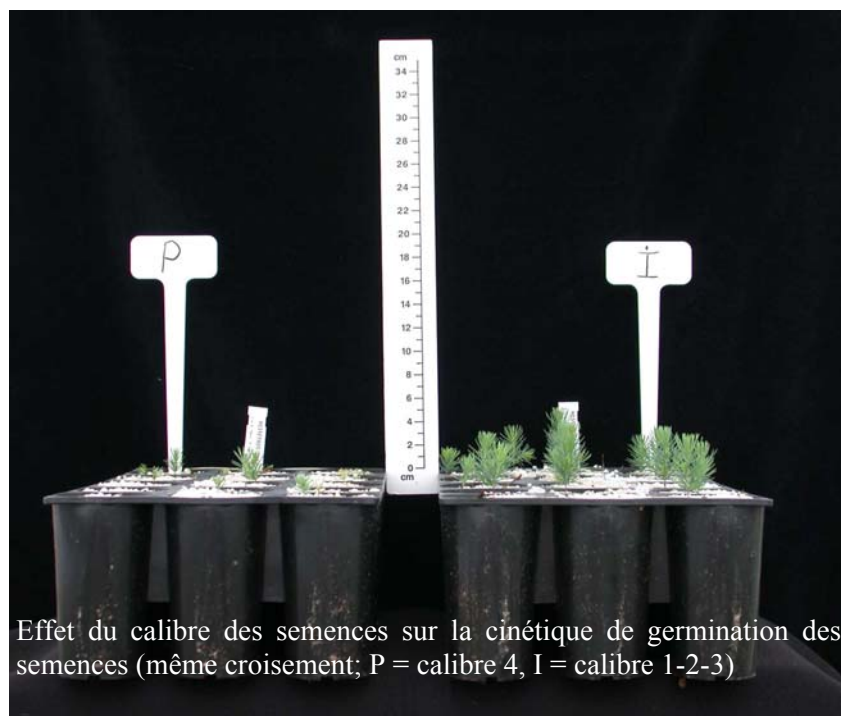


Caractérisation de la croissance des pieds-mères d'épinette blanche issus de croisements dirigés : 1- Approche méthodologique

Avis technique



Mohammed S. Lamhamedi*, Fabienne Colas* et Denise Tousignant*
Direction de la recherche forestière (DRF)

En collaboration avec :

Michel Rioux, Pépinière de Saint-Modeste, André Rainville, DRF et Anne Savary, Direction de la production des semences et des plants (DPSP)

*Correspondance : Mohammed.Lamhamedi@mrnf.gouv.qc.ca;
Fabienne.Colas@mrnf.gouv.qc.ca; Denise.Tousignant@mrnf.gouv.qc.ca

Novembre 2005



1- Problématique :

Depuis le démarrage du bouturage spécifique à l'épinette blanche (EPB), les semences utilisées pour produire des pieds-mères sont issues de croisements dirigés recommandés par le programme d'amélioration génétique de l'EPB. Selon les années, les semences utilisées pour la production de pieds-mères d'EPB proviennent d'un seul croisement ou d'un mélange de croisements dirigés dont la représentation de chacun est variable (par exemple pour le mélange de calibre 1-2-3 envoyé à Saint-Modeste en 2005, un croisement représente 54 % du mélange). À partir de 2004, la modification du scénario de production de boutures a entraîné une forte augmentation de la demande de semences de croisements dirigés. En effet, le scénario ne prévoit plus qu'un seul prélèvement de boutures sur le pied-mère et celui-ci est livré comme plant de reboisement en 2+0.

Jusqu'en 2004, les semences des différents croisements, ainsi que les différents calibres étaient mélangés au Centre de semences forestières avant l'expédition à la pépinière de Saint-Modeste, les graines n'étaient pas stratifiées.

Or, à la fin de la période de germination du printemps 2004, il a été observé une grande variabilité en matière de cinétique de germination, de croissance et d'architecture des parties aériennes des plants (Photo 1). De grandes différences de gabarit et de taux d'occupation des cavités étaient observées au sein d'un même récipient (Photo 1). Cette variabilité pose au pépiniériste un problème majeur quant à l'atteinte des objectifs de l'opération de bouturage à une échelle opérationnelle, notamment le nombre de semences à utiliser pour avoir un nombre de pieds-mères réellement productifs, le nombre moyen de boutures/pied-mère et la gestion des régies de culture (irrigation et fertilisation) spécifiques à une croissance très hétérogène du lot des pieds-mères (et éventuellement, par la suite, des boutures).

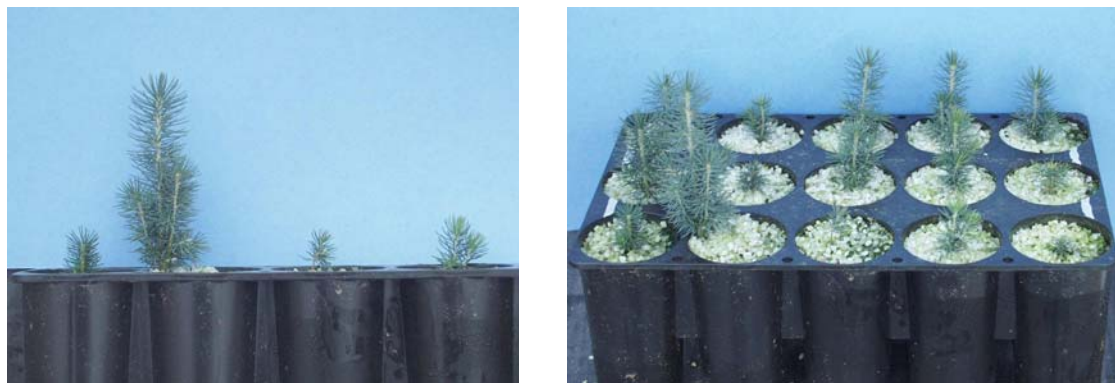


Photo 1. Exemple de variabilité en matière d'architecture et de croissance de la partie aérienne des plants d'épinette blanche (futurs pieds-mères). Les croisements et les calibres de semences sont mélangés, les semences n'ont pas été stratifiées (Clichés : R. Chouinard, 24 novembre 2004).

Parmi les principaux facteurs qui pourraient engendrer une telle variabilité, nous supposons que le croisement dirigé, c'est-à-dire l'origine génétique, combiné avec l'effet de la grosseur des semences (calibre), a un effet sur la cinétique de germination des semences, la croissance et l'architecture de la partie aérienne des plants d'épinette blanche pendant les deux premières saisons de croissance en pépinière forestière. Concernant le calibre des graines, à titre de

comparaison, les graines d'EPB utilisées pour la production régulière de plants sont livrées criblées depuis l'an 2000 (calibres 1-2-3 et 4 séparément). Rappelons que chaque calibre correspond à un diamètre de semences précis. Pour l'épinette blanche : calibre 1 : > 2,5 mm, calibre 2 : 2,00 à 2,5 mm, calibre 3 : 1,75 à 2,00 mm, calibre 4 : 1,5 à 1,75 mm. Cela dit, la proportion de chaque calibre dans un même croisement est très variable.

Il s'avère donc nécessaire de caractériser chaque croisement (détermination des performances reliées au bouturage : nombre de boutures produites, enracinement, croissance, etc.), avant de l'intégrer de façon définitive, dans la filière de production des boutures. Cette caractérisation permettra de déterminer les performances du croisement reliées strictement à l'étape de bouturage. La pertinence du criblage des semences issues de ces croisements dirigés sera également analysée.

L'épinette blanche est la première espèce qui fait l'objet de ces travaux, mais d'autres espèces pourront s'ajouter par la suite (ex. : mélèze hybride), selon les besoins de production en bouturage et l'avancement des travaux d'amélioration génétique réalisés au Ministère.

En 2005, un essai technique de caractérisation à long terme des pieds-mères a donc été installé à la Pépinière de Saint-Modeste, en étroite collaboration avec la DRF et la DPSP. À cet effet, des semences, des pieds-mères, des plants, ainsi que des boutures issus de sept croisements dirigés d'épinette blanche seront suivis pendant toute leur culture en pépinière (2 à 3 ans), en tenant compte de leur origine génétique ainsi que du calibre des semences (tableau 1). Pour cette expérience, deux groupes de calibres ont été retenus, soit le groupe constitué par le mélange des calibres standard de semences 1, 2 et 3 et le groupe constitué uniquement par les semences de calibre 4. Un ensemble de variables reliées à la caractérisation des semences, à la germination et la croissance des plants (1+0) et (2+0), à l'aptitude au bouturage des pieds-mères et la croissance des boutures (B+1 et B+2) seront évaluées.

2- Objectifs et résultats escomptés :

Ainsi, nos principaux objectifs sont : **i)** quantifier la variabilité entre les différents croisements dirigés d'épinette blanche, en tenant compte également du calibre des semences, pendant les différentes phases de production des pieds-mères, des plants (1+0 et 2+0) et des boutures (B+1 et B+2) cultivées en pépinière après repiquage en récipients; **ii)** ajuster les régies de culture ou sélectionner les croisements dirigés qui répondent aux objectifs opérationnels et économiques de l'opération de bouturage en pépinière forestière.

Le principal résultat escompté de cette caractérisation consiste à fournir de l'information au pépiniériste, lui permettant d'ajuster sa culture de manière à uniformiser et augmenter le nombre de boutures par pied-mère, tout en améliorant les caractéristiques des plants issus de boutures (enracinement, croissance, efficacité de l'utilisation des éléments nutritifs, etc.).

Un autre objectif important à considérer est l'évaluation de la performance des plants (2+0) et des boutures (B+2) dans le cadre d'un dispositif en plantation. Cette évaluation permettrait de relier les observations du présent suivi avec les gains génétiques mesurés par les généticiens, et qui déterminent le choix des croisements dirigés réalisés pour l'établissement des populations de pieds-mères. Un dispositif en plantation dépasse le cadre initial envisagé pour les présents travaux, mais serait grandement souhaitable si les conditions le permettent.

Tableau 1 : Identification des croisements dirigés et des calibres analysés dans le cadre de l’essai de caractérisation des pieds-mères d’EPB.

Code de culture	Identification du lot	Croisements	Calibre
MO35EPB05-G01C	C	MIT-2 X PTH-1	1-2-3
MO35EPB05-G01D	D	FRA-3 X CAR-3	1-2-3
MO35EPB05-G01E	E	PFS-10 X PFS-2	1-2-3
MO35EPB05-G01F	F	WES-2 X AEC-2	1-2-3
MO35EPB05-G01G	G	WES-1 X BEL-2	1-2-3
MO35EPB05-G01H	H	CAR-5 X CAR-3	1-2-3
MO35EPB05-G01I	I	PTH-3 X ALG-7	1-2-3
MO35EPB05-G01J	J	MIT-2 X PTH-1	4
MO35EPB05-G01K	K	FRA-3 X CAR-3	4
MO35EPB05-G01L	L	PFS-10 X PFS-2	4
MO35EPB05-G01M	M	WES-2 X AEC-2	4
MO35EPB05-G01N	N	WES-1 X BEL-2	4
MO35EPB05-G01O	O	CAR-5 X CAR-3	4
MO35EPB05-G01P	P	PTH-3 X ALG-7	4

3- Observations relatives à la composition de la banque de semences de croisements dirigés d’EPB

Des croisements dirigés sont réalisés dans la plantation de Cap-Tourmente (CFL) depuis 1996 selon les recommandations du Centre de Foresterie des Laurentides, puis récemment selon celles de la DRF. La floraison dans la plantation est irrégulière et ce n’est que depuis 2004 que des traitements d’induction florale sont pratiqués à l’aide d’une solution de gibbérelline GA 4/7.

Les réserves de la banque de graines, qui ne tiennent pas compte des croisements effectués en 2005, sont de plus de 3,5 millions de graines. On retrouve 3 qualités génétiques de croisements : 1, 1,25 et 2, où 2 est la meilleure qualité. Cette valeur est attribuée par la DPSP pour faciliter la gestion de la banque de semences de croisements dirigés. La qualité génétique est déterminée en tenant compte de celle des parents impliqués dans le croisement. Le programme d’amélioration génétique de l’EPB a produit une liste de croisements recommandés. Si les deux parents du croisement font partie de cette liste, alors le croisement est dit de qualité 2. Si un seul des parents est sur la liste, que ce soit le père ou la mère, on a la qualité 1,5. La qualité 1,25 résulte du fait qu’un des parents appartient à une famille recommandée et non pas un individu particulier de cette famille. Dans le cas de croisements de qualité 1, aucun des parents ne fait partie de la liste des croisements recommandés. Actuellement la DPSP ne vise l’utilisation que de croisements de qualité 2..

Le tableau 2 montre la composition de la banque en fonction de la qualité génétique des croisements. Dans le tableau 3, on retrouve, pour chacun des croisements de qualité 2, la part qu’il occupe dans la réserve totale et la réserve par qualité.

Tableau 2 : répartition des réserves de semences de croisements dirigés dans la banque en fonction de la qualité génétique des croisements.

Qualité génétique des croisements	Part dans la réserve totale
1	3,4 %
1,25	53,5 %
2	43,1 %

Tableau 3 : part des croisements dirigés d'EPB de qualité 2 présents tant dans la banque totale de croisements que dans celle de qualité 2. En gras les croisements qui sont analysés dans la présente étude.

Croisement	Part dans la réserve totale	Part dans la réserve de qualité 2
ALG-10 X ALG-8	0.36%	0.84%
BEL-1 X BEA-6	0.42%	0.97%
BEL-1 X CAR-3	3.42%	7.95%
BEL-2 X ZEN-2	1.31%	3.04%
BRO-1 X PFS-3	1.26%	2.91%
BRO-3 X PFS-6	0.54%	1.25%
CAR-1 X BEL-3	0.43%	0.99%
CAR-5 X CAR-3	1.02%	2.37%
FRA-3 X CAR-3	14.61%	33.90%
MIT-2 X PTH-1	0.97%	2.24%
PFS-10 X PFS-2	5.42%	12.58%
PFS-12 X PFS-4	0.32%	0.73%
PTH-1 X PTH-8	2.59%	6.00%
PTH-3 X ALG-7	5.62%	13.04%
PTH-3 X PTH-11	0.09%	0.20%
PTH-3 X PTH-7	1.54%	3.58%
PTH-9 X PTH-13	0.06%	0.15%
SUN-1 X ALG-8	0.44%	1.01%
WES-1 X BEL-2	1.55%	3.60%
WES-2 X AEC-2	1.15%	2.67%
ALG-10 X ALG-8	0.36%	0.84%
BEL-1 X BEA-6	0.42%	0.97%

On peut aisément constater que la proportion de chaque croisement dans la banque est très variable (de 33,9 % à moins de 1 %). Cette inégalité peut être problématique si il s'avère que le comportement des croisements dirigés est variable pour une ou plusieurs des variables qui seront analysées. Pour l'année 2005, les croisements dirigés réalisés sont à peu près les mêmes que par les années antérieures, toutefois 4 nouveaux croisements se sont ajoutés. Il faudra poursuivre dans le « rééquilibrage » de la banque de semences en réalisant des traitements d'induction florale permettant de favoriser la réalisation de croisement actuellement sous représentés.

4- Approche méthodologique relative à la caractérisation des pieds-mères

Les croisements dirigés sont ensemencés à la pépinière de Saint-Modeste en mai 2005. La gestion de ces cultures, ainsi que les observations préliminaires sont effectuées par M. Michel Rioux et son équipe.

La caractérisation des pieds-mères et des croisements repose sur l'évaluation de plusieurs variables (Annexe 1), notamment :

Pour la première saison de culture (1+0 = 2005), nous recommandons d'évaluer les paramètres de croissance suivants (incluant les mesures déjà prises) :

- **Semences :**
 - **Caractéristiques de chaque lot** : poids de 1000 graines, % de chaque calibre, taux de germination en germoir, valeur germinative, etc;
 - **Pourcentage de germination** (pour les 7 croisements et 2 calibres par croisement inclus dans le suivi, tel que réalisé à l'été 2005); déterminer le nombre de semis par récipient sur 25 % des récipient choisis de façon aléatoire.
 - **Cinétique (Vitesse) de germination** (n'a pas pu être faite en 2005, mais à inclure si possible dans des suivis subséquents, afin d'identifier les croisements qui germent le plus rapidement); sur les mêmes récipients qui seront utilisés pour la détermination du pourcentage de germination, effectuer, 2 fois par semaine (ex : mardi et vendredi) le dénombrement des semis dont les aiguilles sont visibles durant la période de germination. Débuter les mesures dès que les premiers semis dont les aiguilles sont visibles.
- **Gabarit des plants (1+0) (futurs pieds-mères; Photo 2) :**



Photo 2 : vue de la culture des futurs pieds-mères d'EPB issus de croisements dirigés cultivés séparément dans l'essai mis en place à la pépinière de Saint-Modeste (cliché F. Colas, 4 octobre 2005)

- o **Hauteur et diamètre** au collet : mesures individuelles sur 40 plants / croisement / calibre, choisis de façon aléatoire;
- o **Masses sèches** (partie aérienne et racines) et **statut nutritionnel** (N, P, K, Ca, Mg) : échantillon de 40 plants /croisement/ calibre, choisis de façon aléatoire. On suggère de faire quatre échantillons composites (10 plants/ échantillon composite).

Pour les saisons subséquentes de culture (2+0 = 2006, 3+0 et B+1 = 2007, B+2 = 2008) :

- **Phénologie** : Le **débourrement** des pieds-mères (hâtif ou tardif, à cause de son impact sur la vitesse de développement et de lignification des boutures). Quatre récipients représentatifs de chaque croisement seront choisis de façon aléatoire (= 40 pieds-mères, en tenant compte des cavités vides et d'une éventuelle mortalité). Le suivi du débourrement dans le temps se fera sur les mêmes récipients c.a.d. d'une date à l'autre, on utilisera les mêmes plants. Une grille d'évaluation du débourrement sera fournie en hiver 2006. Une évaluation de l'aoûtement sera également effectuée en automne 2006 (plants intacts).
- **Architecture de la partie aérienne des pieds-mères:**
 - o Juin 2006, sur les **pieds-mères lors de la période de bouturage**: mesures individuelles sur 40 pieds-mères par croisement et catégorie de calibre: **hauteur**, **rendement** en boutures (= nombre de branches ≥ 5 cm), **densité de ramification** (nombre de branches /cm); La qualité des boutures sera également évaluée au moment du bouturage, en sélectionnant au hasard un échantillon de 40 boutures (deux boutures / pied-mère, sélectionnées dans le tiers supérieur de la partie aérienne), pour caractériser leur **lignification (teneur en eau)** et leur **statut nutritionnel (N, P, K, Ca, Mg)**.
 - o Octobre 2006 et 2007, sur les **plants (2+0) intacts et mis de côté dès le printemps pour qu'il n'y ait pas de prélèvement de boutures** : 40 plants (quatre récipients, en tenant compte des cavités vides et d'une éventuelle mortalité) seront choisis de façon aléatoire pour déterminer les masses, la hauteur, le diamètre au collet, la longueur des aiguilles, ainsi le statut nutritionnel des plants. Ceci permet de documenter la performance réelle de chaque croisement dirigé au stade juvénile (pépinière). Pour la **longueur des aiguilles**, 10 branches (4 cm de longueur)/ croisement dirigé/ gabarit seront choisies aléatoirement dans le tiers supérieur de la partie aérienne de chaque pied-mère. Les aiguilles ayant terminé leur développement seront numérisés par le logiciel WinNeedle pour ensuite déterminer le nombre d'aiguilles, la longueur moyenne, la surface des aiguilles et les masses sèches des aiguilles. Cette dernière variable sera utilisée pour calculer la surface spécifique.
 - o Octobre 2006 et 2007, sur les **pieds-mères « opérationnels » en fin de saison** (c.-à-d. ayant subi un prélèvement de boutures) :
 - **Hauteur et diamètre** au collet : mesures individuelles sur 40 plants /croisement/ calibre, choisis de façon aléatoire;

- **Masses sèches** (partie aérienne et racines) et **statut nutritionnel** (N, P, K, Ca, Mg) : échantillon composite de 40 plants /croisement/ calibre, choisis de façon aléatoire.
- **Caractérisation de l'enracinement des boutures** (après 12 semaines, pour chaque année de bouturage incluse dans le suivi) : **Pourcentage d'enracinement, nombre de racines principales, masse sèche des racines**, (dispositif d'enracinement et stratégie d'échantillonnage à déterminer en 2006. Les quantités doivent tenir compte du suivi post-repiquage). Il serait souhaitable de réaliser un deuxième bouturage (en 2007) pour les croisements ayant présenté un fort taux d'enracinement en 2006.
- **Caractérisation de la croissance des boutures enracinées** :
 - **Mesures au repiquage (printemps 2007); Hauteur et diamètre** au collet : mesures individuelles sur 40 plants /croisement/ calibre, choisis de façon aléatoire, puis **masses sèches** (partie aérienne et racines) et **statut nutritionnel** (N, P, K, Ca, Mg) : échantillon composite de 40 plants /croisement/ calibre, choisis de façon aléatoire.
 - **Mesures à la fin des saisons B+1 (automne 2007) et B+2 (automne 2008) : Hauteur et diamètre** au collet : mesures individuelles sur 40 plants /croisement/ calibre, choisis de façon aléatoire, puis **masses sèches** (partie aérienne et racines) et **statut nutritionnel** (N, P, K, Ca, Mg) : échantillon composite de 40 plants /croisement/ calibre, choisis de façon aléatoire. À cela s'ajouterait la qualification des plants (défauts, ex. : insuffisance racinaire);

Plantation des boutures dans un dispositif de plantation (Optionnel, 2009-2013) : L'établissement d'un dispositif de plantation (même modeste et établi en pépinière (site à déterminer) pour une durée de 5 ans, par exemple) permettrait de confirmer si les différences de croissance observées entre les croisements à un stade précoce, pendant la culture en pépinière, correspondent aux comportements espérés plus tard en plantation. Il serait alors possible de relier adéquatement les résultats du présent suivi de caractérisation avec les évaluations à long terme faits par les améliorateurs génétiques.

5- Conclusion et principales recommandations :

Cet avis technique a pour objectif principal de décrire la méthodologie quantitative de caractérisation des pieds-mères d'épinette blanche. Un deuxième avis sera rédigé dès que les résultats des différentes variables seront mesurées et analysées.

Ainsi, nos principales recommandations sont comme suit :

- Selon les résultats préliminaires et en attendant les analyses approfondies spécifiques à ce suivi, nous recommandons de ne pas mélanger les calibres 1, 2, 3 avec le calibre 4 pour les ensemencements opérationnels. Par contre, les semences des différents croisements et de même calibre peuvent être mélangés;
- Favoriser la diversification des croisements dirigés afin de mieux équilibrer le contenu de la banque de semences;
- Chaque nouveau croisement dirigé devrait faire l'objet d'une caractérisation complète avant son intégration dans la composition du lot de pieds-mères d'épinette blanche;
- Une évaluation des variables de croissance et d'architecture des boutures issus des pieds-mères multi-têtes devrait être effectuée afin de prendre une décision bien éclairée quant à l'utilisation ou le rejet des pieds-mères multi-têtes;
- Les résultats de caractérisation des pieds-mères et de l'évaluation des performances des plants issus de semences et de boutures de chaque croisement dirigé peuvent être utilisés pour optimiser l'intégration de chaque croisement dans la filière d'embryogenèse somatique.
- Établir un dispositif afin d'évaluer la performance des plants (2+0) et des boutures (B+2) en plantation. Ce dispositif pourra être implanté en pépinière.

Remerciements

Nous tenons à remercier M. Jacques Grenier de la Direction de la production des semences et des plants (DPSP) et M. Richard Richard du Centre de semences forestières de Berthier pour leur aide précieuse quant à la recherche d'informations sur le criblage des lots de graines, la banque de croisements dirigés et la composition des lots de graines expédiés à la pépinière de Saint-Modeste. Nous tenons également à remercier l'équipe technique de M. Michel Rioux de la pépinière de Saint-Modeste qui a participé de façon active à l'installation et au suivi du dispositif de caractérisation des croisements dirigés de l'épinette blanche.

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des activités incluses dans le suivi et répartition des tâches selon les équipes de travail

Type de mesure	Responsable			Date prévue
	Pépinière Saint-Modeste	DRF	CSFB	
Caractéristiques de chaque lot de semences			√	Complété
Pourcentage de germination	√			Juillet 2005
Cinétique de germination	√			Printemps 2006 ?
Gabarit des plants 1+0 : • hauteur / diamètre • masse sèche	√ √			Automne 2005
Phénologie : débourrement	√			Printemps 2006
Architecture de la partie aérienne des pieds-mères : • hauteur • rendement en boutures • densité de ramification	√ √ √			Juin 2006
Plants 2+0 « intacts » : • masse sèche et statut nutritionnel des plants • hauteur et diamètre au collet, • longueur des aiguilles (WinNeedle),	√ √	√		Octobre 2006 Octobre 2007
Pieds-mères « opérationnels » : • hauteur et diamètre au collet, • masse sèche	√ √			Octobre 2006 Octobre 2007
Enracinement des boutures : • pourcentage d'enracinement, • nombre de racines principales, • masse sèche des racines	√ √ √			12 sem. après le bouturage, chaque année de bouturage
Croissance des boutures enracinées : • hauteur et diamètre au collet, • masse sèche et statut nutritionnel des plants	√ √			Printemps 2007 Automne 2007 Automne 2008
Plantation des boutures dans un dispositif de plantation	?	?		2009-2013