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

café conférence forestier

Ordre des ingénieurs forestiers du Québec

AFOR

Canadian Institute of Forestry
Institut forestier du Canada

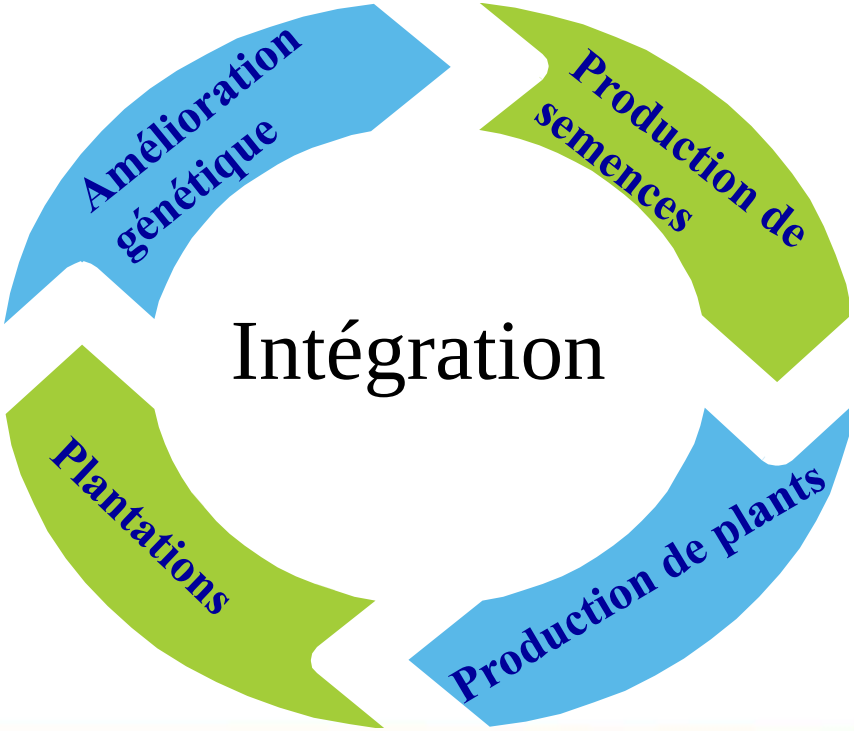
André Rainville, Ing.f., M. Sc., DRF, Ressources naturelles Québec
Laurence Tremblay, Biol., M. Sc., DGPSPF, Ressources naturelles Québec

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**

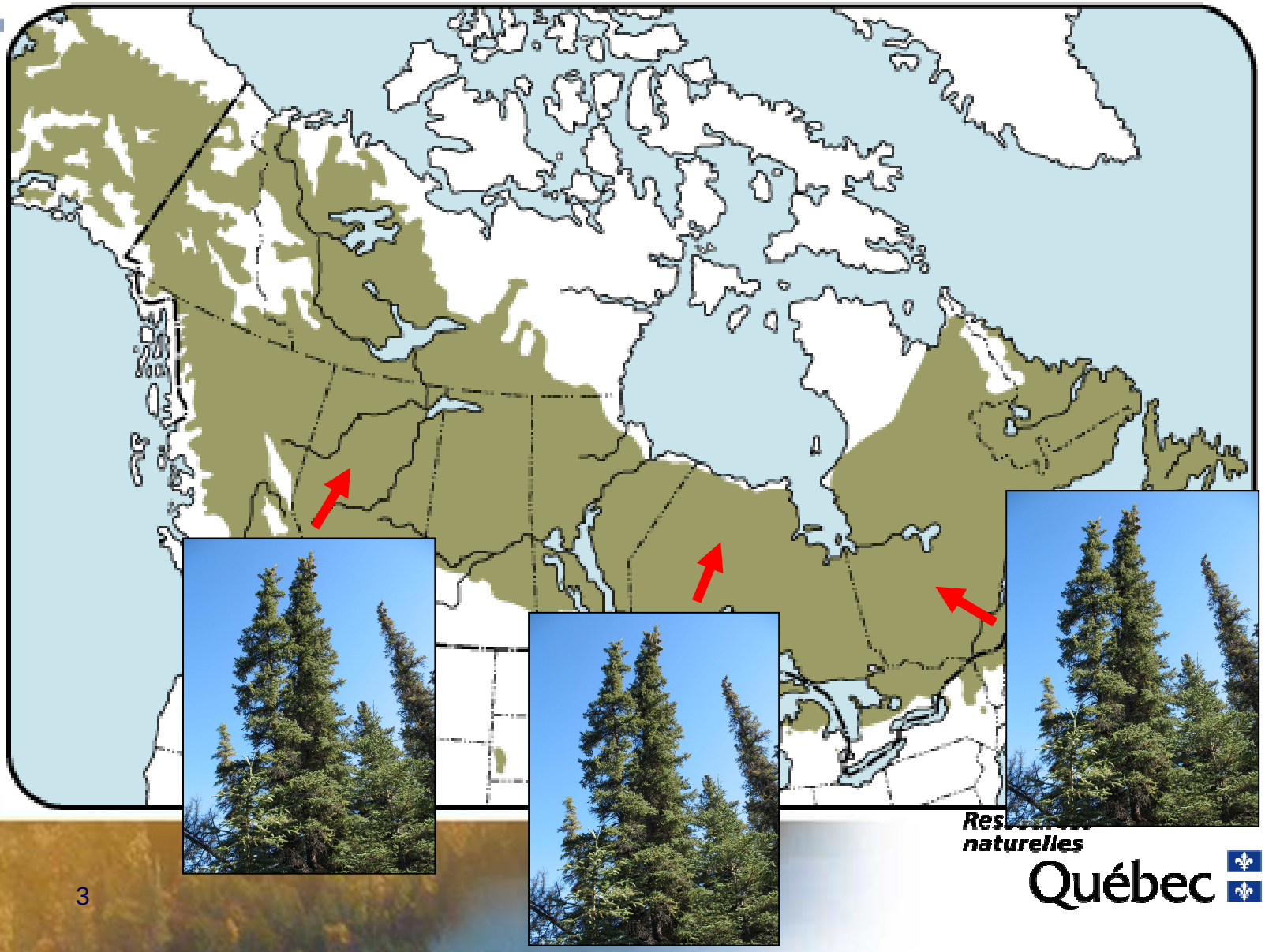


Bouturage de masse (~4 millions / an)

ES (multiplication de variétés multiclonales)

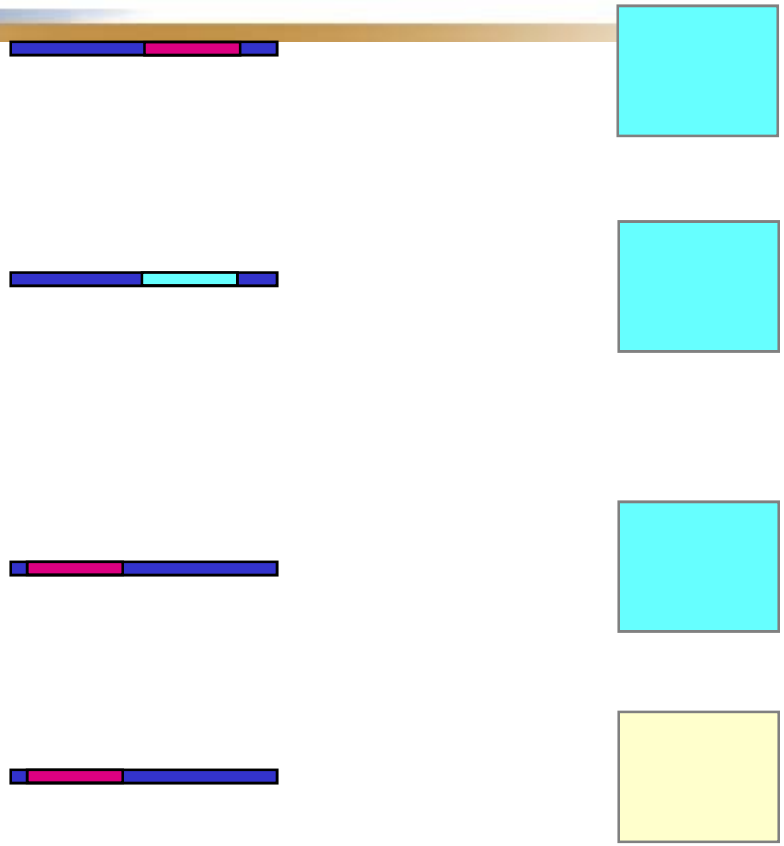
Ressources naturelles Québec

Tirer profit de la variabilité naturelle…



Ressources naturelles Québec

Phénotype = Génotype + Environnement



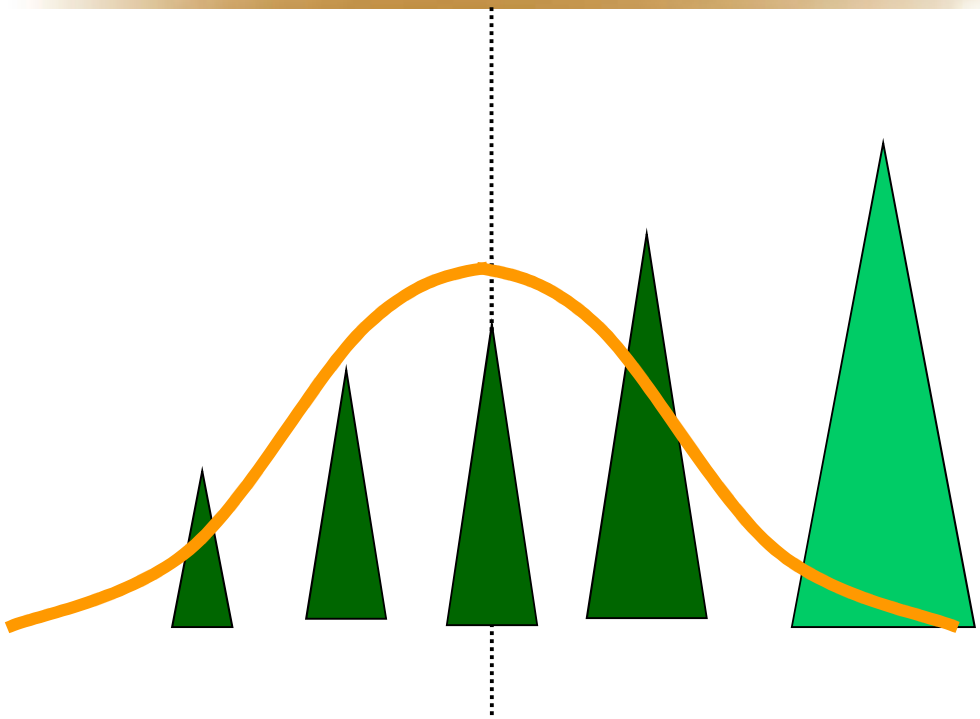
Ressources naturelles Québec

Plantations comparatives

Tests de provenances

essources
turelles
Québec

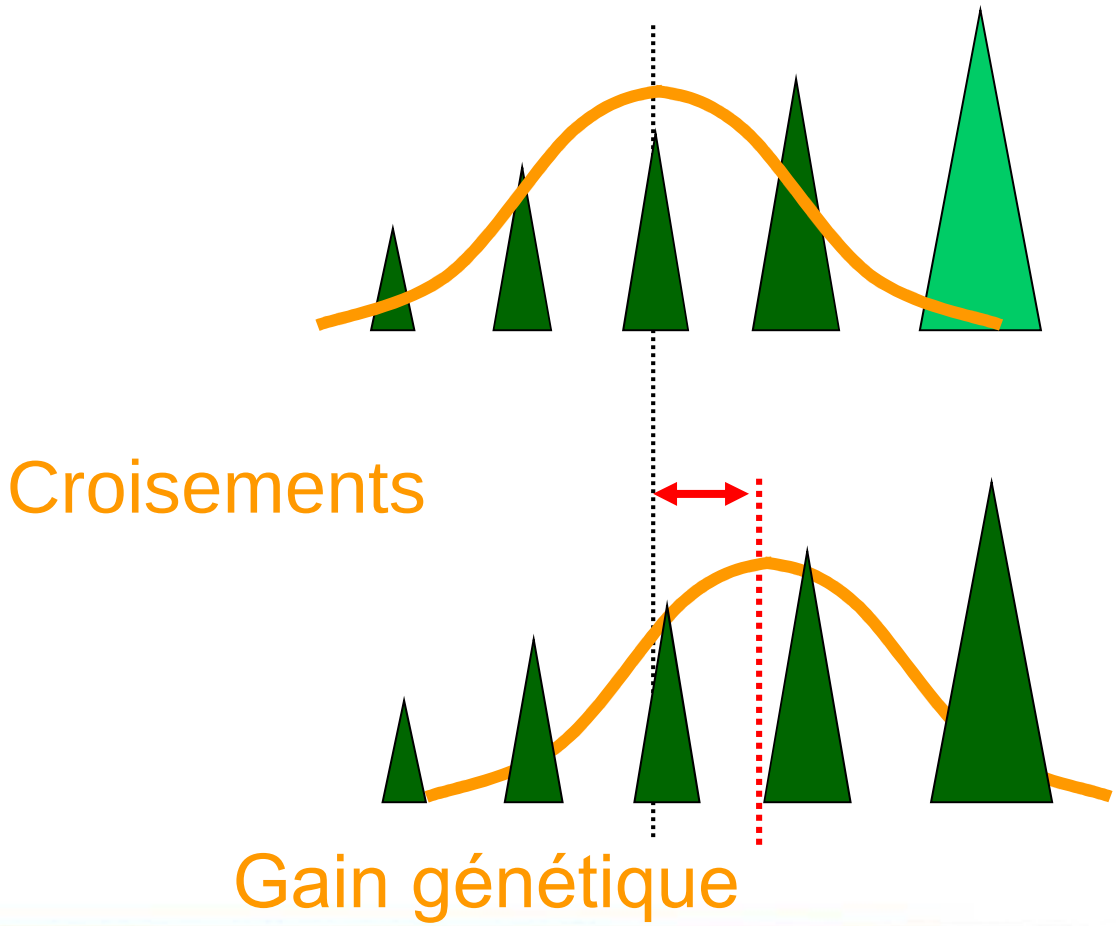
Objectif : identifier les individus supérieurs dans des tests génétiques



Sélection des meilleurs arbres

Ressources naturelles Québec

Les meilleurs arbres sont croisés ensemble pour produire des graines améliorées



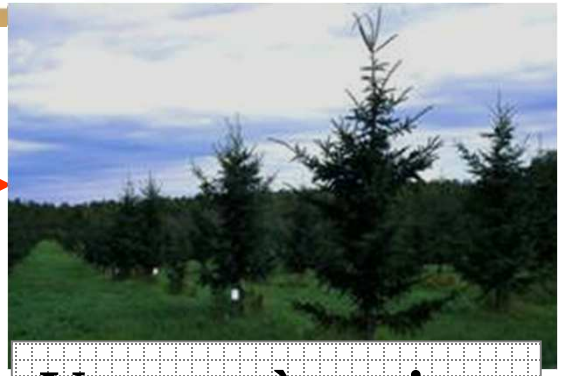
Ressources naturelles Québec

Amélioration génétique

Production

Sélection

Testage ← Croisements



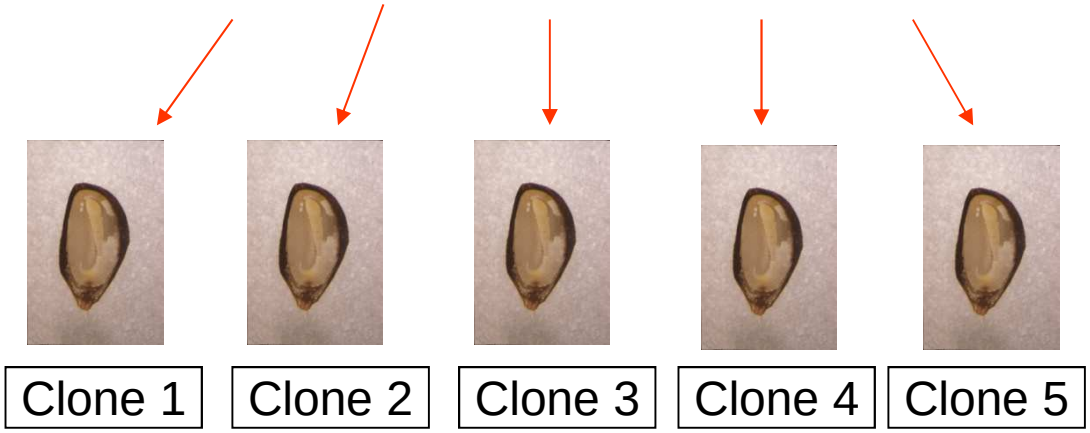
Vergers à graines (pollinisation libre)

Croisements

⇓

Reproduction végétative

Ressources naturelles Québec



Ressources naturelles Québec

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.

Ressources naturelles Québec

Méthodes de production d'arbres améliorés

Une semence

Semis

Bouturage

ES

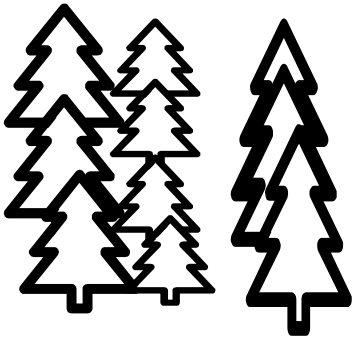
Conservation dans l'azote liquide (Cryoconservation)

1 : 1

1 : 10-100

1 : ∞

Plants



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.

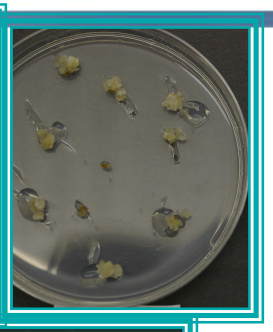
↓

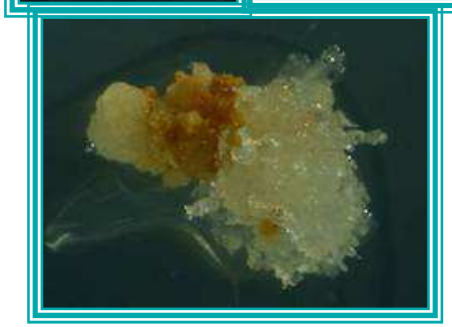
En 2012, 98% des plants d'épinette blanche sont issues de sources améliorées

ES : Principales étapes

Ressources naturelles Québec

Étapes 1 et 2



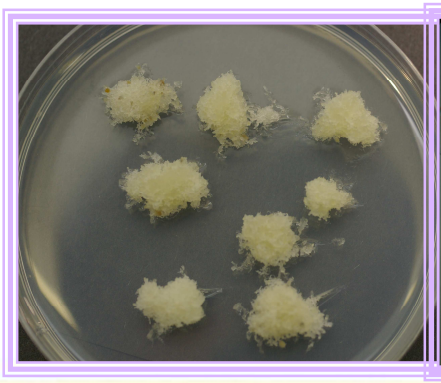


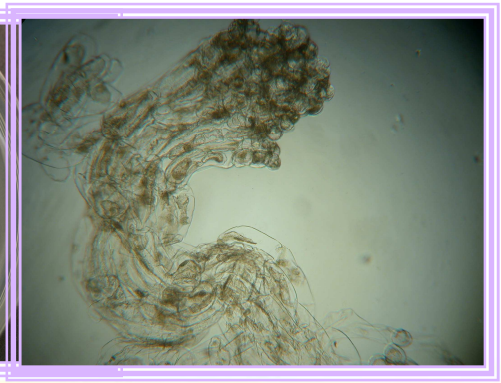
1 - Induction

- Dissection des graines
- Mise en culture

2 - Maintenance

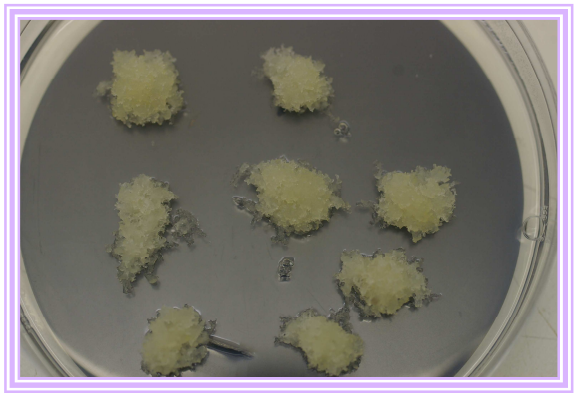
- Transfert sur milieu frais





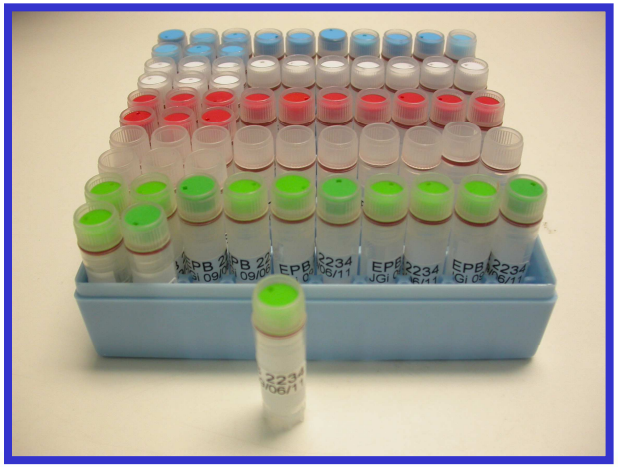
naturelles Québec

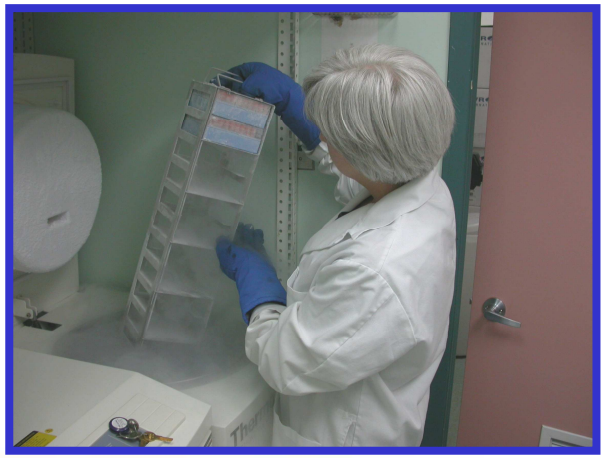
Cryoconservation



Entreposage du tissu embryogène dans l'azote liquide (–196 °C)

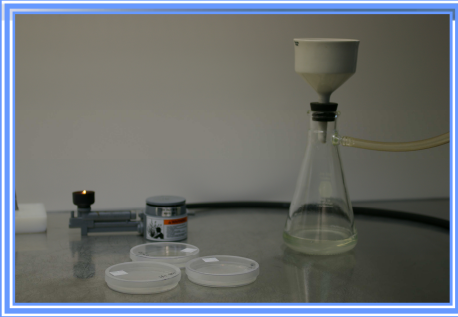
Opportunité unique





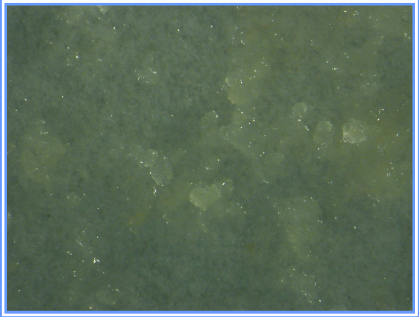
Ressources naturelles Québec

Étapes 3 et 4



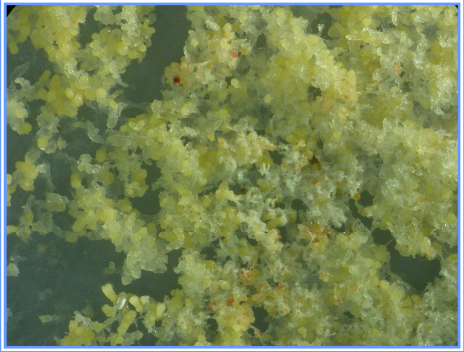
3 - Maturation

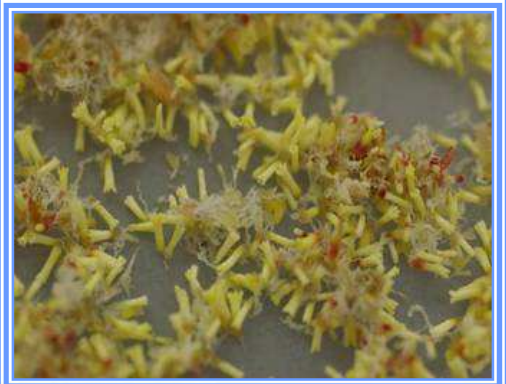
- Préparation du tissus
- Mise en culture

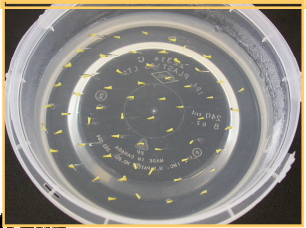


4 - Germination

- Récolte manuelle
- Mise en culture







naturelles
Québec

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

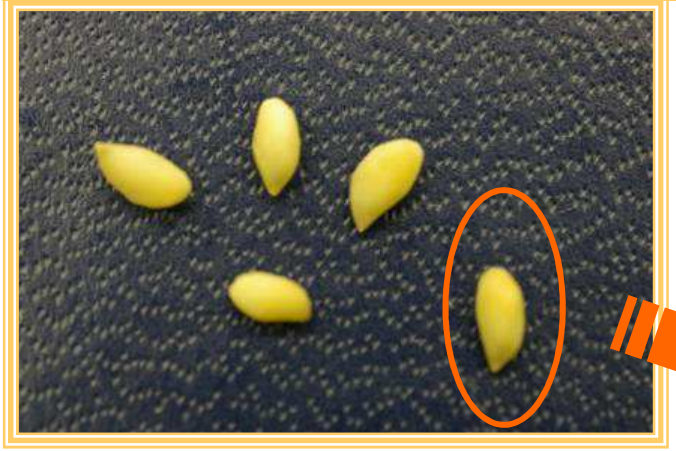
Tremblay et Tremblay (1991). Plant Science 77: 233-242.

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.

Ressources naturelles Québec

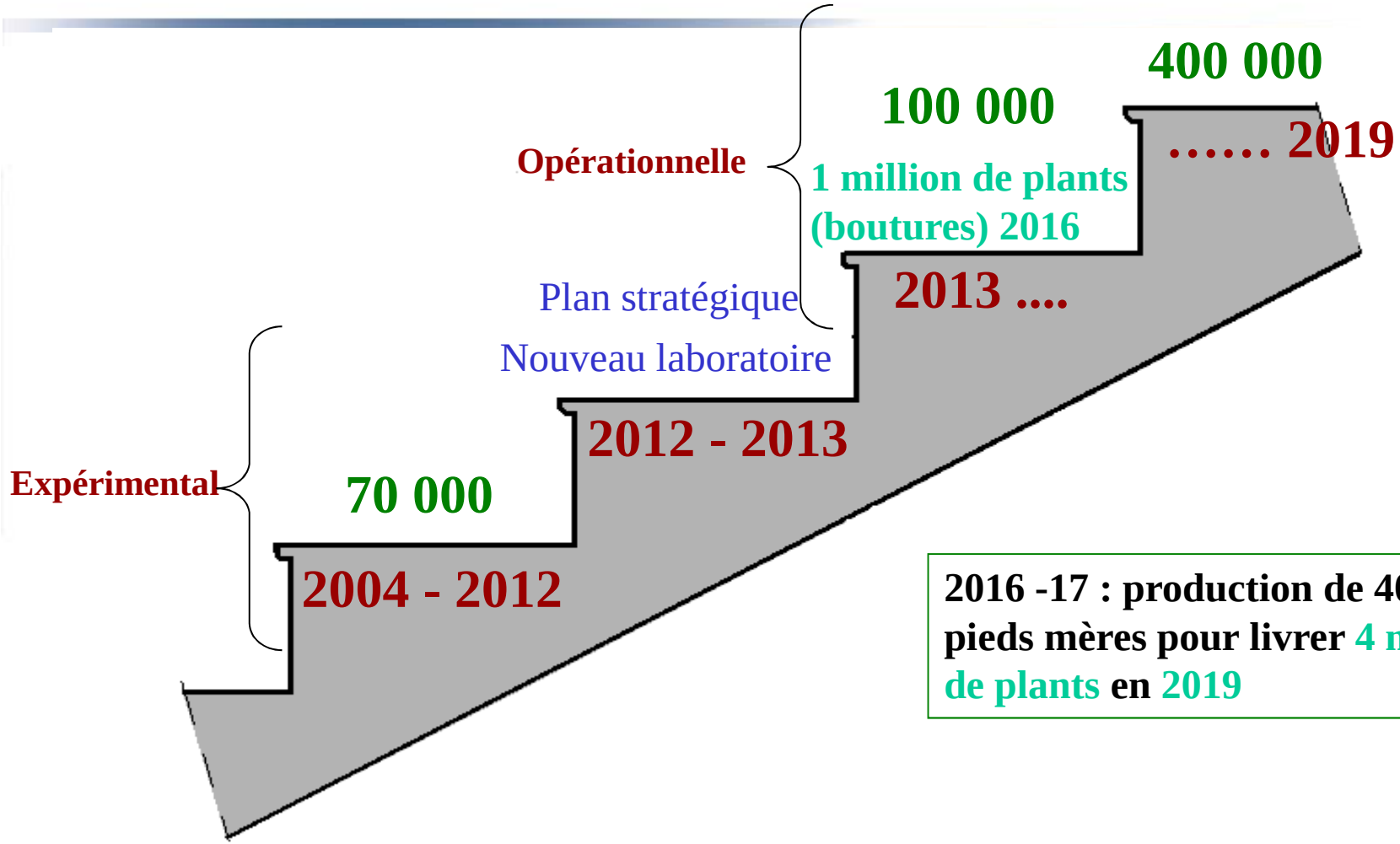
Laboratoire d'ES : Unité de production de plants d'ES à Saint-Modeste

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

2004 - 2013 :
3 440 clones d'épinette blanche en banque cryogénique provenant de 70 croisements dirigés recommandés

Ressources naturelles Québec

Production de plants issus d'ES



2016 -17 : production de 400 000 pieds mères pour livrer 4 millions de plants en 2019

Ressources naturelles Québec

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

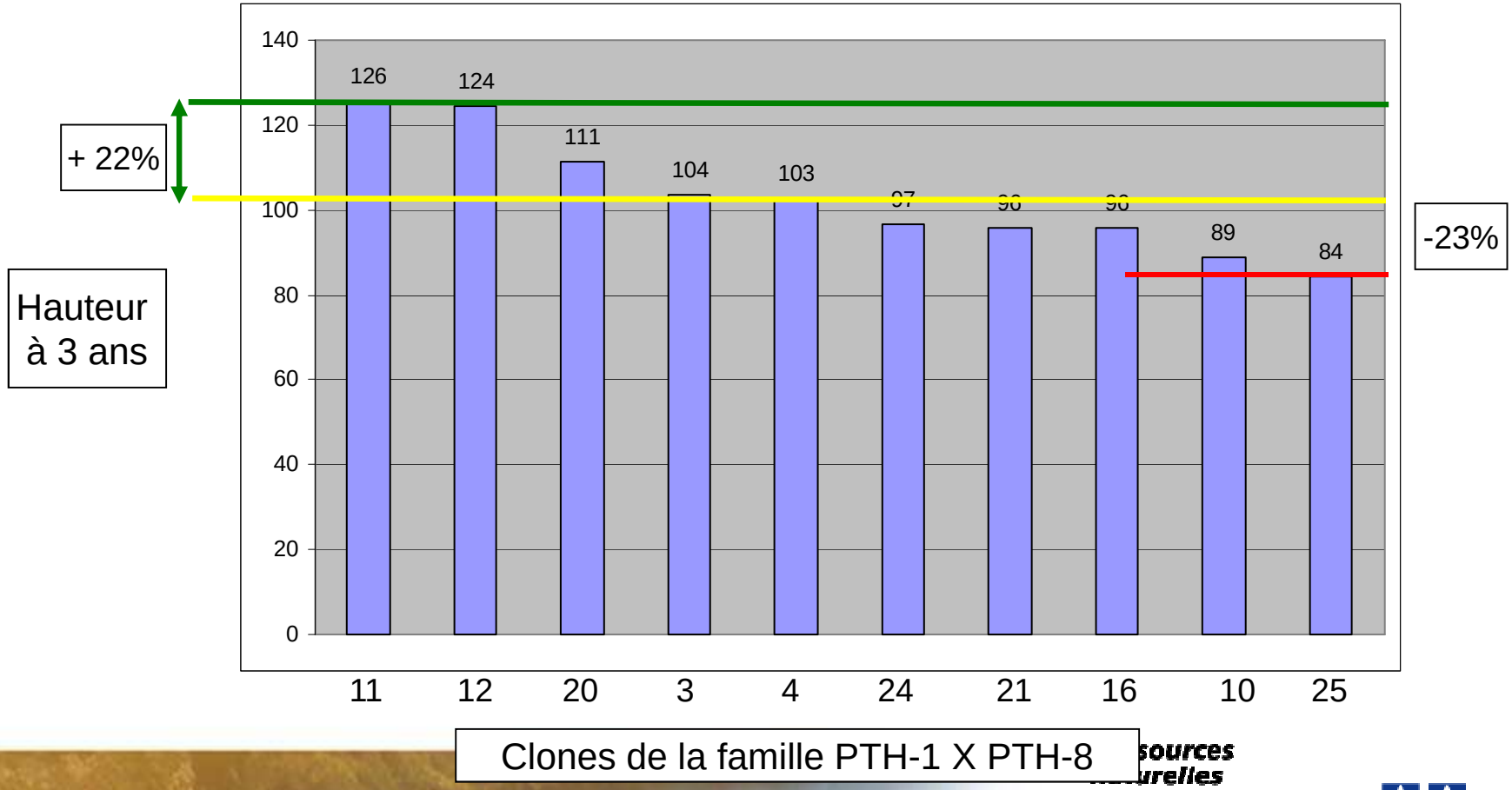
Clone 4

Clone 5

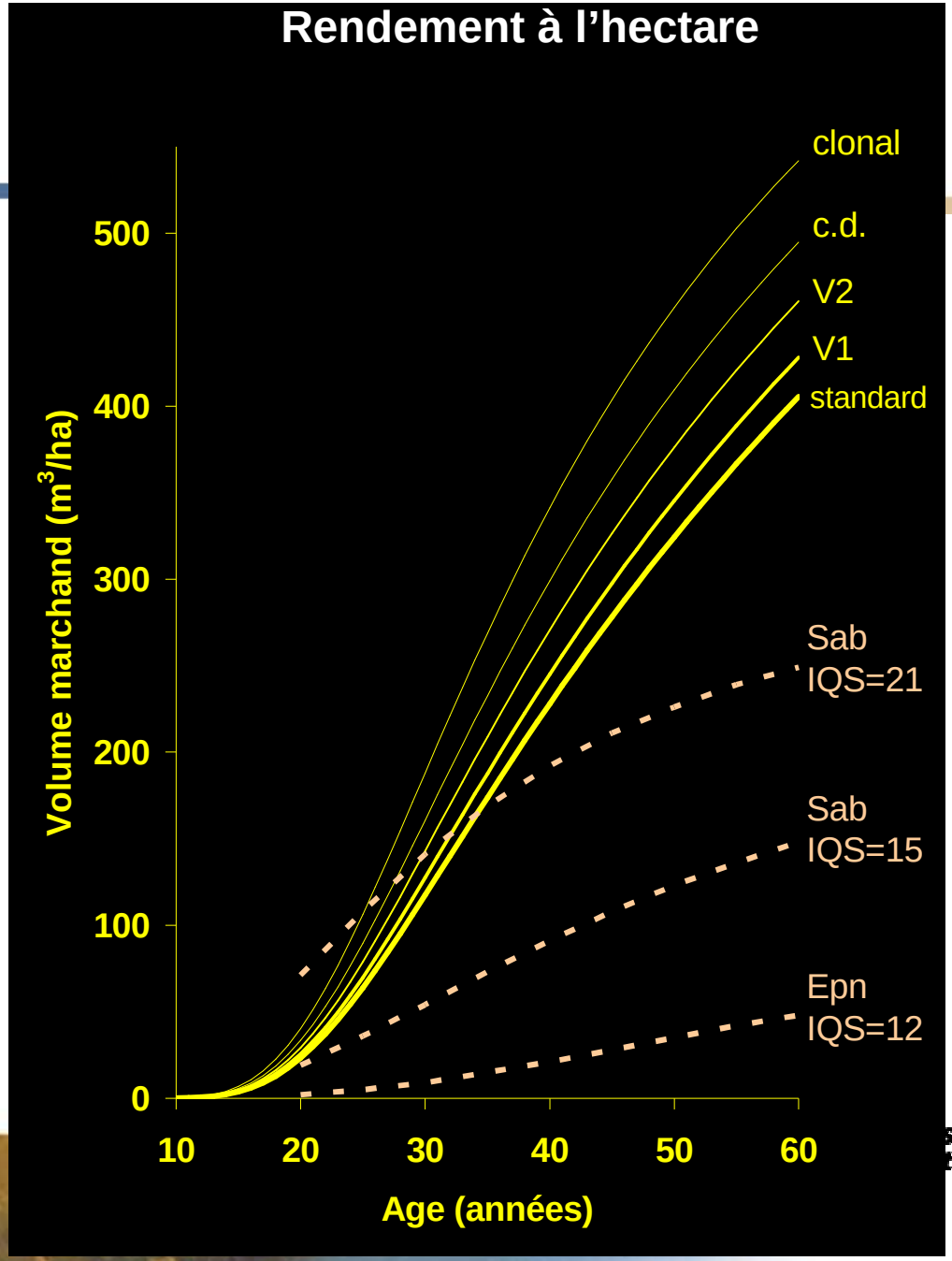
Ressources naturelles Québec

La performance varie selon les clones !

(ils doivent être évalués)



Ressources naturelles Québec



Plantations

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

ssources
turelles
Québec

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

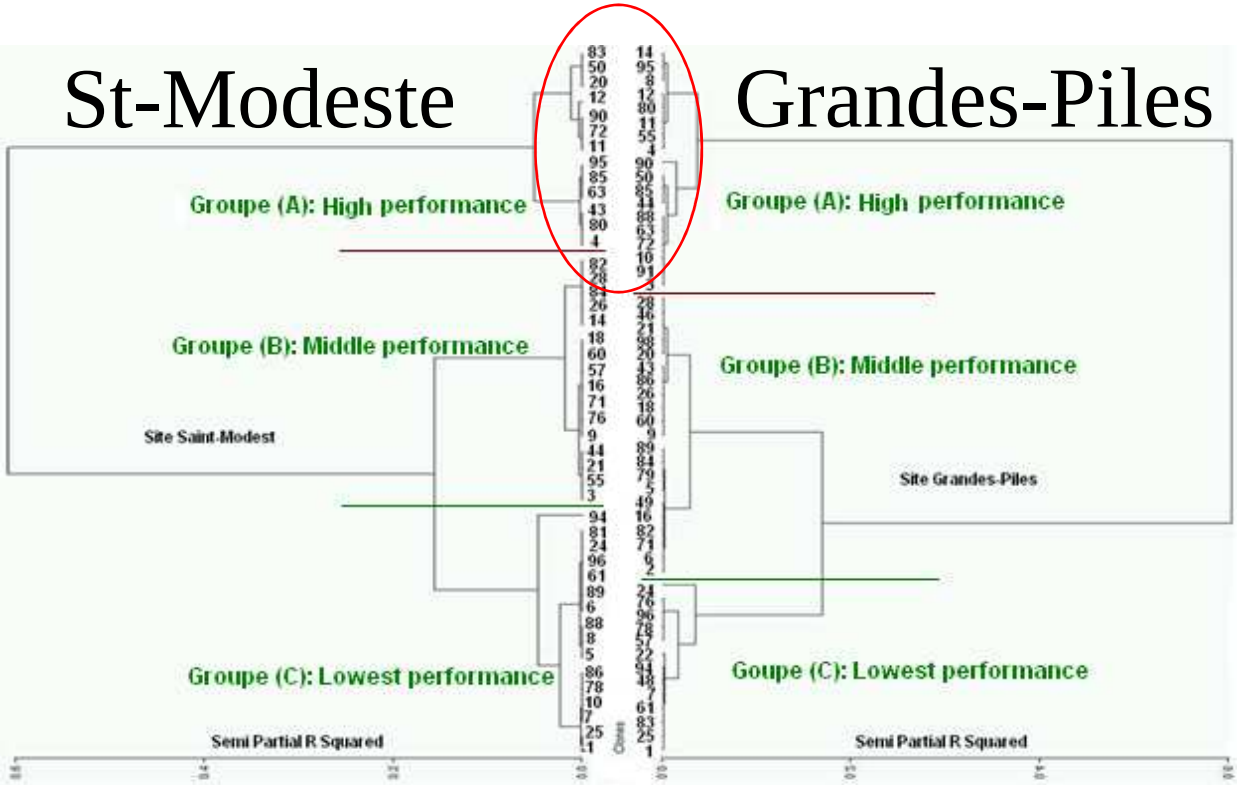
Ressources naturelles Québec

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), diametre (mm) et pousse annuelle (cm)
  - Volume avec écorce et sans écorce (dm^3)
- **Branchaison**
  - Qualification de la branchaison (4 classes)
  - Proportion de l'arbre ayant une forte densité de branches (%)
  - Longueur (cm) et diamètre (mm) des branches

Ressources naturelles Québec

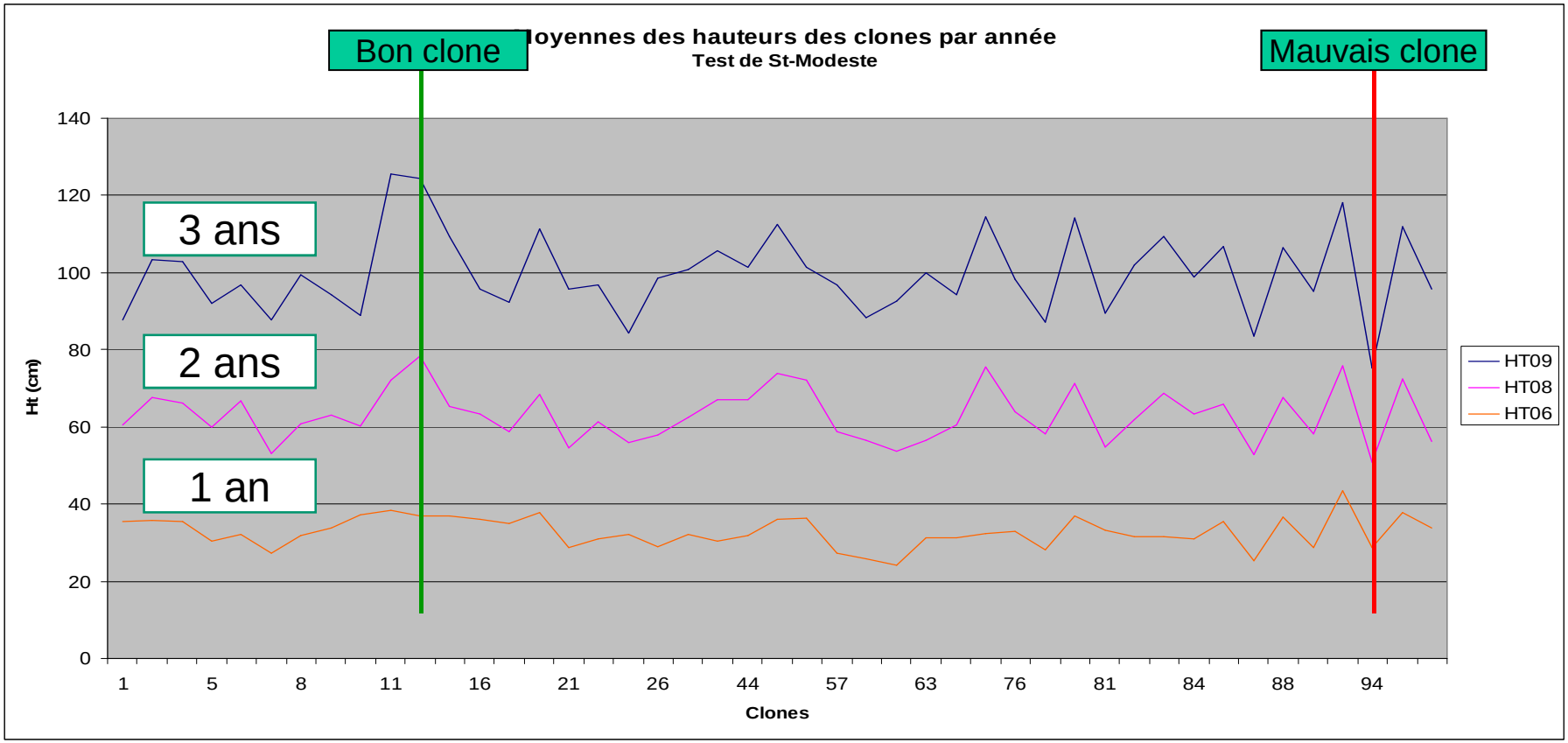
Classification hiérarchique des clones (hauteur)



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

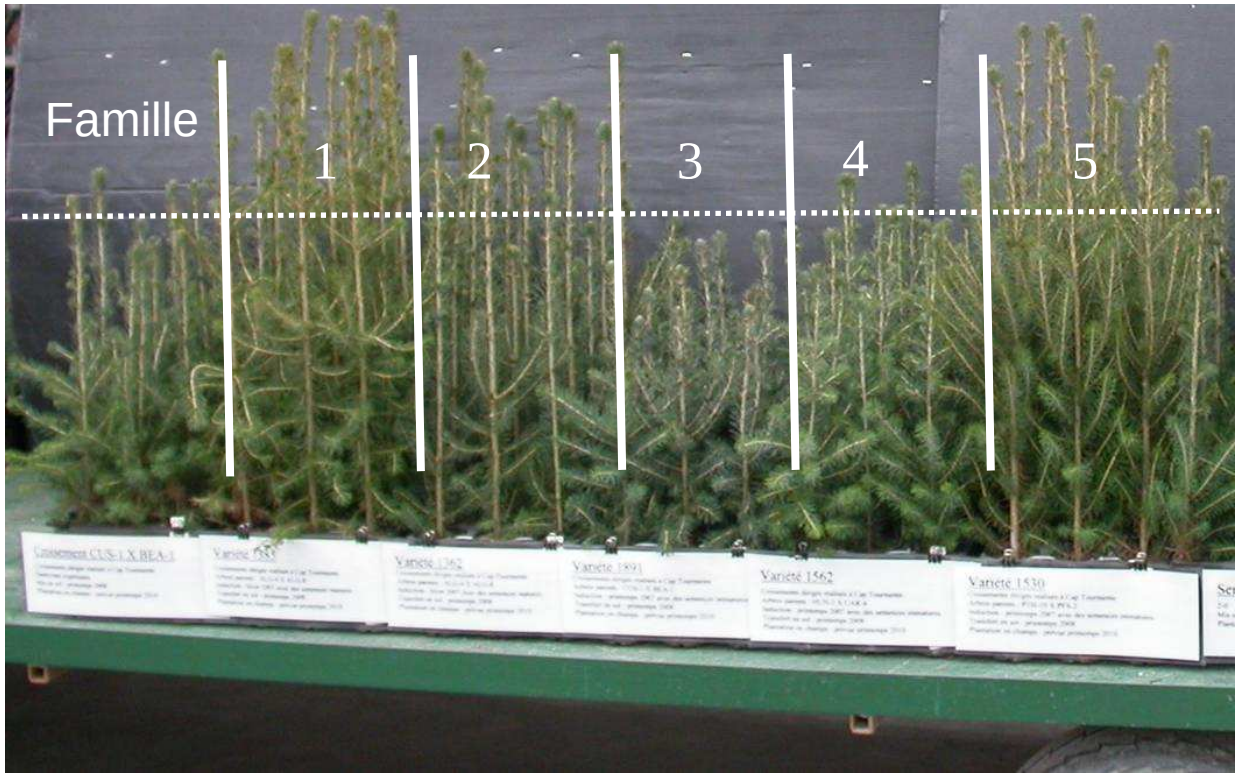
Ressources naturelles Québec

Possibilité de sélection clonale précoce



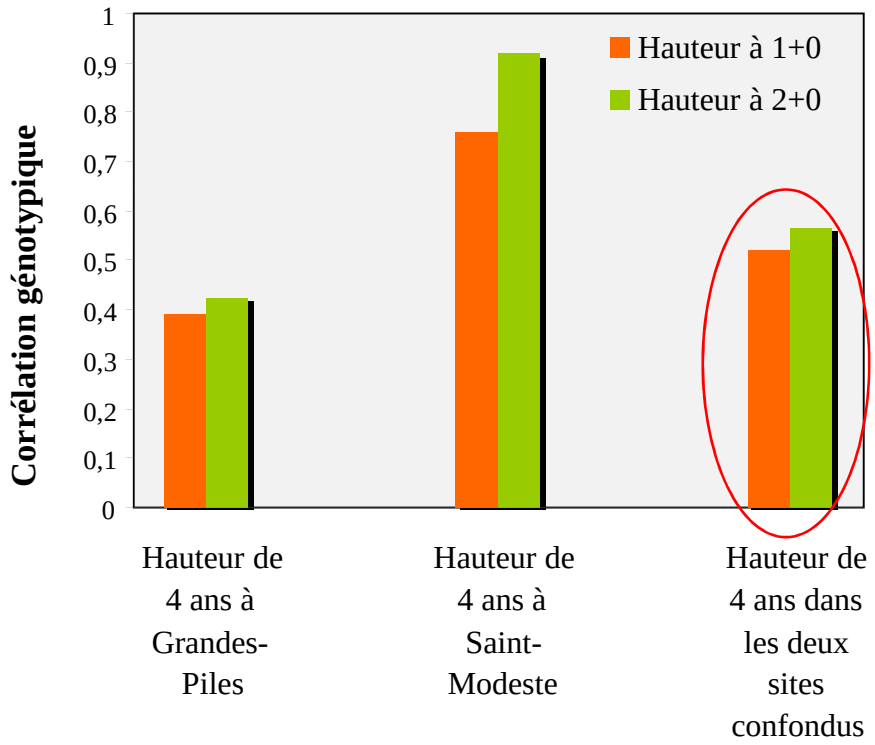
Ressources naturelles Québec

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



Ressources naturelles Québec

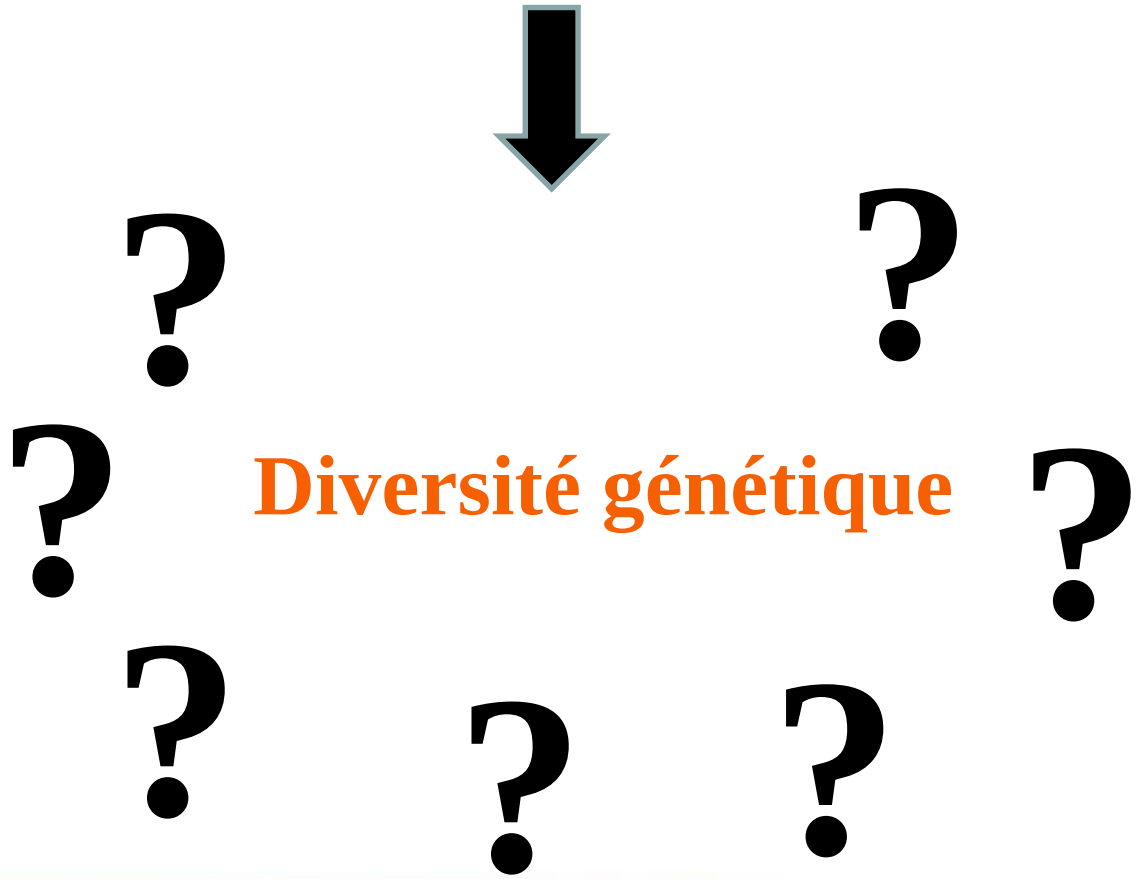
Corrélations génotypiques âge-âge



Wahid, N., Rainville, A. Lamhamedi, M. S., Beaulieu, J., Margolis, H., Deblois, J. 2011. European J. For. Res. (en soumission).

Ressources naturelles Québec

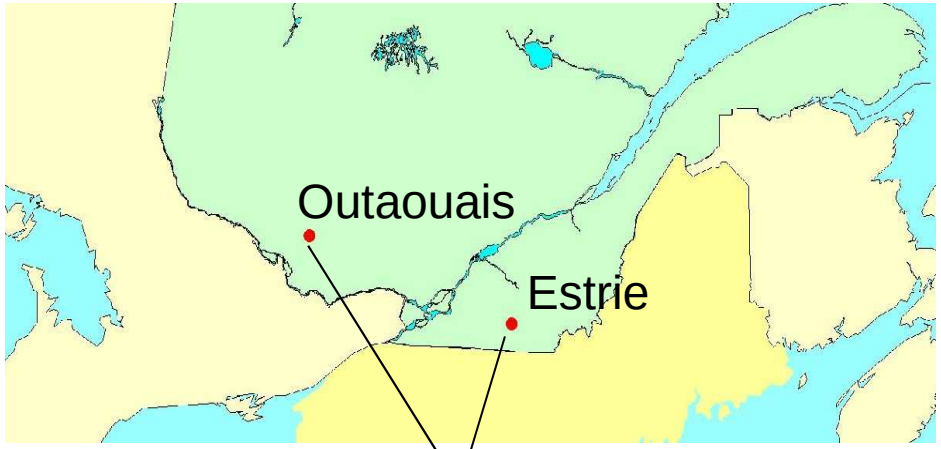
Amélioration génétique



Ressources naturelles Québec

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

Non amélioré



2 populations naturelles

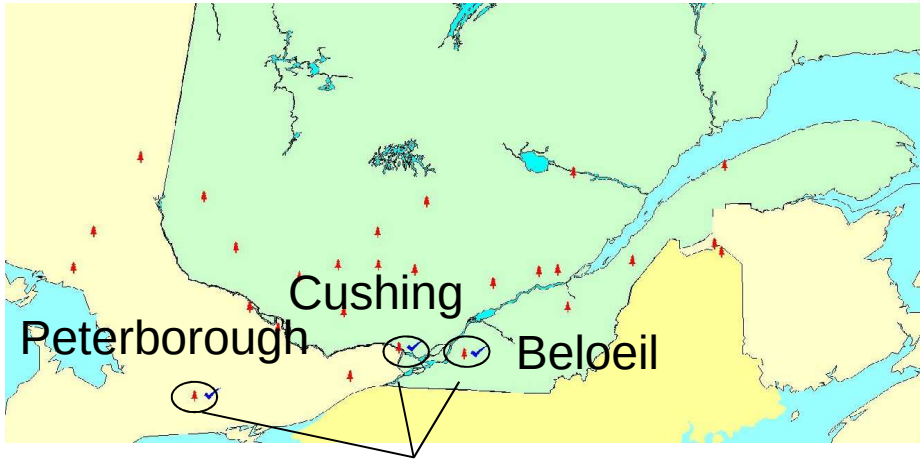
↓

50 arbres par peuplement

↓

100 arbres

Amélioré



3 provenances supérieures

↓

Récolte de cônes + tests au Québec

↓

20 arbres sélectionnés

Conclusions

Ressources naturelles Québec

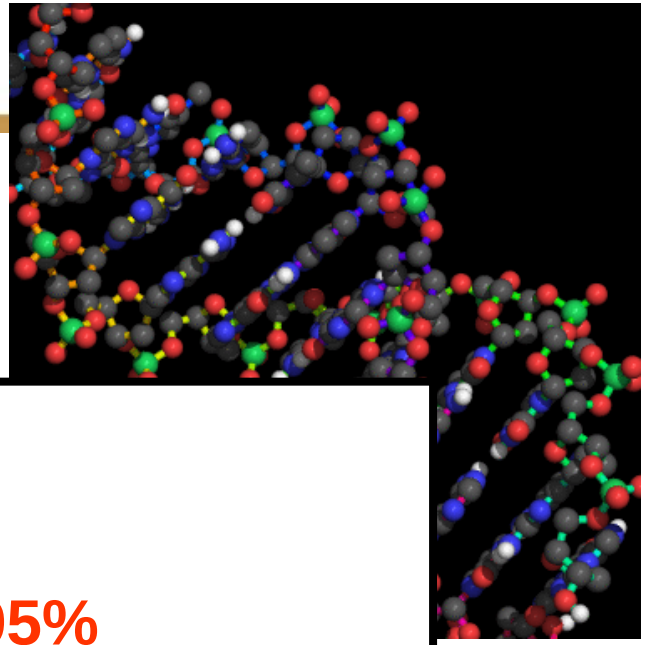
Conclusions

- 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 pépin

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

DRF
A. Rainville

Tests clonaux (performance en sites de reboiseme

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-DGPSPF

Ressources naturelles Québec

GenomeCanada

GenomeQuébec

SMarTForests

Natural Resources Canada

Canadian Wood Fibre Centre

UNIVERSITÉ LAVAL

FPInnovations

Canada Research Chair in Forest and Environmental Genomics

Ressources naturelles Québec

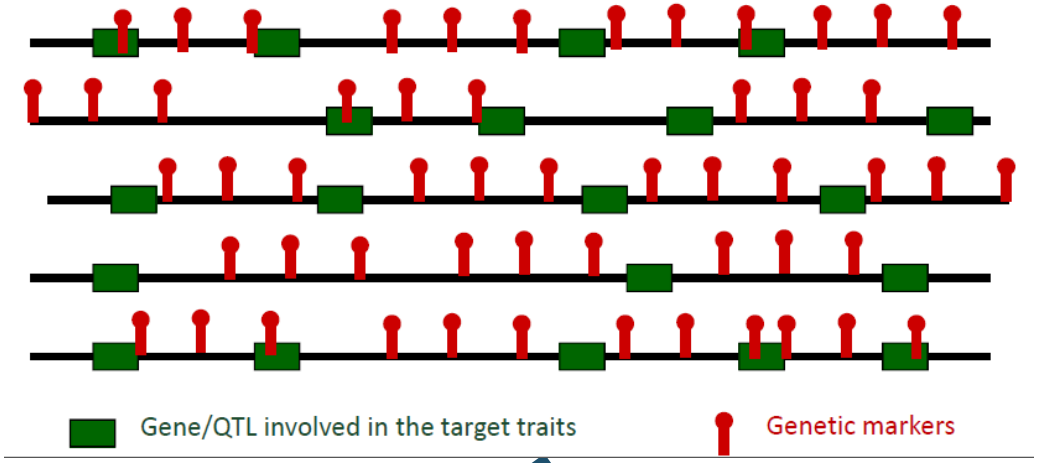
Phénotypage et Génotypage

Phenotypage

Arbres âgés de 15 ans

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

Genotypage



1748 arbres

6918 gènes

Prédire la valeur génétique par la génomique

Adapté de Grattapaglia (2012)

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

Raccourcir le cycle d'amélioration

Sélection + croisement | Testage | Multiplication

Programme d'amélioration traditionnnel : 36 ans

Adapté de Harfouche *et al* (2012)

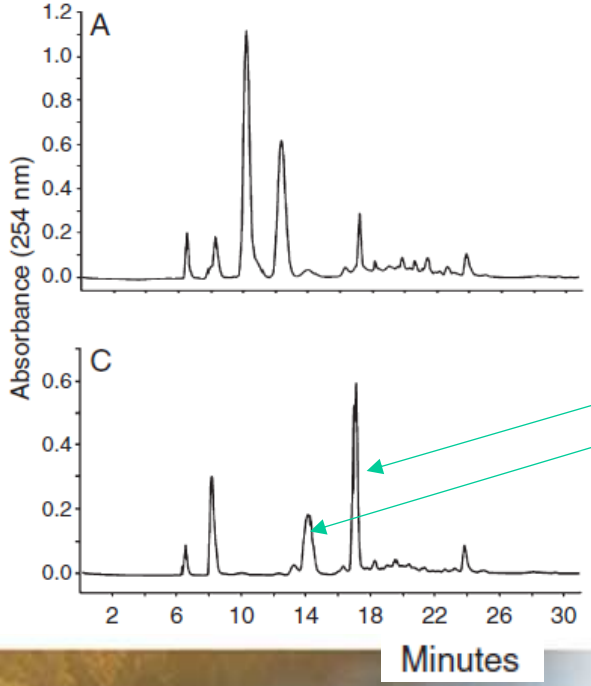
Sélection d'épinettes blanches résistantes à la tordeuse de bourgeon d'épinette (TBE)

(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



Picéol

Pungénol

Toxiques

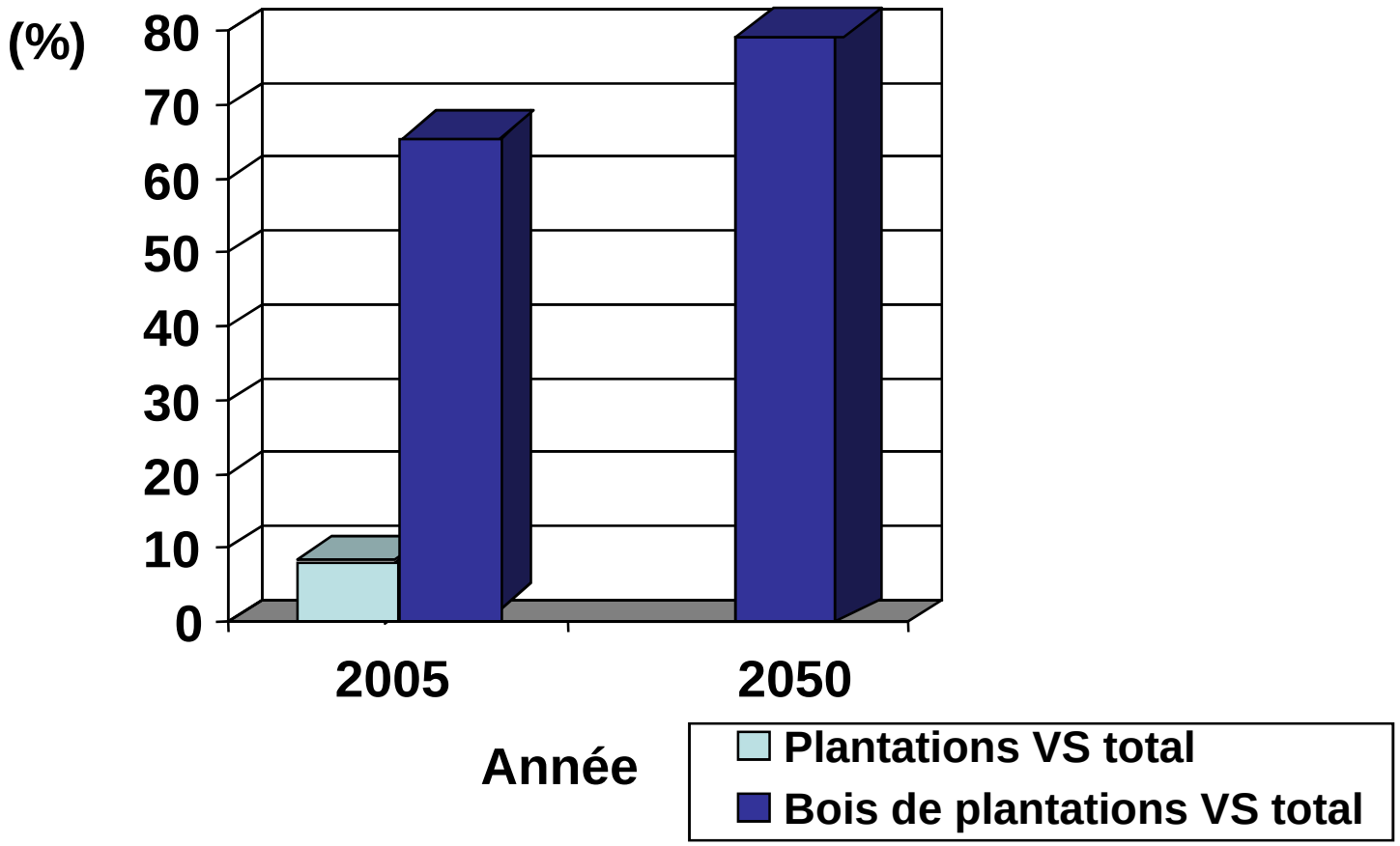
Ressources naturelles Québec

… 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

Ressources naturelles Québec

Approvisionnement en bois dans le monde



(Carle et Holmgren, 2008)

Plantations d'épinettes blanches

17 ans

22 ans

Prégent, 2005

Ressources naturelles Québec

Remerciements

MRN-DRF

- Fabienne Colas
- Mohammed Lamhamedi
- Guy Prégent
- 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

Ressources naturelles Québec

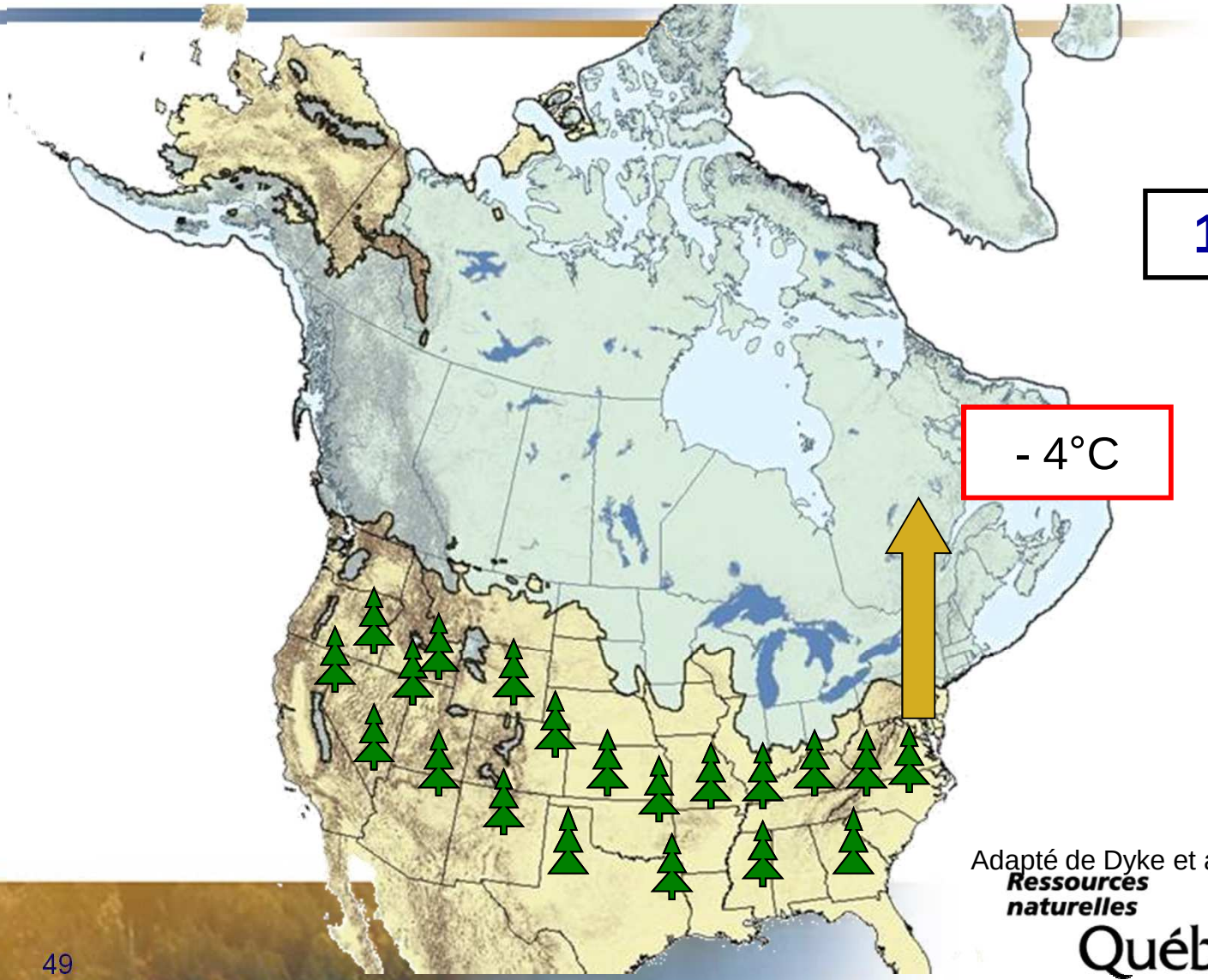
Ressources naturelles Québec

Ressources naturelles Québec

Changements climatiques

Ressources naturelles Québec

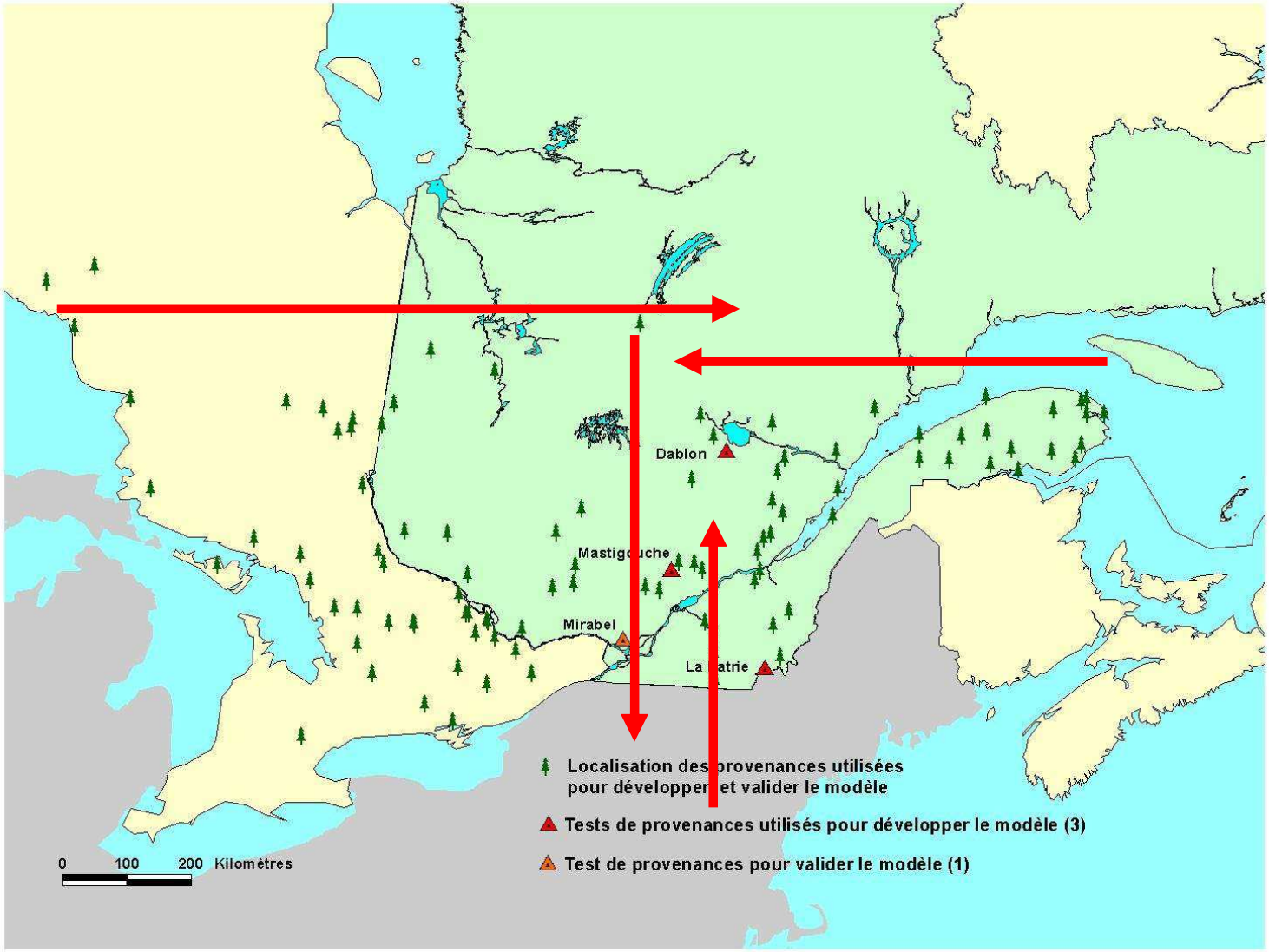
La dernière glaciation



Adapté de Dyke et al. 2003, Geological Survey of Canada

Ressources naturelles Québec

Dyke et al.


Dablon
Mastigouche
Mirabel
La Patrie
Localisation des provenances utilisées pour développer et valider le modèle
Tests de provenances utilisés pour développer le modèle (3)
Test de provenances pour valider le modèle (1)
0
100
200
Kilomètres

Québec

Modèles de transfert

% HT (p/r à la provenance locale) = fct (Δ climat)

Ressources naturelles Québec

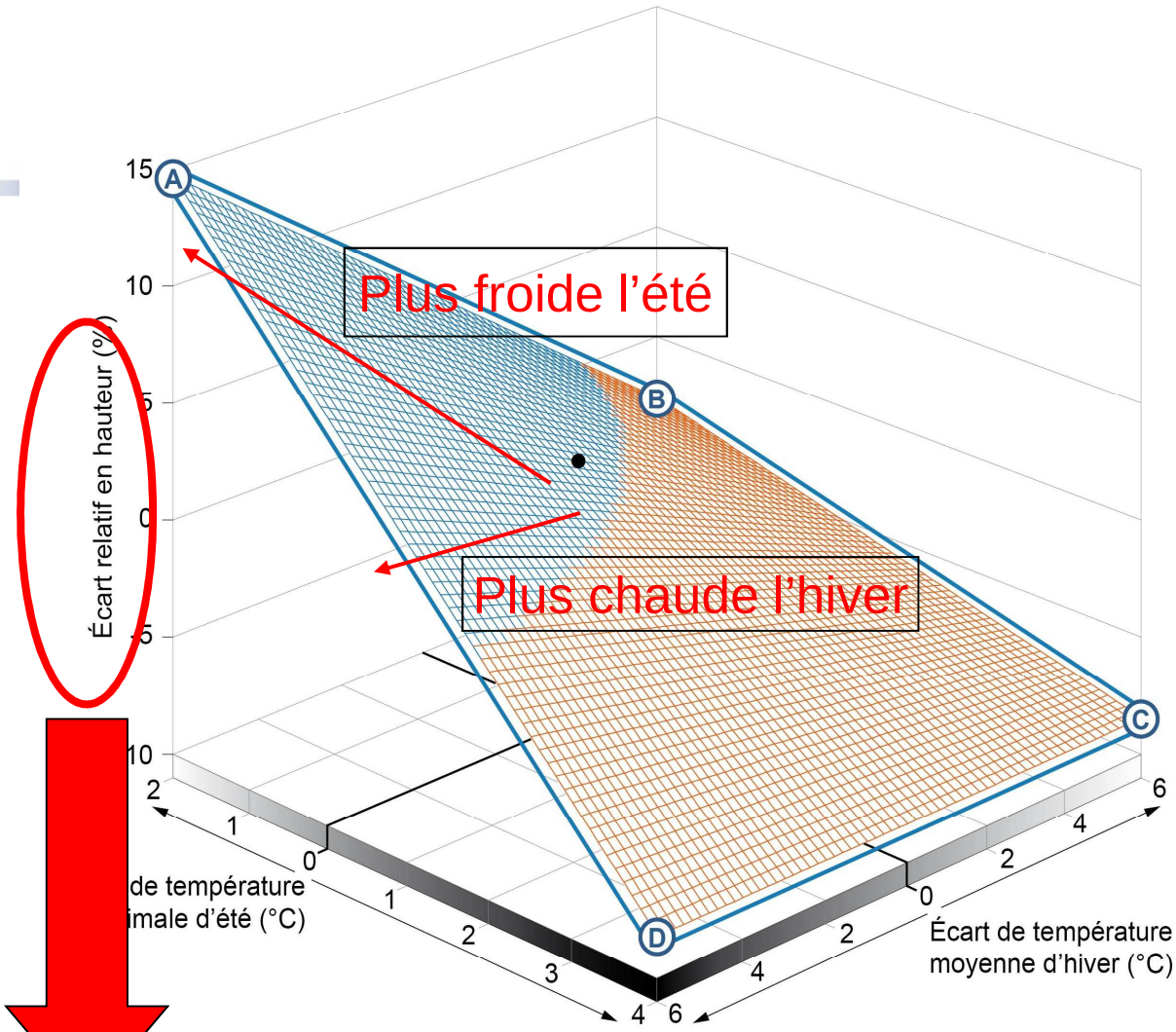
Modèle de transfert de l'épinette blanche

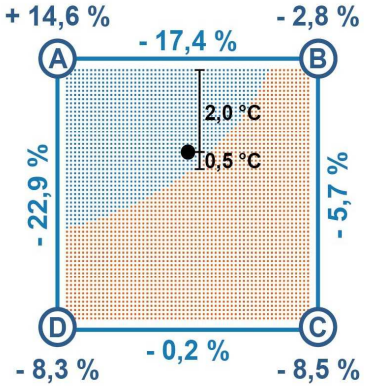
Trois variables climatiques importantes

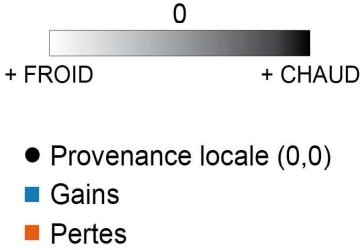
Aridité
Température maximale des mois d'été ($T_{Max\ Warm}$)
Température moyenne mois des mois d'hiver ($T_{Mean\ Cold}$)

$$\%\ HT_{22\ ans}\ (\text{Source - plantation}) = 1{,}134 + 0{,}169\ \Delta\text{Aridité} - 0{,}228\ (\Delta\ \text{Aridité})^2 + 2{,}389\ \Delta T_{Max\ Warm} + 0{,}376\ (\Delta\text{Aridité} \cdot \Delta T_{Max\ Warm}) - 0{,}974\ \Delta T_{Mean\ Cold} - 0{,}240\ (\Delta\ T_{Max\ Warm} \cdot \Delta T_{Mean\ Cold}) - 0{,}081\ (\text{interaction triple})$$

Ressources naturelles Québec





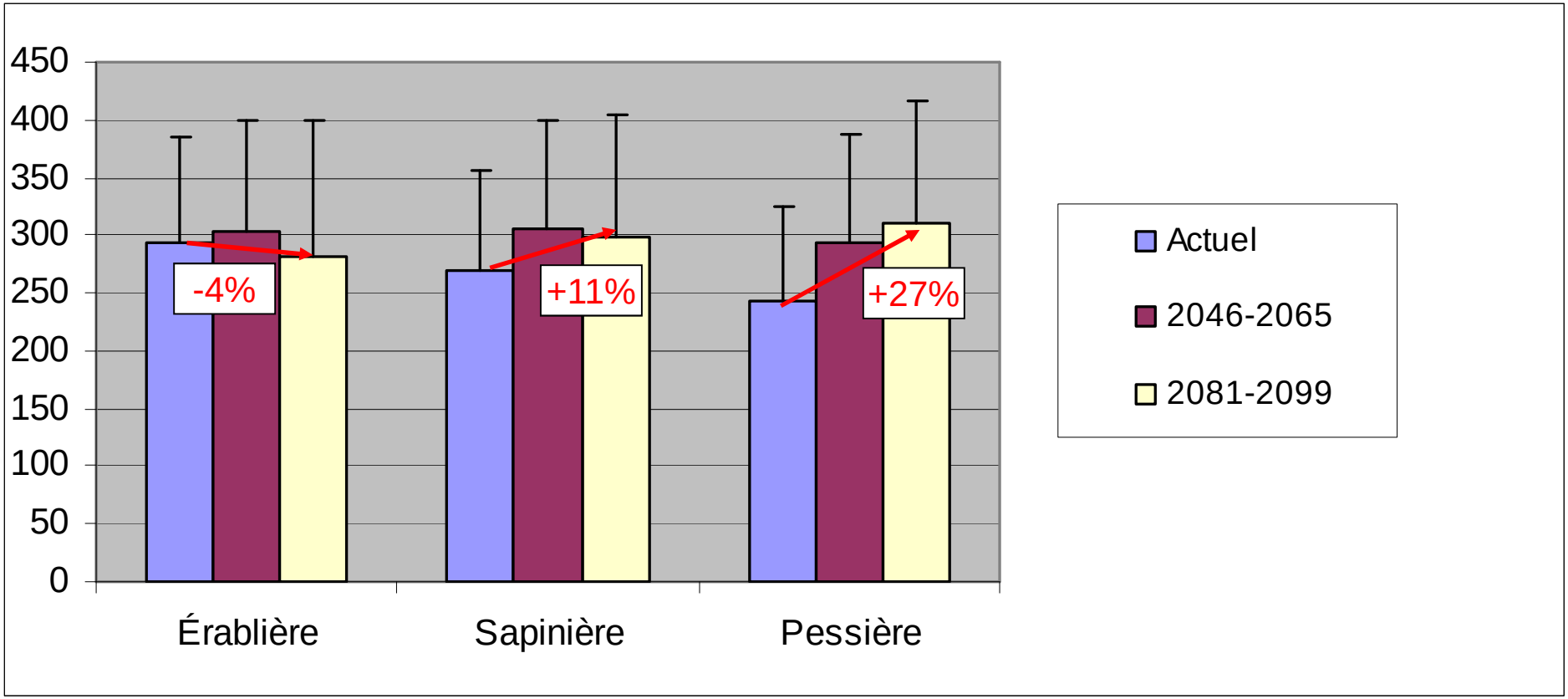


Volume = (% modèle de transfert) X (Modèles de productivité*)

***IQS biophysique, surface terrière, volume total, volume marchand)**

Ressources naturelles Québec

Rendements de sources locales - Épinette blanche



Ressources naturelles Québec

Comparaison des variétés avec leur zygotique
Test 2007i-2010p

V-1158 **V-1159** **V-1160** **PTH-9 x PTH-13**

naturelles
Québec

Photos : Paul-Yvan Martin, Annie Carrier et Julie Gingras