

Créer les cépages de demain avec les outils d'aujourd'hui

Loïc Le Cunff

Mail : loic.lecunff@vignevin.com



© Institut Français de la Vigne et du Vin

Responsables des équipes impliquées

- Le Cunff Loïc, UMT Géno-Vigne®, IFV, Le Grau-du-Roi
- This Patrice, UMR Amélioration Génétique et Adaptation des Plantes, INRA, équipe DAVEM, Montpellier
- Audeguin Laurent, IFV, Le Grau-du-Roi

Mots clés

Génotypage haut débit, sélection génomique, sélection assistée par marqueurs, résistance durable

L'innovation variétale est une voie d'amélioration utilisée dans toutes les filières agricoles. Durant les vingt dernières années, d'énormes progrès ont été observés chez les bovins ou encore chez des espèces végétales comme le maïs ou le blé. Ces dernières années, suite au séquençage du génome de la vigne, la filière viticole se tourne vers la création variétale pour réduire le nombre de traitement phytosanitaire ou répondre aux changements climatiques. Afin de répondre à ces nouvelles attentes nous avons dans ce projet étudié les outils et ressources disponibles chez la vigne pour développer des programmes de création variétale efficaces. Cette étude a abouti au lancement d'un programme (EDGARR) financé par le CTPS, les interprofessions de Provence et du Languedoc-Roussillon et la marque ENTAV-INRA qui a pour finalité l'obtention de variétés résistantes au mildiou et à l'oïdium adapté à une vinification de type « Vins rosé ».

Contexte et objectifs

La viticulture est aujourd'hui une des activités agricoles les plus consommatrices de produits phytosanitaires en Europe. Par ailleurs, les évolutions du climat pourraient engendrer de profondes modifications, notamment dans la zone méditerranéenne. Les espèces apparentées du genre *Vitis* et du genre *Muscadinia*, interfertiles avec *Vitis vinifera* L. *sativa*, présentent des résistances monogéniques ou quantitatives aux stress biotiques et abiotiques, mais des caractères de qualité défavorables. Certaines de ces résistances ont déjà été utilisées au travers d'hybrides mais du fait des caractères qualitatifs défavorables des espèces, ils n'ont pas permis l'obtention de variétés de qualité. Les ressources moléculaires disponibles actuellement chez la vigne offrent dorénavant la possibilité de créer des variétés de vigne durablement résistantes tout en améliorant la qualité du raisin et donc du vin. L'UMT Geno-vigne® s'inscrit parfaitement dans ce cadre au travers de son activité de transfert de l'innovation vers la recherche appliquée. De plus l'accès au domaine de Vassal (plus grande collection au monde de ressources génétique vigne) et aux projets de génomique développés par l'INRA sur la vigne, permet d'avoir accès à des bases de connaissances et de savoir-faire incontestables pour développer ce projet.

Méthodes

Utilisation de la méthodologie de sélection génomique chez la vigne pour l'amélioration de la puissance de la sélection. La méthode de « sélection génomique » est utilisée avec succès chez les espèces animales (Solderg *et al.*, 2008) et quelques espèces végétales (maïs notamment). Cependant la vigne, qui est une espèce pérenne, présente des caractéristiques propres : i) l'absence de pédigrées tels que ceux disponibles chez les bovins, ii) le polymorphisme nucléotidique (SNP) très important (1 SNP tous les 47 paires de bases, Le Cunff *et al.* 2008), et iii) la décroissance rapide du déséquilibre de liaison (Myles *et al.* 2010) sont des paramètres qui vont avoir un effet important sur l'utilisation de cette méthode. Le projet proposé va étudier cette méthodologie chez la vigne. Si elle s'avère possible, les gains en termes de sélection pourraient être très importants, non seulement en termes de valeur des génotypes créés mais aussi en termes de temps.

Développement de génotypes homozygotes pour les loci de résistance

L'obtention d'individus homozygotes pour des gènes de résistance provenant de différentes origines serait un atout, en effet ces gèneurs élites transfèreraient à l'ensemble ...

... de leur descendance tous leurs gènes de résistance au mildiou et à l'oïdium. Ces génotypes doivent être étudiés pour d'autres caractéristiques à déterminisme génétique simple comme la quantité d'anthocyanes, qui est contrôlée par un gène majeur.

Principaux résultats obtenus et applications envisageables, lien au plan Écophyto

Test de la méthodologie de sélection génomique chez la vigne

Afin de tester cette méthodologie innovante, nous procédons en deux étapes, une première qui consiste à modéliser *in silico* des populations afin d'estimer la faisabilité de la sélection génomique chez la vigne et les limites des données actuellement disponibles (Génotypage obtenu dans le cadre du projet ANR GrapeReSeq, héritabilité des caractères étudiés, etc.). Ces aspects théoriques du projet ont permis d'estimer qu'un grand nombre de marqueurs moléculaires sont nécessaires (environ 100.000). La Figure 1 présente les résultats de quatre méthodologies testées, afin de choisir celle qui présente le meilleur résultat de corrélation entre le phénotype réel de l'individu et la valeur prédite sur la base des marqueurs moléculaires (Fodor *et al.*, 2014).

La deuxième étape consiste à utiliser des données réelles sur lesquelles nous avons testé deux types de stratégies : 1. une population universelle couvrant le plus de diversité possible utilisée comme population d'entraînement ou 2. une population d'entraînement composée d'individus issus du même croisement que les individus dans laquelle nous réalisons la sélection. Pour le caractère « taille de la baie », la stratégie 1 donne des coefficients de corrélation compris entre 0,1 et 0,35 alors que la stratégie 2 donne des coefficients de corrélation supérieurs, compris entre 0,5 et 0,7. Il est à noter que dans la stratégie 2 les corrélations sont meilleures

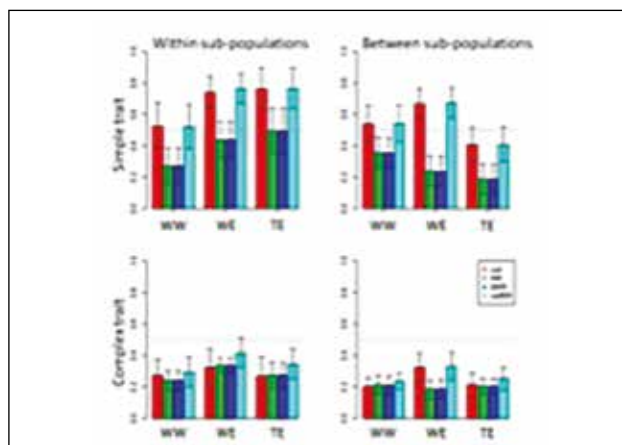


Figure 1 : Comparaison des 4 méthodologies de sélection testées

lorsque l'on utilise l'ensemble de l'information génomique plutôt qu'un sous-ensemble sélectionné (approche QTL) (Fodor *et al.* in prep).

Obtention de géniteurs homozygotes résistants au mildiou et à l'oïdium

Des autofécondations ont été réalisées afin d'obtenir des génotypes homozygotes pour deux gènes de résistance au mildiou Rpv3 et Rpv1 et pour deux gènes de résistance à l'oïdium Ren3 et Run1. Environ 2 000 pépins ont été obtenus, nous avons observé un faible pourcentage de germination (~30%) dû au phénomène de dépression de consanguinité. Les plantes obtenues et conservées actuellement en serre (première floraison en 2015) comprennent 7 génotypes homozygotes pour les 4 gènes et 35 génotypes comprenant entre 2 à 3 gènes sur les 4 à l'état homozygotes. Ces génotypes seront utilisés comme géniteurs, ils permettront d'augmenter la fréquence de descendants pyramidés pour ces 4 gènes de résistance. ■

Conclusions et perspectives

Les résultats obtenus ici permettent de développer de nouvelles pistes de recherche et une réflexion générale sur « la modernisation de la création variétale chez la vigne ». Même si le coût du génotypage est en constante baisse, alors que le phénotypage s'affine et de ce fait son coût augmente, l'investissement réalisé est-il intéressant ? Afin d'apporter des éléments de réponse et suite aux résultats obtenus dans ce projet trois scénarios sont proposés : i) Une population universelle permettant de prédire les caractères sur tous types de croisements, ii) une population de ségrégation, iii) une population de géniteurs élités.

1. Le scénario d'une « population universelle » nécessite encore un effort important, notamment le développement d'un outil de génotypage permettant d'atteindre 100 000 marqueurs moléculaires.

2. Le scénario « population en ségrégation » qui semble le plus intéressant d'un point de vue investissement / résultats est testé dans le cadre du projet EDGARR (lauréat 2014 de l'AAP CTPS « Semences et Plants »). Ce scénario est intéressant dans ce projet, car la définition des idéotypes est très précise (couleur du vin, niveau d'acidité, oxydabilité des moûts et arômes).

3. Le scénario « population de géniteurs élités » comprenant un set de géniteurs pertinents (*Vitis vinifera* et hybrides, voir espèces apparentées) et raisonnés en fonction de la demande majoritaire. Dans ce scénario la population d'entraînement utilisée ne sera composée que de géniteurs donneurs de résistances et de variétés connues pour leurs qualités organoleptiques. Cette option permet de raisonner la diversité exploitée. Cette option semble la plus intéressante à moyen terme au vue des outils moléculaires disponibles actuellement sur la vigne.

Ce projet nous a permis de mieux définir les stratégies à mettre en place afin de garantir un gain génétique pertinent dans le schéma de création variétale vigne.

Références bibliographiques

- > Fodor A., Segura V., Denis M., Neuenschwander S., Fournier-Level A., Chatelet P., Homa F.A.A., Lacombe T., This P., Le Cunff L., 2014. Genome-wide prediction methods in highly diverse and heterozygous species: proof-of-concept through simulation in grapevine. *PLoS ONE* 9(11): e110436.
- > Fodor A., Peros J.P., Launay A., Doligez A., Berger G., Bertrand Y., Roques M., Beccavin I., Le Paslier M.C., Romieu C., Bacilieri R., Laucou V., Adam-BLondon A.F., Boursiquot J.M., This P., Le Cunff L., (in prep). Genome-Wide Association Studies (GWAS) and Genomic Selection (GS) in grape for phenotype prediction using a large diversity panel.
- > Myles S., Chia J.M., Hurwitz B., Simon C., Zhong G.Y., Buckler E., Ware D., 2010. Rapid Genomic Characterization of the Genus *Vitis*. *PLoS One.*, 13;5(1):e8219.
- > Solberg T.R., Sonesson A.K., Woolliams J.A., Meuwissen T.H.E., 2008. Genomic selection using different marker types and densities. *J Anim Sci.*, 86:2447-2454.