



Also available in English

No 94, juillet 1979

CAHIERS DE BIOLOGIE. SERVICE
CANADIEN DE LA FAUNE

Essais préliminaires de marquage isotopique de graines d'épinette noire au manganèse 54 pour étudier le devenir des graines

par A.M. Martell¹ et W.F. Merritt²

Résumé

Nous avons effectué des essais sur le terrain pour déterminer le devenir de graines d'épinette noire (*Picea mariana*) semées dans des hautes terres du nord de l'Ontario libérées par la coupe à blanc de peuplements d'épinettes noires. Nous avons marqué les graines en fixant par adsorption cinq microcuries de manganèse 54 sur des perles de résine échangeuse d'ions et en collant ensuite ces perles aux graines au moyen de résine époxydique. Nous avons repéré les graines en utilisant un compteur Geiger-Müller, de 13 à 48 semaines après les avoir placées en terre. Seulement 5% des graines ont germé, environ 3 à 4% ont été détruites par des rongeurs durant l'été, et de 3 à 4% ont été détruites par des oiseaux surtout en automne.

Introduction

Ce sont Lawrence et Rediske (1959) qui, les premiers, ont préconisé le marquage radioactif (isotopique) pour connaître le devenir des graines de conifères sur le terrain. Le radio-isotope convenant pour de telles études doit être un fort émetteur gamma, afin de pénétrer le sol, et un faible émetteur alpha et bêta, pour ne pas nuire à l'organisme végétal. Il doit aussi avoir une période assez longue pour que les graines puissent être suivies pendant un an. Le scandium 46 a été souvent utilisé (Black 1969; Lawrence et Rediske 1959, 1962; Quink, Abbott et Mellen, 1970; Radvanyi 1966, 1970a, 1971) mais sa période n'est que de 84 jours. Radvanyi (1970a, 1971) a utilisé le zinc 65 à cause de sa période de 244 jours, et Mathies *et al* (1972) et Radvanyi (1968, 1970a, 1970b, 1971, 1972) ont utilisé le cobalt 60 à cause de sa période de 5,26 ans; cependant, ces deux derniers isotopes sont de forts émetteurs bêta et peuvent être dommageables pour les graines.

Nous avons choisi le manganèse 54 parce qu'il n'émet que des rayons gamma, ce qui ne le rend pas dommageable pour les végétaux, et parce qu'il a une période de 303 jours. Même si l'énergie produite par l'émission des rayons gamma du Mn 54 (0,83 MeV) est inférieure à celle des autres isotopes qui ont été utilisés dans les études sur le devenir des graines (1,12-1,17 MeV), nous avons estimé qu'elle serait suffisante pour la détection sur le terrain.

Méthodologie

D'autres chercheurs ont marqué par radio-isotope des graines de conifères en les plongeant dans des solutions contenant

l'isotope choisi. Cette autre technique présente deux problèmes. Même si les graines ont été recouvertes par la suite d'une couche de latex, l'isotope s'est fréquemment infiltré dans le sol (Lawrence et Rediske 1959; Quik *et al* 1970; Radvanyi 1971, 1972). De plus, on a constaté que les petits mammifères trouvaient les graines à leur odeur (Howard et Cole 1967). Il ne semble donc pas souhaitable de recouvrir les graines de latex. Nous avons choisi de fixer le Mn 54 par adsorption sur des perles de résine Dowex-50 échangeuse d'ions, et de coller ensuite les perles aux graines, ce qui résout le problème d'infiltration et affecte le moins possible l'enveloppe de la graine et, par conséquent, son odeur naturelle.

La résine échangeuse de cations (forme H⁺) Dowex 50W-X10 20-50 a été tamisée afin d'obtenir les plus grosses perles. Nous avons obtenu du fournisseur le manganèse 54 sans support dans une solution à 0,5 M de HCl. L'étape de l'adsorption a été effectuée sur des lots de 10 ou 20 perles auxquels nous ajoutons 3 ml de HCl à 1M dans une éprouvette en verre de 15 ml pour centrifugeur. Pour un lot de 10 perles, nous avons transféré, à l'aide d'une pipette, environ 60 µCi d'une solution de Mn 54 dans l'éprouvette que nous avons fait chauffer dans un bain d'eau bouillante pendant 20 minutes. Les perles ont été manipulées dans la solution au moyen d'une pipette de transfert dont le calibre était légèrement plus grand que le diamètre des perles. La manipulation des perles a été faite avec un masque grossissant quatre fois. Une fois la marque en place, nous avons transféré les perles dans une autre éprouvette de 15 ml pour centrifugeur au moyen de la pipette de transfert et nous les avons lavées deux fois avec de l'eau distillée. Nous les avons fait sécher à l'air et placées dans une fiole blindée. Le marquage des autres lots a été effectué dans la même solution avec addition en série de perles et de traceur. Les perles pouvaient garder une moyenne de 5 µCi de Mn 54 chacune.

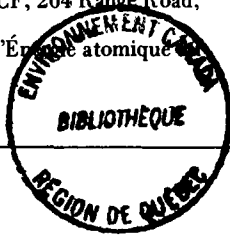
Les perles ont été collées à l'extrémité épointée de la graine avec de la résine époxydique 3 h. Nous avons aussi essayé comme adhésif le «Silicone Seal», le Dow Latex 512-R, la résine époxydique 5 minutes et la «Krazy Glue»; ce sont la résine époxydique 3 h et le «Silicone Seal» qui étaient les plus faciles à appliquer et qui ont formé les liens les plus satisfaisants. Étant donné que le «Silicone Seal» formait un lien rugueux et tendait à ramasser la saleté, nous avons utilisé la résine époxydique 3 h. Chaque graine a été prise avec des pinces, mise en contact avec de la résine époxydique fraîche et ensuite avec une perle. La graine et sa perle collée ont ensuite été mises à sécher sur une feuille de plexiglas.

Pour déterminer si la résine époxydique 3 h serait toxique pour les graines, nous avons collé des perles non radioactives à des graines et nous avons vérifié la germination un mois et 10 mois plus tard. Pour chaque test, quatre ensembles de 100 graines chacun ont été mis à germer en laboratoire, à 21°C pendant 14 jours (Fraser 1970).

Nous avons effectué les essais sur le terrain dans une coupe à blanc faite en 1975-1976 à 2 km au sud de Manitowadge (Ontario) (49°07'N, 85°50'O), et dans une autre coupe à blanc effectuée en 1972-1973 à 21 km au nord-est de

¹SCF, Centre de recherches forestières des Grands lacs, Sault-Sainte-Marie (Ontario) P6A 5M7. Adresse actuelle: SCF, 204 Range Road, Whitehorse (Yukon) Y1A 4Y4.

²Direction de la recherche environnementale, L'Énergie atomique Canada Ltée, Chalk River (Ontario) K0J 1J0.



SK
471
C3372
No: 94

Manitouwadge. Avant la coupe, il s'agissait de deux peuplements matures d'épinettes noires (*Picea mariana*) et d'hypne de Schreber (*Pleurozium schreberi*), en hautes terres. Nous avons délimité sur chaque site une série d'emplacements ayant chacun 100 points indiqués par un fanion et espacés de 2 m. Les emplacements adjacents étaient éloignés d'au moins 20 m. Une seule graine d'épinette noire porteuse de radio-isotope a été placée à moins de 25 cm de chaque fanion; de plus, un cure-dent en plastique de couleur a été piqué à côté de la graine pour indiquer sa situation approximative. Nous avons utilisé un semoir manuel pour placer 5 à 10 graines d'épinette noire non traitées au-dessus de chaque graine marquée, comme dans les opérations d'ensemencement. À cause du dommage causé au lien de résine époxydique durant la mise en terre, quelque lots ne contenaient que 96 ou 97 graines marquées. Les graines porteuses de radio-isotope semées dans la coupe à blanc de 1972–1973, en octobre 1976 (2 lots) et en mai 1977 (2 lots), ont été retrouvées en septembre 1977 après respectivement 48 et 15 semaines. Les graines marquées par radio-isotope semées dans la coupe à blanc de 1975–1976, en octobre 1976 (3 lots), ont été retrouvées en mai 1977 (1 lot) et en août 1977 (2 lots), soit respectivement 30 et 46 semaines plus tard; enfin, les graines semées dans la coupe à blanc de 1975–1976, en mai 1977 (3 lots), ont été retrouvées en août 1977 après 13 semaines.

Pour retrouver les graines marquées par radio-isotope, nous avons balayé les points indiqués avec un compteur Geiger-Müller (Texas Nuclear 2650 Series). Une sonde à fenêtre latérale a été utilisée pour faire une recherche générale dans un rayon d'un mètre du point marqué par un fanion, et une sonde à fenêtre terminale (3 cm de diamètre) a servi à localiser l'endroit exact de la graine. La graine porteuse de radio-isotope et la matière avoisinante ont été ramassées avec un transplantoir et placées dans un contenant en carton. Nous avons alors fait sécher le contenu du carton à l'air et nous l'avons examiné en laboratoire sous une lampe munie d'un verre grossissant 1,5 fois pour trouver la graine marquée par radio-isotope ou la perle.

Nous avons déterminé l'état des graines encore porteuses de la perle en les examinant sous un microscope à dissection. Les graines qui ne montraient aucun signe extérieur de changement ont été coupées. La graine était classée inchangée si l'endosperme était entier, desséchée si l'endosperme avait visiblement rétréci, et moisie en présence d'hyphe. Une graine était classée germée si son enveloppe était ouverte et entière. Les graines dont l'enveloppe était endommagée ont été classées comme détruites par des animaux. Le dommage était attribué aux rongeurs si l'enveloppe de la graine était coupée longitudinalement, aux oiseaux si elle était craquée horizontalement, et aux insectes si elle était perforée d'un trou net. Ces classes sont les mêmes que celles décrites par Lawrence et Rediske (1962) et par Radvanyi (1966, 1971).

Résultats et analyse

Lors des essais de germination, 395 des 400 graines jointes à une perle ont germé après un mois d'entreposage et 399 après 10 mois d'entreposage. Pour les deux essais, les 400 graines

témoins sans perle ont germé. La résine époxydique 3 h n'était donc pas toxique pour les graines.

Le taux de récupération a été de 67 à 82%, sauf pour l'essai fait en automne dans la coupe à blanc de 1972–1973, où seulement 36% des graines marquées par radio-isotope furent retrouvées (tableau 1). Trois facteurs ont influé sur le taux de récupération: les oiseaux, les tamias et la germination. Les oiseaux mangent souvent des graines entières d'épinette noire (observation personnelle) et peuvent ainsi enlever les graines marquées par radio-isotope du site étudié. Les tamias cachent les graines, quelquefois à une certaine distance de l'endroit où ils les ont ramassées; ils peuvent donc aussi retirer des graines marquées par radio-isotope du site étudié. Il y avait des tamias mineurs (*Eutamias minimus*) dans la coupe à blanc de 1972–1973 mais non dans celle de 1975–1976. Les bruants lapons (*Calcarius lapponicus*) et les alouettes cornues (*Eremophila alpestris*) en migration furent plus nombreux dans la coupe à blanc de 1972–1973 que dans celle de 1975–1976 à l'automne. Nous croyons que les activités des oiseaux et des tamias mineurs ont joué sur le taux de récupération lors de l'essai fait en automne dans la coupe à blanc de 1972–1973.

Lors de la récupération, en août et en septembre, tous les endroits où se trouvaient des graines ont été scrutés pour trouver des semis. Des graines marquées par radio-isotope ne furent retrouvées qu'en 19% des emplacements pourvus, ce qui est nettement moins élevé que pour les emplacements nus (72%) ($X^2=25,94$, $df=1$, $P<0,001$). Nous croyons que les enveloppes des graines ont été amenées au-dessus de la surface du sol sur les cotylédons des semis en pleine croissance et qu'elles ont ensuite été dispersées par le vent ou par l'eau. Cependant, cette hypothèse ne vaudrait que pour une faible proportion des perles manquantes.

Nous avons rencontré deux problèmes inattendus avec les marques isotopiques. Une grande proportion des perles se sont désintégrées et une grande proportion des perles qui ne se sont pas désintégrées se sont détachées des graines (tableau 1). Les données indiquent qu'un plus grand nombre de désintégrations et de détachements des perles se sont produits en été qu'en hiver et davantage dans la coupe à blanc de 1972–1973 que dans celle de 1975–1976. Nous tenons le gel répété pour cause probable du problème, étant donné que l'aire d'étude a connu quatre nuits de gel intense au début de juin 1977. Des tests de gel et de dégel répétés de graines sèches jointes à une perle, effectués en laboratoire avant les essais sur le terrain, n'ont démontré aucun effet ni sur la perle ni sur le lien. Cependant, lorsque nous avons plongé les perles dans l'eau et les avons ensuite soumises à des gels et à des dégels répétés, nous avons constaté qu'elles craquaient d'abord et qu'elles se désintégraient ensuite, tout comme il fut observé sur le terrain. La zone coupée à blanc en 1972–1973 présentait plus de végétation et de mousse que celle rasée en 1975–1976, parce qu'il s'était écoulé plus de temps depuis l'opération et elle avait donc un sol plus humide. Cela peut expliquer pourquoi le taux de désintégration et de détachement a été plus élevé dans la première zone que dans la seconde.

Relativement peu de perles sont restées intactes et bien en place, donc utiles pour l'évaluation du devenir des graines.

Or, à cause de la taille réduite de l'échantillon et parce qu'il n'y avait pas de différence marquée dans le devenir des graines dans les deux coupes à blanc, nous avons combiné les deux ensembles dans l'analyse (tableau 2). Ainsi, tandis que la plupart (80%) des graines marquées par radio-isotope étaient restées inchangées à la fin de l'hiver, environ la moitié (52 à 58%) se sont desséchées au cours de l'été. Les graines moisies n'étaient pas rares au printemps et beaucoup d'entre elles se sont peut-être desséchées au cours de l'été. Au printemps, 5% des graines marquées par radio-isotope et semées en automne avaient germé; à l'automne, environ 5% des graines marquées, semées en automne et au printemps, avaient germé. Lors de la récupération d'automne, 7,7% des emplacements d'étude étaient pourvus, ce qui indiquait un taux de germination peu différent de celui mesuré pour les graines marquées par radio-isotope ($X^2=1,53$, $df=1$, $0,5 > P > 0,1$).

Les rongeurs, principalement la souris sylvestre (*Peromyscus maniculatus*), ont détruit de 3 à 4% des graines marquées au cours de l'été et les oiseaux en ont détruit autant, surtout en automne. Une seule graine marquée par radio-isotope fut détruite par des insectes et retrouvée, et aucune des graines marquées par radio-isotope retrouvées n'avait été détruite par des musaraignes. Les pertes totales dues aux oiseaux et aux rongeurs ont peut-être été plus élevées si, comme nous l'avons mentionné précédemment, les tamias et les oiseaux migrateurs ont enlevé beaucoup de graines des emplacements.

Le nombre de graines détruites par les petits mammifères et par les oiseaux peut varier grandement d'une année à l'autre; on a relevé des différences variant du simple au double (Black 1959; Lawrence et Rediske, 1959, 1962) à près du simple au sextuple (Radvanyi 1970a, 1970b). Les chiffres de Radvanyi pour la destruction par les seules souris varient entre 6 et 36%. Si les taux de destruction que nous avons mesurés étaient minimaux, alors la destruction des graines par les rongeurs, les oiseaux et les insectes peut atteindre des proportions très grandes, du moins certaines années. Cependant, si les taux que nous produisons étaient au moins dans la «moyenne», la destruction des graines ne semble pas être un obstacle à la restauration des zones de hautes terres où des peuplements d'épinettes noires ont fait récemment l'objet d'une coupe à blanc.

Conclusions et recommandations

L'utilisation du manganèse 54, fixé par adsorption sur des perles de résine échangeuse d'ions qui ont ensuite été collées à des graines, nous a permis de suivre ces graines sur le terrain pendant une période allant jusqu'à 48 semaines. Il n'y a pas eu d'infiltration de l'isotope et les graines ont subi des changements minimes. Nous croyons que le problème de la désintégration et du détachement des perles peut être facilement éliminé en les recouvrant d'une couche de résine époxydique ou de plastique pour les rendre imperméables. Cette technique est relativement peu coûteuse et devrait s'avérer utile pour un éventail d'études sur le terrain.

Remerciements

Nous remercions l'Ontario Paper Company et le ministère des Richesses naturelles de l'Ontario pour leur collaboration, ainsi

que A. Macaulay, H. Pearce, D. Tracy et S. Wheeler pour l'aide qu'ils nous ont apportée. MM. J.E. Bryant, J.F. Carreiro et J.W. Fraser nous ont fourni des commentaires utiles sur le manuscrit.

Bibliographie

- Black, H.C., 1969. *Fate of sown or naturally seeded coniferous seeds*. Pages 42–51 dans H.C. Black, éd. *Wildlife and reforestation in the Pacific Northwest*. Sch. For., Ore. State Univ., Corvallis.
- Fraser, J.W., 1970. *Cardinal temperatures for germination of six provenances of black spruce seed*. Can. Dep. Fish. For., Can. For. Serv., Inf. Rep. PS-X-23. 11 pages.
- Howard, W.E. et R.E. Cole, 1967. *Olfaction in seed detection by deer mice*. J. Mammal. 48:147–150.
- Lawrence, W.H. et J.H. Rediske, 1959. *Radio-tracer technique for determining the fate of broadcast Douglas-fir seed*. Soc. Am. For. Proc. 1959:99–101.
- Lawrence, W.H. et J.H. Rediske, 1962. *Fate of sown Douglas-fir seed*. For. Sci. 8:210-218.
- Mathies, J.B., P.B. Dunaway, G. Schneider et S.I. Auerbach, 1972. *Annual consumption of cesium-137 and cobalt-60 labeled pine seeds by small mammals in an oak-hickory forest*. U.S. At. Energy Comm., Oak Ridge Natl. Lab., Environ. Sci. Div., Contract No. W-7405-eng-26. 232 pages.
- Quink, T.F., H.G. Abbott et W.J. Mellen, 1970. *Locating tree seed caches of small mammals with a radioisotope*. For. Sci. 16:147–148.
- Radvanyi, A., 1966. *Destruction of radio-tagged seeds of white spruce by small mammals during summer months*. For. Sci. 12:307–315.
- Radvanyi, A., 1968. *Influence of small mammals on spring and winter placement of radio-tagged white spruce seeds in western Alberta*. Rapport non publié, min. des Aff. ind. et du Nord can., Serv. can. de la faune, Edmonton (Alb.), 35 pages.
- Radvanyi, A., 1970a. *Small mammals and regeneration of white spruce forests in western Alberta*. Ecology 51:1102–1105.
- Radvanyi, A., 1970b. *Influence of small mammals on endrin and R-55 treated seeds of white spruce in western Alberta: preliminary field trials*. Rapport non publié, min. des Aff. ind. et du Nord can., Serv. can. de la faune, Edmonton (Alb.), 34 pages.
- Radvanyi, A., 1971. *Lodgepole pine seed depredation by small mammals in western Alberta*. For. Sci. 17:213–217.
- Radvanyi, A., 1972. *Further testing and application of the R-55/graphite coating treatment for seeds*. Rapport non publié, Environnement Can., Serv. can. de la faune, Edmonton (Alb.), 42 pages.

Tableau 1
 Résultats des études de marquage isotopique dans des coupes
 à blanc de peuplements d'épinettes noires situés sur des hautes
 terres près de Manitouwadge (Ontario)

	Zone coupée à blanc en 1975-1976			Zone coupée à blanc en 1972-1973	
	oct. 1976	oct. 1976	mai 1977	oct. 1976	mai 1977
Date de mise en terre					
Nbre de graines marquées mises en terre	97	196	300	194	196
Date de récupération	mai 1977	août 1977	août 1977	sept. 1977	sept. 1977
Nbre de graines marquées relocalisées	76	131	245	69	159
% des graines relocalisées	78.4	66.8	81.7	35.6	81.1
Comp. des graines marquées relocalisées					
% avec perle désintégrée	4.0	51.2	22.0	55.1	67.9
% avec perle entière					
- détachée de la graine	43.4	30.5	36.7	40.6	11.3
- attachée à la graine	52.6	18.3	41.2	4.4	20.8

Tableau 2
 Sort des graines marquées par radio-isotope dans des coupes
 à blanc de peuplements d'épinettes noires situés sur des hautes
 terres près de Manitouwadge (Ontario)

Date de mise en terre	oct. 1976	oct. 1976	mai 1977
Date de récupération	mai 1977	août-sept. 1977	août-sept. 1977
Nbre de graines marquées par radio-isotope retrouvées	40	27	134
% (et nbre) de graines marquées par radio-isotope retrouvées			
Inchangées	80.0 (32)	33.3 (9)	32.1 (43)
Germées	5.0 (2)	3.7 (1)	5.2 (7)
Desséchées	10.0 (4)	51.8 (14)	58.2 (78)
Moisies	2.5 (1)	0.0	0.8 (1)
Détruites par des	2.5 (1)	11.1 (3)	3.7 (5)
- rongeurs	0.0	3.7 (1)	3.0 (4)
- oiseaux	2.5 (1)	3.7 (1)	0.8 (1)
- insectes	0.0	3.7 (1)	0.0

