

Amélioration des conditions de germination du fuzz

Thong-Chane A., Boisbineuf C., Sinama JB.,
Dumont Th., Barau L.

eRcane, 40, Route Gabriel Macé, BP 315, 97494 Sainte Clotilde, La Réunion.

thong-chane@ercane.re

Résumé.

Un des premiers objectifs de la création et sélection variétale, est de maximiser la diversité génétique produite. A cette fin, eRcane a engagé des travaux pour optimiser la germination du fuzz et aboutir à une production maximale de seedlings.

Trois types de substrats ont été comparés et ont donné des résultats de germination significativement identiques, ce qui a conduit à retenir pour le semis un nouveau substrat plus simple à préparer et dont les composants ne posent pas de problème d'approvisionnement.

La levée du fuzz en serre a été comparée à celle du fuzz en chambre climatique. Si la levée en chambre climatiques à 36°C est plus rapide, à terme, elle est meilleure en serre. Cependant, des tests de la chambre climatique à différentes températures sont en cours pour optimiser la germination.

Mots clés : substrat, conditions, germination, fuzz, seedlings

Introduction

eRcane est en charge de la création et de la sélection de nouvelles variétés de canne à sucre à La Réunion. La première étape de cette création variétale consiste à créer de la diversité génétique (a) en croisant des variétés possédant des caractéristiques d'intérêt agronomique complémentaires, (b) en optimisant la levée des graines (le fuzz).

Avec l'ouverture de la nouvelle station de Menciol et la mise en place d'un nouveau schéma de sélection sur l'élargissement de la base génétique et de la richesse, le nombre de seedlings nécessaires pour les différentes pépinières des 6 stations de sélection variétale d'eRcane est passé de 80 000 à 100 000 (+ 25%).

Pour atteindre cet objectif, si le nombre de croisements a été augmenté, nous avons aussi cherché à améliorer la production des seedlings en intervenant sur le substrat de semis et le contrôle des conditions de germination du fuzz.

Comme il était de plus en plus difficile de s'approvisionner en certains produits entrant dans la composition du substrat habituellement utilisé à eRcane, et que sa préparation était consommatrice de main d'œuvre deux nouveaux substrats plus faciles à préparer ont été testés et comparés à l'ancien.

Jusqu'à présent la levée du fuzz se déroulait sous serre, où les conditions climatiques étaient mal contrôlées. Des tests ont été réalisés en chambre climatique, où la température, l'humidité et la luminosité peuvent être régulées pour maximiser la germination des graines. Ainsi la levée du fuzz en serre a été comparée à la levée en chambre climatique à 36°C.

Matériel et méthode

1-Test de nouveaux substrats

Le semis des graines de canne est réalisé dans des terrines remplies d'un substrat préparé à eRcane. Jusqu'à présent, le substrat utilisé habituellement (appelé substrat de référence) était préparé selon le protocole suivant :

- de la terre, prélevée dans une friche, est tamisée puis mélangée à des scories et de la tourbe TKS1 (substrat de culture adapté au semis composé de tourbe blonde et d'un engrais complet NPK 18-10-20) dans les proportions suivantes en volumes : 1/3 de terre, 1/3 de scories et 1/3 de TKS1 (Julien, 1955) ;
- le mélange est ensuite humidifié avant d'ajouter un fongicide, le Basamid (Dazomet, 97%) à raison de 200g/m³. Le substrat est de nouveau mélangé puis étalé sur une surface propre à l'abri sur une épaisseur d'environ 5 cm avant d'être recouvert d'une bâche ;
- au bout de trois semaines, la bâche est enlevée et le substrat est laissé à l'air libre pendant trois jours avant de pouvoir être utilisé pour le semis (Julien, 1955).

La préparation de ce substrat est longue et consommatrice de main d'œuvre : il faut deux jours de travail à une équipe de trois personnes pour préparer 3 m³ (un pétrin). La préparation des 6 pétrins nécessaires à une campagne de semis demande donc 36 journées hommes par an.

Face à ces inconvénients, mais aussi aux difficultés d'approvisionnement en Basamid, deux nouveaux substrats ont été testés :

- un mélange composé d'un tiers de sable (référence fournisseur S06) et de deux tiers de TKS1 (substrat 1) ;
- un mélange composé d'un tiers de scories volcaniques (référence fournisseur 6/10) et de deux tiers de TKS1 (substrat 2)

Les deux composants de ces substrats sont mélangés dans une bétonnière, puis le substrat est directement réparti dans les caisses de semis qui sont alors prêtes à être utilisées (Breaux, 1987).

En septembre 2010, 168 croisements issus de l'hybridation 2010 ayant des taux de germination très différents (entre 0 et 230 seedlings/gramme de fuzz) ont été sélectionnés. Le fuzz de ces croisements a été divisé en plusieurs sous échantillons de poids égaux (entre 2 et 22 sous échantillons par croisement). Ces sous échantillons de fuzz ont ensuite été semés dans 689 caisses contenant soit le substrat de référence soit le substrat 1 soit le substrat 2.

Les caisses ont été placées sous serre et un comptage du nombre de seedlings ayant germé a été effectué 15 jours après semis.

2-Maîtrise des conditions de germination : la chambre climatique

La germination du fuzz à eRcane se déroule en serre. Depuis 2009, cinq sondes de températures et une sonde d'humidité ont été installées dans la serre principale pour suivre en temps réel les conditions de germination.

Pour optimiser la germination du fuzz et la croissance des seedlings :

- une température constante de 35°C est requise (Breaux, 1987);
- les graines en germination et les racines des seedlings ont besoin d'une humidité environnante supérieure à 60% (Breaux, 1987);
- de plus, une faible luminosité peut rapidement devenir un facteur limitant dans la croissance des seedlings même à des stades très précoces. (Breaux, 1987).

Les conditions de germination du fuzz dans la serre sont loin d'être optimales, en raison d'une forte amplitude thermique et de l'alternance jour-nuit. Pour améliorer la germination, une chambre climatique a donc été testée avec du fuzz issu de croisements réalisés lors de la campagne de floraison 2011. Sur un total de 1332 croisements, 660 ont donné plus de 30 seedlings par gramme de fuzz, seuil à partir duquel le taux de germination est considéré comme correct. Ces 660 croisements ont été répartis selon 6 classes de levée définies par les 6-quantiles de levée.

Tableau 1. Définition des classes de levées pour le test de la chambre climatique

Nb de seedlings potentiels par g de fuzz (test réalisé en août septembre 2011)	Nom des classes	Nb de croisements
0 à 30	0	672 croisements
30 à 42	1	111 croisements
43 à 59	2	110 croisements
60 à 84	3	110 croisements
85 à 122	4	110 croisements
123 à 202	5	110 croisements
203 à 678	6	109 croisements

Pour comparer la levée sous serre et en chambre climatique, deux croisements par classe ont été sélectionnés avec un poids de fuzz supérieur à 8g.

Le fuzz de ces croisements a été divisé en 8 sous-échantillons d'un gramme chacun. Ces sous échantillons ont été semés le 24 juillet 2012 dans des caisses de semis remplies d'un substrat composé de d'un tiers de scories volcaniques et d'un tiers de TKS1.

Les semis ont ensuite été arrosés puis traités au fongicide Prévicur contre la fonte des semis (Propamocarb 722g/L, dilution : 35mL de produit pour 1L d'eau).

Pour chaque croisement, quatre caisses choisies aléatoirement parmi les huit, ont été placées en serre.

Les quatre restantes, ont été emballées dans des sacs plastiques transparents (pour maintenir une humidité correcte) avant d'être installées en chambre climatique.

Dans la chambre climatique, l'éclairage est assuré 24h sur 24 grâce à des néons à lumière blanche et la température cible de germination a été réglée à 36°C (Communication personnelle, BSES). Un thermomètre minimum maximum a été installé dans la terre d'une caisse pour vérifier le bon fonctionnement de la régulation de la température.

Au bout de trois jours, les caisses de semis ont été sorties de la chambre de germination et mises en serre. Dans la chambre de germination, la température a correctement été régulée,

puisqu'elle a varié entre un minimum de 33,6°C et un maximum de 37,8°C. (Figure 1). Durant ces trois jours la température en serre a varié de 15,5°C à 35,7°C et a été en moyenne de 22,9°C et l'humidité a varié de 42,1% à 75,8% (moyenne de 61,6%).

Un comptage du nombre de seedlings levés a été réalisé sur chaque caisse 3 jours, 7 jours, 10 jours et 14 jours après semis, ce qui permettra de définir une date optimale de comptage dans la chambre climatique et de suivre l'évolution de la germination dans le temps dans ces deux lieux.

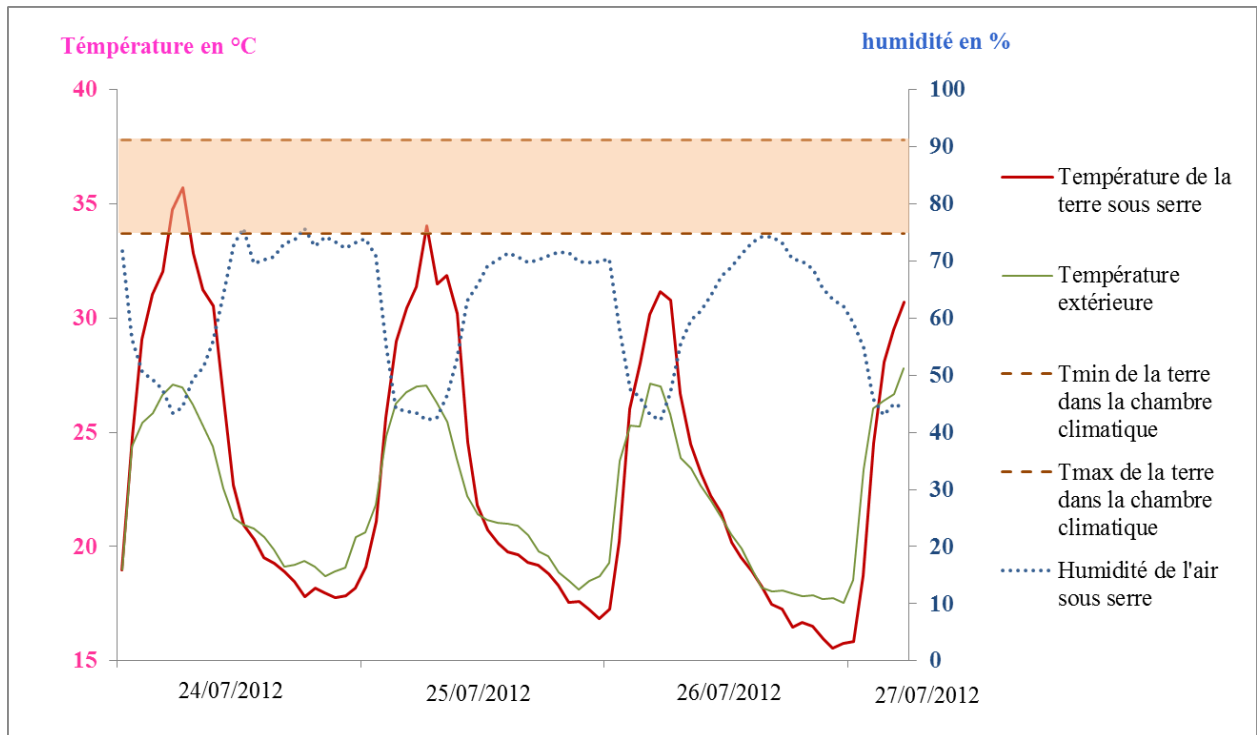


Figure 1. Evolution de la température et de l'humidité sous serre en comparaison avec la température en chambre climatique.

3-Outils statistiques

Les données ont été traitées avec le logiciel R.

Les comptages de levée sont de type binomial (nombre de graines levées par gramme de fuzz qui contient environ 2 000 graines (Anonymous, 1976-1977))

3.1) Test de nouveaux substrats

Un modèle GLM (Generalized Linear Model) complet avec une fonction de lien logistique sur une distribution quasi-binomiale (car surdispersion des données) a été choisi pour modéliser les données :

$$\text{comptage} = f(\text{substrat} \times \text{croisement}) \quad (1)$$

Pour tester les différents effets, un test de rapport de vraisemblance basé sur le Fisher-Snedecor a été réalisé.

3.2) Maîtrise des conditions de germination : la chambre climatique :

Pour définir la date optimale de comptage dans la serre et la chambre climatique, un modèle GLM (Generalized Linear Model) complet avec une fonction de lien logistique sur une distribution quasi-binomiale (car surdispersion des données) a été choisi pour chaque lieu :

$$\text{Comptage}(\text{lieu}) = f(\text{date de comptage} \times \text{croisement}) \quad (2)$$

Pour tester les différents effets, un test de rapport de vraisemblance basé sur le Fisher-Snedecor a été réalisé.

Comme l'interaction croisement date était significative, nous avons recherché pour quels croisements, la date avait un effet. Lorsque l'effet date était significatif, un test de Tukey (comparaison multiple de moyennes) a été réalisé pour identifier la date optimale de comptage.

De la même manière, pour comparer la germination entre la chambre climatique et la serre, un test de Fischer-Snedecor a été réalisé sur un GLM entre comptage et lieu par date et par croisement.

Résultats

1-Test de nouveaux substrats :

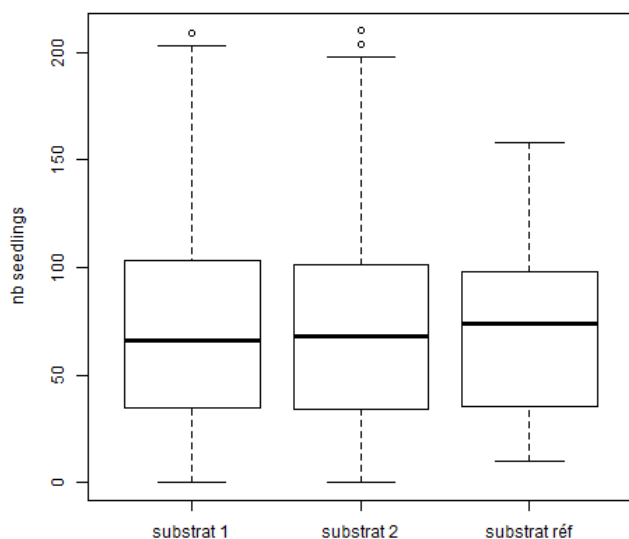


Figure 2. Boîtes à moustaches pour la comparaison du nombre de seedlings en fonction du substrat utilisé.

Tableau 2. Résultat de l'anova à deux facteurs sur le comptage pour la comparaison de la levée sur les trois substrats.

	Degré de liberté	F	Pr(>F)	
Substrat	2	0,3874	0,6791	
croisement	167	10,911	<2 e -16	***
Substrat x croisement	167	0,7776	0,9803	

code : *** : 0,001

Seul le croisement a un effet significatif ($p < 2^{-16}$) sur le nombre de seedlings germés. En effet, chaque croisement a un taux de germination qui lui est propre. Le type de substrat est par contre sans effet sur la levée et il n'y a pas d'interaction entre le type substrat utilisé et le croisement, ce qui confirme que le comptage dépend uniquement du croisement.

2-Maîtrise des conditions de germination : la chambre climatique

Dans la chambre climatique, pour les 14 croisements testés, il n'y a pas de différence significative ($p > 0.05$) entre les comptages à J+7, J+10 et J+14. En routine, les comptages de levée pourraient donc être réalisés à J+7, cependant, les plantules étant encore très petites, il a été choisi de compter les seedlings à J+10 pour une plus grande facilité et meilleure précision de lecture.

Dans la serre, le comptage à J+14 diffère significativement ($p < 0.05$) du comptage à J+10 pour trois croisements (2 051, 1 019 et 793). Il faut donc attendre au moins 15 jours pour effectuer les comptages des croisements sous serre.

Tableau 3. Comparaison de la levée moyenne en serre et en chambre climatique.

Croisement	Classe de levée	J+3		J+7		J+10		J+14	
		p-value		p-value		p-value		p-value	
1 084	0	0,1248		0,09748		0,06404		0,01889	* Se
1 094	0	0,1248		0,06543		0,3779		0,03271	* Se
1 498	1	0,06234		0,4029		0,0527		0,0177	* Se
1 165	1	3,65e ⁻⁰⁶	*** Ch	0,8966		0,7099		0,5411	
1 996	2	0,4999		0,1242		0,03889	* Se	0,001191	** Se
918	2	1		1		0,6369		0,3573	
2 105	3	2,24e ⁰⁷	*** Ch	0,01528	* Se	0,001924	** Se	0,000506	*** Se
1 703	3	<2,2e ⁻¹⁶	*** Ch	0,00418	** Ch	0,8715		0,004174	** Se
1 235	4	4,11e ⁻¹⁰	*** Ch	0,3088		0,4949		0,2832	
185	4	<2,2e ⁻¹⁶	*** Ch	0,4756		0,3214		0,4015	
164	5	<2,2e ⁻¹⁶	*** Ch	0,7068		0,6357		0,1196	
2 051	5	<2,2e ⁻¹⁶	*** Ch	0,0452	* Se	0,3068		0,3986	
1 019	6	<2,2e ⁻¹⁶	*** Ch	0,06028		0,9606		0,07428	
793	6	<2,2e ⁻¹⁶	*** Ch	5,38e ⁻⁰⁵	*** Ch	0,9072		0,002978	** Se

*** = 0,001, ** = 0,01, * = 0,05

Ch : chambre>serre, Se : serre>chambre

A J+3, en chambre climatique, 60,8 % des seedlings qui auront levé à 14 jours le sont déjà contre seulement 1,2% en serre. En effet, à J+3, neuf croisements sur 14, ont significativement mieux levé en chambre climatique : ce sont, les croisements des meilleures classes qui germent le plus vite.

C'est entre J+3 et J+7 que la levée est initiée sous serre, puisqu'à J+7, 79,2% du total à 14 jours des seedlings ont germé. A J+7, seuls deux croisements étant passés par la chambre climatique montrent toujours une meilleure levée que sous la serre.

A J+10, la levée en serre a rattrapé la levée en chambre climatique et commence même à la surpasser ce qui se confirme à J+14, où 7 croisements appartenant à diverses classes de levée ont de meilleurs résultats sous serre.



Photo 1. Levée du croisement 1 019 (sous échantillon n°4) après trois jours en chambre climatique



Photo 2. Levée du croisement 1 019 (sous échantillon n°7) après trois jours en serre

Discussion

1-Test de nouveaux substrats :

La levée des seedlings est équivalente sur les trois substrats testés.

Or la simplicité de préparation du substrat 1 et du substrat 2 présente un certain nombre d'avantages :

- le Basamid, produit nocif mais aussi dangereux pour l'environnement et dont l'approvisionnement est problématique n'est plus nécessaire ;
- de ce fait, il n'y a plus de délai d'action du Basamid de trois semaines, ce qui simplifie l'organisation du travail car les substrats 1 et 2 peuvent être préparés la veille pour le lendemain ;
- la terre arable de bonne qualité dont la manipulation et le tamisage étaient consommateurs de main d'œuvre et qui devient difficile à trouver n'est plus nécessaire.

Cependant, lors de ces essais, il est apparu que :

- les seedlings ayant germé sur les substrats 1 et 2 semblent plus sensibles à la fonte des semis, un suivi plus rigoureux doit donc être mis en place pour l'application des traitements fongicides;
- qu'il est nécessaire d'améliorer la structure du substrat au cours de la croissance des seedlings. Ainsi après le comptage puis tous les quinze jours, une poignée de substrat de référence est saupoudrée sur chaque caisse, pratique déjà courante lors du semis sur le substrat de référence.

Depuis la campagne 2011, il a donc été décidé :

- de semer sur le substrat 2 car les scories volcaniques permettent un meilleur drainage que le sable du substrat 1 ;
- de repiquer les seedlings sur le substrat 1 sur lequel les trous de repiquage sont plus faciles à préparer.

Tableau 4. Volumes et temps passé pour la préparation des substrats.

		Substrat de référence	Substrat 1	Substrat 2	TOTAL
Avant	Volume en m ³	108	0	0	108
	Nb jours homme	36	0	0	36
Aujourd'hui	Volume en m ³	9	18	90	117
	Nb jours homme	3	3	15	21

Aujourd'hui, l'utilisation combinée des substrats 1 et 2 et substrat de référence permet de gagner 15 jours de travail sur une campagne (tableau 4).

2-Maîtrise des conditions de germination : la chambre climatique.

La levée des seedlings en chambre climatique est plus rapide que dans la serre et permet de gagner environ quatre jours. Durant une campagne, cinq rotations de caisses sous serre sont nécessaires, systématiser le semis en chambre climatique représenterait alors gain de temps de 20 jours.

Cependant, à 14 jours, la levée sous serre est meilleure (24,9% de seedlings en plus qu'en chambre climatique) alors que les conditions de germination sous serre sont moins maîtrisées.

Pour ce premier test, ceci pourrait s'expliquer par des réglages inadaptés des paramètres de la chambre de germination. Nous pensons plus particulièrement à la température choisie, 36°C, qui pourrait être trop élevée. Caiero (2010) a relevé dans la littérature, que selon les auteurs, la température optimale de germination du fuzz variait. Ses tests de germination en incubateur sur sable ou sur papier ont montré de meilleurs résultats à 30°C qu'à 35°C.

Deux autres tests seront donc réalisés avec des températures cibles de 32°C et 30°C. Un réglage plus fin sera aussi nécessaire pour diminuer l'amplitude thermique de la chambre climatique, qui est actuellement d'environ 4 °C.

Enfin, ce test a été réalisé au mois de juillet durant l'hiver austral, période la plus favorable au semis en serre. La température extérieure maximale enregistrée durant les 14 jours de test est de 32,9°C. Cependant le semis à eRcane se termine en Octobre c'est-à-dire au début de l'été (Tmax>35°C). A cette période, la température sous serre dépasse régulièrement 40°C, température à partir de laquelle la germination est inhibée, (Breaux, 1987). Ces températures extrêmes affectent forcément la levée en serre. L'utilisation de la chambre climatique, permettrait donc d'optimiser et d'homogénéiser les conditions de germination tout au long de la campagne de semis.

Remerciements

Merci à Frédéric Chiroleu pour son aide lors du traitement statistique de ces données et à Jean-Michel Carmona pour le temps qu'il a consacré au réglage de la chambre de germination.

Références bibliographiques

- Anonymous, (1976-1977), Fertility Studies, Annual Report, West Indies Central Sugarcane Breeding Station, pp 17-23
- Brunkhorst, M.J., Coetzee N.A, Nuss K.J. (2000), Efficiency of the germination test for predicting sugarcane seedling numbers at Mount Edgecombe. Sasta Proceedings, pp 234-237
- Breaux, R.D & Miller, J.D (1987) Seed handling, germination and seed propagation. Sugarcane Improvement through breeding (ed D.J. Heinz), pp 385-407, Elsevier, Amsterdam
- Berding, N., Hogarth, M. and Cox, M. (2007) Plant Improvement of Sugarcane. Sugarcane, Second Edition (ed G. James), Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.
doi: 10.1002/9780470995358.ch2
- Caieiro J.T, Panobinaco M. et al. (2010), Physical purity and germination of sugarcane seeds (Caruopses) (*Saccharum* spp). Revista Brasileira de Smentes, vol 32, n°2, pp 140-145
- Julien J, (1955) Planting media for sugarcane fuzz and seedlings. (1955).Sasta Proceedings pp 115-117
- Sudama, S, (1988). Effect of temperature on germination of sugarcane seeds (fluff). Sugar cane n°1 pp 11-12
- Vandre, W (1991). Fluorescent Lights for Plant growth
- Fiche technique basamid
http://www.certiseurope.fr/fileadmin/downloads_fr/produits/desinfectants/FC_BASAMID_v6_nov_2011.pdf
- Fiche technique TKS1
http://www.hortalis.fr/fileadmin/mes_images/Documents_PDF/Fiches_Techniques_A-Z_/Tourbe_TKS1_web.pdf