans des conditions de culture réelles (production de plants en pépinière).

## **CHAPITRE VI**

## **RÉFÉRENCES**

- Abdul-Baki, A.A. 1980. Biochemical aspects of seed vigor. *Hortscience* 15(6) : 765-770.
- Akers, S.W. et Holley, K.E. 1986. SPS : a system for priming seeds using aerated polyethylene glycol or salt solutions. *Hortscience* 21 : 529-531.
- AOSA (Association of Official Seed Analysts). 1983. Seed Vigor Testing Handbook. Contribution No. 32. Association of Official Seed Analysts. Lincoln, NE, USA.
- Ayers, G.S., Wert, V.F. et Ries, S. K. 1976. The relationship of protein fractions and individual proteins to seedling vigour in wheat. *Ann. Bot.* 40 : 563-570.
- Baalbaki, R.Z. et Copeland, L.O. 1997. Seed size, density and protein content effects on field performance of wheat. *Seed Sci. and Technol.* 25 : 511-521.
- Bartee, S.N. et Krieg, D.R. 1974. Cotton seed density : associated physical and chemical properties of 10 cultivars. *Agron. J.* 66 : 433-435.
- Bergsten, U. 1993. Removal of dead-filled seeds and invigoration of viable seeds : a review of a seed conditioning concept used on conifers in Sweden. Proceedings of an international symposium of IUFRO, Dormancy and barriers to germination, Project Group P2.04-00 (Seed problems). Pacific Forestry Centre, Victoria, British Columbia, Canada. Pages 7-15.
- Bettez, M, Brault, N. et Mercier, S. 1996. Compte rendu de l'atelier sur l'évaluation de la qualité des graines d'arbres résineux. Centre de semences forestières de Berthier, Division de R-D sur les semences, boutures et plants, Ministère des ressources naturelles. 30 pages.
- Bewley, J.D. et Black, M. 1994. Seeds : Physiology of development and germination. Second edition. Plenum Press. New York. 445 pages.
- Bio-Rad Laboratory. 1987. Proteins assays : Colometric protein assays. Tech. Note 1069.



- Bodsworth, S. et Bewley, J.D. 1981. Osmotic priming of seeds of crop species with polyethylene glycol as a means of enhancing early and synchronous germination at cool temperatures. *Can. J. Bot.* 59 : 672-676.
- Bollag, D.M. et Edelstein, S.J. 1992. Protein methods. John Wiley & Sons inc. New York. 230 pages.
- Bonner, F.T. 1986. Measurement of seed vigor for loblolly and slash pines. *Forest Sci.* 32(1) : 170-178.
- Bourgeois, J. et Malek, L. 1991. Metabolic changes related to the acceleration of the jack pine germination by osmotic priming. *Tree physiology.* 8(4) : 407-413.
- Boyer, J.N., South, D.B., France, R.C., et Sharp, D.J. 1988. Pregermination treatment hastens emergence of loblolly pine seedlings. *Tree Planter's Notes.* 39(4) : 36-38.
- Bradbeer, J.W., 1992. Seed dormancy and germination. Blackie and son Ltd., London.
- Bradford, K.J., 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *Hortscience.* 21(5) : 1105-1112.
- Brand, D et Riov, J. 1999. Soaking in cold water replaces the stratification requirement of true cedar seeds. *Hortscience.* 34(5) : 935.
- Brault, N., Mercier, S. et Bettez, M. 1996. Le traitement des graines d'arbres forestiers, 2<sup>e</sup> partie. *Ordre des ingénieurs forestiers du Québec. Encart de l'Aubelle.* 113 : avril-mai.
- Brown, R.T. 1967. Separation of non-viable Jack Pine [*Pinus banksiana*] seeds by ether flotation. *For. Sci.* 13(1) : 84.
- Bruggink, G.T., Ooms, J.J.J. et van der Toorn, P. 1999. Induction of longevity in primed seeds. *Seed Science Research.* 9 : 49-53.

- Burgar, R.J. 1964. The effect of seed size on germination, survival and initial growth in white spruce. *Forestry Chronicle*. 40(1) : 93-97.
- Carlson, L.W. 1981. Conseils pour la culture en récipients des semis de conifères dans les provinces des prairies. Rapport d'information NOR-X-214F. Centre de recherches forestières du Nord. Edmonton. 62 pages.
- Castro, J. 1999. Seed mass versus seedling performance in Scots pine : a maternally dependent trait. *New Phytologist*. 144(1) : 153-161.
- Ching, T.M. 1963a. Change of chemical reserves in germinating Douglas-Fir seed. *For. Sci.* 9(2) : 226-231.
- Ching, T.M. 1963b. Fat utilization in germinating Douglas Fir seed. *Plant Physiol.* 38(6) : 722-728.
- Ching, T.M. 1966. Compositional changes of Douglas Fir seeds during germination. *Plant Physiol.* 41 : 1313-1319.
- Colas, F. et Pelletier, M. 20 février 2003. La filière de production de plants au Québec : de la semence à la plantation. Communication présentée au Colloque en marge du carrefour de la recherche forestière : développement de techniques pour améliorer la germination des graines de résineux. Québec.
- Copeland, L.O. et McDonald, M.B. 1995. Principles of seed science and technology. Third edition. Chapman & Hall. New York.
- Czabator, F.J. 1962. Germination value : An index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest Science*. 8(4) : 386-396.
- Downie, B. et Bergsten, U. 1991a. An invigoration regime for *Pinus strobus* seeds. *Can. J. For. Res.* 21(9) : 1143-1148.

- Downie, B. et Bergsten, U. 1991b. Separating germinable and non-germinable seeds of eastern white pine (*Pinus strobus* L.) and white spruce (*Picea glauca* (Moench) Voss) by the IDS technique. *Forestry chronicle*. 67(4), 393-396.
- Downie, B., Bergsten, U., Wang, B.S.P. et Bewley, J.D. 1993. Conifer seed germination is faster after membrane tube invigoration than after prechilling or osmotic priming. *Seed Science Research*. 3(4) : 259-270.
- Downie, B. et Wang, B.S.P. 1992. Upgrading germinability and vigour of jack pine, lodgepole pine, and white spruce by the IDS technique. *Can. J. For. Res.* 22(8) : 1124-1131.
- Draper, N.R. et Smith, H. 1998. *Applied regression analysis*. Third edition. John Wiley and Sons Ltd. New York. 726 pages.
- Dumroese, R.K. 2000. Germination-enhancing techniques for *Pinus monticola* seeds and speculation on seed dormancy. *Seed Sci & Technol*. 28(1) : 201-209.
- El-Kassaby, Y.A. 2000. Representation of Douglas-fir and western hemlock families in seedling crops as affected by seed biology and nursery crop management practices. *Forest Genetics*. 7(4) : 305-315.
- Entenman, C. 1957. General procedures for separating lipid components of tissue. *Methods in Enzymology*. 3 : 299-313.
- Farmer, R.E., 1997. *Seed Ecophysiology of Temperate and Boreal Zone Forest Trees*. First edition. Lucie Press. Delray Beach. 253 pages.
- Farmer, R.E., Charette, P., Searle, I.E. et Tarjan, D.P. 1984. Interaction of light, temperature and chilling in the germination of black spruce. *Can. J. For. Res.* 14 : 131-133.
- Fleming, F.L. et Lister, S.A. 1984. Stimulation of black spruce germination by osmotic priming : a laboratory studies. Information report 0-X-362. Great Lakes Forest

Research Centre, Canadian Forestry Service, Dept. of the Environment, Sault Ste. Marie, Ont. 15 pages.

Gates, C.E. 1991. A user's guide to misanalysing planned experiments. *Hortscience* 26 : 1262-1265.

Gifford, D.J. 1988. An electrophoretic analysis of the seed proteins from *Pinus monticola* and eight other species of pine. *Can. J. Bot.* 66 : 1808-1812.

Gifford, D.J., Greenwood, J.S. et Bewley, J.D. 1982. Deposition of matrix and cristalloid storage proteins during protein body development in the endosperm of *Ricinus communis* L. cv. Hale seeds. *Plant physiol.* 69 : 1471-1478.

Gifford, D.J. et Tolley, M.C. 1989. The seed proteins of white spruce and their mobilization following germination. *Physiologia Plantarum.* 77 : 254-261.

Grabe, D.F. 1970. Tetrazolium testing handbook : for agricultural seeds. Association of Official Seeds Analysts, Tetrazolium Testing Committee. 62 pages.

Groome, M.C., Axler, S.R. et Gifford, D.J. 1991. Hydrolysis of lipid and protein reserves in loblolly pine seeds in relation to protein electrophoretic patterns following imbibition. *Physiologia plantarum* 83 : 99-106.

Gurr, M.I. et James, A.T. 1980. Lipid biochemistry : an introduction. Third edition. Chapman and Hall. London. 247 pages.

Hill, H.J., Taylor, A.G. et Min, T.G. 1989. Density separation of imbibed and primed vegetable seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114(4) : 661-665.

Hilli, A., Tillman-Sutela, E. et Kauppi, A. 1984. Germination of pretreated Scots pine seeds after long-term storage. *Can. J. For. Res.* 33 : 47-53.

Hoy, D.J. et Gamble, E.E. 1985. The effect of seed size and seed density on germination and vigor in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Can. J. Plant Sci.* 65 : 1-8.

- Hoy, D.J. et Gamble, E.E. 1987. Field performance in soybean with seeds of differing size and density. *Crop Sci.* 27 : 121-126.
- ISTA (International Seed Testing Association). 1999. International rules for seed testing : rules 1999. *Seed Sci. and Technol.* 27 : 1-333. Supplement.
- Jankowski, W et Janson, L. 1999. Lipid content, acidic number of fats and optimal moisture of Norway spruce seeds subjected to long-term storage. *Prace Instytutu Badawczego Lesnictwa.* 878-883 : 35-49.
- Khademi, M., Koranski, D.S. et Peterson, J. 1993. Protein concentration and vigor of imbibed density-separated *Primula* seed. *Hortscience.* 28(7) : 710-712.
- Kirk, R.E. 1995. Experimental design : procedures for behavioral sciences. Third edition. Brooks/Cole, Pacific Grove, CA. 921 pages.
- Lebrun, C. 1967. Separation of [full and empty] seeds by specific-gravity measurement through immersion in liquids. *Rev. for. franc.* 19 (11) : 786-789.
- Leffler, H.R. et Williams, R.D. 1983. Seed density classification influence germination and seedling growth of cotton. *Crop Sci.* 23 : 161-165.
- Leopold, A.C. 1983. Volumetric components of seed imbibition. *Plant Physiol.* 73 : 677-680.
- Little, T.M. et Hills, F.J. 1978. Agricultural experimentation : design and analysis. Wiley. New York. 350 pages.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. et Randall, R.J. 1951. Proteins measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275.

- Malek, L. 1992. Priming black spruce seeds accelerates container stocking in techniculture single-seed sowing system. *Tree planter's note*. Hiver 1992 : 11-13.
- Mayer, A.M. et Poljakoff-Mayber, A. 1989. *The germination of seeds*. Fourth edition. Pergamon Press. Toronto, ON. 270 pages.
- McDonald, B. 1998. Seed quality assessment. *Seed Science Research*. 8 : 265-275.
- McLemore, B.F. 1965. Pentane flotation for separating full and empty Longleaf Pine seeds. *For. Sci.* 11(2) : 242-243.
- Murphy, J.B. et Noland, T.L. 1982. Temperature effects on seed imbibition and leakage mediated by viscosity and membranes. *Plant. Physiol.* 69 : 428-431.
- MRNF, 2005. Site Internet du ministère des Ressources naturelles de la Faune du Québec. [<http://www.mrnf.gouv.qc.ca/>].
- Parent, B. et Fortin, C. 2003. *Ressources et industries forestières : portrait statistique*. Ministère des Ressources naturelles du Québec. Québec.
- Raven, P.H., Evert, R.F. et Eichhorn, S.E. 1991. *Biology of plants*. Fifth edition. Worth publishers. 791 pages.
- Regent Instruments inc. 1998. Win/MacSeedle™ : Seed and needle measurement. Regent Instrument inc. Québec, QC.
- Roos, E.E. 1980. Physiological, biochemical and genetic changes in seed quality during storage. *Hortscience*. 15(6): 781-784.
- Rowse, H.R. 1996. Drum priming : a non-osmotic method of priming seeds. *Seed Sci. and Technol.* 24 : 281-294.
- Rudolf, B. 1950. Cold soaking, a short-cut substitute for stratification. *J. For.* 48 : 31-32.

- SAS Institute inc. 1990. SAS/STAT™ User's Guide : version 6. 4<sup>th</sup> edition. SAS Institute inc. Cary, NC. 1686 pages.
- SAS Institute inc. 2000. JMP® User's Guide. SAS Institute inc. Cary, NC. 270 pages.
- Scott, S.J., R.A. Jones et W.A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*. 24 : 1192-1199.
- Simak, M. 1973. Separation of forest seeds thought flotation. *Dans International Union of Forest Research Organisations (IUFRO). Working Party S2.01.06 : Seed problems. International symposium on seed processing, Bergen, Norway, I : Seed processing, no 16. 239 pages.*
- Simak, M. 1984. A method for removal of filled-dead seeds from a sample of *Pinus contorta*. *Seed Sci & Technol*. 12 : 767-775.
- Simancik, F. 1965. Seed germination capacity of some conifers and its relation to the rate of seed sinking in water. *Lesnický Casopis. Praha*. 61-70.
- Sokal, R.R. et Rohlf, F.J. 1981. Biometry, The principles and practice of statistics in biological research. Second edition. W.H. Freeman and Co. New York. 859 pages.
- South, D.B. et Young, C. 1994. Germinant sowing in South Africa. *Combined Proceedings. International Plant Propagator's Society*. 44 : 266-270.
- Stolyhwo, A. et Janson, L. 1999. Contents of lipids and fatty acid composition in Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) seeds during long-term storage. *Prace Instytutu Badawczego Lesnictwa*. 874-877 : 5-18.
- Stone, S.L. et Gifford, D.J. 1997. Structural and biochemical changes in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) seeds during germination and early-seedling growth. I. Storage protein reserves. *Int. J. Plant. Sci*. 158(6) : 727-737.

- Taiz, L. et Zeiger, E.. 1992. Plant physiology. The Benjamin /Cummings publishing company, Inc. 565 pages.
- Taylor, A.G., Allen, P.S., Bennett, M.A., Bradford, K.J., Burris, J.S. et Mistra, M.K. 1998. Seed enhancements. Seed Science Research. 8 : 245-256.
- Taylor, A.G. et Kenny, T.J. 1985. Improvement of germinated seed quality by density separation. J. Amer. Hort. Sci. 110(3) : 347-349.
- Taylor, A.G., McCarthy. A.M. et Chirco. E.M. 1982. Density separation of seeds with hexane and chloroform. J. Seed Technol. 7 : 78-83.
- Thibault, M. 1987. Les régions écologiques du Québec méridional. Deuxième approximation. Carte, Service de la recherche, ministère de l'Énergie et des Ressources. Québec.
- Tipton, J. L. 1984. Evaluation of three growth curve models for germination data analysis. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109(4) : 451-454.
- Walsh, D. et Lord, D. 1996. Effets de la masse et de la dimension des graines d'épinette noire (*Picea mariana* [Mill.] B.S.P.) sur le taux de germination et la survie des semis produits en récipients. Groupe de recherche en productivité végétale. Département des Sciences fondamentales. Université du Québec à Chicoutimi. 78 pages.
- Wang, B.S.P. 1973. Laboratory germination criteria for red pine (*Pinus resinosa* Ait.) seed. Proc. Ass. Off. Seed Anal. 60 : 94-101.
- Wang, B.S.P. et Ackerman, F. 1983. A new germination box for tree seed testing. Information report PI-X-27. Petawawa national Forestry Institute, Canadian Forestry Service, Environment Canada, Chalk River, Ont. 15 pages.
- Wang, B.S.P. et Berjak, P. 2000. Beneficial effects of moist chilling on the seeds of black spruce (*Picea mariana* [Mill.] B.S.P.). Annals of botany. 86 : 29-36.



Wang, Z.M., Lechowicz, M.J. et Potvin, C. 1994. Early selection of black spruce seedlings and global change : which genotypes should we favor? Ecological applications. 4(3) : 604-616.

Wenny, D.L. 1993. Calculating filled and empty cells based on number of seeds sown per cells : a microcomputer application. Tree planter's notes. 44(2) : 49-52.

## **ANNEXE 1**

### **PARAMÈTRES DES COURBES DE GOMPERTZ**

Tableau 23. Paramètres des équations de Gompertz décrivant l'évolution du pourcentage de germination cumulatif des semences en fonction du temps, selon la provenance ainsi que la température et la durée d'amorçage.

LOT	TEMPÉRATURE (°C)	DURÉE (heures)	a	b	c	R <sup>2</sup>	p	
Y45	Témoin	0 h	69,2	1,8080	12,1946	0,99	<0,0001	
		24 h	68,4	1,8522	11,8270	0,99	<0,0001	
		48 h	61,8	1,6894	11,4611	0,99	<0,0001	
		72 h	63,4	1,8075	11,1453	0,99	<0,0001	
	10 °C	24 h	69,6	1,6602	11,8092	0,99	<0,0001	
		48 h	69,2	2,0504	11,6419	0,99	<0,0001	
		72 h	67,2	2,0210	11,4762	0,99	<0,0001	
	15 °C	24 h	68,6	1,8158	11,7190	0,99	<0,0001	
		48 h	74,2	1,7908	11,2855	0,99	<0,0001	
		72 h	68,6	1,7886	10,5253	0,99	<0,0001	
	L63	Témoin	0 h	79,4	1,3100	11,0782	0,99	<0,0001
			24 h	79,8	1,2536	11,0686	0,99	<0,0001
48 h			78,2	1,3742	11,1085	0,99	<0,0001	
72 h			73,8	1,3400	10,7166	0,99	<0,0001	
10 °C		24 h	82,2	1,2419	10,4479	0,99	<0,0001	
		48 h	77,8	1,6785	10,7296	0,99	<0,0001	
		72 h	76,2	1,0478	10,2543	0,99	<0,0001	
15 °C		24 h	79,4	1,1517	10,4449	0,99	<0,0001	
		48 h	80,6	1,1505	9,9897	0,99	<0,0001	
		72 h	76,2	1,2833	9,6132	0,99	<0,0001	
K13		Témoin	0 h	96,8	0,9243	10,2785	0,99	<0,0001
			24 h	96,2	0,9186	10,1867	0,99	<0,0001
	48 h		92,2	1,0481	10,5148	0,99	<0,0001	
	72 h		94,2	0,8352	10,1388	0,99	<0,0001	
	10 °C	24 h	96,8	1,0110	10,0261	0,99	<0,0001	
		48 h	96,6	0,9536	9,8444	0,99	<0,0001	
		72 h	93,6	1,0160	9,8501	0,99	<0,0001	
	15 °C	24 h	95,6	0,7742	9,7193	0,99	<0,0001	
		48 h	96,8	1,0096	9,6903	0,99	<0,0001	
		72 h	93,0	0,9269	9,2253	0,99	<0,0001	

NOTE : a = Valeur théorique maximale du pourcentage de germination, ou asymptote; b = Paramètre déterminant la forme de la courbe; c = Paramètre positionnant la courbe sur l'axe horizontal.

Tableau 24. Paramètres des équations de Gompertz décrivant l'évolution du pourcentage de germination cumulatif en fonction du temps, selon la provenance et la taille des semences.

LOT	TAMIS (mm)	a	b	c	R <sup>2</sup>	p
Y45	1.20 – 1.30	66,2	1,7871	11,6036	0,99	<0,0001
	1,30 – 1,40	70,9	1,6470	11,2019	0,99	<0,0001
	> 1,40	74,8	1,7977	11,1397	0,99	<0,0001
L63	< 1.20	74,5	1,9584	11,5294	0,99	<0,0001
	1.20 – 1.30	75,3	1,7325	11,1719	0,99	<0,0001
	1,30 – 1,40	76,5	1,8550	11,2053	0,99	<0,0001
	> 1,40	77,8	1,5315	11,0795	0,99	<0,0001
K13	< 1.20	94,9	0,8934	9,3252	0,99	<0,0001
	1.20 – 1.30	95,8	1,0733	9,5585	0,99	<0,0001
	1,30 – 1,40	94,3	0,8651	9,3546	0,99	<0,0001
	> 1,40	94,8	0,7278	9,0643	0,99	<0,0001

NOTE : a = Valeur théorique maximale du pourcentage de germination, ou asymptote; b = Paramètre déterminant la forme de la courbe; c = Paramètre positionnant la courbe sur l'axe horizontal.

Tableau 25. Paramètres des équations de Gompertz décrivant l'évolution du pourcentage de germination cumulatif en fonction du temps, selon la provenance et la densité des semences.

LOT	DENSITÉ (g·cm <sup>-3</sup> )	a	b	c	R <sup>2</sup>	p
Y45	1.08 – 1.10	81,6	1,5681	11,2637	0,99	<0,0001
	1,10 – 1,12	73,4	1,6399	11,1621	0,99	<0,0001
	> 1,12	56,9	2,1287	11,6082	0,99	<0,0001
L63	< 1.08	69,3	1,7351	10,8691	0,99	<0,0001
	1.08 – 1.10	82,1	1,5068	10,8861	0,99	<0,0001
	1,10 – 1,12	76,9	1,7457	11,4524	0,99	<0,0001
	> 1,12	74,9	1,8698	11,8010	0,99	<0,0001
K13	< 1.08	89,7	0,8673	9,2900	0,99	<0,0001
	1.08 – 1.10	96,5	0,7767	9,1831	0,99	<0,0001
	1,10 – 1,12	97,6	1,0463	9,4521	0,99	<0,0001
	> 1,12	96,1	0,9263	9,3357	0,99	<0,0001

NOTE : a = Valeur théorique maximale du pourcentage de germination, ou asymptote; b = Paramètre déterminant la forme de la courbe; c = Paramètre positionnant la courbe sur l'axe horizontal.

