PROGRAMME DE MISE EN VALEUR DES RESSOURCES DU MILIEU FORESTIER

Rapport final – volet 1 / MRN 41-13-09

Potentiel d'application du chitosane comme facteur biologique de croissance et antifongique en pépinière

Présenté à :

Abitibi-Consolidated du Canada inc.
Division Saint-Maurice
M. Jean Girard, ing.f., MGP

Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs
Unité des Gestion du Bas-St-Maurice
M. Georges Blais, ing.f.

Pépinière forestière de Grandes-Piles
Mme Diane Sauvageau, tech. agri.

Et

Marinard Biotech inc.
Mme Caroline Leclerc, biotech.

Par :

CERFO
Centre collégial de transfert de technologie en foresterie
François Guillemette, ing.f., M.Sc.
Donald Blouin, ing.f., M.Sc.

Mai 2004

© CERFO 2004-08

BÉNÉFICIAIRE DU PROJET

- Abitibi-Consolidated du Canada inc., Division Saint-Maurice
  M. Jean Girard, ing.f., MGP

PARTENAIRES DU PROJET

- Centre collégial de transfert de technologie en foresterie (CERFO)
  François Guillemette, ing.f., M.Sc.
  Donald Blouin, ing.f., M.Sc.

- Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs du Québec (MRNFP)
  Unité de gestion du Bas-St-Maurice
  M. Georges Blais, ing.f.

  Pépinière forestière de Grandes-Piles
  Mme Diane Sauvageau, tech. agri.

- Marinard Biotech Inc.
  Mme Caroline Leclerc, M.Sc., biotechnologiste
  M. Clermont Beaulieu, vice-président
  M. Serge Lacasse, dir. contrôle qualité

TABLE DES MATIÈRES

BÉNÉFICIAIRE DU PROJET I

PARTENAIRES DU PROJET I

LISTE DES FIGURES III

LISTE DES TABLEAUX III

REMERCIEMENTS IV

RÉSUMÉ V

INTRODUCTION 1

BUT ET OBJECTIFS 1

HYPOTHÈSES DE RECHERCHE 2

1. MÉTHODOLOGIE 2

1.1. DESCRIPTION DU SITE 2
1.2. DISPOSITIFS EXPÉRIMENTAUX 2
1.3. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL 6
1.4. PRISE DE MESURES 8
1.5. ANALYSES STATISTIQUES 8

2. RÉSULTATS 9

2.1. CONDITIONS INITIALES DU DISPOSITIF 9
2.2. EFFETS DU CHITOSANE POUR PRÉVENIR LA POURRITURE RACINAIRE 10
2.3. EFFETS DU CHITOSANE SUR LA CROISSANCE DES PLANTS 11
2.4. EFFETS DU CHITOSANE SUR LA TENEUR EN AZOTE 14

3. DISCUSSION 15

CONCLUSION 17

RÉFÉRENCES 18

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Plates-bandes contenant les dispositifs d'expérimentation 3

Figure 2. Plan du dispositif sur l'épinette rouge 4

Figure 3. Position des récipients et des plants à mesurer dans les dispositifs..... 5

Figure 4. Plan du dispositif sur les épinettes noires et de Norvège 6

Figure 5. Présence de plants d'épinette noire affectés (Indicateur : plants rouges)..... 10

Figure 6. Accroissement en hauteur des plants en 2003 11

Figure 7. Diamètre au collet des plants en octobre 2003 12

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Cédule de réalisation de l'expérience 7

Tableau 2. Hauteur moyenne (cm) des plants et intervalles de confiance à 95 % sur la moyenne. 9

Tableau 3. Taux de mortalité du bourgeon terminal pour l'épinette rouge..... 9

Tableau 4. Nombre de plants dont la mortalité a été attribuée à la pourriture racinaire 10

Tableau 5. Normes de qualité pour les plants produits en récipients (MRNFP, 2003)..... 13

Tableau 6. Caractéristiques des plants produits en regard des normes de qualité..... 13

Tableau 7. Masse anhydre (mg) des plants et intervalle de confiance à 95 % sur la moyenne..... 14

Tableau 8. Concentration en azote (g/kg) des plants et intervalle de confiance 14

REMERCIEMENTS

La réalisation de cette étude a été rendue possible grâce à la collaboration de plusieurs personnes et organismes. Nous tenons tout d'abord à remercier la compagnie Abitibi-Consolidated du Canada inc., Division Saint-Maurice, et le Ministère des Ressources naturelles, de la Faune et des Parcs du Québec qui ont financé la majeure partie de ce projet via le Programme de mise en valeur des ressources du milieu forestier, volet I. De plus, nous remercions l'équipe de Marinard Biotech, notamment Mme Caroline Leclerc et M. Serge Lacasse, pour le support professionnel et financier offert durant tout le projet. Par ailleurs, nous tenons aussi à souligner la précieuse collaboration de Mme Diane Sauvageau de la Pépinière de Grandes-Piles qui a permis de mener à bien ce projet en prêtant une partie de ses installations et en contribuant à la mise en place du dispositif de mesures de croissance.

Enfin, nous remercions Mme Anik Mimeault pour le traitement de texte et Mme Claire Roy pour la révision de ce rapport.

RÉSUMÉ

Plusieurs études ont déjà été réalisées sur l'application du chitosane et de ses dérivés en milieu agricole, essentiellement sur des cultures maraîchères (Blouin et al., 2002). Il a été prouvé que le chitosane peut induire la croissance racinaire et aérienne, et qu'il diminue également les risques d'infestation de champignons. Le chitosane peut même induire des réactions de défense chez les plants d'épinette noire contre un champignon pathogène de pourriture racinaire : *Cylindrocladuim floridanum* (Laflamme, 2000). De plus, l'application de chitosane sur des plants d'épinette blanche en Gaspésie a eu pour effet de créer des plants plus robustes, c'est-à-dire légèrement moins hauts et plus gros (Patry *et al.,* 2003).

Or, ce champignon pathogène cause des dommages dans les productions d'épinettes à forte dimension produites en récipients à la Pépinière de Grandes-Piles. L'application du chitosane pourrait donc réduire les pertes causées par cette pourriture racinaire. À la Pépinière de Grandes-Piles, les plants à forte dimension d'épinettes noire et rouge sont fréquemment trop hauts pour leur diamètre et ils souffrent d'insuffisance racinaire. Ils ne sont donc pas assez robustes pour rencontrer les meilleures catégories de qualité pour la production de ces plants. Le chitosane pourrait induire une meilleure croissance racinaire et en diamètre, aux dépends de la croissance en hauteur, et ainsi créer des plants plus robustes.

Des dispositifs en blocs complets ont été installés au printemps 2003 dans des îlots de 2e année de croissance de productions de plants à forte dimension en récipients 25-350-A pour l'épinette rouge (6 blocs), l'épinette noire (2 blocs) et l'épinette de Norvège (4 blocs). Les applications d'eau (témoin) et de chitosane (traitements A et B) ont été planifiées de façon à obtenir la plus grande concentration possible de chitosane par cavité (125 ppm ou 1,725 ml par arrosage) dans un contexte opérationnel. Les traitements témoins et A (8 applications aux 2 semaines, total de 1000 ppm) ont été appliqués sur les trois essences. Seule l'épinette rouge a reçu le traitement B qui consiste en un passage double du tracteur (2 x 125 ppm) lors des trois arrosages après l'aoûtement (total de 1375 ppm). Des mesures de suivi ont été effectuées sur la mortalité, la hauteur, le diamètre, la masse sèche et la concentration en azote totale des plants.

L'application de chitosane tend à réduire la mortalité causée par la pourriture racinaire sur l'épinette noire, mais n'a pas permis de l'éliminer complètement. Les effets significatifs de l'application du chitosane ont été de réduire légèrement (de 1,2 à 2 cm) l'accroissement en hauteur de l'épinette rouge et d'augmenter (0,35 mm) le diamètre final de l'épinette de Norvège. De plus, le chitosane aurait tendance à augmenter (3,8 cm) l'accroissement en hauteur de l'épinette de Norvège. Néanmoins, ces changements n'ont pas eu d'impacts sur l'évaluation de la qualité des plants. Quant aux masses anhydres et concentrations en azote, elles n'ont pas été affectées de façon significative par l'application de chitosane.

Compte tenu des effets minimes du chitosane sur la croissance des plants d'épinettes en pépinière, des résultats semblables obtenus sur l'épinette blanche en Gaspésie et des coûts associés à son application, il est recommandé de ne pas appliquer de chitosane sur ces productions. Il serait préférable de travailler au développement de meilleurs scénarios de production en ajustant des variables telle que le substrat, la sélection génétique, l'irrigation et la fertilisation. Il n'est pas impossible que le chitosane puisse avoir des effets bénéfiques sur des plants forestiers, mais il faudrait d'abord développer une meilleure connaissance du processus d'absorption du chitosane par les arbres et de leur utilisation (métabolisme).

INTRODUCTION

La nécessité croissante d'assurer la protection de nos ressources naturelles invite à une utilisation plus restrictive des engrais et des fongicides d'origine chimique. Pour y parvenir, il nous faut des produits d'origine naturelle, non polluants et en mesure de remplacer les produits chimiques actuellement en usage.

Le chitosane est un polymère provenant de la chitine, protéine retrouvée à l'état naturel dans les carapaces des crustacés et des insectes. L'entreprise Marinard Biotech, de Rivière-au-Renard en Gaspésie, extrait ce produit à même les résidus de transformation de la crevette. C'est donc une fibre d'origine naturelle, biodégradable, biocompatible et non toxique qui pourrait être appliquée en remplacement des fongicides chimiques en pépinière.

En effet, plusieurs études ont déjà été réalisées sur l'application du chitosane et de ses dérivés en milieu agricole, essentiellement sur des cultures maraîchères (Blouin *et al*., 2002). Il a été prouvé que le chitosane peut induire la croissance racinaire et aérienne, et qu'il diminue également les risques d'infestation de champignons. Le chitosane peut même induire des réactions de défenses chez les plants d'épinette noire contre un champignon pathogène de pourriture racinaire : *Cylindrocladuim floridanum* (Laflamme, 2000). Or, ce champignon pathogène est présent au champ dans plusieurs pépinières, dont celle de Grandes-Piles. L'application du chitosane pourrait donc réduire les pertes causées par cette pourriture racinaire.

De plus, l'application de chitosane sur des plants d'épinette blanche en Gaspésie a eu pour effet de créer des plants plus robustes, c'est-à-dire légèrement moins hauts et plus gros (Patry et *al.*, 2003). À la Pépinière de Grandes-Piles, les plants à forte dimension d'épinettes noire et rouge sont fréquemment trop hauts pour leur diamètre et ils souffrent d'insuffisance racinaire. Ils ne sont donc pas assez robustes pour rencontrer les critères de qualité pour la production de ces plants. Le chitosane pourrait induire une meilleure croissance racinaire et en diamètre, aux dépends de la croissance en hauteur, et ainsi créer des plants plus robustes.

BUT ET OBJECTIFS

Ce projet a pour but d'étudier les effets de l'application de chitosane sur des plants d'épinettes noire, rouge et de Norvège de forte dimension (2-0) en récipients (25-350-A) dans les conditions de la pépinière. En 2003-2004, les objectifs sont de :

- Mesurer l'impact de l'application du chitosane sur la présence du champignon pathogène (*Cylindrocladuim* sp.) présent au champ.
- Mesurer les effets du chitosane sur la croissance en hauteur, en diamètre, et en masse racinaire des plants.
- Diffuser les résultats aux partenaires et différents paliers décisionnels de l'industrie et du MRNFP.

HYPOTHÈSES DE RECHERCHE

Afin de guider l'étude, les hypothèses suivantes ont été formulées :

1. L'application de 1000 à 1375 ppm de chitosane réduit les pertes de plants causées par la pourriture racinaire.
2. Les plants ayant reçu une dose de chitosane ont une croissance en hauteur inférieure aux témoins.
3. Les plants ayant reçu une dose de chitosane ont un diamètre supérieur aux témoins.
4. Le ratio hauteur/diamètre est réduit par l'application de chitosane.
5. L'application de chitosane améliore la qualité des plants en regard des normes de hauteur, de diamètre et de ratio hauteur/diamètre.
6. L'application de chitosane augmente la masse anhydre des plants.
7. L'application de chitosane n'affecte pas la teneur en azote des plants.

1. MÉTHODOLOGIE

1.1. DESCRIPTION DU SITE

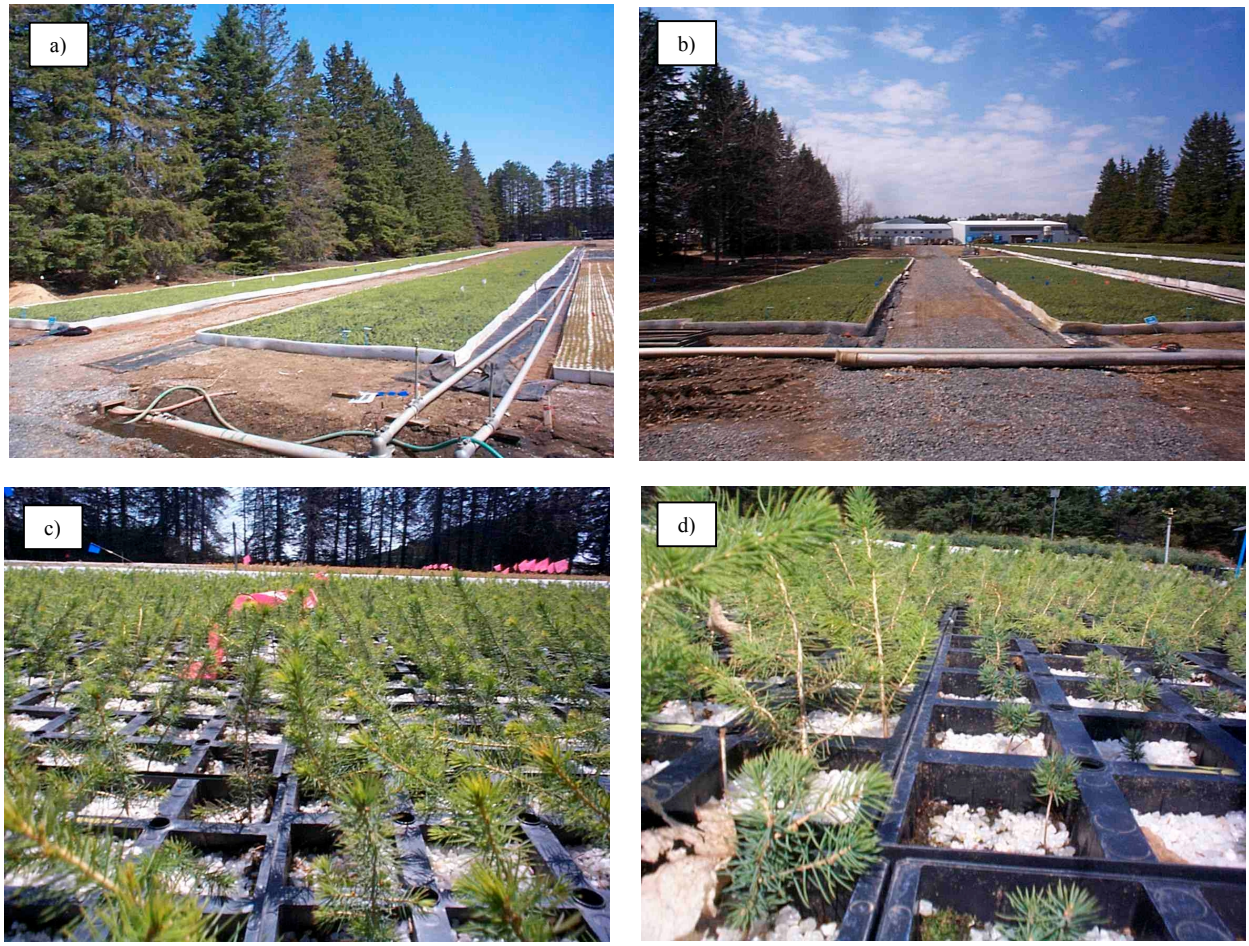
La Pépinière forestière de Grandes-Piles, située dans la MRC de Mékinac en Mauricie, est localisée sur la route 155 à quelques kilomètres au nord de Grand-Mère. Elle est localisée à la limite de la région écologique de la Plaine du Saint-Laurent (2bT), domaine bioclimatique de l'érablière à tilleul de l'est, et de la région écologique des Hautes collines du Saint-Maurice (3cT), domaine bioclimatique de l'érablière à bouleau jaune de l'est.

1.2. DISPOSITIFS EXPÉRIMENTAUX

Les îlots retenus pour l'expérience sont situés dans des plates-bandes d'environ 30 m par 150 m, orientées est-ouest, et bordées par des brise-vents d'épinettes et parfois de frênes (Figure 1). Suite au premier hiver passé en champ, les plants 2-0 en récipients 25-350-A ont été installés sur des supports en bois (palettes pour le transport de marchandises) au mois de mai afin de faciliter leur drainage.

Le système d'irrigation est localisé de chaque côté des dispositifs. Les dispositifs ont été installés dans des paires d'îlots séparés par une allée permettant le passage du tracteur pour les pulvérisations. Le tracteur effectue la pulvérisation sur un îlot à la fois. Le plan d'expérience retenu pour les deux dispositifs est un plan en blocs complets.

Figure 1. Plates-bandes contenant les dispositifs d'expérimentation



* a) et c) : Plates-bandes d'épinette rouge b) Plates-bandes d'épinettes noire et de Norvège
d) Épinette noire (plus haute) et de Norvège (plus basse), respectivement.

Le dispositif sur l'épinette rouge (EPR) a été installé dans deux îlots de 4,3 m par 60 m (Figures 1 à 3). Cette longueur était suffisante pour réaliser 3 traitements avec 6 répétitions, tout en assurant le maintien de zones tampons assez larges entre les traitements pour éviter les problèmes de dérive éolienne lors de la pulvérisation. La provenance des plants a fait l'objet d'un blocage, malgré l'absence de différences (taille des plants, couleur des aiguilles) observées lors de l'établissement du dispositif en début mai, soit avant l'ouverture des bourgeons.

Figure 2. Plan du dispositif sur l'épinette rouge

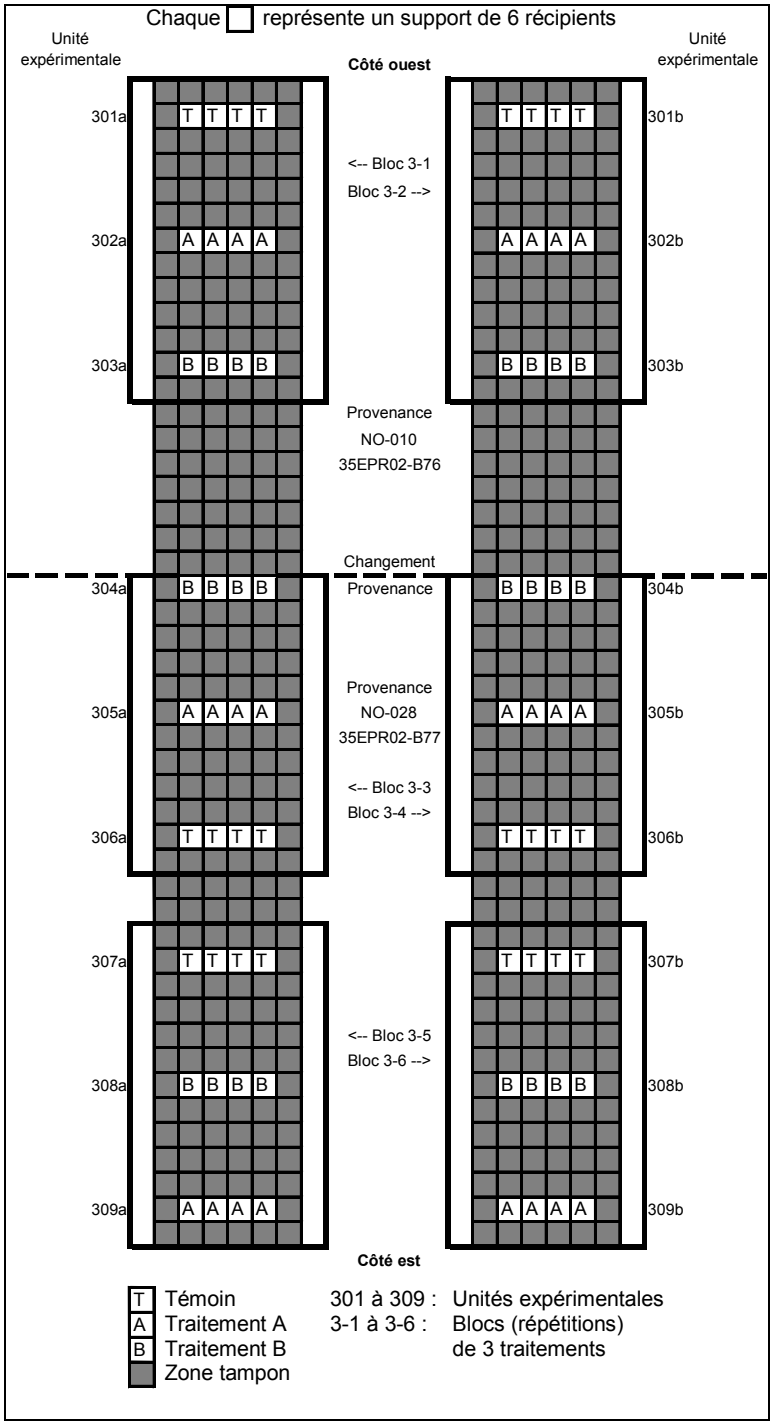
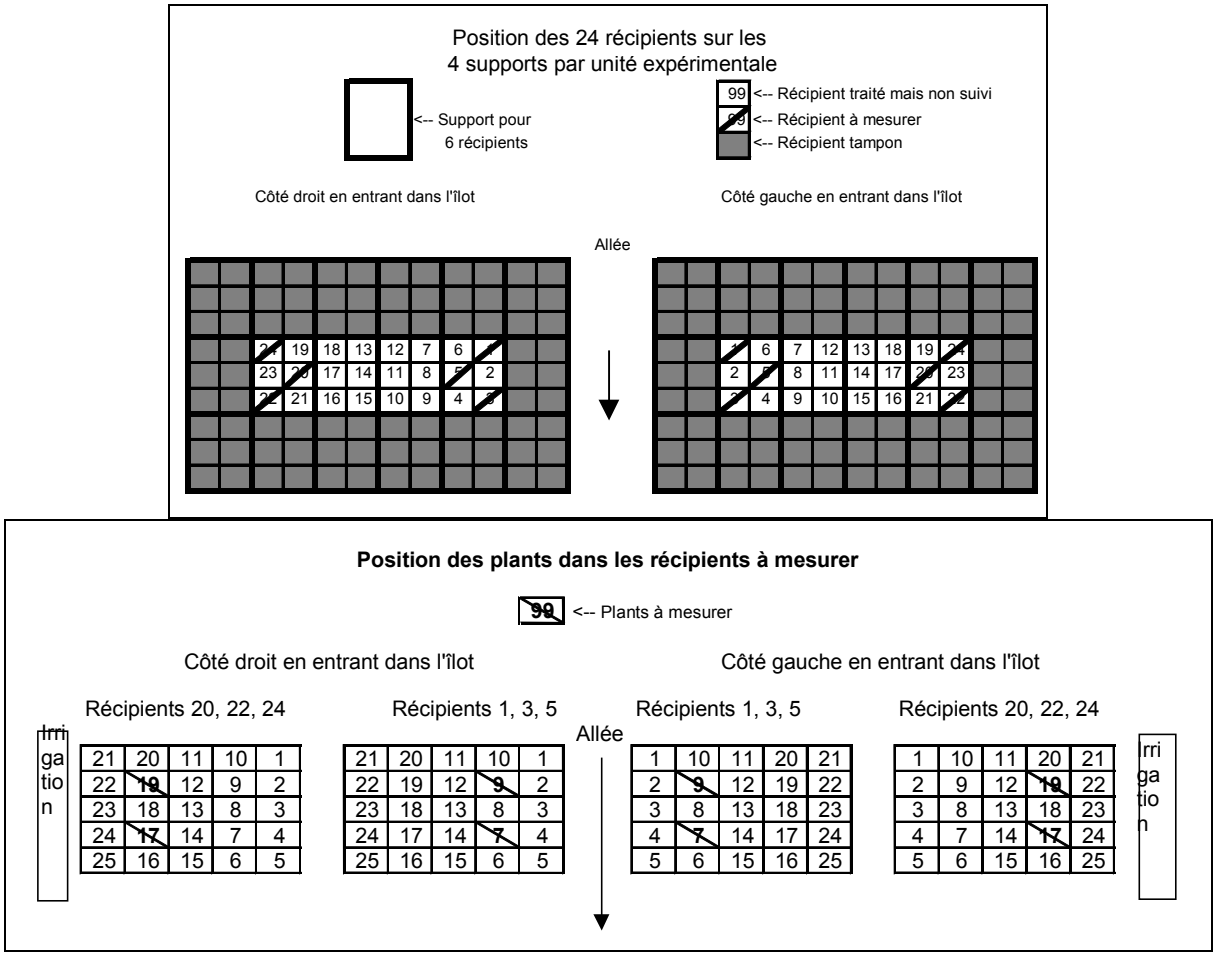
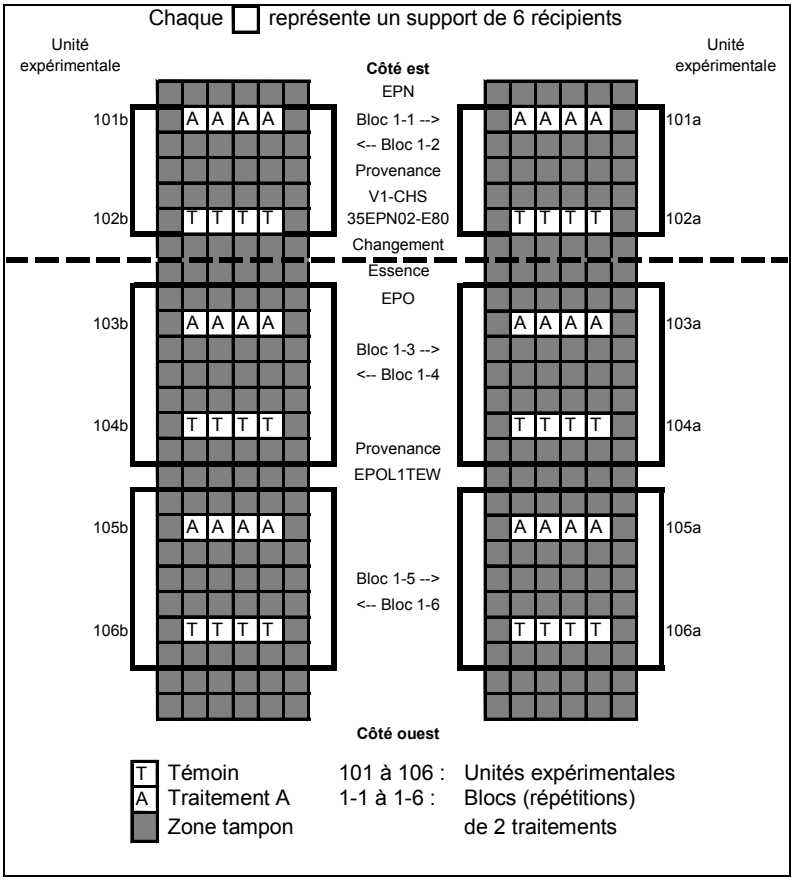


Figure 3. Position des récipients et des plants à mesurer dans les dispositifs



L'autre dispositif a été installé dans deux îlots de 4,3 m par 28 m (Figures 1, 3 et 4). Cette longueur était suffisante pour réaliser 2 traitements avec 6 répétitions, tout en assurant le maintien de zones tampons assez larges entre les traitements pour éviter les problèmes de dérive éolienne lors de la pulvérisation. Lors de l'installation de ce dispositif, il y avait une différence marquée de hauteur et de couleur entre les plants de chaque bout des îlots. Cette différence a alors été attribuée à un changement de provenance d'épinette noire et a fait l'objet d'un blocage. Mais dès que la croissance a débutée, il est devenu évident qu'il s'agissait d'espèces différentes. Les blocs 1-1 et 1-2 sont constitués d'épinette noire (EPN), alors que les autres blocs sont constitués d'épinette de Norvège (EPO).

Figure 4. Plan du dispositif sur les épinettes noires et de Norvège



1.3. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

La livraison du chitosane, commercialisé sous le nom de Kitomer^{MD} par Marinard Biotech Inc., a été effectuée le 22 mai suite à l'ajustement de l'acidité (pH) du produit. Le Kitomer^{MD} est une solution aqueuse de chitosane concentrée à 2 %. Étant donné la viscosité élevée du produit, il a été dilué dans de l'eau et appliqué à une concentration de 1 %. La cédule de réalisation de l'expérience est présentée au tableau 1.

Les pulvérisations ont été faites à l'aide d'une rampe installée à l'avant d'un tracteur et équipée de jets anti-dérive 110-10 avec un débit de 3234 L/ha[1]. La pulvérisation a débuté sur le récipient précédant l'unité expérimentale et s'est terminée sur le récipient suivant, en plus d'être effectuée sur les 2 supports, de 6 récipients, situés en bordure des unités expérimentales. Pour une unité expérimentale de 600 cavités de 350 ml, les pulvérisations avaient lieu sur 1500 cavités.

Un volume d'eau égal à celui du Kitomer^{MD} dans les traitements A et B a été appliqué sur le traitement témoin (Tableau 1). Les traitements A et B ont été identiques (125 ppm de chitosane

1. Tracteur réglé selon le protocole suivant : jets sur une rampe installée à l'avant, embrayage en 1ère vitesse lente, pression de 40 livres, vitesse du moteur réglé à 2100 rotations par minute.

ou 1,725 ml de Kitomer^{MD} par cavité) au cours de la période qui précède l'aoûtement. Cette partie du traitement visait principalement à endurcir les plants et à influencer leur croissance en hauteur. Puisque le chitosane a une forte teneur en azote, aucun traitement a été appliqué pendant la période d'aoûtement. En septembre, la dose de Kitomer^{MD} a été doublée sur le traitement B puisque c'est la période où la pourriture racinaire *Cylindrocladuim floridanum* se développe. Une pulvérisation supplémentaire d'eau a été effectuée sur les traitements A et T en septembre, afin d'égaler le volume d'application sur le traitement B. Ainsi, le régime d'irrigation est le même pour tous les traitements. Pour l'ensemble de la saison, les plants du traitement A ont reçu une dose totale de chitosane de 1 000 ppm et ceux du traitement B en ont reçu 1 375 ppm.

Une irrigation de quelques minutes a été appliquée après chaque pulvérisation de Kitomer^{MD} afin de faire descendre le produit du feuillage vers la cavité. Les cédules de fertilisation ont été appliquées telles que pour les conditions normales de production de ces plants. Finalement, aucun fongicide n'a été appliqué au cours de l'expérience.

Tableau 1. Cédule de réalisation de l'expérience

Date	Traitements			Note
	Témoin	A	B	
5 mai	-	-	-	Installation du dispositif
12 mai	-	-	-	Prise des mesures initiales sur les récipients et les plants
3 juin	Eau : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	
17 juin	Eau : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	
3 juil	Eau : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	
17 juil.	Eau : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	
30 juil.	Eau : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité	
4 août	-	-	-	Arrêt pour l'aoûtement
18 août	-	-	-	Arrêt pour l'aoûtement
27 août	Eau : 3,450 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité Eau : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 2 x 1,725 ml/cavité	
10 sept.	Eau : 3,450 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité Eau : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 2 x 1,725 ml/cavité	
24 sept.	Eau : 3,450 ml/cavité	Kitomer : 1,725 ml/cavité Eau : 1,725 ml/cavité	Kitomer : 2 x 1,725 ml/cavité	
8-9 oct.	-	-	-	Prise des mesures finales sur les récipients et les plants

1.4. PRISE DE MESURES

Des mesures ont été effectuées sur 2 plants échantillons par récipient pour chacun des 6 récipients à échantillonner par unité expérimentale, pour un total de 12 plants par unité (Figures 2 et 3). Lorsque la cavité était initialement vide, le plan suivant, selon l'ordre de numérotation, a été sélectionné. Les mesures effectuées (et leur précision) sont :

- hauteur initiale et finale (0,5 cm);
- diamètre au collet final (0,1 mm);
- masse racinaire anhydre finale (1 mg);
- masse totale anhydre finale (1 mg);
- concentration finale en azote foliaire (0,1 g/kg);
- concentration finale en azote racinaire (0,1 g/kg).

Les analyses chimiques ont été réalisées par M. Carol De Blois, chimiste, au Laboratoire de chimie organique et inorganique à Québec. La méthode d'extraction de l'azote Kjeldahl est celle au H_2SO_4 no III-01. La méthode consiste à la digestion d'un spécimen de l'échantillon (100 mg de tissus) avec de l'acide sulfurique concentré en présence de sélénium et de peroxyde d'hydrogène à 370 °C pendant une heure. Après dissolution complète, les métaux sont dosés directement dans la solution acide diluée par spectrométrie d'émission atomique au plasma (modèle : ICAP 61E, compagnie : Thermo Instruments ou modèle : ICAP 9000, compagnie : Thermo Instruments). L'azote sous forme d'ammonium est dosé par colorimétrie avec un spectrophotomètre à flux continu (modèle : Quickchem 8000, compagnie : Lachat).

D'autre mesures ont été prises initialement sur la proportion des cavités par récipient :

- cavité vide;
- plant mort;
- gel du bourgeon apical;
- observations de maladies ou autres dommages.

À la fin de la saison de croissance, le nombre de plants tués par la pourriture racinaire (*Cylindrocladium* sp. d'après les symptômes) a été dénombré dans chaque unité expérimentale. En cours de saison de croissance, les suivis habituels de la pépinière ont été effectués.

1.5. ANALYSES STATISTIQUES

Les analyses de variance ont été réalisées avec la procédure GLM du logiciel SAS version 8.2. Les résultats des analyses ont été considérés significatifs (*) au niveau de probabilité de 5 % ($p \leq 0{,}0500$) et hautement significatifs (**) au niveau de probabilité de 1 % ($p \leq 0{,}0100$). Lorsqu'il y avait plus de deux traitements dans l'expérience et qu'ils ont eu des effets significatifs sur les variables à l'étude, des contrastes simples ont été appliqués afin de déterminer les traitements significativement différents des autres.

2. RÉSULTATS

2.1. CONDITIONS INITIALES DU DISPOSITIF

L'utilisation de blocs dans le dispositif a permis d'isoler une différence initiale de hauteur des plants d'épinette de Norvège (Tableau 2). Cette différence initiale était indépendante des traitements appliqués, tel que souhaité. Le taux des bourgeons terminaux morts par le gel était nul dans l'échantillonnage des plants d'épinettes noire et de Norvège. Par contre, il était variable entre les blocs et les traitements pour l'épinette rouge, mais il y a eu davantage de pertes de bourgeons à l'extrémité est des îlots, soit dans les blocs 3-5 et 3-6 (Tableau 3). Les taux de cavités vides (1,4 %) et de plants morts (0,4 %) étaient faibles et indépendants des essences, des blocs ou des traitements prévus.

Tableau 2. Hauteur moyenne (cm) des plants et intervalles de confiance à 95 % sur la moyenne

	Bloc											
Essence	**1-1**	**1-2**	**1-3**	**1-4**	**1-5**	**1-6**	**3-1**	**3-2**	**3-3**	**3-4**	**3-5**	**3-6**
EPN	9,5±1,2	10,2±1,2										
EPO			6,9±1,2 a	6,8±1,2 a	4,7±1,2 b	4,9±1,2 b						
EPR							9,2±0,9	10,6±0,9	10,3±0,9	10,4±0,9	9,7±0,9	10,4±0,9

Tableau 3. Taux de mortalité du bourgeon terminal pour l'épinette rouge

Bloc	Traitement A	Traitement B	Témoin
3-1	4,7%	2,0%	0,0%
3-2	6,7%	4,0%	0,7%
3-3	3,3%	2,0%	4,7%
3-4	0,0%	3,3%	1,3%
3-5	6,0%	15,3%	3,3%
3-6	9,3%	7,3%	1,3%

2.2. CONTRÔLE DE LA POURRITURE RACINAIRE

Hypothèse 1
L'application de 1000 à 1375 ppm de chitosane réduit les pertes de plants causées par la pourriture racinaire.

Réponse
Essai non concluant.

La présence de ce champignon dans les dispositifs a été observée presque exclusivement sur l'épinette noire (Figure 5). Or, il n'y a eu que 2 répétitions (blocs) des traitements (1000 ppm vs témoin) pour cette essence, ce qui n'a pas permis d'observer des différences significatives du nombre de semis morts par traitement (Tableau 4).

Néanmoins, le tableau 4 suggère que l'application de chitosane pourrait réduire la mortalité causée par la pourriture racinaire. En effet, dans les deux blocs, la mortalité est moindre avec l'application de chitosane par rapport au témoin. L'application de 1000 ppm de chitosane au cours de la saison n'a pas permis d'éliminer le problème de pourriture racinaire, mais pourrait l'avoir réduit.

Tableau 4. Nombre de plants dont la mortalité a été attribuée à la pourriture racinaire

Bloc	Traitement A	Témoin	Moy. bloc
1-1	47	90	68,5
1-2	20	30	25
Moy.	33,5	60	

Figure 5. Présence de plants d'épinette noire affectés par la pourriture racinaire (Indicateur : plants rouges)

2.3. CROISSANCE DES PLANTS

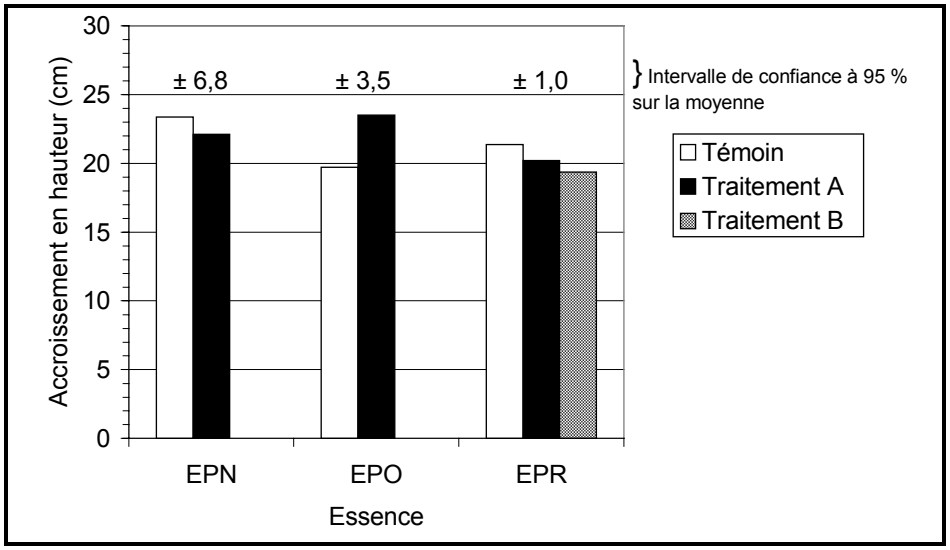
Hypothèse 2
Les plants ayant reçu une dose de chitosane ont eu une croissance en hauteur inférieure aux témoins.

Réponse
VRAI pour l'épinette rouge.

L'accroissement en hauteur de l'épinette rouge a été significativement (p = 0,0348) affectée par les traitements (Figure 6). Les deux traitements de chitosane sont significativement inférieurs au traitement témoin (p = 0,0185), mais l'écart est faible. De plus, il n'y a pas de différence significative entre les deux doses de chitosane à l'étude (p = 0,2232).

Quant aux épinettes noire et de Norvège, le faible nombre de répétitions et la variabilité entre les plants n'ont pas permis de détecter des différences significatives (p = 0,3478 et 0,0922, respectivement) sur l'accroissement en hauteur. Néanmoins, l'effet observé sur l'épinette noire est semblable à celui observé sur l'épinette rouge, alors que c'est le contraire avec l'épinette de Norvège.

Figure 6. Accroissement en hauteur des plants en 2003

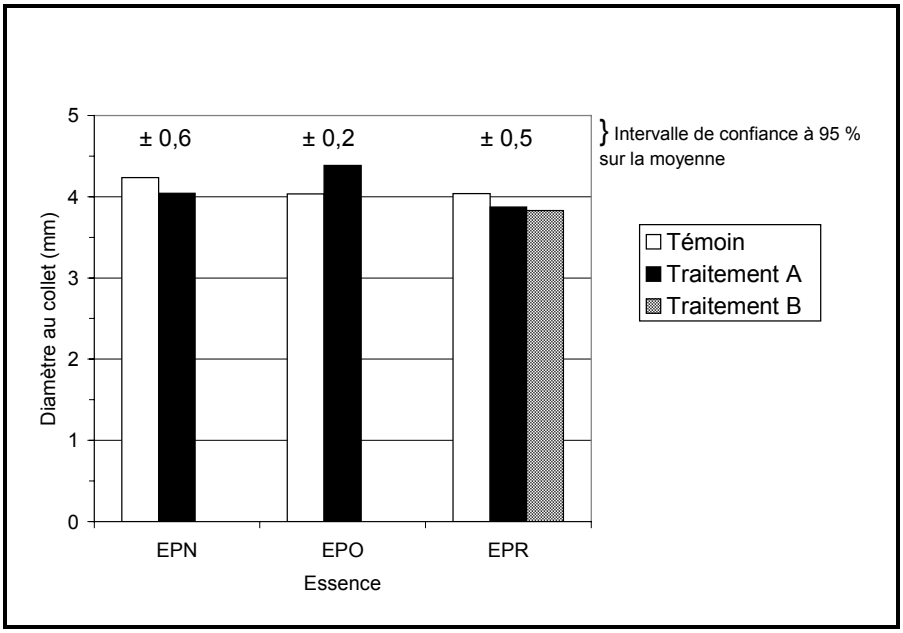


Hypothèse 3
Les plants ayant reçu une dose de chitosane ont un diamètre supérieur aux témoins.

Réponse
VRAI pour l'épinette de Norvège.

Le diamètre au collet de l'épinette de Norvège a été significativement ($p = 0{,}0421$) augmenté par l'application de chitosane (Figure 7), mais l'écart est faible (0,35 mm). Le diamètre au collet des épinettes noire et rouge n'a pas été affecté de façon significative ($p = 0{,}2143$ et $p = 0{,}3859$, respectivement).

Figure 7. Diamètre au collet des plants en octobre 2003



Hypothèse 4
Le ratio hauteur/diamètre est réduit par l'application de chitosane.

Réponse
FAUX.

L'application de chitosane n'a eu aucun effet significatif sur le ratio hauteur/diamètre des épinettes noire ($p = 0{,}5868$), de Norvège ($p = 0{,}3238$) et rouge ($p = 0{,}9456$) (Tableau 6).

Hypothèse 5
L'application de chitosane améliore la qualité des plants en regard des normes de hauteur, de diamètre et de ratio hauteur/diamètre.

Réponse
Tend à être VRAI pour l'épinette de Norvège.

La réduction significative, de près de 2 cm, de l'accroissement en hauteur des plants d'épinette rouge (*cf* Hypothèse 2) n'a pas affecté l'attribution de la catégorie de qualité à ces plants en dormance (Tableaux 5 et 6). La catégorie de plants n'est pas différente entre ceux pour les épinettes noire et de Norvège. Cependant, la tendance du chitosane à augmenter l'accroissement en hauteur de l'épinette de Norvège et son effet significatif sur le diamètre (*cf* Hypothèse 3), pourraient permettre à cette production d'atteindre la catégorie B. En effet, il ne manque que 0,5 cm en hauteur moyenne et 0,4 cm en hauteur minimale pour atteindre cette catégorie supérieure pour les plants traités.

Tableau 5. Normes de qualité pour les plants produits en récipients de plus de 300 cm³ en dormance (MRNFP, 2003)

Espèce	Catégorie	Valeurs moyennes		Valeurs individuelles		
		H (cm)	H/D (cm/mm)	H (cm)	D (mm)	H/D (cm/mm)
EPN et EPR	A	≥ 35,0	≤ 7,5	N/A	N/A	N/A
	B	≥ 35,0	N/A	≥ 30,0	≥ 3,8	≤ 10,0
	C	< 35,0	N/A	≥ 25,0	≥ 3,5	≤ 10,0
EPO	A	≥ 35,0	≤ 7,0	N/A	N/A	N/A
	B	≥ 30,0	N/A	≥ 28,0	≥ 4,0	≤ 9,5
	C	< 30,0	N/A	≥ 23,0	≥ 4,0	≤ 9,5

Tableau 6. Caractéristiques des plants produits en regard des normes de qualité

Espèce	Traitements	Valeurs moyennes		Valeurs individuelles			Catégorie
		H (cm)	H/D (cm/mm)	H (cm)	D (mm)	H/D (cm/mm)	
EPN	A	31,7	7,9	≥ 31,6	≥ 3,8	≤ 8,3	C
	T	34,1	8,1	≥ 33,3	≥ 3,9	≤ 8,8	C
EPO	A	29,5	6,8	≥ 27,6	≥ 4,0	≤ 7,2	C
	T	25,5	6,3	≥ 20,5	≥ 3,6	≤ 6,7	C
EPR	A	30,2	7,8	≥ 28,9	≥ 3,5	≤ 8,8	C
	B	29,7	7,7	≥ 27,3	≥ 3,6	≤ 8,3	C
	T	31,6	7,8	≥ 29,7	≥ 4,0	≤ 8,3	C

Hypothèse 6
L'application de chitosane augmente la masse anhydre des plants.

Réponse
FAUX.

Les masses anhydres totale, racinaire et aérienne des plants des trois espèces à l'étude n'ont pas été affectées significativement ($0{,}1360 \leq p \geq 0{,}7673$) par les traitements (Tableau 7).

Tableau 7. Masse anhydre (mg) des plants et intervalle de confiance à 95 % sur la moyenne

Masse	EPN	EPO	EPR
Partie aérienne	5 062 ± 730	4 050 ± 516	4 461 ± 344
Partie racinaire	955 ± 205	1 380 ± 145	1 090 ± 97
Totale	6 017 ± 895	5 430 ± 633	5 551 ± 422

2.4. TENEUR EN AZOTE

Hypothèse 7
L'application de chitosane n'affecte pas la teneur en azote des plants.

Réponse
VRAI.

Les concentrations en azote foliaire et racinaire des plants des trois espèces à l'étude n'ont pas été affectées significativement ($0{,}0792 \leq p \geq 0{,}8679$) par les traitements (Tableau 8). Cependant, la concentration en azote foliaire était très variable, particulièrement pour l'épinette noire.

Tableau 8. Concentration en azote (g/kg) des plants et intervalle de confiance à 95 % sur la moyenne

	EPN	EPO	EPR
Azote foliaire	18,5 ± 12,6	19,9 ± 3,4	18,8 ± 1,1
Azote racinaire	18,6 ± 0,9	11,4 ± 3,2	15,1 ± 2,2

3. DISCUSSION

Les applications de chitosane ont été planifiées de façon à obtenir la plus grande concentration possible de chitosane par cavité (125 ppm ou 1,725 ml) en un seul passage avec l'équipement disponible, soit une rampe installée à l'avant d'un tracteur. Le produit, qui est très visqueux, ne pouvait pas être appliqué à une concentration supérieure à 1 % sans obstruer les jets. Seuls des passages plus nombreux à chaque arrosage, ou plus fréquents dans la saison, auraient permis d'augmenter les applications. Or, un total de huit arrosages par saison ne pouvait être dépassé afin de maintenir les coûts d'application sous un seuil acceptable. En conséquence, les effets du chitosane devaient être significatifs avec cette cédule d'application et cette concentration pour justifier ce traitement sur une base opérationnelle.

De la mortalité causée par la pourriture racinaire a été observée uniquement chez l'épinette noire. Toutefois, les résultats ne permettent pas de conclure clairement si le chitosane réduit la mortalité causée par la pourriture racinaire, puisque le nombre de répétitions était faible (2 blocs). Il y a eu de la mortalité dans les deux blocs traités et il ne serait pas possible, d'un point de vue opérationnel, d'augmenter les applications de chitosane pour tenter d'éliminer complètement ce problème. Bonneau *et al.* (1997) précisent que la présence de *Cylindrocladium floridanum* dans des productions de plants à récipients peut provenir de sa présence dans le sol environnant, particulièrement dans des productions environnantes de plants à racines nues. Autrement, son origine serait principalement une contamination provenant de l'utilisation de récipients malpropres lors de l'empotage. Bonneau *et al.* (1997) recommandent d'appliquer le protocole suivant pour le nettoyage :

1. Vider les cavités.
2. Laver les récipients intacts avec un jet d'eau tiède (≥ 40 °C) sous pression.
3. Laisser tremper les récipients pendant une dizaine de secondes dans un bassin d'eau chaude (80 °C) dans lequel on peut ajouter du savon Ivory.

De plus, une meilleure ventilation sous tunnel pourraient réduire les risques d'infestation.

Les seuls effets significatifs de l'application du chitosane ont été de réduire légèrement (de 1,2 à 2 cm) l'accroissement en hauteur de l'épinette rouge et d'augmenter (0,35 mm) le diamètre final de l'épinette de Norvège. De plus, le chitosane aurait tendance à augmenter (3,8 cm) l'accroissement en hauteur de l'épinette de Norvège. Néanmoins, ces changements n'ont pas eu d'impacts sur l'évaluation de la qualité des plants, ils entrent tous dans la catégorie C, la plus basse. Seule l'épinette de Norvège a été améliorée par l'application de chitosane, d'après les normes d'évaluation de la qualité, mais ce ne fut pas suffisant pour lui permettre d'atteindre les niveaux de la catégorie B. Quant aux masses anhydres et concentrations en azote, elles n'ont pas été affectées de façon significative par l'application de chitosane. Dans l'ensemble, seule la production d'épinette de Norvège pourrait être améliorée par l'application de chitosane. Cependant, les coûts d'une telle application ne semblent pas justifiés *a priori*. En effet, l'application de chitosane (8 passages de 125 ppm) représente un coût d'environ 0,25 $/plant pour une production de quelques dizaines de milliers de plants.

Ces résultats corroborent ceux observés par Patry *et al.* (2003) et Guillemette (2004) sur l'épinette blanche à New Richmond dans la Baie-des-Chaleurs. En effet, des applications

moindres de chitosane (91 à 549 ppm sur 8 à 16 semaines) n'avaient pas amélioré de façon significative la dimension, la morphologie ou la masse des plants après deux années de traitements.

Compte tenu des effets minimes du chitosane sur la croissance des plants d'épinette en pépinière et des coûts associés à son application, il est recommandé de ne pas appliquer de chitosane sur ces productions. Le seul effet significatif du chitosane qui a été répertorié pour des essences forestières québécoises (Blouin *et al.*, 2002) est l'induction de réactions de défense contre un pathogène responsable de la carie racinaire (Laflamme, 2000) sur l'épinette noire. Or, un test réalisé récemment à l'Université Laval aurait démontré que cet effet ne faisait que retarder les pertes causées par le champignon *Cylindrocladium floridanum*, mais ne réduisait pas les pertes totales (M. Guy Bussière, Université Laval, communication personnelle, 2004). C'est pourquoi ces chercheurs ont abandonné la possibilité d'utiliser le chitosane pour améliorer la protection des plants forestiers en pépinière.

De nombreux facteurs influencent le développement des parties racinaires et aériennes dans la production de plants d'épinette de forte dimension, tels que :

- l'espèce;
- la génétique (Lamhamedi *et al.*, 2000; Beaulieu *et al.*, 1996);
- le type de production (bouturage, embryogenèse somatique, graines) (Beaulieu *et al.*, 1996)
- le récipient (Gingras *et al.*, 2002; Jalkanen, 1995);
- la durée du jour (Colombo *et al.*, 2003);
- la température ambiante (Colombo *et al.*, 2003);
- la fertilisation (Colombo *et al.*, 2003; Rytter *et al.*, 2003);
- la température du substrat (Peng et Dang, 2003);
- le substrat de culture, son irrigation (Lamhamedi *et al.*, 2001), son oxygénation, etc.

Le potentiel d'amélioration des productions d'épinettes à la Pépinière de Grandes-Piles passerait davantage par l'application de meilleurs scénarios de production de plants que par l'application d'un produit comme le chitosane. D'ailleurs, la sélection de meilleures combinaisons de scénarios de production de plants en pépinière est l'un des axes de recherche privilégié par la Direction de la recherche forestière du MRNFP (Lamhamedi *et al.,* 2003). Suite à une rencontre tenue à la fin de 2003 entre des intervenants du réseau public de pépinières forestières, la Pépinière de Grandes-Piles envisage pour 2004 de modifier le substrat de ses productions d'épinettes en PFD afin d'améliorer le développement du système racinaire et la robustesse des plants.

Malgré les résultats décevants observés sur les productions d'épinettes à forte dimension en récipients à New Richmond et à Grandes-Piles, il n'est pas impossible que le chitosane puisse avoir des effets bénéfiques sur des plants forestiers. En effet, ces essais n'ont pas permis de vérifier les effets du chitosane à différents régimes de fertilisation ou d'irrigation, de même que pour des espèces autres que les épinettes (ex. : peupliers, bouleaux, etc.). Une meilleure connaissance du processus d'absorption du chitosane par les arbres et de leur utilisation (métabolisme) serait nécessaire avant d'entreprendre des essais supplémentaires.

CONCLUSION

L'application de chitosane (1000 à 1375 ppm) sur des plants d'épinettes noire, rouge et de Norvège, lors de la 2ème saison de croissance de plants à forte dimension produits en récipients, a eu pour seuls effets de réduire l'accroissement en hauteur de l'épinette rouge, d'augmenter le diamètre final et l'accroissement en hauteur de l'épinette de Norvège. Cependant, ces effets n'ont pas permis d'améliorer la qualité de ces productions de façon significative et d'éliminer les problèmes de pourriture racinaire.

Étant donné que ces observations corroborent ceux d'autres applications de chitosane sur des plants d'épinettes, il est recommandé de ne pas appliquer ce produit dans ces productions de plants forestiers. Il serait préférable de travailler au développement de meilleurs scénarios de production en ajustant des variables tels que le substrat, la sélection génétique, l'irrigation et la fertilisation. Il n'est pas impossible que le chitosane puisse avoir des effets bénéfiques sur des plants forestiers, mais il faudrait d'abord développer une meilleure connaissance du processus d'absorption du chitosane par les arbres et de leur utilisation (métabolisme).

RÉFÉRENCES

Beaulieu, J., Brouillette, J.G., Daoust, G., Mercier, S., Perreault, F.N., Plourde, A., Rainville, A., Robert, D. et Villeuneuve, M. 1996. Amélioration des arbres – production de plants. *In* Manuel de Foresterie, Ordre des ingénieurs forestiers du Québec et Les Presses de l'Université Laval : 913-964.

Blouin, D., Patry, A., Boulfroy, E. et Legault, I. 2002. Étude sur le potentiel d'utilisation du chitosane comme facteur de croissance et de protection des plants contre le gel et les maladies. Centre collégial de transfert de technologie en foresterie. Référence CERFO 2002-07. 55 p.

Bonneau, G., Innes, L., Lachance, C., Marchand, L. et Paré, D. 1997. Maladies et insectes importants dans les pépinières forestières au Québec. Direction de la conservation des forêts, Ministère des Ressources naturelles du Québec. 73 p.

Colombo, S.J., Glerum, C. et Webb, D. P. 2003. Daylenght, temperature and fertilization effects on desiccation resistance, cold hardiness and root growth potential of *Picea mariana* seedlings. Ann. For. Sci. 60 : 307-317.

Gingras, B.M., Richard, S. et Robert, N. 2002. Performance de cinq ans en plantations comparatives de plants résineux de fortes dimensions et de feuillus cultivés dans des récipients à parois ajourées. Mémoire de recherche forestière no 141, Direction de la Recherche forestière, Ministère des Ressources naturelles du Québec. 102 p.

Guillemette, F. 2004. Potentiel d'utilisation du chitosane comme facteur de croissance des plants d'épinette blanche – 2ème saison de croissance. Centre collégial de transfert de technologie en foresterie (CERFO). Rapport 2004-03. 11 p.

Jalkanen, A. Growth and morphology of black spruce, jack pine, and white spruce container seedlings in Northern Ontario. North. J. Appl. For. 12(2) : 69-74.

Lamhamedi, M., Chamberland, H., Bernier, P.Y., et Tremblay, F.M. 2000. Clonal variation in morphology, growth, physiology, anatomy and ultrastructure of container-grown white spruce somatic plants. Tree Physiology 20 : 869–880.

Lamhamedi, M., Gagnon, J. et Colas, F. 2003. Recherche-développement en production de semences et de plants forestiers au Québec : principales réalisations et perspectives d'avenir. Actes des Colloques du Carrefour de la recherche forestières. 19 février 2003 au Centre des congrès de Québec : 17-32.

Lamhamedi, M., Lambany, G., Margolis, H., Renaud, M., Veilleux, L. et Bernier, P.Y. 2001. Growth, physiology, and leachate losses in Picea glauca seedlings (1+0) grown in air-slit containers under different irrigation regimes. Can. J. For. Res. 31 : 1968–1980.

Laflamme, P. 2000. Évaluation du chitosane pour lutter contre la pourriture racinaire causée par *Cylindrocladium floridanum* chez l'épinette noire. Thèse de maîtrise. Faculté de foresterie et de géomatique. Université Laval. 64 p.

MRNFP, 2003. Production de plants forestiers en récipients (ensemencement 2003). Annexe 3 : Normes de qualité relatives à la hauteur (H), le diamètre (D) et le rapport H/D par type de récipient et par essence. Ministère des Ressources naturelles du Québec.

Patry, A., Meunier, S. et Guillemette, F. 2003. Potentiel d'utilisation du chitosane comme facteur de croissance et de protection des plants d'épinette blanche contre le gel. Centre collégial de transfert de technologie en foresterie. Référence CERFO 2003-01. 65 p.

Peng, Y.Y. et Dang, Q.L. 2003. Effects of soil temperature on biomass production and allocation in seedlings of four boreal tree species. For. Ecol. Manage. 180 : 1-9.

Rytter, L., Ericsson, T., Rytter, R.M. 2003. Effets of demand-driven fertilization on nutrient use, Root :plant ratio and field performance of *Betula pendula* and *picea abies*. Scand. J. For. Res. 18 : 401-415.