

ANALYSE DE RISQUES DES PEUPLIERS HYBRIDES  
À L'ATTAQUE DES CAMPAGNOLS DES CHAMPS  
(*Microtus pennsylvanicus*) PAR L'ÉTUDE  
QUANTITATIVE DES COMPOSÉS SECONDAIRES DE  
DÉFENSE

par

Scarlett van Blaeren

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maître  
en environnement (M.Env.)

MAÎTRISE EN ENVIRONNEMENT  
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, mai 2002



National Library  
of Canada

Acquisitions and  
Bibliographic Services

395 Wellington Street  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

Bibliothèque nationale  
du Canada

Acquisitions et  
services bibliographiques

395, rue Wellington  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

*Your file Votre référence*

*Our file Notre référence*

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

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

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-80650-2

## SOMMAIRE

Au Québec, les usines de transformation du bois utilisent présentement presque toute la possibilité de récolte des forêts accessibles et commerciales. Des industries se tournent donc vers la culture intensive des arbres à croissance rapide pour répondre à leurs besoins grandissants en matière ligneuse. Ainsi, le peuplier et le mélèze peuvent contribuer à l'augmentation de la productivité forestière sur des superficies restreintes, mais cultivées de façon intensive. Cependant, des attaques répétées de rongeurs peuvent compromettre le succès de certaines plantations de peupliers. On observe des dommages causés aux plantations de la région de l'Estrie par le campagnol des champs (*Microtus pennsylvanicus*). En effet, ce petit rongeur, actif tout au long de l'année, se nourrit principalement au cours de la saison hivernale d'écorce d'arbres créant ainsi des dommages souvent irréparables. Le but de ce projet est de déterminer, par l'étude quantitative des principaux composés secondaires de défense du peuplier, lesquels parmi les 22 clones de peuplier hybride recommandés en 2000 pour la région de l'Estrie se défendent le mieux naturellement contre l'attaque du campagnol des champs. De plus, évaluer le comportement général des composés chimiques dans l'écorce au cours de l'hiver, confirmer que les phénols glycosides totaux et les tannins condensés sont bien les défenses majeures de la famille des *Salicaceae* ainsi que vérifier si ces composés de défense suivent la théorie de la balance carbone/nutriments constituent les objectifs secondaires de l'étude. Il est attendu que les clones ayant une concentration forte en composés secondaires de défense ainsi qu'une faible teneur en protéines repoussent davantage les campagnols que les clones présentant les caractéristiques inverses. Également, nous supposons que les composés secondaires de défense considérés suivent la théorie de la balance carbone/nutriment comme nous le suggère abondamment la littérature. Finalement, il est généralement reconnu que les défenses augmentent en concentration avant la période de dormance de l'arbre, il est donc attendu d'observer une augmentation des teneurs en composés secondaires au cours de l'automne. Durant l'hiver 2000-2001 l'écorce d'environ 550 arbres a été récoltée dans sept plantations de Domtar. Pour chaque clone étudié (19 au

total), cinq arbres de deux plantations différentes ainsi que de la pépinière forestière de Berthier ont été dépouillés de leur écorce. Un premier échantillonnage a été effectué entre les mois de novembre et décembre 2000, puis un second entre février et mars 2001. Des analyses chimiques subséquentes ont permis de quantifier les tannins condensés et les phénols glycosides, principales défenses des peupliers contre les herbivores, ainsi que les protéines présentes chez chacun des clones. Les tannins condensés sont des polyphénols agissant principalement comme inhibiteurs de digestion tandis que les phénols glycosides totaux, qui sont des phénols simples, sont reconnus pour avoir un goût désagréable pour les herbivores ou pour avoir des conséquences négatives de post ingestion. Le choix du campagnol se fait principalement à partir le rapport entre ses teneurs en protéines et en composés secondaires de défense. Ainsi, en connaissant les teneurs en ces composés chimiques pour les différents clones plantés en Estrie, il est possible de déterminer leur degré de susceptibilité à l'attaque du campagnol. À partir de ces résultats, un axe d'analyse de risques des peupliers hybrides à l'attaque des campagnols des champs a pu être établie. En bref, les clones sont regroupés sur un axe allant des groupes de clones potentiellement plus endommagés vers ceux ayant moins d'attrait pour le rongeur en fonction de leur rapport respectif en protéines/composés secondaires de défense. À l'aide de cet outil de prédiction, cette étude montre que plus de la moitié des clones recommandés de la région sont plus à risque que les autres de se faire attaquer par le campagnol des champs. Ceci se traduit par des dommages importants aux plantations, comme nous l'avons constaté sur le terrain. Plus spécifiquement, selon l'axe d'analyse de risques, les clones DN 3565, DN 3308, DN 3567 et NM 3729 seraient les clones les plus intéressants, pour l'industrie puisqu'ils ne présentent que très peu de protéines ainsi que des teneurs élevées en composés secondaires de défense. À l'inverse, le clone DN 4723 est le plus susceptible à être endommagé par les rongeurs puisqu'il contient beaucoup de protéines et très peu de défenses. Toujours selon nos résultats, les tannins condensés semblent suivre la théorie de la balance carbone/nutriment en plus d'augmenter en concentration au cours de l'hiver, contrairement aux phénols glycosides totaux. Finalement, l'axe d'analyse de risques réalisée au cours de ce projet pourrait être un outil important pour l'industrie forestière ainsi que pour les producteurs forestiers puisqu'elle permettra de faire

un choix plus judicieux de clones pour minimiser les dommages causés aux plantations par le campganol.

Le 8 juillet 2002,  
date

*le jury a accepté le mémoire de Scarlett Van Blaeren dans sa version finale.*

### **Composition du jury**

- Membre : M. Jean-Marie Bergeron  
Département de biologie
- Membre : Mme Colette Anseau  
Département de biologie
- Membre : M. Pierre Périnet  
Direction de la recherche forestière
- Membre et  
président-rapporteur : M. Robert Bradley  
Département de biologie

## REMERCIEMENTS

Je voudrais adresser mes remerciements les plus sincères au Dr. Jean-Marie Bergeron, directeur de mon projet de maîtrise, pour sa grande patience et son soutien constant tout au long de mon étude. Vos encouragements et votre compréhension m'ont touchée de nombreuses fois et je tiens à vous remercier pour votre support moral inconditionnel. Un merci tout spécial pour votre grand calme lorsque je débarquais catastrophée dans votre bureau le vendredi à 16h30 avec un « ça ne marchera jamais!!! » au bord des lèvres. Un merci sincère également à M. Pierre Périnet, chargé de projet au Ministère des Ressources naturelles et co-directeur de mon projet, qui a été une source inépuisable de connaissances et de conseils. Votre intérêt a très souvent engendré ma motivation et mon enthousiasme. Sans vous, mon projet n'aurait pas pu voir le jour. Un merci tout spécial à M. Adrien Beaudoin, biochimiste de l'Université de Sherbrooke, ainsi qu'à toute son équipe pour leur aide inestimable lors de l'élaboration de ma méthode pour les phénols glycosides totaux. Un merci sincère au Fonds d'Action Québécois pour le Développement Durable pour son soutien financier. Merci pour avoir cru à mon projet en m'offrant une bourse du volet entreprise. Ce projet n'aurait pas vu le jour sans la collaboration précieuse de la compagnie Domtar Papiers de communication de Windsor ainsi que celle de la Pépinière de Berthier. Un grand merci aux techniciens, Mme Anne Déziel (Berthier) et M. Pierre Shink (Domtar) qui ont rendu ma tâche plus facile et qui m'ont grandement aidé de par leurs judicieux conseils. Un grand merci à également à M. Denis Gingras chef-gestion territoriale et ligniculture du secteur forestier de Domtar qui grâce à son intérêt pour mon projet, m'a encouragée à poursuivre. Pour vous, Bertrand Mercier et Louis-Marie Thériault, techniciens au laboratoire d'écologie, des remerciements aussi grands que votre générosité. Il me serait impossible d'oublier tous les gens qui ont eu la gentillesse d'offrir leur aide pour venir avec moi sur le terrain : Geneviève Labrie, Melody Van Blaeren, Simone Malaise, Yannick Marsolais et surtout Benoit Lafleur. Une part importante de ma reconnaissance va également aux amis du laboratoire d'écologie de l'Université de Sherbrooke qui m'ont soutenue tout au long de mon

projet. Finalement, un merci avec mention à toute ma famille proche : maman, papa, Melody, Laetitia et belle-maman pour vos encouragements continuels. Un merci exceptionnel à mon conjoint, Yannick Marsolais, pour son amour et son soutien continu. Tu as cru en moi et ta fierté se lisait dans tes yeux jour après jour, tu m'as donné envie de me surpasser pour arriver jusqu'au succès. Un merci tout simplement pour être toi et être là.

## TABLE DES MATIÈRES

	SOMMAIRE.....	i
	REMERCIEMENTS.....	iv
	TABLE DES MATIÈRES.....	vi
	Liste des tableaux.....	viii
	Liste des figures.....	ix
	Liste des annexes.....	xi
1	INTRODUCTION.....	1
1.1	Peupliers hybrides.....	4
1.2	Composés de défense.....	6
1.3	Le campagnol des champs ( <i>Microtus pennsylvanicus</i> ).....	11
1.4	Objectifs et hypothèses du projet.....	17
2	CHAPITRE 1 : MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	20
2.1	Échantillonnage de terrain.....	20
2.1.1	Hiver 2000-2001.....	22
2.1.2	Été 2001.....	23
2.2	Analyses en laboratoire.....	25
2.2.1	Quantification des tannins condensés.....	25
2.2.2	Quantification des protéines.....	26
2.2.3	Quantification des phénols glycosides totaux.....	28
2.3	Analyses statistiques.....	31
2.3.1	Comportement général des composés chimiques au cours de l'hiver.....	31
2.3.2	Analyse de risques.....	32
2.3.3	Évaluation du taux de grugeage.....	33
2.3.4	Corrélations.....	34
3	CHAPITRE 2 : RÉSULTATS.....	35
3.1	Comportement général des composés chimiques au cours de l'hiver.....	35

3.1.1	Normalité et homogénéité des variances.....	35
3.1.2	Différences dans les propriétés de l'écorce au cours de l'hiver.....	37
3.1.3	Différences entre les plantations pour chaque composé chimique.....	39
	Azote total.....	39
	Tannins condensés.....	42
	Phénols glycosides totaux.....	44
3.1.4	Différences entre les hybrides utilisés.....	46
3.2	Classification des clones.....	48
3.3	Évaluation du taux de dommages aux jeunes arbres.....	51
3.4	Corrélations entre la hauteur totale et le diamètre des clones; et leurs concentrations en composés secondaires de défense.....	56
4	CHAPITRE 3 : DISCUSSION.....	59
4.1	Comportement général des composés chimiques au cours de l'hiver.....	59
4.1.1	Différences dans les propriétés de l'écorce au cours de l'hiver.....	59
4.1.2	Différences entre les plantations pour chaque composé chimique.....	61
4.1.3	Différences entre les hybrides utilisés.....	64
4.2	Axe d'analyse de risques.....	70
4.2.1	Vérification de l'axe d'analyse de risques sur le terrain.....	74
	Plantation de Valcourt.....	75
	Plantation de Saint-Camille.....	77
	Plantation de L'Avenir.....	79
	Plantation de Saint-Claude.....	80
	Plantation d'Aston-Jonction.....	82
4.3	Corrélations entre la hauteur totale et le diamètre des clones; et leurs concentration en composés secondaires de défense.....	87
5	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS.....	90
	ANNEXES.....	96
	BIBLIOGRAPHIE.....	104

## LISTE DES TABLEAUX

1. Liste des clones recommandés par le ministère des Ressources naturelles pour la région de l'Estrie.....	5
2. Liste des clones récoltés dans chacune des plantations sélectionnées.....	21
3. Méthode d'attribution des pourcentages de dommages selon les critères utilisés par Hansson en 1985.....	24
4. Test d'homogénéité des variances pour différentes variables.....	37
5. Les six groupes de clones séparés en fonction des préférences alimentaires supposées du campagnol des champs ( <i>Microtus pennsylvanicus</i> ).....	50
6. Distribution de fréquences des dommages subis par les clones de chacune des plantations.....	52
7. Résultats des tests de khi-carré entre les distributions de fréquence des dommages subis par les clones pour chacune des plantations à l'étude.....	53

## LISTE DES FIGURES

1.	Graphique des données normales attendues en fonction des données obtenues du diamètre (a), de la concentration en azote (b) et en tannins condensés (c).....	36
2.	Concentration des différents composés chimiques pour les mois de novembre-décembre 2000 et février-mars 2001.....	38
3.	Concentration moyenne en azote total de l'écorce des clones échantillonnés pour chacune de leurs plantations respectives.....	41
4.	Concentration moyenne en tannins condensés de l'écorce des clones échantillonnés pour chacune de leurs plantations respectives.....	45
5.	Concentration moyenne en phénols glycosides totaux de l'écorce des clones échantillonnés pour chacune de leurs plantations respectives.....	45
6.	Histogramme de la concentration moyenne de tannins condensés selon les Différents hybrides retrouvés sur les plantations de Domtar.....	47
7.	Relation entre le pourcentage moyen (de poids sec) de protéines en fonction du pourcentage moyen de tannins condensés (a), ou du pourcentage moyen de phénols glycosides totaux (b) pour les 19 clones échantillonnés incluant les limites supposées guidant le choix alimentaire du campagnol.....	49
8.	Concentration de défenses (tannins condensés + phénols glycosides totaux) en fonction de la hauteur totale (a) et du diamètre (b) des arbres.....	57
9.	Axe d'analyse de risque des clones recommandés pour la région de l'Estrie par le ministère des Ressources naturelles à l'attaque du campagnol des champs ( <i>Microtus pennsylvanicus</i> ).....	74
10.	Position des trois clones du secteur Valcourt sur l'axe d'analyse de risques.....	77
11.	Position des trois clones du secteur de Saint-Camille sur l'axe d'analyse de risques.....	78
12.	Position des trois clones du secteur de L'Avenir sur l'axe d'analyse de risques.....	80

13. Position des quatre clones du secteur de Saint-Claude sur l'axe d'analyse de risques.....	82
14. Position de quatre clones à proximité les uns des autres dans le secteur d'Aston-Jonction sur l'axe d'analyse de risques.....	83

## LISTE DES ANNEXES

1a.	Situation géographique des différents clones du Secteur de Aston-Jonction.....	96
1b.	Situation géographique des différents clones du Secteur de L’Avenir.....	97
1c.	Situation géographique des différents clones du Secteur de Saint-Camille.....	98
1d.	Situation géographique des différents clones du Secteur de Sainte-Catherine de Hatley.....	99
1e.	Situation géographique des différents clones du Secteur de Saint-Claude.....	100
1f.	Situation géographique des différents clones du Secteur de Valcourt.....	101
1g.	Situation géographique des différents clones du Secteur de Windsor.....	102
2.	Image ordinateur d’une plaque de chromatographie et du traçage des taches.....	103

## INTRODUCTION

L'industrie du bois représente un marché importante en Amérique du Nord. Effectivement, nos vastes forêts sont des sources énormes de matière première. Que ce soit pour du bois d'oeuvre ou pour la fabrication de pâtes et papiers, la demande pour cette matière première naturelle ne cesse de croître avec les années. Nos forêts ne sont pas des ressources naturelles renouvelables à court terme. Dans certaines régions du Québec, la faible productivité des forêts naturelles empêche l'expansion des industries. En 1998 et 1999, la production de bois au Québec provenant des forêts publiques, privées et de l'extérieur de la province était de 46,5 Mm<sup>3</sup> et de 48,5 Mm<sup>3</sup>. Les usines de transformation du bois utilisent présentement toute la possibilité de récolte des forêts accessibles et commerciales. Effectivement pour les mêmes années, la consommation de bois des industries québécoises, regroupant les usines de panneaux, scieries, pâtes et papiers et autres, totalisait respectivement 69,1 Mm<sup>3</sup> et 72,9 Mm<sup>3</sup> (<http://www.mrn.gouv.qc.ca>). C'est donc afin de combler cet écart entre l'offre et la demande ainsi que pour répondre à ce besoin grandissant en matière première que les industries se tournent vers la ligniculture. Les essences à croissance rapide comme le peuplier et le mélèze peuvent contribuer à l'augmentation de la productivité forestière sur des superficies restreintes, mais cultivées de façon intensive (Périnet 1999).

Ces essences, tels que plusieurs espèces de bouleaux, de sapins ou de peupliers, sont réputées pour avoir un taux de croissance important sur de courtes rotations, ce qui permet aux industries d'obtenir de fortes biomasses ligneuses en peu de temps. De plus, plusieurs croisements génétiques entre espèces sont possibles afin de produire des hybrides ayant les qualités recherchées par les industries (Johnsson 1956; Muhle Larsen, 1970; Willing et Pryor 1976; Stettler *et al.* 1996; Jia *et al.* 1997; Rimenschneider *et al.* 2001). Par exemple, une usine de bois de déroulage ou de fabrication de bois d'oeuvre sera désireuse de produire un arbre ayant une croissance importante, mais qui aura également un port rectiligne. De plus,

la quantité de matière ligneuse peut être d'une grande importance pour certains domaines de l'industrie du bois, tout comme la réduction de nœuds peut être le critère de sélection pour d'autres.

De plus, chaque espèce d'arbre a ses faiblesses particulières : infections par des champignons (Mottet et Lamontagne. 1999), faible résistance à l'infestation par des insectes (Soetens *et al.* 1991), attaques fréquentes par des petits rongeurs (Edwards 1978; Basey *et al.* 1988; Iason et Palo 1991) ou par de grands mammifères au cours de la saison hivernale (Mubanga *et al.* 1985; Jia *et al.* 1997), etc. Encore une fois, l'amélioration génétique peut contribuer à augmenter la résistance de ces super-arbres aux ravageurs les plus importants.

Prenons l'exemple du chancre septorien, causé par le *Septoria musiva*, un champignon s'attaquant principalement aux tiges des arbres et causant des lésions importantes pouvant aller jusqu'à la mort. Cette infection est particulièrement importante dans nos latitudes, surtout au Québec. Le chancre septorien est causé par un champignon indigène en Amérique du Nord (Steenackers 1972; Shipper 1976; Ostry et McNabb 1985; Mottet et Périnet 1999; Mottet et Lamontagne 1999; Périnet 1999). *Populus maximowiczii* Henry et *P. trichocarpa* Torr. & Gray sont les espèces les plus sensibles tandis que *P. deltoides* Bartram, *P. nigra* L. et *P. balsamifera* L. sont les plus résistantes. Les clones issus de ces derniers présentent une résistance variable (Mottet et Périnet. 1999).

Les hybrides sont donc issus de croisements entre espèces de peupliers provenant ou non des différentes sections botaniques du genre *Populus*. Il existe trois sections botaniques importantes chez le peuplier. La section *Aigeiros* regroupant *P. deltoides* et *P. nigra*. Puis, la section *Tacamahaca* que représentent *P. balsamifera*, *P. maximowiczii* et *P. trichocarpa*. Finalement, il y a la section *Leuce* incluant *P. tremuloides*, *P. tremula* L., *P. grandidentata* Michx et *P. alba* L.. Géographiquement parlant, la section *Leuce* regroupant les deux espèces de trembles, *P. tremuloides* en Amérique du Nord et *P. tremula* en Eurasie, se

retrouve dans une région homogène circumpolaire avec pour limite nord la toundra arctique. La section *Aigeiros* se concentre dans une aire de distribution plus méridionale, environ de 30° de latitude nord et septentrionale à 55° de latitude nord. Finalement, la section *Tacamahaca* est limitée à l'Amérique du Nord et à l'est de l'Asie, avec des espèces assez bien réparties du sud au nord, certaines d'entre elles allant même jusqu'au 70° parallèle (Johnsson 1956). Le ministère des Ressources naturelles a réalisé ainsi depuis plus de 30 ans un grand nombre de croisements afin d'obtenir des clones performants pour chacune des régions du Québec. De cette façon, chacune d'entre elles, en fonction de ses conditions environnementales propres, se voit recommander une liste de clones sélectionnés selon leurs qualités bien précises.

## 1.1 Peupliers hybrides

Dans la région de l'Estrie, le peuplier hybride s'avère être un arbre à croissance rapide très prometteur. Effectivement, le ministère des Ressources naturelles du Québec a recommandé en 2000 une série de 22 clones pour la région qui pourraient posséder une grande partie des avantages recherchés par les industries. La Direction de la recherche forestière révisé périodiquement la listes des clones recommandés à la lumière des tests établis en région. L'évaluation des clones sélectionnés est un processus qui peut prendre jusqu'à 20 ans. L'amélioration génétique permet de produire des arbres ayant les caractéristiques désirées au fil des générations. Dans le cas du peuplier, la possibilité d'hybridation et de multiplication facile par bouturage des arbres sélectionnés permet d'en tirer plus rapidement les bénéfices comparativement aux autres espèces d'arbre comme par exemple les résineux. Donc, grâce aux travaux d'amélioration des vingt dernières années, plus de matériels sélectionnés est à disposition et peut être testé. Les tests clonaux visent surtout les caractères suivants des hybrides : la vigueur, la rusticité, la résistance au Septoria et la rectitude, la branchaison, la forme etc. Tous ces critères permettent de sélectionner les meilleurs clones. Le taux de rotation d'une plantation de peuplier hybride est d'environ 15 à 25 ans. La productivité, la vigueur des clones, les conditions de culture, les facteurs bioclimatiques (sols et température) ainsi que le produit visé (papiers ou déroulage) influenceront la période de rotation des cultures de peupliers hybrides. Cependant, cette dernière sera toujours plus courte que celles des peuplements naturels de tremble dont les périodes de rotation peuvent aller jusqu'à 60 ans et plus.

En 1999, comme mentionné précédemment, 22 clones ont été recommandés pour la région de l'Estrie par le ministère des Ressources naturelles. Les différents hybrides retrouvés ainsi que le numéro de chacun des clones sont présentés dans le tableau 1. Les hybrides sont toujours présentés avec deux lettres, chacune représentant une espèce parentale, le parent

femelle étant toujours cité en premier. Les espèces représentées sont : *P. deltoides* (D), *P. nigra* (N), *P. trichocarpa* (T), *P. maximowiczii* (M) et *P. balsamifera* (B). ). L'hybride D par N est aussi représenté par la lettre E qui provient de son appellation : *Euramericana*

Tableau 1 : Liste des clones recommandés par le ministère des Ressources naturelles pour la région de l'Estrie (Périnet 1999).

Hybrides	Clones	Hybrides	Clones
D x N	131	D x (D x N)	4679
D x N	3308	T x D	3225
D x N	3333	T x D	3230
D x N	3565	D x M	3531
D x N	3567	B x N	4909
D x N	3570	M x B	915302
D x N	3585	M x B	915303
D x N	3586	M x B	915311
D x N	4397	M x B	915313
D x N	4723	(Dx N) x M	915508
D x N	4813	N x M	3729

À première vue, la plantation d'hybrides de peupliers semble être la solution idéale pour ce qui est de la rentabilité des industries ou pour tout projet nécessitant une croissance rapide des arbres. Cependant, cette qualité pourrait être accompagnée de risques non-négligeables. Effectivement, à cause d'un investissement important dans un taux de croissance élevé, il est possible que d'autres routes métaboliques de la plante soient négligées comme par exemple la production de composés secondaires de défense. Une réduction de cette production exposerait invariablement la plante à un broutage intensif par un grand nombre d'herbivores et à d'autres facteurs de mortalité résultant d'une capacité moindre à se défendre.

## 1.2 Composés de défense

Une plante ne peut produire qu'une quantité limitée de composés carbonés nécessaires à sa survie. Ces composés carbonés produits représentent la source ainsi que le point de départ de plusieurs processus métaboliques chez la plante tel que la respiration cellulaire, le renouvellement des racines fines ou la biomasse micorhizienne (Norton *et al.* 1990; Jakobsen et Rosendahl 1990; Cheng *et al.* 1993; Staddon 1998) . La croissance de la plante suscite également une consommation importante de carbone. Une jeune plante investira donc beaucoup des composés carbonés qu'elle fabrique dans une croissance rapide et ce, jusqu'à sa maturité. Une fois ce processus engendré, il ne reste moins de carbone pour les autres systèmes de la plante qui seront alors inévitablement négligés, comme le prétend la théorie de la balance carbone/nutriment (Fox 1981; Bryant *et al.* 1983; Prudhomme 1983; Bazzaz *et al.* 1987; Bryant et Julkuentiitto 1995).

L'un de ceux là est le système de défense de la plante. Un arbre se doit pour sa survie d'avoir une défense minimale contre l'infestation par des micro-organismes ou des insectes, l'attaque de petits rongeurs et le broutage par de grands mammifères (Hansson 1975; Buchsbaum *et al.* 1984; Lindroth 1991; Dawson *et al.* 1999). Pour ce faire, il produit des composés secondaires de défense qui nécessitent également du carbone. On a longtemps cru que ces composés secondaires n'avaient aucune fonction prédéterminée chez la plante. Cependant, plusieurs recherches démontrèrent qu'au contraire, ces derniers étaient d'une importance vitale pour les végétaux et leur survie (Fox 1981; Prudhomme 1983; Bryant et Julkuentiitto 1995).

Puisque plusieurs plantations de peupliers hybrides de l'Estrie ont déjà été perdues par l'action de l'herbivore *Microtus*, mon projet de maîtrise a ciblé l'analyse des composés de

défense dans les différents clones de peupliers hybrides ainsi que leurs taux respectifs de grugeage provenant des rongeurs *Microtus*. Le mode d'action des composés secondaires sur les herbivores peut être de deux types. Premièrement, ils peuvent être absorbés par le tractus gastro-intestinal et interférer avec des processus physiologiques de l'animal, on parle alors de défenses qualitatives (Palo 1985a). La défense qualitative, présente en petite quantité dans la plante (< 2 % du poids sec), interfère donc avec le métabolisme interne des herbivores. On retrouve dans ce type de défenses les cardénolides, les composés cyanogéniques ainsi que les alcaloïdes. On les nomme qualitatives parce que ces défenses sont très efficaces à de petites concentrations. Le deuxième mode de défenses par les composés secondaires a des effets sur le tractus digestif en réduisant la digestion ou l'absorption des nutriments, ce sont les défenses quantitatives de la plante. Ces défenses retrouvées en plus grandes concentrations (5-20 % du poids sec) sont représentées par les tannins, les phénols ainsi que les saponines. On dit de ces défenses qu'elles sont quantitatives parce que leurs effets sont proportionnels à leur quantité (Fox 1981). Ces groupes de composés secondaires ont pour base le carbone, ce qui implique que tout autre métabolisme des plantes utilisant également le carbone entrera en compétition avec la production de ces composés. Au cours de cette étude, uniquement les concentrations en défenses quantitatives seront considérées parce que les défenses majeurs de la famille des *Salicaceae* contre les herbivores font parti de ce groupe de défense.

Ainsi, si une plante investit une portion importante du carbone disponible dans sa croissance, ses défenses quantitatives en seront affaiblies, exposant alors la plante à la prédation. Ceci représente donc un problème évident pour ce qui est des arbres à croissance rapide. Effectivement, à la lueur de plusieurs études, on peut se douter qu'un arbre ayant une forte croissance ne pourra pas investir énormément dans ses défenses (Fox 1981; Bryant *et al.* 1983; Prudhomme 1983; Bazzaz *et al.* 1987; Bryant et Julkuentiitto 1995). Ce type d'arbres serait donc plus vulnérable que les autres à la prédation. Les effets des composés de défense dépendront de leurs propriétés chimiques. Le peuplier, tout comme les espèces de la famille

des *Salicaceae*, a pour composés secondaires importants les tannins condensés ainsi que les phénols glycosides pour se défendre contre les attaques des petits rongeurs (Lindroth 1991; Kolehmainen *et al.* 1994; Orians 1995; Orians et Fritz 1995).

Les tannins condensés sont depuis longtemps reconnus pour leur rôle de répulsif naturel contre les petits mammifères. Les tannins condensés sont des polyphénols issus de la polymérisation des hydroxy-flavones qui produit alors des dimères, trimères ou des plus gros oligomères. Trois caractéristiques nous permettent de distinguer les tannins des autres phénols. Tout d'abord, ils ont un poids moléculaire relativement élevé (500 à 3000 Kb). Puis, ils doivent avoir des groupes hydroxy-phénoliques en quantité suffisante pour favoriser la formation de liens hydrogène avec les NH-, NH<sub>2</sub> ou OH- des protéines. Finalement, ils peuvent convertir certains de leurs liens en liens covalents en conditions propices, ce qui les rend susceptibles à l'auto-oxydation. Leurs actions défensives peuvent se manifester de deux façons différentes. Premièrement, la molécule de tannin présente dans l'écorce de l'arbre a la possibilité de s'associer aux protéines également contenues dans l'écorce, les rendant ainsi inaccessibles aux enzymes de l'animal responsables de la dégradation et de l'assimilation des protéines alimentaires. Deuxièmement, les groupes de tannins condensés peuvent se lier à ces mêmes enzymes les rendant donc inactives en présence de protéines. Dans les deux cas, l'animal ne peut assimiler les protéines si importantes à sa survie, rendant ainsi ces arbres impropres et inutiles à la consommation (Bernays *et al.* 1981; Rowell-Rahier 1984; Asquith et Butler 1985; Blytt *et al.* 1988; Fleck et Layne 1990; Becker et Makkar 1999; Dawson *et al.* 1999). Les liaisons entre les proanthocyanidines des tannins et les protéines ressemblent beaucoup aux liaisons antigène-anticorps. La conformation des protéines aussi bien que celle des tannins peut changer une fois liée, ce qui peut réduire la solubilité des tannins (Asquith et Butler 1985). La grande majorité de ces liens forment des complexes insolubles, réduisant ainsi la disponibilité de la protéine nécessaire à la survie du rongeur (McManus *et al.* 1981). Ces liens formés dépendent également en grande partie du pH environnant, les complexes sont stables à des pH entre 3,5 et 7,0. Par contre, à des pH plus bas (entre 1 et 3), les tannins

sont relâchés et, à l'inverse, lorsque le pH est plus élevé, à environ 9,0, les complexes tannins-protéines ne peuvent se former.

Le phénol glycoside est un phénol simple sur lequel est liée une molécule de sucre, habituellement *B-glycosides* de *D-glucose* (Lindroth *et al.* 1987). Il en existe plusieurs dizaines de variétés. Peu d'études ont été réalisées sur le mode d'action de ces composés, on sait par contre que leur forte odeur pourrait jouer un rôle essentiel dans leur caractère répulsif (Tahvanainen *et al.* 1985). Traditionnellement, on assume que les phénols monomériques présents autant en solution que liés à des cellules ont un effet significatif sur la digestion des herbivores (Palo 1985a). En effet, les petits métabolites de phénols sont reconnus pour avoir un goût désagréable pour les herbivores ou pour avoir des conséquences négatives de post ingestion. Ces conséquences après l'absorption des phénols glycosides impliqueraient soit un effet toxique au niveau des tissus, soit un effet sur la biotransformation et l'excrétion ou encore, un effet sur l'équilibre acide-base du corps de l'animal (Pass et Foley 2000). Finalement, le phénol glycoside une fois absorbé pourrait également découpler, lorsqu'hydrolysé ou oxydé, la phosphorylation oxydative dans la préparation mitochondriale (Rowell-Rahier 1984). Ainsi, peu importe le mode d'action, la sélection des plantes par les herbivores est très souvent associé à leur teneur en phénols glycosides (Palo 1983; Rowell-Rahier 1984; Palo 1985a; Tahvanainen *et al.* 1985; Lindroth *et al.* 1987; Lindroth 1991; Soetens *et al.* 1991; Nichols-Orians *et al.* 1993; Kolehmainen *et al.* 1994; Rank 1994; Orians 1995; Orians et Fritz 1995; Pass et Foley 2000). À l'intérieur de la famille des *Salicaceae*, les phénols glycosides les plus importants sont la tremulacine, la tremuloïdine, la salicortine et la salicine (Pearl et Darling 1967; Pearl 1968; Markham 1971; Lindroth et Pajutee. 1987; Lindroth *et al.* 1987; Lindroth 1991 Soetens *et al.* 1991; Nichols-Orians *et al.* 1993; Kolehmainen *et al.* 1994; Orians et Fritz 1995). En 1987, Lindroth et Pajutee comparèrent des méthodes d'extraction d'échantillons afin de déterminer si ces dernières avaient une influence quelconque sur la quantification finale des phénols glycosides. Les techniques d'extraction en milieu aqueux et celle utilisant de l'alcool ont été comparées. Il en résulte

que l'extraction en milieu aqueux favorise probablement la dégradation hydrolytique des phénols glycosides. Cette dernière occasionne une augmentation de salicine dans les tissus par la dégradation de la tremulacine en salicortine et en tremuloïdine puis par une seconde dégradation de celles-ci en salicine. Ainsi, les auteurs concluent qu'une méthode inappropriée de traitement des échantillons peut causer des changements substantiels dans les concentrations de ces phénols glycosides et créer des artéfacts dans les données (Lindroth et Pajutez 1987). Pour cette raison, il a été décidé que le projet en cours étudierait les phénols glycosides de façon globale, c'est-à-dire les phénols glycosides totaux, comme cela a déjà été réalisé par d'autres chercheurs (Palo 1983; Rowell-Rahier 1984; Tahvanainen *et al.* 1985).

Ces deux types de composés secondaires de défense sont à base de carbone. Il est donc attendu qu'ils répondent à la théorie de la balance carbone/nutriment. Ainsi les teneurs de ces composés diminueraient chez les pousses ayant crû rapidement parmi les clones issus de croisements entre différentes espèces de peupliers. Donc, les jeunes peupliers hybrides seraient plus vulnérables à l'attaque des herbivores, comme par exemple les campagnols des champs (*Microtus pennsylvanicus*) qui au cours de certains hivers se nourrissent principalement de l'écorce d'arbres (Hansson 1975; Mubanga *et al.* 1985; Harju 1996a). Il devient intéressant de s'attarder sur ce type de nutrition/alimentation puisque cette action peut entraîner de lourdes pertes dans des plantations d'arbres.

### 1.3 Le campagnol des champs (*Microtus pennsylvanicus*)

Le campagnol des champs fait partie de la famille des *muridés* et de la sous-famille des *microtinés*. Son aire de répartition géographique va du centre des États-Unis au Nord du Canada (Burt et Grossenheidere 1980). Ce mammifère pèse environ 50 g. Il est herbivore et vit dans les milieux ouverts. Il se construit, à la surface du sol, des nids faits de végétation. Les campagnols se nourrissent des mêmes espèces végétales tout au long de l'année, cependant, il est possible que les espèces consommées varient en proportion au cours de certaines périodes. Ainsi, ils se nourriront principalement d'herbacées au cours de la saison chaude tandis que pendant l'hiver, ils se nourriront davantage d'écorce d'arbres puisque moins de plantes herbacées sont disponibles en cette période. Le campagnol n'entre pas en hibernation ou en période de torpeur pendant la saison hivernale, il reste ainsi actif toute l'année (Berteaux 1995).

Une portée de campagnols peut comprendre entre 2 et 8 petits et les femelles sont en gestation en moyenne 3 à 5 fois par année. Cette période est d'une durée de 18 à 21 jours. La lactation dure environ une quinzaine de jours et les jeunes atteignent la maturité sexuelle à l'âge de 4 à 6 semaines. La vie d'un campagnol ne dure que très rarement au-delà de la première année (Berteaux 1995). La densité de population du campagnol des champs varie selon des cycles d'environ 4 ans. Lors de pics de densité, la distribution du rongeur peut atteindre jusqu'à 800 individus par hectare ce qui, on le devine, peut avoir des répercussions importantes sur la végétation présente.

La survie en hiver est possible grâce à deux comportements adoptés par le campagnol. Tout d'abord, il reste sous la neige et lorsque l'épaisseur de cette dernière atteint au moins 20 cm,

l'isolation qu'elle assure est telle que les variations de température au niveau du sol sont presque nulles et se situent aux alentours de 0° C. Ensuite, en construisant des nids avec de la végétation, le campagnol s'assure une température confortable variant entre 2 et 19 °C. La taille de son domaine vital au cours de l'hiver est de 17 m<sup>2</sup> pour les mâles et de 28 m<sup>2</sup> pour les femelles. L'activité du rongeur s'étend sur 24 heures, par courts cycles de trois heures, soit 1,5 heure à l'extérieur du nid et 1,5 heure au nid. Un nid d'hiver est habituellement composé d'environ 2 à 7 individus. Ces groupes se composent d'une femelle adulte, de quelques mâles et de membres de la portée précédente (Berteaux 1995).

Pendant l'hiver, le campagnol des champs se déplace sous la neige en y creusant des tunnels ou tout simplement en se déplaçant dans l'espace créé par les herbacées qui retiennent la neige au-dessus du niveau du sol. Comme à cette période de l'année la végétation herbacée se fait rare, les campagnols utilisent alors l'écorce des arbres pour s'alimenter et ainsi assurer leur survie. Plusieurs chercheurs pensent que ce phénomène est dû au manque de nourriture l'hiver et à la densité élevée des campagnols qui épuisent rapidement les meilleures sources de nourriture herbacées (Hansson 1986 a; Hansson 1986 c). Ces rongeurs ne commencent à se promener sous la neige que lorsque son épaisseur atteint environ 10 cm. En dehors de ces conditions, il y a simplement continuité de leur comportement normal d'été et d'automne. Effectivement, comme la construction de tunnels coûte excessivement cher en énergie, le rongeur n'en fera aucun tant et aussi longtemps que les coûts de vie à la surface du sol restent moindres que ce qu'ils peuvent obtenir en énergie avec les aliments disponibles. Ainsi, il retardera au maximum son changement d'alimentation, puisque l'écorce des arbres est à peine suffisante pour sa survie. De plus, le déplacement des campagnols des champs devient de plus en plus difficile au fur et à mesure que la couverture de neige augmente et que la végétation au sol diminue. Afin de réduire ce coût énergétique important, il n'est pas rare que plusieurs campagnols se partagent les mêmes tunnels, cependant une telle adaptation peut entraîner des inconvénients sociaux (Hansson 1986 a; Hansson 1986 c; Berteaux 1995).

La contrainte énergétique est forte chez le campagnol des champs. Comme les plantes dont ils se nourrissent ne sont pas riches en énergie et qu'ils sont des homéothermes de petite taille, leur besoin énergétique pour assurer leur survie est d'autant plus grand (Wunder 1985). La seule source d'énergie pour le campagnol étant celle retrouvée dans son alimentation, ce facteur jouera donc un rôle important lors de la sélection de nourriture. C'est ainsi qu'en choisissant le plus possible des aliments riches en apport énergétique, ce rongeur pourra maintenir ses fonctions vitales telles que la contraction des muscles, la production de chaleur (thermorégulation), la reproduction et la formation de nouveaux tissus (Berteaux 1995). En hiver, comme la qualité énergétique de la nourriture diminue et que leur thermorégulation utilise la majorité de l'énergie disponible, les campagnols des champs ne se reproduisent normalement pas et essaient de réduire au maximum les pertes énergétiques (Wunder 1985).

La densité des populations du campagnol ainsi que la qualité de la nourriture disponible au cours de l'été et de l'automne jouent un grand rôle sur la survie du rongeur au cours de l'hiver (Bergeron et Jodoin 1993). Plus la qualité et la quantité des herbacées du milieu diminuent au cours de l'automne, plus le nombre de campagnols tend à diminuer et plus l'utilisation par ces derniers de nourriture pauvre au cours de l'hiver augmente. En 1987, Bergeron et Jodoin ont démontré qu'une alimentation de qualité pour un rongeur est représentée par des plantes riches en protéines et pauvres en composés secondaires de défense. Ainsi, lorsque le campagnol a le choix parmi plusieurs sources d'alimentation, il choisira davantage les plantes présentant ces caractéristiques. Donc, le choix du campagnol ne se fait pas uniquement en fonction de l'abondance de la ressource, mais également en fonction la qualité du rapport entre sa teneur en protéines et en inhibiteurs de digestion (Bernays *et al.* 1981; Palo 1983; Neuvonen et Haukioja 1984; Rowell-Rahier 1984; Asquith et Butler 1985; Palo 1985a; Tahvanainen *et al.* 1985; Bergeron 1987; Danell *et al.* 1987; Blytt *et al.* 1988; Marquis et Batzli 1989; Fleck et Layne 1990; Reichardt *et al.* 1991; Becker et Makkar 1999; Dawson *et al.* 1999). Cependant, il faut comprendre ici que la densité de la

population de campagnols joue également un grand rôle dans le choix de son alimentation. En effet, plus il y aura de campagnols dans un milieu, moins la nourriture de bonne qualité sera disponible pour tout le monde et plus les campagnols devront se tourner vers des sources d'alimentation de moindre qualité, lesquelles sont généralement pauvres en protéines et riches en composés secondaires de défense.

D'après énormément d'études antérieures, le choix alimentaire du campagnol des champs est guidé par la qualité du rapport entre la teneur en protéines et la teneur en défenses d'une plante (Bernays *et al.* 1981; Palo 1983; Neuvonen et Haukioja 1984; Rowell-Rahier 1984; Asquith et Butler 1985; Palo 1985a; Tahvanainen *et al.* 1985; Bergeron 1987; Danell *et al.* 1987; Blytt *et al.* 1988; Marquis et Batzli 1989; Fleck et Layne 1990; Reichardt *et al.* 1991; Becker et Makkar 1999; Dawson *et al.* 1999). Cependant, ce rapport optimal dépend de l'espèce de rongeurs puisque leurs besoins en protéines et leurs tolérances aux défenses varient d'une espèce à l'autre. Pour ce qui est du campagnol des champs, la littérature semble unanime en ce qui a trait au niveau de protéines requis pour maintenir son poids corporel, en le situant entre 5 % et 8 % (Lindroth et Batzly 1984; Bucyanayandi 1991; Harju 1996a). Effectivement, une source de nourriture ayant une teneur de moins de 5 % de protéines induit une diminution de poids chez le rongeur puisqu'insuffisante pour assurer son maintien métabolique et son développement normal. Si l'animal ne peut trouver dans son environnement des plantes ayant une concentration plus élevée en protéines, sa survie est menacée. À l'inverse, une source alimentaire ayant des teneurs en protéines plus importantes que 8 % sera bénéfique pour le campagnol. En plus de s'assurer une croissance corporelle normale, il lui est alors possible d'éviter les effets négatifs des composés secondaires présents dans la plante. Une teneur élevée en protéines fournit les ressources suffisantes au rongeur pour avoir la capacité d'ingérer davantage de composés secondaires de défenses sans en subir les effets néfastes (Lindroth et Batzli 1984; Harju 1996a; Harju et Hakkarainen 1997).

La littérature semble moins claire en ce qui a trait à la teneur minimale en tannins condensés que doit avoir une plante pour être défendue efficacement contre le rongeur. Certains ouvrages parlent de 3 % (Lindroth et Batzli 1984; Robbins *et al.* 1991), d'autres stipulent qu'une limite de 4 % (Joslyn et Glick 1969) de tannins condensés peut être tolérée par ce petit mammifère. Ainsi, une plante ayant une teneur de moins de 3 % en inhibiteurs de digestion est exposé à des dommages sévères par le campagnol puisqu'une telle concentration n'entrave pas fortement la digestibilité des aliments pour soutenir le maintien corporel et les autres métabolismes vitaux de ce dernier. Par contre, les plantes contenant plus de 3 % de tannins condensés peuvent être considérés comme étant bien défendus, donc comme ayant au moins une défense valable contre le rongeur.

Les phénols glycosides totaux sont, selon le peu d'études réalisées sur l'ensemble de ces composés chimiques, être des inhibiteurs de croissance efficaces chez le campagnol à un niveau aussi bas que 1 % (Palo 1983; Basey *et al.* 1988). Donc, les plantes ayant une concentration moyenne de moins de 1 % de phénols glycosides totaux n'ont aucun effet dramatique sur les campagnols. Cependant, une plante présentant une teneur de ce type de métabolite secondaire supérieure à 1 % sera rejeté par le rongeur puisque les effets de ces phénols simples peuvent alors être dommageables pour l'animal.

Bien évidemment, comme une alimentation en écorce est pauvre au point de vue énergétique, cela force le rongeur à gruger davantage d'arbres pour assurer sa survie au cours de la saison froide. Ainsi, plus la densité des campagnols sera grande, plus important sera le grugeage. Cette évidence résultera invariablement en des dommages sévères pour les arbres du milieu. Chaque année, bon nombre de jeunes vergers, de jeunes plantations d'arbres, feuillus et conifères, et de pépinières sont dévastés, ce qui signifie des millions de dollars en dommages, et ce, uniquement à cause des ravages des campagnols des champs (Buckner 1969; Kanervo et Myllymaki 1970; Kaukeinen 1982; Hansson 1985; Pigott 1985; Hansson 1994; Bergeron

*et al.* 1998). L'importance des dommages subis par une plantation dépendra tout d'abord de la densité des arbres plantés, de la densité des autres espèces présentes ainsi que de la disponibilité d'autres sources de nourriture (Pigott 1985). Plusieurs méthodes ont été mises sur pied afin de protéger les arbres contre le broutage hivernal du campagnol. Parmi ces dernières, on retrouve les rongicides qui, par l'application de poisons chimiques sur le sol ou par le biais d'appâts empoisonnés, visent à tuer les campagnols présents sur les sites ciblés. On retrouve également des revêtements de plastique à installer autour du tronc des arbres afin d'empêcher les rongeurs d'atteindre l'écorce. Ensuite, certains propriétaires de plantations procèdent à des tontes intensives autour des arbres au cours de l'été afin de laisser le moins de végétation possible au sol, détruisant ainsi l'habitat propice aux rongeurs. Finalement, la trappe est parfois utilisée afin d'éliminer complètement les campagnols présents. Chacune de ces méthodes entraîne bien évidemment des coûts importants en argent et en temps pour les propriétaires de plantations d'arbres. Il faut également noter que très souvent, ces méthodes ne suffisent pas à enrayer le problème du campagnol des champs sur leur terrain mais bien à réduire les niveaux de densité sous un seuil de rentabilité économique acceptable (Kanervo et Myllymaki 1970; Kaukeinen 1982).

#### 1.4 Objectifs et hypothèses du projet

La compagnie Domtar a dû faire face au problème de perte totale de plantations de jeunes peupliers hybrides au cours des hivers 1998 et 1999. Ayant planté en cours d'été des boutures de peupliers hybrides, au printemps suivant les plantations avaient été dévastées par les campagnols des champs. Une seconde plantation a été établie l'année suivante au même endroit et fut également une perte totale. Mauvais traitements des plantations, années particulièrement prospères pour les campagnols ou clones naturellement peu défendus contre les rongeurs ? Tant d'hypothèses peuvent être formulées pour expliquer cette catastrophe, mais le problème n'est pas réglé pour autant.

D'après les observations de terrain effectuées par le personnel attaché à ce projet, les plants étaient rongés à la base et séchaient sur place au cours de l'été suivant. Ceci laissait supposer que des rongeurs étaient à l'œuvre. Serait-il possible que les différents clones recommandés pour la région de l'Estrie présentent différents degrés de défense chimique? Serait-il possible que certains clones aient des concentrations plus élevées en composés secondaires de défense que d'autres? Sur le terrain, certaines plantations d'hybrides constituées de clones différents qui poussaient tout près des zones dévastées ne présentaient que très peu de signes d'attaques de rongeurs. À partir de ceci, l'objectif du projet a été de déterminer lesquels parmi les 22 clones recommandés dans les plantations de l'Estrie par le ministère des Ressources naturelles contiendraient le plus de composés de défense reconnus efficaces contre l'attaque de campagnols. En fait, l'idéal serait d'établir un axe d'analyse de risques aux attaques du campagnol des champs pour les peupliers hybrides recommandés par le Ministère des Ressources naturelles pour la région de l'Estrie. Cette ségrégation se ferait par l'étude des composés secondaires de défenses majeurs du peuplier, soit les tannins condensés et les phénols glycosides totaux, ainsi que par la quantification des protéines pour chacun des clones. A la lumière des études précédentes réalisées dans le domaine, notre hypothèse était

que les clones ayant une teneur plus importante en protéines ainsi que de faibles concentrations en composés secondaires seront ceux qui subiront le plus de dommages par les rongeurs. En effet, comme mentionné précédemment, les herbivores guident leurs choix alimentaires par la qualité du rapport entre la teneur en protéines et en inhibiteurs de digestion des plantes (Bernays *et al.* 1981; Palo 1983; Neuvonen et Haukioja 1984; Rowell-Rahier 1984; Asquith et Butler 1985; Palo 1985a; Tahvanainen *et al.* 1985; Bergeron 1987; Danell *et al.* 1987; Blytt *et al.* 1988; Marquis et Batzli 1989; Fleck et Layne 1990; Reichardt *et al.* 1990; Becker et Makkar 1999; Dawson *et al.* 1999). Inversement, nous pouvons prédire que les clones ayant les caractéristiques contraires, donc moins de protéines et plus de composés secondaires, seront ceux délaissés par le campagnol des champs et qui montreraient le moins de dommages sur leur tronc.

Un second objectif pour cette étude était d'étudier le comportement général des composés chimiques ciblés, de l'azote total, des tannins condensés et des phénols glycosides totaux, au cours de l'hiver. Selon la littérature, ces derniers auraient tendance à augmenter en concentration dans l'écorce des arbres au cours de leur période de dormance (Chapin *et al.* 1980; Palo 1984; Palo 1985b; Chapin *et al.* 1986; Hansson 1986 a; Swihart 1990; Palo 1992). De plus, comme les clones seraient échantillonnés en plantation et en pépinière il était attendu qu'il y ait des différences de concentrations entre ces deux lieux d'échantillonnage. En effet, le milieu contrôlé de la pépinière et le milieu plus stressant des plantations ont dû influencer de façon importante la production des composés chimiques (Larsson *et al.* 1986; Orians *et al.* 1996). Finalement, il était intéressant de comparer les teneurs de ces composés dans les différents hybrides à l'étude. Il nous semblait possible que les hybrides ayant pour l'un des deux parents *P.balsamifera* soient mieux défendus contre les rongeurs que les autres hybrides, puisqu'il est généralement accepté que cette espèce repousse davantage les herbivores (Mattes *et al.* 1987; Reichardt *et al.* 1990; Schmitz *et al.* 1992; Sinclair *et al.* 1996). Donc, l'un des objectifs de cette étude était de vérifier si le comportement général des

composés chimiques dans l'écorce allait dans le même sens que les études déjà réalisées dans le domaine.

De plus, selon la théorie de la balance carbone/nutriments, plus un arbre aura une croissance rapide, moins il sera défendu contre les herbivores. Effectivement, comme le carbone d'un jeune arbre est utilisé en grand partie dans le processus de croissance, peu en sera investi dans la production de composés secondaires de défense. Donc, l'étude avait également pour objectif de déterminer si la hauteur total des arbres est négativement ou positivement corrélée à la production de composés secondaires de défenses. Comme tous les arbres échantillonnés ont le même âge, nous avons soupçonné que les arbres les plus grands avaient eu une croissance plus rapide que les plus petits. Comme la théorie de la balance carbone/nutriments est hautement documenté dans la littérature, notre hypothèse était qu'effectivement les clones qui ont une hauteur plus élevée vont avoir de plus faibles concentrations en défense. Nous nous attendions ainsi à une relation négative entre la hauteur totale et le diamètre des arbres et les concentrations en composés de défense (Fox 1981; Bryant *et al.* 1983; Prudhomme 1983; Bazzaz *et al.* 1987; Bryant et Julkuentiitto 1995).

## CHAPITRE 1

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### 2.1 Échantillonnage de terrain

L'échantillonnage s'est concentré sur 19 des 22 clones recommandés en 2000 pour la région de l'Estrie par le ministère des Ressources naturelles. N'ayant pu trouver tous les clones recherchés chez les différents propriétaires privés de la région, nous avons orienter nos recherches dans les plantations industrielles faites par la compagnie Domtar Papier de Communication de Windsor, industrie de pâtes et papiers. Cette compagnie a planté plusieurs centaines d'hectares de plantations comprenant 19 clones de peuplier hybrides. L'échantillonnage sur le terrain s'est déroulé au cours de l'hiver 2000 et 2001. Des échantillons de chacun des 19 clones à l'étude ont été récoltés sur deux plantations différentes ainsi qu'à la pépinière forestière de Berthier. Au total, sept plantations appartenant à la compagnie Domtar ont été visitées. Ces plantations étaient localisées à Sainte-Catherine de Hatley, Saint-Camille, Saint-Claude, Valcourt, Windsor, l'Avenir et Aston-Jonction. La liste des différents clones échantillonnés pour chacune de ces plantations sont présentées au tableau 2 tandis que leur répartition sur le terrain sont présentées en annexe 1. Toutes les plantations étaient situées en Estrie, à l'exception d'Aston-Jonction, et elles avaient toutes été établies environ une année plus tôt. Certaines avaient été établies à l'automne 1999, d'autres au printemps 2000. L'année 2000 représentait donc pour tous les hybrides leur première année de croissance au champ. Tous les peupliers hybrides qui ont été plantés provenaient de la pépinière forestière de Berthier. Comme les semis passent leur première année de croissance en pépinière pour ensuite être transplantés sur leur plantation respective, l'âge des plants échantillonnés était de 2 ans.

Tableau 2 : Liste des clones récoltés dans chacune des plantations sélectionnées

Secteur de plantation	Hybrides et numéros de clones
Aston-Jonction	<i>P. trichocarpa</i> x <i>P. deltoides</i> 3225* <i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> 3308, 3333*, 3565*, 3567,3570, 3586 <i>P. deltoides</i> x <i>P. maximowiczii</i> 3531* <i>P. nigra</i> x <i>P. maximowiczii</i> 3729
L'Avenir	( <i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> ) x <i>P. maximowiczii</i> 915 508 <i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> 131, 4397 <i>P. trichocarpa</i> x <i>P. deltoides</i> 3230
Saint-Camille	<i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> 131 <i>P. maximowiczii</i> x <i>P. balsamifera</i> 915 303 <i>P. nigra</i> x <i>P. maximowiczii</i> 3729
Sainte-Catherine de Hatley	<i>P. maximowiczii</i> x <i>P. balsamifera</i> 915 302, 915 311, 915 313
Saint-Claude	<i>P. trichocarpa</i> x <i>P. deltoides</i> 3230 <i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> 3308, 4397 <i>P. maximowiczii</i> x <i>P. balsamifera</i> 915 303, 915 311, 915 313 ( <i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> ) x <i>P. maximowiczii</i> 915 508
Valcourt	<i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> 3567, 4723 <i>P. maximowiczii</i> x <i>P. balsamifera</i> 915 302
Windsor	<i>P. deltoides</i> x <i>P. nigra</i> 3570, 3586, 4813

\* Signifie que le clone a été récolté deux fois sur la même plantation.

### 2.1.1 Hiver 2000-2001

L'échantillonnage a été effectué en deux périodes. Tous les clones ont été échantillonnés une première fois entre les mois de novembre et décembre 2000. Cinq arbres par clone et par période d'échantillonnage ont été prélevés dans chacune de leurs plantations respective. De plus, un même nombre d'arbres pour chaque clone (échantillons récoltés sur des tiges d'un an en quartier de pieds-mères) a été récolté à la pépinière de Berthier pour cette même période. La seconde session d'échantillonnage s'est déroulée entre les mois de février et mars 2001. Les arbres avaient été sélectionnés de façon aléatoire au cours de l'automne précédent.

Chacun des arbres échantillonnés a été manipulé de la même façon. Tout d'abord, à l'aide d'un ruban à mesurer et d'un ruban circonférenciel la hauteur totale, et le diamètre du plant au niveau du sol ont été notés. Il faut noter que c'est la hauteur totale des plants qui a été mesurée. Comme l'âge estimé des arbres est le même dans tous les cas, cette mesure nous permet d'évaluer la croissance de l'arbre depuis le début, c'est à dire le repiquage de la bouture en pépinière soit un an avant la plantation. Une fois ces mesures prises, l'écorce sur tout le pourtour du tronc a été détachée sur une hauteur d'environ 50 cm à partir du sol. Cette mesure est suffisante puisqu'elle représente à peu près la hauteur de la neige, donc la hauteur maximale qu'un campagnol peut atteindre pour gruger le tronc (Hansson 1986a; Bergeron et Jodoin 1993). L'écorce de chaque arbre a été placée dans un sac stérile individuel. Les sacs sont ensuite plongés dans de l'azote liquide afin de congeler l'écorce de façon instantanée. Plusieurs études ont démontré que cette méthode, comparativement à la simple congélation dans la glace, réduisait au maximum le risque de dégradation des composés chimiques présents dans la plante (Lindroth *et al.* 1987; Orians 1995). Les sacs ont été transportés dans une glacière jusqu'au laboratoire de l'Université de Sherbrooke et transférés dans un congélateur à température constante (-16 °C).

### 2.1.2 Été 2001

Au mois de mai 2001, les différentes plantations ont été visitées une dernière fois afin d'évaluer le taux de dommages pour chaque clone de chaque plantation. Pour ce faire, 10 % des arbres de chaque parcelle de clones ont été examinés pour en déterminer le taux de grugeage. Le choix d'un pourcentage d'arbres plutôt qu'un nombre standard bien précis applicable à chaque plantation permet une plus grande représentativité des dommages subis puisque les différentes parcelles de clones ne contiennent pas le même nombre d'arbres. Il existe plusieurs méthodes dans la littérature servant à évaluer le taux de grugeage par les herbivores (Hansson 1985; Pigott 1985; Hansson 1994). Vu le grand nombre d'arbres à investiguer, une méthode simple et rapide devrait être utilisée. La méthode publiée par Hansson en 1985 réunit toutes ces qualités en plus de présenter une vue d'ensemble réaliste de la sévérité des dommages observés sur le terrain. Cette méthode consiste en l'attribution d'un pourcentage de dommages selon la proportion de la circonférence du tronc de l'arbre qui a été grugée (tableau 3). Ainsi, pour chaque arbre observé un pourcentage de grugeage est noté. Ensuite, il est possible d'établir des distributions de fréquence afin de déterminer le degré de grugeage effectué par les campagnols pour chacun des clones échantillonnés.

Tableau 3 : Méthode d'attribution des pourcentages de dommages selon les critères utilisés par Hansson en 1985

<b>Pourcentage de dommages</b>	<b>Correspondance</b>
0 %	Aucun dommage sur la circonférence de la base de l'arbre
25 %	Dommages sur le quart ou moins de la circonférence de la base de l'arbre
50 %	Dommages entre le quart et la moitié de la circonférence de la base de l'arbre
75 %	Dommages entre la moitié et les trois quarts de la circonférence de la base de l'arbre
100 %	Dommages sur la totalité de la circonférence de la base de l'arbre

## 2.2 Analyses en laboratoire

Les échantillons d'écorce ont été séchés au lyophilisateur pour une durée d'environ trois jours en vue des analyses chimiques subséquentes. Cette méthode, lorsque comparée à celle de séchage à l'air pulsée, minimise la dégradation des composés chimiques (Orlans 1995). Ensuite, chaque sac a été pesé afin de déterminer le poids sec de chacun des échantillons. Les échantillons ont été par la suite replacés au lyophilisateur pour une journée puis repesés afin de s'assurer de leur état anhydre. L'écorce a été ensuite broyée (0.5  $\mu\text{m}$ ) à l'aide d'un broyeur Brinkmann pour faciliter les analyses chimiques subséquentes. Une fois en poudre, l'écorce a été séchée de nouveau au lyophilisateur pendant une journée, afin de s'assurer de l'absence totale d'humidité dans les échantillons.

### 2.2.1 Quantification des tannins condensés

La quantification des tannins condensés s'est effectuée selon la méthode de réaction à la vanilline de Burns (1971) et modifiée par Price et Butler. (1977). Le principal avantage de cette méthode est sa spécificité pour un large spectre de flavonols et de dihydrochalcones qui ont un lien simple à la position 2,3 et un groupe hydroxy sur l'anneau B. Ceci permet donc de quantifier la plupart des tannins condensés et non simplement tous les phénols présents comme le ferait la méthode au réactif Folin-Denis (Burns 1971) ou le test au bleu de Prusse (Price et Butler 1977). Un mélange de catéchine et d'épicathéchine a été utilisé comme standard pour la courbe de référence. Cette dernière a été réalisée avec une solution de 50 mg de catéchine et 50 mg d'épicathéchine ajoutés à 50 ml de méthanol. Un gradient d'étalons a été ensuite établi variant de 0 à 30 mg/ 50 ml de méthanol. Un (1) ml de chacune des solutions a été transvasé dans deux éprouvettes distinctes, 5 ml d'une solution réactive constituée d'un volume égal de HCl concentré dans du méthanol à 8 % et de vanilline dans du

méthanol à 4 % a été ajouté à la première. Dans la seconde éprouvette a été ajoutée 5 ml d'une solution de HCl concentré dans du méthanol à 4 %, celle-ci constituant ainsi un blanc. Effectivement, il est possible que la solution avant de recevoir le réactif à la vanilline ait déjà une couleur de fond. Afin de ne pas inclure cette couleur naturelle, ce qui constituerait une source d'erreur en faisant surestimer les valeurs, il faut un correctif, ce qui représente le blanc ou le témoin. Les tubes ont été ensuite agités vigoureusement pendant quelques secondes et laissés au repos à 23 °C pendant une vingtaine de minutes. Finalement, l'absorbance des solutions de réactifs et de blancs a été mesurée par spectrophotomètre à 500 nm. L'absorbance du blanc a été soustraite de celle du réactif pour chaque échantillon. Ainsi, il est possible d'établir une courbe de référence de la concentration des standards en fonction de l'absorbance obtenue.

Pour extraire les tannins des échantillons d'écorce, 200 mg de poudre ont été pesés puis déposés dans un tube à essai où on a ajouté 10 ml de méthanol aqueux 80 %. Pour chaque échantillon, la quantification des tannins condensés s'est faite deux fois (réplicats). Les tubes ont été bouchés et ensuite agités pendant une période de 24 heures. Des volumes de 1 ml ont été pipetés de chaque tube et transférés à deux éprouvettes distinctes. Ces deux éprouvettes ont été amendées par soit la solution de réactif ou celle du blanc. Une fois les valeurs d'absorbance des blancs soustraites de celles des réactifs, les résultats sont reportés sur la droite de référence et les concentrations en tannins condensés sont exprimées en équivalent de catéchine-épicathéchine obtenu pour chacun des échantillons.

### 2.2.2 Quantification des protéines

La quantification des protéines s'est faite en s'inspirant de la méthode de micro-détermination Kjeldahl (Lang 1958). La digestion ainsi que la dilution des échantillons ont été effectuées selon cette méthode, cependant la quantification proprement dite des protéines

s'est faite à l'aide d'un analyseur Technicon (Pulse Instrumentation, Saskatoon) qui est en fait un spectrophotomètre automatisé. La courbe de référence s'est faite à partir de différentes concentrations d'une solution de sulfure d'ammonium et d'acide sulfurique 0,2 N variant entre 1 à 10 ppm.

Pour chaque échantillon, on a pesé 5 mg de poudre d'écorce qu'on a ensuite déposé dans des tubes individuels. Ensuite, 0,20 ml d'une solution de digestion ont été ajoutés à chacun des tubes. Cette dernière est composée de 40 g de sulfate de potassium, 2 ml d'oxychlorure de sélénium, 250 ml d'eau distillée, 250 ml d'acide sulfurique (96 %) et 20 ml de sulfate de cuivre. L'ensemble des éprouvettes ont été par la suite déposé dans les blocs à digestion qui par un programme établi à l'avance chauffe par paliers jusqu'à une température de 310 °C. Les échantillons sont demeurés à cette température pour une période d'au moins 1 heure afin que la digestion soit complétée. Une fois cette étape réalisée, les échantillons ont été dilués avec 9,9 ml d'eau distillée pour obtenir un volume total de 10 ml. Un aliquot de chaque échantillon a été dosé par l'autoanalyseur Technicon. Cette technique par colorimétrie utilise la couleur bleue résultant d'une réaction entre l'ammoniac contenu dans les échantillons, l'ion salicylate et l'ion hypochlorite. La couleur obtenue a été ensuite intensifiée par l'ajout de nitroprusside de sodium. L'absorbance de la solution a été lue par le Technicon. Afin de quantifier l'azote total dans les échantillons, une courbe de référence a été établie au préalable. Pour ce faire, les différentes concentrations (de 1 à 10 ppm) de sulfure d'ammonium sont passées dans l'analyseur Technicon. Ainsi, en connaissant la concentration de ces standards et en obtenant une lecture par l'appareil pour chacune d'elles, une courbe de référence a pu être effectuée et a permis de quantifier l'azote total dans les échantillons. Finalement, afin de transformer les données d'azote en protéines brutes végétales, tous les résultats sont multipliés par 6,25. Il est couramment admis que la teneur en protéines des plantes est obtenue en multipliant par 6,25 le poids d'azote mesuré par la méthode de Kjeldahl (Horwitz 1984). Cette multiplication revient à considérer que toutes les protéines végétales sont constituées de 16 % d'azote. En vérité, la teneur des protéines en

azote est comprise dans une plage allant de 15 à 18 %. C'est pourquoi d'autres facteurs multiplicatifs sont parfois utilisés.

### 2.2.3 Quantification des phénols glycosides totaux

La quantification des phénols glycosides totaux n'a pas pu se faire selon une méthode trouvée en littérature. Plusieurs techniques ont effectivement été publiées à cet effet (Pearl et Pottenger 1966; Pearl et Darling 1967; Pearl 1968; Julkunen-Tiito 1985; Tahvanainen *et al.* 1985; Lindroth *et al.* 1987; Reichardt *et al.* 1990; Soetens *et al.* 1991; Poukensrenwart *et al.* 1993; Kolehmainen *et al.* 1994; Rank 1994; Orians et Fritz 1995; Orians *et al.* 1996). Cependant, elles requéraient soit du matériel non disponible au laboratoire, soit trop de temps pour analyser un grand nombre d'échantillons. Face à ce problème, il fallu donc élaborer une méthode nouvelle comportant trois étapes simples et rapides dont une extraction, une isolation et une quantification des composés, le tout supervisé par le Dr. Adrien Beaudoin, biochimiste d'expérience au Département de biologie.

L'extraction des phénols glycosides a été sujette à plusieurs essais. Tout d'abord, une extraction simple au méthanol 50 % fut tentée afin d'isoler les phénols de l'écorce. Cependant, comme d'autres composés restaient dans la solution filtrée, l'isolation par chromatographie sur couche mince s'est révélée illisible. Ensuite, le chloroforme fut utilisé pour l'extraction. Encore une fois, l'isolation des phénols glycosides fut impossible à cause de l'excès de composés présents dans la solution. Puis, l'eau a servi de troisième tentative, mais les résultats de la chromatographie furent aussi mauvais. Finalement, en se référant à un article de Lindroth *et al.* publié en 1986, une méthode par extractions multiples a été testée avec succès. Cette méthode utilise tour à tour l'hexane, le chloroforme et le méthanol pour extraire les phénols des échantillons de plantes. Ainsi, grâce à cette dernière, l'isolation par chromatographie sur couche mince est possible puisqu'une fois la migration réalisée, les

taches de phénols glycosides sont bien visibles et distinctes des autres composés présents dans la solution. L'étape de l'extraction réalisée, une méthode de quantification des phénols glycosides totaux a pu être élaborée.

Pour ce faire, dix (10) mg de poudre séchée pour chaque échantillon ont été pesés puis déposés dans des éprouvettes individuelles. L'hexane a été utilisé pour une première extraction afin de retirer les graisses de l'écorce. Ainsi, 4 ml d'hexane ont été ajoutés à chacun des tubes, puis ils ont été laissés au repos pour une période d'une heure. Ensuite, le surnageant a été retiré pour une seconde extraction au chloroforme. Ce dernier a permis d'extraire de l'écorce les terpénoïdes et les alcaloïdes. Ainsi, 4 ml de chloroforme ont été ajoutés à la solution filtrée, puis laissés au repos pendant une heure. Finalement, le surnageant a été jeté et le méthanol a été utilisé pour une dernière extraction des phénols simples, des phénols glycosides et des tannins. Encore une fois, 4 ml de méthanol 80 % ont été ajoutés à l'écorce pour une période de 24 heures (Lindroth *et al.* 1986). Une fois débarrassée de l'écorce restante, la solution a été concentrée 3,6 fois par un jet d'azote qui a permis d'évaporer le méthanol rapidement.

L'isolation des phénols glycosides présents dans la solution s'est faite par chromatographie sur couche mince. Les composés migrent selon leur taille moléculaire sur une plaque de gel de silicate entraînés par un solvant polaire. Ce dernier se compose d'acétate d'éthyle : d'isopropanol : d'eau : de pyridine (13 : 7 : 4 : 1, vvvv). Ainsi, sont déposés à l'extrémité inférieure de la plaque 5 aliquots de 10 µl d'échantillons différents. De plus, un aliquot de standard, soit la salicine, a été ajouté sur la plaque afin de déterminer, suite à la migration, à quelle hauteur se situaient les phénols glycosides sur la plaque. Une fois les échantillons séchés, la plaque a été déposée dans une chambre de migration contenant le solvant polaire de migration. Lorsque ce dernier a été monté jusqu'au haut des plaques, celles-ci ont été

séchées, révélées à l'iode, puis numérisées. Afin d'établir une courbe de référence, une plaque contenant différentes concentrations du standard a été réalisée.

Pour chacune des plaques, la région à analyser a été identifiée. Finalement, les images numérisées ont été transmises à une firme spécialisée dans ce type d'analyse : DLW information inc. Les taches laissées par la migration ont été analysées selon leur surface, leur intensité minimale, moyenne et maximale, leur volume et leur volume relatif. Cette méthode fut très efficace et due à la précision obtenue lors du traçage des taches. L'image d'une plaque de chromatographie après migration ainsi que le traçage des taches par ordinateur sont présentées en annexe (annexe 2). Grâce à la droite de référence, il nous a été possible de déterminer la concentration de phénols glycosides totaux, exprimée en équivalent de salicine, présente dans chacun des échantillons.

## 2.3 Analyses statistiques

Afin de faire ressortir les principaux résultats trouvés sur le terrain et en laboratoire, plusieurs analyses statistiques sont utilisées. Ces dernières permettent de vérifier les hypothèses initiales et de tirer les principales conclusions de l'étude.

### 2.3.1 Comportement général des composés chimiques au cours de l'hiver

Afin de tester la normalité ainsi que l'homogénéité des variances des données sur les trois composés chimiques étudiés, soit l'azote, les tannins condensés et les phénols glycosides totaux, les tests statistiques de Kolmogorov-Smirnov et de Levene ont été utilisés. Afin de vérifier s'il existait des différences de concentrations entre la première et la deuxième session d'échantillonnage, un test de comparaison de moyennes a été effectué entre les données de ces deux sessions pour chacun des composés chimiques pris individuellement. Il a été ainsi possible de déterminer si les concentrations de ces composés varient entre deux périodes de l'hiver. Puisque chacun des clones à l'étude est échantillonné à trois endroits différents (deux plantations de Domtar et à la pépinière gouvernementale de Berthier), j'ai déterminé si les concentrations en azote, en tannins condensés et en phénols glycosides totaux pour un même clone variaient d'un endroit à l'autre. Pour ce faire, un test d'analyse de variance à deux critères de classification a été effectué entre les clones et leurs concentrations pour les trois lieux d'échantillonnage. Ainsi, trois analyses de variances à deux critères de classification ont été réalisées, une en fonction de chacun des composés chimiques. Des tests *a posteriori* de Duncan ont servi par la suite à indiquer lequel ou lesquels des endroits d'échantillonnages différaient des autres. Une analyse de variance à un seul critère de classification a été ensuite effectuée pour chacun des trois composés chimiques, mais cette fois, entre les différents hybrides considérés. L'étude a compris un total de six hybrides, soit D x N, T x D, N x M, M

x B, (D x N) x M et D X M, donc ce test nous a permis de vérifier si les concentrations variaient en fonction des espèces parentales des hybrides. Par la suite, un test *a posteriori* de Duncan a permis de déterminer si certains hybrides ou si un regroupement d'hybrides avaient une plus grande ou plus petite concentration en un composé chimique particulier.

### 2.3.2 Analyse de risques

Un axe d'analyse de risques a été établie selon les concentrations maximales, trouvées dans la littérature, en composés secondaires de défense tolérées par les campagnols des champs. Donc, une valeur limite pouvait être déterminée pour les tannins condensés comme pour les phénols glycosides totaux exprimant la frontière entre une nourriture intéressante ou non pour le campagnol. Ainsi, nous assumions qu'une plante ayant plus de tannins condensés et/ou de phénols glycosides totaux qu'une certaine valeur critique entraînerait des conséquences néfastes pour l'animal, comme par exemple une diminution de poids. À l'inverse, une plante n'atteignant pas cette concentration critique représenterait une nourriture attirante pour ce dernier puisque ces concentrations lui sont tolérables. Il en va de même avec les protéines contenues dans la plante. Un certain niveau de protéines est bénéfique pour le rongeur lui permettant de survivre et de croître normalement, tandis qu'un niveau plus bas en protéines peut lui être néfaste parce qu'il n'est pas en assez grande quantité. Donc, il existe également une concentration, minimale cette fois, en protéines qui permet de déterminer si une plante est avantageuse ou non pour le campagnol. Une fois que les concentrations moyennes en protéines, tannins condensés et phénols glycosides totaux ont été déterminées pour chaque clone à l'étude, il a été possible d'établir six groupes de clones en fonction des trois concentrations limites de ces composés chimiques. Les trois premiers groupes sont composés par les clones ayant assez de protéines pour maintenir le poids du campagnol ainsi que 0, 1, ou 2 défenses valables contre le rongeur. Les trois suivants sont des regroupements comprenant les clones n'ayant pas assez de protéines et également 0, 1 ou 2 défenses valables. Un axe d'analyse de risques des peupliers hybrides à l'attaque du

campagnol des champs pourrait alors être établie allant d'un extrême avec les groupes de clones le plus susceptibles d'être grugés à l'autre extrême pour les groupes de clones les moins exposés à l'attaque du rongeur.

### 2.3.3 Évaluation du taux de grugeage

Les résultats de l'évaluation du taux de grugeage pour chaque clone dans chacune des plantations ont été exprimés sous forme de distributions de fréquences. Celles-ci ont été établies selon la proportion d'arbres d'une plantation ayant subi 100 %, 75 %, 50 %, 25 % et 0 % de dommages à la base du tronc. Afin de comparer les distributions de fréquences de dommages des clones à l'intérieur d'une même plantation, des tests de khi-carré sont mis à contribution. De cette manière, il est possible de déterminer si tous les clones d'une même plantation ont été endommagés de la même façon ou à des degrés différents. Les arbres de Berthier ne sont pas inclus dans cette investigation puisque normalement les quartiers de pied-mère de la pépinière sont récoltés à l'automne précédent, ne laissant aucun hybride de peupliers à l'extérieur pour la saison froide. Les seuls arbres présents au cours de l'hiver sont ceux laissés spécialement pour l'échantillonnage d'écorce faisant partie de la présente expérience. Ainsi, aucun arbre au printemps n'est disponible pour l'évaluation du taux de dommages. Ceci fait, une comparaison qualitative a été effectuée entre ces distributions de fréquence de dommages des clones et leur position sur l'axe d'analyse de risques. Ainsi, les résultats de cette observation ont montré si un clone qui devrait être plus endommagé que les autres selon l'analyse de risques, l'était réellement sur le terrain. C'était donc une façon de s'assurer que le positionnement des clones sur l'axe d'analyse de risques se vérifie par les observations de dommages faites sur le terrain. Une attention particulière a été portée à la situation géographique des clones dans leurs plantations respectives lors des comparaisons de leurs dommages. En effet, chaque habitat est fort probablement occupé par une densité de population de rongeurs différente de l'autre. Donc, les clones d'une même plantation très éloignés les uns des autres ou séparés par un cours d'eau ou par une frontière infranchissable

par les campagnols ne pouvaient être comparés entre eux sur l'axe d'analyse de risque. On sait que la densité de campagnols sur le terrain influence grandement la gravité des dommages subis par les arbres. Pour qu'une comparaison entre clones soit valable, il fallait absolument que ces derniers supportent la même population de rongeur, donc, la même pression de broutage et on s'en assure en limitant les tests statistiques aux hybrides poussant les uns près des autres (dans un rayon d'environ 30 m.).

#### 2.3.4 Corrélations

Afin de vérifier si la hauteur totale des peupliers est négativement corrélée avec la production de composés secondaires, un test de corrélation de Pearson est utilisé. Celui-ci s'est effectué premièrement entre la somme des concentrations des défenses des clones, soit les tannins condensés et les phénols glycosides totaux, et la hauteur totale des arbres, puis deuxièmement, entre cette même somme de défenses et le diamètre des mêmes arbres. Si une relation négative était trouvée suite à ce test, il serait démontré indirectement que les peupliers qui semblent avoir eu une croissance plus rapide, ont des concentrations plus faibles en composés secondaires de défense. Rappelons ici, que comme tous les hybrides ont même âge donc ceux ayant une hauteur plus élevée sont soupçonnés d'avoir eu une croissance plus rapide.

## CHAPITRE 2

### RÉSULTATS

#### 3.1 Comportement général des composés chimiques au cours de l'hiver

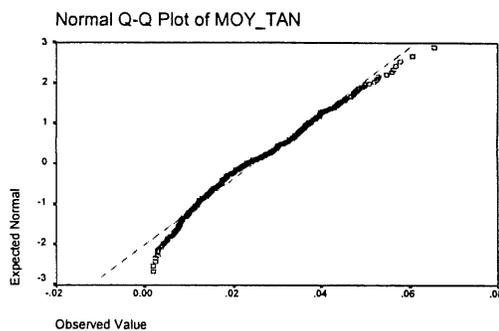
Dans cette section, des tests de t, des analyses de variance à un ou deux critères de classification ainsi que des tests *a posteriori* de Duncan sont utilisés pour trouver les différences dans les concentrations de protéines, tannins condensés et phénols glycosides totaux des deux séries d'échantillonnage d'hiver, entre les échantillons prélevés dans les différentes plantations, entre les clones et finalement, entre les espèces parentales des hybrides.

##### 3.1.1 Normalité et homogénéité des variances

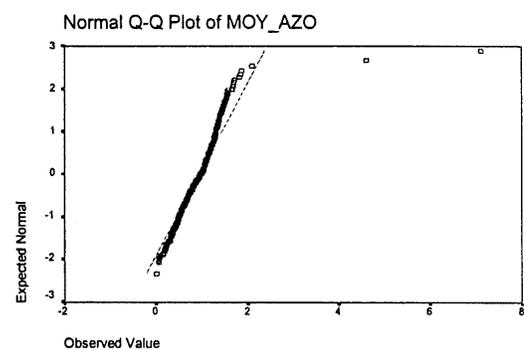
Le test de Kolmogorov-Smirnov a révélé que seule la hauteur des arbres avait une distribution normale ( $P = 0.200$ ). En employant la transformation de la racine carrée sur les données de phénols glycosides totaux, la distribution de cette variable s'est révélée normale, donc ces valeurs transformées ont été utilisées pour le reste de l'analyse des résultats ( $P = 0.053$ ). Aucune transformation n'a permis aux autres variables d'obtenir une distribution normale. Cependant, en observant les graphiques des valeurs normales attendues en fonction de valeurs obtenues (figure 1), on remarque que les résultats étaient très près de la courbe normale. Ainsi pour le reste des analyses statistiques, on a assumé que ces valeurs étaient distribuées normalement. La littérature démontre des variables telles que la hauteur et le diamètre des arbres ainsi que des concentrations de composés chimiques ont de façon générale une distribution normale, ce qui supporte la décision de les assumer comme telles (Bernays *et al.* 1981; Lindroth et Batzli 1984; Basey *et al.* 1988; Reichardt *et al.* 1990;

Hjalten *et al.* 1994; Kolehmainen *et al.* 1994; Orians et Fritz 1995; Orians *et al.* 1996; Becker et Makkar 1999). De plus, comme la plupart des analyses utilisées ici sont des analyses de variance qui supportent bien la non normalité des données, aucun biais ne devrait apparaître lors de l'analyse des résultats.

a)



b)



c)

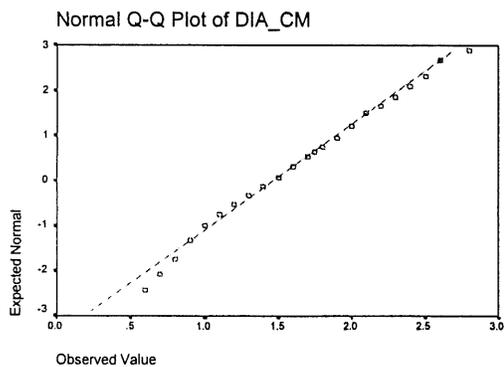


Figure 1 : Graphique des données normales attendues en fonction des données obtenues du diamètre (a), de la concentration en azote (b) et en tannins condensés (c).

Le test d'homogénéité des variances (tableau 4) révèle qu'uniquement les tannins condensés n'ont pas une variance homogène. Cependant, comme aucune transformation ne permet de modifier ce résultat et comme la normalité de cette variable a été assumé, des tests paramétriques ont été tout de même utilisés.

Tableau 4 : Test d'homogénéité des variances pour différentes variables

Variables	Statistique de Levene	df 1	df 2	Probabilité
Hauteur	0.899	9	516	0.525
Diamètre	0.798	9	516	0.619
Azote	1.356	9	516	0.205
Tannins condensés	2.783	9	509	0.003
Phénols glycosides	0.832	9	511	0.587

### 3.1.2 Différences dans les propriétés de l'écorce au cours de l'hiver

Dans le but de déterminer les différences de concentration entre les deux sessions d'échantillonnages, des tests de t de comparaison de moyennes sont utilisés. La figure 2 présente les principaux résultats obtenus.

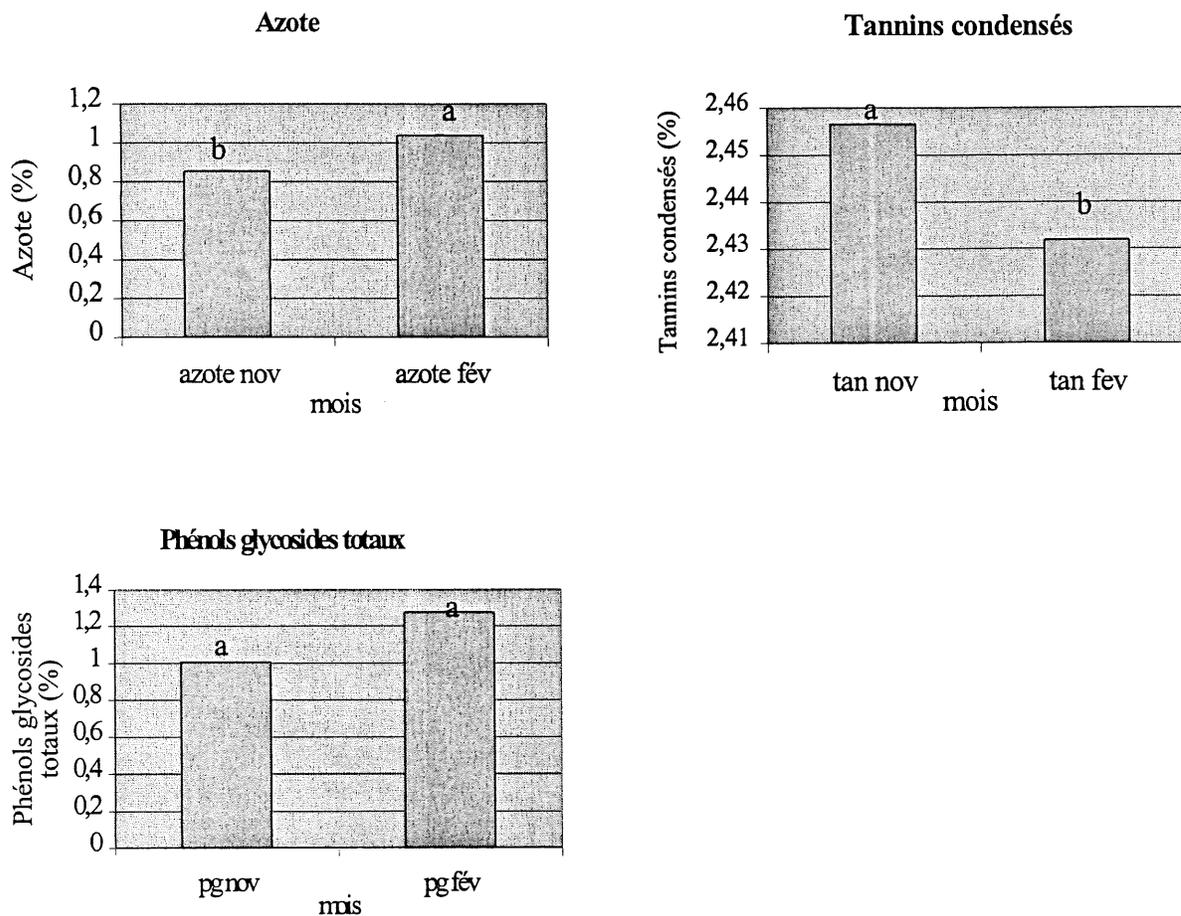


Figure 2 : Concentration des différents composés chimiques de l'écorce pour les mois de novembre- décembre 2000 et février-mars 2001. Pour chaque composé chimique prit séparément, des lettres différentes symbolisent des différences significatives selon des tests *a posteriori* de Duncan réalisés à un seuil significativité ( $\alpha$ ) de 0,05.

La concentration d'azote, donc de protéines et celle des phénols glycosides totaux a augmenté significativement au cours de l'hiver (tannins  $t = -4.389$ ;  $df = 524$ ;  $P < 0,001$ ; phénols  $t = - 5,051$ ;  $df = 519$ ;  $P < 0,001$  ). Par contre, les tannins condensés ont gardé une concentration relativement constante puisque la diminution observée sur le graphique n'était

pas significative ( $t = 0,217$ ;  $df = 523$ ;  $P = 0,829$ ). Ainsi, les deux seuls composés chimiques qui ont augmenté pendant l'hiver sont les protéines et les phénols glycosides totaux.

### 3.1.3 Différences entre les plantations pour chaque composé chimique

Comme chacun des clones considéré a été échantillonné dans trois endroits différents, soit deux plantations différentes de Domtar et à la pépinière gouvernementale de Berthier, il était intéressant de déterminer les différences en concentrations de composés chimiques entre ces trois sites pour un même clone. Des analyses de variance à deux critères de classification ont donc été effectuées entre les différents clones (premier critère) et les trois lieux d'échantillonnage (deuxième critère) pour chacun des trois composés chimiques pris individuellement. Les clones DN 4813 et MB 915 302 qui n'ont été échantillonnés que dans une seule plantation de Domtar ainsi qu'à Berthier ont été inclus dans l'analyse de variance. Contrairement à DN 4679 et BN 4909 qui n'ont été échantillonnés qu'à la pépinière de Berthier. Cette situation était due à la faible représentativité de ces clones dans les plantations de la compagnie. Des tests *a posteriori* de Duncan ont été effectués au niveau des lieux d'échantillonnage afin de déterminer si, de façon générale, un endroit diffèrait des deux autres en ce qui a trait à l'un ou l'autre des composés chimiques.

#### Azote total

Les résultats de l'ANOVA ont démontré qu'il y avait une différence significative entre les trois lieux d'échantillonnage pour les différents clones (interaction entre les deux critères) en ce qui a trait à la concentration de l'azote total ( $F_{2,33} = 5,479$ ;  $P < 0,001$ ). Dans le but de déterminer où s'applique cette différence au niveau des trois plantations, soit celles de Domtar et celle de la pépinière de Berthier, un test *a posteriori* de Duncan a été utilisé. À la

suite de ce test, on remarque, que pour la majorité des clones, les plantations de Domtar étaient en fait semblables ( $P = 0,515$ ) et que celle de la pépinière de Berthier différait quant au contenu d'azote total dans les plants. La figure 3 nous montre pour chacun des clones échantillonnés les différentes concentrations en azote dans chacune des trois plantations visitées. De façon générale, la concentration en azote à la pépinière de Berthier était significativement plus élevée que chez les clones des plantations de Domtar. En fait, cette différence était significative selon un test de t effectué entre les concentrations des différents lieux d'échantillonnages ( $t = -2,342$ ,  $df = 164$ ,  $P = 0,020$ ). Donc, l'écorce des tiges de peupliers de la pépinière forestière de Berthier avait généralement une concentration plus élevée en azote. L'analyse de variance nous a aussi indiqué une différence significative entre les concentrations en azote des clones (1<sup>er</sup> critère) ( $F_{20,40} = 3,25$ ,  $P < 0,001$ ).

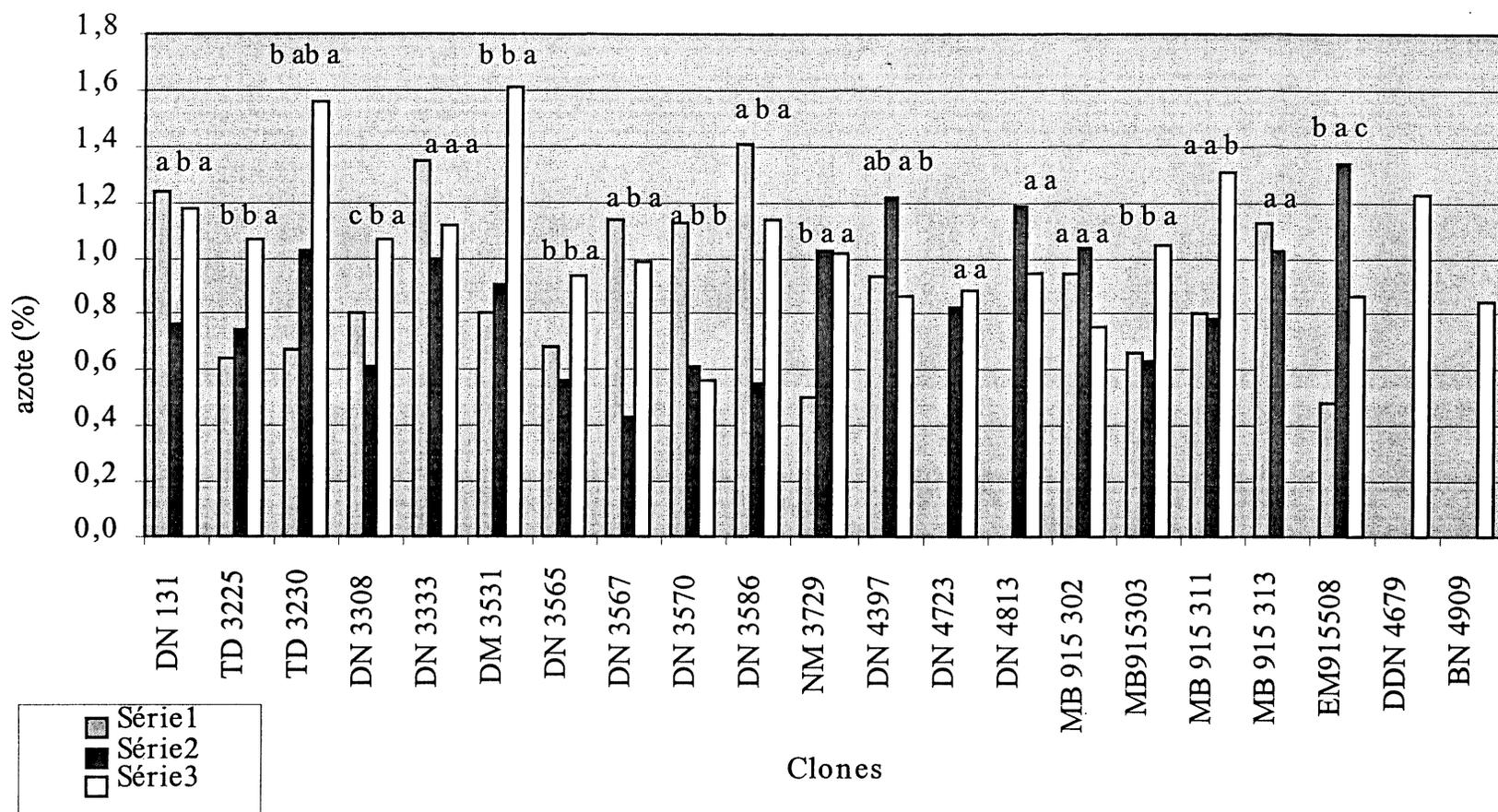


Figure 3 : Concentration moyenne en azote total de l'écorce des clones échantillonnés pour chacune de leurs plantations.

Légende : série 1 et 2 pour les plantations de Domtar, et série 3 pour la pépinière de Berthier. Pour chaque clone prit séparément, des lettres différentes symbolisent des différences significatives selon des tests *a posteriori* de Duncan réalisés à un seuil de signicativité ( $\alpha$ ) de 0,05.

## Tannins condensés

La même analyse de variance à deux critères de classification a été appliquée aux différents clones échantillonnés, mais cette fois en fonction de leurs concentrations en tannins condensés. L'analyse a démontré l'existence d'une différence significative entre les clones et les trois lieux d'échantillonnage (interaction entre les deux critères) ( $F_{2,33} = 5,433$  ;  $P < 0,001$ ). À l'image des concentrations en azote total, suite au test *a posteriori*, il a été démontré que de façon général, les arbres des plantations de Domtar avaient des concentrations semblables ( $P = 0,056$ ) en tannins condensés, différentes de celles de Berthier. Cette différence est très facilement observée à la figure 4 qui nous présente les concentrations en tannins condensés de chaque clone dans chacune des plantations testées. Cependant, à l'inverse de la concentration en azote total, celle des tannins condensés était significativement plus élevée dans les plantations de Domtar qu'à la pépinière de Berthier ( $t_{0,05, 151} = 9,511$ ;  $P = 0,000$ ), comme nous l'a révélé le test de t effectué. Ainsi, les arbres en plantation, donc sans traitement particulier, avaient tendance à produire plus de tannins condensés que ceux plantés en milieux contrôlés, comme à la pépinière de Berthier. De plus, l'analyse de variance nous a également révélé une différence significative entre les différents clones, donc selon le premier critère ( $F_{20,40} = 20,240$ ,  $P < 0,001$ ).

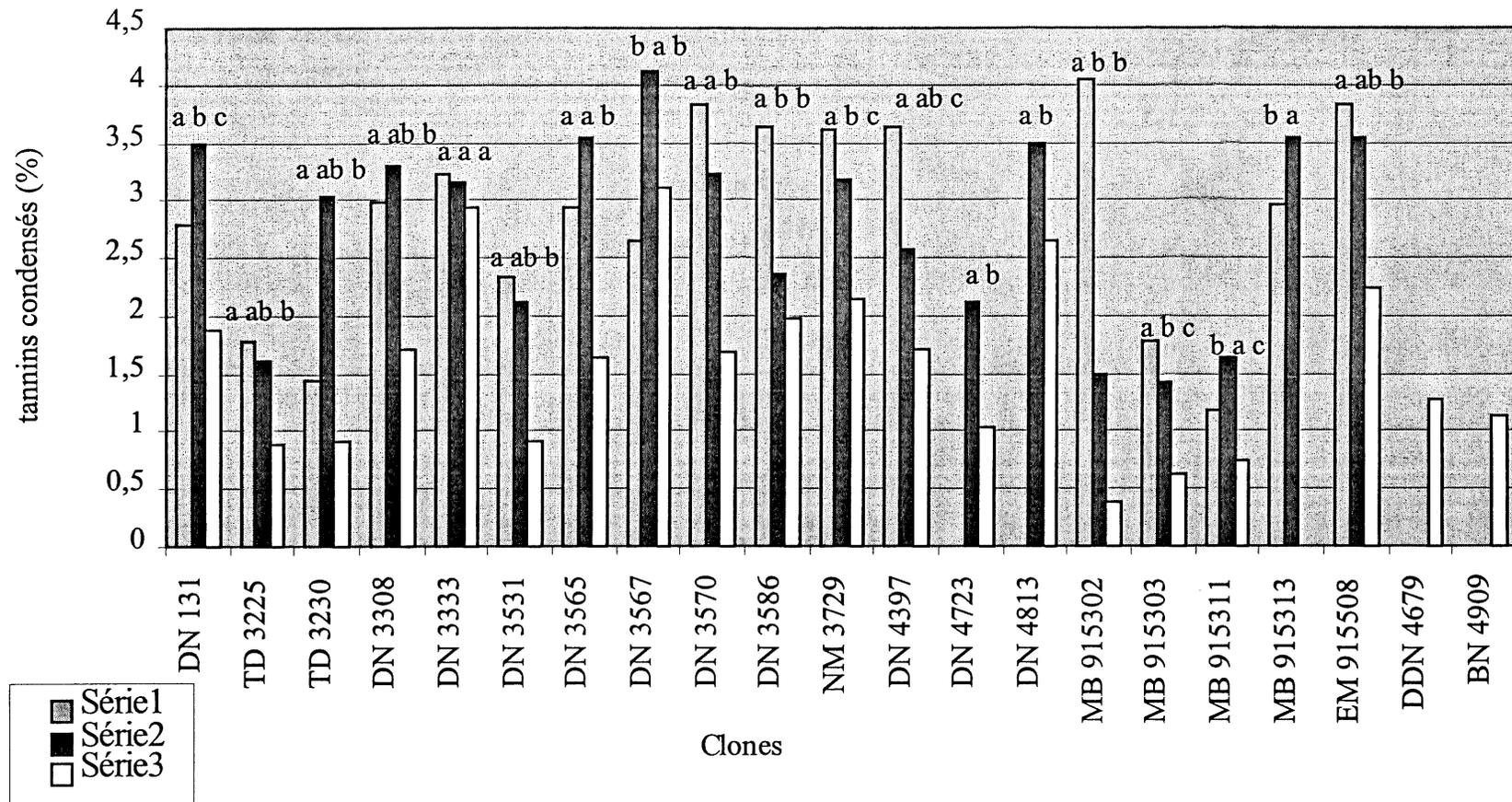


Figure 4 : Concentration moyenne en tannins condensés de l'écorce des clones échantillonnés pour chacune de leurs plantations. Légende : série 1 et 2 pour les plantations de Domtar, et série 3 pour la Pépinière de Berthier. Pour chaque clone pris séparément, des lettres différentes symbolisent des différences significatives selon des tests *a posteriori* de Duncan réalisés à un seuil de signficativité ( $\alpha$ ) de 0,05.

## Phénols glycosides totaux

Une dernière analyse de variance à deux critères de classification a été utilisée pour déterminer les différences de concentration en phénols glycosides totaux entre les clones des trois différentes plantations. Ce test nous a révélé qu'effectivement selon le premier critère, il existait une différence significative entre les concentrations de ce composé des différents clones ( $F_{20,40} = 5,251$ ;  $P < 0,001$ ). Il existe également différence entre trois lieux d'échantillonnages pour les différents clones (interaction entre les deux critères), en ce qui a trait à leur concentration en phénols glycosides totaux ( $F_{2,33} = 3,939$ ,  $P < 0,001$ ). Cependant, le test *a posteriori* de Duncan, révéla que les trois plantations avaient, pour la plus part des clones, la même concentration en phénols glycosides totaux. Il existait donc une différence entre les clones pour les concentrations en phénols glycosides, mais pas entre leurs plantations respectives.

Comme il est possible de le remarquer à la figure 5, qui présente la concentration en phénols glycosides totaux de chacun des clones pour chaque lieu d'échantillonnage, il existait bel et bien une différence entre les clones. De plus, une différence entre les plantations et la pépinière de Berthier était difficile à cerner comme le confirmait le test *a posteriori* de Duncan. Ainsi, les phénols glycosides totaux étaient les seuls composés chimiques étudiés ici à ne pas avoir de différence de concentration entre les plantations de Domtar et la pépinière de Berthier. Rappelons que les tannins condensés étaient présents en moins grande concentration en pépinière et que l'azote y a été retrouvée en plus grande quantité.

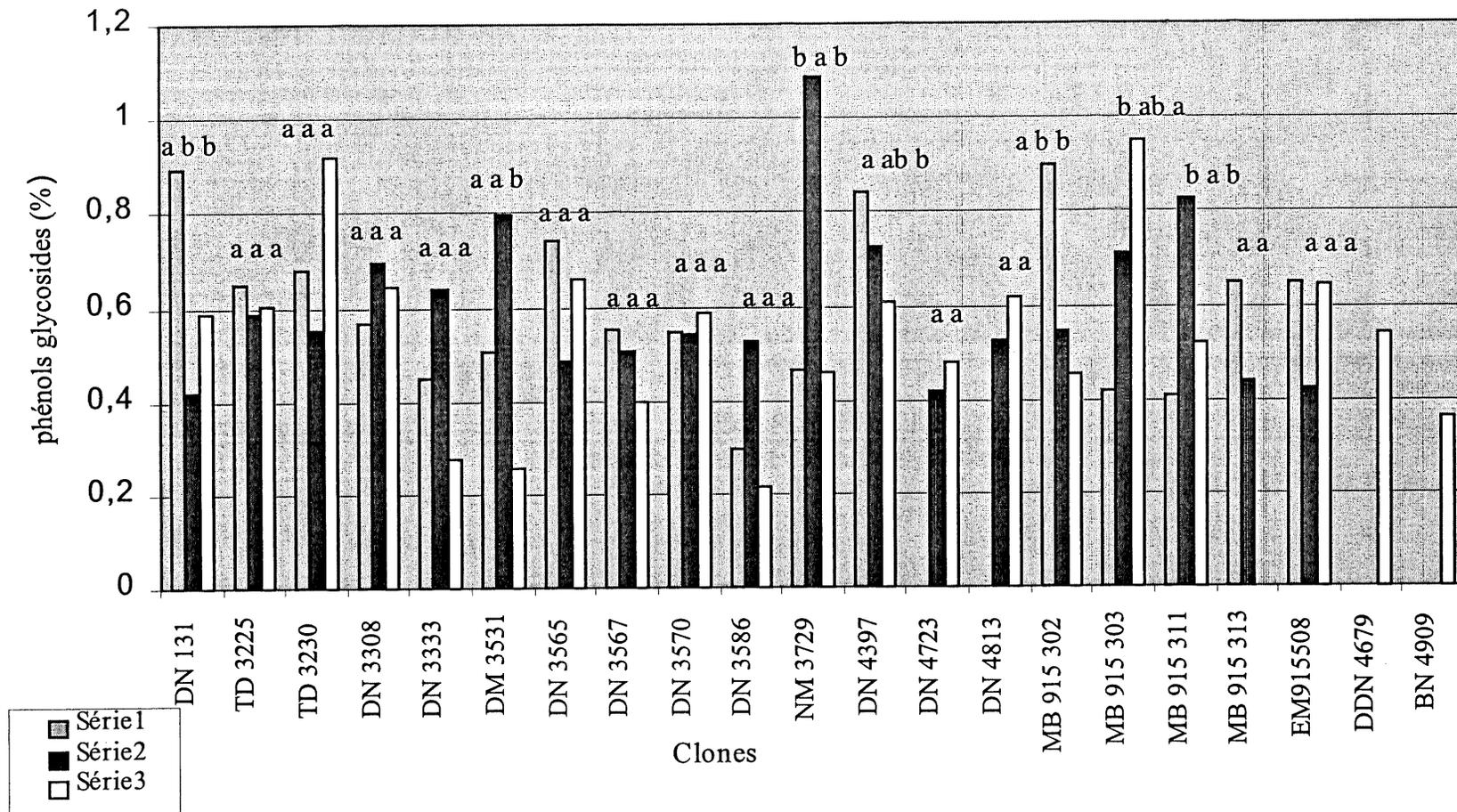


Figure 5 : Concentration moyenne en phénols glycosidés totaux des clones échantillonnés pour chaîne de leurs plantations. Légende : série 1 et 2 pour les plantations de Domtar, et série 3 pour la Pépinière de Berthier. Pour chaque clone prit séparément, des lettres différentes symbolisent des différences significatives selon des tests *a posteriori* de Duncan réalisés à un seuil de signicativité ( $\alpha$ ) de 0,05.

#### 3.1.4 Différences entre les hybrides utilisés

Les clones de six hybrides ont été utilisés au cours de l'étude soit DN, TD, NM, MB, EM (ou DN x M), et DM dont la provenance vient des plantations de Domtar. Seules les données sur les concentrations des produits chimiques de l'écorce en provenance de ces plantations étaient utilisées ici puisque celles de la pépinière de Berthier différaient significativement pour ce qui est des concentrations en azote total et en tannins condensés. Pour ne pas introduire une trop grande source d'erreur dans les analyses subséquentes, les données récoltées à la pépinière n'étaient pas utilisées pour ces tests. Afin de déterminer si les concentrations des différents composés chimiques variaient en fonction du croisement génétique de l'hybride, des analyses de variance à un seul critère de classification ont été utilisées. L'analyse de variance à un seul critère de classification appliquée sur les données d'azote total provenant des hybrides, nous démontrait bien qu'il n'existe aucune différence significative à ce niveau ( $F_{5,0,05} = 1,539$ ;  $P = 0,177$ ). Donc selon ce test, l'azote total de tous les arbres croisés possédait une concentration similaire.

L'ANOVA à un critère a démontré une différence significative en tannins condensés entre les hybrides ( $F_{5,0,05} = 19,882$ ;  $P = 0,000$ ). Le test post hoc de Duncan a permis de déterminer qu'il y avait en fait présence de deux groupes d'hybrides ayant des concentrations significativement semblables soit, TD, DM, MB ( $P = 0,342$ ) et DN, NM, EM (ou DN x M) ( $P = 0,661$ ). On remarque que les clones du deuxième groupe ont en commun un parent d'espèce *P. nigra*. Cette ségrégation était particulièrement visible à la figure 6 qui nous démontrait bien que le premier regroupement d'hybrides contenait moins de tannins condensés que le second.

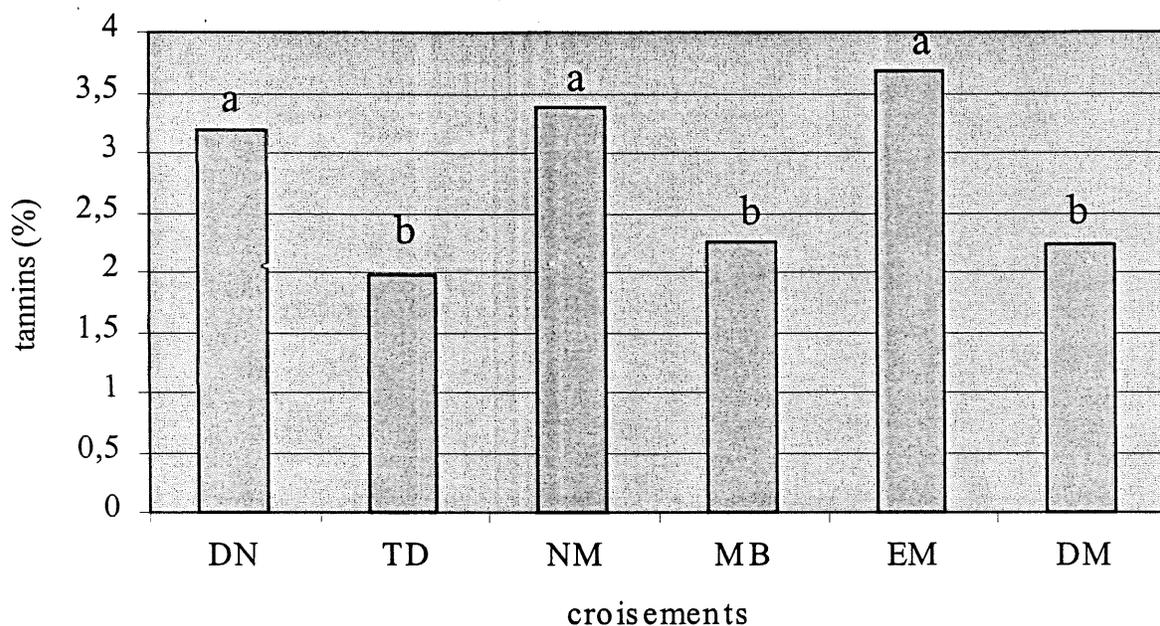


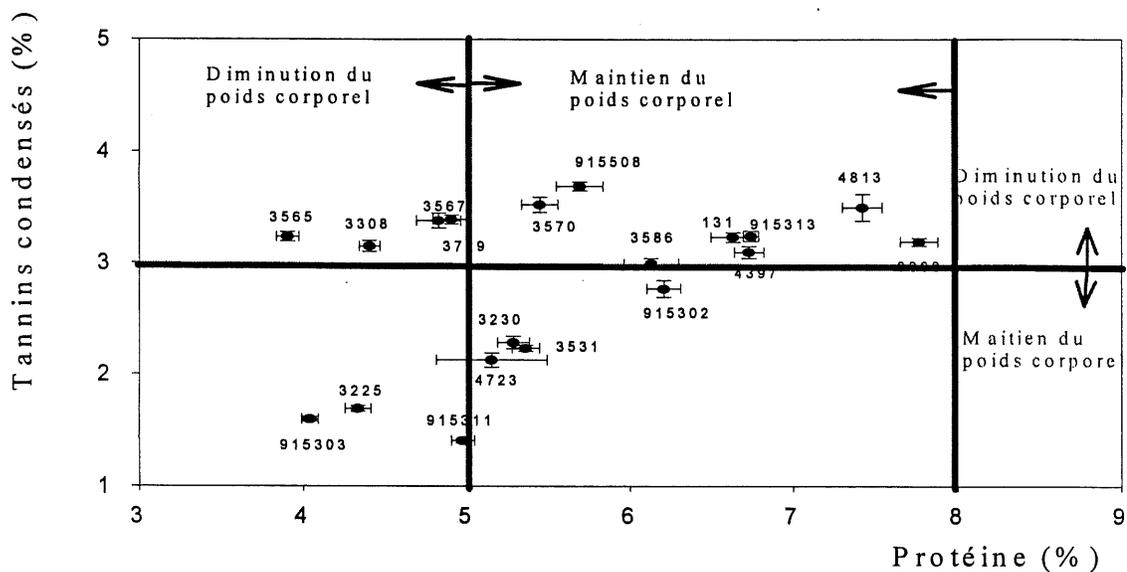
Figure 6 : Histogramme de la concentration moyenne de tannins condensés pour les différents hybrides retrouvés sur les plantations de Domtar. Des lettres différentes symbolisent les différences significatives entre les clones selon un test *a posteriori* de Duncan réalisé à un seuil de significativité ( $\alpha$ ) de 0,05.

Finalement, à l'image de l'azote total, l'ANOVA effectuée sur les données en phénols glycosides totaux n'indiquait pas de différence significative entre les différents hybrides. En effet, l'analyse de variance à un seul critère de classification utilisée nous indiquait une similarité entre les hybrides ( $F_{5,0,05} = 1,294$ ;  $P = 0,266$ ). Donc, l'origine des hybrides ne semblait pas influencer leurs concentrations en phénols simples.

### 3.2 Classification des clones

Comme nous le confirment les tests d'analyse de variance réalisés précédemment, les concentrations en protéines, tannins condensés et phénols glycosides totaux variaient significativement entre les clones. Ces relations sont illustrées à la figure 7 qui représente les 19 clones en fonction de leurs teneurs moyennes en composés chimiques. Les données présentées à la figure 7 regroupent uniquement celles des plantations de Domtar. C'est grâce à ces différences significatives entre les clones qu'il a été possible d'établir un axe d'analyse de risques face à l'attaque du campagnol des champs. Comme mentionner en introduction, les limites présumées pour les protéines (entre 5 et 8 %) permettaient de déterminer si les clones en contiennent assez pour subvenir aux besoins vitaux du campagnol. Quant à celles déterminées pour les tannins condensés (3 %) et les phénols glycosides totaux (1 %), elles permettaient d'établir si les clones ont une ou deux défenses suffisantes contre le rongeur. Ces trois niveaux de ségrégation entre les clones créaient six ensembles dans lesquels pouvaient être classés les 19 clones à l'étude. Donc, il a été possible de regrouper les clones ayant suffisamment de protéines pour les besoins du rongeur et de les subdiviser en trois groupes différents soit ceux ayant deux, une ou aucune défense efficace contre le campagnol. Il en a été de même pour le regroupement de clones n'ayant pas assez de protéines pour intéresser le rongeur. Trois groupes lui ont également été attribués selon le nombre de défenses efficaces qu'ils contiennent. Au total, six groupes de clones pouvaient être établis selon les préférences alimentaires supposées du campagnol. Ces regroupements de clones permettront par la suite d'élaborer une axe d'analyse de risque des peupliers hybrides à l'attaque du campagnol des champs. Le tableau 5 représente les six groupes établis selon les limites des composés chimiques fondées sur la préférence alimentaire supposée du campagnol.

a)



b)

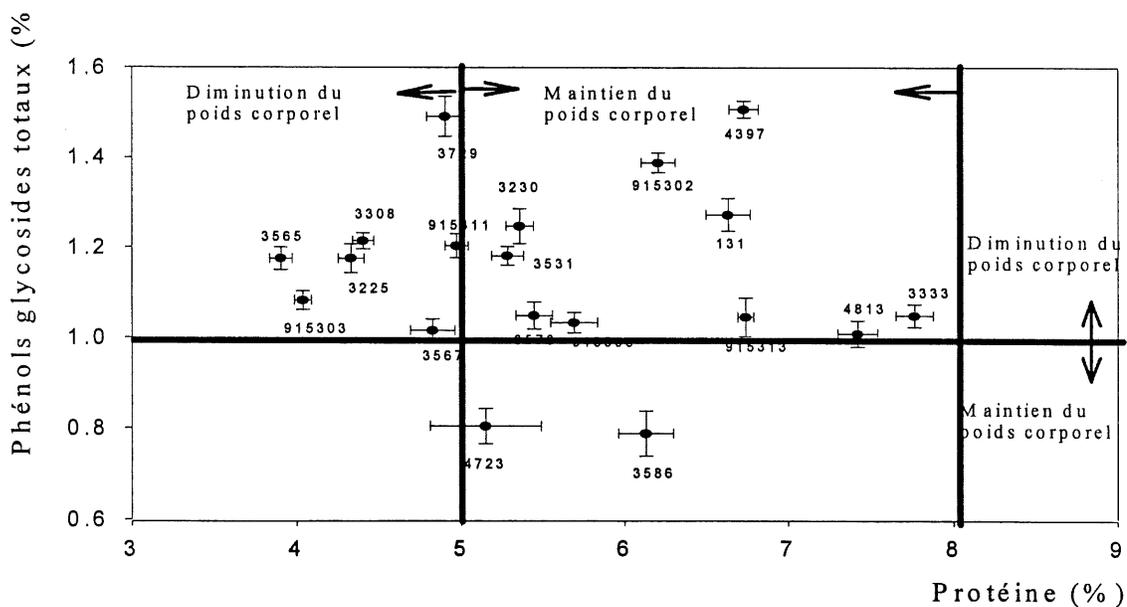


Figure 7 : Relation entre le pourcentage moyen (de poids sec) de protéines en fonction du pourcentage moyen de tannins condensés (a), ou du pourcentage moyen de phénols glycosylés totaux (b) pour les 19 clones échantillonnés incluant les limites supposées guidant le choix alimentaire du campagnol.

Tableau 5 : Les six groupes de clones établis en fonction des préférences alimentaires présumées du campagnol des champs (*Microtus pennsylvanicus*).

	<b>Deux défenses valables</b> contre le campagnol (tannins condensés et phénols glycosides totaux)	<b>Une défense valable</b> contre le campagnols (tannins condensés ou phénols glycosides totaux)	<b>Aucune</b> défense suffisante
<b>Protéines</b>	DN 3570	DN 3586	DN 4723
<b>suffisantes</b> pour	DN 131	DM 3531	
assurer une	DN 4397	TD 3230	
croissance normale	DN 4813	MB 915 302	
du campagnols	DN 3333		
	MB 915 313		
	EM 915 508		
<b>Protéines</b>	DN 3565	TD 3225	Aucun
<b>insuffisantes</b> pour	DN 3308	MB 915 303	
assurer une	DN 3567	MB 915 311	
croissance normale	NM 3729		
du campagnol			

### 3.3 Évaluation du taux de dommages aux jeunes arbres

Les distributions de fréquences résultant de l'étude sont présentées au tableau 6. Comme les densités de campagnols n'étaient certainement pas les mêmes dans chaque plantation et pouvaient même varier à l'intérieur de ces dernières, les comparaisons en ce qui a trait aux dommages subis devaient toujours être faites entre clones près les uns des autres. De cette façon, on diminuait les risques de comparer des clones poussant dans des habitats n'ayant pas une densité semblable de campagnols des champs. Des tests de khi-carré ont été effectués afin de déterminer si les distributions de fréquences des dommages subis par les arbres étaient semblables d'un clone à l'autre. Ces tests ont été effectués pour chacune des plantations et sont présentés au tableau 7. Les arbres de Berthier n'ont pas été inclus dans cette investigation puisque normalement les quartiers de pieds-mères de la pépinière sont récoltés à l'automne précédent, ne laissant aucune tige de peuplier à l'extérieur pour la saison froide.

Tableau 6 : Distribution de fréquences des dommages subis par les clones de chacune des plantations

Secteur	Clones	Portion de la circonférence du tronc endommagée				
		0 %	25 %	50%	75 %	100 %
Aston-Jonction	DN 3308	93	5	2	0	0
	DN 3333	60	31	9	0	0
	DN 3333*	50	25	14	6	5
	DN 3565	20	55	15	7	3
	DN 3565*	40	24	28	6	2
	DN 3567	89	11	0	0	0
	DN 3570	48	28	12	9	3
	DN 3586	20	28	15	3	34
	DM 3531	53	28	8	8	3
	DM 3531*	80	16	3	1	0
	NM 3729	24	19	18	23	16
	TD 3225	36	33	14	8	9
	TD 3225*	86	11	2	1	0
	L'Avenir	EM 915508	70	27	2	0
DN 131		53	33	10	3	1
DN 4397		47	28	18	5	2
TD 3230		75	23	2	0	0
Saint-Camille	DN 131	19	43	23	8	7
	MB 915303	48	25	12	9	6
	NM 3729	66	26	4	3	1
Sainte-Catherine	MB 915302	57	27	12	2	2
	MB 915311	28	19	23	13	17
	MB 915313	69	14	9	5	3
Saint-Claude	EM 915508	47	45	5	3	0
	DN 3308	17	32	24	22	5
	DN 4397	58	30	8	4	0
	MB 915303	23	31	26	12	8
	MB 915311	17	23	23	25	12
	MB 915313	69	24	6	2	0
	TD 3230	23	44	23	8	2
Valcourt	DN 3567	46	33	11	8	2
	DN 4723	10	29	24	21	16
	MB 915302	5	32	22	22	19
Windsor	DN 3570	51	32	7	1	9
	DN 3586	64	31	4	1	0
	DN 4813	39	44	12	3	2

\*Signifie que le clone a été récolté deux fois sur la même plantation.

Tableau 7. Résultats des tests de khi-carré entre les distributions de fréquence des dommages subis par les clones pour chacune des plantations à l'étude.

Secteur de :	Valeur du khi-carré de Pearson	Degré de liberté	Probabilité
Aston-Jonction	757,603	48	<0,001
Avenir	96,352	12	<0,001
Saint-Camille	78,085	8	<0,001
Sainte-Catherine	55,758	8	<0,001
Saint-Claude	302,019	24	<0,001
Valcourt	83,462	8	<0,001
Windsor	38,716	8	<0,001

Comme il est possible de le remarquer, pour toutes les plantations à l'étude, les clones avaient des distributions de dommages différentes les uns des autres. Cependant, en observant ces distributions de fréquence pour chacune des plantations prise séparément, on remarque que certains clones d'une même plantation avaient des taux de dommages semblables.

Par exemple, la plantation de Valcourt était caractérisée par deux clones fortement endommagés ayant une distribution de fréquences semblable soit DN 4723 et MB 915 302 ( $X^2 = 1,994$ ,  $df = 4$ ,  $P = 0,737$ ) et par le clone DN 3567 qui était nettement moins attaqué que ces derniers. La plantation du secteur de Saint-Camille par contre avait réellement des taux de dommages différents pour chacun des clones qui y a été étudié. Pour les plantations du secteur d'Aston-Jonction, de Sainte-Catherine, de Saint-Claude, de l'Avenir et de Windsor, des comparaisons de dommages entre les clones étaient impossibles, car la plupart

étaient trop éloignés les uns des autres pour admettre des comparaisons valables, le risque étant trop grand pour que les densités de campagnol soient différentes entre les habitats abritant les clones.

À l'intérieur de la plantation d'Aston-Jonction, il a été possible de comparer les clones DN 3308, TD 3225\*, DN 3567 et DN 3570 puisque ces derniers étaient à courte distance les uns des autres. Un test de khi-carré nous a révélé que le clone DN 3570 se distinguait des trois autres clones par sa distribution de fréquence des dommages. En fait, ce clone était plus endommagé que les trois autres par l'action du campagnol. Pour ce qui était des clones TD 3225\*, DN 3567 et DN 3308 ayant une distribution de dommages qui n'était pas significativement différente ( $X^2 = 11,321$ ;  $df = 8$ ;  $P = 0,184$ ), ils étaient caractérisés par peu de signes d'attaque du rongeur. Dans la plantation d'Aston-Jonction, un second regroupement de clones comprenant DN 3586, DN 3531\*, DN 3729 et DN 3565 a pu être comparé. Un test de khi-carré a révélé que les clones DN 3565 et DN 3531\* avaient une distribution de fréquence des dommages qui n'était pas significativement différente ( $X^2 = 1,368$ ;  $df = 4$ ;  $P = 0,850$ ). En fait, ces derniers n'étaient pas grandement endommagés par le campagnol. Ils étaient différents du clone DN 3586 qui était plus endommagé par les rongeurs. Le clone DN 3729 présentait un endommagement considérable comparativement aux trois autres clones. Pour la plantation du secteur de L'Avenir, uniquement trois clones pouvaient être comparés grâce à leur proximité géographique. On a trouvé que DN 3230 était le clone qui avait été le moins attaqué dans la plantation. De plus, un test de khi-carré nous a démontré que DN 131 et DN 4397 ( $X^2 = 6,475$ ;  $df = 4$ ;  $P = 0,166$ ) étaient les plus endommagés. Pour la plantation de Saint-Claude uniquement la proximité des clones DN 3308, MB 915 303, MB 915 311 et TD 3230 rendait des comparaisons possibles. Les résultats du test de khi-carré ont démontré que les clones TD 3230 et MB 915 303 avaient des dommages comparables ( $X^2 = 9,292$ ;  $df = 4$ ;  $P = 0,054$ ). En fait, ils étaient ceux ayant

---

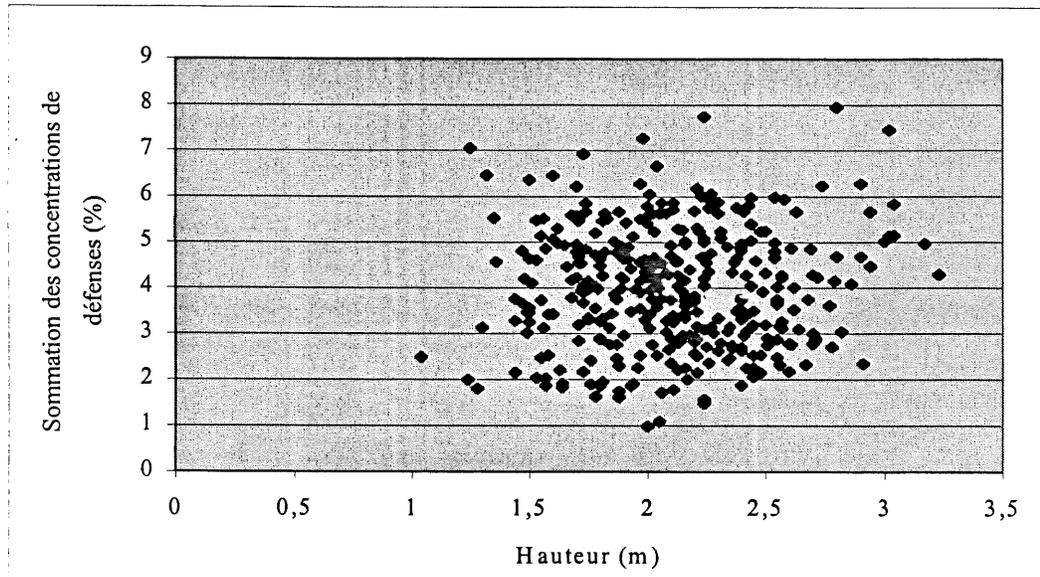
\* Certains clones avaient été échantillonnés deux fois dans le secteur d'Aston-Jonction à des endroits différents puisque cette plantation était très grande. L'astérisque indique le second endroit d'échantillonnage pour un même clone.

été le moins endommagés par le rongeur, suivis par le clone MB 915 311 avec des dommages plus importants, puis finalement par DN 3308 qui présentait des dommages sévères dus au grugeage par le campagnol des champs.

### 3.4 Corrélations entre la hauteur totale et le diamètre des clones; et leurs concentrations en composés secondaires de défense.

Des corrélations de Pearson ont été utilisées dans le but de déterminer s'il existait une relation entre la hauteur totale et le diamètre des arbres et la concentration de composés secondaires de défenses. Tout d'abord, les concentrations en tannins condensés et en phénols glycosides ont été cumulées pour chaque arbre afin de les corréler aux variables précédentes. Comme tous les clones échantillonnés ont le même âge, nous avons soupçonné que les arbres les plus hauts avaient eu une croissance plus rapide. En suivant la théorie de la balance carbone/nutriment, plus une plante croît rapidement, moins il pourrait rester de carbone disponible pour la production de défenses. Il était donc attendu de trouver, suite à ce test, une corrélation négative entre ces deux processus. C'est donc pourquoi les défenses des arbres ont été en premier lieu regroupées puisque ce n'était pas tant le type de métabolite secondaire qui importait pour cette analyse, mais plutôt la production globale de défenses à base de carbone. La figure 8 présente les corrélations entre la concentration de défenses en fonction de la hauteur totale et du diamètre des arbres.

a)



b)

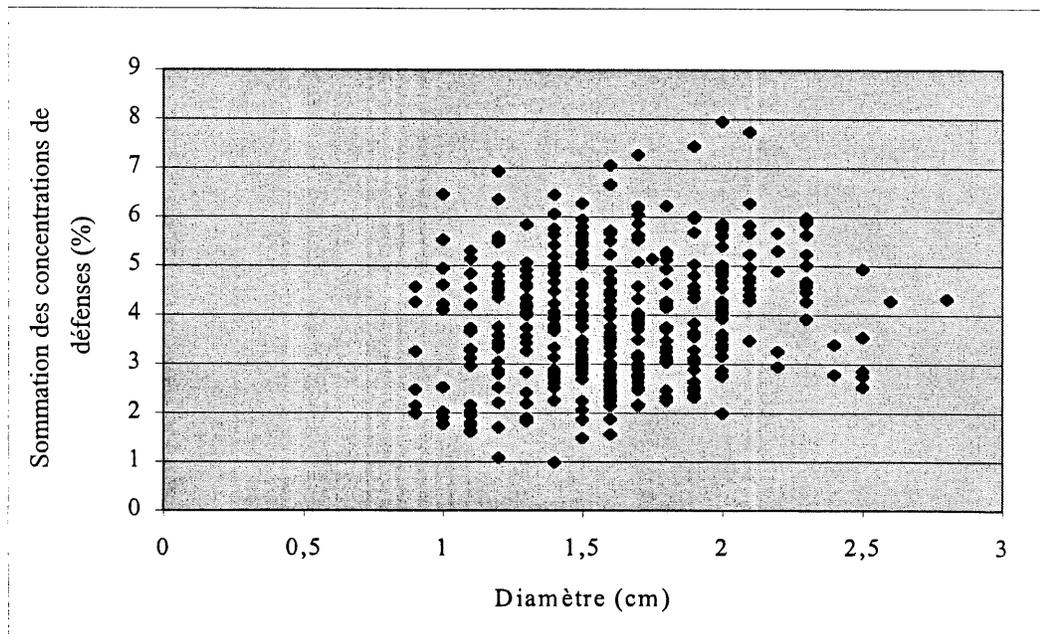


Figure 8 : Concentration de défenses (tannins condensés + phénols glycosides totaux) en fonction de la hauteur totale (a) et du diamètre (b) des arbres.

Les tests de corrélation de Pearson ont révélé une corrélation positive et significative entre les concentrations en défenses et la hauteur totale des arbres ( $r = 0,286$ ;  $df = 526$ ;  $P = 0,000$ ). Il en est allé de même entre les concentrations en défenses et le diamètre des arbres ( $r = 0,362$ ;  $df = 526$ ;  $P = 0,000$ ). Donc selon le coefficient de corrélation, 8 % et 13% de la variation des concentration de défenses s'explique respectivement par la variation de la hauteur totale et la variation du diamètre des clones. Inversement à ce qui était attendu, ces corrélations étaient positives, donc la production de défenses augmentait en même temps que la hauteur totale et le diamètre de l'arbre jusqu'à 3 cm de diamètre et 3,5 m de hauteur. Afin de déterminer si la production d'un type de métabolite secondaire influençait davantage que l'autre cette corrélation positive, d'autres tests de corrélation de Pearson ont été effectués, mais cette fois en testant les tannins condensés et les phénols glycosides totaux séparément. En fait, cette relation était surtout due aux concentrations de tannins condensés. Uniquement les tannins condensés ont formé des corrélations positives avec la hauteur totale ( $r = 0,321$ ;  $df = 526$ ;  $P = 0,000$ ) et le diamètre ( $r = 0,410$ ;  $df = 526$ ;  $P = 0,000$ ) de l'arbre, tandis que les phénols glycosides totaux n'avaient aucune relation significative avec ces paramètres, en hauteur totale ( $r = -0,029$ ;  $df = 526$ ;  $P = 0,510$ ) et en diamètre ( $r = -0,031$ ;  $df = 526$ ;  $P = 0,484$ ). Il existait donc bien une corrélation positive entre la production de défenses et la hauteur totale et le diamètre d'un arbre, cependant cette dernière était principalement reliée aux concentrations en tannins condensés chez de jeunes plants de deux ans.

## CHAPITRE 3

### DISCUSSION

#### 4.1 Comportement général des composés chimiques au cours de l'hiver

Dans cette section, nous discuterons des facteurs pouvant influencer la nature des résultats obtenus sur les concentrations en azote, en tannins condensés et en phénols glycosides totaux. Le comportement général de ces composés chimiques sera comparé entre les différentes périodes d'échantillonnage, entre les trois lieux d'échantillonnage et finalement, entre les types d'hybrides.

##### 4.1.1 Différences dans les propriétés de l'écorce au cours de l'hiver

La concentration des clones en azote total a augmenté au cours de l'hiver comme l'ont démontré d'autres études. À la fonte des neiges, l'azote et le potassium contenus dans le tronc et les racines sont dirigés vers les nouvelles feuilles et les bourgeons pour toute la saison de croissance. Vers la fin de l'automne lors de la chute des feuilles, l'inverse se produit, l'azote est alors redirigé vers le tronc et les racines où ils sont stockés pour la saison froide (Chapin *et al.* 1980; Chapin *et al.* 1986). Palo et collaborateurs démontrèrent également en 1985 que la concentration en protéines d'une espèce de bouleau (*Betula pendula* Roth) augmentait entre les mois d'automne et d'hiver, pour diminuer à l'été (Palo *et al.* 1985). Donc, ayant échantillonné à la fin de l'automne et au milieu de l'hiver, nous nous attendions à observer une teneur plus importante d'azote chez les clones durant la saison froide, car cette teneur commence à remonter en hiver pour se stabiliser à l'été et retomber à l'automne.

Comme l'azote, la concentration en phénols glycosides totaux a augmenté au cours de l'hiver. Il est généralement accepté qu'avant l'entrée en période de dormance, la concentration d'un arbre en composés secondaires de défense augmente. Ainsi, l'arbre est davantage défendu contre les rongeurs au cours de la période intense de dommages qui se situe entre les mois de novembre et décembre (Swihart 1990). Cette augmentation s'effectue généralement vers la fin de l'automne lorsque la température commence à refroidir significativement (Palo 1984; Palo 1985b; Hansson *et al.* 1986 b; Palo 1992). Ces concentrations diminuent par la suite à partir du printemps lorsque le temps plus doux s'installe (Palo 1985b).

Ce phénomène n'est pas observable pour la concentration en tannins condensés qui reste la même au cours des deux périodes d'échantillonnage. Deux phénomènes pourraient expliquer cette situation. Il est possible que les tannins condensés ne suivent tout simplement pas la règle générale décrite par la littérature pour les composés de défense. Cependant, cette situation est peu probable vu le grand nombre d'études réalisées sur ce sujet et ayant pour résultat une augmentation de concentration à l'approche de la saison froide (Palo 1984; Palo 1985b; Hansson *et al.* 1986b; Swihart 1990; Palo 1992). L'explication la plus plausible serait que l'augmentation en concentration de tannins condensés aurait été initiée avant la première prise de données. Ainsi, la concentration maximale que ce composé secondaire doit atteindre pour la période de dormance aurait déjà été atteinte au moment du premier échantillonnage. Malgré, une deuxième prise d'échantillons d'hiver, la teneur en tannins condensés n'aurait pas varié de façon significative puisque la concentration hivernale aurait été atteinte vers la fin de l'automne. Ce phénomène nous paraît le plus plausible, puisque comme mentionné précédemment la littérature nous indique que la concentration de tannins condensés augmente normalement pour l'hiver.

#### 4.1.2 Différences entre les plantations pour chaque composé chimique

L'écorce des tiges en provenance de la pépinière de Berthier avaient une plus grande concentration en azote total que les celles en plantations de Domtar. Cette différence est attribuable à la fertilisation des sols en pépinière. La teneur en azote, en phosphore ainsi qu'en potassium est contrôlée dans les quartiers de pieds mères, tandis que les plantations ne sont pas fertilisées. En juillet 2000, 50 kg/ha de 28-14-14 (N-P-K) ont été épandus sur les quartiers des pieds-mères. Ceci se traduit par un ajout de 14 kg/ha d'azote, 3,08 kg/ha de phosphore et 5,81 kg/ha de potassium (A. Déziel 2001, comm. pers., août 2001). Il est donc normal d'observer dans nos résultats, pour l'hiver 2000-2001, une teneur plus élevée en azote total à la pépinière de Berthier qu'en plantations.

À l'inverse de l'azote total, les clones en plantations ont une plus grande teneur en tannins condensés qu'à la pépinière de Berthier. Deux hypothèses ont été formulées pour tenter d'expliquer cette situation. Les arbres ont été extraits des plate-bandes de pépinière l'automne précédent leur transplantation, puis ont passé l'hiver à l'intérieur à une température de  $-2^{\circ}\text{C}$ , pour finalement être mis en terre dans l'une des plantations de Domtar (Périnet 2000). Ceci pourrait être dû au un stress énorme subi à leur transplantation d'un milieu contrôlé vers un milieu naturel plus ou moins stressant. Il est généralement reconnu que les arbres ayant subi un tel stress augmentent leurs concentrations en composés secondaires de défense. Par exemple, Kiribuchi et collaborateurs démontrèrent en 1998 que les plantes ayant subi un bris de tige ou une transplantation présentent une augmentation soudaine de protéine kinase C. Les auteurs utilisèrent cette protéine comme biomarqueur, puisque cette dernière est en fait un inducteur de la production de composés de défense tels que les phénols. Donc, plus on retrouve cette protéine en grande quantité dans une plante, plus elle induit la production de phénols dans son organisme. Elle est donc un bon indicateur du niveau de défense. Ainsi, ils observèrent que les plants de riz utilisés pour l'expérience montraient une augmentation de concentration en protéine kinase C suite à des traitements

physiques tels que des blessures ou la transplantation (Kiribuchi *et al.* 1998). Selon Inbar et collaborateurs (2001), il en va de même pour les plantes en déficit d'azote et d'eau. En exposant des plantes à un milieu pauvre en azote et/ou en eau, ils démontrèrent que la production de composés secondaires de défenses phénoliques augmente (Inbar *et al.* 2001). Plusieurs autres études vont dans le même sens que celles présentées ici (Muller *et al.* 1987; English-Loeb *et al.* 1997). Le stress des plantes induit généralement une diminution de la croissance, sans nécessairement induire une diminution équivalente de photosynthèse. Alors, le carbone fixé par cette dernière peut servir en partie à la production de composés secondaires de défense, ce qui va dans le sens de la théorie de la balance carbone/nutriment des plantes (Bryant *et al.* 1983). Rappelons que cette théorie stipule que l'allocation du carbone disponible à la croissance est inversement proportionnelle à la production de composés secondaires chez les plantes. Ainsi, lorsque les nutriments tels que l'azote diminue, la croissance diminue également et le carbone alors disponible est utilisé en partie pour la production de composés secondaires pouvant servir de défense contre les herbivores (Fox 1981; Prudhomme 1983; Bryant *et al.* 1983; Bazzaz *et al.* 1987; Bryant et Julkuentiitto 1995). En période de stress, comme la croissance des plantes diminue, le carbone non utilisé peut alors servir pour la voie métabolique des défenses (Larsson *et al.* 1986). Ainsi, nous pouvons supposer que comme les arbres étudiés dans ce cas-ci sont très certainement stressés par leur transplantation récente et leur changement de milieu, il est normal de noter une augmentation de composés secondaires de défense à base de phénols chez les clones.

La faible concentration de tannins condensés à la pépinière de Berthier peut également être reliée à la fertilité du sol. En effet, plusieurs études ont démontré que plus un sol est fertile en azote, plus la concentration en tannins condensés diminue (Gartlan *et al.* 1980 ; Bryant *et al.* 1987 ;Muller *et al.* 1987 ; Hartley *et al.* 1995). Encore une fois ce phénomène est relié à la théorie de la balance carbone/nutriment. Lorsque les nutriments dans le sol sont faibles en concentration, la croissance est limitée par l'azote donc le surplus de carbone peut servir à augmenter les concentrations en composés secondaires de la plante. Bryant et ses

collaborateurs (1987) démontrèrent qu'une fertilisation en azote et en phosphore ou qu'une simple fertilisation à l'azote occasionne une augmentation importante de la croissance des bouleaux résultant ainsi en une baisse significative de la concentration des phénols totaux, des tannins condensés ainsi que d'acide paperique. Il remarquèrent également que les bouleaux poussant sur des sols fertiles étaient préférés par les lièvres (*Lepus americanus*) (Bryant *et al.* 1987). Il en a été de même pour l'étude de Muller et collaborateurs (1987) qui étudièrent la production de composés secondaires le long d'un gradient de fertilité des sols. Ils notèrent que le long de ce gradient où les concentrations en azote et en calcium du sol vont en diminuant, les concentrations en polyphénols augmentaient. Ainsi, dans un gradient de disponibilité des ressources, les plantes poussant dans un site pauvre en nutriments auront une grande concentration en composés secondaires de défense. Les plantes d'un sol fertile seraient donc plus à risque d'être endommagé par les herbivores (Muller *et al.* 1987). Le sol de la pépinière de Berthier ayant été fertilisé à l'azote et au phosphore, il était attendu d'y trouver une faible concentration en tannins condensés dans les clones. Comme aucune donnée sur les dommages n'y a été relevée, aucune comparaison entre les taux de dommages de la pépinière et ceux des plantations de Domtar n'a été possible dans cette étude.

Les phénols glycosides totaux qui sont des phénols simples n'augmentent pas en concentration entre les arbres des plantations de Domtar et ceux de la pépinière de Berthier. Ainsi, ce composé secondaire de défense ne semble pas être influencé par le stress ou une baisse en nutriments que peuvent occasionner les conditions de croissance en plantations. La plupart des études réalisées sur le stress des plantes ou des arbres utilisent comme point de référence, pour les défenses, les phénols totaux. Les travaux étudiant un groupe de défenses aussi spécifique que les phénols glycosides sont peu nombreux. Larsson et collaborateurs (1986) ont toutefois fait l'étude du salicyl alcool dans les plantes en condition de déficit en azote ou en carbone. Ils remarquèrent que contrairement aux tannins condensés qui augmentent lors de déficit d'azote et diminuent en situation de déficit de carbone, ce composé qui est l'aglycone correspondant au salicortin et au salicin diminue dans les deux

cas. Ces comparaisons sont faites avec des plantes poussant dans des milieux optimaux. Au cours de l'étude, d'autres acides phénoliques (acide cafféique, acide p-coumaric et acide benziqque) ont augmenté en concentration dans les milieux déficitaires en azote. La raison pour laquelle la concentration des phénols glycosides de la présente étude dérogent de la règle présentée précédemment est inconnue. Ainsi, selon les conclusions de cette étude, les phénols glycosides totaux sont influencés à la baisse par une période de stress. Nos résultats ne démontrant pas non plus une diminution de concentration de ses composés secondaires de défense entre les plantations et la pépinière, une autre explication est plausible. Il est possible que de par le métabolisme rapide de remplacement des phénols glycosides, leur accumulation devient moins évidente lors de périodes de stress. Effectivement, les tannins condensés ayant un taux de remplacement plus lent, il se peut donc qu'il y ait une accumulation de ces composés lors de période de ralentissement de croissance. Donc, selon les résultats d'études antérieures, les tannins condensés semblent suivre le mécanisme d'action de la théorie de la balance carbone/nutriments, mais pas les phénols glycosides totaux qui diffèrent dans la vitesse de remplacement de ces composés (Reichardt *et al.* 1991). Nos résultats ne nous permettent pas de vérifier avec certitude qu'une baisse de croissance due à un stress a eu lieu lors de la première année en plantation, donc nous ne pouvons pas confirmer que les tannins condensés suivent la théorie de la balance carbone/nutriments. Cependant l'hypothèse d'une différence de taux de remplacement entre les deux composés secondaires peut expliquer qu'une augmentation de concentration entre les clones des plantations et de la pépinière soit visible pour les tannins condensés et non pour les phénols glycosides totaux.

#### 4.1.3 Différences entre les hybrides utilisés

Une étude réalisée en 1995 par Orians et collaborateurs, analyse les variations de teneurs en tannins condensés et en phénols glycosides totaux entre différents hybrides de saules. Ils comparent tout d'abord les teneurs en ces composés secondaires de défense chez *S.*

*eriocephala* et *S. sericea*. Puis, suite à une hybridation entre ceux-ci, ils observent que les concentrations en phénols glycosides et en tannins condensés de la progéniture sont en concentrations intermédiaires par rapport à celles obtenues chez les parents. Ensuite, en comparant les concentrations de composés entre les clones du même hybride, ils constatent que la variations inter individuelles est importante. Ces dernières sont associées à la variation génétique des parents. En bref, les clones des hybrides de saules ont des concentrations différentes en tannins condensés et en phénols glycosides qui sont attribuables très certainement à la variation génétique de leurs parents d'origine (Orians et Fritz 1995). Très peu d'études ont été réalisées sur la différence de concentrations en composés secondaires de défense entre les hybrides d'espèces d'arbres. Cependant, le peu de littérature sur le sujet nous expose toujours les mêmes faits : 1) il existe des différences significatives de concentrations en composés secondaires de défense entre les hybrides; 2) les variations des concentrations en composés secondaires de défense sont de façon importante contrôlées par la génétique des hybrides, donc par le bagage génétique des parents (Nichols-Orians *et al.* 1993). De plus, plusieurs études montrent que les conditions environnementales locales déterminent en partie la concentration des composés secondaires des plantes (Larsson *et al.* 1986; Orians *et al.* 1996). En bref, les facteurs environnementaux ainsi que l'hérédité sont des sources de variation importantes chez les différents hybrides en ce qui a trait à leurs concentrations en composés secondaires de défense.

Fait à noter, il existe peu de variation dans les concentrations en composés chimiques chez les types d'hybrides utilisés dans notre étude. Ces pousses ont des concentrations assez semblables en azote et en phénols glycosides totaux. Une étude de Palo (1984) révéla pourtant qu'entre *P. tremuloides*, *P. nigra* et *P. trichocarpa*, il existait des différences importantes entre les concentrations en phénols glycosides spécifiques. Effectivement, selon ses résultats, *P. trichocarpa* avait plus de phénols glycosides spécifiques dans son écorce et en plus grande quantité que les deux autres. *P. nigra* était celui dont l'écorce contenait le moins de phénols glycosides (Palo 1984). Lors de cette étude, la quantification des différents

phénols glycosides à l'étude s'est faite de façon spécifique. Pour chacune des espèces de peuplier, tous les phénols glycosides présents dans l'écorce ont été répertoriés et quantifiés de façon indépendante. Nos résultats ne témoignent pas d'une différence significative de concentration en phénols glycosides totaux entre les clones issus de ces espèces. Cette situation peut être expliquée par la quantification globale des phénols glycosides qui fut réalisée lors de notre étude comme discuté un peu plus loin dans cette section.

Pour ce qui est des tannins condensés cependant, deux groupes se distinguent. Tout d'abord, les hybrides TD, DM et MB présentent des concentrations moins importantes de ce composé comparativement à celles retrouvées chez DN, NM et EM (ou DN x M) qui renferment des teneurs plus élevées. On remarque tout d'abord que le deuxième groupe de clones a en commun l'espèce parentale *P. nigra*. Cependant, pour toutes les raisons qui vont suivre, on ne peut sûrement pas conclure que cette espèce transmet des teneurs en tannins condensés supérieures aux autres espèces de peuplier. Rares, pour ne pas dire inexistantes, sont les études qui ont été réalisées sur l'occurrence des tannins condensés dans les différentes espèces de peuplier. En fait, les études sur les composés secondaires de défense chez les différentes espèces de peupliers ont davantage ciblé les phénols glycosides spécifiques. ( Pearl et Darling 1967, 1968 ; Palo 1984). Palo (1984) a fait une revue de littérature sur les composés secondaires des espèces de peuplier, par contre il n'avance rien sur les teneurs en tannins condensés puisqu'alors aucune étude n'avait été réalisée sur le sujet. Nos résultats indiquent cependant une piste qu'il serait intéressant d'étudier plus en profondeur dans des projets de recherches futurs. De plus nos résultats démontrent que le seul hybride contenant du peuplier baumier fait partie du groupe n'ayant que très peu de tannins condensés et ne se distingue pas des autres hybrides pour ce qui est des teneurs en phénols glycosides totaux. *P. balsamifera* est reconnu pour repousser plus particulièrement les herbivores. Effectivement, l'écorce de cet arbre est riche en phénols glycosides tels que le salicin, le salireposide, le salicortin et le trichocarín (Pearl et Pottenger 1966; Palo 1984; Mattes *et al.* 1987; Reichardt *et al.* 1990; Nichols-Orians *et al.* 1993). Certaines études ont comparé la préférence des

herbivores entre plusieurs espèces d'arbres incluant *P. balsamifera* et invariablement, cette dernière espèce est la dernière choisie dans l'alimentation des petits rongeurs (Schmitze *et al.* 1992; Sinclair *et al.* 1996). De plus, les bourgeons du peuplier baumier renferment une multitude de composés secondaires de défense : le 2,4,6 trihydroxydihydrochalcone qui est un tannin condensé (Sinclair *et al.* 1996); le mono, sesquiterpénoides, 1,8-cineol, trans-nerolidol et (+)-(1R,1'R)- $\alpha$ -bisabolol (Mattes *et al.* 1987); le cineol et le benzyl alcool (Reichardt *et al.* 1990). En bref, il aurait été normal de s'attendre à ce que l'hybride ayant pour un des deux parents *P. balsamifera* ait une plus grande concentration en tannins condensés et en phénols glycosides totaux comme nous le suggère la littérature.

Il est important de mentionner ici que la quantification des composés secondaires de défense s'est faite à l'aide d'une méthode d'extraction au méthanol, faisant ressortir de façon globale tous les composés extractables à l'alcool. Tous les composés extraits de la plante qui ont été révélés soit à la colorimétrie pour l'azote et les tannins condensés, soit à la chromatographie sur couche mince pour les phénols glycosides totaux, ont été inclus dans la mesure de la concentrations des composés chimiques. Ainsi, les tannins condensés sont quantifiés sans identifier spécifiquement les substance associées à ces produits et qui sont présents dans chacun des hybrides. Il en va de même pour les phénols glycosides. La quantification s'est faite par une technique d'extraction globale et non par une sommation des concentrations de chacun des types de phénols glycosides spécifiques. Il est donc impossible à ce niveau de déterminer si par exemple le salicin ou le trichocarpin sont présents ou non dans certains hybrides. Cette méthode d'extraction semble à la base plus simple et plus rapide, cependant, il est possible qu'elle masque les principales substances spécifiques de défense des hybrides étudiés. Il est effectivement possible que les hybrides comprenant *P. balsamifera* aient effectivement plus de salicin, de salireposide, de salicortin ou de trichocarin que les autres hybrides. Cependant, si ces autres hybrides ont davantage d'un autre type de phénol glycoside moins répulsif pour les herbivores, la concentration de phénols glycosides totaux sera la même entre ces deux hybrides. Ainsi, la concentration de ces composés chimiques,

mesurée de façon globale, entre deux ou plusieurs hybrides peut être semblable, mais la portée de l'action défensive de leurs composés spécifiques peut être différente. Il est généralement recommandé lors d'études de composés chimiques de réduire la quantification à la plus petite unité possible du composé (Tahvanainen *et al.* 1985; Pass et Foley 2000) . C'est en fait ce que visait la présente étude en analysant les phénols glycosides totaux plutôt que les phénols totaux uniquement. Il en va de même avec les tannins condensés qui regroupent une multitude de types de polyphénols. Il est possible qu'en étudiant des groupes plus spécifiques de ce composé chimique, nos résultats auraient été tout autres.

Il se peut également que les véritables composés secondaires de défense qui caractérisent l'aspect répulsif de *P. balsamifera* ne soient ni des tannins condensés, ni des phénols glycosides totaux. Effectivement, comme mentionné précédemment, les bourgeons de cette espèce renferment plusieurs composés aromatiques (ou autres) ayant la capacité de repousser les herbivores (Mattes *et al.* 1987; Reichardt *et al.* 1990; Sinclair *et al.* 1996). Soulignons également, que les différents hybrides étudiés ici sont aussi sujets à des variations individuelles en concentrations de composés secondaires. En effet, plusieurs hybrides ne sont pas issus des mêmes parents, bien que l'espèce de ces derniers soit la même. Les individus sélectionnés pour être à l'origine d'un même hybride ne sont pas toujours identiques. Ainsi, l'hybride DN, dont nous avons étudié 8 clones ne sont pas tous issus du croisement entre le même *P. deltoïdes* et *P. nigra*. En fait, environ 7 individus différents du premier et 4 représentants du second furent utilisés pour réaliser les clones de notre étude. À l'inverse, le croisement MB provenant de *P. maximowiczii* x *P. balsamifera* qui a fourni quatre clones dans notre étude, ont les mêmes parents d'origine. Ainsi, MB 915 302, 915 303, 915 311 et 915 313 sont issus des mêmes arbres parents et font alors partie de la même famille (Périnet 2002, comm. pers, janvier 2002). Il existe donc également des variations génétiques non négligeables à l'intérieur même des hybrides comparés précédemment. Cette source de variation pourrait également influencer nos résultats et masquer notre compréhension face aux concentrations représentatives des composés secondaires de défense

des hybrides utilisés. Rappelons de plus que pour quelques hybrides, peu d'arbres sont échantillonnés dans la présente étude, par exemple EM (ou DN x N), TD, DM et NM avaient nettement moins de représentants que DN et MB. Une investigation plus poussée sur la parenté ainsi que sur les concentrations en défense des différents parents des clones devrait éventuellement être réalisée et ce, sur une vaste gamme d'hybrides. Il serait ainsi possible de vérifier le transfert héréditaire des concentrations en composés secondaires de défense entre parents et descendants. Ceci permettrait de vérifier si certains croisements donnent à coup sûr une progéniture bien défendue, si les clones ayant comme parent *P. nigra* ont réellement une plus grande teneur en tannins condensés et, si bien entendu, *P. balsamifera* a réellement plus de composés secondaires de défense efficaces contre les herbivores que les autres espèces. En étudiant une grande variété de représentants de chaque hybride selon l'origine des familles à l'intérieur de ces derniers, une source inestimable de renseignements sur l'hérédité ainsi que sur les hybrides les mieux défendus serait produite. Cependant, plusieurs arbres-parents à l'origine d'hybrides utilisés dans nos régions proviennent de nombreux autres pays, comme la France, la Belgique, l'Allemagne, ce qui rend une étude de cette envergure d'autant plus difficile (Périnet 2002, comm. pers, janvier 2002).

## 4.2. Axe d'analyse de risques

Suite à l'établissement de cinq groupes de clones fondé sur les teneurs en protéines et en composés secondaires de défense, il fut possible de réaliser un axe d'analyse de risques (Figure 9). Ce dernier permet alors de positionner ces clones selon une échelle de potentiel à être grugés dans une plantation par les campagnols des champs. Selon des travaux antérieurs, une plante ayant plus de 1 % de phénols glycosides totaux et/ou plus de 3 % de tannins condensés a la capacité d'affecter négativement la masse du rongeur. Il en va de même pour les protéines qui doivent être plus élevées que 5 à 8 % pour assurer le maintien du poids corporel des campagnols ( Palo 1983; Lindroth et Batzli 1984; Basey *et al.* 1988; Bucyanayandi 1991; Robbins *et al.* 1991; Harju 1996a). Six groupes potentiels de clones peuvent alors être établis selon leurs teneurs suffisantes ou pas en protéines et selon la présence de une ou deux défenses valables contre ce rongeur. L'axe d'analyse de risques se base donc sur les éléments nutritifs et facteurs répulsifs qui sont à la base des préférences alimentaires supposée du campagnol des champs. Une extrémité de l'axe représente donc les clones qui sont intéressants pour le rongeur au point de vue alimentaire tandis que l'extrémité opposée de l'axe est représentée par les clones ayant des points négatifs pour ce dernier. Une source alimentaire attirante pour un herbivore contient une concentration importante en protéines et très peu de composés secondaires de défense. Donc pour le campagnol, un clone d'intérêt aura suffisamment de protéines pour lui permettre de maintenir son poids corporel et le moins possible de défenses chimiques pouvant induire des effets négatifs. Bergeron (1983) a observé que lorsque les densités de campagnols augmentent, l'alimentation de ce dernier contient davantage de composés secondaires de défense. Ce phénomène est expliqué très certainement par la diminution des ressources de qualité provenant d'une plus grande compétitivité entre un grand nombre de rongeurs. Par contre, lors de faibles densités de rongeurs, la présence de composés secondaires va jusqu'à disparaître de l'alimentation du rongeur puisque le choix de nourriture de bonne qualité est plus vaste, le milieu soutenant moins d'herbivores (Bergeron 1983). Cette observation a été faite par plusieurs autres

chercheurs sur différentes espèces d'herbivores, montrant ainsi que ceux-ci ne guident pas uniquement leur alimentation selon la teneur en protéines des aliments mais également par la concentration des plantes en composés secondaires de défense (Bergeron 1987; Danell *et al.* 1987; Bergeron et Jodoin 1993; Harju 1996 a; Harju 1996 b).

Donc, l'herbivorie est dépendante de la densité des populations de campagnols. Comme nous venons d'en discuter, l'étude de Bergeron (1983) expose bien que lors de pic de densité des rongeurs, les dommages occasionnés à la végétation du milieu sont importants. Il a remarqué également que lors de ces pics de densité, on retrouve dans les fèces des rongeurs des composés secondaires de défense que l'on ne retrouve pas lors de faible densité des populations. Ceci démontre qu'à forte densité de campagnol, la quantité de bonnes ressources accessibles est très limitée. Donc, plus il y a de rongeur, plus les dommages occasionnés à la végétation seront importants, et moins les campagnols pourront être sélectifs dans leur alimentation. De plus, une étude de Bergeron et de Jodoin (1995) a démontré que le broutage intensif par le campagnol des champs au cours de l'été, peut affecter le régime alimentaire hivernal et par le fait même diminuer les chances de survie du rongeur. En simulant les effets du broutage en retirant près de 14 % de la biomasse à l'automne, ils démontrèrent qu'au cours de l'hiver suivant, les fèces des campagnols contenaient plus de phénols et de matière soluble dans les détergents neutres. Donc le retrait de la biomasse à l'automne, a causé une diminution de la densité de rongeur ainsi qu'une augmentation de la consommation d'aliments de mauvaise qualité au cours de l'hiver (Bergeron et Jodoin 1995). Encore une fois la preuve a été faite que lors de pic de densité de campagnol, le broutage intensif réduit la disponibilité des ressources de bonne qualité résultant en un choix alimentaire restreint pour les rongeurs. Une deuxième étude de Bergeron et Jodoin (1993) a mesuré l'impact du broutage lors de fortes densités de campagnols des champs (de 1000 à 1300 animaux/ha). Ils démontrèrent qu'après un broutage intensif au cours de l'été, la biomasse verte en automne subit une diminution significative de 15% et de 52 % au printemps. La biomasse morte a également été réduite à plus de 7%. Ainsi, le broutage

intensif par les rongeurs a diminué significativement la biomasse d'une vieille prairie et cet effet a perduré jusqu'au printemps suivant (Bergeron et Jodoin 1993). À la lumière de ces études, il est clair que l'importance des dommages subis par la végétation d'un milieu dépendra de la densité des rongeurs. Il est donc difficile de mener des expériences sur le terrain sans être confronté à l'effet de cette densité. C'est donc pourquoi uniquement les clones pour lesquels nous pouvons soupçonner une densité semblable de campagnols des champs seront comparés dans les sections suivantes.

Une extrémité de l'axe d'analyse de risques est représentée par les clones ayant suffisamment de protéines pour induire une croissance ou un maintien corporel normal chez le campagnol et aucune défense valable contre ce dernier. Ces clones représentent ainsi les arbres qui seront potentiellement plus endommagés dans les plantations. L'autre extrémité de l'axe représente un groupe de clones plus intéressant pour l'industrie, car ils contiennent une plus forte concentration de composés de défense. La présence d'une certaine concentration en tannins condensés et en phénols glycosides totaux au-delà des limites tolérées par le rongeur ainsi qu'une teneur en protéines insuffisante pour un bon maintien corporel caractérise le groupe de clones de cette extrémité. Ce groupe de clones est celui qui sera probablement évité par le campagnol des champs puisqu'il n'offre pas beaucoup de valeur nutritive au cours de la saison froide.

Les trois groupes de clones situés au centre de l'axe sont répartis de la façon suivante, de gauche vers la droite : le groupe ayant une concentration de protéines suffisante pour le campagnol mais une concentration élevée d'une des deux défenses, le groupe avec suffisamment de protéines et possédant deux défenses valables et finalement, le groupe n'ayant pas assez de protéines pour assurer un maintien de base et une seule catégorie de défense efficace contre le rongeur. L'axe d'analyse de risques se lit comme une augmentation croissante du potentiel des clones à être endommagés par le rongeur.

Cet axe pourrait donc servir à déterminer avant l'établissement d'une plantation de peupliers hybrides, quels clones ont un plus grand risque de se faire endommager par le rongeur si la plantation s'effectue dans un habitat à forte biomasse végétale. Cet outil peut ainsi servir à faire économiser temps et argent aux industries ou aux reboiseurs qui dans le futur planteront des peupliers hybrides. Il permet une meilleure gestion des plantations et donne la possibilité d'augmenter les chances de réussite de celles-ci. Cet axe permet un choix plus réfléchi ainsi que plus éclairé lors de la sélection des clones à planter. Ainsi, il sera possible d'éviter des pertes importantes de productivité des plantations futures. Il faut comprendre ici que ces ségrégations de clones sont basées sur les préférences alimentaires supposées du campagnol des champs. Les limites utilisées ici ont été définies par des informations trouvées en littérature. Cette séparation de clones est donc à première vue arbitraire. Il importe de les tester sur le terrain afin d'être certain de la juste position des clones sur l'axe. La section suivante tente effectivement de vérifier le degré de fiabilité de l'axe. Afin de confronter les classements de l'axe d'analyse de risques aux taux de dommages observés sur le terrain, une comparaison a été faite entre la position des clones sur cet axe et leurs distributions de fréquences des dommages dans les différentes plantations visitées.

**Risque de dommages des hybrides par  
le campagnol des champs**

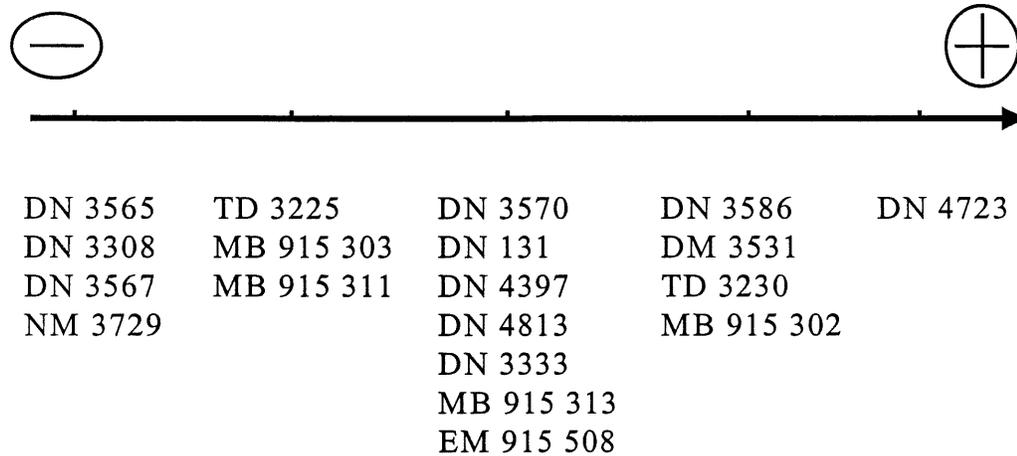


Figure 9 : Axe d'analyse de risques des clones recommandés pour la région de l'Estrie par le ministère des Ressources naturelles à l'attaque du campagnol des champs.

#### 4.2.1 Vérification de l'axe d'analyse de risques sur le terrain

Le taux de dommages des clones d'une même plantation ainsi que leur position sur l'axe d'analyse de risques ont été comparés pour chacune des plantations visitées. Cependant, seuls les clones à proximité les uns des autres peuvent être comparés entre eux. En effet, comme mentionné précédemment, la densité de rongeurs sur le terrain influence le taux de dommages des clones. Plus il y a de campagnols dans le milieu, plus les clones peuvent être endommagés de façon générale et vice versa. Pour qu'une comparaison du taux de dommages des clones puisse être valable, il faut que ces derniers aient le même risque de se faire manger par les animaux. De cette façon, tous les clones utilisés dans un test statistique

de comparaison ont la même probabilité de se faire attaquer par le rongeur. Uniquement les clones poussant dans un rayon de 30 mètres les uns des autres pourront être comparés. Effectivement en automne, les campagnols forment des groupes familiaux comprenant entre 2 et 5 membres. Ces groupes sont constitués d'une femelle, de un ou plusieurs mâles et de membres de la dernière portée. Vers le milieu de l'hiver, les groupes s'espacent et se recomposent au fur et à mesure que la densité de population diminue à cause de la mortalité hivernal. Les domaines vitaux sont de 28 m<sup>2</sup> pour les femelles et de 17 m<sup>2</sup> pour les mâle et que le degré de chevauchement entre deux domaines est de 50 à 80 % (Berteaux 1995). Comme une population de campagnols comprend plusieurs de ces groupes, nous estimons donc que cette mesure nous assure une densité semblable de rongeur entre les clones comparés. Un dommage sévère subit par un arbre sera défini comme des attaques sur 50 % et plus de la circonférence du tronc. Effectivement, à ce niveau de dommages, l'arbre doit utiliser une grande partie de ses ressources pour cicatriser sa blessure, ce qui induira invariablement une diminution de croissance ou de tout autre métabolisme vital chez la plante. De plus, le cambium et le phloème de la plante sont détruits en partie, diminuant du même coup l'apport des nutriments nécessaires pour sa survie en provenance des racines (Kaukeinen 1982; Pigott 1985; Bucyanayandi 1991). Dans ces conditions, elle se retrouve plus vulnérable aux intempéries ainsi qu'aux maladies et à l'herbivorie. Bien souvent, l'arbre ne peut survivre à la saison suivante (Hansson 1985). C'est donc pourquoi des dommages allant au-delà de 50 % de la circonférence du tronc de l'arbre sont habituellement considérés comme des dommages sévères.

#### Plantation de Valcourt

Le test de comparaison de fréquences effectué précédemment sur les données des trois clones de la plantation de Valcourt démontrent que les clones MB 915 302 et DN 4723 ont des distributions de fréquences de dommages semblables. En fait, en se référant au tableau 6, on remarque que ces deux clones sont effectivement très endommagés par le campagnol. Ainsi,

plus de la moitié de ces arbres ont subi des dommages aussi important que 50 % et plus de la circonférence du tronc. Le clone DN 3567 a une distribution de fréquences de dommages différente de ces deux derniers. Plus de la moitié des arbres observés chez ce clone n'ont subi que de légers dommages par le rongeur. En bref, pour la plantation de Valcourt les clones ayant été le plus endommagés sont MB 915 302 et DN 4723 et celui ayant le moins endommagé est DN 3567.

En se référant à l'axe d'analyse de risques, une comparaison entre les dommages subis par les clones et leur position sur celui-ci est possible. Les deux premiers clones mentionnés se situent à l'extrême droite de l'axe d'analyse de risques représentant les clones dont le potentiel d'attaques par le campagnol des champs est élevé (Figure 10). Le troisième clone se retrouve à l'autre extrémité de l'axe, situation caractérisant les clones à faibles risques de dommages par le rongeur. Donc, une fois cette comparaison effectuée, il est juste de mentionner que pour les clones de la plantation de Valcourt, l'axe d'analyse de risques donne de bons renseignements sur le potentiel de grignotage des clones pour le gestionnaire éventuel. Il est important de noter ici, que le secteur de Valcourt est en fait la plantation idéale pour ce genre de comparaison. Effectivement, les trois clones étudiés à cet endroit poussent très près les uns des autres, réduisant ainsi les risques de comparer des clones affrontant des densités différentes de campagnols des champs.

### Classification des hybrides par le taux de grugeage

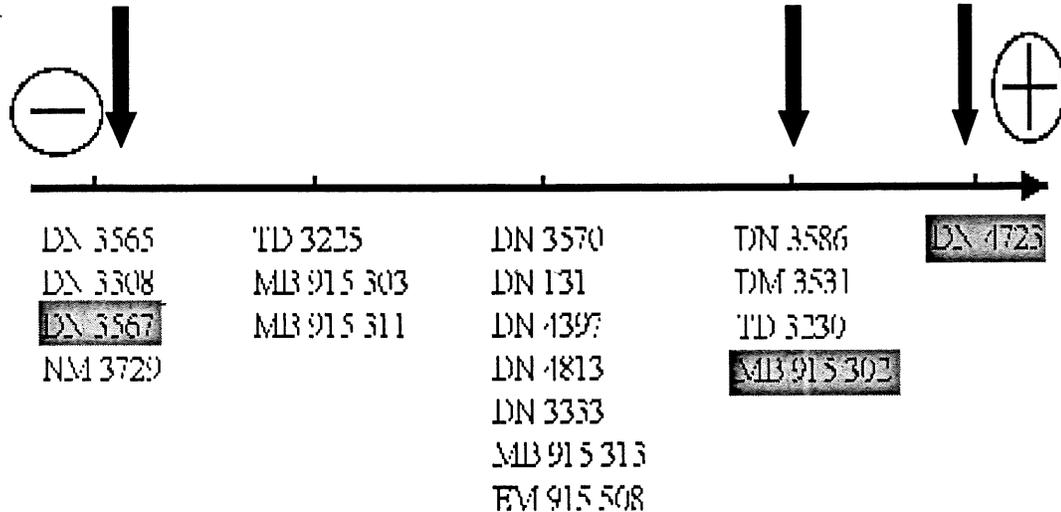


Figure 10 : Position des trois clones du secteur Valcourt sur l'axe d'analyse de risques.

#### Plantation de Saint-Camille

Le secteur de Saint-Camille est également une plantation où il est possible de comparer les taux de dommages ainsi que la position sur l'axe d'analyse de risques des clones, car ils poussaient à proximité les uns des autres. Les tests statistiques effectués sur les distributions de fréquences de dommages des trois clones échantillonnés dans ce secteur ont montré que les dommages sont significativement différents entre les clones. Ainsi, les clones DN 131, NM 3729 et MB 915 303 sont attaqués de façon distincte par le campagnol des champs. En se référant au tableau 6 représentant ces distributions de fréquences de dommages pour chacun de ces clones, on remarque effectivement cette différence. Le clone NM 3729 est celui qui est le moins attaqué par les rongeurs. Moins d'un quart des arbres observés ont subi des dommages sur la circonférence du tronc. Ensuite, MB 915 303 suit avec un taux de dommages plus important comparativement au précédent avec un peu moins du trois quart des arbres qui ne sont que très légèrement attaqués par le rongeur. Finalement, DN 131, en

comparaison aux deux autres, est le clone le plus endommagé par le campagnol puisqu'un peu moins de la moitié des arbres investigués sont sévèrement rongés par le campagnol. En reportant les données par clone sur l'axe d'analyse de risques (Figure 11) on remarque que ces trois clones se retrouvent davantage du côté gauche de l'axe. Rappelons que plus le taux de grugeage des clones augmente, plus leur position sur l'axe se déplace vers la droite. On retrouve à l'extrême gauche le clone NM 3729, puis en se déplaçant vers la droite on retrouve dans l'ordre le clone MB 915 303 et DN 131 qui sont plus sévèrement attaqués par le rongeur que le premier clone. Il faut noter que les clones de la plantation de Saint-Camille se positionnent très bien sur l'axe d'analyse de risques puisque le clone le moins endommagé se place à gauche de l'axe alors que celui plus endommagé se situe plus à droite de ce dernier.

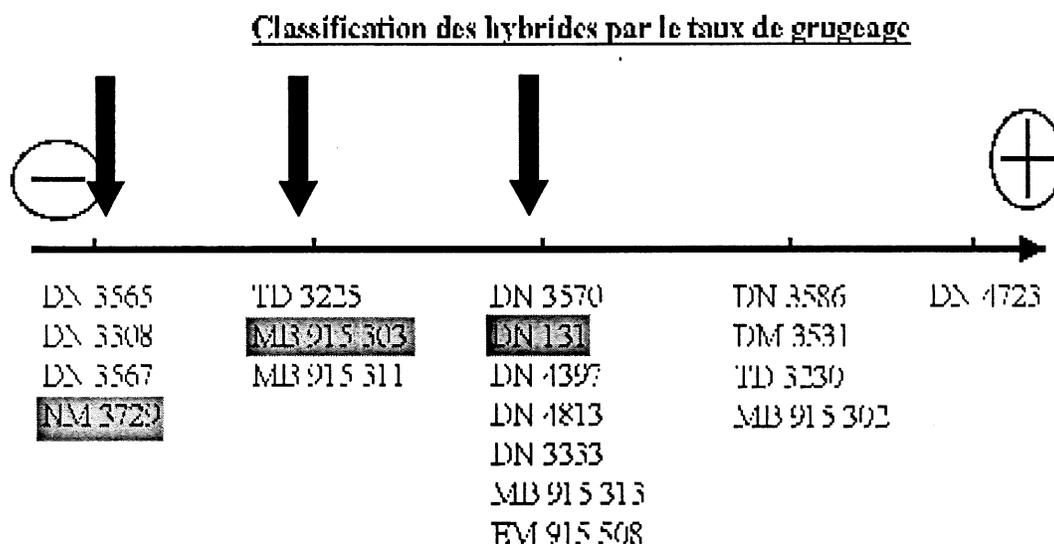


Figure 11 : Position des trois clones du secteur de Saint-Camille sur l'axe d'analyse de risques.

## Plantation de L'Avenir

En observant le tableau 6 représentant les distributions de fréquences de dommages aux clones TD 3230, DN 4397 et DN 131 du secteur de L'Avenir, il est possible de remarquer que cette plantation n'a pas subi beaucoup de dommages par les campagnols au cours de l'hiver 2000-2001. De façon générale, les clones n'ont subi que de très faibles dommages, car pour chacun d'eux, plus du trois quart des arbres sont épargnés ou presque par le campagnol. Les clones DN 131 et DN 4397 présentent une distribution de fréquences de dommages semblables comme nous le révèle le test de khi-carré effectué précédemment. Ces clones sont en fait ceux ayant attiré le plus de rongeurs, avec pour résultat des dommages plus prononcés que l'endommagement subi par le clone TD 3230. Effectivement, plus de 75% des arbres observés chez ces deux premiers clones ne sont que très peu attaqués par le campagnol tandis que plus de 95% des arbres du dernier clone n'ont subi que peu ou pas de dommages. Sur l'axe d'analyse de risques (Figure 12) ces trois clones sont localisés très près les uns des autres, ce qui rend toute comparaison difficile. Normalement, on s'attend à ce que les clones DN 4397 et DN 131 se situent davantage vers la droite de l'axe et que TD 3230 se positionne plus vers la gauche à cause de leur taux de dommages différents. En fait, on retrouve le contraire car les clones DN 4397 et DN 131 se localisent à gauche de TD 3230. Cette inversion peut s'expliquer par une position des clones sur l'axe. Les clones ont une position rapproché sur l'axe d'analyse de risques donc la différence de leur qualité nutritionnelle est plus difficiles à établir. Plus les groupes sont près les uns des autres sur l'axe, plus la différence entre leur potentiel d'endommagement est petit. Il est plus facile de faire sortir les différences entre clones en position éloignée que lorsqu'ils sont près les uns par rapport aux autres. De plus, comme l'ensemble de la plantation n'est que très peu attaquée par le campagnol, il est logique de soupçonner une faible densité de campagnols des champs pour le secteur de L'Avenir en cette saison même si nous n'avons aucune donnée de piègeage pour confirmer ceci. Comme mentionné précédemment, lors de faible densité de campagnol, ces derniers sont plus sélectifs à cause de la disponibilité de la nourriture de bonne qualité. Cependant, comme les clones comparés ici ont une valeur nutritive similaire,

le rongeur ne dispose pas d'un vaste choix nutritif. Tous les clones ont alors un taux de dommages semblable, donc leur position sur l'axe d'analyse de risque devient difficile à comparer.

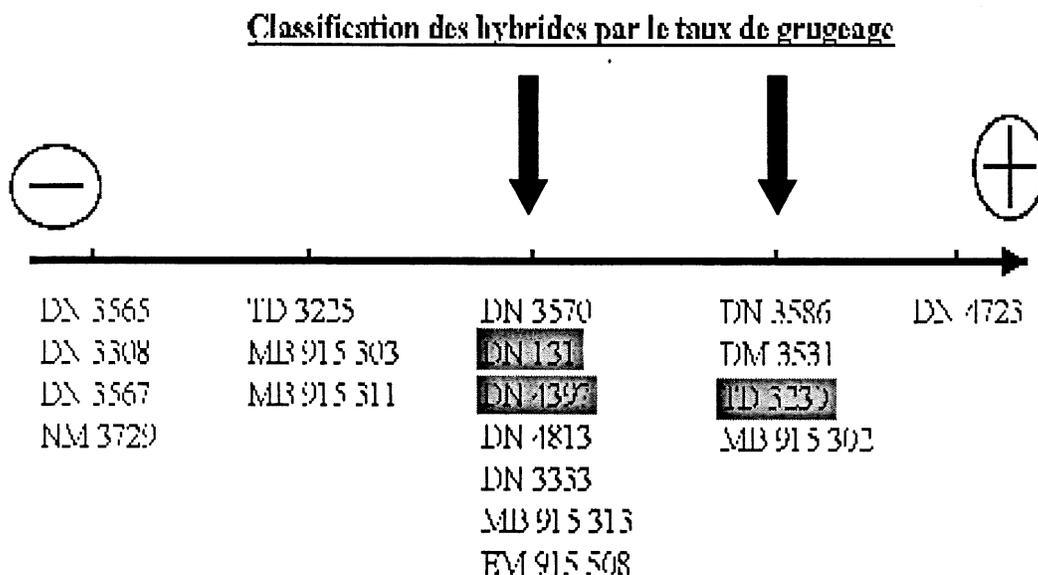


Figure 12 : Position des trois clones du secteur de L'Avenir sur l'axe d'analyse de risques.

#### Plantation de Saint-Claude

Seuls les clones DN 3308, MB 915 303, MB 915 311 et TD 3230 peuvent être comparés dans le secteur de Saint-Claude puisqu'ils poussent à proximité les uns des autres. Les analyses statistiques révèlent que TD 3230 et MB 915 303 ont des distributions de fréquences de dommages semblables. En observant le tableau 6 pour la plantation de Saint-Claude, on remarque que ce sont ces deux clones qui présentent le taux de dommages le plus bas. Les dommages augmentent pour le clone DN 3308 et sont plus élevés encore pour MB 915 311. Pour les deux premiers clones, moins de la moitié des arbres ont subi des dommages sévères; pour DN 3308, environ la moitié des arbres sont réellement endommagés

par le campagnol. Finalement, plus de la moitié des arbres de MB 915 311 ont subi des dommages importants par l'action du petit rongeur. On peut donc s'attendre à voir les clones TD 3230 et MB 915 303 davantage à gauche de l'axe d'analyse de risques, suivi vers la droite de DN 3308 et de MB 915 311. Cependant, comme nous l'expose la figure 13, la situation des clones sur l'axe d'analyse de risques ne correspond pas du tout à leur taux respectif d'endommagement sur le terrain. Selon le positionnement des clones sur l'axe, TD 3230 devrait être le clone avec le plus grand potentiel d'endommagement suivi des clones MB 915 303 et 915 311 et enfin DN 3308 avec le plus faible potentiel de se faire attaquer par le rongeur. La proximité du positionnement de ces trois derniers clones sur l'axe ainsi que leurs taux de grugeage qui ne diffèrent pas grandement les uns des autres pourraient expliquer l'inversion dans leur localisation sur l'axe. À l'image de la plantation de L'Avenir, la ressemblance des distributions de dommages entre les trois clones et leur localisation à peu près identique sur l'axe d'analyse de risques rendent la comparaison assez difficile à faire. Le seul clone qui pose réellement problème dans le cas présent est TD 3230 qui selon ses contenus en protéines et composés secondaires devrait être plus endommagé que les trois autres et qui sur le terrain ne présente que très peu de signes de rongage par les campagnols. Une différence de densité de population du rongeur pourrait expliquer la situation cependant, rien n'est visible sur le terrain pour justifier cette différence. Ce clone pousse très près des autres; l'habitat du rongeur ne semble pas être différent; aucune coupure géographique comme une rivière ou un ravin ne sépare ce clone des autres. Cependant, il faut comprendre ici que la densité de population du campagnol des champs peut varier drastiquement en l'espace de quelques mètres sans que des changements importants ne soient visibles sur le terrain. Effectivement, des variations dans la composition des espèces végétales au niveau du sol peuvent être à l'origine de ce changement de densité. Il est généralement accepté que la densité de population des rongeurs dépend principalement des ressources nutritives de bonne qualité disponibles dans l'habitat (Kaukeinen 1982; Pigott 1985; Bergeron 1987; Alder et Wilson 1988; Bucyanayandi 1991; Bergeron et Jodoin 1995). Certaines études ont même démontré que les attaques des campagnols sont plus fréquentes sur des sols calcaires que sur des sols de granite (Hansson 1992). Ainsi, il est possible qu'il

existe un changement qui ne soit pas évident sur le terrain entre les conditions de croissance pour ce clone et les autres, et qui induit une différence de densité du rongeur qui ne nous est pas perceptible. Ceci pourrait donc expliquer pourquoi le clone TD 3230 devrait selon l'axe d'analyse de risques avoir été très attaqué par le campagnol, mais qui ne présente que très peu de dommages sur le terrain.

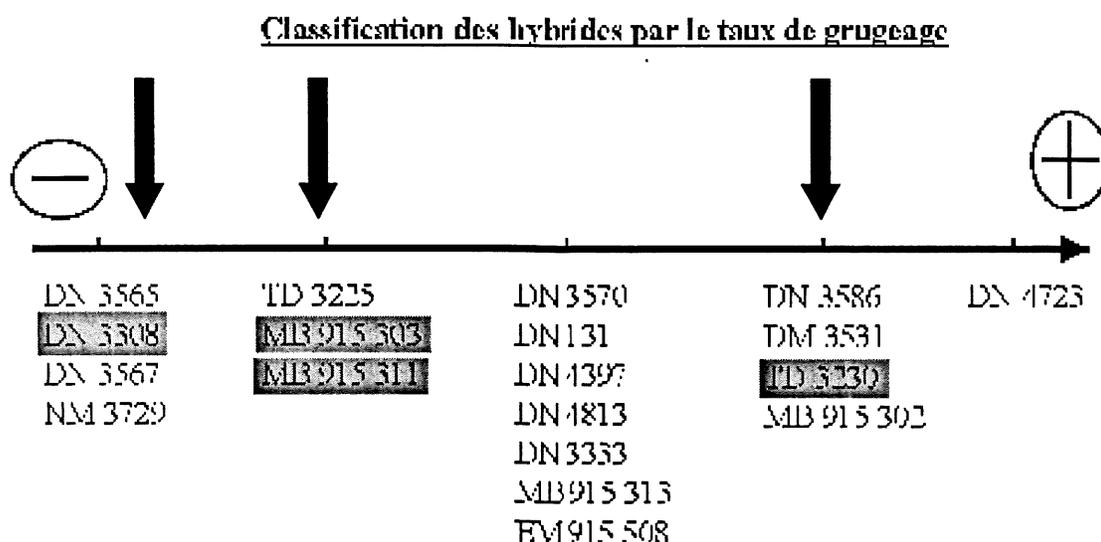


Figure 13 : Position des quatre clones du secteur de Saint-Claude sur l'axe d'analyse de risques.

#### Plantation d'Aston-Jonction

Le premier groupe de clones du secteur d'Aston-Jonction poussant à proximité les uns des autres est constitué des clones DN 3308, DN 3225\*, DN 3567 et de DN 3570. La distribution de fréquences des dommages de DN 3570 se distingue de celles des trois autres, selon les tests statistiques effectués précédemment. Sur cette plantation, on remarque qu'effectivement, ce clone est très apprécié par le campagnol des champs puisque au moins

un quart des arbres ont subi des dommages sévères (tableau 6). Les trois autres clones sont à peine attaqués par le rongeur puisque plus de 80 % des arbres ne montraient aucun signe de grugeage. On peut donc s'attendre à ce que sur l'axe d'analyse de risques ces trois derniers se retrouvent vers la gauche et qu'à l'inverse, le clone DN 3570 se situe vers la droite, comme on peut le constater à la figure 14. Les clones DN 3308, DN 3225 et DN 3567 sont répartis dans les deux groupes les plus à gauche de l'axe d'analyse de risques tandis que DN 3570 est le clone qui, toujours en comparaison aux dommages des trois autres clones, se positionne le plus à droite des clones. Comme c'est le cas pour les plantations de Saint-Camille et de Valcourt, l'axe d'analyse de risques situe bien la position des clones du secteur d'Aston-Jonction.

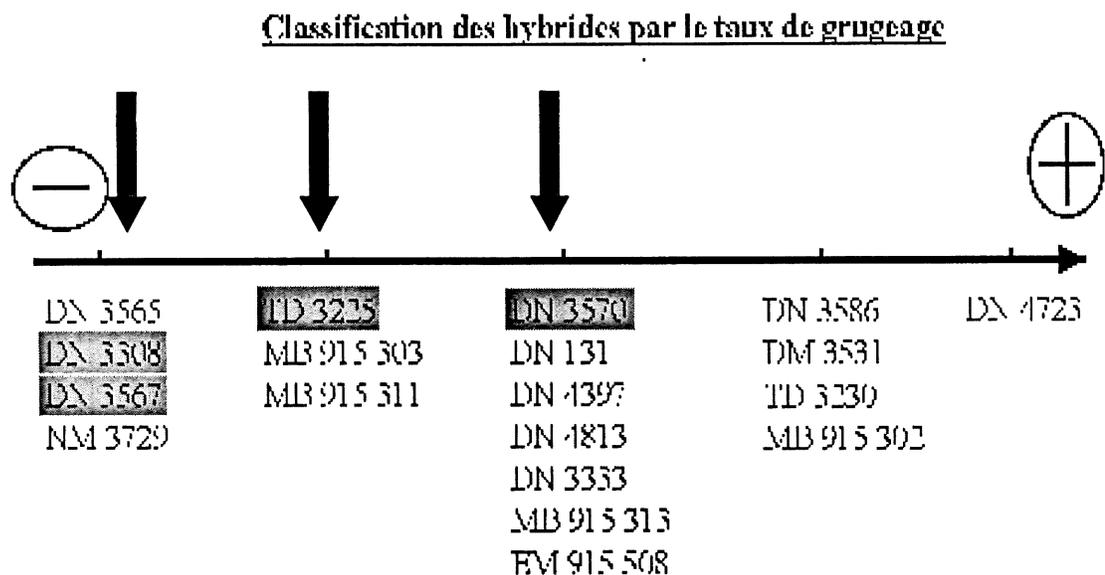


Figure 14 : Position des quatre clones du secteur d'Aston-Jonction sur l'axe d'analyse de risques.

Le second groupe de clones de ce même secteur comprend les clones DN 3565, DM 3531\*, DN 3586, et NM 3729. Selon nos prétentions, les clones ne faisant pas face à la même densité de campagnols des champs ne peuvent pas être comparés entre eux si l'on veut analyser leur taux de dommages. Ainsi, pour l'exercice présent, si le moindre soupçon existe au sujet d'une différence de potentiel de grugeage, la comparaison n'a pas lieu d'être faite. C'est en fait ce qui se passe dans la situation actuelle. Sur le terrain, les clones DN 3586 et DM 3531\* se retrouvent dans un habitat non propice aux campagnols des champs alors que les deux autres, DN 3565 et NM 3729 poussent dans un milieu qui apparemment réunit toutes les conditions pour l'établissement d'une population du rongeur. En effet, les deux premiers clones poussent dans un habitat entouré pendant la saison estivale d'un milieu très humide, à un point tel que des nappes d'eau de surface y sont présentes en quasi-permanence. La végétation au sol y est donc pauvre et rare à cause de cette humidité excessive et constante. La biomasse globale est donc très restreinte. À l'inverse, les clones DN 3565 et NM 3729 se retrouvent dans des endroits plus secs où la végétation croît de façon abondante et normale. Plusieurs études antérieures ont démontré que la densité du campagnol des champs dépend surtout des ressources nutritives disponibles au sol. Bergeron et Jodoin ont comparé en 1995 l'alimentation de populations de campagnols vivant dans des milieux ayant une végétation abondante ou pauvre. Ils ont démontré que les populations de campagnols des champs en milieux pauvres diminuent significativement au cours d'hiver par le manque de ressources disponibles. Les populations de rongeurs des milieux plus riches en ressources nutritives diminuent également, cependant, elles persistent beaucoup plus longtemps que celles du milieu précédant (Bergeron et Jodoin 1995). Plusieurs autres études démontrèrent également que la qualité du milieu au cours de la saison estivale a une grande importance sur la densité des populations de campagnols des champs (Kaukeinen 1982; Pigott 1985; Bergeron 1987; Alder et Wilson 1988; Bucyanayandi 1991). Comme le milieu dans lequel se retrouvent les clones DN 3586 et DM 3531\* n'est pas propice à l'établissement d'une végétation abondante au cours de la saison estivale, ce qui par conséquent ne représente pas un habitat propice au développement de ressources nutritives pour le campagnol, il est très probable que la densité de population de ce dernier ne soit pas élevée dans ce type de milieu.

L'habitat offert au rongeur est à ce moment-là de piètre qualité. Tout d'abord sans végétation, le campagnol ne peut se construire de nid nécessaire à sa survie et à l'évitement de prédateurs (Berteaux 1995). Ensuite, comme le milieu est très souvent inondé, le rongeur ne peut y survivre qu'en évitant constamment les nappes d'eau qui couvrent une superficie parfois importante du terrain. On pourrait penser que l'hiver, grâce à la couverture de neige, le déplacement du rongeur vers les clones est alors possible. Il est généralement accepté que les mouvements du campagnol sous la neige sont limités dans l'espace et qu'une végétation abondante au niveau du sol permet une plus grande mobilité du rongeur puisqu'elle crée un espace subnivéal (Hansson *et al.* 1986a; Hansson 1986c; Bucyanayandi 1991). Il est peu probable que des campagnols provenant de meilleurs habitats environnants où la végétation est plus dense puissent s'aventurer à ces endroits qui n'offrent en fait qu'un espace subnivéal faible et parfois presque nul. Il est clair que l'environnement de ces deux clones ne constitue pas un milieu adéquat pour soutenir une population de campagnols, surtout en comparaison avec les milieux offerts par les deux autres clones DN 3565 et DM 3531\*. Pour toutes ces raisons, le risque est trop grand pour que les densités de campagnols entre ces quatre clones soient différentes, ce qui invaliderait toute comparaison statistique. Ce groupe de clones ne peut donc servir à tester l'axe d'analyse de risques.

Comme les exemples précédents le démontrent, le positionnement des clones sur l'axe d'analyse de risques est, dans la plupart des cas, corroboré avec les données d'endommagement sur le terrain. Effectivement, lorsque les clones utilisés dans les comparaisons sont ceux poussant près les uns des autres, faisant en sorte qu'ils affrontent les mêmes pressions de broutage des campagnols des champs, les deux séries de mesures coïncident. La justesse de positionnement sur l'axe se vérifie dans les secteurs de Valcourt, Saint-Camille, et Aston-Jonction. La plantation de L'Avenir n'infirme ni ne confirme l'axe d'analyse de risques à cause des positions proche les unes des autres des clones sur ce dernier. Il n'y a qu'à Saint-Claude où le clone TD 3230 ne se comporte pas selon les prédictions de son positionnement sur l'axe. Cette analyse de risques entre clones aurait été

plus juste si les densités de campagnols avaient été estimées pour chaque secteur dans chaque plantation. Ainsi, nous aurions pu nous assurer de la présence de densités de rongeurs à peu près équivalentes entre habitats de croissance pour les clones. Cependant, l'importance de cette tâche particulière était à peu près irréalisable à l'intérieur de mon projet de maîtrise. Un plus grand échantillon de clones poussant à proximité les uns des autres aurait pu améliorer la qualité prédictive de l'axe. Cette modification au plan d'échantillonnage aurait pu améliorer la qualité des tests statistiques ainsi que la construction et le positionnement des clones sur l'axe d'analyse de risques. Cet idée d'axe d'analyse de risques nécessite maintenant d'être étudiée plus en profondeur et d'être mise à l'épreuve dans des conditions variables de densité de campagnols.

L'axe d'analyse de risques tel qu'illustré, testé et discuté dans ce chapitre représente un outil potentiel pour les industries ainsi que pour les reboiseurs, pouvant leur permettre de faire un choix plus judicieux pour établir de nouvelles plantations. En choisissant des clones mieux défendus au niveau chimique, les chances de dommages irréparables aux clones de peupliers par l'action de rongage de *Microtus pennsylvanicus* seront réduites. Ceci signifierait invariablement une économie de temps et d'argent pour les futurs reboiseurs.

#### 4.3 Corrélations entre la hauteur totale et le diamètre des clones; et leurs concentration en composés secondaires de défense.

Plusieurs études ont démontré que plus un sol est fertile en nutriments nécessaires à la croissance des arbres, plus leurs concentrations de composés secondaires de défense diminuent (Bazzaz *et al.* 1987; Bryant *et al.* 1987; Bryant et Julkuentiitto 1995; Hakulinen *et al.* 1995; Hartley *et al.* 1995; Harju et Tahvanainen 1997). Conséquemment, lorsque toutes les conditions propices à une bonne croissance sont réunies, les arbres sont davantage endommagés par les herbivores. Comme les arbres échantillonnés avaient tous le même âge, notre hypothèse était que les arbres les plus grands avaient nécessairement poussé plus vite, donc leur taux de croissance étant plus grand, une baisse de concentration en défense devait avoir eu lieu. Cependant, l'inverse fut observé suite à l'analyse de nos résultats. En se basant sur ces dernières, plus la hauteur totale et le diamètre d'un arbre étaient forts, plus il était défendu contre les rongeurs.

Comme mentionné au paravant, les arbres échantillonnés ont été mis en terre depuis moins d'un an. La transplantation d'une plante entraîne invariablement une situation de stress pour cette dernière (Kiribuchi *et al.* 1998). De plus, déloger une plante d'un milieu riche en nutriments vers un milieu pauvre constitue également une source non négligeable de stress (Larsson *et al.* 1986; Muller *et al.* 1987; English-Loeb *et al.* 1997; Inbar *et al.* 2001). De telles situations de stress se traduisant par une diminution de croissance, ceci explique pourquoi les arbres les plus grands n'ont pas nécessairement eu une croissance rapide au cours de la saison de croissance précédente. Bien au contraire, comme nous soupçonnons que les arbres ont subi un stress important, le taux de croissance des arbres a dû être ralenti. Donc notre hypothèse que les arbres à hauteur totale et diamètre élevés ont eu des taux de croissance plus élevés ne tient plus.

Comme la croissance des clones a été mesurée pour l'ensemble de ses deux années de croissance. Ainsi, notre mesure comprenait le taux de croissance de l'arbre au cours de sa première année passée en pépinière ainsi que le taux de croissance de sa seconde année passée en plantation. Soulignons que la première année de croissance était celle où l'arbre a probablement poussé le plus rapidement, à cause du milieu contrôlé. À l'inverse, sa seconde année de croissance était probablement plus faible puisque l'arbre a subi le stress de la transplantation dans un milieu plus pauvre. Cependant, la mesure récoltée lors de notre échantillonnage ne témoigne pas de cette année précise, mais bien de l'ensemble des deux saisons de croissance. Ceci explique donc pourquoi nos données de croissance sont élevées, résultant en une corrélation positive plutôt que négative, comme nous l'aurait suggéré le raisonnement basé sur la théorie de la balance carbone/nutriment. En bref, s'il avait été possible d'utiliser le taux de croissance de l'année en cours, il est possible que nous aurions obtenu une corrélation négative. Soulignons également que les coefficients de ses corrélations ne sont pas très élevés (hauteur totale 8 % et diamètre 13 %), ceci nous indique que le taux de croissance total de l'arbre n'influence qu'en partie la concentration des composés secondaires chez l'arbre. Comme mentionnée précédemment, d'autres métabolismes importants de la plante tels que la respiration cellulaire, le renouvellement des racines fines ou la biomasse micorhizienne ont pour base le carbone fixé par la plante (Norton *et al.* 1990; Jakobsen et Rosendahl 1990; Cheng *et al.* 1993; Staddon 1998). Il est donc probable que la quantité de carbone utilisée par ces derniers influence également la proportion du carbone disponible pour la production de composés secondaires de défense. En bref, ces coefficients nous indiquent que des variables autres que la hauteur totale et le diamètre influencent de façon importante la concentration en composés secondaires d'une plante.

Finalement, nous avons noté que les tannins condensés sont corrélés avec les variables utilisées lors des analyses, contrairement aux phénols glycosidés totaux qui ne sont pas corrélés avec ces variables. Une étude de Reichardt et collaborateurs (1991) arrive à la

conclusion que les phénols glycosides ne se prêtent pas bien aux projections de la théorie de la balance carbone/nutriment. Les auteurs expliquent que les tannins condensés sont des composés chimiques statiques dont le métabolisme de remplacement est lent. À l'inverse, les phénols glycosides sont des composés secondaires dynamiques ayant un mécanisme de remplacement plus rapide. Ainsi, les composés statiques augmentent en concentration lors de périodes de stress ou de déficits en nutriments puisqu'il s'accumuleraient suite à leur faible taux de remplacement. Les composés secondaires regroupant les tannins condensés, la lignine et les triterpènes suivent donc les énoncés généraux de la théorie de la balance carbone/nutriment, puisque lors des périodes de faible croissance, leurs concentrations augmentent. Par contre, les composés dynamiques, incluant les monoterpènes, les sesquiterpènes et les phénols glycosides, ne répondent pas aux prédictions de cette théorie puisque leur taux de remplacement élevé empêche leur accumulation dans la plante. Lorsque la croissance de la plante est ralentie, ces composés de défense ne peuvent pas s'accumuler à cause de leur métabolisme rapide (Reichardt *et al.* 1991). Les résultats de cette étude s'appliquent directement à la nôtre puisqu'elle s'est réalisée en utilisant des peupliers baumiers. Bien qu'il soit impossible selon nos résultats de conclure que les tannins condensés suivent la théorie de la balance carbone/nutriment, la différence de taux métabolique des composés secondaires de défense explique pourquoi les tannins condensés semblent être influencés par la hauteur totale et le diamètre des arbres et non les phénols glycosides.

## CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Afin de répondre à l'un des objectifs de l'étude, nous avons étudié le comportement général des composés chimiques de l'écorce des clones, soit l'azote total, les tannins condensés et les phénols glycosides totaux au cours de l'hiver pour ensuite les comparer aux études déjà réalisées dans le domaine. L'azote total et les phénols glycosides totaux augmentent en concentration au cours des derniers mois de l'automne. Les tannins condensés n'ont pas présenté d'augmentation significative entre nos deux sessions d'échantillonnage, cependant ceci peut être expliqué par l'échantillonnage tardif effectué au cours de l'automne. Leurs teneurs auraient pu augmenter antérieurement à notre première récolte de données. Les échantillons quantifiés auraient donc déjà atteint leur concentration hivernale maximale en tannins condensés. De plus, nous avons montré qu'il n'existe aucune différence importante entre les mêmes clones échantillonnés dans deux plantations différentes de la compagnie Domtar pour ce qui a trait à leurs concentrations en composés chimiques. Par contre, notre étude a souligné des différences significatives entre les arbres des plantations de Domtar et ceux de la pépinière de Berthier. L'azote est présent en concentration plus grande dans les arbres poussant dans ce dernier site d'échantillonnage puisque les conditions environnementales de la pépinière sont pour la plupart contrôlées et riches en nutriments. Ainsi, de l'azote, du potassium et du phosphore ont été ajoutés à la terre du quartier de pieds-mères résultant en une augmentation de ces composés dans les peupliers. Les tannins condensés ont des concentrations plus élevées dans les plantations de Domtar, possiblement à cause du stress de transplantation des arbres d'un milieu contrôlé vers un milieu naturel plus rigoureux. Effectivement, les plantes stressées diminuent leur croissance, laissant un surplus de carbone pouvant alors être alloué en partie à la production de composés secondaires de défense. Les tannins condensés qui ont un taux de remplacement lent ont la possibilité de s'accumuler dans la plante. Pour les phénols glycosides totaux, leur concentration en plantation n'est pas plus élevée qu'en pépinière. Il est probable que ce phénomène soit dû à leur taux métabolique dynamique qui, de par sa vitesse de remplacement élevée, ne permet pas une accumulation de tels composés dans la plante

(Reichardt *et al.* 1991). Finalement, l'état général des composés secondaires de défenses entre les différents hybrides est difficile à cerner suite aux comparaisons réalisées. Le faible effectif des représentants pour chacun des hybrides et les liens parentaux entre leurs représentants, parfois semblables, parfois différents, rend les comparaisons difficiles et masque notre compréhension face aux concentrations représentatives des composés secondaires de défense des hybrides utilisés. Ainsi, il n'a pas été possible de vérifier notre hypothèse de départ qui prédisait que les hybrides ayant pour un des deux parents *P. balsamifera* repoussent davantage les herbivores que les autres hybrides. Cependant, il a tout de même été trouvé que les clones ayant pour parent *P. nigra* avaient une plus forte concentration en tannins condensés. Pour les raisons mentionnées ci-haut, on ne peut conclure que *P. nigra* assure à sa descendance une défense plus importante, par contre cette piste serait intéressante à documenter lors d'études futures.

En vue d'études futures sur l'hérédité de la défense chimique entre les hybrides, des recommandations s'imposent. Il est important de connaître et analyser les liens de parenté entre les hybrides puisque, comme démontré plus haut, les liens génétiques influencent grandement ces concentrations. L'idéal serait de se procurer des échantillons d'écorce des parents de chacun des hybrides à l'étude afin de vérifier l'hérédité de la teneur en composés chimiques. Les hybrides qui sont échantillonnés devraient également être présents dans un milieu semblable où les conditions environnementales sont identiques. Une analyse de cette envergure générerait une source de connaissances non négligeable, puisqu'il serait alors possible de déterminer les hybrides qui obtiendraient à coup sûr une progéniture bien défendue contre les herbivores. Il serait aussi possible, en comparant des hybrides poussant dans des milieux différents, de vérifier l'importance de l'influence respective de l'hérédité et des conditions environnementales dans la détermination des concentrations en composés secondaires de défense chez les hybrides. Une telle analyse est impossible à réaliser lors de l'étude actuelle, vu l'importance de la tâche, cependant elle pourrait être le point de départ d'un projet futur.

Grâce aux concentrations limites des composés chimiques tolérés par le campagnol des champs retrouvées en littérature, il a été possible d'établir un axe d'analyse de risques à l'attaque du rongeur pour les clones de peupliers. Ainsi, tous les clones à l'étude sont situés sur un axe selon leur potentiel de dommages par le campagnol. L'extrême gauche représente les clones ayant des concentrations faibles en protéines et importantes en composés secondaires de défense, donc les clones ayant le moins de risques à l'attaque du rongeur. Tandis que ceux situés à l'extrême droite représentant ceux ayant une haute concentration en protéines et très peu de composés de défense seront les clones les plus endommagés par ce dernier. Donc, en lisant l'axe de gauche à droite, le risque des clones aux attaques du campagnol augmente. Dans la plupart des plantations visitées, l'axe d'analyse de risques positionne bien les clones poussant à proximité les uns des autres. Les plantations d'Aston-Jonction, de Saint-Camille et de Valcourt confirment qu'effectivement la position des clones sur l'axe d'analyse de risques prédit leur degré d'endommagement. La plantation de L'Avenir n'infirmes ni ne confirme l'axe d'analyse de risques à cause des positions proches les uns des autres des clones sur ce dernier. Ainsi, l'objectif principal du projet d'étude qui était de déterminer lesquels parmi les clones recommandés pour la région de l'Estrie par le ministère des Ressources naturelles ont un plus grand risque de se faire attaquer par le campagnol des champs est atteint. Notre hypothèse stipulant que les clones ayant une teneur plus importante en protéines ainsi que de faibles concentrations en composés secondaires seront ceux qui subiront le plus de dommages par les rongeurs est également confirmée. Avec un peu plus de raffinement, l'axe d'analyse de risques pourrait devenir un outil important pour les reboiseurs qui prévoient établir une plantation de peuplier. En effet, il leur sera possible d'effectuer un choix plus judicieux de clones afin de réduire au maximum les risques de diminution de production par l'action de grugeage du campagnol des champs. L'outil proposé ici éclairera le choix des propriétaires de plantations et leur permettra d'éviter les mauvaises surprises. Bien entendu, l'axe d'analyse de risques ne représente pas la vérité absolue et il est possible que lors de pics de densité de campagnols, les clones les

mieux défendus soient tout de même endommagés. C'est pour cela qu'il faut plus de recherches dans ce secteur. Cependant, ces clones seront moins attaqués que ceux situés plus à droite sur l'axe d'analyse de risques. En bref, cet axe permet un choix plus juste, afin de diminuer les risques pour les futurs reboiseurs et les industries de subir une perte non négligeable de temps et d'argent.

Très peu de comparaisons entre taux d'endommagement et positionnement sur l'axe d'analyse de risques ont pu être faites parce que l'échantillonnage ne s'est pas fait systématiquement avec des clones poussant près l'un de l'autre. De ce constat découle une seconde recommandation. Il aurait été préférable de sélectionner des groupes de clones pour l'échantillonnage poussant à proximité les uns des autres. Bien souvent, une distance trop grande entre ces derniers empêche ce type de comparaison, de sorte que l'axe d'analyse de risques ne fut pas aussi utilisé qu'espéré. Ainsi, un plus grand nombre de clones et davantage de comparaisons auraient été possibles, permettant du même coup un meilleur test de l'axe d'analyse de risques sur le terrain. Il serait donc recommandé lors d'études futures se basant sur la comparaison des dommages de différents clones de sélectionner des arbres à proximité les uns des autres. Une autre solution serait d'évaluer directement sur le terrain les densités de population de campagnols dans l'habitat de chaque clone à l'étude. Cette analyse peut être faite par une session de piégeage (capture-recapture) ou par captures mortes dans l'environnement de chaque clone. Hélas, un travail de cette envergure n'a pu être réalisé dans le cadre de ce projet de maîtrise parce qu'il aurait nécessité un autre ordre de grandeur de ressources autant humaines que matérielles. Cette méthode est cependant fortement recommandée pour les projets futurs de comparaisons de dommages entre clones.

Il était attendu d'obtenir des corrélations négatives entre la hauteur totale et le diamètre des clones, et la concentration totale en composés de défense. En effet, l'un des objectifs de cette étude était de vérifier si les arbres les plus grands, dont nous soupçonnions une plus

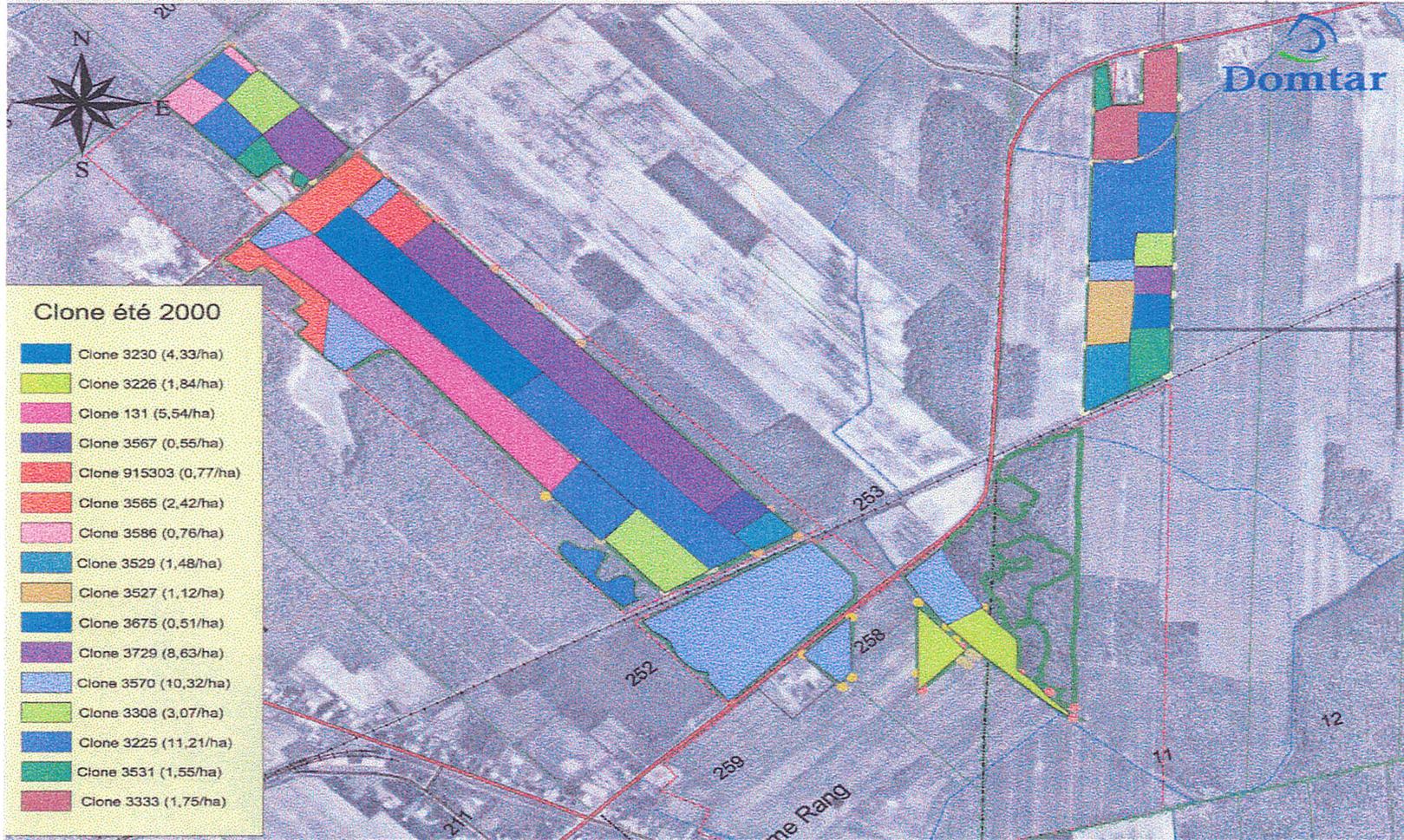
forte croissance, étaient moins bien défendus que les arbres de plus petite dimension, comme nous le poussait à croire la théorie de la balance carbone/nutriment. En fait, des corrélations positives entre ces deux variables ont été obtenues. Il est possible que la croissance en plantation a été réduite à cause du stress subi par les clones lors de leur transplantation. Dans ce cas, notre hypothèse que les arbres plus grand avaient eu une plus forte croissance la saison précédente ne tiendrait plus. De plus, la prise de mesures de la hauteur totale ainsi que du diamètre s'est faite sur tout le plant, donnant une mesure de la croissance totale des arbres depuis la pépinière. Les données de hauteur totale et de diamètre des arbres ne représentent donc pas leur taux de croissance pour l'année en plantation, qui a dû varier suite aux différentes conditions d'exposition en pépinière et en plantation. Ceci pourrait expliquer les corrélations positives au lieu de négatives que nous avons obtenues. Il est très probable que l'utilisation des données du taux de croissance de l'année en cours lors de tels tests aurait révélé des corrélations négatives. Nous avons tout de même remarqué que les tannins condensés sont davantage corrélés à la hauteur totale et au diamètre que les phénols glycosides totaux. Ce phénomène s'expliquerait également par une différence de vitesse de remplacement des deux composés chimiques dans les clones. Les tannins condensés ont un taux métabolique faible leur permettant de s'accumuler dans la plante lors de périodes de faible croissance donc de disponibilité en carbone. À l'inverse, les phénols glycosides sont remplacés beaucoup plus rapidement que ces derniers. Leur accumulation dans la plante est impossible lorsque le carbone est disponible pour la production de composés secondaires de défense (Reichardt *et al.* 1991).

Cette étude a apporté de nouvelles connaissances sur la relation indirecte entre les campagnols des champs et les hybrides de peupliers trop souvent synonymes de pertes économiques importantes. Non seulement nos résultats contribuent à élargir les connaissances sur l'écologie des populicultures, mais ce projet a permis également d'établir une nouvelle méthode de quantification des phénols glycosides totaux. Effectivement, l'élaboration d'une technique facile et rapide servant à déterminer la concentration de ces

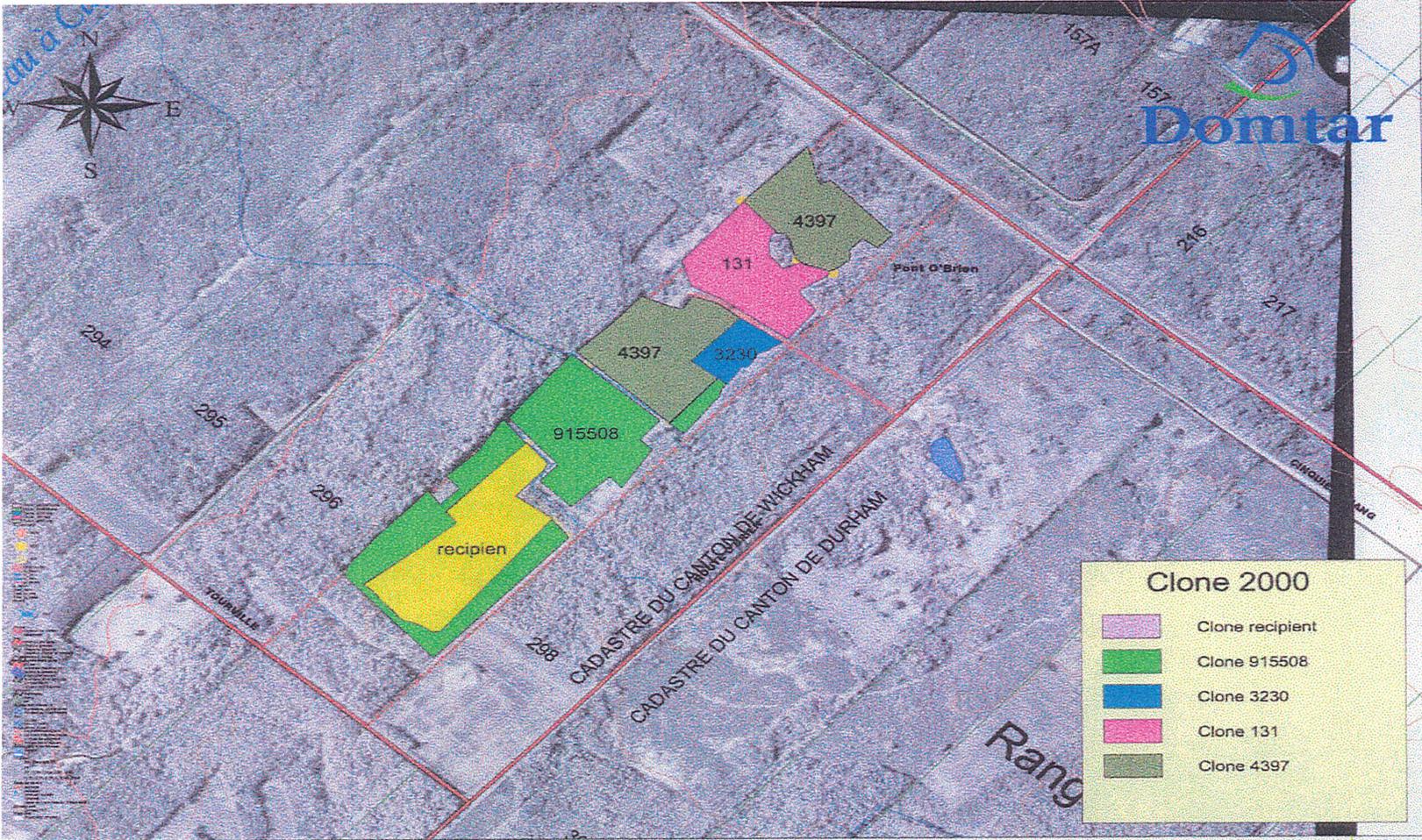
phénols simples dans un grand échantillon de plantes représente un atout important pour les études à venir. Notre projet contribue aussi à améliorer de façon significative le rendement des plantations futures. L'axe d'analyse de risques établi au cours de ce travail pourrait devenir un outil inestimable permettant aux industries une meilleure gestion de la source de matières premières que représentent les plantations de peupliers hybrides. Cette étude porte sur les dommages causés par les campagnols des champs. Cependant, il n'y a pas que ces rongeurs qui mettent en péril la viabilité des plantations, d'autres espèces d'herbivores peuplent également les plantations d'arbres. C'est pourquoi, afin d'augmenter nos connaissances sur les facteurs de pertes économiques des plantations, d'autres études pourraient être entreprises sur les espèces menaçant leur productivité. Ainsi, il serait possible d'identifier les quelques clones qui sont réellement bien défendus contre une large gamme d'herbivores. En conclusion, la présente étude, constitue un outil pouvant servir de source d'informations pour les futurs reboiseurs ainsi que pour l'industrie forestière. Elle contribue de façon non négligeable à l'amélioration continue des différents hybrides de peupliers, mandat que s'est attribué le réseau ligniculture Québec en collaboration avec le ministère des Ressources naturelles.

Annexe 1a: Situation géographique des différents clones du Secteur de Aston-Jonction

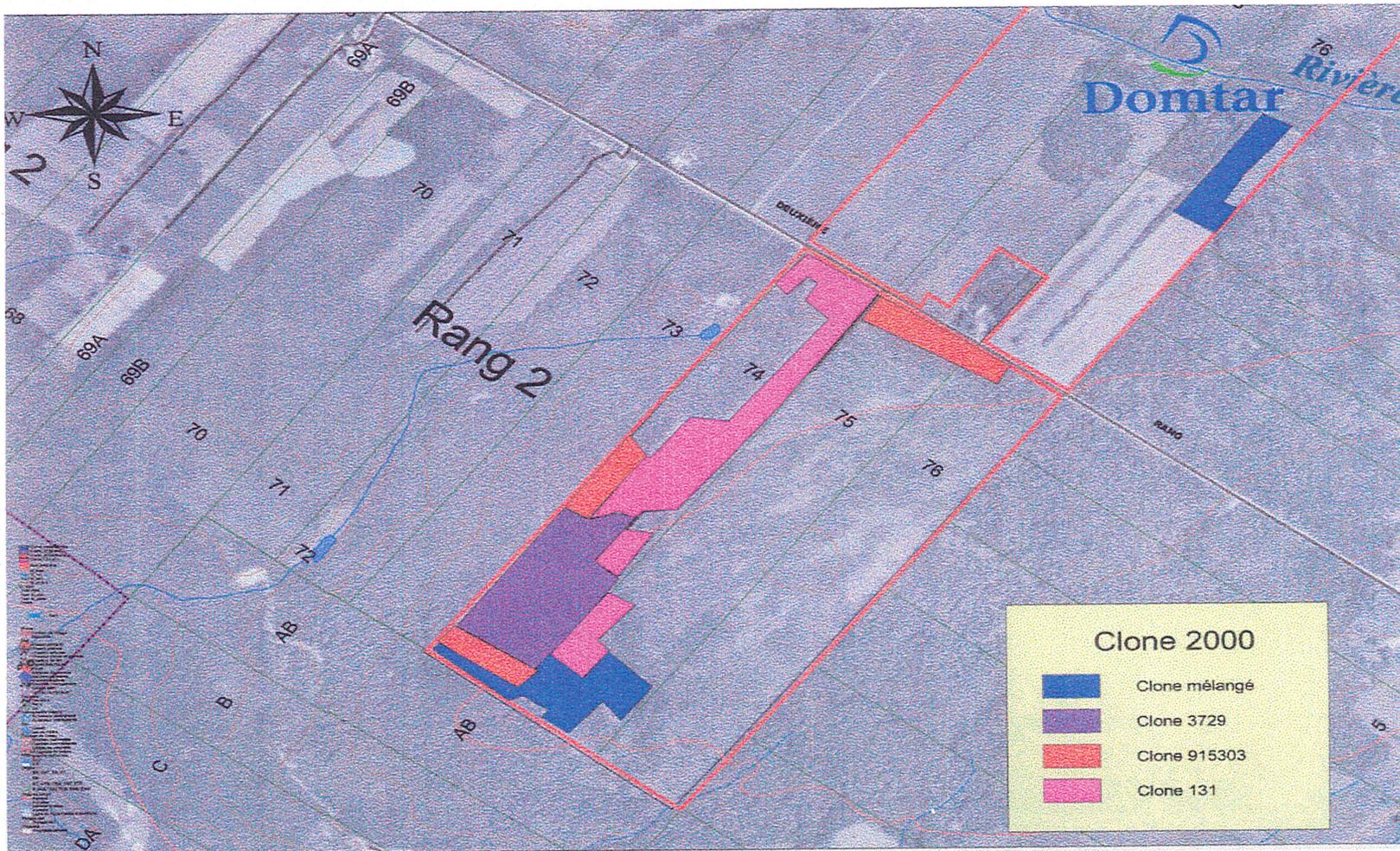
96



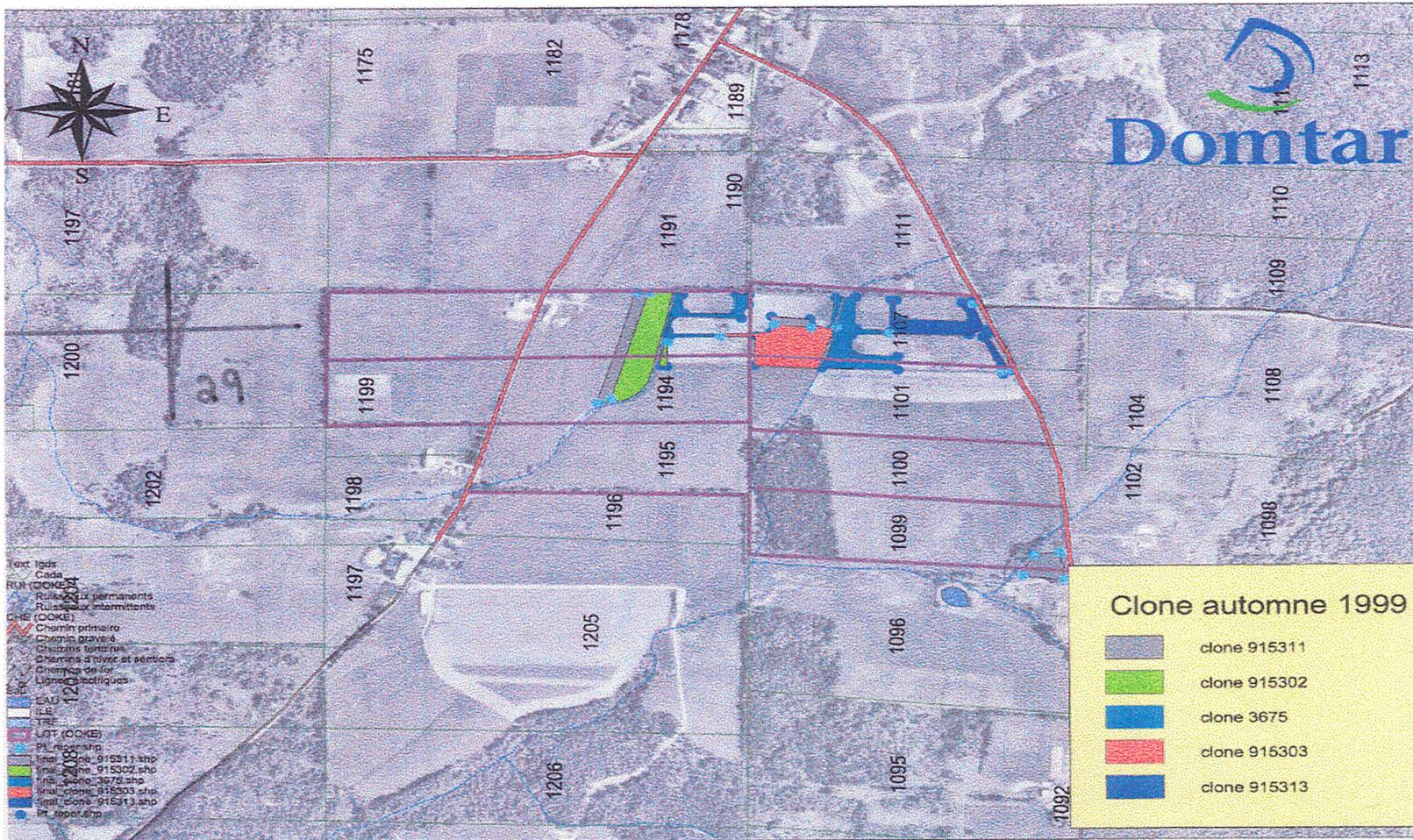
Annexe 1b: Situation géographique des différents clones du Secteur de L'Avenir



Annexe 1c: Situation géographique des différents clones du Secteur de Saint-Camille

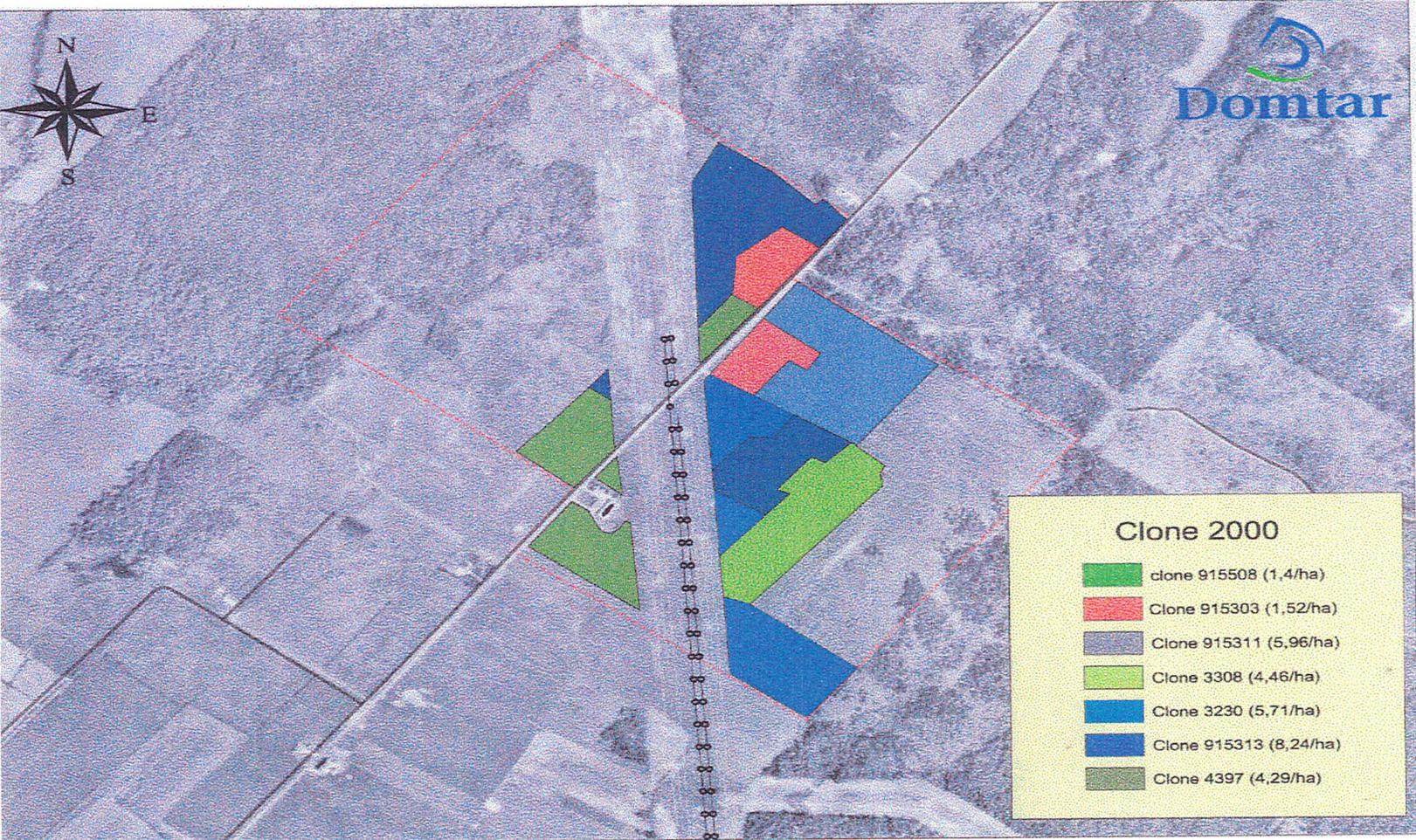


Annexe 1d: Situation géographique des différents clones du Secteur de Sainte-Catherine de Hatley

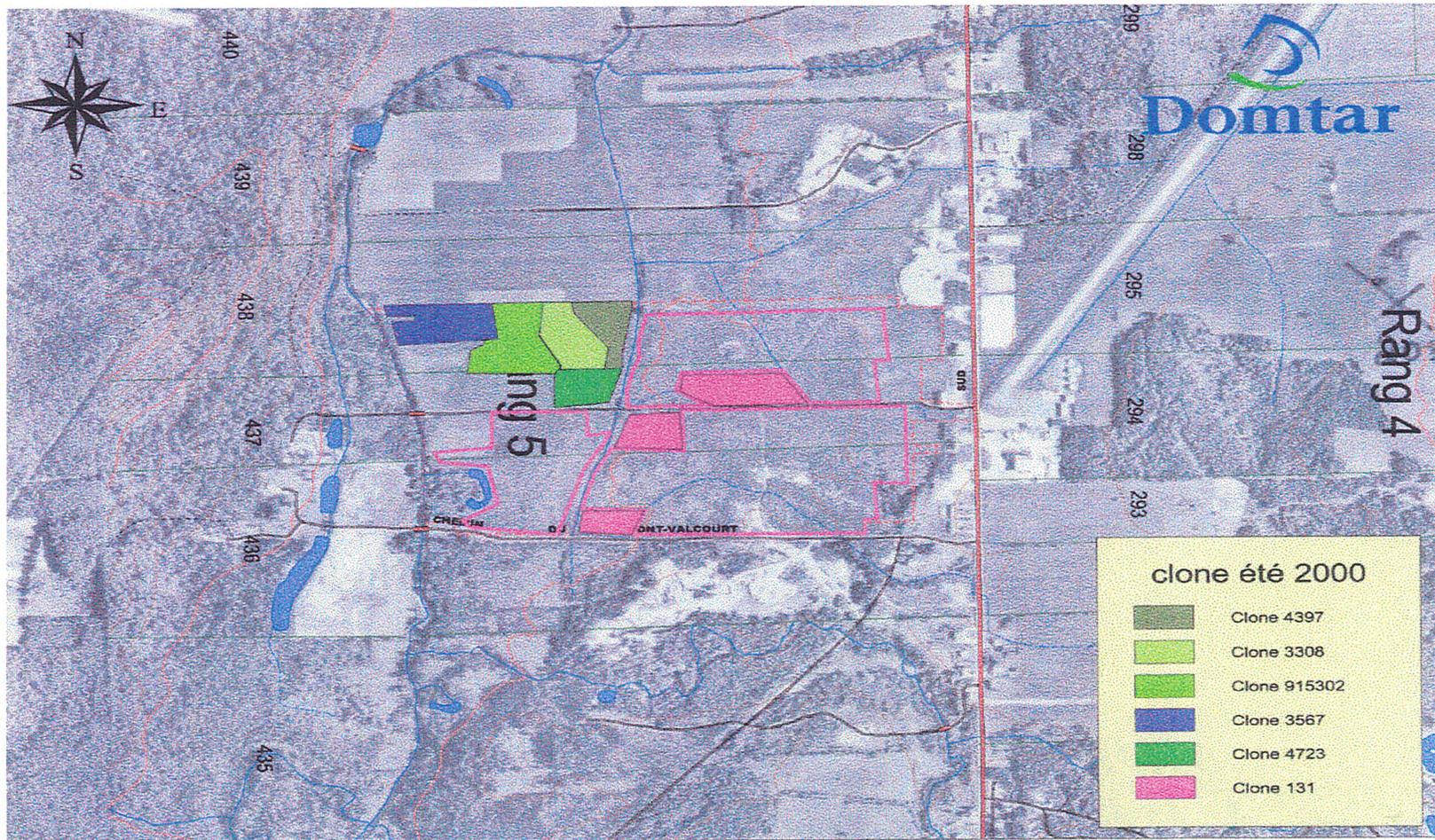


Annexe 1e: Situation géographique des différents clones du Secteur de Saint-Claude

100



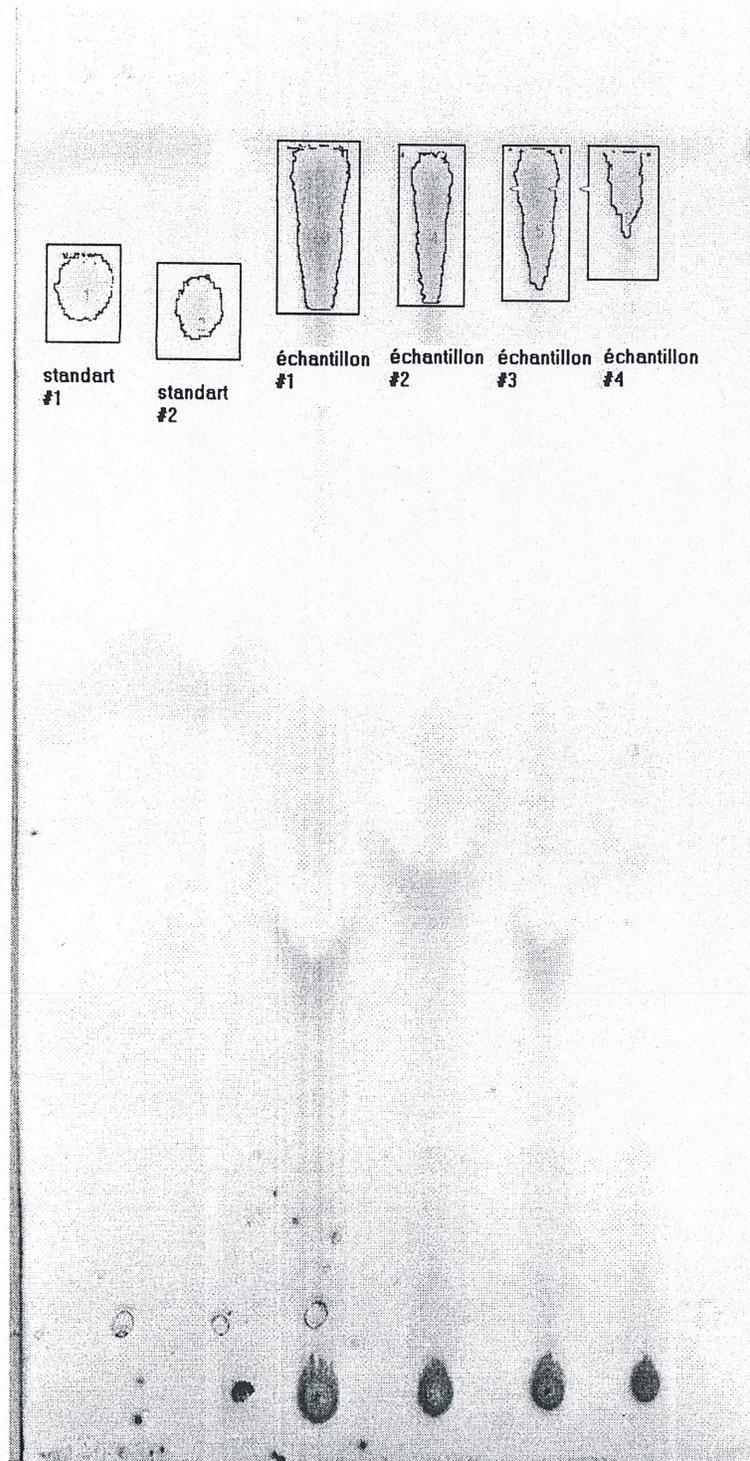
Annexe 1f: Situation géographique des différents clones du Secteur de Valcourt



Annexe 1g: Situation géographique des différents clones du Secteur de Windsor



Annexe 2 : Image ordinateur d'une plaque de chromatographie et du traçage des taches.



## BIBLIOGRAPHIE

Alder, G. H. et M. L. Wilson. (1988). Demography of meadow vole along a simple habitat gradient. *Can. J. Zool.* **67**: 772-774.

Asquith, T. N. et L. G. Butler. (1985). Use of dye-labeled protein as spectrophotometric assay for protein precipitants such as tannin. *J. Chem. Ecol.* **11**: 1535-1544.

Basey, J. M., S. H. Jenkins et P. E. Buser (1988). Optimal central-place foraging by beavers: tree-size selection in relation to defensive chemicals of quaking aspen. *Oecologia* **76**: 278-282.

Bazzaz, F. A., N. R. Chiariello, P. D. Coley et L. F. Pitelka (1987). Allocating resources to reproduction and defense. *BioScience* **37**: 58-67.

Becker, K. et H. P. S. Makkar (1999). Effects of dietary tannic acid and quebracho tannin on growth performance and metabolic rates of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture* **175**: 327-335.

Bergeron, J.-M. (1983). L'utilisation de ressources alimentaires avec ou sans composés secondaires connus par une population cyclique de Campagnols des champs (*Microtus pennsylvanicus*). *Can. J. Zool.* **62**: 601-607.

Bergeron, J.-M. et L. Jodoin (1987). Defining "high quality" food resources of herbivores: the case for meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Oecologia* **71**:510-517

Bergeron, J. M., R. Goulet, et A. Gonzalezvoyer (1998). The use of coniferous seedlings as alternative food to protect red oak (*Quercus Rubra*) from vole girdling. Scand. J. For. Res. **13**: 50-53.

Bergeron, J. M. et L. Jodoin (1993). Intense grazing by voles (*Microtus pennsylvanicus*) and its effect on habitat quality. Can. J. Zool. **71**: 1823-1830.

Bergeron, J. M. et L. Jodoin (1995). Winter use of food by fenced voles (*Microtus Pennsylvanicus*). Can. J. Zool. **73**: 907-915.

Bernays, E. A., D. J. Chamberlain et E.M. Leather (1981). Tolerance of acridids to ingested condensed tannin. J. Chem. Ecol. **7** : 247-256.

Berteaux, D. (1995). Contraintes saisonnières et regroupement sociale hivernal chez le campagnol des champs. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences, Université de Sherbrooke, 196 pp.

Blytt, H. J., T.K. Guscar et L.G. Butler (1988). Antinutritional effects and ecological significance of dietary condensed tannins may not be due to binding and inhibiting digestive enzymes. J. Chem. Ecol. **14**: 1455-1465.

Bryant, J. P., F. S. Chapin, III, et D. R. Klein (1983). Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. Oikos **40**: 357-368.

Bryant, J. P., F. S. Chapin, III, P. B. Reichardt et T.P. Clausen (1987). Response of winter chemical defense in Alaska paper birch and green alder to manipulation of plant carbon/nutrient balance. Oecologia **72**: 510-514.

Bryant, J. P. et R. Julkuentiitto (1995). Ontogenic Development of Chemical Defense By Seedling Resin Birch - Energy Cost of Defense Production. *J. Chem. Ecol.* **21**: 883-896.

Buchsbaum, R., I. Valiela et T. Swain (1984). The role of phenolic compounds and other plant constituents in feeding by Canada geese in a coastal marsh. *Oecologia (Berlin)* **63**: 343-349.

Buckner, C. H. (1969). The strategy for controlling rodent damage to pines in the canadian mid west. Canadian forestry service. Ottawa, Canada: 43-48.

Bucyanayandi, J.-D. (1991). Écologie nutritionnelle du campagnols des champs (*Microtus pennsylvanicus*) en relation avec les dommages causés aux plantations de résineux. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences, Université de Sherbrooke, 135 pp.

Burns, R. E. (1971). Method for estimation of tannin in grain sorghun. *Agron. J.* **63**: 511-511.

Burt, W. H. et R. P. Grossenheidere. (1980). A field guide to the mammals. The Peterson field guide series. 3 rd edition. North of Mexico. 289 pp.

Chapin III, F. S., D. A. Johnson et J. D. McKendrick (1980). Seasonal movement of nutrients in plants of differing growth form in an alaskan tundra ecosystem: implications for herbivory. *J. Ecol.* **68**: 189-209.

Chapin III, F. S., J. D. McKendrick et D. A. Johnson (1986). Seasonal changes in carbon fractions in alaskan tundra plants of differing growth form: implications for herbivory. *J. Ecol.* **74**: 707-731.

Cheng, W. X., D. C. Coleman, C. R. Carroll et C. A. Hoffman (1993). In situ measurement of root respiration and soluble C-concentrations in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* **25** : 1189-1196.

Danell, K., T. Elmqvist, L. Ericson et A. Salomonson (1987). Are there general patterns in bark-eating by voles on different shoot types from woody plants? *Oikos* **50**: 396-402.

Dawson, J. M., P. J. Buttery, D. Jenkins, C. D. Wood et M. Gill (1999). Effects of dietary quebracho tannin on nutrient utilisation and tissue metabolism in sheep and rats. *J. Sci. Food Agric.* **79**: 1423-1430.

Edwards, W. R. N. (1978). Effect of salicin content on palatability of *Populus* foliage to opossum (*Trichosurus vulpecula*). *New Zeal. J. Sci.* **21**: 103-106.

English-Loeb, G., M. J. Stout et S. S. Duffey (1997). Drought stress in tomatoes: changes in plant chemistry and potential nonlinear consequences for insect herbivores. *Oikos* **79**: 456-468.

Fleck, D. C. et J. N. Layne (1990). Variation in tannin activity of acorns of seven species of central florida oak. *J. Chem. Ecol.* **16**: 2925-2934.

Fox, L. R. (1981). Defense and dynamics in plant-herbivore systems. *Amer. Zool.* **21**: 853-864.

Gartlan, J. S., D. B. McKey, P. G. Waterman, C. N. Mbi et T. T. Struhsaker (1980). A comparative study of the phytochemistry of two african rain forest. *Biochem. Sys. Ecol.* **8**: 401-122.

Hakulinen, J., R. Julkuentiitto et J. Tahvanainen (1995). Does nitrogen fertilization have an impact on the trade-off between willow growth and defensive secondary metabolism. *Trees* **9**: 235-240.

Hansson, L. (1973). Fatty substances as attractants for *Microtus agrestis* and other small rodents. *Oikos* **24**: 417-421.

Hansson, L. (1975). Natural repellence of plants towards small mammals. *Ecol. Bull.* **19**: 213-219.

Hansson, L. (1985). Damage by wildlife, especially small rodents, to North American *Pinus contorta* provenances introduced into Sweden. *Can. J. For. Res.* **15**: 1167-1171.

Hansson, L. (1986 a). Bark consumption of voles in relation to snow cover, population density and grazing impact. *Holarctic Ecol.* **9**: 312-316.

Hansson, L., R. Gref, L. Lundren et O. Theander (1986 b). Susceptibility to vole attacks due to bark phenols and terpenes in *Pinus contorta* provenances introduced into Sweden. *J. Chem. Ecol.* **12**: 1569-1578.

Hansson, L. (1986 c). Vole snow trails and tunnels as density indicators. *Acta Theriol.* **31**: 401-408.

Hansson, L. (1990). Mineral selection in microtine population. *Oikos* **59**: 213-224.

Hansson, L. (1991). Bark consumption by voles in relation to mineral contents. *J. Chem. Ecol.* **17**: 735-743.

- Hansson, L. (1992). Vole densities and consumption of bark in relation to soil type and bark mineral content. *Scand. J. For. Res.* **7**: 1-8.
- Hansson, L. (1994). Bark Consumption By Voles in Relation to Geographical Origin of Tree Species. *Scand. J. For. Res.* **9**: 288-296.
- Harju, A. (1996 a). Effect of birch (*Betula Pendula*) bark and food protein level on root voles (*Microtus Oeconomus*) .1. Food consumption, growth, and mortality. *J. Chem. Ecol.* **22**: 709-717.
- Harju, A. (1996 b). Effect of birch (*Betula Pendula*) bark and food protein level on root voles (*Microtus Oeconomus*) .2. Detoxification capacity. *J. Chem. Ecol.* **22**: 719-728.
- Harju, A. et O. Hakkarainen (1997). Effect of protein and birch-bark powder on selection of food by root voles (*Microtus Oeconomus*). *J. Mammal.* **78**: 563-568.
- Harju, A. et J. Tahvanainen (1997). Palatability of silver birch seedlings to root voles *Microtus Oeconomus*. *Ecography* **20**: 83-87.
- Hartley, S. E., K. Nelson et M. Gorman (1995). The effect of fertiliser and shading on plant chemical composition and palatability to Orkney voles, *Microtus arvalis orcadensis*. *Oikos* **72**: 79-87.
- Hjalten, J., K. Danell et L. Ericson (1994). The impact of herbivory and competition on the phenolic concentration and palatability of juvenile birches. *Oikos* **71**(3): 416-422.
- Horwitz, W. (1984). Official method of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. 14 pp.

Iason, G. R. et R.T. Palo (1991). Effects of birch phenolics on a grazing and a browsing mammal: a comparison of hares. *J. Chem. Ecol.* **17**: 1733-1742.

Inbar, M., H. Doostdar et R. T. Mayer (2001). Suitability of stressed and vigorous plants to various insect herbivores. *Oikos* **94**: 228-235.

Jakobsen, I. et L. Rosendahl (1990). carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. *New Phytologist* **115**: 77-83.

Jia, J. B., P. Niemela, M. Rousi et S. Harkonen (1997). Selective browsing of moose (*Alces Alces*) on birch (*Betula Pendula*) clones. *Scand. J. For. Res.* **12**: 33-40.

Johnsson, H. (1956). Les peupliers dans la production du bois et l'utilisation des terres. *Édité par* FAO publication, forestry division, Rome, Italie p. 372-410.

Joslyn, M. A. et Z. Glick (1969). Comparative effects of Gallotannic acid and related phenolics on the growth of rats. *Nutrition* **98**: 119-126.

Julkunen-Tiito, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem.* **33**: 213-217.

Kanervo, V. et A. Myllymaki (1970). Problems caused by the field vole, *Microtus agrestis* in Scandinavia. EPPO public. Series A **58**: 11-26.

Kaukeinen, D. E. (1982). *Microtus* problems and control in North America and the development of volid rodenticide. Conference Proceedings: The organisation and practice of vertebrate pest control, Elvetham Hall, Hampshire, England, ICI Plant Protection Division.

Kiribuchi, K., D. Y. Dunlap, F. Matsumura et I. Yamaguchi (1998). Protein kinase C as a biomarker for assessing the effect of environmental stress and fungal invasion on plant defense mechanism. *J. Pest. Sci.* **23**: 123-128.

Kolehmainen, J., H. Roininen, R. Julkuentiitto et J. Tahvanainen (1994). Importance of phenolic glucosides in host selection of shoot galling sawfly, *Euura Amerinae*, on salix pentandra. *J. Chem. Ecol.* **20**: 2455-2466.

Lang, C. A. (1958). Simple microdetermination of Kjeldahl nitrogen in biological materials. *Anal. Chem.* **30**: 1692-1694.

Larsson, S., A. Wirén, L. Lundgren et T. Ericsson (1986). Effects of light and nutrient stress on leaf phenolic chemistry in *Salix dasyclados* and susceptibility to *Galerucella lineola*. *Oikos* **47**: 205-210.

Lindroth, R. L., J. M. Scriber et M. T. S. Hsia (1986). Differential responses of tiger swallowtail subspecies to secondary metabolites from tulip tree and quaking aspen. *Oecologia* **1986**: 13-19.

Lindroth, R. L. et G. O. Batzli (1984). Plant phenolics as chemical defenses: effects of natural phenolics on survival and growth of prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *J. Chem. Ecol.* **10**: 229-244.

Lindroth, R. L. et M. S. Pajutee (1987). Chemical analysis of phenolic glycosides: art, facts, and artifacts. *Oecologia* **74**:144-148.

Lindroth, R. L., M. T. S. Hsia et J. M. Scriber (1987). Chemical analysis of phenolic glycosides: art, facts, and artifacts. *Oecologia* **74**: 144-148.

- Lindroth, R. L. (1991). Biochemical ecology of aspen-lepidoptera interaction. *J. Kansas Entomol. Soc.* **64**: 372-380.
- Markham, K. R. (1971). A chemitaxonomic approach to the selection of opossum resistant willows and poplars for use in soil conservation. *New Zeal. J. Sc.* **14**: 179-186.
- Marquis, R. J. et G. O. Batzli (1989). Influence of chemical factors on palatability of forage to voles. *J. Mammal.* **70**: 503-511.
- Mattes, B. R., T. P. Clausen et P. B. Reichardt (1987). Volatile constituents of balsam poplar: the phenol glycoside connection. *Phytochemistry* **26**: 1361-1366.
- McManus, J. P., K. G. Davis, T. H. Lilley et E. Haslam (1981). The association of proteins with polyphenols. *J.C.S. Chem. Comm.* **2** : 309-311.
- Mottet, M.-J. et P. Périnet (1999a). Breeding for resistance to *Septoria* canker in Quebec. Ministère des Ressources naturelles, Direction de la recherche forestière, Forêt Québec.
- Mottet, M.-J. et D. Lamontagne (1999b). Un critère de sélection important pour le peuplier: la résistance aux maladies. Ministère des Ressources naturelles, Direction de la recherche forestière, Forêt Québec.
- Mubanga, G., J. L. Holechek, R. Valdez et S. D. Schemnitz (1985). Relationships between diet and fecal nutritive quality in mule deer. *Southwest. Nat.* **30**: 573-578.
- Muhle Larsen, C. (1970). Recent advances in poplar breeding. *Int. Rev. For. Res.* **3**:1-67.

Muller, R. N., P. J. Kalisz et T. W. Kimmerer (1987). Intraspecific variation in production of astringent phenolics over a vegetation-resource availability gradient. *Oecologia* **72**: 211-215.

Neuvonen, S. et E. Haukioja (1984). Low nutritive quality as defence against herbivores: induced responses in birch. *Oecologia* **63**: 71-74.

Nichols-Orians, C. M., R. S. Fritz et T. P. Clausen (1993). The genetic basis for variation in the concentration of phenolic glycosides in *Salix sericea*: clonal variation and sex-based differences. *Biochem. System. Ecol.* **21**: 535-542.

Norton, J.M., J. L. Smith et M. K. Firestone (1990). Carbon flow in the rhizosphere of ponderosa pine seedling. *Soil Biol. Biochem.* **22**: 449-455.

Orians, C. M. (1995). Preserving leaves for tannin and phenolic glycoside analyses - a comparison of methods using three willow taxa. *J. Chem. Ecol.* **21**: 1235-1243.

Orians, C. M. et R. S. Fritz (1995). Secondary chemistry of hybrid and parental willows - phenolic glycosides and condensed tannins in *Salix Sericea*, *S. Erioccephala*, and their hybrids. *J. Chem. Ecol.* **21**: 1245-1253.

Orians, C. M., B. M. Roche et Fritz, R. S. (1996). The genetic basis for variation in the concentration of phenolic glycosides in *Salix Sericea* - an analysis of heritability. *Biochemi. System. Ecol.* **24**: 719-724.

Ostry, M. E. et H.S. Jr McNabb (1985). Susceptibility of *Populus* species and hybrids to disease in the north central United States. *Plant Dis.* **69**: 755-757.

Palo, R. T., A. Pehrson et P.-G. Knutsson (1983). Can birch phenolics be of importance in the defence against browsing vertebrate? *Finn. Game Res.* **41**: 75-80.

Palo, R. T. (1984). Distribution of birch (*Betula ssp.*), willow (*Salix ssp.*), and poplar (*Populus ssp.*) secondary metabolites and their potential role as chemical defense against herbivores. *J. Chem. Ecol.* **10**: 499-516.

Palo, R. T. (1985a). Chemical defense in birch: inhibition of digestibility in ruminants by phenolic extracts. *Oecologia* **68**: 10-14.

Palo, R. T., K. Sunnerheim et O. Theander (1985b). Seasonal variation of phenols, crude protein and cell wall content of birch (*Betula pendula* Roth.) in relation to rumination in vitro digestibility. *Oecologia* **65**: 314-318.

Palo, R. T., R. Bergström et K. Danell (1992). Digestibility, distribution of phenols, and fiber at different twig diameters of birch in winter. Implication for browser. *Oikos* **65**: 450-454.

Pass, G. J. et W. J. Foley (2000). Plant secondary metabolites as mammalian feeding deterrents: separating the effects of the taste of salicin from its post-ingestive consequences in the common brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *J. Comp. Physiol. - B, Biochem. Syst. Environ. Physiol.* **170**: 185-192.

Pearl, I. A. et C. R. Pottenger (1966). Studies on the hot water extractives of the green bark of *Populus balsamifera*. *TAPPI* **49**: 152-155.

Pearl, I. A. et S. F. Darling (1967). Studies on the barks of the family *Salicaceae*. XIV. Further studies on the bark of triploid *Populus tremuloides*. *TAPPI* **50**: 324-329.

Pearl, I. A. a. S. F. D. (1968). Studies on the barks of the family *Salicaceae* XVIII. Studies on the hot water extractives of the brown bark of *Populus trichocarpa*. *Tappi* **51**: 537-539.

Périnet P. (1999). Les programmes d'amélioration génétiques: bilan des réalisations - Les peupliers. Ministère des Ressources naturelles, Direction de la recherche forestière, Forêt Québec, pp 107-115.

Pigott, C. D. (1985). Selective damage to tree-seedlings by band voles (*Clethrionomys glareolus*). *Oecologia* **67**: 367-371.

Poukensrenwart, P., M. Tits et L. Angenot (1993). Densitometric Determination of Salicin in Willow Stem Bark. *JPC-J. Planar Chrom. Mod. Tlc* **6**: 434-437.

Price, M. L. et L. G. Butler (1977). Rapid visual estimation and spectrophometric determination of tannin content of Sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* **25**: 1268-1273.

Prudhomme, T. I. (1983). Carbon allocation to antiherbivores compounds in a deciduous and an evergreen subarctic shrub species. *Oikos* **40**: 344-356.

Rank, N. E. (1994). Host-plant effects on larval survival of a salicin-using leaf beetle *chrysomela-aeneicollis schaeffer* (*Coleoptera, Chrysomelidae*). *Oecologia* **97**: 342-353.

Reichardt, P. B., J. P. Bryant, B. R. Mattes, T. P. Clausen, F. S. Chapin III et M. Meyer (1990). Einter chemical defense of alaskan balsam poplar against snowshoe hares. *J. Chem. Ecol.* **16**: 1941-1959.

Reichardt, P. B., F. S. Chapin, III, J. P. Bryant, B. R. Mattes et T. P. Clausen (1991). Carbon/nutrient balance as a predictor of plant defense in Alaskan balsam poplar: Potential importance of metabolite turnover. *Oecologia* **88**: 401-406.

Riemenschneider, D. E., B. J. Stanton, G. Vallée et P. Périnet (2001). Poplar breeding strategies. Partie A, chapitre 2. *Dans Poplar culture in North America. Édité par D.I. Dickman, J.G. Isebrand, J. E. Eckenwalder et J. Richardson, NRC Research Press, National Research Council of Canada, Ottawa, ON KIA ORO, Canada. pp. 43-76.*

Robbins, C. T., A. E. Hagerman, P. J. Austin, C. McArthur et T. A. Hanley (1991). Variation in mammalian physiological responses to a condensed tannin and its ecological implications. *J. Mammal.* **72**: 480-486.

Rowell-Rahier, M. (1984). The presence or absence of phenolglycosides in *Salix* (*Salicaceae*) leaves and the level of dietary specialisation of some of their herbivorous insects. *Oecologia* **62**: 26-30.

Schmitz, O. J., D. S. Hik et A. R. E. Sinclair (1992). Plant chemical defense and twig selection by snowshoe hare: an optimal foraging perspective. *Oikos* **65**: 295-300.

Shipper, A. J. (1976). Hybrid poplar diseases and disease resistance. *Dans Intensive plantation culture-five years research. Édité par For. Serv. Gen. Tech. Rep NC-21. pp. 75-80.*

Sinclair, A. R. E., D. E. Williams, R. J. Andersen et J. Pain (1996). Feeding avoidance of balsam poplar by snowshoe hares is related to abundance of buds. *Écoscience* **3**: 223-225.

Soetens, P., M. Rowell-Rahier et J. M. Pasteels (1991). Influence of phenolglycosides and trichome density on the distribution of insects herbivores on willows. *Entomol. Expl. Appl.* **59**: 175-187.

Staddon, P. L. (1998). Insights into mycorrhizal colonisation at elevated CO<sub>2</sub>: a simple carbon partitioning model. *Plant and Soil* **205** : 171-180.

Steenackers (1972). Breeding poplars resistant to various diseases. *Dans* Biology of rust resistance in forest trees. *Édité par* US dept. of agriculture, **1221**: 599-607.

Stettler, R. F., L. Zsuffa et R. Wu (1996). The role of hybridization in the genetic manipulation of populus. *Dans* Biology of populus and its implication for management and conservation. *Édité par* NRC Research Press National Research Council of Canada, Ottawa, pp 87-112.

Swihart, R. K. (1990). Quebracho, thiram, and methiocarb reduce consumption of apple twigs by meadow voles. *Wildl. Soc. Bull.* **18**: 162-166.

Tahvanainen, J., E. Helle, R. Julkunen-Tiitto et A. Lavola (1985). Phenolic compounds of willow bark as deterrents against feeding by mountain hare. *Oecologia* **65**: 319-323.

Willing R.R. et D. B. Pryor. (1976). Interspecific Hybridisation in Poplar. *Theor. Appl. Gen.* **41**: 141-151

Wunder, B. A. (1985). Energetics et thermoregulation. *Dans* Biology of New World *Microtus*. *Édité par* Robert H. Tamarin, American Society of Mammalogists, pp 812-844 .