



Les plantations à l'ère des clones

Laurence Tremblay, *Biol., M.Sc.*

Sylvie Carles, *ing.f., Ph. D.*

Direction générale de la production de semences et de plants forestiers – DGPSPF

Conférence Midi Forêts - Québec

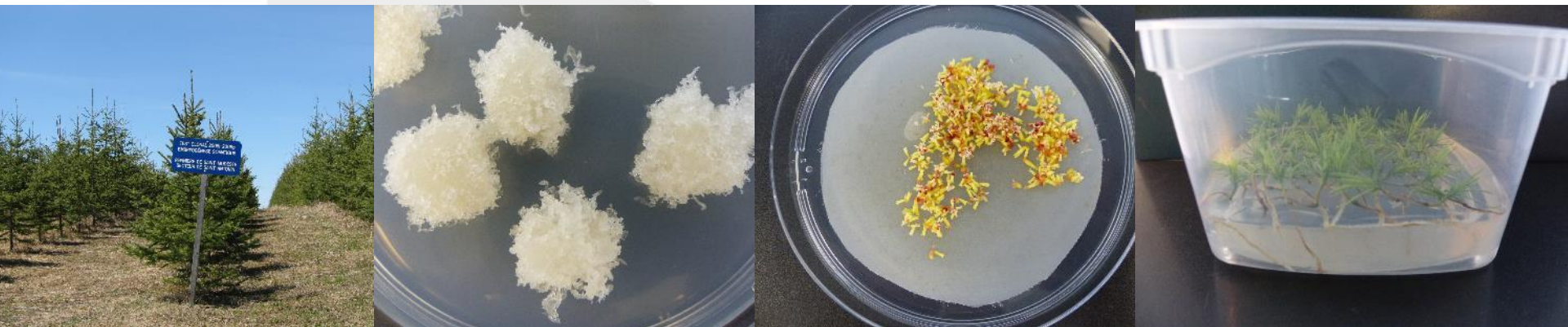
Jeudi 9 novembre 2017

**Forêts, Faune
et Parcs**

Québec 

Mise en contexte

- Le premier million de plants d'épinette blanche produits par embryogenèse somatique (POS) sera déployé en 2018 dans les régions 01 et 11.
- Ces POS représentent un nouveau produit d'élite.
- L'embryogenèse somatique est notre fer de lance en termes d'amélioration génétique



Aucun Intermédiaire Élevé

NAP Niveau
d'amélioration des
plants

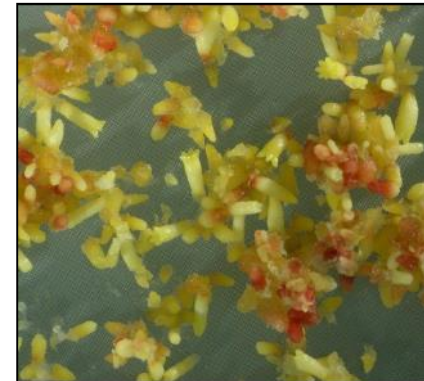
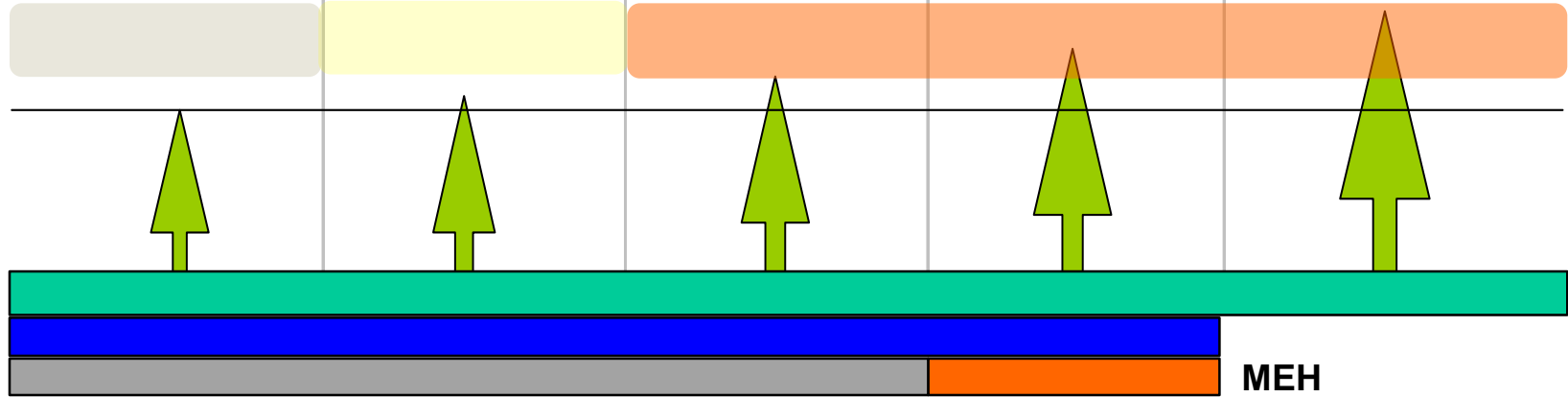


Peuplement
naturel

Verger à graines
1ère génération 2e génération

Croisements
dirigés

Embryogénèse
somatique



La crème de la crème

Clones – Produits par embryogenèse somatique

La crème

Croisements dirigés / Familles - Boutures

Élevée

Verger à graines de 2^{ème} génération

Intermédiaire

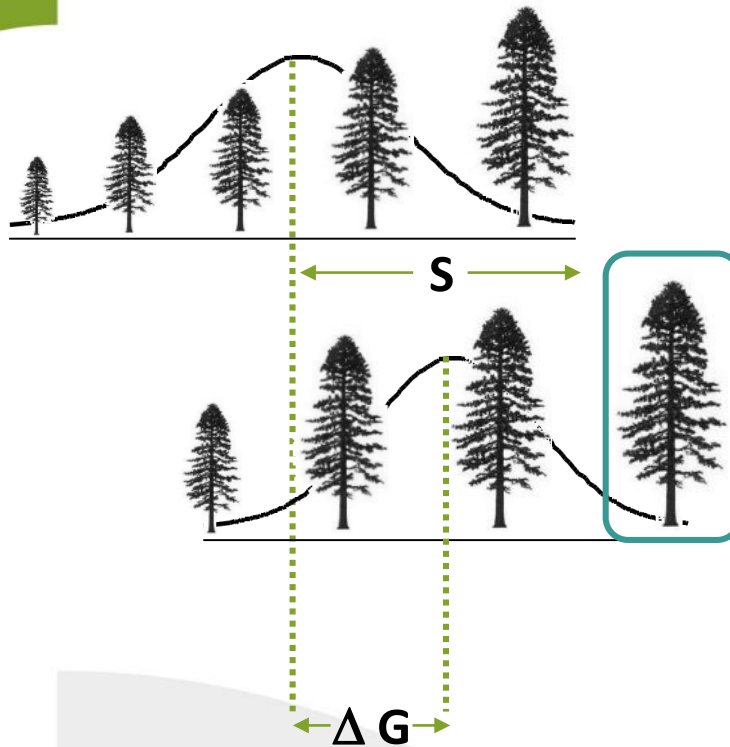
Verger à graines de 1^{ère} génération

Aucune

Naturel

Amélioration génétique

La crème de la crème – NAP élevé



On identifie ce que la nature fait de mieux et on le reproduit par embryogenèse somatique

Essence	N0	V1	V2	CD
EPB	0,0 %	5,0 %	15,0 %	25,0 %

Valeurs du gain anticipé sur la hauteur moyenne

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

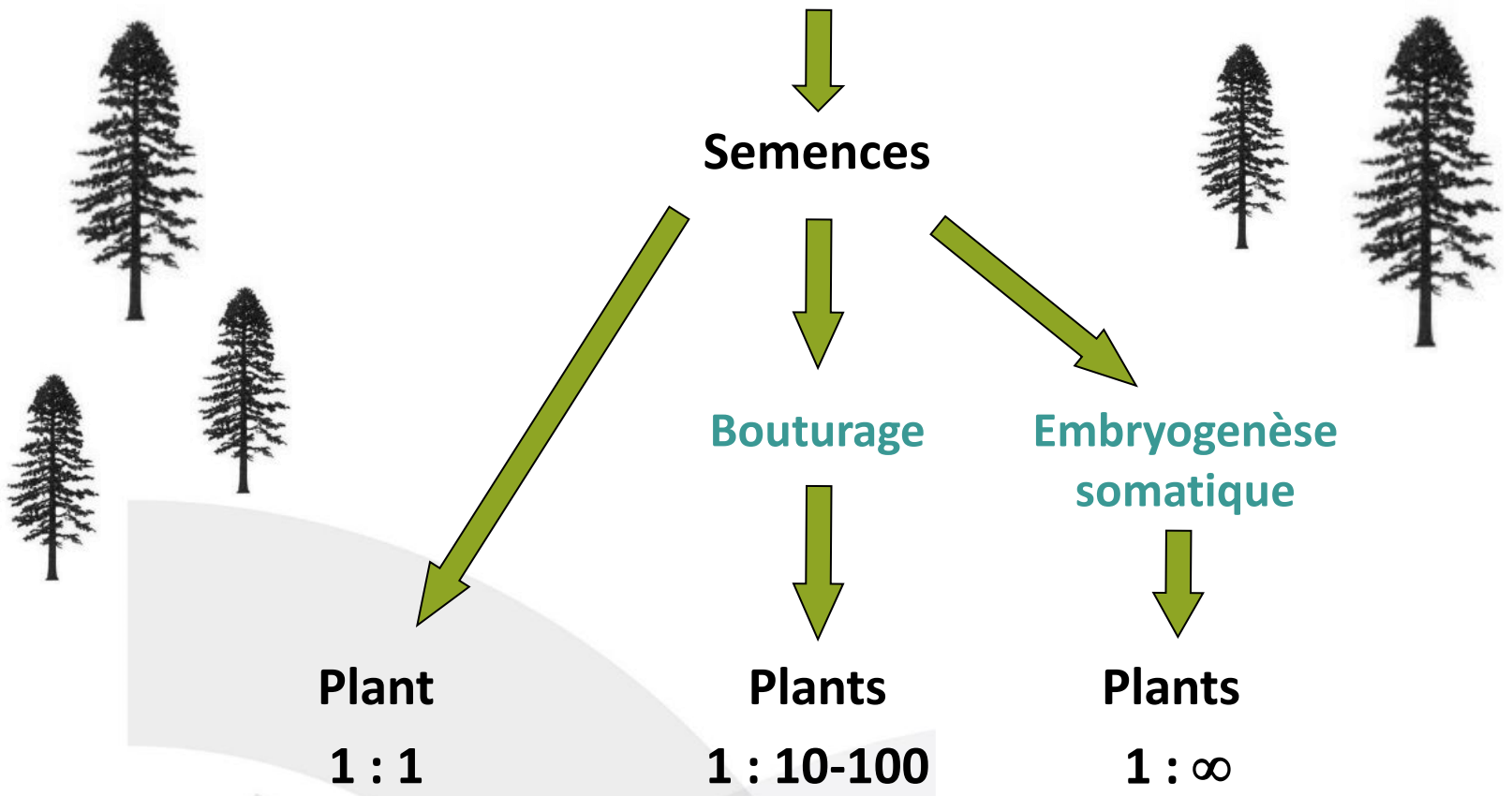
... une technique de **multiplication végétative** qui permet d'obtenir un nombre illimité d'individus à partir d'un fragment d'organe (feuille, fleur, tige, embryon...).

Ces individus sont génétiquement identiques à l'individu de départ.

... actuellement la technique la plus performante pour la multiplication végétative des conifères

- Début en 1985 : *Picea abies*
- **Plus de 43 espèces** (*Sapin, mélèze, épinette, pin, cyprès, cèdre, séquoia*)

Identification d'individus génétiquement supérieurs



... à l'ère des clones

L'ensemble de copies obtenues par multiplication végétative du même individu constitue **un clone**. Toutes les « copies » ont le même génotype

Le clonage existe dans la nature

*« Au nord de la toundra, le développement de l'épinette noire est presque exclusivement assuré par le **marcottage** naturel de quelques sujets issus de graines apportées par le vent ou des animaux. »*



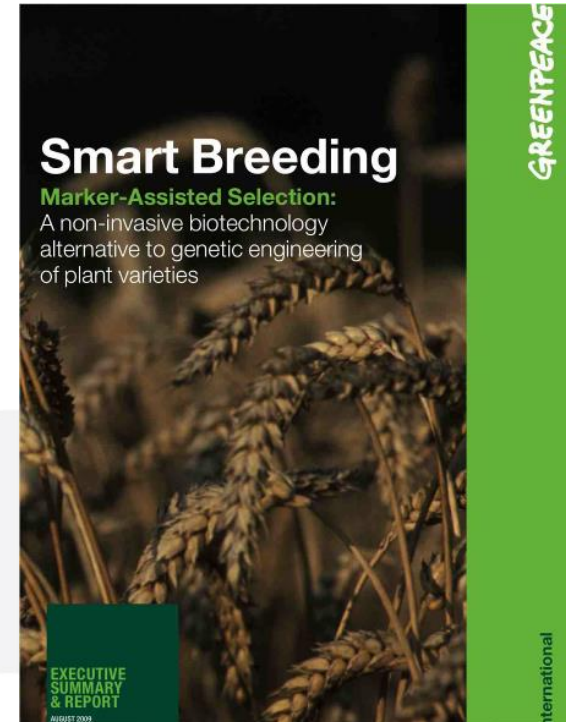
L'embryogenèse somatique (ES)



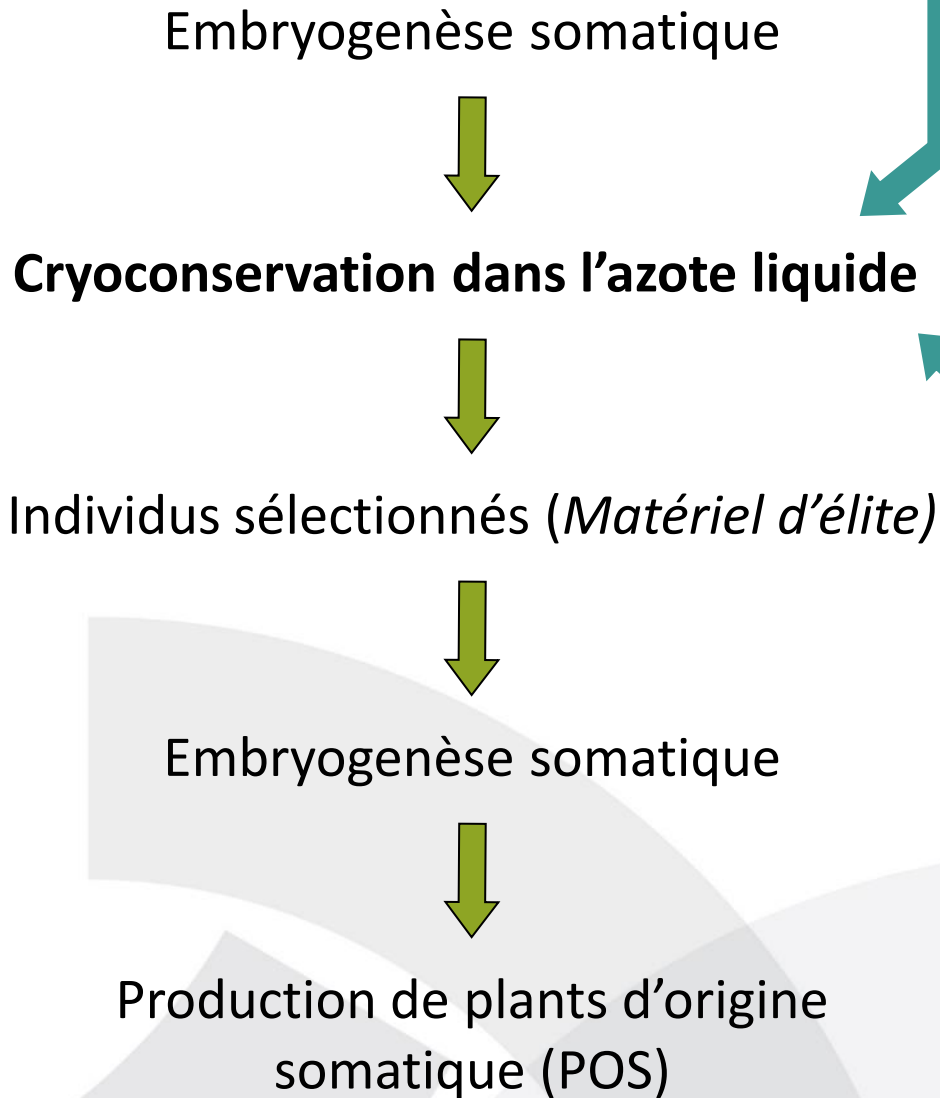
... n'est pas une méthode de transformation génétique

... sera une façon de reproduire les meilleurs individus identifiés avec la sélection assistée par marqueurs génétiques (S.A.M.) avec l'aide de la génomique (ou sélection génomique)

« une méthode jugée non invasive s'appuyant sur la diversité génétique naturelle, et souhaitable pour éviter l'utilisation d'OGMs et l'ingénierie génétique (Greenpeace 2009) »



Principal avantage : Cryoconservation



Résultats des tests clonaux



Sélection génomique

Forêts, Faune
et Parcs

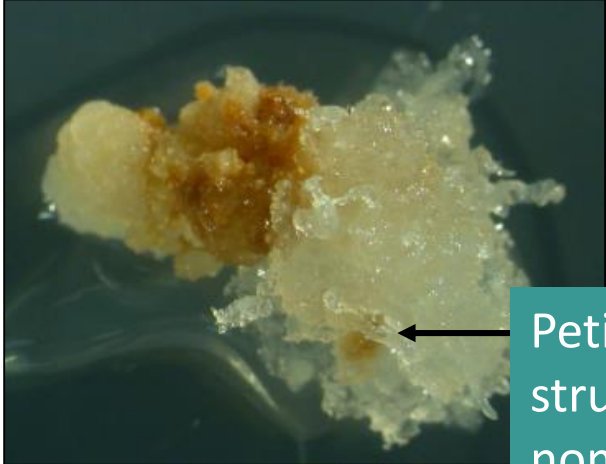
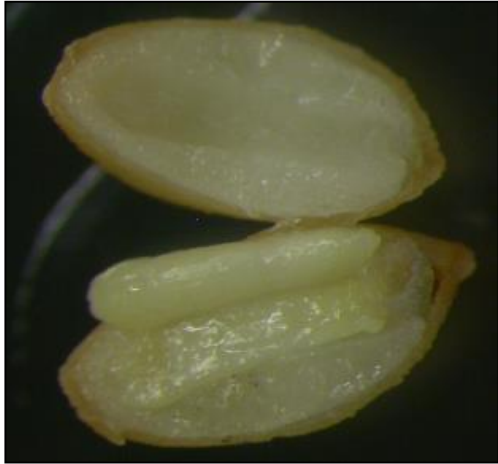
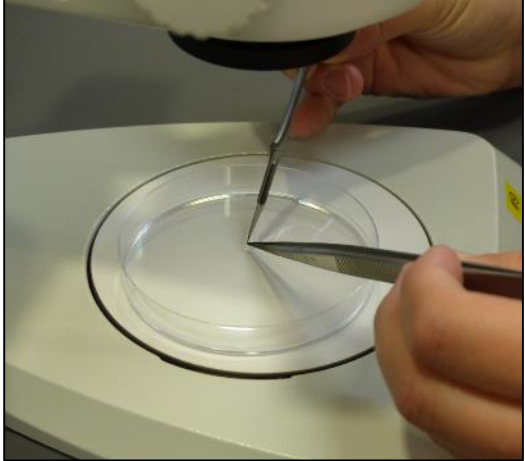
Québec



Les différentes étapes de l'ES

1 - Induction

2 à 10 semaines

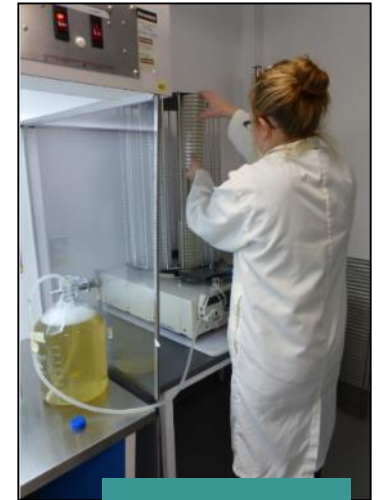
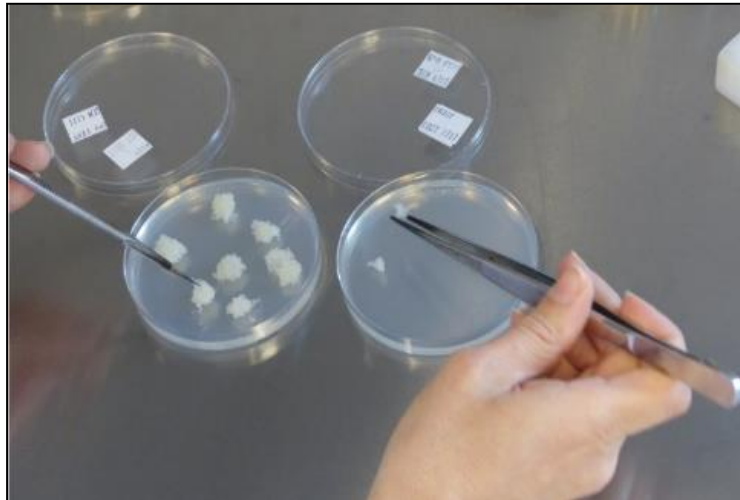
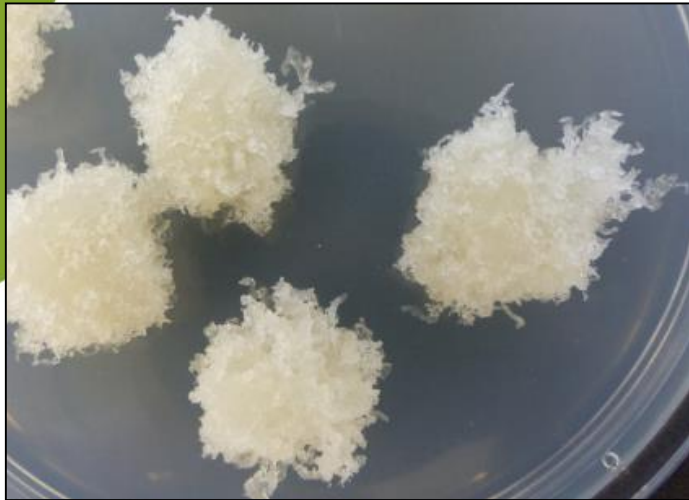


Petites masses à structure bipolaire nommées embryons somatiques.

Les différentes étapes de l'ES

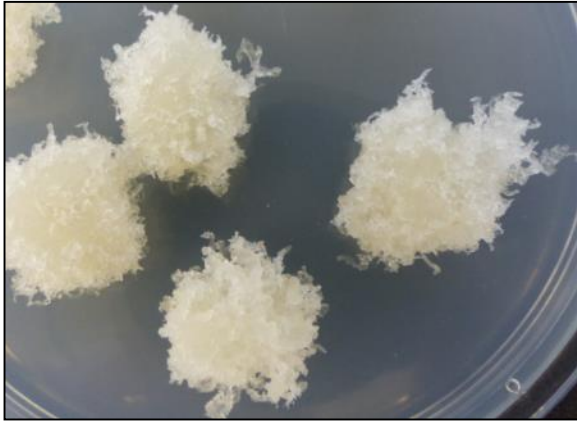
2 - Maintenance

Illimitée (Transfert aux 2 semaines)



Milieu de culture

Principal avantage : Cryoconservation



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

Forêts, Faune
et Parcs

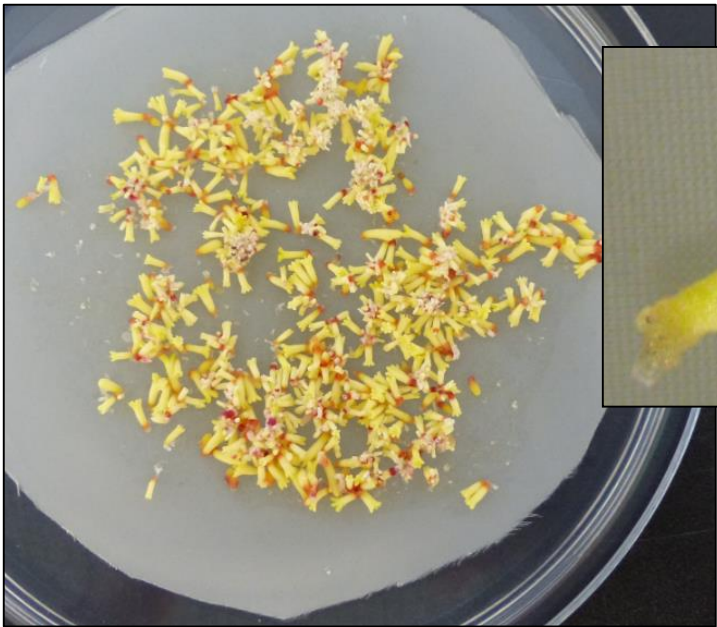
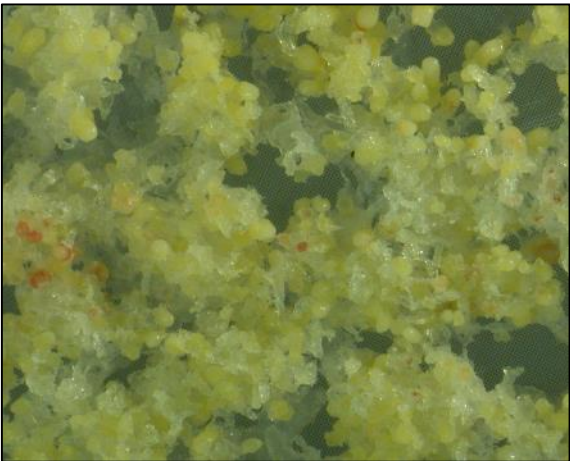
Québec



Les différentes étapes de l'ES

3 - Maturation

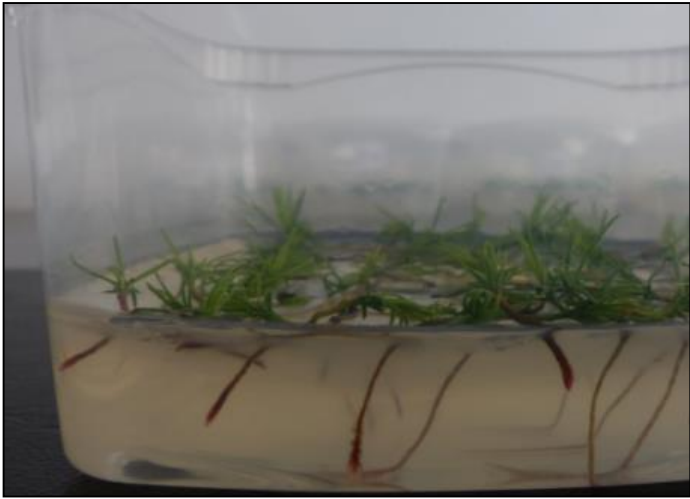
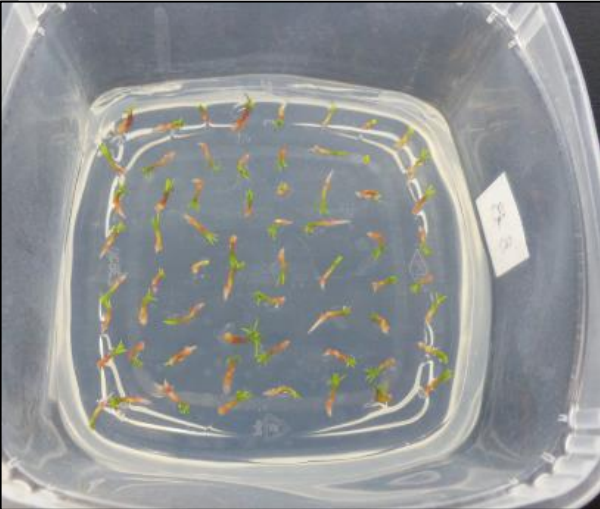
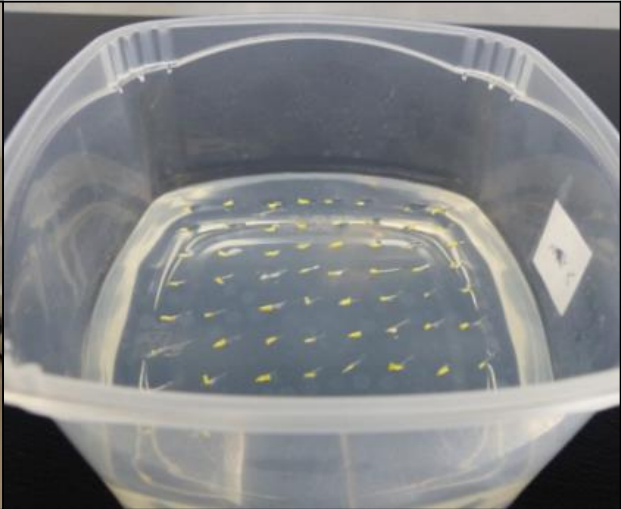
4 semaines



Les différentes étapes de l'ES

4 - Germination

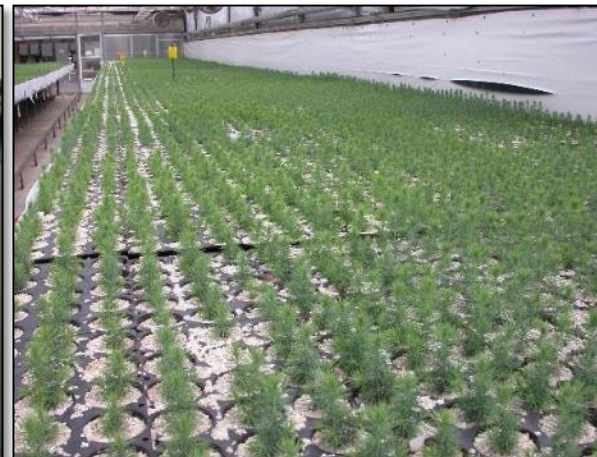
5 semaines



Les différentes étapes de l'ES

5 – Transfert en sol

1 semaine pour l'acclimatation puis transfert en sol



Des milliers de plants avec le même génotype que la semence de départ



Forêts, Faune
et Parcs

Québec



Historique de l'embryogenèse somatique (ES)

2004 = Début des tests clonaux

2001 à 2004

Transfert de connaissances

Pépinière de Saint-Modeste – Université Laval

Mise à l'échelle opérationnelle

Pépinière de Saint-Modeste

2005 à aujourd'hui

2012

Plan strat. ES

2013

Agrand. labo ES

Projets en génomique

Optimisation en laboratoire

MRNF – Université Laval

1990 à 2000

Plant Cell, Tissue and Organ Culture 27: 95-103, 1991.
© 1991 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Carbohydrate requirements for the development of black spruce (*Picea mariana* (Mill.) B.S.P.) and red spruce (*P. rubens* Sarg.) somatic embryos

Laurence Tremblay¹ & Francine M. Tremblay²

Plant Cell, Tissue and Organ Culture 56: 203-209, 1999.
© 1999 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

201

Effects of sealed and vented gaseous microenvironments on the maturation of somatic embryos of black spruce with a special emphasis on ethylene

Abdelmalek El Meskaoui & Francine M. Tremblay¹
Centre de Recherche en Biologie Forestière, Pavillon C.-E. Marchand, Université Laval, Québec, Qc, Canada G1K 7P4

New Forests
DOI 10.1007/s11056-013-9388-2

Production of a new generation of seeds through the use of somatic clones in controlled crosses of black spruce (*Picea mariana*)

F. Colas · M. S. Lamhamed

8. Somatic embryogenesis in red spruce (*Picea rubens* Sarg.)

Nathalie Isabel and Francine M. Tremblay

American Journal of Botany 95(10): 1373-1381, 1998

FREQUENCY OF SOMACLONAL VARIATION IN PLANTS OF BLACK SPRUCE (*PICEA MARIANA*, PINACEAE) AND WHITE SPRUCE (*P. GLAUCA*, PINACEAE) DERIVED FROM SOMATIC EMBRYOGENESIS AND IDENTIFICATION OF SOME FACTORS INVOLVED IN GENETIC INSTABILITY¹

LAURENCE TREMBLAY, CAROLINE LEVASSEUR, AND FRANCINE M. TREMBLAY²

Tree Physiology 19: 889-892
© 2001 Hovey Publishing—Toronto, Canada

Clonal variation in morphology, growth, physiology, anatomy and ultrastructure of container-grown white spruce somatic plants

MOHAMMED S. LAMHAMED^{1,3} HÉLÈNE CHAMBERLAND¹ PIERRE Y. BERNIER^{2,4} and FRANCINE M. TREMBLAY¹

Forêts, Faune et Parcs

Québec



Investissements en ES

1990 → Aider la recherche (subventions FRQNT) à ajuster la nouvelle technique d'ES pour l'EPB



Fonds de recherche sur la nature et les technologies Québec

2001 → Transfert technologique a été fait entre l'U.L et la PPUMO



Pépinière de Saint-Modeste (PPUMO)

2013 → Construction du nouveau laboratoire d'ES (1,7 millions \$)

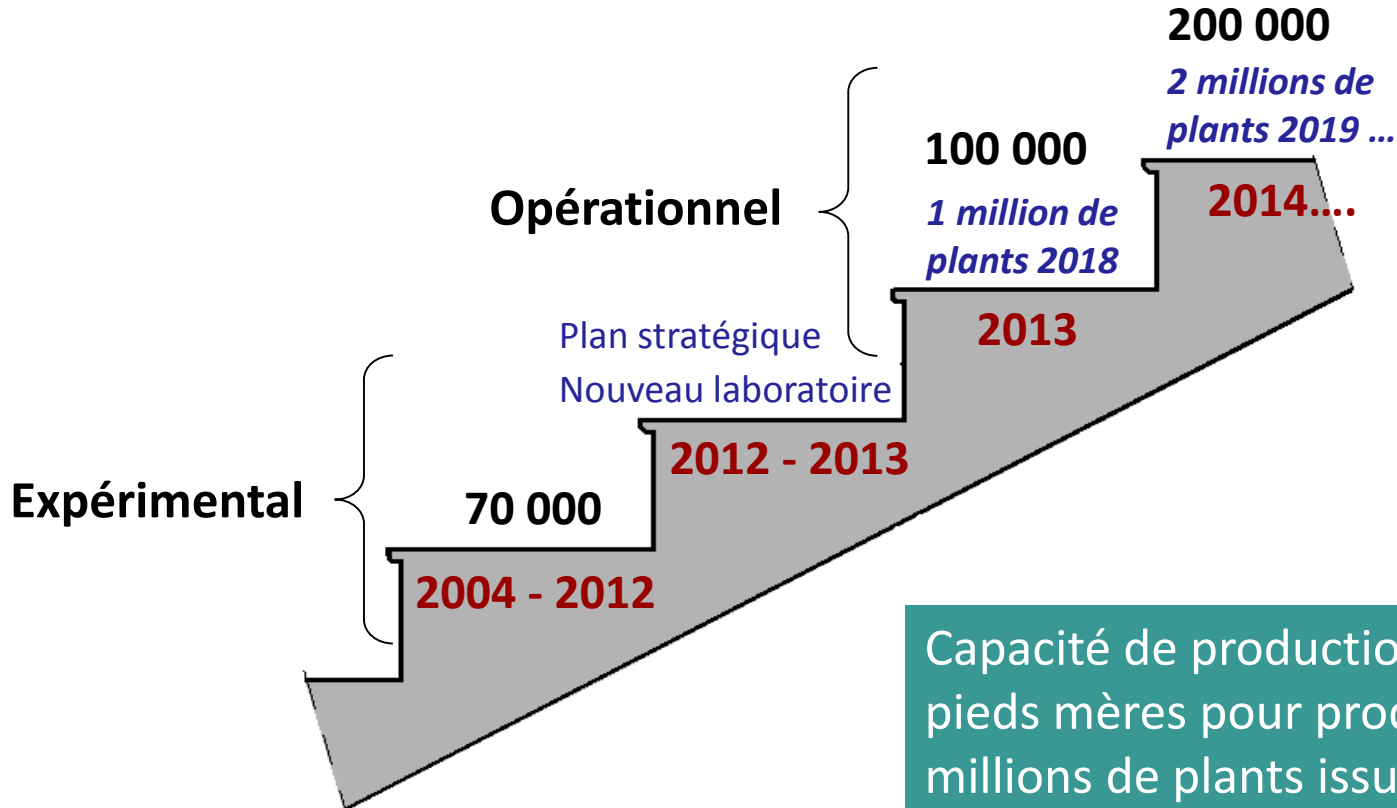


2013 → Projets de recherche en génomique



Historique de l'embryogenèse somatique (ES)

Production de POS à grande échelle



Capacité de production de 400 000 pieds mères pour produire 4 millions de plants issus de boutures

Forêts, Faune
et Parcs

Québec



La place et le rôle des POS

Il n'est pas envisagé d'établir toutes les plantations avec des plants produits par embryogenèse somatique

Livraison annuelle de plants :	130 000 000
Livraison annuelle de plants d'ÉPB :	27 000 000
Livraison annuelle de POS d'ÉPB :	2 000 000

L'intensification permise sur de petites surfaces par ce matériel d'élite permettra de diminuer la pression de récolte sur les forêts issues de régénération naturelle

POS : Un produit en développement

 **Caractériser les clones en tests clonaux**



Tests clonaux

2004 - 2017 : **3294 clones d'épinette blanche** en banque cryogénique provenant de 71 croisements dirigés recommandés

Tests clonaux

Neuf années de tests clonaux (2004 à 2013) : **1513 clones** provenant de 71 croisements différents.


Objectif : identifier des clones performants dans les tests clonaux pour constituer des variétés multiclonaux performantes.



Tests clonaux

- Deux sites : Pépinière de Saint-Modeste et pépinière de Grandes-Piles
- Seize plants par clone et par site
- Mesurage de la hauteur des plants après 5 années en champ

Tests clonaux : Nombre de clones par année et nombre total de clones mesurés en date de 2017

Années des tests	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016		
Nombres de clones	52	127	202	213	243	264	247	88	48	29		
Mesurés par DRF												
	1348 clones mesurés						Total des clones = 1513					



POS : Un produit en développement

- Caractériser les clones en tests clonaux (octobre 2017 : 1348 mesurés sur 1513)
- Identifier des clones performants sur le terrain et en laboratoire
- Sélection génomique (*SCF – U.Laval – MFFP*) des meilleurs clones à partir de leur ADN



POS : Un produit en développement

- 🔄 Maintenir **une traçabilité des clones** à l'aide de la génomique (*SCF – Nathalie Isabel / Julie Godbout*)
- 🔄 **Perfectionner les méthodes en laboratoire** (Diminution des coûts, bioréacteur, ...)



Réalisation d'expériences avec des partenaires externes et dans le laboratoire de Saint-Modeste

Forêts, Faune
et Parcs

Québec 

POS : Un produit en développement

- 🔄 Maintenir **une traçabilité des clones** à l'aide de la génomique (*SCF – Nathalie Isabel / Julie Godbout*)
- 🔄 **Perfectionner les méthodes en laboratoire** (Diminution des coûts, bioréacteur, ...)
- 🔄 Caractériser **le comportement des clones en pépinière**

Un suivi par clone tout au long de la production

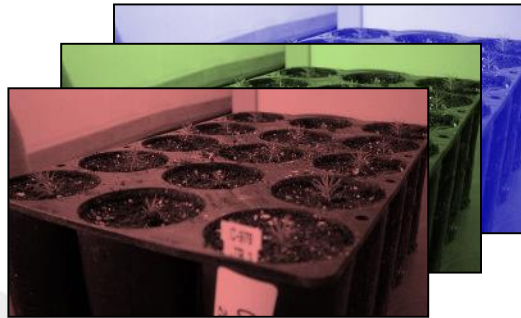
En laboratoire : une approche par clone



À partir du transfert en sol :



Clones mélangés



Clones purs

Nombre de plants par pétri

Forêts, Faune
et Parcs

Québec 

Un suivi par clone tout au long de la production

... pendant la production des pieds mères et au moment du prélèvement des tigelles ...



Nombre de tigelles prélevées par pied mère

Pourcentage d'enracinement

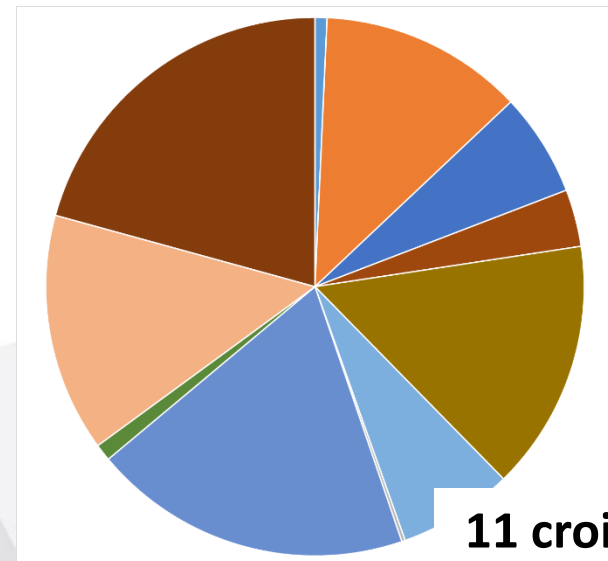
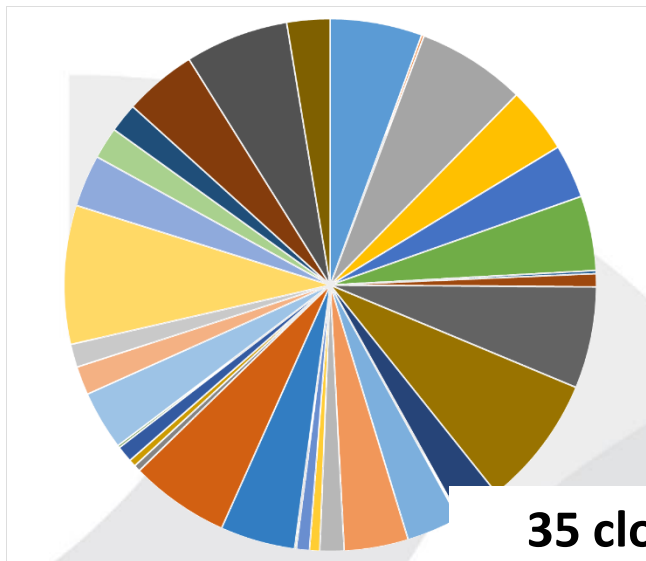
... puis tout au long de la production des plants issus de boutures - POS

Nombre de plants livrables

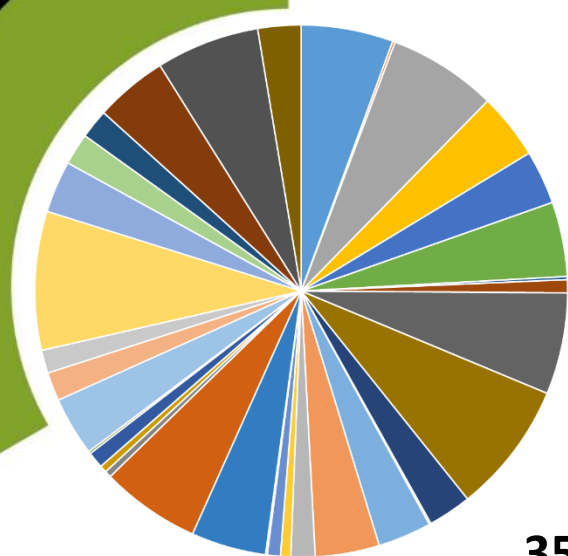


Répartition du nombre de plants par clone

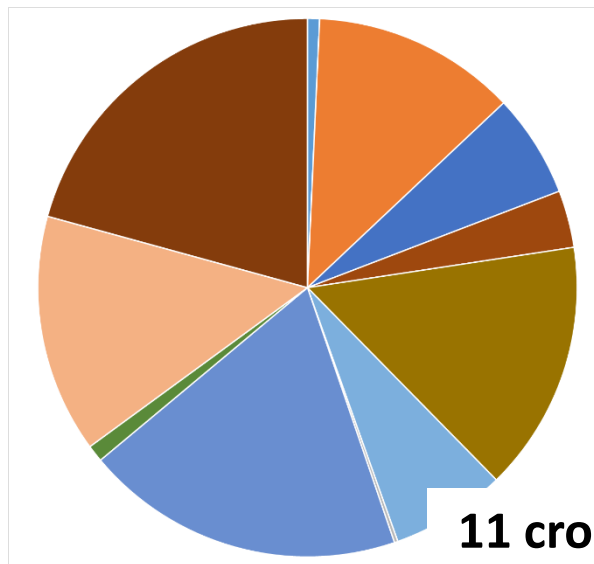
Croisement	Clone	Gain	Labo		Gain	Rang 2017	Nombre de Pétris	Nbre de plants par pétri	Rang Labo	Nbre de pieds mères	Nb.Tig/ p.m.	% ENRAC.	Nb plants livrables par Pétri	Nb plants livrables
		Gain	\$	1er choix			80	63,0		5 036	16,1	78,6	797	63 734
		Gain	\$	1er choix			80	103,1		8 244	9,0	97,4	903	72 268
		Gain	\$	1er choix			80	74,6		5 970	15,5	79,7	922	73 752
		Gain	\$	1er choix			80	58,4		4 670	12,0	84,0	588	47 069
		Gain	\$	1er choix			70	139,6		9 775	12,0	84,0	1 408	98 531
		Gain	\$	1er choix			80	78,6		6 291	12,0	84,0	793	63 416
		Gain	\$	1er choix			80	68,0		5 441	12,0	84,0	686	54 841
		Gain	\$	1er choix			80	119,5		9 562	6,9	67,0	553	44 207
		Gain	\$	1er choix			80	55,2		4 417	12,0	84,0	557	44 528
		Gain	\$	1er choix			80	67,5		5 400	12,0	84,0	680	54 432



Des plantations multiclonales



35 clones



11 croisements

Lots de plants livrés en 2018 : **35 clones** distincts représentant **11 croisements dirigés** différents ⇒ **plantation multiclonale**

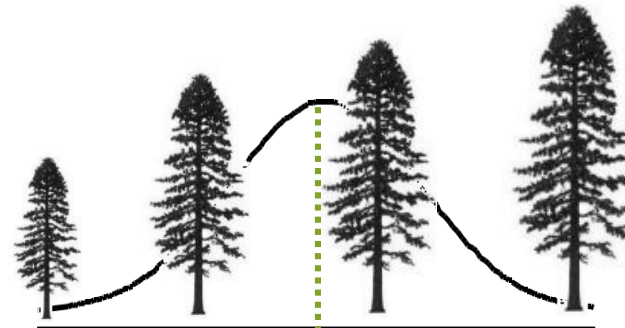
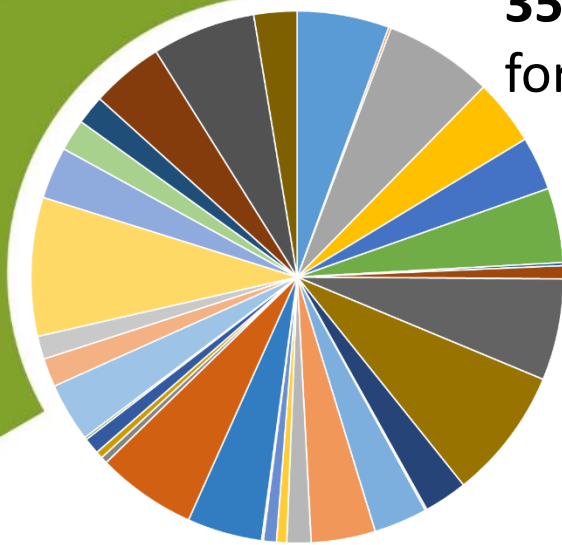
Il n'est pas envisagé d'établir des plantations avec un seul clone

Forêts, Faune
et Parcs

Québec 

Estimation du gain génétique

35 clones dont le gain génétique en hauteur moy. / forêt naturelle varie entre 10 et 40%



Essence	N0	V1	V2	CD	POS
EPB	0,0 %	5,0 %	15,0 %	25,0 %	≥ 35,0 %

Gain génétique estimé : entre 19% et 26% de gain en hauteur moyenne par rapport à la forêt naturelle

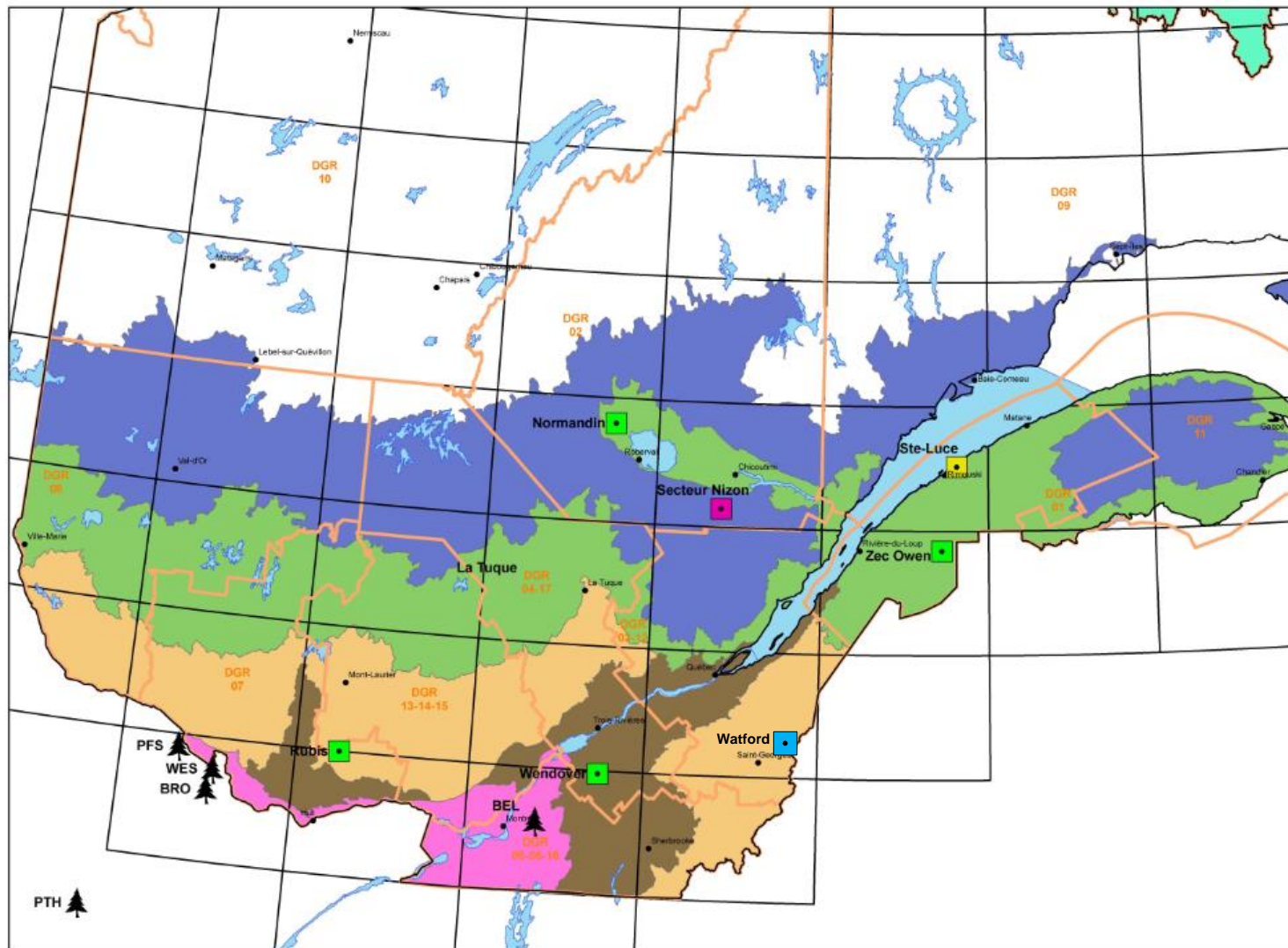
Forêts, Faune
et Parcs

Québec

POS : Un produit en développement

- 🔄 **Traçabilité des clones** à l'aide de la génomique (*SCF – Nathalie Isabel / Julie Godbout*)
- 🔄 **Perfectionner les méthodes en laboratoire** (Diminution des coûts, bioréacteur, ...)
- 🔄 **Caractériser le comportement des clones en pépinière**
- 🔄 **Caractériser le comportement des clones en plantations forestières**
 - Tests de déploiement

Tests de déploiement : 7 plantations



Localisation des essais de plantations POS et des provenances ayant servies aux croisements dirigés

Légende

Type

▲ Provenances

■ Test 2014

■ Test 2015

■ Test 2016

■ Test 2017

André Deshaies ing.f.

Direction générale de la production de semences et de plants forestiers

17 novembre 2015



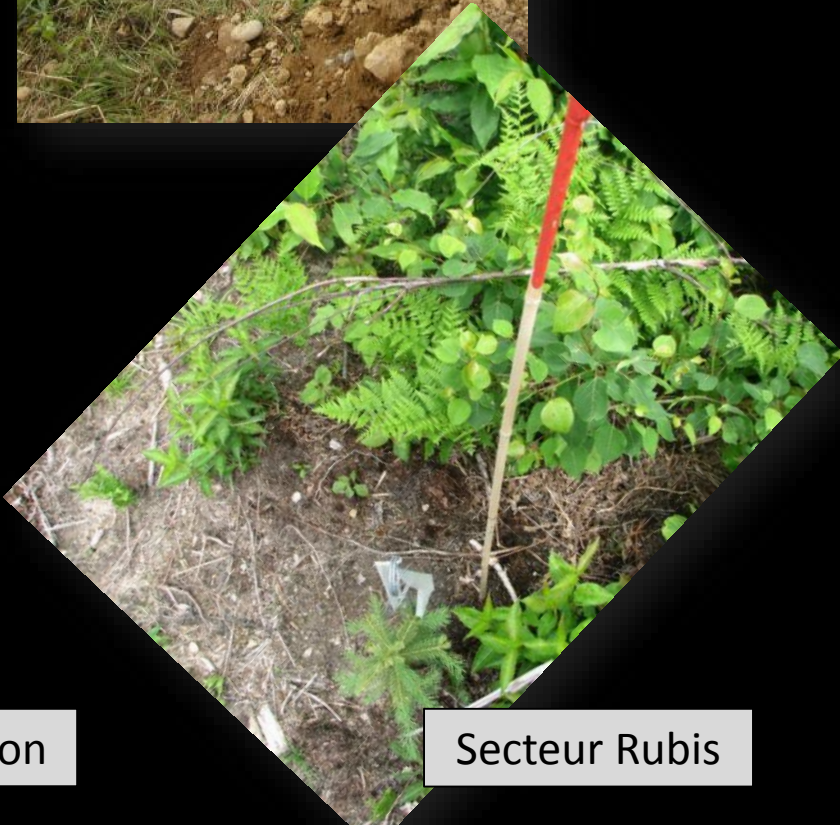
ZEC Owen



Watford



Secteur Nizon



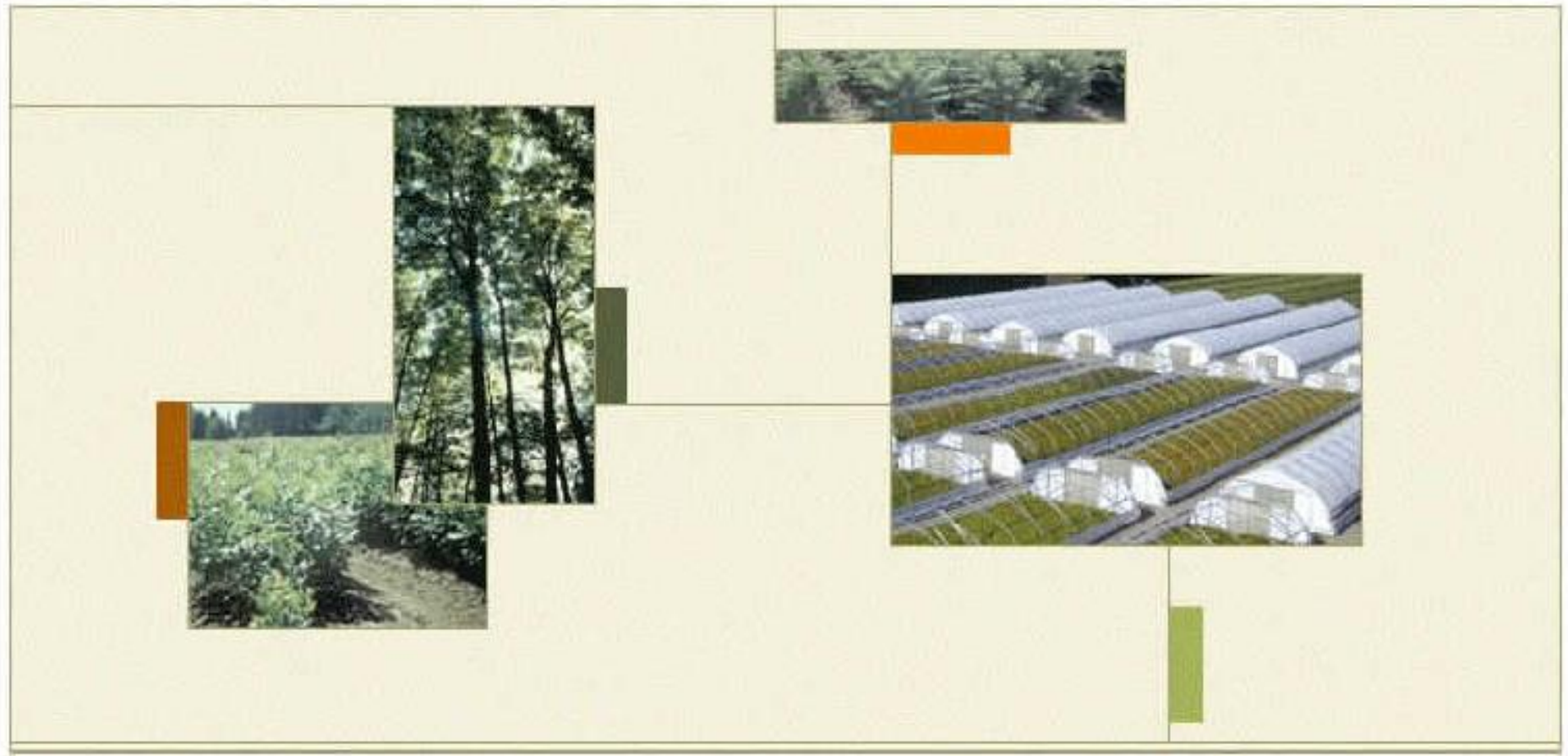
Secteur Rubis

POS : Un produit en développement

- 🔄 **Traçabilité des clones** à l'aide de la génomique (*SCF – Nathalie Isabel / Julie Godbout*)
- 🔄 **Perfectionner les méthodes en laboratoire** (Diminution des coûts, bioréacteur, ...)
- 🔄 **Caractériser le comportement des clones en pépinière**
- 🔄 **Caractériser le comportement des clones en plantations forestières**
 - Tests de déploiement
 - Plantations avec des POS à partir de 2018 : **Traçabilité de ces plantations**



Systeme Plants



Gestion des plants de reboisement

Dossier Edition Demande Programmation Suivi Production Allocation/Livraison Pilotage Rapport Outils ? Fenêtre

2.1.D - Culture contrat

CARSY7 2017-10-25 U.A.% Prd.% An.%

Culture Contrat	Stocks livrés	Compos. écolo. culture	Territoire d'utilisation		
Culture contrat	MO35EPB16-N45	No unique	16-N45	Essence mixte	
No contrat	MO-2016-1	Année ens.	2016	Détail contrat	15
Année livraison	2018	Cult. pépinière	MO35EPB16-N45	Coût plants	,00
Calendrier	0,0-2,0	An. Repiq	2016	Mode de prod.	RC
Déb. qualif.	2018-04-30	Fin qualif.	2018-05-27	Type plants	REC-PFD
Type d'emballage	RE	Région d'origine	01	Récep. utilisé	25-310
Groupe essence	RÉSINEUX	Essence	EPB	Producteur	MO St-Modeste Std.
Statut	Active	Producteur	MO	No. projet	2015-1-00-006
No clone					
Précocité qualif. (H/T)	Hâtive	<input type="checkbox"/> Ensem. hatif	<input checked="" type="checkbox"/> Boutures	<input type="checkbox"/> Pieds-mères	Inc. fact. ens. Z
Récolte - semences	Récolte 2006 159 1	Code de reboisement	EPB-E2-CTO-14-6	4fT- -2006	Niveau d'amélioration
<input type="checkbox"/> Exclue analyse de performance	<input type="checkbox"/> Exclue allocation / livraison	<input type="checkbox"/> Exclue budget	<input type="checkbox"/> Recherche	Élevé	SGS
Objectifs	Initial ,000	Révisé avant repiquage		Objectif du TAO	40,000
Repiquage 40,000	Révisé après repiquage			Facteur de sécurité TAO	1,30
				Objectif temp.	
				Somme des plants alloués	40,000
				Somme des	40,000

⇒ Possible de savoir le code de la source de semences utilisée pour produire ces plants

Traçabilité des plantations POS



À retenir ...

- 🔄 Le clonage existe dans la nature (ex : marcottage, boutures)
- 🔄 L'embryogenèse somatique n'est pas une méthode de transformation génétique
- 🔄 Les POS sont un produit en développement
- 🔄 Il n'est pas envisagé d'établir des plantations avec un seul clone
- 🔄 Il n'est pas envisagé d'établir toutes les plantations avec des plants produits par embryogenèse somatique

