

Amélioration génétique de la teneur en sucre de la sève des érables à sucre (*Acer saccharum* Marsh.) par sélection assistée par marqueurs.

Alice Roy, Éric Forget et J. Bousquet

Centre de recherche en biologie forestière, Pavillon Charles-Eugène-Marchand, Université Laval, Sainte-Foy, Québec, Canada G1K 7P4

Résumé

Les érables à sucre (*Acer saccharum* Marsh.) d'un même peuplement affichent une forte variation quant à la teneur en sucre de leur sève. Ces différences sont dues à des facteurs environnementaux et à des facteurs génétiques propres à chaque arbre. Dans un premier temps, ce projet de recherche visait à identifier les sources de variation temporelle de la teneur en sucre de la sève d'érables à sucre. Pour ce faire, la teneur en sucre de la sève de 694 arbres d'une plantation mature a été mesurée à trois reprises pour chacune de deux saisons de production. L'analyse de la variation temporelle de la teneur en sucre a révélé que la variation inter-annuelle était plus importante que la variation inter-journalière au sein d'une même saison des sucres, démontrant l'importance d'échantillonner sur plus d'une année afin de déterminer le rang des arbres au sein d'une population donnée et ce, en vue d'une sélection massale pour ce caractère. La variation intra-journalière était, quant à elle, non significative. Pour le second volet du projet, des empreintes génétiques ont été obtenues pour différents groupes d'arbres de façon à identifier des marqueurs d'ADN dont la présence a une relation significative avec la variabilité de la teneur en sucre de la sève. La valeur indicatrice de ces marqueurs a été validée sur deux groupes d'arbres indépendants, l'un issu d'une plantation en Beauce et l'autre d'une plantation mature située dans la région des Bois-Francs. Les érables affichant ces marqueurs ont, en moyenne, une teneur en sucre de la sève significativement plus élevée que la moyenne globale des érables au sein de leur plantation respective. L'utilisation en tandem de ces marqueurs permet d'obtenir des gains de près de 20%. Ces marqueurs génétiques pourraient permettre la sélection d'une variété améliorée de première génération, et ce, même à un stade précoce. Ils pourraient également permettre de vérifier d'un point de vue génétique, des arbres affichant un rendement supérieur en teneur en sucre de la sève (arbres-plus), et confirmer le choix des arbres devant être employés au niveau de l'établissement d'un verger à graines d'érables à teneur en sucre améliorée.

Introduction

Il existe une grande variation de la teneur en sucre de la sève au sein d'un même peuplement chez l'érable à sucre (*Acer saccharum* Marsh.). Cette variation est due à des facteurs environnementaux ainsi qu'à des facteurs génétiques intrinsèques à chaque arbre et transmissibles héréditairement. Parmi les facteurs environnementaux déjà rapportés dans la littérature, citons les sources endogènes de variation telles que l'état physiologique de l'arbre, son âge et son développement, ou encore les sources exogènes de variation comme les facteurs de site, les stress, et les variations dues au climat (Laroche et al. 1998).

Plusieurs observations ont également permis de mettre en lumière l'implication de facteurs héréditaires, dont le maintien plus ou moins important des performances relatives des arbres année après année (Taylor 1956, Kriebel 1960), des différences clonales importantes, représentant jusqu'à 12% de la variation totale entre érables greffés (Kriebel 1989), et

l'obtention de gains de 45 à 65% de la teneur en sucre par la sélection des meilleurs croisements (Kriebel 1990).

Ce projet de recherche s'intéresse principalement aux facteurs génétiques responsables de cette variation et vise à identifier des marqueurs génétiques indicateurs de la variation en teneur en sucre de la sève. Ces marqueurs pourraient permettre ainsi de vérifier génétiquement la sélection massale d'érables à sucre à forte teneur en sucre. Cette approche de sélection assistée par marqueurs est rendue possible grâce aux progrès récents de la biologie moléculaire permettant d'obtenir des empreintes génétiques en grand nombre de façon simple et efficace. L'atteinte de cet objectif écourterait le processus traditionnel de sélection et d'amélioration génétique qui s'effectue par des tests génécologiques s'étalant sur plusieurs dizaines d'années.

Méthodologie

Évaluation de la teneur en sucre d'une érablière en plantation

L'identification de marqueurs génétiques indicatifs de la teneur en sucre de la sève nécessite d'abord un repérage précis de la teneur en sucre de la sève des arbres impliqués dans ce processus. Le choix d'une érablière mature issue de plantation permettait de réduire l'effet des variations environnementales de micro-sites, d'espacement et d'âge sur la teneur en sucre de la sève. En second lieu, plusieurs centaines d'érables devaient être disponibles afin d'identifier ceux ayant le plus d'écart par rapport à la moyenne. La première étape du projet a donc consisté à échantillonner une plantation d'érables à sucre âgée d'une soixantaine d'années, cette dernière étant située en Beauce. La sève de 694 arbres matures a été échantillonnée durant les saisons des sucres 1994 et 1995. La teneur en sucre de ces arbres a été mesurée à trois reprises à chaque année, lors de coulées différentes. Une analyse de la variation temporelle de la teneur en sucre de la sève a également été effectuée.

Stratégie de recherche des marqueurs génétiques

Dans un premier temps, nous avons procédé à la sélection des érables ayant la plus faible et la plus forte teneur en sucre parmi les 694 arbres échantillonnés dans la plantation de Beauce. La figure 1 illustre la distribution des fréquences des teneurs en sucre moyennes des érables échantillonnés au cours des deux saisons de production étudiées. Nous avons sélectionné, dans chacun des extrêmes de la distribution des teneurs en sucre, les arbres dont la teneur était de plus ou moins deux écarts-types à la moyenne pour les données combinées des deux saisons de production 1994 et 1995.

En dernier lieu, les empreintes potentiellement discriminantes ont été validées sur des échantillons indépendants d'érables matures de la même plantation (76 arbres) et d'une autre plantation d'une quarantaine d'années située à Warwick dans la région des Bois-Francs (152 arbres); plantation pour laquelle des valeurs moyennes individuelles de teneur en sucre de la sève ont également été obtenues à partir de trois mesures. Afin d'obtenir les empreintes génétiques de chacun des arbres de validation, l'ADN a été extrait à partir du feuillage. La moyenne des teneurs en sucre de la sève des érables présentant les marqueurs diagnostiques fut estimée pour fins de calcul de gains découlant de la sélection.

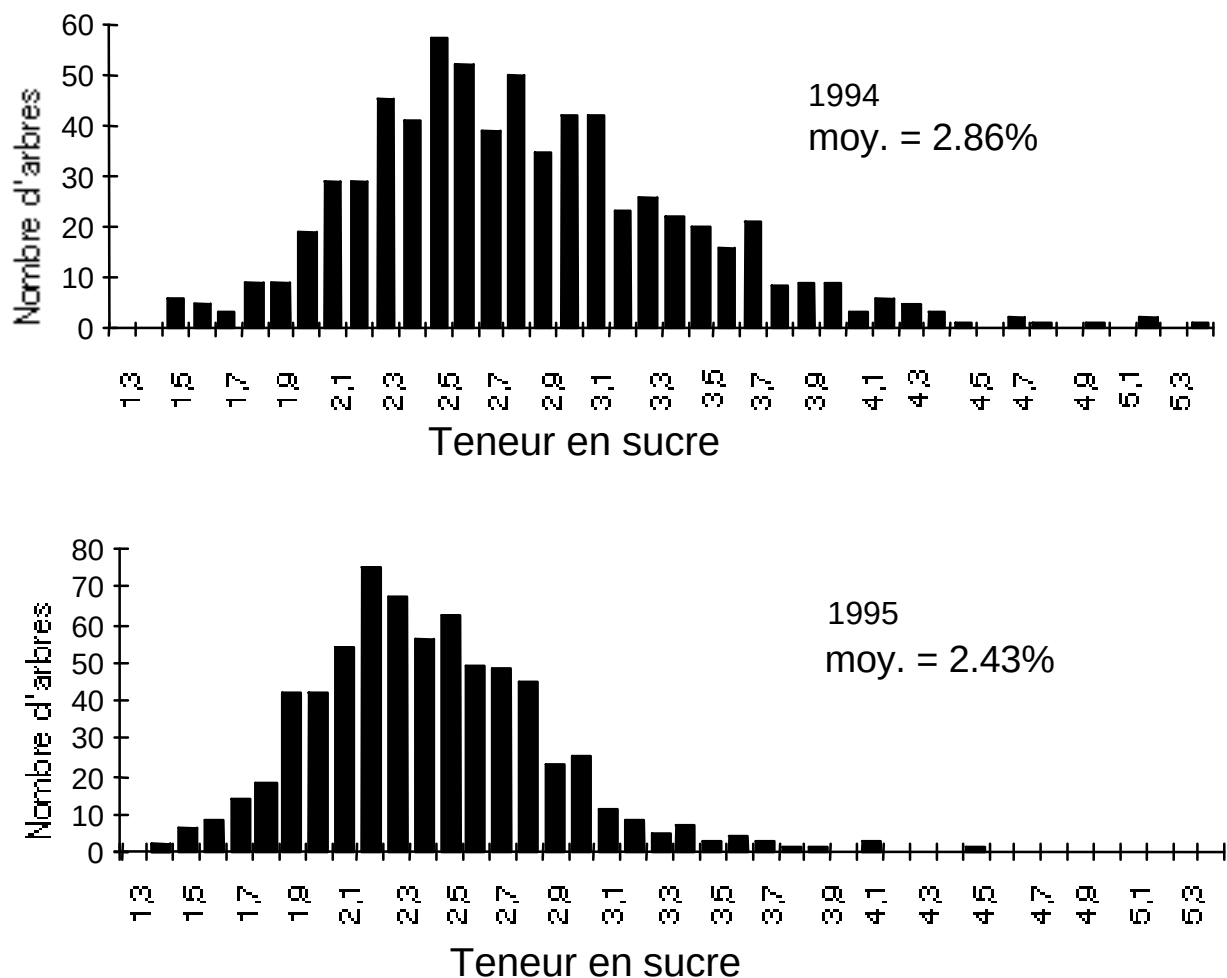


Figure 1 : Fréquences des teneurs en sucre moyennes dans la plantation de la Beauce.

Dans un second temps, l'ADN des érables sélectionnés de chaque groupe extrême a été extrait à partir du feuillage (Bousquet *et al.* 1990). Des empreintes génétiques ont été générées pour chacun des groupes extrêmes et ont été comparées. Un marqueur dont la fréquence était significativement différente entre les érables à faible et à forte teneur en sucre indiquait un pouvoir potentiellement discriminant entre les deux groupes.

Résultats et discussion

Variation temporelle de la teneur en sucre

L'analyse de la variation temporelle de la teneur en sucre a révélé que la variation inter-annuelle était plus importante que la variation inter-journalière au sein d'une même saison des sucres, démontrant l'importance d'échantillonner sur plus d'une année pour déterminer le rang des arbres au sein d'une population donnée et ce, en vue d'une sélection massale pour ce

caractère. La variation intra-journalière était, quant à elle, non significative. Il n'y avait pas de relation significative entre la teneur en sucre et le diamètre des arbres. Les corrélations de rang des arbres entre différentes journées de récolte et différentes années variaient de 0,49 à 0,68 et étaient significatives, indiquant ainsi un niveau apparemment modéré de contrôle génétique pour ce caractère. L'étude détaillée de la variation temporelle de la teneur en sucre fait l'objet d'un article publié dans la revue *Forest Ecology and Management* (Laroche *et al.*, 1998).

Identification des marqueurs génétiques

Près de 400 empreintes génétiques, comprenant chacune de 2 à 8 fragments d'ADN, ont été obtenues pour les arbres de faible et de forte teneur en sucre de façon à identifier des marqueurs génétiques ayant une relation significative avec ce caractère. La valeur indicatrice des marqueurs potentiels a été vérifiée sur des groupes d'arbres indépendants de la plantation de la Beauce et de celle de Warwick.

Quatre marqueurs statistiquement discriminants ($p \leq 0,05$) ont ainsi été validés. Les résultats de gain en teneur en sucre de la sève obtenus par l'utilisation individuelle de chacun de ces marqueurs en sélection était en deçà de 10% (Tableau 1). Cependant l'utilisation en tandem de plusieurs marqueurs a résulté en un gain relativement plus élevé (Tableau 2). Des gains appréciables peuvent donc être obtenus par l'emploi des marqueurs indicateurs d'une forte ou d'une faible teneur en sucre.

Tableau 1 : Gain obtenu par sélection à l'aide d'un seul marqueur dans l'échantillon de validation de la Beauce.

	Nombre d'arbres	Moyenne de la teneur en sucre de la sève (%)
Présence du marqueur	7	3.0
Absence du marqueur	69	2.7
Total	76	2.8
Gain (%) ¹	--	7.2

¹gain = moyenne avec le marqueur (3.0) - moyenne globale (2.8) sur la moyenne globale (2.8).

Tableau 2 : Gain obtenu par sélection à l'aide de trois marqueurs utilisés en tandem.

	Échantillon de la Beauce		Échantillon des Bois-Francis	
	# d'arbres	Ten. en sucre (%)	# d'arbres	Ten. en sucre (%)
Total	76	2.8	149	2.6
Arbres sélectionnés	6	3.3	3	3.2
Gain (%)	--	19	--	22

L'application en tandem avec un quatrième marqueur discriminant n'a pas permis d'augmenter les gains, laissant présumer un manque d'indépendance entre les marqueurs. L'utilisation combinée d'une sélection massale relativement intense pour la teneur en sucre de la sève (sujets au-delà d'un écart-type au dessus de la moyenne) suivie de l'utilisation de ces trois premiers marqueurs en analyse confirmative résulterait en des gains de l'ordre de 30% dans les échantillons de validation de la Beauce et des Bois-Francis. Les taux de rejet sont cependant importants (Tableau 3). On peut penser qu'une sélection massale plus intense d'arbres dont la performance serait à plus de deux écarts-types à la moyenne, suivie de leur vérification génétique par marqueurs, pourrait mener à des gains supérieurs à 50% de la teneur moyenne en sucre. Mais, en fonction de taux de rejet importants, plus d'une centaine d'arbres-plus de tel niveau devraient être préalablement identifiés au champ dans diverses érablières naturelles et plantations afin de retenir, après la vérification génétique, un nombre d'arbres satisfaisant pour maintenir la diversité génétique au sein de la variété améliorée ainsi sélectionnée. Cette diversité pourrait simplement être contrôlée à l'aide des dizaines d'empreintes génétiques déjà disponibles qui ne sont pas liées au caractère de la teneur en sucre de la sève.

Tableau 3 : Utilisation confirmative de la présence de trois marqueurs en sélection massale.

Échantillon	Avant confirmation			Après confirmation génétique			
	# d'arbres	Teneur en sucre (%)	Gain (%)	# d'arbres	Teneur en sucre (%)	Gain (%)	Taux de Rejet (%)
Beauce (moy.=2.8%)							
Sélections > moy + σ^1	12	3.7	32	3	3.8	36	75
Bois-Francis (moy.=2.6%)							
Sélections > moy + σ^1	25	3.3	27	2	3.4	31	92

¹Les arbres sélectionnés affichaient une teneur en sucre de leur sève d'au moins un écart-type au-dessus de la moyenne.

Implications économiques

À partir des données fournies dans Érablière-Budget du Comité de références économiques en agriculture du Québec, le tableau 4 montre des exemples de gains en productivité résultant d'une amélioration de la teneur en sucre de la sève, par sélection massale assistée de marqueurs. Dans ces exemples, on suppose une production moyenne de 2,5 livres de sirop/entaille et trois échelles de production. Pour chaque gain de 20% de la teneur en sucre de la sève, on aura approximativement les bénéfices annuels indiqués pour chaque échelle de production. Pour des gains potentiels atteignant 40% et plus (voir ci-bas), les bénéfices annuels seraient doublés.

Tableau 4 : Exemples de gains en productivité découlant d'une amélioration de la teneur en sucre de la sève de 20%.

Échelle de production annuelle	3 000 entailles	10 000 entailles	30 000 entailles
Augmentation en volume de sirop (gallons (livres))	120 (1 584)	400 (5 280)	1 200 (15 840)
Augmentation des revenus (\$)	2 326	8 736	25 264
Augmentations des coûts variables (\$)	508	1 558	4 676
Bénéfices annuels (\$)	1 818	7 178	20 588

L'augmentation des revenus tient compte de la vente au détail et de la vente en vrac, dont la proportion varie selon l'échelle de production (3 000 entailles: 20% au détail et 80% en vrac, 10 000 entailles: 10% au détail et 90% en vrac, 30 000 entailles: 100% en vrac). Elle tient compte également des différentes qualités de sirop produit et de leur prix respectif tel qu'indiqué dans les documents de référence. On peut aussi penser que chaque gain de teneur en sucre de la sève peut être converti en un nombre d'entailles réduit proportionnellement, permettant une même production à l'hectare; ou encore, la présence d'un moins grand nombre d'érables de taille commerciale et d'une plus grande diversité de structure et de composition de peuplement, si les objectifs de remplacement naturel de l'érablière et de biodiversité entrent en ligne de compte.

Élaboration d'une variété améliorée

Les marqueurs génétiques qui ont été développés pourraient servir à l'élaboration d'une variété améliorée en teneur en sucre (Figure 2). La sélection d'une variété améliorée pourrait se faire dans un premier temps sur la base d'une validation d'arbres-plus à l'aide de marqueurs génétiques. À ce propos, les meilleurs arbres des plantations que nous avons évaluées et également les meilleurs arbres de producteurs privés ou de pépinières gouvernementales pourraient être échantillonnés (de même que des érables de sites voisins comparables) pour évaluer leur teneur en sucre, leur supériorité et vérifier la présence des marqueurs diagnostiques. Nous estimons le taux de rejet à 75% et plus sur la base des résultats de vérification génétique obtenus dans le cadre de ce projet (Tableau 3). En conséquence, pour élaborer une variété améliorée composée de plusieurs dizaines d'arbres, plus d'une centaine

d'arbres-plus candidats devraient être répertoriés. Les arbres supérieurs vérifiés génétiquement devraient être greffés en vue de l'établissement d'un parc de croisements ou d'un verger à graines, à partir duquel les semences améliorées seraient acheminées pour la production de plants ou de boutures dépendamment de la quantité de semences disponibles et du succès à l'enracinement découlant de la procédure de bouturage utilisée. Un tel scénario ramènerait le délais d'attente de plants d'érable à sucre améliorés en deçà de dix ans comparativement à 25 ou 30 ans selon les stratégies plus classiques impliquant l'établissement de tests génécologiques au champ (Kriebel 1989, 1990).

Remerciements

Nous remercions S. Jeandroz, F. Larochelle et M. Perron (CRBF), de même que P. Lortie et A. Rainville (MRN-Québec) pour leur support logistique ou leur aide lors de l'échantillonnage de la sève d'érable à sucre. Nous remercions également J-P. Renaud et G. Allard (MAPAQ) pour leur support et l'accès aux équipements scientifiques lors de la détermination de la teneur en sucre, S. Prince (CRBF) pour son aide technique et messieurs C. Jacques et R. Chabot, propriétaires des érablières en plantation. Ce travail a été réalisé grâce à des subventions du Ministère des Ressources naturelles et du Fonds FCAR du Québec à J.B.

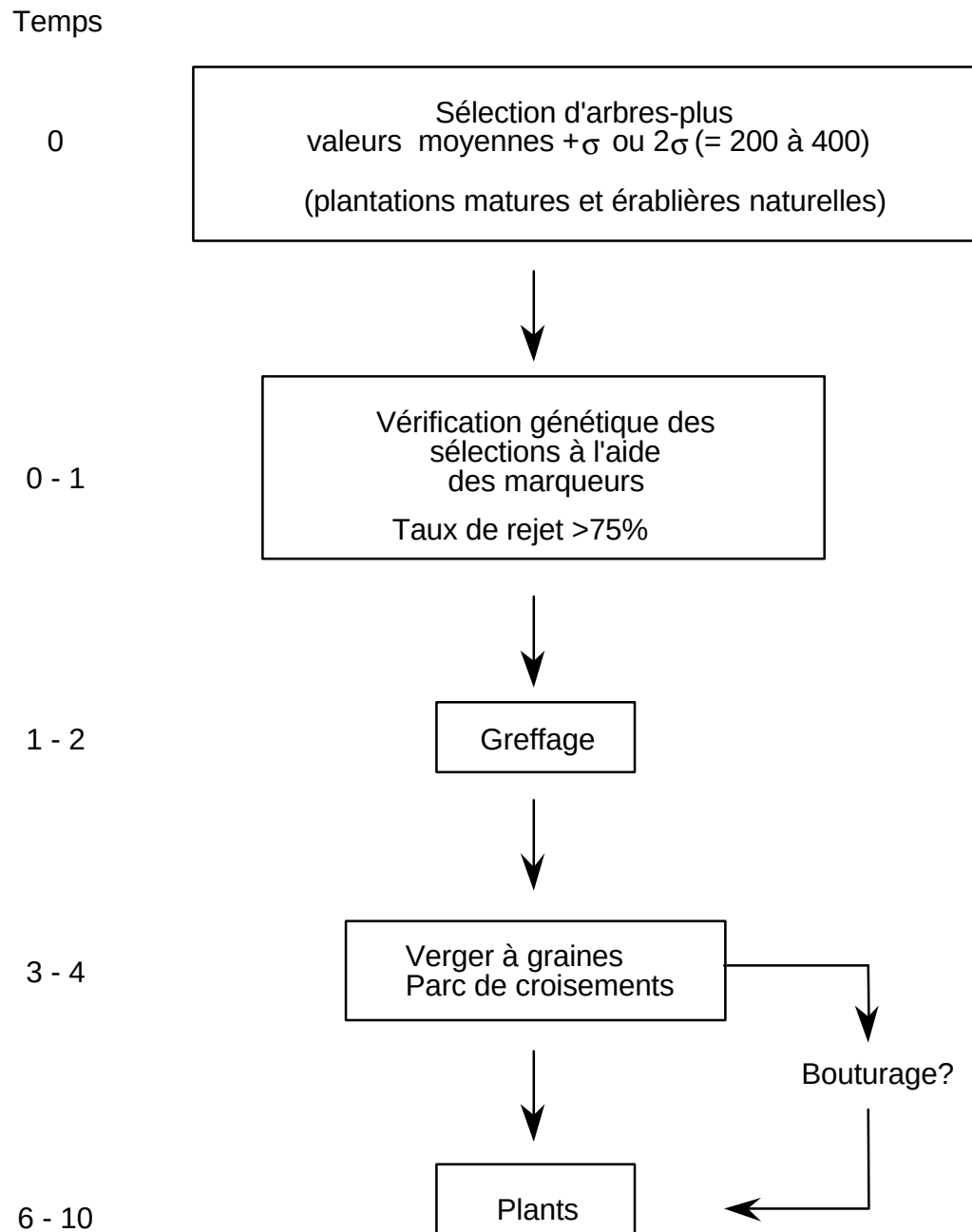


Figure 2 : Stratégie d'obtention d'une variété améliorée par sélection assistée par marqueurs

Références

- Bousquet, J., L. Simon, et M. Lalonde. 1990. DNA amplification from vegetative and sexual tissues of trees using polymerase chain reaction. *Can. J. For. Res.* 20: 254-257.
- Érablière-Budget-3 000, 10 000 et 30 000 entailles, Agdex 318/821 a, b, c, février 1996. Le comité de références économiques en agriculture du Québec. Groupe GÉAGRI Inc.
- Kriebel, H.B. 1960. Selection and testing for sugar yield in *Acer saccharum* L. In: *Proceeding of the 5th World Forestry Congress*, Vol. 2, Seattle, Washington, pp. 750-753.
- Kriebel, H.B. 1989. Genetic improvement of sugar maple for high sap sugar content. I. Clonal selection and seed orchard development. *Can. J. For. Res.* 19: 917-923.
- Kriebel, H.B. 1990. Genetic improvement of sugar maple for high sap sugar content. II. Relative effectiveness of maternal and biparental selection. *Can. J. For. Res.* 20: 837-844.
- Larochelle F., É. Forget, A. Rainville et J. Bousquet. 1998. Sources of temporal variation in sap sugar content in a mature plantation (*Acer saccharum* Marsh.). *Forest Ecology and Management* (sous presse).
- Taylor, F.H. 1956. Variation in Sugar Content of Maple Sap. *Univ. Vermont Agric. Expt. Stn. Bull.* 587, 39p.