



Carrefour
de la recherche
forestière

Actes des *Colloques du carrefour*

19 février 2003
Centre des congrès de Québec

SD
356.3
C314
2003

Québec 

Le Québec à l'aube d'une révolution en génétique forestière

Jean BEAULIEU

Service canadien des forêts (RNCan)

Jean BOUSQUET

Chaire de recherche du Canada en génomique forestière et environnementale
Centre de recherche en biologie forestière (Université Laval)

André RAINVILLE

Direction de la recherche forestière (MRN)

S.Y. ZHANG

Forintek Canada Corp.

Conférence présentée par :



Monsieur Jean Beaulieu a obtenu un baccalauréat en génie forestier de l'Université Laval en 1976, puis une maîtrise en 1979 et un doctorat de l'Université de Montréal en 1993. De 1979 à 1983, il a été professionnel de recherche à l'Université Laval. En 1983, M. Beaulieu devient membre de l'équipe de recherche en génétique et en amélioration des arbres du Centre de foresterie des

Laurentides. Entre 1990 et 1996, il est responsable du programme d'amélioration génétique de l'épinette blanche. Ses travaux portent actuellement sur la génétique des populations, la génétique quantitative et la recherche de marqueurs moléculaires pour assister la sélection de matériel génétiquement supérieur. De plus, M. Beaulieu étudie le génome de l'épinette. Il est également professeur associé au Département des sciences du bois et de la forêt de l'Université Laval, chercheur associé au Centre de recherche en biologie forestière, membre de la Chaire de recherche du Canada en génomique forestière et environnementale de l'Université Laval et professeur associé à l'unité d'enseignement et de recherche en sciences appliquées de l'UQAT.

INTRODUCTION

Le sujet d'un des colloques du *Carrefour de la recherche forestière 2003* est « La régénération forestière : les 25 prochaines années... ». C'est dans ce cadre qu'on nous a demandé de dresser un portrait des divers enjeux de la recherche qui se présenteront au cours du prochain quart de siècle. Se lancer dans un tel exercice de prospective n'est jamais facile. Les chances de se tromper à terme sont grandes. Toutefois, en se basant sur les progrès réalisés et sur les développements technologiques actuels, il nous semble possible de tirer les grandes orientations de la recherche pour les années à venir. Au cours de cette présentation, nous ferons donc un bref survol des grandes avancées réalisées ici, au Québec, depuis la mise en place des programmes d'amélioration et nous essaierons par la suite d'identifier les principaux enjeux auxquels nous croyons que les chercheurs dans ce domaine seront confrontés.

Bien que les débuts de la recherche en génétique forestière au Québec remontent à la fin des années 50, ce n'est qu'au début des années 70 que les travaux de recherche en amélioration génétique prennent véritablement leur envol. Une demande formelle pour la mise sur pied d'un programme général d'amélioration des arbres forestiers n'est logée auprès des autorités du ministère des Terres et Forêts du Québec qu'en 1969 (VALLÉE 1969). Ce programme sera mis en œuvre par les chercheurs du

Service de la recherche du même Ministère. Les principaux objectifs étaient 1) de préciser le choix des espèces et des provenances selon les stations et les régions écologiques, 2) d'améliorer la qualité génétique des plants destinés au reboisement et de diversifier les espèces utilisées pour accroître la production et la rentabilité des opérations de reboisement (VALLÉE 1975). L'équipe de chercheurs du Service de la recherche du ministère des Terres et Forêts venait ainsi joindre ses compétences à celles des chercheurs du Service canadien des forêts (SCF) en place à Sainte-Foy et des professeurs de l'Université Laval, constituant la masse critique nécessaire à l'accomplissement des buts visés. Tous ces généticiens se sont rapidement réunis dans le Comité d'amélioration génétique des arbres forestiers du Québec, de manière à créer la synergie essentielle dans ce domaine. Ce comité est toujours actif en 2003.

L'intérêt pour la recherche en amélioration génétique a été difficile à susciter au Québec en raison de l'abondance et de l'omniprésence des ressources forestières (CORRIVEAU et VALLÉE 1981). Les démonstrations faites au cours des 25 dernières années quant à la pertinence et à l'importance des recherches en amélioration génétique comme outil d'aménagement forestier font que personne ne penserait aujourd'hui à remettre en cause le bien-fondé des investissements dans ce domaine. C'est d'ailleurs en grande partie grâce à ces résultats que Valorisation Recherche Québec décidait, en 2001, de financer le réseau de recherche Ligniculture Québec dont les objectifs sont de coordonner, de soutenir et de dynamiser les efforts de R-D en ligniculture. Examinons donc les progrès accomplis au regard des buts visés.

LES DERNIERS 25 ANS

Objectif 1 : Préciser le choix des espèces et des provenances en fonction des stations et régions écologiques

Voilà un objectif ambitieux que s'étaient fixés les améliorateurs car non seulement il exigeait une connaissance approfondie des patrons de variation génétique pour des caractères adaptatifs chez les essences faisant l'objet d'un programme d'amélioration, mais cela nécessitait également l'accessibilité à des outils de classification écologique. Fort heureusement, en même temps qu'ils réalisaient leurs études génétiques, les écologistes du ministère des Ressources naturelles du Québec (MRN) travaillaient à la mise au point des cartes écologiques nécessaires. Les règles de déplacement des sources de semences ont évolué au gré des résultats des recherches pour en arriver aujourd'hui avec des outils mathématiques et de spatialisation pour assister les

gestionnaires forestiers dans leur prise de décision. Ainsi, au début des années 80, des zones préliminaires de récolte de cônes et d'utilisation des semences ont été délimitées. Les limites de ces zones avaient alors été fixées à partir de celles reconnues pour les grands domaines climatiques et d'autres de nature administrative. Dès qu'une carte des régions écologiques construite à partir des facteurs climatiques et de végétation (THIBAUT et HOTTE 1985) a été rendue disponible par le ministère de l'Énergie et des Ressources du Québec, les règles de déplacement des espèces et provenances ont été mises à jour pour tenir compte de cette nouvelle donnée. Les règles de déplacement d'alors, comme celles en vigueur aujourd'hui, suivaient un système de priorité décroissante partant du principe que, à moins que des sources aient été recommandées pour le reboisement du site, la source locale était la plus appropriée. En cas d'indisponibilité de la source locale, une autre source de la même région écologique pouvait alors être utilisée. Sinon, une source d'une autre région écologique, mais adjacente à celle où était situé le site et appartenant au même domaine bioclimatique, pouvait suppléer à la pénurie vécue. En dernier recours, une source venant d'un autre domaine bioclimatique pouvait s'avérer acceptable en autant qu'elle ne soit pas éloignée de plus de 1° de latitude du site à reboiser. De plus, les transferts du sud au nord devaient être favorisés et ceux du nord au sud limités. Quant aux transferts longitudinaux, ils devaient se limiter à tout au plus 2°.

Le développement de la nouvelle carte des régions écologiques du Québec méridional réalisée dans le cadre du programme d'inventaire écologique du Québec a de nouveau amené certains ajustements aux règles de déplacement des espèces et provenances pour tenir compte du nouveau système de classification hiérarchique utilisé (ROBITAILLE et SAUCIER 1998). Ainsi, l'ordre de priorité dans l'utilisation des sources pour le reboisement a été établi de manière à favoriser d'abord le district écologique, l'unité régionale de paysage, la sous-région écologique, la région écologique, le sous-domaine bioclimatique et finalement le domaine bioclimatique.

Au fil des ans, des études de patrons de variation génétique ont été conduites par les améliorateurs pour plusieurs essences. Ces études ont permis de développer des modèles mathématiques pour relier les patrons de variation observés entre les sources aux coordonnées géographiques de leur lieu d'origine ainsi qu'à des variables représentant les conditions climatiques auxquelles elles étaient soumises. Ces modèles constituent des outils puissants pour guider le transfert des sources de semences de ces essences, en supposant qu'à long terme la source locale est toujours la mieux adaptée. Un logiciel automatisant le calcul des risques associés à un transfert a été développé. De plus, grâce à ce logiciel,

les modèles de transfert, couplés à la carte des régions écologiques, fournissent aux responsables de la Division de la production des semences et des plants du MRN un outil d'aide à la décision très efficace.

En résumé, le Québec est maintenant beaucoup mieux placé qu'il l'était il y a un quart de siècle pour réussir ses programmes de reboisement. En effet, les connaissances acquises et les outils développés permettent aujourd'hui aux gestionnaires forestiers de prendre des décisions beaucoup plus éclairées et basées sur des principes de nature biologique et écologique.

Objectif 2 : Améliorer la qualité génétique des plants destinés au reboisement et diversifier les espèces utilisées pour accroître la production et la rentabilité des opérations de reboisement

En raison de l'ampleur des travaux de recherche à mener pour réaliser cet objectif très ambitieux, les généticiens des divers organismes de recherche impliqués dans l'amélioration génétique des arbres forestiers se sont entendus pour se répartir les responsabilités. C'est ainsi que le SCF a pris à sa charge les programmes d'amélioration de l'épinette blanche et du pin blanc. De plus, il a partagé cette responsabilité avec le MRN pour l'épinette de Norvège. Le MRN acceptait pour sa part de conduire les programmes d'amélioration de l'épinette noire, du pin gris, du pin sylvestre, des mélèzes, des peupliers et des feuillus nobles. D'autre part, il a également conduit un important programme d'introduction d'espèces exotiques, ce qui a permis de tester 136 espèces dans plusieurs régions écologiques du Québec. L'Université Laval était également impliquée dans certains programmes d'amélioration, en raison de l'ampleur de la tâche à accomplir. Depuis 1996, le MRN est responsable de la conduite de la plupart des programmes d'amélioration en raison du retrait du SCF de la recherche appliquée après une révision des programmes par le gouvernement canadien.

Des programmes d'amélioration sont donc en cours depuis plusieurs années pour une dizaine d'essences commerciales. L'état d'avancement des travaux de recherche n'est pas le même pour chacune d'entre elles en raison d'investissements principalement consentis sur celles faisant l'objet des programmes majeurs de reboisement. Les efforts n'ont toutefois pas été négligés pour s'assurer d'un approvisionnement en quantité et en qualité de propagules pour le reboisement, et ce, même pour des essences pour lesquelles il n'y a pas de programme d'amélioration en place. Un réseau de 160 unités de production a été établi, comprenant 94 vergers à graines, 41 tests de provenances, 21 tests de descendances et 4 parcs à clones (MASSE 2000). De plus, un centre de

bouturage a été inauguré en 1989 à la pépinière de Saint-Modeste pour produire annuellement au-delà de 2 millions de boutures de résineux (TOUSIGNANT 2000), grâce entre autres à son système original de « bouturathèque » mis au point au Québec (VALLÉE et NOREAU 1990). Le bouturage est utilisé pour la multiplication de matériel génétiquement supérieur d'essences résineuses issu de croisements dirigés de même que pour les essences comme les mélèzes hybrides desquelles il est difficile d'obtenir des graines en abondance. Les unités de production de semences améliorées ont commencé à entrer en production et devraient fournir, d'ici à 2005, l'essentiel des besoins en graines améliorées. En ce qui a trait aux peupliers hybrides, le Québec peut maintenant compter sur une cinquantaine de clones recommandés pour différentes régions écologiques à la suite des efforts de recherche déployés au cours du dernier quart de siècle. Des pieds-mères sont maintenus dans les pépinières du MRN et les clones y sont multipliés pour les besoins de reboisement (PÉRINET 1999).

Des progrès importants ont aussi été réalisés en terme d'augmentation du rendement. Dans un premier temps, à la suite des résultats des essais de provenance menés au cours des années 60 et 70, des provenances supérieures ont été recommandées pour le reboisement. Ces provenances supérieures montraient, en moyenne, une supériorité en hauteur de l'ordre de 10 à 15 %. Il demeurerait toutefois difficile, voire impossible dans certains cas, de s'approvisionner en semences de ces provenances car, bien souvent, les peuplements d'origine avaient été coupés, d'où l'importance de s'appuyer sur un bon réseau de peuplements semenciers et de vergers à graines comme source d'approvisionnement. Grâce à la mise en place de tests de descendances pour accompagner les vergers à graines, il est aujourd'hui possible d'estimer les progrès faits avec les vergers à graines de première génération (LAMONTAGNE 1993). Ces gains génétiques en croissance en hauteur varient de 5 à 10 % selon les vergers et les essences.

Les travaux de recherche en amélioration génétique ont aussi permis de délimiter des zones d'amélioration et de constituer des populations d'amélioration distinctes pour chacune d'entre elles, de manière à assurer les rendements maximums à long terme (BEAULIEU *et al.* 1989, LI *et al.* 1997). En raison des succès obtenus, il a été décidé par les autorités du ministère des Ressources naturelles du Québec d'aller de l'avant avec le développement d'une deuxième génération d'amélioration pour l'épinette noire, l'épinette blanche et le pin gris. De nouveaux vergers à graines ont déjà été mis en place ou sont sur le point de l'être. Les gains génétiques en croissance estimés sont de l'ordre de 15 à 20 % et même supérieurs (BEAULIEU 2001). Ces gains apparaissent tout à fait réalistes lorsqu'on observe les

rendements de certaines familles d'épinette blanche, par exemple, qui produisent au-delà de 10 m³/ha/an, 30 ans après la plantation à la Station forestière de Valcartier. L'engouement récent pour des essences comme les mélèzes et les peupliers hybrides dans le sillage du programme fédéral/provincial Forêt 2020 et du réseau Ligniculture Québec n'est pas étranger aux résultats obtenus avec des accroissements annuels moyens pouvant aller de 15 à 20 m³/ha/an, 20 ans après la plantation (PÉRINET 2000).

Un regard rétrospectif sur ce dernier quart de siècle permet de constater les progrès immenses accomplis et l'atteinte d'objectifs que s'étaient fixés les généticiens forestiers. Il permet également de constater que le contexte dans lequel travaillent les chercheurs dans ce domaine est en évolution rapide, tant sur le plan des outils mis à la disposition des généticiens forestiers que des attentes par rapport au rendement accru des forêts. Ces tendances nous amènent à penser que nous sommes à l'orée d'une véritable révolution. Examinons donc les enjeux auxquels nous aurons à faire face dans les prochaines années.

LES PROCHAINS 25 ANS

Le développement et l'intégration de la génomique forestière

Les progrès réalisés en amélioration génétique au cours du dernier quart de siècle ont été essentiellement obtenus en faisant appel à la théorie de la génétique quantitative. Les caractères d'intérêt économique sont considérés être sous le contrôle de plusieurs gènes dont les effets s'additionnent l'un à l'autre et interagissent entre eux. De plus, ces caractères sont affectés par l'environnement auquel ils sont soumis. Comme, jusqu'à tout récemment, à peu près aucun gène n'était identifié et encore moins leurs effets individuels, il fallait mettre en place des dispositifs expérimentaux et faire appel à la statistique et aux ressemblances entre apparentés pour estimer la part de la variation contrôlée par les gènes et pour évaluer les progrès découlant de la sélection.

La génétique moléculaire a constitué une avancée majeure de la biologie des dernières années et de grands espoirs sont placés en elle pour rendre plus efficace la sélection et l'amélioration des arbres ainsi que la conservation des ressources génétiques. Les travaux de recherche dans ce domaine visent actuellement le développement et l'application d'approches expérimentales à grande échelle. On les divise en deux grandes catégories, soit la génomique structurale et comparative et la génomique fonctionnelle.

Génomique structurale et comparative

La génomique structurale et comparative vise à étudier la diversité du génome des essences forestières, principalement en constituant des cartes de leur génome. En ce faisant, elle facilite le repérage de régions chromosomiques ou de gènes qui sont importants pour certains caractères. La cartographie génétique consiste à couvrir le génome à l'aide d'un grand nombre de marqueurs, pour lesquels on peut connaître les formes d'origines maternelle et paternelle, et à mesurer les distances entre ces marqueurs. Le réseau de marqueurs ainsi constitué peut être utilisé pour identifier des régions qui sont impliquées dans des caractères d'intérêt économique. Ces régions sont appelées *QTL* pour « *quantitative trait loci* ». Le réseau peut également être utilisé pour rechercher des gènes dits candidats, soit dans les régions identifiées comme étant des *QTL*, soit dans d'autres régions. Ces gènes candidats sont souvent développés à partir de l'information disponible chez d'autres espèces pour des gènes exerçant des fonctions similaires. Pour vérifier la contribution précise des gènes candidats aux caractères d'intérêt économique, on réalisera pour des gènes candidats polymorphes des études d'association entre les formes alléliques observées et le phénotype des individus portant ces formes alléliques dans des familles de pedigree connu. Une fois cette contribution confirmée et estimée, on peut penser à les utiliser dans la sélection des individus supérieurs. Ils devraient permettre d'identifier, dès leur jeune âge, les individus possédant les combinaisons génétiques recherchées, c'est-à-dire ceux au potentiel le plus élevé pour le caractère d'intérêt.

De telles études en génomique structurale et comparative sont actuellement en cours au Québec (GOSSELIN *et al.* 2002). Les espèces visées sont l'épinette blanche et l'épinette noire et les caractères envisagés en priorité sont la capacité embryogène, la densité du bois mature et la croissance. En même temps que les cartes génétiques sont développées pour certaines familles de pedigree connu, ces mêmes familles sont multipliées par voie végétative et des tests clonaux sont mis en place de manière à bien caractériser tous ces individus au niveau phénotypique. Ces deux activités doivent être réalisées en parallèle pour pouvoir effectuer les études d'association aussitôt que les gènes candidats ou les *QTL* sont identifiés. L'enjeu majeur auquel font face les améliorateurs et les généticiens développant de telles approches est l'intégration de ces dernières dans les programmes réguliers d'amélioration. En effet, un marqueur génétique lié à un caractère d'intérêt dans une famille donnée ne l'est pas nécessairement dans une autre famille. C'est pour cette raison que les généticiens cherchent actuellement à développer des

cartes consensus entre plusieurs familles d'une même espèce ou encore des cartes interspécifiques. Avec de telles cartes, on peut alors envisager que les régions génomiques et les gènes candidats identifiés seront suffisamment universels pour donner voie à une sélection assistée par marqueurs qui sera plus efficace. Ainsi, les améliorateurs posséderont un outil puissant de sélection qui facilitera leur tâche.

Une autre stratégie en génomique structurale et comparative est le séquençage de génomes complets. Toutefois, en raison de la taille importante du génome de la plupart des essences forestières qui nous intéressent, il est illusoire de penser qu'on pourra un jour avoir accès à la séquence complète de leur génome. Cependant, des consortiums internationaux existent, dont l'objectif est de cartographier et de séquencer la plupart des régions codantes du génome des conifères (INTERNATIONAL PLANT AND ANIMAL GENOME 2002). Des banques comportant des milliers de séquences partielles de gènes sont en voie de criblage (MACKAY *et al.* 2001) et des marqueurs génétiques ont déjà pu être élaborés pour positionner les régions codantes chez nos conifères indigènes (PERRY et BOUSQUET 1998a, b; FOURNIER *et al.* 2002; GOSSELIN *et al.* 2002). Par ailleurs, le peuplier constitue une exception car un effort de séquençage complet lui est présentement consacré en raison de la petite taille relative de son génome (U.S. DEPARTMENT OF ENERGY OFFICE OF BIOLOGICAL AND ENVIRONMENT RESEARCH 2002).

Enfin, un des aspects émergents de la génomique structurale et comparative est l'étude des patrons de diversité spatiale et temporelle des variantes observées au niveau de l'ADN. De telles études à l'aide de marqueurs ciblant différents génomes (nucléaire, chloroplastique, mitochondrial) et différentes classes de gènes permettront de mieux cerner les apports des différents facteurs responsables de la diversité génétique naturelle de nos essences indigènes comme la sélection naturelle, la dynamique des populations et leur passé biogéographique. De telles études ont débuté (PERRON *et al.* 2000, JARAMILLO-CORREA *et al.* 2001) et les résultats anticipés permettront d'orienter les activités d'échantillonnage, de vérification et de conservation des ressources génétiques dans le cadre des programmes d'amélioration génétique, ou encore dans celui des activités d'aménagement de la forêt (PERRY et BOUSQUET 2001). Le génome mitochondrial n'échappe pas à cette révolution. L'équipe interinstitutionnelle de la Chaire de recherche du Canada en génomique forestière vient de réaliser une première mondiale avec la mise au point des marqueurs d'ADN permettant de caractériser la variabilité au niveau du génome mitochondrial des espèces du genre *Picea*, permettant une étude beaucoup plus fine de la structure géographique de leur diversité intraspécifique neutre (JARAMILLO-CORREA *et al.* 2002).

Génomique fonctionnelle

Le but de la génomique fonctionnelle est de caractériser simultanément les profils d'expression de centaines, voire de milliers de gènes. Cette approche peut se concrétiser au niveau de l'étude du transcriptome, c'est-à-dire les ARN messagers, ou au niveau de l'étude du protéome, soit l'ensemble des protéines. Grâce à la génomique fonctionnelle, il est possible de recueillir de l'information sur l'activation de gènes dans divers tissus de l'individu à diverses époques de sa vie ou lorsque celui-ci est soumis à des conditions de stress. Ainsi, des notions fondamentales sur les réseaux d'activation et de régulation des gènes peuvent être recueillies, tout comme sur l'interaction existant entre ces gènes. La recherche en génomique fonctionnelle est très coûteuse car elle nécessite l'accès à des technologies à grands débits, telles les puces à ADN (*DNA chips*) ou micromatrices (*micro-arrays*) et à des techniques de pointe comme les mutations de gènes cibles, par exemple. Elle s'avère cependant essentielle pour faire le pont entre la génomique structurale et comparative, qui nous donne accès à la connaissance de l'organisation des gènes au moyen du séquençage partiel ou total du génome, et la réponse de l'individu face à son environnement, soit le phénotype.

Il y a actuellement des projets de génomique fonctionnelle des arbres forestiers en cours dans la plupart des pays grands producteurs de bois. En 2002, Génome Canada, de concert avec Génome Québec, a financé, à raison de quelque 8 M\$, un projet de 3 ans portant sur la génomique fonctionnelle de la régulation chez les arbres forestiers. Ce projet est réalisé par des chercheurs de l'Université Laval en collaboration avec des scientifiques de Ressources naturelles Canada (Centre de foresterie des Laurentides) et de l'Université Carleton. Il porte sur des gènes associés à la formation du bois et au maintien de la santé des arbres. Deux essences sont privilégiées, soit le peuplier et l'épinette blanche. Le projet vise, entre autres, à améliorer et à accélérer la découverte de gènes candidats à effets majeurs chez les arbres. Pour ce faire, des études de perte et d'activation de fonctions de gènes de régulation seront réalisées et des profils de transcription sur micromatrices seront développés. Il s'appuiera également sur les connaissances actuelles du génome d'*Arabidopsis thaliana*, première plante dont le génome a été entièrement séquencé.

Comme c'est le cas pour la génomique structurale et comparative, l'enjeu majeur de la génomique fonctionnelle sera de convertir les connaissances acquises en outils abordables pour assister les améliorateurs dans leurs efforts de sélection. Nul doute qu'avec le développement de la technologie, les coûts seront réduits considérablement. Toutefois,

il faudra s'assurer de faire adéquatement le pont entre le fondamental et l'appliqué en formant le personnel hautement qualifié nécessaire et possédant une vision globale de l'arbre dans son environnement forestier.

Le génie génétique et l'amélioration génétique

Un deuxième grand groupe de biotechnologies qui a connu un développement fulgurant au cours des dernières années est celui de la transgénèse, ou encore du génie génétique, donnant lieu aux organismes génétiquement modifiés (OGM). Avant d'examiner les conséquences de ces approches, nous devons les distinguer des approches plus traditionnelles de sélection génétique.

L'amélioration génétique classique vise le développement de variétés possédant des caractères d'intérêt par le croisement d'individus dits supérieurs au niveau de ces caractères. En réalisant ces croisements dirigés, tout le génome de l'individu mâle et de l'individu femelle est brassé, tout comme le fait, depuis des millions d'années, la reproduction sexuée naturelle. Ceci donne naissance à un ensemble de descendants tous différents les uns des autres en ce qui a trait à l'arrangement de leur génome. De plus, il n'est pas exclu que, consécutivement à ce brassage, certains descendants ne possèdent pas les caractéristiques recherchées en raison d'effets non additifs des gènes impliqués.

La transgénèse permet, quant à elle, de générer chez une espèce des individus possédant des caractères nouveaux par l'introduction, dans leur génome, d'une construction génique étrangère, et ce, sans bouleverser, en théorie, l'architecture globale du génome de l'individu. Elle permet de surmonter la barrière génétique entre espèces éloignées en raison de l'universalité du code génétique. La transformation génétique se fait donc au niveau cellulaire et doit ainsi faire appel aux techniques de culture *in vitro* (pour permettre de régénérer un individu complet à partir de la cellule transformée).

La production de plantes génétiquement transformées ou modifiées remonte à la fin des années 70 (CHILTON *et al.* 1977), mais ce n'est qu'au début des années 90 que les premiers conifères issus de transgénèse ont été rapportés, tout d'abord par bombardement de microprojectiles (ELLIS *et al.* 1993, LI *et al.* 1994) et, plus tard, par transfection à l'aide de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* (SÉGUIN 1999, LE *et al.* 2001, PEÑA et SÉGUIN 2001). Les principales applications de la transgénèse aux arbres forestiers visent la modification de la lignine, la résistance aux insectes et aux pathogènes, la résistance aux phytocides et le décodage des gènes. La lignine représente, selon l'essence, de 15 à 35 % du poids sec

des arbres. Son extraction lors de la fabrication des pâtes et papier est coûteuse. De plus, elle représente une source de pollution non négligeable. Les voies biochimiques de la synthèse de la lignine ont fait l'objet de nombreuses études (MERKLE et DEAN 2000) et il est aujourd'hui possible de produire, par transgénèse, des arbres dont les propriétés de la lignine sont altérées. Deux voies sont empruntées par les chercheurs dans ce domaine, soit la réduction pure et simple du contenu en lignine ou encore la modification de sa structure de façon à faciliter son extraction. Malgré ces avancées importantes, deux questions demeurent. En effet, nous ne connaissons pas quelle serait la valeur économique véritable de plantations réalisées avec de tels arbres de même que si ces arbres seraient plus sensibles aux stress environnementaux (YANCHUK 2001).

La transformation génétique peut également être utilisée pour améliorer la résistance aux insectes et aux maladies chez les arbres forestiers (JOUANIN *et al.* 1998, PEÑA et SÉGUIN 2001). C'est au Québec, au Centre de foresterie des Laurentides de Ressources naturelles Canada, qu'ont été obtenus les premiers conifères incorporant dans leur génome le gène codant pour la toxine de *Bacillus thuringiensis*, une bactérie bien connue sous le nom de *B.t.* Les essais de toxicité, auxquels ont été soumises les épinettes blanches génétiquement modifiées à l'aide de tordeuses des bourgeons de l'épinette, ont bien démontré leur résistance à l'insecte (PEÑA et SÉGUIN 2001). Des pins blancs ont également été transformés pour induire une résistance aux maladies en insérant dans leur génome un gène codant pour des peptides antimicrobiens (SÉGUIN 1999).

Des tests dits en conditions confinées ont été établis au Québec sur des peupliers hybrides dans lesquels un gène rapporteur a été inséré, et sur des épinettes blanches transformées avec le gène codant pour la toxine du *B.t.* (HAY *et al.* 2002). Chaque dispositif comprend moins de 200 arbres et leur mise en place a été régie par une directive stricte de l'Agence canadienne d'inspection des aliments. Les peupliers ont maintenant 6 ans alors que les épinettes blanches sont âgées de 2 ans. Jusqu'à ce jour, aucune anomalie n'a été détectée dans le développement de ces arbres et aucune n'est anticipée. Ces tests en conditions confinées sont menés pour permettre de réaliser des études d'impact potentiel sur l'environnement et pour obtenir les informations de nature biologique nécessaire à l'acceptation d'une utilisation à grande échelle.

Un des enjeux auxquels les améliorateurs devront faire face si un jour les arbres génétiquement modifiés devaient être utilisés à grande échelle, c'est la possibilité de croisement entre ces arbres et d'autres de la même espèce ou d'une autre espèce compatible vivant en forêt naturelle. Il est probable que,

même pour un gène ne conférant aucun avantage aux populations sauvages, comme celui de la résistance à un phytocide, le public accepte difficilement une telle éventualité. C'est pourquoi il faudra envisager d'induire une stérilité complète chez ces arbres transgéniques. Ceci aurait également l'avantage d'orienter les produits de la photosynthèse, autrement dirigés vers les structures florales, vers la production de bois. Même si on en arrivait à une telle situation, il n'est pas sûr que ce type d'arbre soit acceptable pour tous. En effet, selon ses directives actuelles, le *Forest Stewardship Council* (FSC 1999) bannit toute utilisation d'arbres transgéniques sur les territoires qu'il certifie. Compte tenu de la structure décisionnelle de cet organisme, il pourrait être difficile de faire changer cet état de fait.

Il reste donc encore beaucoup de travaux de recherche et de testage sur le terrain avant que des arbres transgéniques soient utilisés à grande échelle au Québec. Toutefois, des progrès énormes peuvent être réalisés dans l'espace d'un quart de siècle et la transgénèse offre certainement un potentiel intéressant pour améliorer les essences forestières. En attendant, le déploiement d'arbres transgéniques acceptable à la population, la transgénèse s'avère un outil expérimental puissant pour caractériser l'expression de gènes particuliers en les désactivant, ou encore en les surexprimant par l'intégration de multiples copies des mêmes gènes dans le génome de l'arbre.

La foresterie clonale

Le terme foresterie clonale peut couvrir une large gamme d'activités selon qu'on lui confère une définition plus ou moins restrictive. Ainsi, LIBBY et AHUJA (1993) considèrent la foresterie clonale comme étant celle que l'on réalise uniquement à l'aide de clones testés. D'autres auteurs, comme PARK *et al.* (1998), en font une définition plus large en incluant tout type de matériel reproduit par voie végétative, que les donneurs aient ou non été testés. Dans le cadre de cette présentation, nous considérons la foresterie clonale dans son sens le plus large.

Dans un contexte où l'on tient compte du zonage des territoires et où l'on poursuit la recherche d'un rendement accru sur une superficie de territoire réduite, le recours à la foresterie clonale confère certains avantages importants tels que :

- 1- la possibilité d'augmenter les gains génétiques en tirant profit non seulement de la variance de nature additive entre les arbres, mais également de la variance non additive;
- 2- une plus grande flexibilité au niveau d'une introduction rapide de clones susceptibles de permettre de réaliser des buts nouveaux;

- 3- la capacité de contrôler la diversité génétique par une stratégie de déploiement des clones appropriée (PARK *et al.* 1998).

Le Québec est actuellement bien placé pour pouvoir accentuer ses efforts en foresterie clonale dans le but de hausser le rendement des plantations. En effet, plusieurs essences faisant l'objet d'un programme d'amélioration répondent positivement à diverses techniques de multiplication végétative. Ainsi, en raison de leur forte capacité à drageonner, les peupliers ont été les premiers à profiter d'un programme de foresterie clonale. La populiculture semble actuellement vouloir prendre un essor marqué grâce aux rendements élevés obtenus pour les clones développés et recommandés par le Service de l'amélioration du MRN (PÉRINET 1999).

Le recours à la foresterie clonale est aussi possible pour les conifères à une assez grande échelle grâce aux travaux de R-D réalisés au Centre de bouturage de la pépinière de Saint-Modeste (TOUSIGNANT *et al.* 1996). Depuis plusieurs années, des efforts de recherche ont été déployés pour mettre au point une nouvelle technique de propagation végétative nommée embryogenèse somatique. De fait, les premiers succès obtenus chez les conifères sont assez récents (TREMBLAY 1990, ATTREE et FOWKE 1993). Les progrès ont toutefois été très rapides et il existe maintenant des protocoles d'embryogenèse somatique et de cryoconservation pour plusieurs des conifères faisant l'objet d'un programme d'amélioration génétique au Québec (TREMBLAY 1990; TREMBLAY et TREMBLAY 1991a, b; KLIMASZEWSKA *et al.* 1997, 2001; BOMAL et TREMBLAY 2000). L'avantage indéniable de l'embryogenèse somatique par rapport au bouturage, c'est qu'elle rend possible la cryoconservation de tissu. Ainsi, il est possible de tester au champ les divers clones développés et de remettre en culture uniquement le tissu des clones les plus performants, dès qu'ils ont été identifiés. Le bouturage n'offre pas cette flexibilité. De plus, après un certain nombre d'années, en raison de la maturation des tissus, les plants donneurs ne répondent plus au bouturage. Le travail d'identification des meilleurs clones est donc à recommencer. L'embryogenèse somatique comporte également certaines limitations dont celle de ne pas s'appliquer au matériel physiologiquement mature et celle d'être encore coûteuse dans le cas où de multiples lignées supérieures doivent être produites, sans pouvoir amortir les coûts de démarrage sur une production à grande échelle de semis clonaux. L'encapsulation des jeunes embryons somatiques et l'uniformisation de leur qualité physiologique demeurent également des défis. Les défis, une fois relevés, pourront faciliter le déploiement à grande échelle de cette technique.

Au Québec, nous possédons actuellement toutes les infrastructures et l'expertise nécessaires à l'expansion de la foresterie clonale pour les conifères. L'enjeu principal demeure, quant à nous, la mise sur pied d'une unité de production d'embryogenèse somatique permettant de générer un grand nombre de clones en vue d'établir des tests clonaux. Ce n'est que quelques années après que ces tests clonaux auront été mis en place que nous pourrions estimer précisément les gains génétiques supplémentaires découlant de cette stratégie. Pendant que nous jugeons la valeur d'une telle approche, d'autres acteurs, comme la compagnie J.D. Irving du Nouveau-Brunswick, développent et mettent en terre, à chaque année, en suivant cette même stratégie, quelque 250 clones par espèce chez l'épinette noire et l'épinette blanche, dont ils pourront bientôt tirer profit par sélection clonale (ADAMS 2000).

La sélection visant les produits finis de qualité ou à valeur ajoutée

Au Québec, comme ailleurs dans le monde, les programmes d'amélioration ont essentiellement visé l'augmentation du rendement dans le passé. En effet, les critères de sélection habituels étaient la croissance en hauteur, la rectitude du tronc, la taille de la cime, la résistance aux insectes et aux maladies et l'adaptation générale au milieu. Les critères de qualité du bois étaient considérés secondaires par rapport aux autres (ZOBEL 1997). Il devient toutefois de plus en plus évident que cette stratégie de recherche de croissance maximale peut se faire au dépend de la qualité des produits obtenus. Également, il apparaît de plus en plus pertinent, avec la maturation des programmes d'amélioration génétique, d'aborder la faisabilité de programmes de sélection génétique pour des caractères de qualité du bois directement liés aux différents processus de transformation de la matière première ayant cours dans l'industrie forestière. Un des enjeux majeurs auxquels nous aurons à faire face sera donc l'intégration de critères de sélection visant la qualité des produits dans les programmes d'amélioration. Dès que les tests de descendance ou clonaux mis en place seront suffisamment âgés, il faudra accorder une très haute priorité aux études portant sur l'évaluation des paramètres génétiques des caractéristiques du bois. Nous savons déjà que la densité du bois est sous fort contrôle génétique chez l'épinette blanche, par exemple, au Québec, et que ce critère est déjà intégré dans le processus de sélection des individus supérieurs. Nous connaissons beaucoup moins bien la génétique d'autres caractères comme l'angle des microfibrilles du bois, les propriétés des fibres, la réponse au séchage, etc. Certaines études sont actuellement en cours pour quelques essences, comme la réponse au séchage de l'épinette blanche (BEAULIEU *et al.* 2002), par exemple, et les caractéristiques du bois des clones de peupliers hybrides

(ZHANG et MCKAY, Ligniculture Québec en partenariat avec Forintek Canada, communication personnelle). Elles devront toutefois être nettement accentuées au cours des prochaines années si nous voulons maintenir la compétitivité de notre industrie forestière. Les avancées en génomique fonctionnelle pourraient également nous permettre, d'ici quelques décennies, de mieux cibler nos interventions sylvicoles pour obtenir les produits recherchés.

À moyen terme, parce que le Québec est affecté par un climat tempéré froid, il ne peut de toute manière penser pouvoir entrer en compétition avec des pays comme la Nouvelle-Zélande, le Brésil ou le Chili au chapitre du volume de bois produit à l'hectare par unité de temps. Dans l'avenir, il devra tirer profit de niches spécifiques avec des produits à haute valeur ajoutée. Des caractéristiques telles l'uniformité de la croissance radiale, la couleur du bois ou une densité du bois peu variable pourraient devenir très importantes. Cette vision exige également la mise en place de stratégies industrielles visant la diversification vers des produits à plus forte valeur ajoutée. Les améliorateurs devront donc demeurer très attentifs aux besoins de l'industrie et le recours à la foresterie clonale pourrait devenir essentiel pour développer rapidement les variétés exigées.

Les changements climatiques et les sources améliorées

Depuis quelques années, nous sommes témoins de discussions animées tant sur le plan au niveau canadien que mondial sur la nécessité de réduire nos émissions de gaz à effet de serre. Plusieurs indices indiquent que des changements majeurs sont en cours, qu'ils soient de nature anthropique ou naturelle (NOREN *et al.* 2002, WALTHER *et al.* 2002). On peut donc s'interroger sur la capacité des variétés améliorées, qui ont été développées à partir de sélections faites dans les conditions environnementales actuelles, à bien performer dans ces nouvelles conditions, et ce, malgré la présence d'une grande diversité génétique permettant une adaptation à des changements environnementaux. Une autre façon de poser la question serait : « Compte tenu que les conditions climatiques auxquelles seront soumises les variétés améliorées ne seront pas les mêmes que celles que nous observons actuellement, avons-nous sélectionné les bons individus et développé les bonnes variétés pour le futur? » Si les périodes de chaleur intense et de sécheresse que nous avons connues au cours des dernières saisons estivales devaient se répéter et s'accroître, les rendements attendus pourraient ne pas se concrétiser. Nous pourrions alors faire face à un problème d'approvisionnement en fibre et de maintien de la compétitivité de notre industrie forestière. Il nous apparaît important de nous assurer, dès à présent, de la capacité des variétés

améliorées à bien performer dans les conditions où elles se trouveront. Bien sûr, il est difficile de prédire précisément ces conditions futures. Il est toutefois possible de soumettre les variétés améliorées à un ensemble de conditions extrêmes pour connaître leur amplitude écologique et leur capacité à faire face à des stress intenses tout en offrant une performance acceptable. Peu d'études de cette nature sont, à notre connaissance, actuellement en cours. Une plus grande priorité devrait leur être accordée. Les recherches menées en génomique fonctionnelle pourraient également nous aider à mieux comprendre la réponse aux stress des essences forestières sur le plan de l'activation et de la régulation de certains gènes et aider à identifier les individus les plus susceptibles de survivre et de bien performer dans des conditions climatiques nouvelles.

CONCLUSION

Dans les quelques pages qui précèdent, nous avons fait un survol des enjeux de recherche en amélioration génétique que nous considérons prioritaires pour les prochaines décennies. Dans un premier temps, nous avons voulu démontrer que lorsque nous nous étions fixés des objectifs, nous avons été capables de les accomplir. En effet, nous avons réalisé, au cours du dernier quart de siècle, des progrès importants. Nous avons su nous donner des outils nous permettant de réussir nos programmes de reboisement. De plus, nous avons maintenant, et ce, pour plusieurs essences, des variétés améliorées qui nous permettront de hausser les rendements à l'hectare à court terme. En même temps qu'il est confronté à de nombreux défis liés à l'approvisionnement en fibre et à l'incertitude face aux changements climatiques, le Québec est actuellement à l'aube d'une véritable révolution en génétique forestière. Ses chercheurs sont fortement impliqués dans le développement de la génomique structurelle et fonctionnelle. Il en est de même pour les domaines du génie génétique et de la culture *in vitro*. Nul doute que nos découvertes en génomique et biotechnologie guideront nos actions dans le développement de produits à valeur ajoutée et de variétés capables de répondre positivement aux changements climatiques. Nous possédons les compétences nécessaires et n'avons rien à envier aux autres. Il n'en tient qu'à nous de nous fixer des objectifs ambitieux et à nos dirigeants de nous fournir les moyens de les réaliser. Ni l'expertise, ni les idées ne font défaut.

RÉFÉRENCES

- ADAMS, G.W., 2000. *Amélioration des arbres : le point de vue de l'industrie sur les défis et les possibilités*. Dans L'amélioration génétique en foresterie : où en sommes-nous? Rivière-du-Loup, 28 au 30 septembre 1999. Ministère des Ressources naturelles du Québec, Ressources naturelles Canada, Conseil de la recherche forestière du Québec. p. 35-44.
- ATTREE, S.M. and L.C. FOWKE, 1993. *Embryogeny of gymnosperms : advances in synthetic seed technology of conifers*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 35 : 1-35.
- BEAULIEU, J., 2001. *Research activities on the genetics of indigenous spruces in Québec*. In Genetic Resource Management : Building Strategies for the New Millennium. Proceedings of the 27th Meeting of the Canadian Tree Improvement Association. Sault Ste. Marie, Ontario, August 15-17, 2000. J.D. SIMPSON (Ed.).
- BEAULIEU, J., A. CORRIVEAU et G. DAOUST, 1989. *Stabilité phénotypique et délimitation de zones d'amélioration de l'épinette noire au Québec*. Forêts Canada, Région du Québec. Rapp. Inf. LAU-X-85.
- BEAULIEU, J., B. GIRARD and Y. FORTIN, 2002. *Effect of drying treatments on warping of 36-year-old white spruce seed sources tested in a provenance trial*. Ann. For. Sci. 59 : 503-509.
- BOMAL, C. and F.M. TREMBLAY, 2000. *Dried cryopreserved somatic embryos of two Picea species provide suitable material for direct plantlet regeneration and germplasm storage*. Ann. Bot. 86 : 177-183.
- CHILTON, M.D., M.H. DRUMMOND, D.J.S. MERLO, A.L. MONTOYA, M.P. GORDON and E.W. NESTER, 1977. *Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells : the molecular basis of crown gall tumorigenesis*. Cell 11 : 263-271.
- CORRIVEAU, A.G. and G. VALLÉE, 1981. *Forest genetics progresses in Québec*. In Proceedings of the 27th Northeastern Forest Tree Improvement Conference, Burlington, Vermont, July 29-31, 1980. D.H. DEHAYES (Ed.). University of Vermont and U.S.D.A. Forest Service, Durham, New Hampshire. p. 16-31.

- ELLIS, D.D., D.E. McCABE, S. McINNIS, R. RAMACHANDRAN, D.R. RUSSELL, K.M. WALLACE, B.J. MARTINELL, D.R. ROBERTS, K.F. RAFFA and B.H. McCOWN, 1993. *Stable transformation of Picea glauca by particle acceleration*. *Bio/Techn.* 11 : 84-89.
- FOURNIER, D., D.J. PERRY, J. BEAULIEU, J. BOUSQUET and N. ISABEL, 2002. *Optimizing expressed sequence tag polymorphisms by single-strand conformation polymorphism in spruces*. *For. Genet.* 9 : 11-18.
- FSC, 1999. *Principles and criteria for forest stewardship*. Forest Stewardship Council (FSC). Internet document : www.fsc-uk.demon.co.uk/PrinciplesCriteria.html.
- GOSSELIN, I., Y. ZHOU, J. BOUSQUET and N. ISABEL, 2002. *Megagametophyte-derived linkage maps of white spruce (Picea glauca) based on RAPD, SCAR and ESTP markers*. *Theor. Appl. Genet.* 104 : 987-997.
- HAY, I., M.-J. MORENCY and A. SÉGUIN, 2002. *Assessing the persistence of DNA in decomposing leaves of genetically modified poplar trees*. *Can. J. For. Res.* 32 : 977-982.
- INTERNATIONAL PLANT AND ANIMAL GENOME, 2002. *Plant, Animal and Microbe Genomes X Conference*. San Diego, California, January 12-16, 2002. <http://www.intl-pag.org/10/>.
- JARAMILLO-CORREA, J.P., J. BEAULIEU and J. BOUSQUET, 2001. *Contrasting evolutionary forces driving population structure at expressed sequence tag polymorphisms, allozymes and quantitative traits in white spruce*. *Mol. Ecol.* 10 : 2729-2740.
- JARAMILLO-CORREA, J.P., J. BOUSQUET, J. BEAULIEU, N. ISABEL, M. PERRON and M. BOUILLÉ, 2002. *Cross-species amplification of mitochondrial DNA sequence-tagged-site markers in gymnosperms : the nature of polymorphism and variation within and among species in Picea*. *Theor. Appl. Genet.* (Sous presse).
- JOUANIN, L., M. BONADÉ-BOTTINO, C. GIRARD, G. MORROT and M. GIBAND, 1998. *Transgenic plants for insect resistance*. *Plant Sci.* 131 : 1-11.
- KLIMASZEWKA, K., Y. DEVANTIER, D. LACHANCE, M.A. LELU and P.J. CHAREST, 1997. *Larix laricina (tamarack) : somatic embryogenesis and genetic transformation*. *Can. J. For. Res.* 27 : 538-550.
- KLIMASZEWSKA, K., Y.S. PARK, C. OVERTON, I. MACEACHERON and J.M. BONGA, 2001. *Optimized somatic embryogenesis in Pinus strobus L. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 37 : 392-399.
- LAMONTAGNE, Y., 1993. *L'implantation du réseau de vergers à graines de première génération pour les espèces résineuses au Québec. Bilan des réalisations*. Ministère des Forêts, Direction de la recherche. Note de recherche forestière n° 53. 6 p.
- LE, V.Q., J. BELLES-ÎLES, M. DUSABENYAGASANI and F.M. TREMBLAY, 2001. *An improved procedure for production of white spruce (Picea glauca) transgenic plants using Agrobacterium tumefaciens*. *J. Exp. Bot.* 52 : 2089-2095.
- LI, P., J. BEAULIEU and J. BOUSQUET, 1997. *Genetic structure and patterns of genetic variation among populations in eastern white spruce (Picea glauca)*. *Can. J. For. Res.* 27 : 189-198.
- LI, Y.-H., F.M. TREMBLAY and A. SÉGUIN, 1994. *Transient transformation of pollen and embryogenic tissues of white spruce (Picea glauca (Moench.) Voss) resulting from microprojectile bombardment*. *Plant Cell Rep.* 13 : 661-665.
- LIBBY, W.J. and M.R. AHUJA, 1993. *Micropropagation and clonal options in forestry*. In *Micropropagation of woody plants*. M.R. AHUJA (Ed.). Kluwer Academic Publisher, Dordrecht. p. 425-442.
- MACKAY, J., A. SÉGUIN, S. REGAN, J. BOUSQUET, L. BERNIER and D. KHASA, 2001. *Functional Genomics of Regulation in Forest Trees*. Application form. Large-scale projects. Génome Canada/Génome Québec.
- MASSE, L., 2000. *La production de matériel amélioré génétiquement. Les vergers à graines (voie sexuée)*. Dans *L'amélioration génétique en foresterie : où en sommes-nous?* Rivière-du-Loup, 28 au 30 septembre 1999. Ministère des Ressources naturelles du Québec, Ressources naturelles Canada, Conseil de la recherche forestière du Québec. p. 117-123.
- MERKLE, S.A. and J.F. DEAN, 2000. *Forest tree biotechnology*. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11 : 298-302.
- NOREN, A.J., P.R. BIERMAN, E.J. STEIG, A. LINI and J. SOUTHON, 2002. *Millennial-scale storminess variability in the northeastern United States during the Holocen epoch*. *Nature* 419 : 821-824.

- PARK, Y.S., J.M. BONGA and T.J. MULLIN, 1998. *Clonal forestry*. In Forest Genetics and tree breeding. A.K. MANDAL and G.L. GIBSON (Eds). GBS Publishers & Distributors, New Delhi. p. 143-167.
- PEÑA, L. and A. SÉGUIN, 2001. *Recent advances in genetic transformation of trees*. Trends Biotechnol. 19 : 500-506.
- PÉRINET, P., 1999. *Amélioration génétique : principes, applications et bilan. Partie 2 – Les résultats du programme d'amélioration du peuplier au Québec et la culture intensive des essences à croissance rapide*. Dans Le reboisement, un outil pour augmenter la productivité forestière? Ordre des ingénieurs forestiers du Québec, Sainte-Foy, Québec, 9 et 10 juin 1999. 3 p.
- PÉRINET, P., 2000. *Les programmes d'amélioration génétique : bilan des réalisations. Les peupliers*. Dans L'amélioration génétique en foresterie : où en sommes-nous? Rivière-du-Loup, 28 au 30 septembre 1999. Ministère des Ressources naturelles du Québec, Ressources naturelles Canada, Conseil de la recherche forestière du Québec. p. 107-115.
- PERRON, M., D.J. PERRY, C. ANDALO and J. BOUSQUET, 2000. *Evidence from sequence-tagged-site markers of a recent progenitor-derivative species pair in conifers*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97 : 11331-11336.
- PERRY, D.J. and J. BOUSQUET, 1998a. *Sequence-tagged-site (STS) markers of arbitrary genes: development, characterization and analysis of linkage in black spruce*. Genetics 149 : 1089-1098.
- PERRY, D.J. and J. BOUSQUET, 1998b. *Sequence-tagged-site (STS) markers of arbitrary genes: the utility of black spruce-derived STS primers in other conifers*. Theor. Appl. Genet. 97 : 735-743.
- PERRY, D.J. and J. BOUSQUET, 2001. *Genetic diversity and mating system of post-fire and post-harvest black spruce: an investigation using codominant sequence-tagged-site (STS) markers*. Can. J. For. Res. 31 : 32-40.
- SÉGUIN, A., 1999. *Transgenic trees resistant to microbial pests*. For. Chron. 75 : 303-304.
- THIBAUT, M. et D. HOTTE, 1985. *Les régions écologiques du Québec méridional (deuxième approximation)*. Ministère de l'Énergie et des Ressources du Québec, Service de la recherche. Carte 1/1 250 000.
- TOUSIGNANT, D., 2000. *La production de matériel amélioré génétiquement. Techniques de multiplication par la voie clonale (voie asexuée)*. Dans L'amélioration génétique en foresterie : où en sommes-nous? Rivière-du-Loup, 28 au 30 septembre 1999. Ministère des Ressources naturelles du Québec, Ressources naturelles Canada, Conseil de la recherche forestière du Québec. p. 133-141.
- TOUSIGNANT, D., P. PÉRINET et M. RIOUX, 1996. *Le bouturage de l'épinette noire à la pépinière de Saint-Modeste*. Gouvernement du Québec, ministère des Ressources naturelles, Service de l'amélioration des arbres. Rapp. RN96-3004. 33 p.
- TREMBLAY, F.M., 1990. *Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from embryos isolated from stored seeds of Picea glauca*. Can. J. Bot. 68 : 236-242.
- TREMBLAY, L. and F.M. TREMBLAY, 1991a. *Carbohydrate requirements for the development of black spruce (Picea mariana (Mill.) B.S.P.) and red spruce (P. rubens Sarg.) somatic embryos*. Plant Cell Tissue Organ Cult. 27 : 95-103.
- TREMBLAY, L. and F.M. TREMBLAY, 1991b. *Effects of gelling agents, ammonium nitrate, and light on the development of Picea mariana (Mill.) B.S.P. (black spruce) and Picea rubens Sarg. (red spruce) somatic embryos*. Plant Sci. 77 : 233-242.
- U.S. DEPARTMENT OF ENERGY OFFICE OF BIOLOGICAL AND ENVIRONMENT RESEARCH, 2002. *JGI completes draft pufferfish genome, begins poplar sequencing*. Human Genome News 12(1-2) : 3-4.
- VALLÉE, G., 1969. *Suggestion d'un programme général pour l'amélioration des arbres forestiers au Québec*. Ministère des Terres et Forêts, Service de la recherche. Rapport interne.
- VALLÉE, G., 1975. *L'amélioration des arbres forestiers au ministère des Terres et Forêts du Québec*. For. Chron. 51(6) : 236-239.
- VALLÉE, G. et R. NOREAU, 1990. *La « Bouturathèque » : système de bouturage compact hors serre*. Ministère de l'Énergie et des Ressources, Direction de la recherche (Forêts). Note de recherche forestière n° 41. 6 p.
- WALTHER, G.-R., E. POST, P. CONVEY, A. MENZEL, C. PARMESAN, T.J.C. BEEBEE, J.-M. FROMENTIN, O. HOEGH-GULDBERG and F. BAIRLEIN, 2002. *Ecological responses to recent climate change*. Nature 416 : 389-395.

YANCHUK, A., 2001. *The role and implications of biotechnological tools in forestry*. Unasyva 52 : 53-59.

ZOBEL, B.J., 1997. *Genetics of wood – an overview*. In Timber management toward wood quality and end-product value. CTIA/IUFRO International Wood Quality Workshop. Quebec City, Canada, August 18-22, 1997. S.Y. ZHANG, R. GOSSELIN et G. CHAURET (Eds). p. IV-3 – IV-9.