

Intégration de l'embryogenèse somatique de l'épinette de Norvège dans le reboisement à haute productivité

Francine M. Tremblay, Université Laval; Pierre Y. Bernier, Ressources Naturelles Canada;
Mohammed S. Lamhamedi, Min. Ressources Naturelles et de la Faune

Problématique

Le reboisement avec des variétés génétiquement améliorées d'épinette de Norvège (*Picea abies*) permettrait d'accroître significativement la productivité forestière québécoise. Dans un projet antérieur, nous avons développé la première méthode efficace de multiplication végétative de l'épinette de Norvège par embryogenèse somatique et le transfert technologique des techniques développées à l'Université Laval vers la Pépinière forestière de St-Modeste (MRNF) a été initié. Donc, les différents éléments nécessaires à la réalisation d'une foresterie à haute productivité basée sur l'utilisation de clones sélectionnés d'épinette de Norvège se mettent en place au Québec. Cependant, même à l'échelle mondiale, les travaux sur les performances des plants de conifères d'origine somatique sont rares (Benowicz et al. 2002, Lamhamedi et al. 2000) alors que l'évaluation de la qualité des plants somatiques est essentielle avant l'introduction de l'embryogenèse somatique dans les programmes opérationnels de reboisement.

En plus de quantifier l'incidence de la variation somaclonale chez des plants de conifères produits par embryogenèse somatique, nous avons montré que l'augmentation de l'âge du tissu embryogène utilisé pour la maturation entraîne des désordres physiologiques, dont le plagiotropisme (Tremblay et al. 1999). En d'autres termes, la technique de production pourrait entraîner des effets physiologiques à long terme chez les plants, phénomène d'ailleurs bien documenté chez les plantes agricoles (Bajaj 1990). Il faut donc quantifier aux niveaux morphologiques et physiologiques les effets des différents traitements *in vitro* sur les plants de conifères d'origine somatique avant l'introduction de l'embryogenèse somatique dans le système de production de plants de reboisement.

L'approche écophysiological a été utilisée pour quantifier la variabilité clonale de plants produits par embryogenèse somatique (Lamhamedi et al. 2000). Cette approche a donc été reprise dans ce projet pour comparer les clones et pour vérifier les techniques de production par embryogenèse somatique. En plus de la caractérisation de la croissance des plants (hauteur, diamètre, nombre de branches), nous avons utilisé le statut nutritionnel connu pour son effet direct sur la performance des plants de la forêt boréale en influençant la tolérance au gel et à la sécheresse ainsi que la capacité de croissance racinaire (Lamhamedi et Bernier 1994, Landis 1985, McAlister et Timmer 1998, Munson et Bernier 1993). La photosynthèse nette a également été utilisée dans ce projet comme méthode d'évaluation de la qualité des plants en conditions contrôlées (Stewart et Bernier 1995, Lamhamedi et al. 1997) et en site de reboisement (Lamhamedi et al. 1998). À ces critères, nous avons ajouté un suivi phénologique des clones afin d'en quantifier la variation et ainsi d'établir la variation inter-clonale comme facteur potentiel de sélection.

Objectifs

- Identifier le meilleur protocole de production de plants par embryogenèse somatique sur la base de la qualité des plants
- Définir une approche de sélection hâtive basée sur l'évaluation des variables morphologiques et physiologiques pour l'épinette de Norvège
- Développer des régies de culture en serre et en pépinière spécifiques à la production de plants clonaux d'épinette de Norvège

Méthodologie

Des plants de différents clones d'épinette de Norvège ont été produits à partir de lignées cryoconservées dans un projet précédent (MRNF à FMT). Trente-neuf (39) lignées cryoconservées ont été choisies de façon à maintenir le maximum de diversité génétique. Des 39 lignées décongelées (un cryovial par lignée), 24 ont survécues et ont été maintenues sur un milieu de maintenance HLM-1 (Tremblay, 1990) avec repiquage aux 2 semaines.

Différents traitements in vitro ont été utilisés pour la production d'embryons somatiques, soit 500 et 1000 mg/L de glutamine et 22,5 et 45 μ M d'ABA. Également, l'effet de l'âge du tissu embryogène sur la qualité des plants a été testé par des maturations successives de tissus âgés de 3, 9 et 24 mois.

Les embryons somatiques produits ont été germés selon Isabel et al. (1996), acclimatés in vitro selon Lamhammedi et al. (2000), transférés en sol et immédiatement placés dans la serre à 25 +/- 5°C sous une photopériode de 16/8 h jour/nuit.

Les 1577 plants des clones produits ont été cultivés en serre pendant deux saisons consécutives avec entreposage à 4°C pendant l'hiver. Un suivi des paramètres de croissance a été effectué sur un échantillon de chaque clone pendant et à la fin de chaque saison de croissance : hauteur, diamètre, poids sec des tiges et racines, analyse minérale, densité et surface des aiguilles, et taux de photosynthèse. À ces paramètres ont été ajoutés, pour la deuxième saison de croissance, le nombre de branches d'ordre 1, la capacité de croissance racinaire, la résistance au froid (degrés d'endurcissement) et un suivi phénologique. Les résultats ne sont présentés que pour la deuxième saison de croissance.

Les suivis de croissance ont été réalisés avec des dispositifs en blocs complets aléatoires (15 clones/6 blocs, 1 plant/bloc). Le débourrement et l'aoûtement des clones ont été suivis par observations quotidiennes des bourgeons selon une charte établie dans notre laboratoire. Les mesures de croissance en hauteur, diamètre au collet et nombre de branches ont été faites périodiquement au long de la saison. Les échanges gazeux, mesurés avec un système portatif d'analyse de gaz (Lcpro+), les degrés d'endurcissement et la capacité de croissance racinaire de différents clones ont été évalués selon Lamhammedi et al. (2000, 2005). À la fin de la saison, les plants ont été coupés et séchés (165°C, 48 h). Après détermination du poids sec des racines et de la partie aérienne, les échantillons ont servi pour l'analyse minérale (N, P, K, Ca, Mg). Les plants restants de chaque clone seront plantés en parcelle expérimentale en 2006.

Résultats

Des 39 lignées décongelées, 24 ont survécu à la décongélation. Les tissus de ces lignées ont été maintenus avant d'être placés en maturation. Des 24 lignées maintenues, 18 ont produit des embryons mais seulement 15 clones avaient un nombre suffisant de plants pour la poursuite du projet. Au total, 1577 plants vivants en sol ont été produits.

Aucun des traitements de maturation utilisés pour la production de plants, soit la concentration en glutamine et en acide abscissique n'a eu d'effet sur la qualité des plants produits après deux ans de croissance en serre et ce, quel que soit le paramètre étudié. Les différences observées étaient reliées aux clones et non aux traitements utilisés au cours de la maturation. Par contre, les résultats sur la durée en maintenance des tissus embryogènes ne seront disponibles que dans un an.

Le suivi phénologique des plants montre une différence inter-clonale importante au niveau du débourrement, avec jusqu'à cinq jours de décalage entre les clones. Selon ces résultats, les clones A-903 et A-996 sont les plus hâtifs et A-857 et A-1014, les plus tardifs. En ce qui concerne l'aoûtement, des différences inter-clonales importantes ont également été observées, avec des dates d'aoûtement s'étalant entre la mi-juillet et le mois de septembre.

La croissance en hauteur des plants, mesurée aux deux semaines, montre des différences significatives inter-clonales, avec des pousses annuelles variant de 10 à 40 cm selon les clones. Le diamètre au collet, mesuré mensuellement, varie peu sauf dans le cas d'un clone, A-1088, dont le diamètre au collet est significativement inférieur aux autres clones.

Le nombre de branches d'ordre 1 a été évalué au début de la deuxième saison, après un mois et à la fin de la saison de croissance. Une variation significative est observée entre les clones, le nombre de branches sur les plants de deux ans variant de 8 à 40 selon les clones.

L'analyse de toutes les variables physiologiques (photosynthèse nette, transpiration, degré d'endurcissement, CCR) et nutritives (poids secs, N, P, K, Ca, Mg) mesurées sur les plants après deux saisons de croissance montre des différences significatives importantes entre les clones. Cependant, l'analyse des taux de corrélation entre chacune de ces variables et la hauteur des plants des différents clones donne, même après seulement deux saisons de croissance en serre, des résultats intéressants qui seront présentés.

Discussion

Il a été possible, pour la réalisation de ce projet, de redémarrer une production de plants de différents clones à partir de tissus décongelés d'une banque cryogénique. Un taux de reprise après décongélation de 24/39 lignées s'explique par le fait que, normalement, il faut décongeler deux cryovials par lignée. Cependant, notre choix d'un seul cryovial s'explique par le fait que nous devons utiliser un minimum de matériel de la banque cryogénique.

Les traitements in vitro portant sur la glutamine et l'acide abscissique n'ont pas affecté la croissance des plants au cours des deux premières saisons de croissance. Cependant, les résultats sur l'effet de la durée en maintenance du tissu embryogène sur la croissance des plants ne sont pas encore disponibles dû au traitement de 24 mois. Ces plants seront évalués en 2007.

Le suivi phénologique des plants montre des différences importantes entre les clones. Même si le suivi ne porte que sur 15 clones, nous avons pu identifier des clones hâtifs et des clones tardifs. La différence de 5 jours observée au niveau du débourrement pourra s'avérer un outil intéressant dans un programme de lutte biologique contre les ravageurs. Cette approche sera poursuivie en collaboration avec des entomologistes.

La caractérisation des plants des différents clones confirme qu'il existe des différences inter-clonales importantes dès les premières saisons de croissance chez l'épinette de Norvège, quel que soit le caractère étudié. Cependant, les niveaux de corrélation entre les différentes variables étudiées et la croissance en hauteur montrent qu'il faut faire preuve d'une grande réserve au niveau de l'interprétation des résultats qui devront être confirmés suite à quelques années de croissance en plantation.

Retombées escomptées

Ce projet contribue à l'implantation au Québec d'une foresterie clonale à haute productivité, nécessaire pour sortir l'industrie forestière de son impasse actuelle. En permettant de mieux comprendre les liens qui existent entre la croissance des plants et différentes variables mesurables, il contribue à une meilleure compréhension des liens entre la génétique des plants et leur physiologie. Il ouvre également la porte à l'évaluation du potentiel des caractéristiques phénologiques des clones comme moyen de lutte biologique contre les insectes.

Références

Benowicz, A., Grossnickle, S.G. et El-Kassaby, Y.A., 2002, Can.J.For.Res. 32: 1822-1828; **Lamhamedi, M.S., Chamberland, H., Bernier, P.Y., Tremblay, F.M., 2000**, Tree Physiol. 20: 869-880; **Tremblay, L., Levasseur, C. et al. 1999**, Amer.J.Bot.86 (10) : 1373-1381; **Bajaj, Y.P.S. 1990**, (ed) Somaclonal variation in crop improvement.I., 3-48. Sprimger-Verlag, Berlin; **Lamhamedi, M.S. et Bernier, P. 1994**, Rev.Ann.Sci.For. 51: 529-551; **Landis, T.D. 1985**, Ed. M.L. Duryea. Forest Research Laboratory, Oregon State University. Corvallis, 29-48; **McAlister, J.A. et Timmer, V.R. 1998**, Tree Physiol.18 : 195-202; **Munson, A. et Bernier, P.Y. 1993**, II.Can.J.For.Res. 23 : 2435-2442; **Stewart, J.D. et Bernier, P.Y. 1995**, Ann.Sci.For. 52: 1-9; **Lamhamedi, M.S., Bernier, P.Y. et Hébert, C., 1997**, New Forests 13: 209-223; **Lamhamedi, M.S., Bernier, P.Y., Hébert, C. et Jobidon, R., 1998**, Forest Ecol. Manage. 110: 13-23; **Tremblay, F.M. 1990**, Can.J.Bot. 68: 236-242; **Isabel, N.R., Boivin, R. et al, 1996**, Amer.J.Bot. 83(9): 1121-1130; **Lamhamedi, M.S., Renaud, M. et al. 2005**, Mémoire de recherche forestière No.147, MRNF 1-52.