

### Table des matières :

- Article de fond sur les cellules pierreuses
- Accès aux données
- Mission and objectifs du projet
- Nouvelles, événements et publications

## Les cellules pierreuses et la défense de l'épinette contre le charançon du pin blanc

Le charançon du pin blanc (*Pissodes strobi*) est un ravageur important des épinettes de Sitka (*Picea sitchensis*) et du complexe d'espèces épinette blanche – épinette d'Eugelmann (*P. glauca x engelmannii*) en Colombie-Britannique et de l'épinette de Norvège (*P. abies*) dans l'est du Canada (King et Alfaro 2009; Daoust et Mottet 2006). Les dommages causés par le charançon aux pousses apicales des jeunes arbres peuvent entraîner la mort de la tige apicale. Des attaques répétées produisent des tiges difformes et des arbres rabougris sans croissance apicale.

Les premiers tests de provenance établis par les services forestiers de la Colombie-Britannique en collaboration avec l'IUFRO (Union internationale des instituts de recherches forestières) ont identifié plusieurs populations résistantes d'épinette de Sitka dans l'est de l'île de Vancouver et dans la vallée du bas Fraser en Colombie-Britannique (King et Alfaro 2009). La résistance de l'épinette de Sitka aux attaques du charançon du pin blanc résulterait des effets combinés des mécanismes de défense chimiques (terpénoïdes) et physiques (canaux résinifères et cellules pierreuses) de l'épinette sur les stades adulte et larvaire de l'insecte. Les canaux résinifères préformés (constitutifs) et induits (formés après les attaques du charançon) sont remplis d'oléorésine riche en terpènes et leur rôle dans la défense contre le charançon du pin blanc a été documenté (Hall et al. 2011; Robert et al. 2010).

Récemment, il a été démontré que l'abondance des cellules pierreuses est un trait essentiel de la résistance de l'épinette de Sitka contre le charançon du pin blanc (King et al. 2011). Toutefois, il reste encore plusieurs mystères à résoudre concernant cet important mécanisme anatomique de défense, en particulier les mécanismes par lesquels les cellules pierreuses affectent les charançons, les gènes et les enzymes régulant la formation des cellules pierreuses et leur composition biochimique.

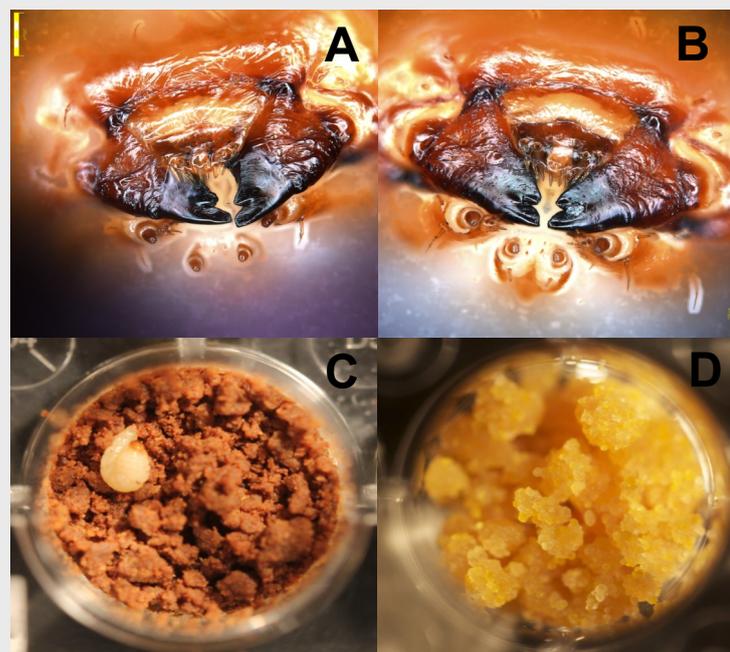


Figure 1. Des mandibules de larves de charançon du pin blanc nourries avec un régime semi-artificiel ne contenant pas de cellules pierreuses (A et C) et un régime alimentaire composé entièrement de cellules pierreuses (B et D). Les cellules pierreuses n'ont aucun effet mesurable sur l'usure mandibulaire des larves de charançon du pin blanc.

## Mission et objectifs du projet

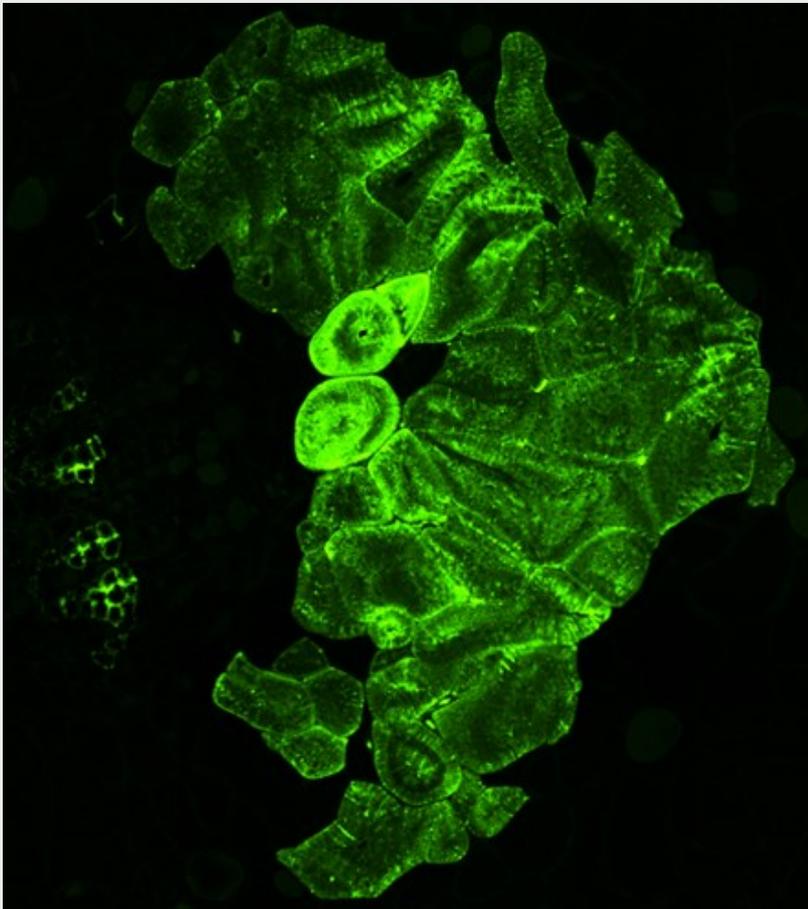
Le projet SMarTForests s'appuie sur une décennie de découvertes scientifiques en génomique des épinettes découlant de deux projets antérieurs : [Arborea](#) (Université Laval) et [Treenomix](#) (University of British Columbia). L'équipe de recherche possède l'expérience et le savoir-faire nécessaires pour réaliser ce projet d'envergure. Notre mission est d'innover dans le séquençage du génome de l'épinette, de bien positionner le Canada au sein d'initiatives internationales touchant le génome des conifères et de réaliser un transfert efficace des résultats et des innovations aux utilisateurs finaux du secteur forestier canadien.

Le projet SMarTForests a trois grands objectifs :

1. Développer des systèmes de marqueurs moléculaires.
2. Séquencer le génome de l'épinette blanche.
3. Analyser les impacts de la génomique forestière sur l'économie et la société.

Un des objectifs du projet SMarTForests est d'élucider ces questions par des expériences *in planta* et *in vitro* avec des larves de charançons et en utilisant des techniques de pointe en génomique, en biochimie et en microscopie afin d'étudier la composition et le développement des cellules pierreuses ainsi que les effets des cellules pierreuses sur la biologie du charançon.

Les cellules pierreuses sont des cellules spécialisées distribuées dans le phloème et l'écorce de l'épinette de Sitka. Les cellules pierreuses représentent une défense constitutive qui interférerait physiquement avec l'alimentation des insectes. Les travaux de recherche avant-gardistes de David Wainhouse et ses collègues, portant sur l'épinette de Sitka et l'épinette de Norvège, ont démontré que les arbres contenant des quantités élevées de cellules pierreuses sont résistants au dendroctone européen de l'épinette, *Dendroctonus micans* (Wainhouse et al. 1990). Ils ont émis l'hypothèse que la résistance exercée par les cellules pierreuses serait causée par une usure accentuée des mandibules (les pièces buccales broyeuses) des larves du dendroctone, combinée à un effet anti-nutritif. Nos premiers résultats montrent que les cellules pierreuses n'ont pas d'impact sur les mandibules du charançon du pin blanc (Figure 1). Par contre, lorsque présentes à haute densité dans des arbres vivants, les cellules pierreuses affectent significativement la croissance et le développement des larves. Un régime semi-artificiel pour les larves de charançon du pin blanc, récemment mis au point dans notre laboratoire, a été utilisé pour tester l'effet des cellules pierreuses *in vitro* et soutient nos résultats *in planta* (figure 1, page 1).



Des études antérieures ont suggéré que les cellules pierreuses seraient complètement lignifiées (Wainhouse et al. 1990) et des travaux récents sur l'épinette de Norvège ont identifié la présence de quantités infimes de deux composés phénoliques de faible poids moléculaire, en particulier le stilbène astringine et le dihydroflavonol dihydroxyquercetin 3'-O-β-D-glucopyranoside (Li et al. 2007). Les cellules pierreuses présentes dans d'autres systèmes, tels que la poire (*Pyrus* spp.), sont principalement constituées de cellulose et de lignine (Tao et al. 2009). En utilisant l'imagerie histo-chimique et histobiochimique pour étudier la composition des cellules pierreuses, nous avons identifié la cellulose, les hémicelluloses et la lignine comme composants principaux de la paroi cellulaire secondaire des cellules pierreuses (Figure 2).

Figure 2. Une forte concentration d'hémicellulose dans la paroi cellulaire est révélée par l'immunomarquage et montre un groupe de cellules pierreuses mature (à droite) dans le cortex de l'épinette de Sitka. Les vaisseaux du xylème (à gauche) dans les aiguilles voisines sont également marqués, montrant la similarité de la composition des parois cellulaires secondaires entre différents types de cellules et d'organes.

La composition des cellules pierreuses de l'épinette de Sitka semble être similaire à celle des cellules du xylème - un autre type de cellules hautement lignifiées. Ces résultats soutiennent l'hypothèse que la formation des cellules pierreuses serait régie par les gènes qui sont impliqués dans la formation de la paroi cellulaire secondaire. Les gènes impliqués dans la biosynthèse de la cellule pierreuse de l'épinette sont présentement en cours d'identification. Nous avons identifié un moment critique dans le cycle annuel de croissance durant lequel les cellules pierreuses font leur apparition dans la tige apicale (Figure 3). Nous utilisons la microdissection par capture laser (Abbott et al. 2010) pour isoler des cellules et des groupes de cellules pierreuses en développement afin de séquencer leur transcriptome.

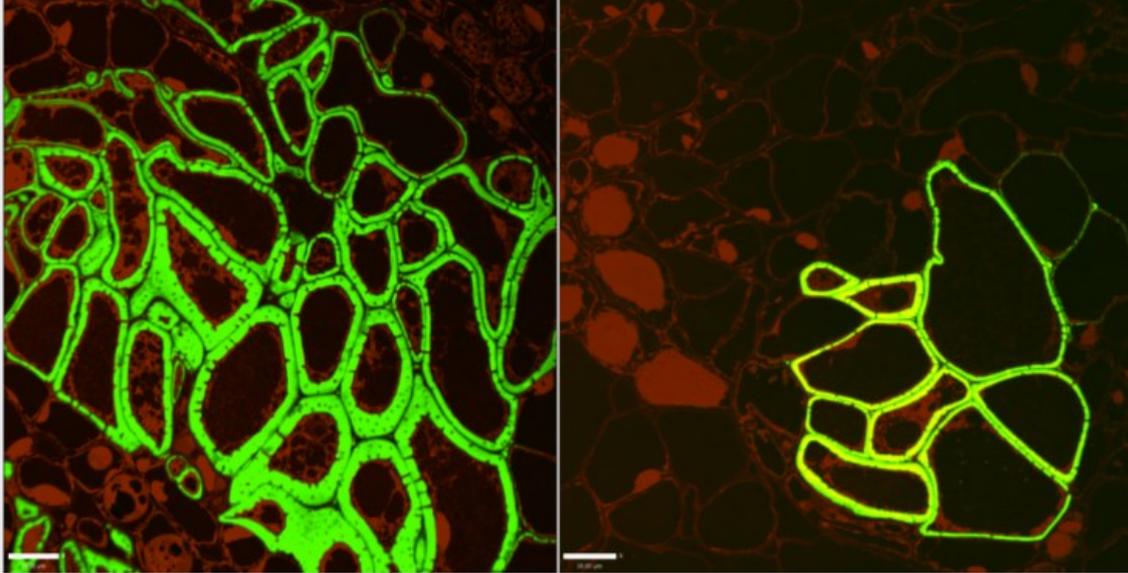


Figure 3. Une forte concentration d'hémicellulose dans la paroi cellulaire est révélée par l'immunomarquage et montre un groupe de cellules pierreuses en développement dans le cortex d'une épinette de Sitka résistante (H898 - à gauche) et susceptible (Q903 - à droite).

L'identification des gènes, des métabolites et des processus moléculaires sous-jacents à la fonction écologique et à la formation des cellules pierreuses permettra d'améliorer notre compréhension des mécanismes naturels de résistance contre le charançon du pin blanc et d'améliorer les programmes de sélection génétique. Notre travail en génomique fonctionnelle sur la génétique des cellules pierreuses est en lien étroit avec d'autres travaux du projet SMarT Forests en génomique des populations.

## RÉFÉRENCES

- Abbott, E., D. Hall, B. Hamberger et J. Bohlmann. 2010. Laser microdissection of conifer stem tissues: isolation and analysis of high quality RNA, terpene synthase enzyme activity and terpenoid metabolites from resin ducts and cambial zone tissue of white spruce (*Picea glauca*). *BMC Plant Biol.* 10:106.
- Daoust, G. et M. Mottet. 2006. Impact of the white pine weevil (*Pissodes strobi* Peck) on Norway spruce plantations (*Picea abies* [L.] Karst.) Part I: Productivity and lumber quality. *The Forestry Chronicle.* 82: 745–756.
- Hall, D.E., J.A. Robert, C. I. Keeling, D. Domanski, A. L. Qesada, S. Jancsik, M. Kuzyk, B. Hamberger, C. H. Borchers et J. Bohlmann. 2011. An integrated genomic, proteomic, and biochemical analysis of (+)-3-carene biosynthesis in Sitka spruce (*Picea sitchensis*) genotypes which are resistant or susceptible to white pine weevil. *Plant J.* 65:936–948.
- King, J.N. et R.I. Alfaro. 2009. Developing Sitka spruce populations for resistance to the white pine weevil: Summary of research and breeding program. B.C. Min. For. Range, Res. Br., Victoria, B.C. Technical Report. 050.
- King, J.N., R. I. Alfaro, M. Grau Lopez et L. VanAkker. 2011. Resistance of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) to white pine weevil (*Pissodes strobi*): characterizing the bark defence mechanisms of resistant populations. *Forestry.* 84: 83–91.
- Li, S.H., B. Schneider et J. Gershenzon. 2007. Microchemical analysis of laser-microdissected stone cells of Norway spruce by cryogenic nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Planta.* 225:771–779.
- Robert J.A., L.L. Madilao, R. White, A. Yanchuk, J. King et J. Bohlmann. 2010. Terpenoid metabolite profiling in Sitka spruce identifies association of dehydroabietic acid, (+)-3-carene, and terpinolene with resistance against white pine weevil. *Botany* 2010, 88:810-820
- Tao, S. T., H. Zhang et S. L. Zhang. 2009. Anatomy, ultrastructure and lignin distribution of stone cells in two *Pyrus* species. *Plant Sci.*, 176: 413–419.
- Wainhouse, D., D. J. Cross et R. S. Howell. 1990. The Role of Lignin as a Defense against the Spruce Bark Beetle *Dendroctonus micans* - Effect on Larvae and Adults. *Oecologia* 85: 257-265.

© Toutes les informations et les figures contenues dans cet article. Pour plus d'informations, veuillez contacter: Justin G. A. Whitehill et Joerg Bohlmann, Michael Smith Laboratories, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada (whiteh5@msl.ubc.ca, bohlmann@msl.ubc.ca).

## Le génome d'une épinette blanche

L'épinette blanche (*Picea glauca*) est un conifère dominant des forêts boréales de l'Amérique du Nord. Obtenir des ressources génomiques pour cet arbre à valeur commerciale permettrait d'améliorer la gestion forestière tout en facilitant les efforts de conservation. Par contre, la très grande taille et le contenu répétitif de son génome repoussent les limites de la technologie actuelle du séquençage et de l'assemblage des génomes. L'assemblage d'un grand génome comme celui d'un conifère est une tâche ardue. Estimé à 20 milliards de paires de bases, ce qui est sept fois plus grand que le génome humain, le génome de l'épinette blanche s'est avéré difficile à assembler. Dans notre publication récente (Birol et al. 2013), nous décrivons une stratégie de séquençage par échantillonnage aléatoire du génome d'une épinette blanche (PG29) en utilisant deux plateformes de séquençage Illumina et son assemblage à l'aide du logiciel ABySS. Nous présentons une ébauche du génome de 20,8 milliards de paires de bases. Il comporte 4,9 millions d'échafaudages. La taille N50 des échafaudages est de 20 356 bases, ce qui indique que 50% du génome est représenté par des échafaudages plus grands que 20 356 bases. Nous démontrons comment des améliorations récentes dans la technologie de séquençage, en particulier l'augmentation des longueurs de séquences brutes et l'obtention de séquences appariées (« paired end reads ») de longs fragments d'ADN ont un impact majeur sur la contiguïté de l'assemblage. Nous notons également que le développement continu des outils bioinformatiques joue un rôle important dans la production rapide d'assemblages.

### Référence:

Birol, I., A. Raymond, S.D. Jackman, S. Pleasance, R. Coope, G.A. Taylor, M. Man Saint Yuen, C.I. Keeling, D. Brand, B.P. Vandervalk, H. Kirk, P. Pandoh, R.A. Moore, Y. Zhao, A.J. Mungall, B. Jaquish, A. Yanchuk, C. Ritland, B. Boyle, J. Bousquet, K. Ritland, J. MacKay, J. Bohlmann et S.J.M. Jones. 2013. Assembling the 20 Gb white spruce (*Picea glauca*) genome from whole-genome shotgun sequencing data. *Bioinformatics* 29(12):1492-1497.

## Accès aux données

### Le premier assemblage du génome de l'épinette blanche (PG29)

Le projet SMarTForests a publié un premier assemblage du génome de l'épinette blanche (*Picea glauca*) via le National Center for Biotechnology Information (NCBI) : [[Bioproject PRJNA83435](#), [Accession ALWZ0000000000](#)]. En plus du portail NCBI, nous avons également créé un portail distinct pour le premier assemblage [[ftp://ftp.bcgsc.ca/public/Picea\\_Glauca/](ftp://ftp.bcgsc.ca/public/Picea_Glauca/)]. Cet assemblage initial du génome de l'épinette blanche, provenant d'un arbre individuel diploïde, fut basé sur un séquençage aléatoire utilisant une plateforme à haute performance (HiSeq2000). Nous continuerons de produire des ressources de séquençage améliorées et de mettre à jour l'assemblage du génome de l'épinette blanche. L'accès aux données de l'assemblage du génome de l'épinette blanche vise à soutenir la recherche et le développement dans la communauté scientifique selon les principes énoncés durant l'atelier de Toronto sur le partage prépublication des données génomiques. [[Portals/0/1st%20assembly%20release%20notice.pdf](#)] Pour citer cette ressource, veuillez utiliser l'article suivant : **Birol et al. 2013 *Bioinformatics* 29 (12) :1492-1497.**

### Données SNP

Les 13,461 variations de séquences géniques (SNP, single nucleotide polymorphisms) chez l'épinette blanche (*Picea glauca*) décrits dans deux articles de Pavy et collaborateurs publiés en 2013 (*BMC Biology* 10:184 (27p.) et *Ressources Molecular Ecology* 13 (2): 324 -336) sont maintenant disponibles dans la base de données du National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>). Les méthodes de détection des SNP et les résultats de génotypage sont décrits dans les publications.

### Un atlas de 212 765 SNP de haute confiance

Les SNP ont été détectés parmi les séquences de plusieurs milliers de gènes exprimés en utilisant le logiciel VarScan. Des séquences de nouvelle génération ont été alignées sur le catalogue des gènes de l'épinette blanche (GCAT) en utilisant le logiciel Mosaik. Les SNP ayant une fréquence allélique faible  $MAF < 0,01$  ont été rejetés. La précision de la détection des SNP a été vérifiée à partir d'un grand jeu de données de génotypage, montrant le haut niveau de confiance des SNPs de l'atlas. Ces SNP sont également disponibles dans le Single Nucleotide Polymorphism Database du NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>).



VISITEZ NOUS :  
[www.smartforests.ca](http://www.smartforests.ca)

**POUR NOUS  
CONTACTER :**  
**GESTIONNAIRES DE  
PROJET**

**Béatrice Riché**  
Université Laval  
1030 av. de la Médecine  
Bureau 2153  
Québec (Qc), G1V 0A6  
Canada  
Tél : 418.656.2408  
Fax : 418.656.7176  
Courriel :  
[beatrice.riche@sbf.ulaval.ca](mailto:beatrice.riche@sbf.ulaval.ca)

**Carol Ritland**  
#3611-2424 Main Mall  
Department of Forest  
Sciences  
University of British Columbia  
Vancouver, B.C. Canada  
V6T 1Z4  
Tél : 604.822.3908  
Fax : 604.822.2114  
Courriel :  
[critland@mail.ubc.ca](mailto:critland@mail.ubc.ca)

## Nouvelles et événements

- Christmas Tree DNA: Complex Conifer Genome Begins to Yield to Research Efforts. *Associated Press*, avec une couverture internationale le 13 décembre 2012.
- Pavy et al. A spruce gene map indicates ancient plant genome reshuffling and subsequent slow evolution in the gymnosperm lineage leading to extant conifers. *BMC Genomics*. Communiqué de presse de l'Université Laval avec une couverture nationale et internationale le 13 décembre 2012.
- Namroud et al. Scanning SNPs from a large set of expressed genes to assess the impact of artificial selection on the diversity of white spruce. *Evol. Appl.* Journal hebdomadaire de l'Université Laval, le 18 octobre 2012.
- Birol et al. News in Brief: Giant genomes felled by DNA sequencing advances. *Science News*, le 22 mai 2013.

Pour une liste complète des nouvelles et des événements, veuillez visiter :  
[www.smartforests.ca](http://www.smartforests.ca)

## Publications récentes

- Birol I. et al. 2013 Assembling the 20 Gb white spruce (*Picea glauca*) genome from whole-genome shotgun sequencing data. *Bioinformatics* 29(12):1492-1497.
- Pavy N. et al. 2013 Development of high-density SNP genotyping arrays for white spruce (*Picea glauca*) and transferability to subtropical and Nordic congeners. *Molecular Ecology Resources* 13(2): 324 -336.
- Verta J. P. et al. 2013 Are long-lived trees poised for evolutionary change? Single locus effects in the evolution of gene expression networks in spruce. *Molecular Ecology* 22(9): 2369-79.
- Pavy N. et al. 2013 The landscape of nucleotide polymorphism among 13,500 genes of the conifer *Picea glauca*, relationships with functions and comparison with *Medicago truncatula*. *Genome Biology and Evolution* 5. doi:10.1093/gbe/evt143 (16p.).

Pour une liste complète des publications, veuillez visiter : [www.smartforests.ca](http://www.smartforests.ca)

## Événements à venir

SMarTForests est fier de vous présenter, en collaboration avec l'Institut forestier du Canada, une série de conférences électroniques portant sur la génomique forestière et ses retombées, du 13 au 27 novembre 2013.

Pour plus d'informations : <http://cif-ifc.org/site/electure>

## Un grand merci à nos organismes subventionnaires



GenomeCanada



GenomeQuébec



GenomeBritishColumbia



GenomeAlberta