

Des femmes, des hommes, des régions, nos ressources...



L'embryogenèse somatique, un outil novateur dans la filière de production de plants forestiers du Québec



André Rainville, Ing.f., M. Sc., DRF, Ressources naturelles Québec
Laurence Tremblay, Biol., M. Sc., DGPSPF, Ressources naturelles Québec

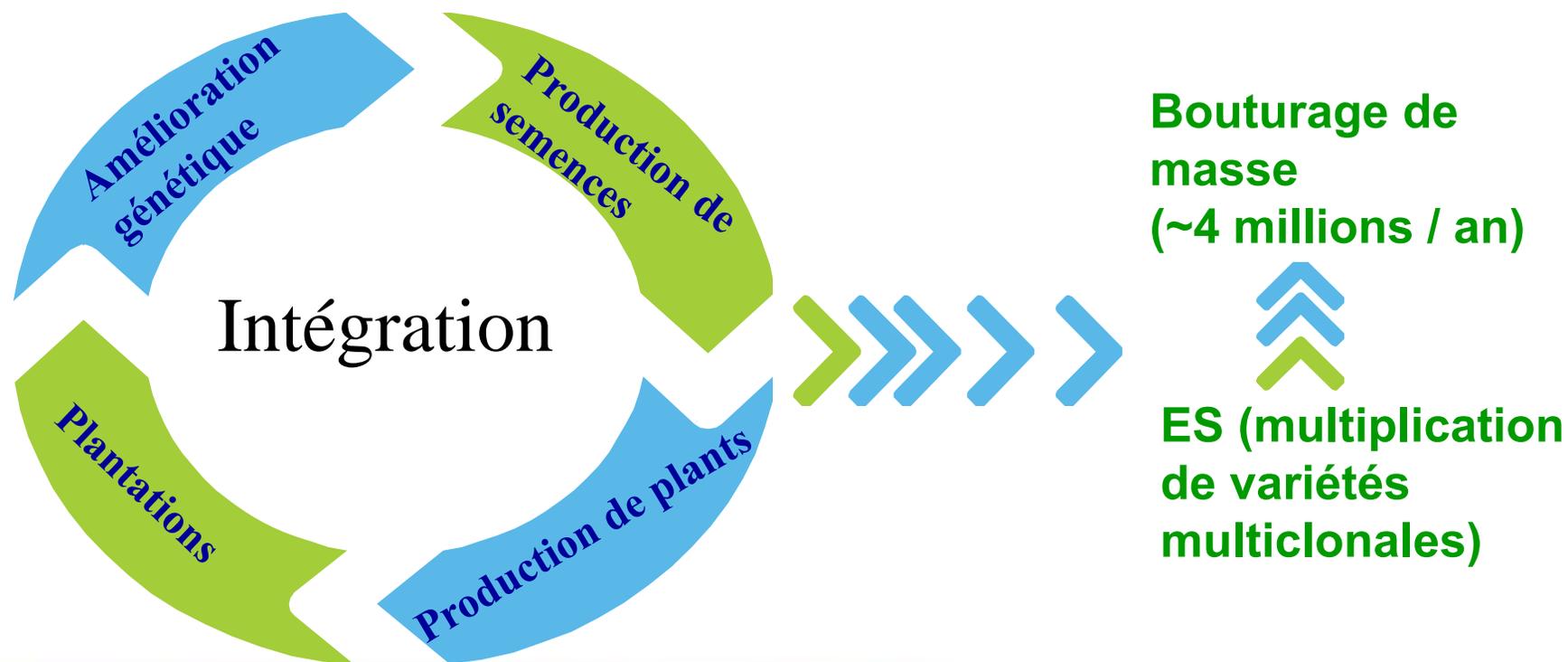
Le 4 février 2014

Ressources
naturelles

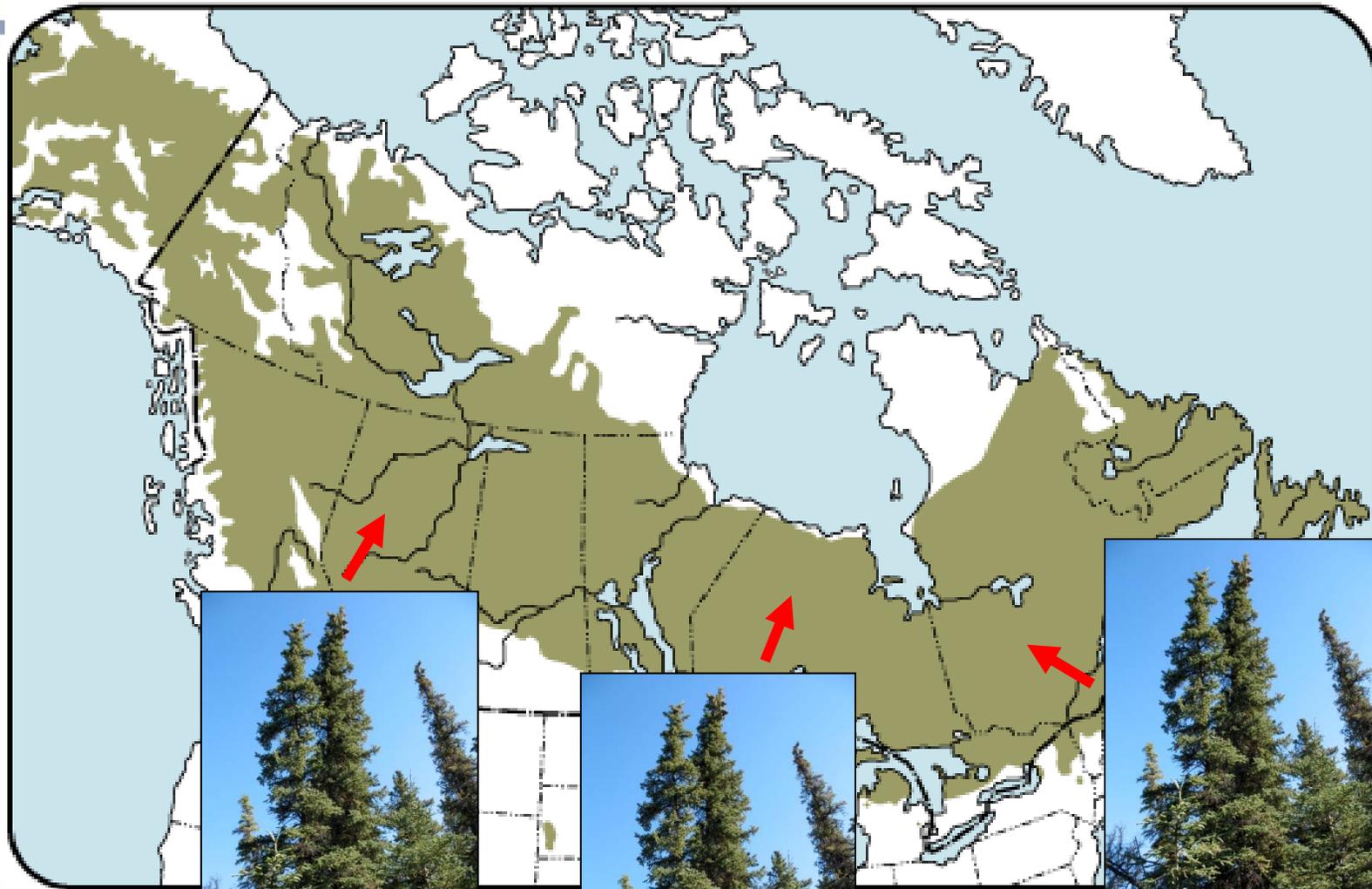
Québec

Filière de production de plants forestiers au Québec

- De la semence à la plantation : gestion par le MRN
- Forte intégration recherche - production de plants



Tirer profit de la **variabilité naturelle...**



Res
naturelles

Québec 

Phénotype

=

Génotype

+

Environnement

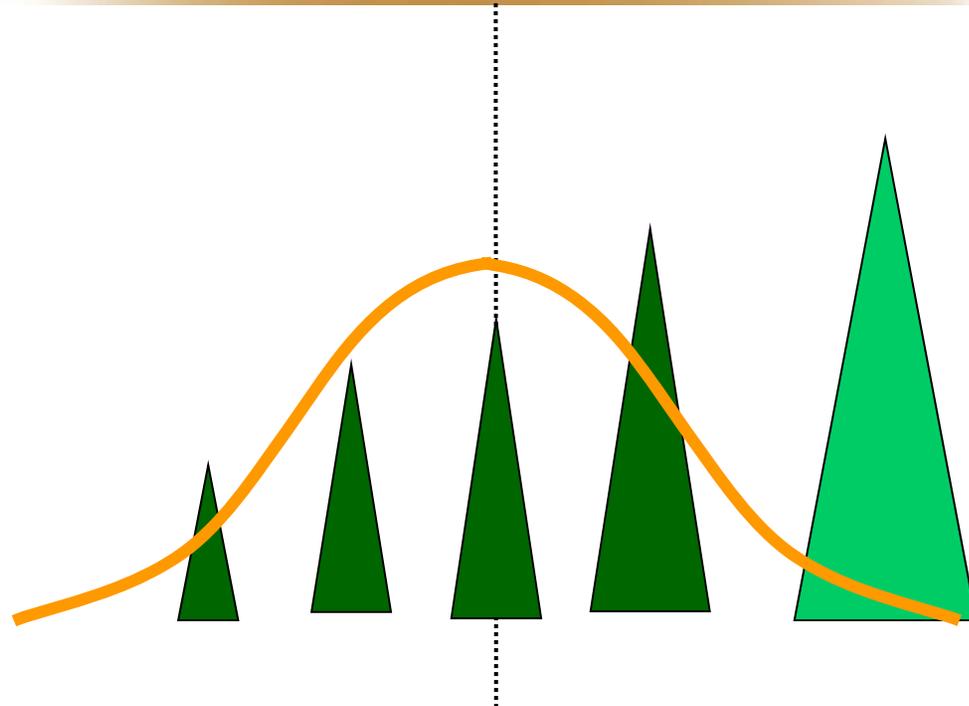


Plantations comparatives

Tests de provenances

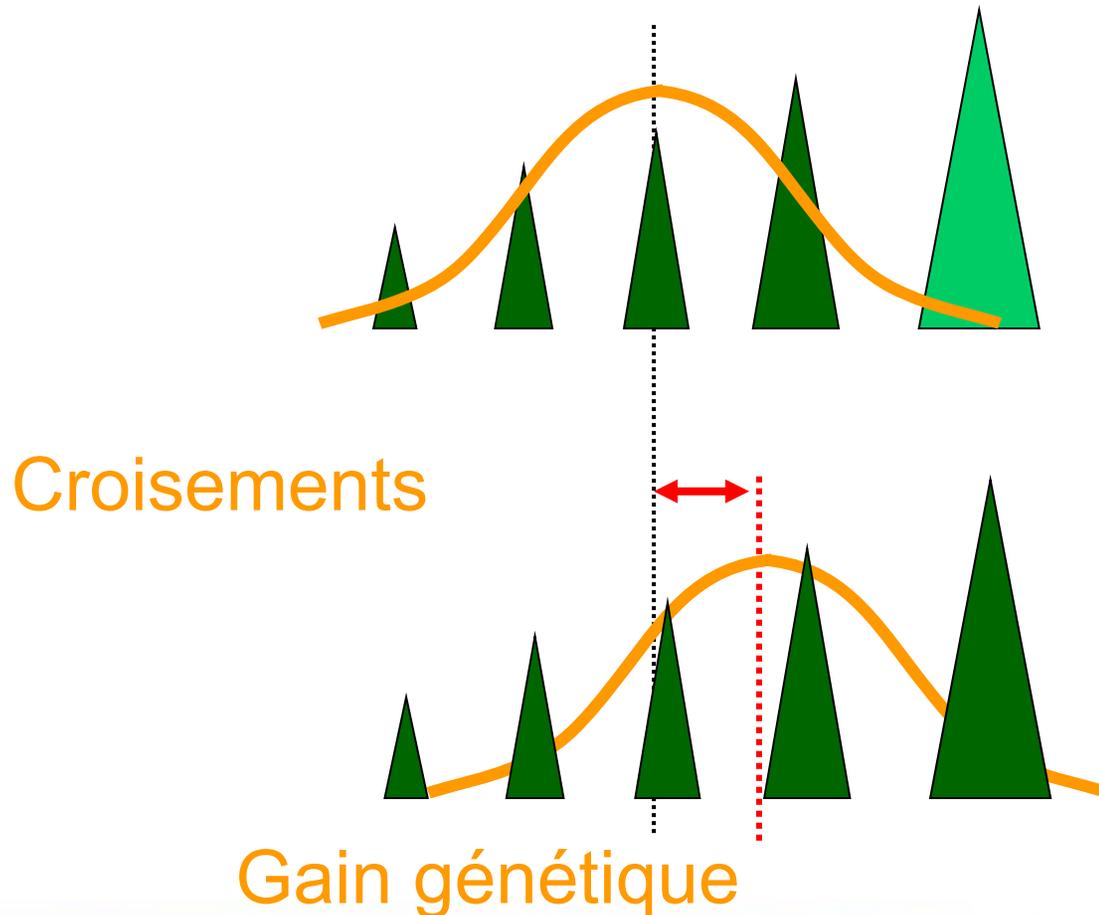


Objectif : identifier les individus supérieurs dans des tests génétiques



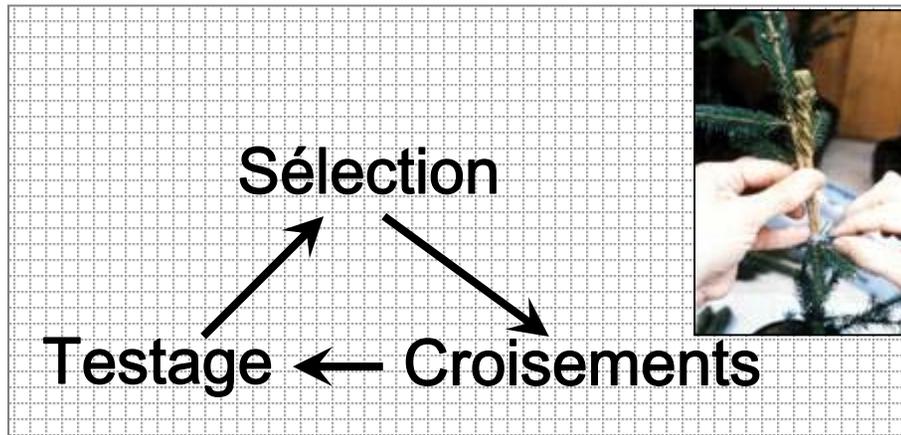
**Sélection des
meilleurs arbres**

Les meilleurs arbres sont croisés ensemble pour produire des **graines améliorées**



Amélioration génétique

Production



**Vergers à graines
(pollinisation libre)**

Croisements
↓
Reproduction végétative

Ressources
naturelles

Québec 

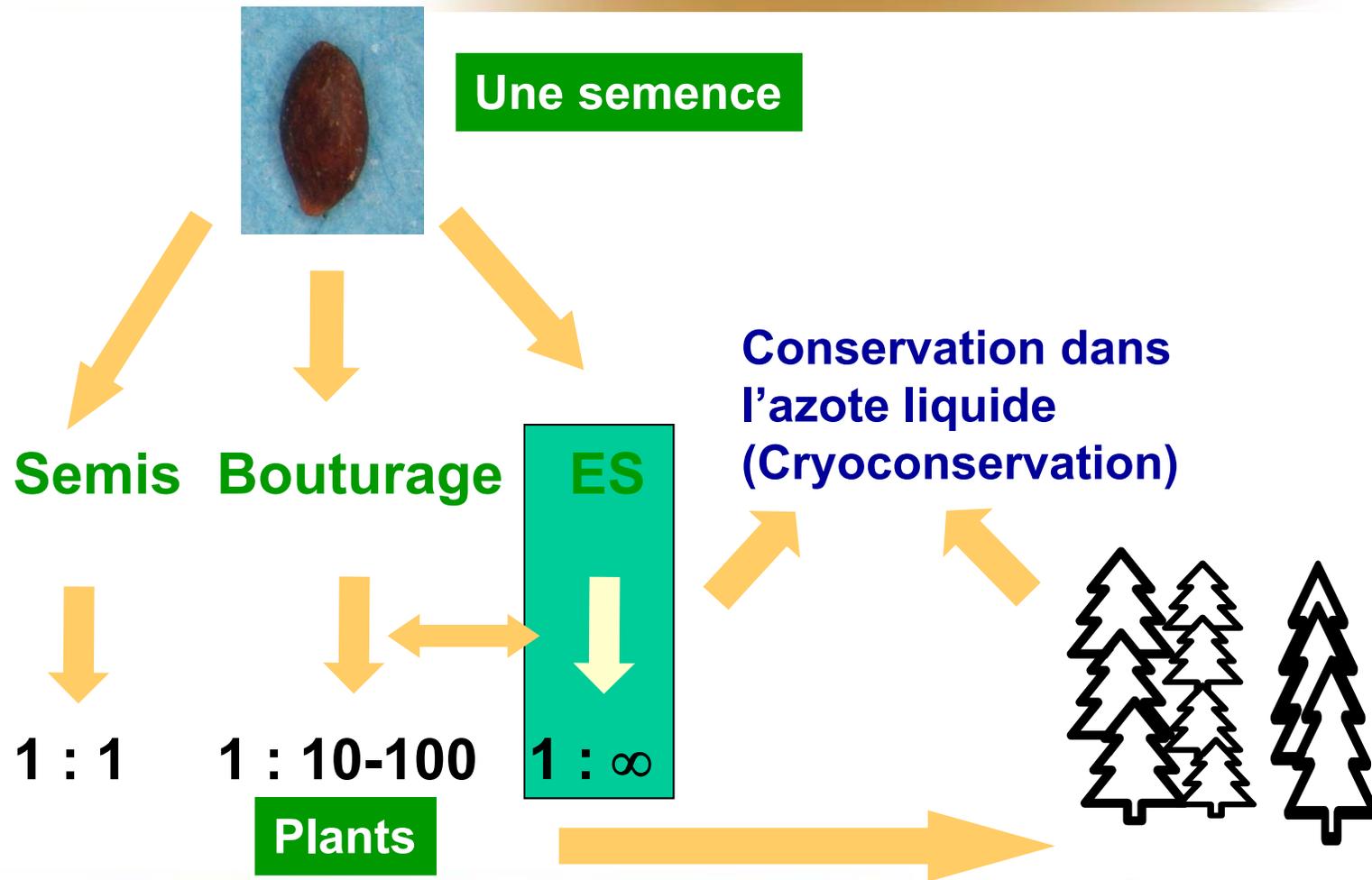


Clone 1 Clone 2 Clone 3 Clone 4 Clone 5

L'embryogenèse somatique (ES), c'est...

... une technique de **culture *in vitro*** permettant de produire à partir d'une semence une **grande quantité d'embryons somatiques** qui se développeront en plants.

Méthodes de production d'arbres améliorés



Ressources
naturelles

Québec

L'embryogenèse somatique (ES), c'est...

... une technique de **multiplication végétative**

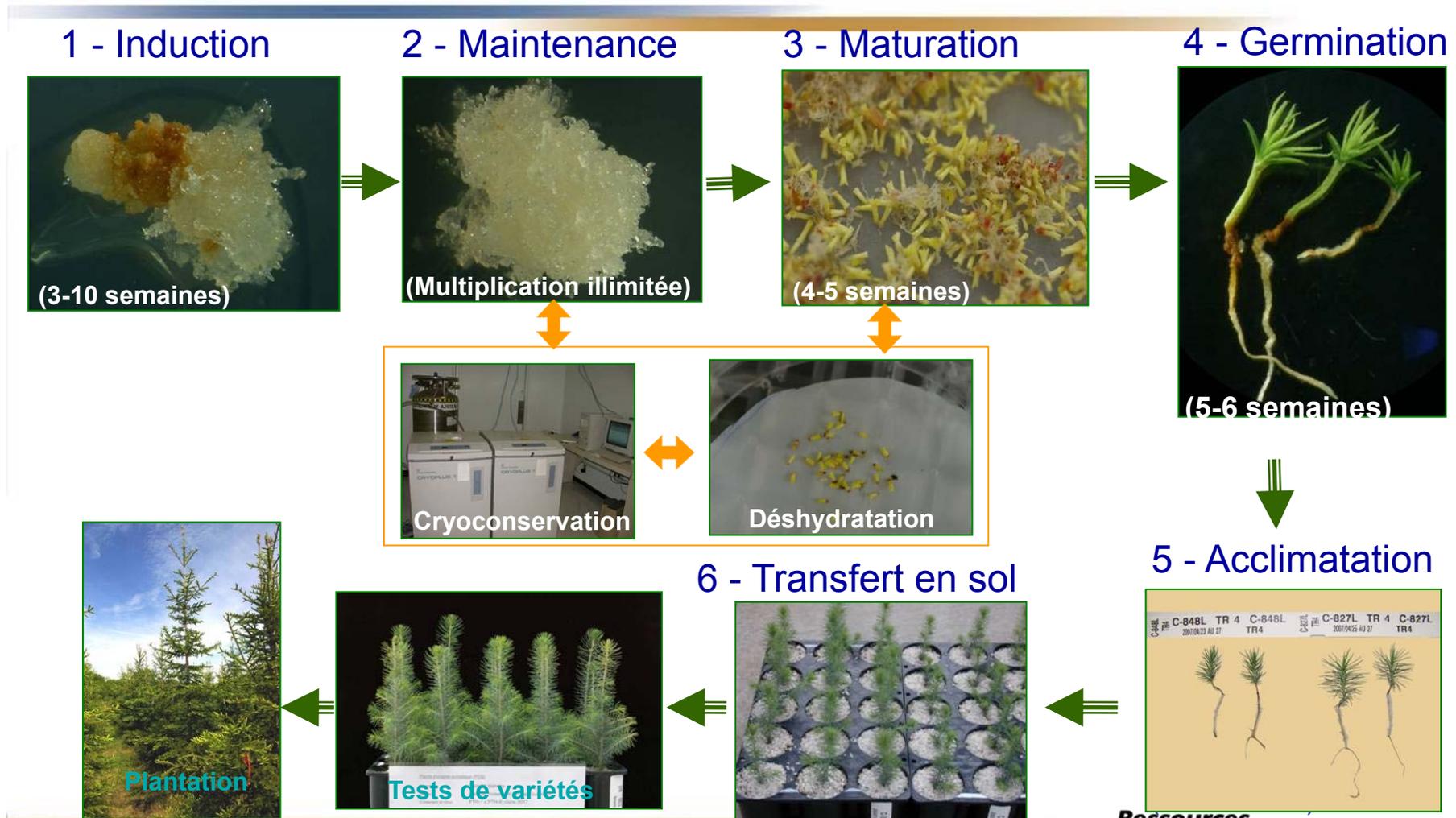
... qui utilise le matériel développé par les programmes d'amélioration génétique (**≠ AGM**)

L'épinette blanche, l'espèce dont le programme est le plus avancé.



En 2012, 98% des plants d'épinette blanche sont issues de sources améliorées

ES : Principales étapes

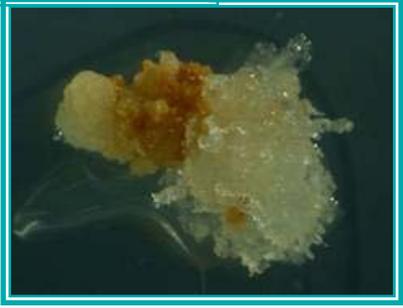


Étapes 1 et 2



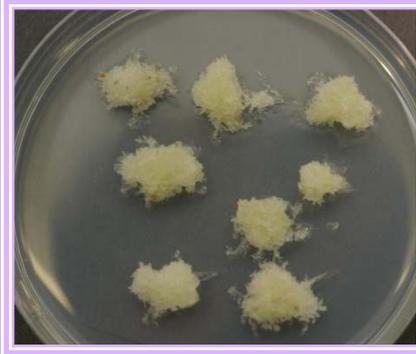
1 - Induction

- Dissection des graines
- Mise en culture



2 - Maintenance

- Transfert sur milieu frais



natureijes

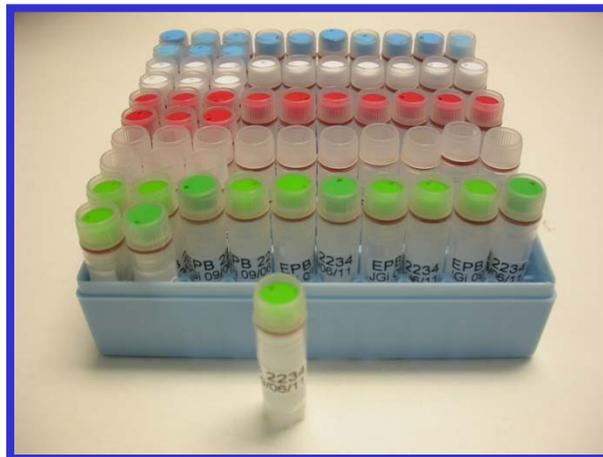
Québec 

Cryoconservation



Entreposage du tissu embryogène
dans l'azote liquide ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Opportunité unique



Ressources
naturelles

Québec



Étapes 3 et 4



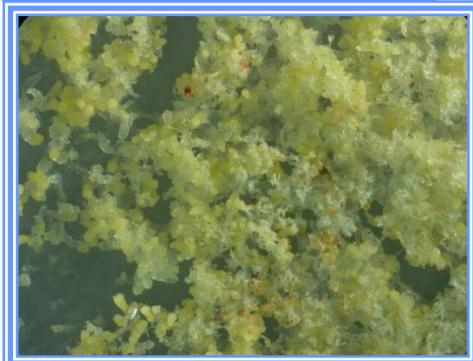
3 - Maturation

- Préparation du tissu
- Mise en culture



4 - Germination

- Récolte manuelle
- Mise en culture



Étapes 5 et 6



5 - Acclimatation

- Transfert d'un environnement stérile à celui retrouvé dans une serre.

6 - Transfert en sol

- Favoriser une croissance comparable à celle d'un semis.



- Tremblay et al (2005)** In : Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants 77: 59-68
- Lamhamedi et al. (2000).** Tree Physiol 20: 869-880.
- Tremblay et al. (1999). American Journal of Botany. 86(10): 1373-1381.
- Lamhamedi et al. (2003).** Physiologia Plantarum. 118: 554-561
- Tremblay 1990.** Can. J. Bot. 68:236-242
- Tremblay et Tremblay (1991).** Plant Science 77: 233-242.
- Tremblay et Tremblay (1995).** Plant cell tissue organ cult 42(1): 39-46.

Ressources
naturelles

Québec

Des milliers de plants identiques

dont le génotype est identique à la graine de départ



Culture en serre et mise au champ

De la graine au transfert en sol
= 6 à 7 mois.

Laboratoire d'ES : Unité de production de plants d'ES à Saint-Modeste

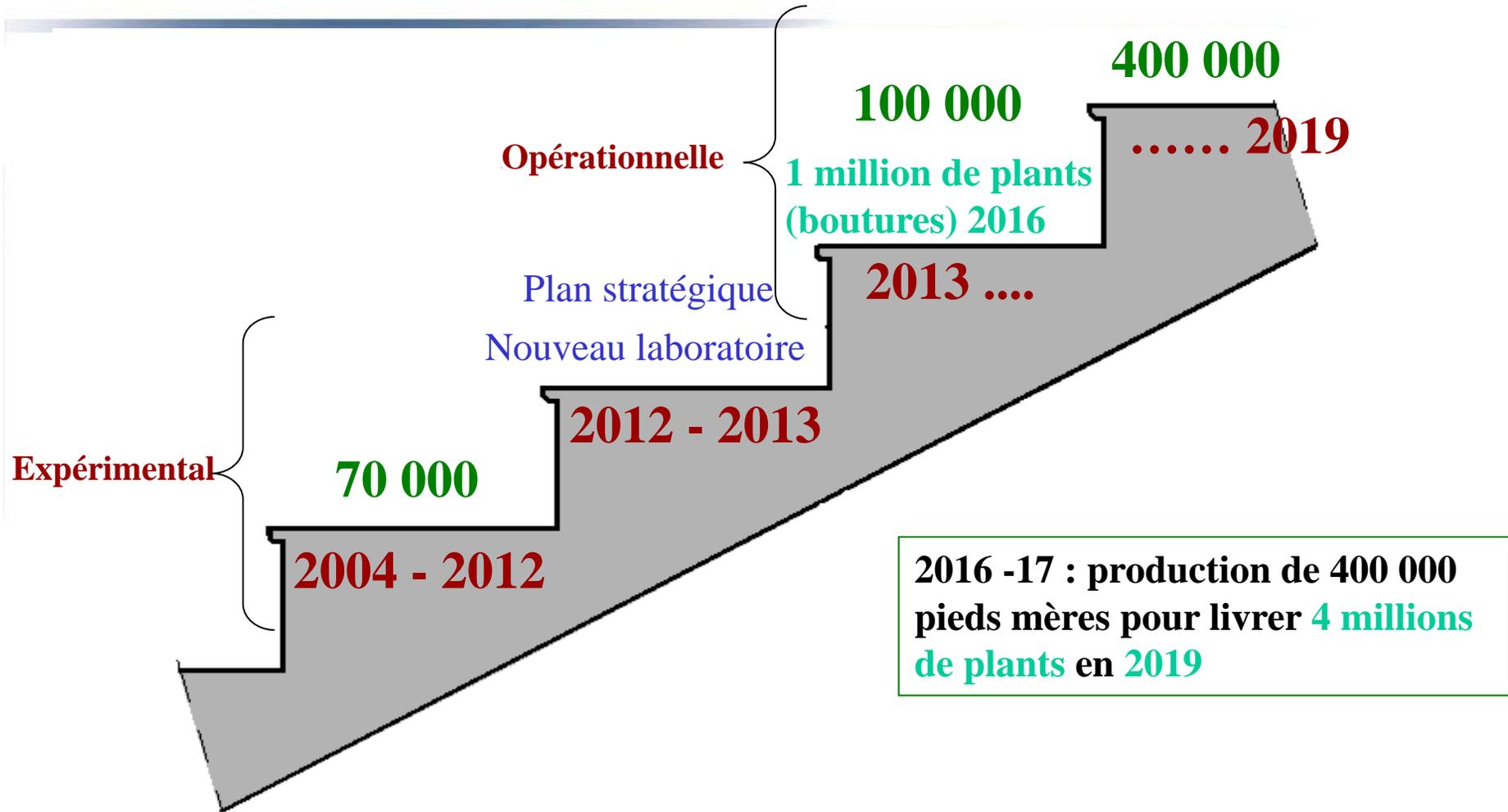
- ✓ **Élaboration d'un protocole standard**
- ✓ **Obtention de tissus embryogènes pour tous les croisements dirigés.**
- ✓ **Raffinement des techniques de cryoconservation.**
- ✓ **Projet pilote (Francine Tremblay, UL)**
- ✓ **Transfert et formation (DRF et DGSPF).**



2004 - 2013 :

3 440 clones d'épinette blanche en banque cryogénique provenant de 70 croisements dirigés recommandés

Production de plants issus d'ES



Autres activités au laboratoire d'ES

- **Production de tests clonaux (près de 200 clones par année);**
- **Production de 3 000 Pieds-mères de mélèze hybride;**
- **Réalisation d'essais d'optimisation de la mise à l'échelle opérationnelle;**
 - Améliorer les techniques de production
 - Réduire les manipulations
 - Diminuer les coûts de production

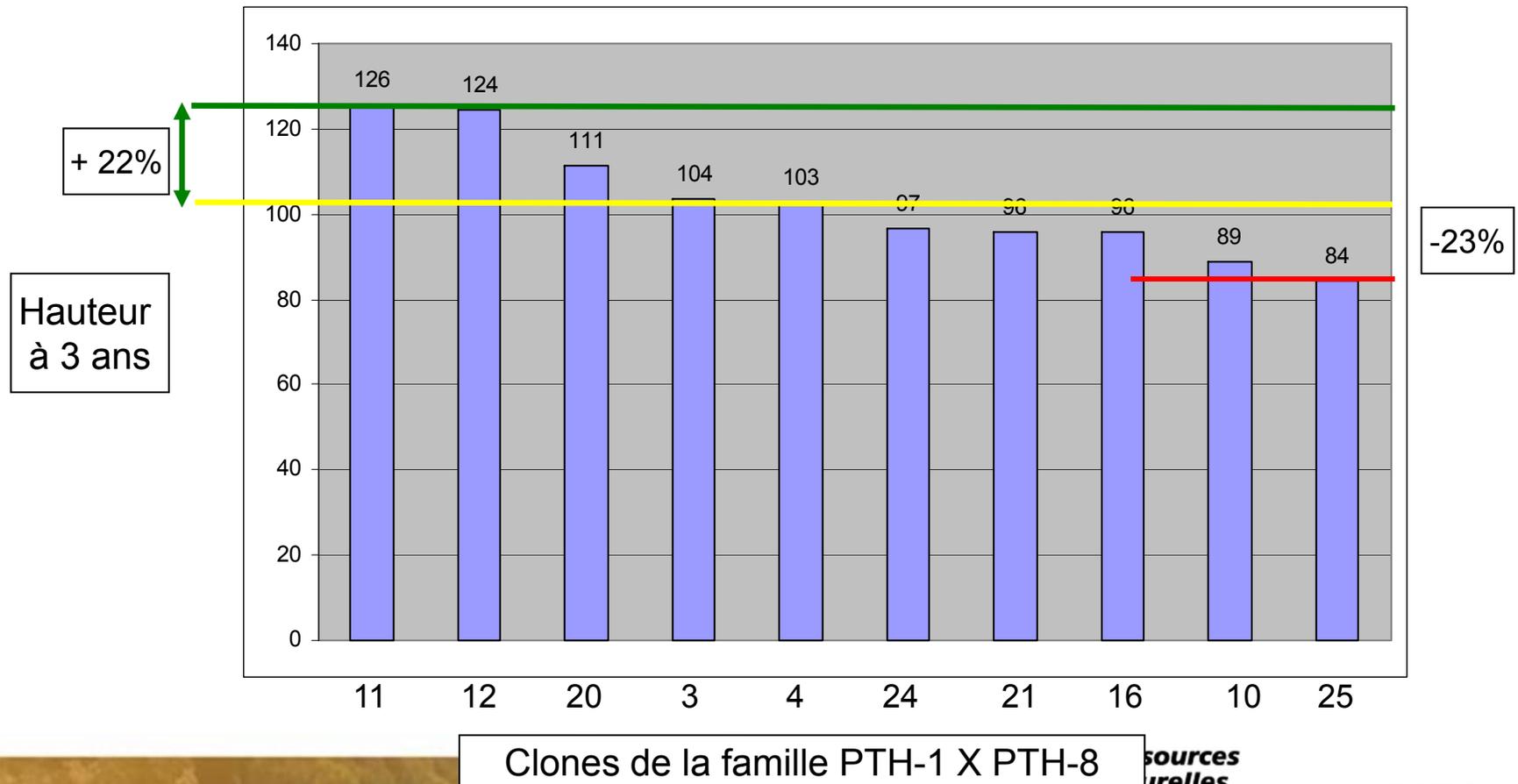
Autres activités au laboratoire d'ES : SUITE

- **Réalisation d'expériences avec partenaires externes (*LED, multicellules, CFL, Université Laval*);**
 - Assurer la traçabilité (marqueurs moléculaires)
 - Partenaire dans des projets de génomique
- **Réalisation d'expériences en collaboration avec la DRF.**
 - R & D sur des problèmes particuliers rencontrés.

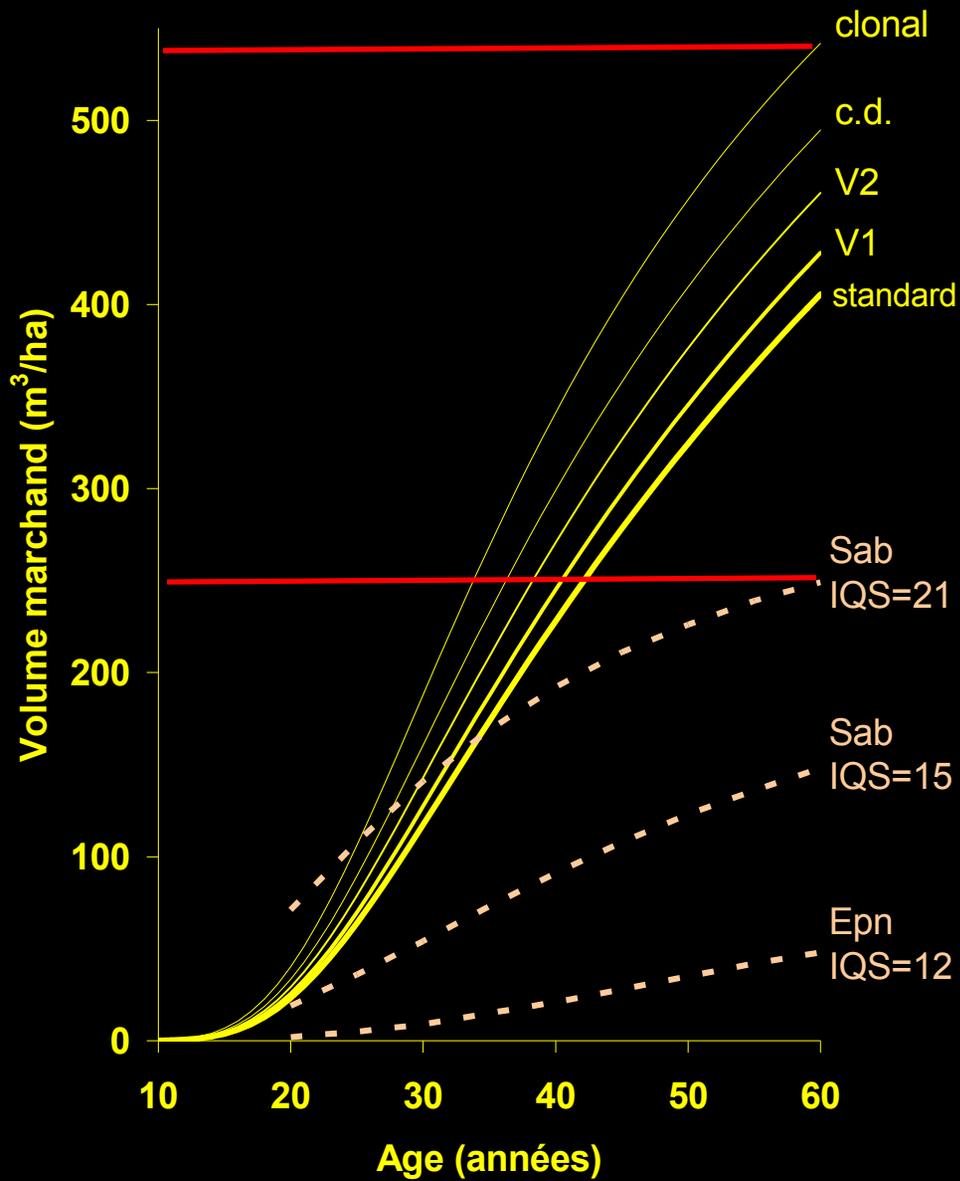


Clone 1 Clone 2 Clone 3 Clone 4 Clone 5

La performance varie selon les clones ! (ils doivent être évalués)



Rendement à l'hectare



Plantations

Source : Rainville pour les gains anticipés; Prigent, Picher et Auger (2010) pour la table de rendement utilisée

ressources
naturelles



CROISEMENTS DIRIGÉS

Bouturage

Production de clones par
embryogenèse somatique

Caractérisation morpho-physiologique en pépinière forestière

DRF

M. Lamhamedi

DRF

A. Rainville

Tests clonaux
(performance en sites de reboisement)

**Corrélations
pépinière - tests**
= possibilité de
sélection hâtive

DRF - DGPSPF

M. S. Lamhamedi
A. Rainville

Floraison - fructification
= nouveaux vergers
à graines

DRF

F. Colas
M. S. Lamhamedi

Débourrement
= adaptation aux
changements climatiques

DRF-DGPSPF

Tests clonaux 2007 - Caractères mesurés

■ Adaptation

- % survie et gel des bourgeons

■ Forme de la tige

- flèches multiples, fourches, tiges multiples, branches adventives

■ Croissance

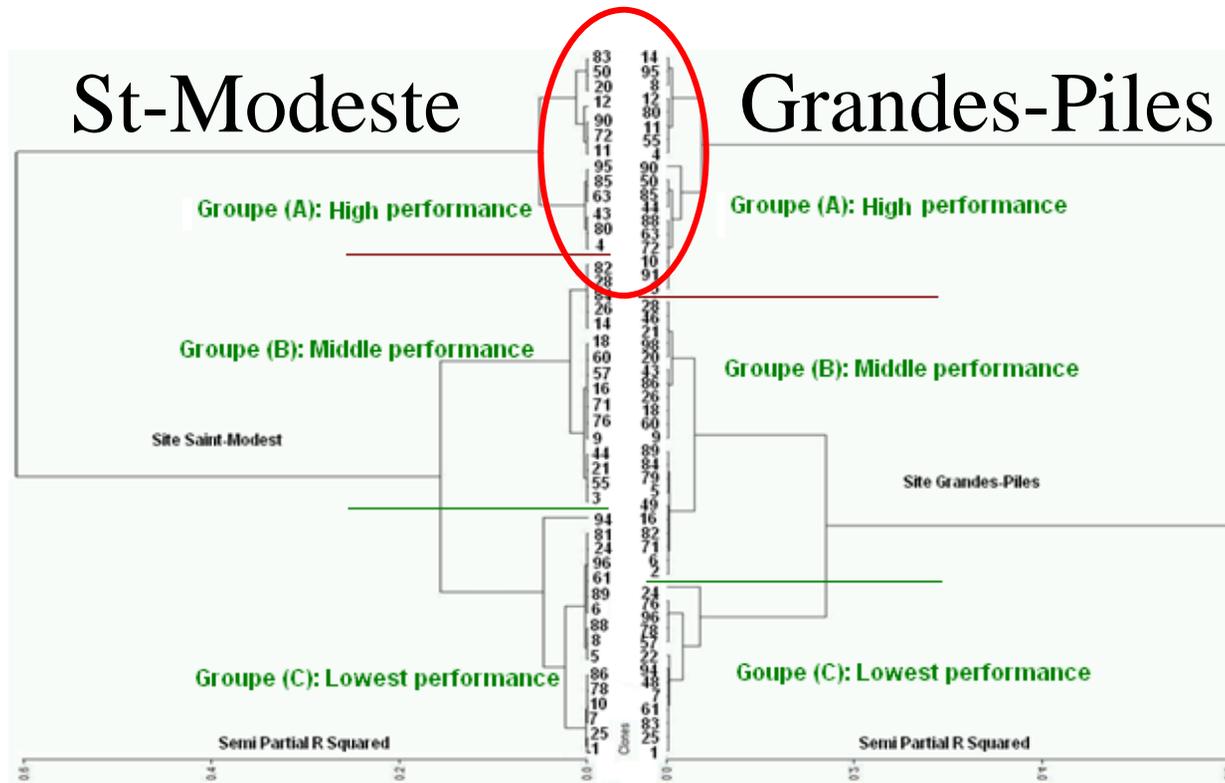
- Hauteur (cm), diamètre (mm) et pousse annuelle (cm)
- Volume avec écorce et sans écorce (dm³)

■ Branchaison

- Qualification de la branchaison (4 classes)
- Proportion de l'arbre ayant une forte densité de branches (%)
- Longueur (cm) et diamètre (mm) des branches



Classification hiérarchique des clones (hauteur)

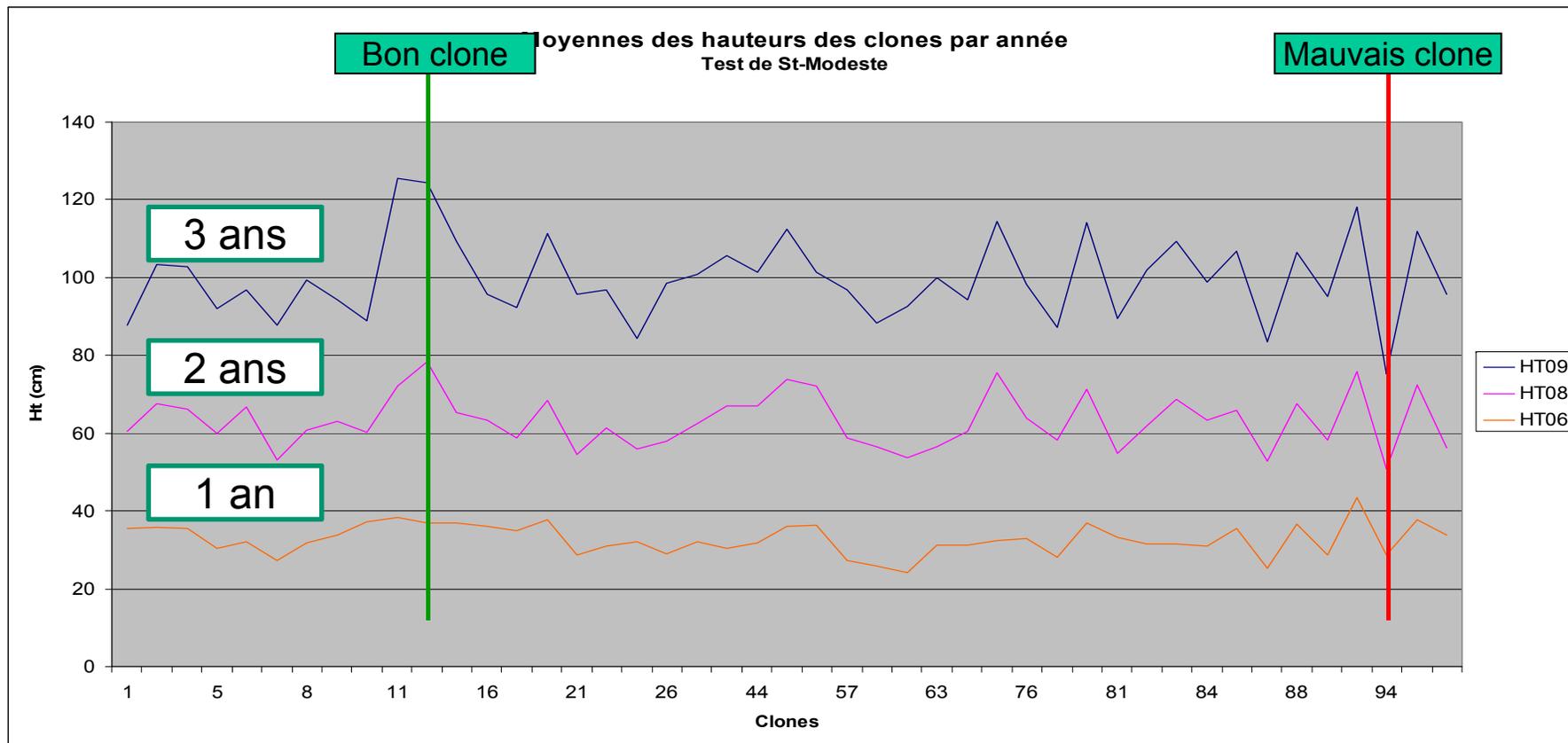


Wahid, N., A. Rainville, M.S. Lamhamedi et H.A. Margolis, 2012.
 Forest Ecology and Management 270 (2012) 45–53

Ressources
 naturelles

Québec

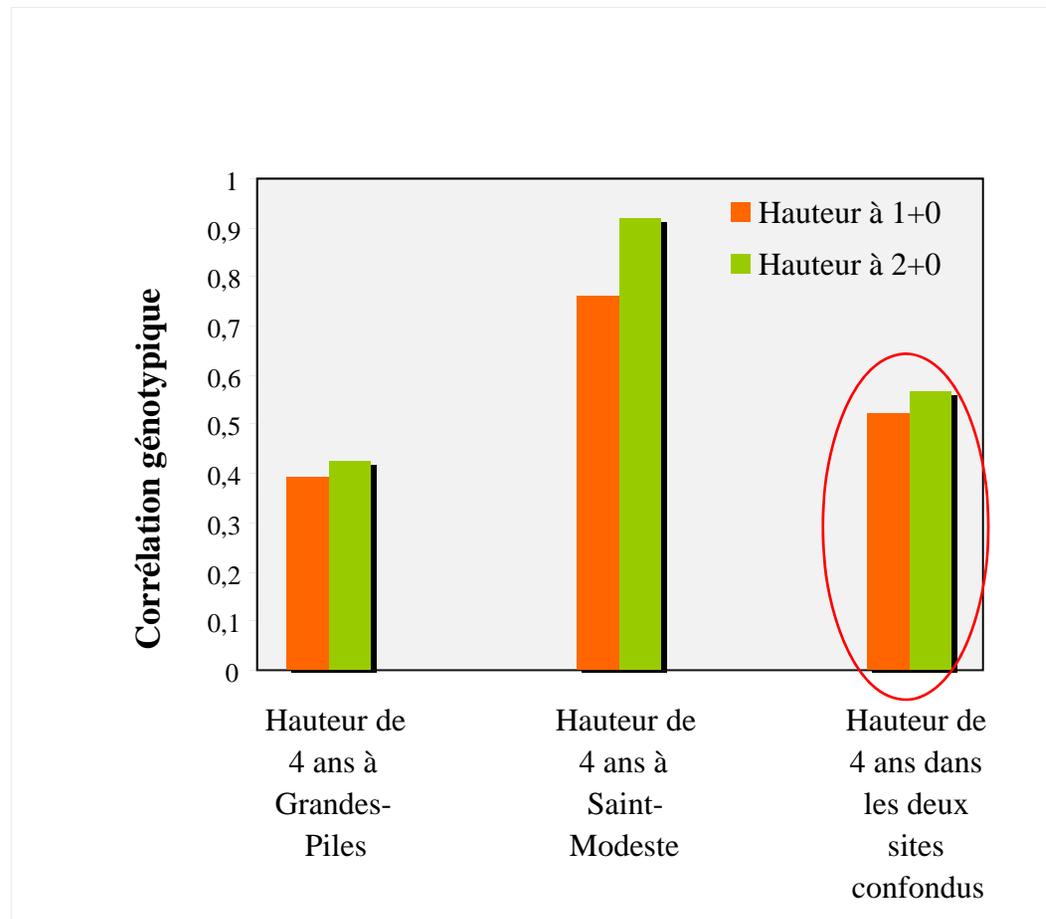
Possibilité de sélection clonale précoce



Comparaison des variétés avec leur zygote Test 2009i-2012p



Corrélations génotypiques âge-âge



Amélioration génétique



Étude à l'aide de marqueurs moléculaires (Desponts et al, 1992)

Non amélioré



2 populations naturelles

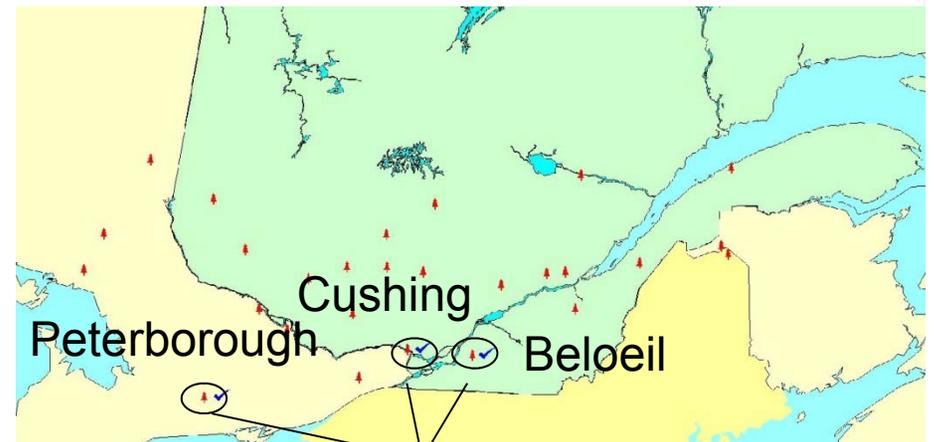


50 arbres par peuplement



100 arbres

Amélioré



3 provenances supérieures



Récolte de cônes + tests au Québec



20 arbres sélectionnés

Conclusions

Ressources
naturelles

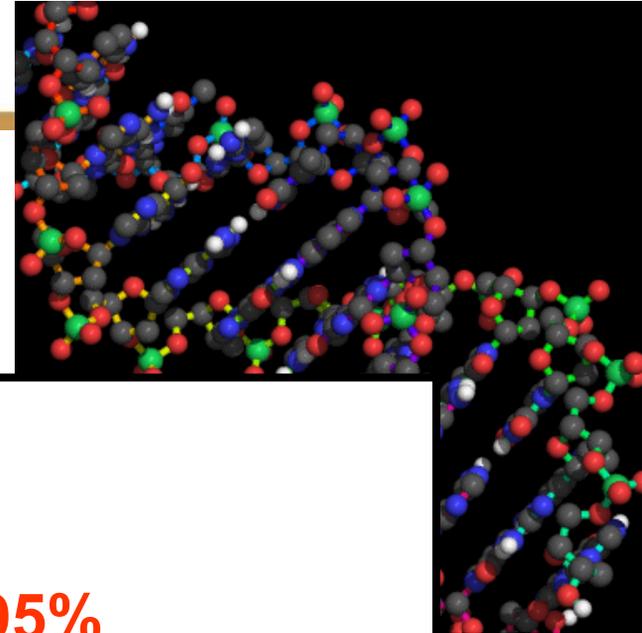
Québec

Conclusions

- Sélection = impact très faible sur la diversité génétique
- Même un nombre restreint d'individus permet de retenir l'essentiel de la diversité génétique

- **Pin sylvestre** (Muona et Harris 1989)
- **Épinette noire** (Knowles 1985)
- **Épinette de Norvège** (Bergmann et Ruetz 1991)
- **Pin gris** (Knowles 1985)
- **Pruche de l'ouest** (Adams 1983)

- Lindgren et Prescher (2005)
- Yanchuk et al (2005)
- Roberds et Bishir (1997)
- Nanso



20 à 50 arbres = 95%



CROISEMENTS DIRIGÉS

Bouturage

Production de clones par
embryogenèse somatique

Sélection assistée
par marqueurs

Caractérisation morpho-physiologique en pépinière

DRF
A. Rainville

Tests clonaux
(performance en sites de reboisement)

- qualité du bois,
- débourrement,
- résistance au gel,
- résistance à la TBE,
- etc.

**Corrélations
pépinière - tests?**
= possibilité de
sélection hâtive

DRF
A. Rainville
M. S. Lamhamedi

Floraison - fructification
= nouveaux vergers
à graines

DRF
F. Colas
M. S. Lamhamedi

Débourrement
= adaptation aux
changements climatiques

DRF-DGPSF



GenomeCanada



GenomeQuébec



SMarTForests



Natural Resources
Canada



Canadian Wood Fibre Centre



UNIVERSITÉ
LAVAL



FPInnovations



*Canada Research Chair
in Forest and Environmental
Genomics*

**Ressources
naturelles**

Québec 

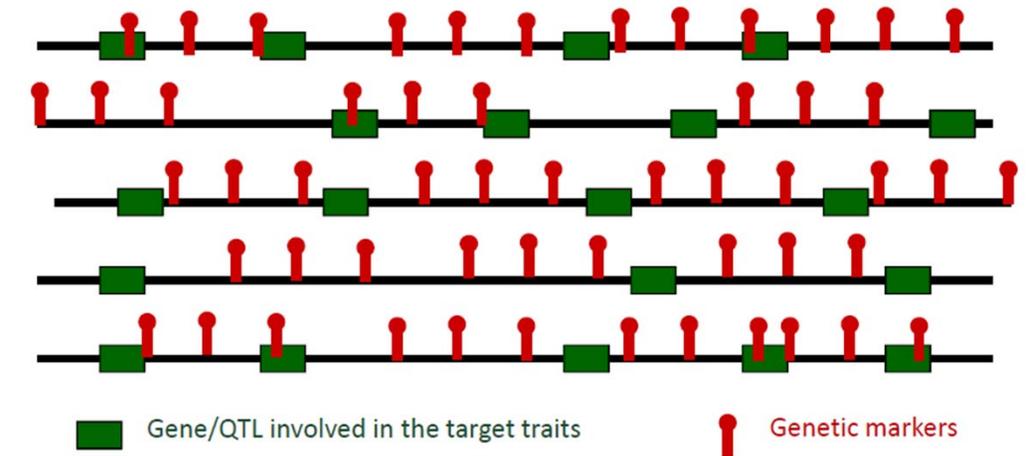
Phénotypage et Génotypage

Phénotypage

Arbres âgés de 15 ans

- *Hauteur*
- *DHP*
- *MFA*
- *Densité du bois*

Génotypage



1748 arbres

6918 gènes

Prédire la valeur génétique par la génomique

Comparaison sélection génomique (G) VS traditionnelle (T) (G/T en %)

▪ Densité du bois	89-92
▪ Angle des microfibrilles	88-95
▪ Hauteur	85-94
▪ Diamètre	91-92

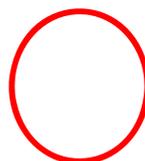
Des femmes, des hommes, des régions, **nos ressources...**



Raccourcir le cycle d'amélioration

■ Sélection + croisement ■ Testage ■ Multiplication

Programme d'amélioration traditionnel : 36 ans



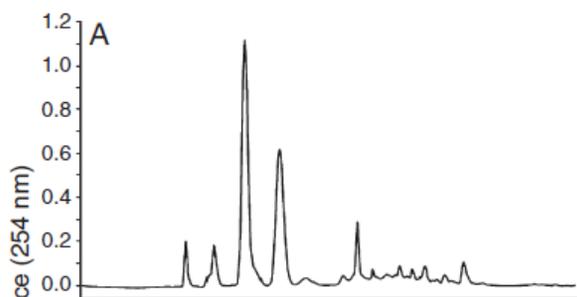
Adapté de Harfouche *et al* (2012)

Québec 

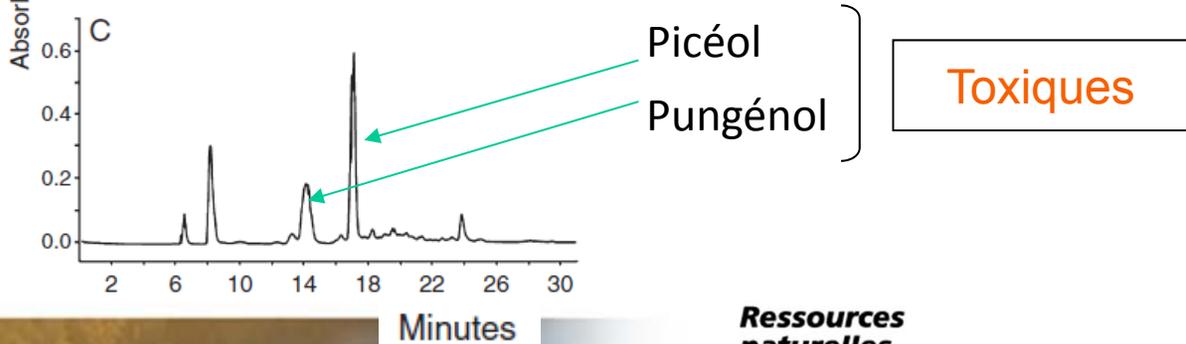
Sélection d'épinettes blanches résistantes à la tordeuse de bourgeon d'épinette (TBE) (Projet CRSNG 2012-15)

Résistance à la TBE = associée à la présence de
différents composés phénoliques (Delvas et al. 2011) ...

Arbres non-résistants



Arbres résistants

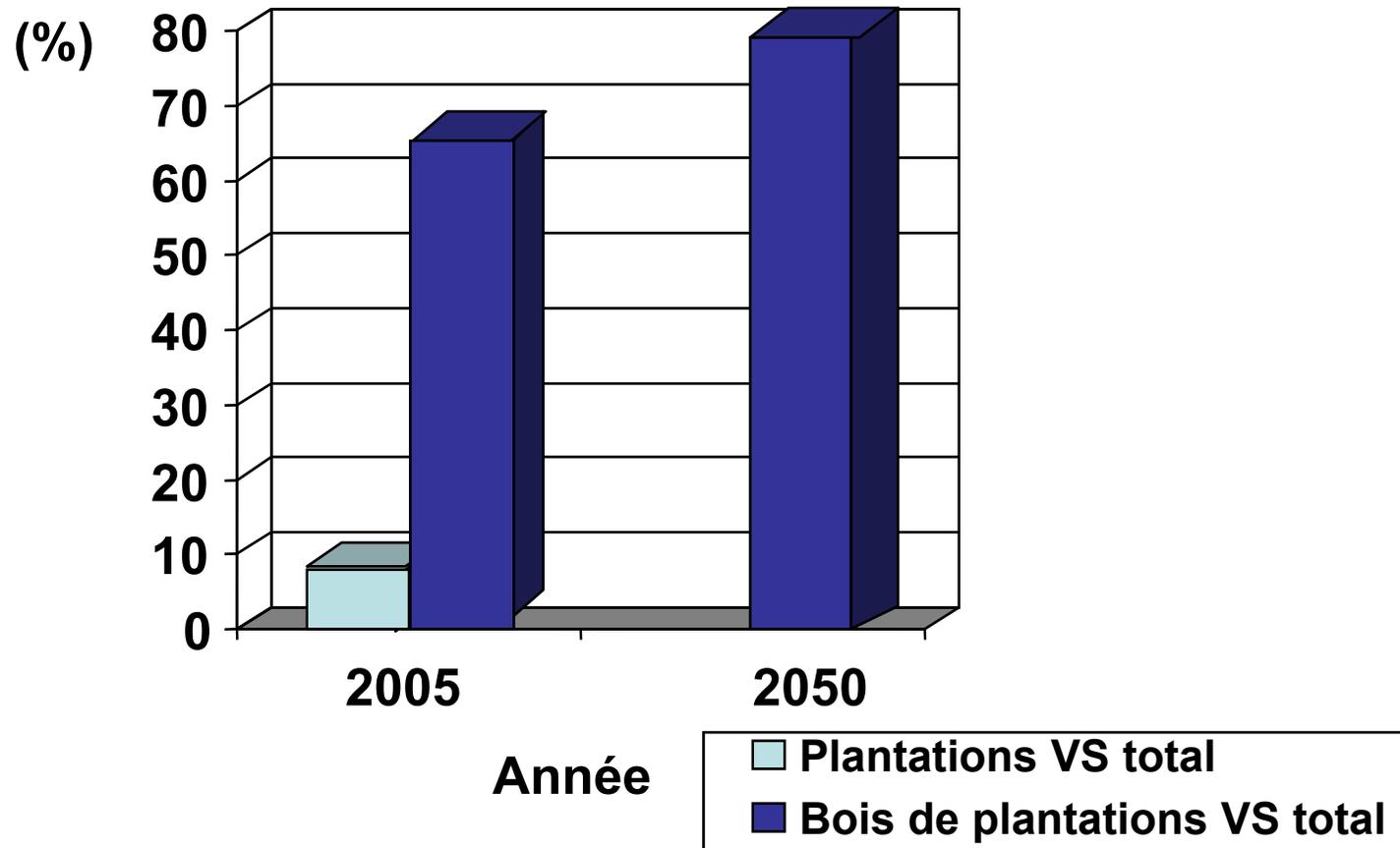


... eux-mêmes associés à la plus forte expression d'un gène (β -glucosidase) spécifique aux aiguilles (MacKay et al, en rédaction)

Annotation d'après *Arabidopsis thaliana* (TAIR)

	Vegetative Buds	Young needles	Xylem (mature)	Xylem (juvenile)	Phelloderm	Adventitious Roots	Megagametophytes	Embryogenic cells
beta glucosidase 43	NA	NA	NA	NA	3	1	NA	NA
beta glucosidase 40	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Glycosyl hydrolase superfamily protein	8	10	9	10	10	9	8	4
beta glucosidase 40	4	5	4	7	9	10	NA	NA
beta glucosidase 17	NA	NA	NA	NA	NA	3	2	NA
beta glucosidase 17	NA	NA	6	3	NA	NA	NA	NA
beta glucosidase 11	NA	8	NA	NA	NA	2	NA	NA
beta glucosidase 40	1	NA	NA	NA	1	6	4	2
beta glucosidase 10	NA	7	NA	NA	NA	NA	NA	NA
beta glucosidase 9	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
beta-glucosidase 47	NA	2	5	6	6	1	NA	NA
beta glucosidase 40	NA	9	NA	NA	NA	NA	NA	NA
beta glucosidase 42	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
beta glucosidase 13	8	9	NA	NA	1	8	NA	NA
beta glucosidase 40	1	NA	NA	NA	1	4	NA	NA
beta glucosidase 40	1	NA	5	4	5	9	3	10
Glycosyl hydrolase superfamily protein	1	NA	7	NA	NA	6	7	8
beta glucosidase 42	NA	5	7	8	6	4	4	NA
beta glucosidase 40	9	NA	8	7	4	8	9	7

Approvisionnement en bois dans le monde



(Carle et Holmgren, 2008) *ssources
turelles*

Québec 

Plantations d'épinettes blanches



17 ans



22 ans

Prégent, 2005

Remerciements

MRN-DRF

- Fabienne Colas
- Mohammed Lamhamedi
- Guy Prigent
- Guildo Gagnon
- Michel Campagna
- Mario Renaud
- Pascal Desjardins

MRN-DGPSPF centre

- André Deshaies
- Anne Savary
- Daniel Richard
- Claude Gagné
- René Chouinard

MRN-DGPSPF Saint-Modeste

- Michel Rioux
- Julie Gingras
- Annie Dionne
- Josée Gravel
- Annie Carrier
- Julie Gravel-Grenier

MRN-DGPSPF-Pépinières

- Berthierville
- Grandes-Piles

Université Laval

- Jean Bousquet
- John MacKay
- Hank Margolis
- Patrick Lenz

SCF

- Jean Beaulieu
- Nathalie Isabel

