HAL
open science

Perspectives pour la viticulture du décryptage du génome de la vigne (Partie 3/3: Maîtrise de la maturation et gestion des ressources génétiques de la vigne)

Anne-Francoise A.-F. Adam-Blondon, Roberto Bacilieri, F. Baillieul, Jean-Michel Boursiquot, C. Clement, Xavier Daire, Francis Delmotte, Serge Delrot, Carole Dubreuil, Eric Duchêne, et al.

To cite this version:

Anne-Francoise A.-F. Adam-Blondon, Roberto Bacilieri, F. Baillieul, Jean-Michel Boursiquot, C. Clement, et al.. Perspectives pour la viticulture du décryptage du génome de la vigne (Partie 3/3: Maîtrise de la maturation et gestion des ressources génétiques de la vigne). La revue des œnologues et des techniques vitivinicoles et œnologiques, 2009, 131, pp.15-18. hal-02664402

HAL Id: hal-02664402

https://hal.inrae.fr/hal-02664402

Submitted on 31 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Perspectives pour la viticulture du décryptage du génome de la vigne

Partie 3/3 : Maîtrise de la maturation et gestion des ressources génétiques de la vigne

Revue des Oenologues, 2009, 131:15-18

A-F. Adam-Blondon[1], R. Bacilieri[2], F. Baillieul[3], J-M. Boursiquot[2], C. Clément[3], X. Daire[4], F. Delmotte[5], S. Delrot[6], C. Dubreuil[4], E. Duchêne[7], A. Gauthier[4], F. Karst[7], T. Lacombe[2], V. Laucou[2], D. Merdinoglu[7], P. Mestre[7], N. Ollat[6], F. Pelsy[7], J-P. Péros[2], B. Poinssot[4], A. Pugin[4], P. Rey[6], N. Terrier[8], P. This[2], S. Trouvelot[4], M. Viaud[9]

Cet article est le troisième d'une série où nous avons tout d'abord détaillé les outils génomiques maintenant diponibles chez la vigne, puis expliqué comment ils vont contribuer à la recherche de méthodes pour lutter contre les agents pathogènes de la vigne. Nous allons maintenant décrire comment, à notre avis, ils vont nous permettre de contribuer à une adaptation des pratiques viticoles à la problématique du changement climatique mais également à gérer et exploiter plus efficacement les ressources génétiques.

[1] *UMR INRA-CNRS-Université d'Evry « Génomique Végétale » - Evry - France.*

[2] *UMR INRA-MontpellierSupAgro-IRD-Université Montpellier II « Diversité des génomes et Adaptation des Plantes Cultivées » - Montpellier - France.*

[3] *Université de Reims Champagne-Ardenne, Unité de Recherche Vignes et Vins de Champagne EA2069, Laboratoire de stress, Défenses et Reproduction des Plantes - Reims - France.*

[4] *UMR INRA 1088-CNRS 5184-Université de Bourgogne « Plante-Microbe-Environnement » - Dijon - France.*

[5] *UMR INRA-ENITAB « Santé Végétale », Institut des Sciences de la Vigne et du Vin - Villenave d'Ornon France.*

[6] *UMR INRA-ENITAB-Universités Bordeaux I et II « Ecophysiologie et Génomique fonctionnelle de la vigne », Institut des Sciences de la Vigne et du Vin Villenave d'Ornon - France.*

[7] *UMR INRA-Université Louis Pasteur de Strasbourg « Santé de la vigne et qualité du vin » - Colmar - France.*

[8] *UMR INRA-MontpellierSupAgro-Université Montpellier I « Sciences Pour l'œnologie » - Montpellier - France.*

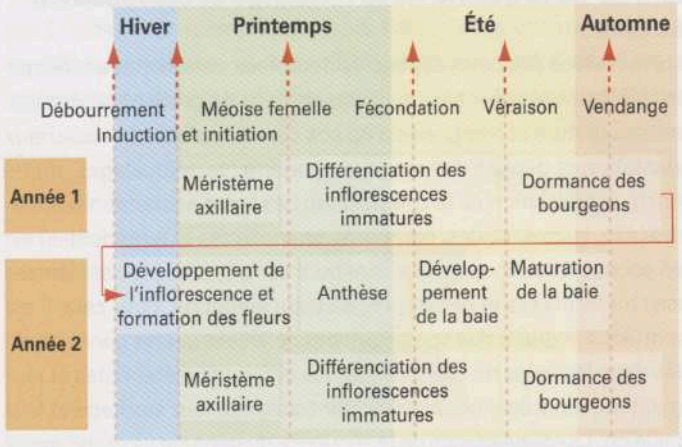
[9] *UMR INRA-AgroParisTech, « Biologie et Gestion des Risques en Agriculture Champignons Pathogènes des Plantes » - Versailles - France.*

Adapter les pratiques viticoles et maîtriser les processus de maturation et de qualité de la vendange dans le cadre du changement climatique

Les scénarios de changements climatiques du Groupe Intergouvernemental d'Experts sur le Changement Climatique prévoient en 2100 une augmentation de la température moyenne de +2,4 °C sur la France, un changement de régime des pluies, une augmentation de la demande climatique en eau et un doublement de la teneur atmosphérique en CO_2.

Cette évolution annoncée affectera la physiologie de la vigne, le rendement et la composition biochimique des raisins produits dans les vignobles français. En pratique, il a été déjà constaté depuis 15 ans une augmentation de la température moyenne d'environ 1 °C qui se traduit une avancée significative des dates de vendanges depuis 1990, une augmentation des taux de sucre à la vendange, une diminution de l'acidité, une augmentation du poids des baies et un retard dans la maturité phénolique. Par ailleurs, le positionnement de la phase de maturation des raisins dans des périodes plus chaudes de la saison est particulièrement défavorable à l'expression aromatique des raisins. Enfin, des sols plus secs en été induisent également un déficit d'assimilation de l'azote par la vigne qui est à l'origine de problèmes de fermentation des moûts et de vieillissement des vins.

Figure 1 : Calendrier du cycle reproducteur de la vigne (modifié d'après *Carmona et al. 2008*). Pendant l'été de l'année 1, dans les bourgeons latents se développent des méristèmes axillaires qui donneront naissance soit à des vrilles, soit à des inflorescences. Cette première étape est un élément clé dans le contrôle de la fertilité et du rendement. Les inflorescences immatures rentrent en phase de dormance durant l'hiver. Au printemps de l'année 2, le bourgeon latent débourre et les inflorescences reprennent leur développement, aboutissant à la formation des organes floraux, deuxième étape cruciale dans le cycle reproducteur. La fécondation à l'origine des baies est la troisième étape clé dans le processus. Le cycle se termine au cours de l'été de l'année 2 par la croissance et la maturation de la baie.



Dans ce contexte, un des défis émergents de la viticulture est donc de savoir si le territoire sera toujours apte à supporter durablement le vignoble, quelles seront les nouvelles caractéristiques organoleptiques des raisins de demain et s'ils seront toujours aptes à faire des vins dont la typicité sera reconnue et appréciée. Une question corollaire est de savoir comment les réponses adaptatives de la vigne, le choix du couple cépage/porte-greffe et les pratiques viticoles pourront accompagner cette évolution. Enfin, une demande pour des vins moins alcoolisés, mais conservant de bonnes qualités gustatives et aromatiques est prévisible, ce qui est *a priori* antinomique avec l'évolution récente et prévisible attribuée au changement climatique.

Les travaux conduits actuellement concernent principalement les études des effets de contraintes comme le déficit en eau ou la température sur le transcriptome et le protéome des raisins et feuilles. Combinée avec des études métabolomiques pour en préciser l'impact sur la composition des baies mais également avec approches plus écophysiologiques, ceci devrait permettre d'identifier des gènes clefs des réponses adaptatives chez la vigne.

Fertilité et changement climatique

En effet, le processus de reproduction chez la vigne est original comparé aux autres plantes herbacées ou ligneuses et ce, aussi bien en ce qui concerne le développement des organes reproducteurs que les facteurs régulant la succession des étapes de formation des inflorescences, des fleurs et des baies. Tout d'abord, le cycle reproducteur se déroule sur deux saisons successives ***(figure 1)*** avec chacune de ses étapes clé sous contrôle d'une combinaison de facteurs externes environnementaux comme la température et la lumière et de paramètres internes comme les régulateurs de croissance ou les réserves carbonées. La nature de ces interactions ne correspond pas aux schémas classiques connus chez les autres plantes. Une approche globale des impacts physiologiques des variations de l'environnement sur la fertilité et la floraison est désormais possible chez la vigne par analyse de profils transcriptomiques, permettant (i) d'établir une liste exhaustive et sans *a priori* des gènes impliqués dans chacune des étapes du processus de reproduction, (ii) de comparer les effets de traitements modulateurs de floraison pour mettre en évidence les voies de signalisation de la régulation de leur expression. À terme, la compréhension globale des mécanismes moléculaires mis en jeu doit permettre d'optimiser de nouvelles pratiques culturales visant à maîtriser les rendements en fonction des cépages, de l'état physiologique de la plante et des conditions climatiques aux étapes clés du processus de reproduction.

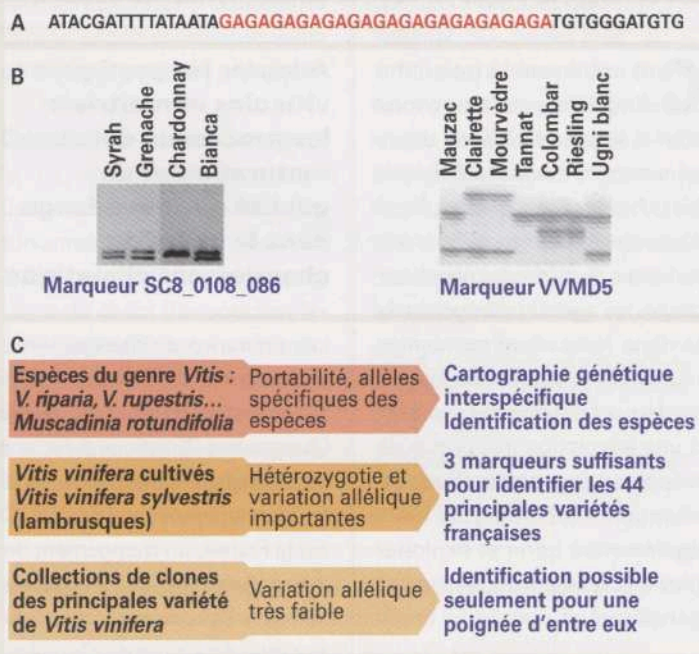
Maîtrise de la qualité de la vendange et composition des baies

La composition des baies dépend de nombreux paramètres en interaction: biologiques (génotype du porte-greffe et du greffon), environnementaux (nature et composition du sol, climat, maladies) et culturaux (orientation et densité des rangs, amendements, effeuillages, traitements). Si l'évolution de la composition des baies en métabolites majeurs (eau, sucres, acides, composés phénoliques et terpénoïdes) est bien connue, beaucoup reste à faire pour comprendre précisément les bases moléculaires et génétiques de cette évolution. Pour cela, il est important d'acquérir des connaissances détaillées sur les gènes impliqués dans les voies de biosynthèse des différents métabolites et leur régulation, mais également dans leur transport, leur stockage et leur régulation. La connaissance de la séquence du génome va grandement faciliter ces travaux, en donnant accès à l'ensemble des membres des familles multigéniques souvent impliquées et en permettant d'identifier les gènes (voie, métaboliques, transporteurs) inconnus par des combinaisons d'approches génétiques et transcriptomiques. Les gènes codant les diverses enzymes impliquées dans les voies très complexes de biosynthèse des flavonoïdes et des terpènes chez la vigne ont été identifiés il y a quelques années, mais l'analyse du génome révèle quelques particularités, comme par exemple le nombre très important de gènes codant pour les stilbène synthases et les terpène synthases. Malgré tout, il reste encore quelques boîtes noires comme l'identification des transporteurs d'acides (malique et tartrique) et de composés phénoliques ainsi que l'élucidation des mécanismes impliqués dans la polymérisation ou la galloylation des tanins. Dans beaucoup de cas, la fonction des gènes reste supposée par homologie de séquence et reste à préciser du point de vue biochimique (Ex.: transporteurs de sucre, terpène synthases et stilbène synthase), mais également de l'organe et du compartiment cellulaire dans lequel chaque membre d'une famille multigénique s'exprime (Ex.: canaux conducteurs d'eau ou aquaporines, transporteurs de sucres). Enfin, il restera à comprendre la régulation de l'expression de ces gènes au cours du développement des baies et en réponse à des *stimuli* de l'environnement. Par exemple, les gènes régulateurs au cours du développement de la voie de biosynthèse des flavonoïdes appartiennent à trois familles multigéniques codant des facteurs de transcription de types Myb, bHLH et WD40 pouvant former des complexes ternaires. Les enjeux dans ce domaine sont maintenant de comprendre la combinatoire de formation des complexes ternaires et les gènes cibles que ces complexes affectent en fonction du stade de développement et de signaux environnementaux.

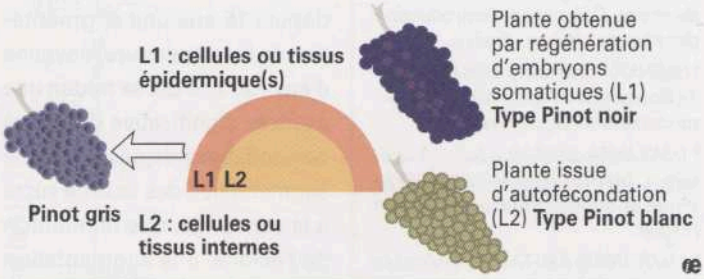
L'ensemble de ces travaux permettra de préciser plus avant la contribution des gènes étudiés dans la

■ Encadré 1:

Utilisation des marqueurs microsatellites dans les différents compartiments des ressources génétiques chez la vigne. **A.** Exemple de répétition microsatellite: répétition du motif (GA) 13 fois. **B.** Exemple de visualisation des deux allèles présents chez 3 variétés de *V. vinifera* et un hybride interspécifique (Bianca) pour le marqueur SC8_0108_086. La Syrah est homozygote (les deux chromosomes homologues portent le même allèle) et donc une seule bande est observée. Les trois autres variétés sont hétérozygotes. La grande variabilité des marqueurs microsatellites est illustrée avec le marqueur VVMD5 pour sept variétés de *V. vinifera*. **C.** Utilisation des marqueurs microsatellites pour la gestion des ressources génétiques dans les différents compartiments des ressources génétiques. Une variété est constituée de tous les clones issus par multiplication végétative d'un même individu, quelle que soit leur utilisation viti-vinicole. Le terme variété est préféré au terme cépage qui sous-entend une adéquation entre clone et utilisation. Ainsi tous les Pinot appartiennent à la même variété alors que le Pinot noir ou le Pinot gris sont considérés comme des cépages différents.



■ Figure 2: Le Pinot gris est un exemple de chimère: la couleur des baies résulte de l'association d'un épiderme de type noir et de tissus internes de type blanc. La version du génome contenue dans les tissus internes est différente de celle de l'épiderme (mutation à proximité du gène régulateur de la voie de biosynthèse des anthocyanes). Elle se transmet par reproduction sexuée mais pas celle contenue dans l'épiderme. La chimère en tant que telle ne peut être multipliée que par bouturage. D'après *Hocquigny et al. 2004.*



qualité aromatique des cépages et des vins en fonction de l'environnement, ce qui pourrait en retour aboutir à une optimisation de la qualité de la vendange en fonction des terroirs et des conditions culturales, à donner des clés pour sélectionner plus efficacement des variétés répondant à un profil désiré dans un contexte de création variétale pour la résistance aux maladies ou pour l'adaptation aux conditions climatiques du futur ou encore à proposer des outils diagnostiques de la qualité de la maturité des baies plus intégratifs.

Améliorer la gestion et l'utilisation des ressources génétiques vigne

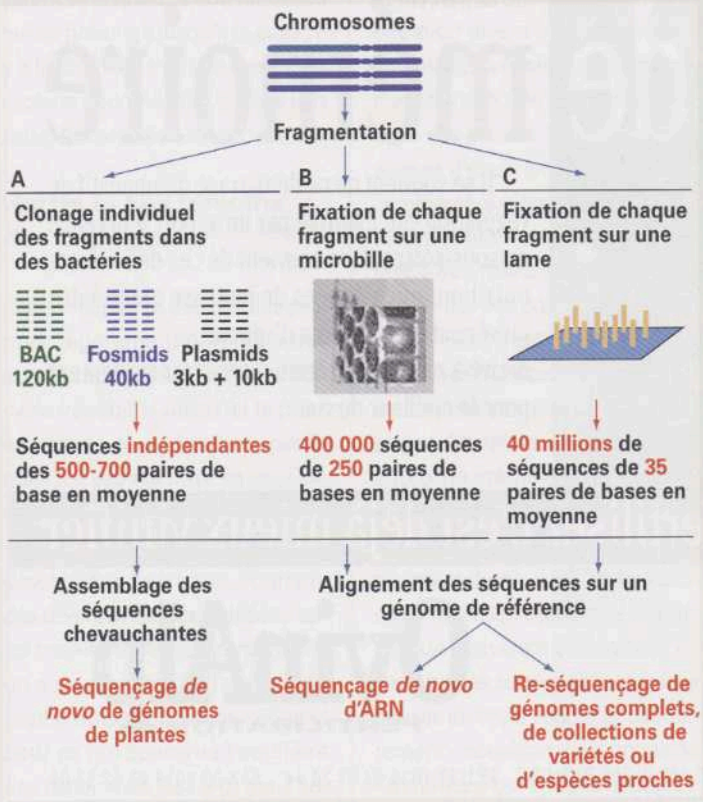
Des programmes ambitieux de conservation des ressources génétiques tels que ceux qui sont menés en France par l'INRA, l'IFV, les partenaires régionaux du Réseau Français des Conservatoires de Vignes et au niveau Européen se sont mis en place. Ils ont pour objectif de limiter l'érosion génétique de l'espèce *V. vinifera* et de répondre aux besoins en ressources génétiques aujourd'hui accrus du fait des changements climatiques, des nouvelles règlementations concernant l'usage des pesticides, d'une volonté de certains producteurs de diversifier leurs produits pour se démarquer dans un marché mondialisé mais aussi des demandes croissantes des scientifiques afin de réaliser des études de génétiques et de génomique fonctionnelle. Ces collections permettent de détenir des références fiables pour l'identification variétale et s'intéressent aussi bien à la vigne cultivée et à ses clones, aux vignes sauvages (Lambrusques autochtones), qu'aux autres espèces du genre *Vitis*. Enfin, ces programmes ont mission de conserver des ressources dites scientifiques (mutants, populations en ségrégation, collections de travail) indispensables aux travaux de recherche engagés sur la vigne. La conservation des ressources génétiques est une activité extrêmement coûteuse en temps et en moyens. Sa réussite passe donc par une gestion rigoureuse du matériel et nécessite une connaissance la plus approfondie possible des ressources pour optimiser les procédures.

Améliorer la gestion et l'utilisation des ressources génétiques du genre *Vitis*

Cette caractérisation des ressources a tout d'abord été réalisée sur la base de caractères agro-morphologiques pour finalement aboutir aujourd'hui majoritairement, après avoir testé différentes méthodes, à l'utilisation des marqueurs microsatellites ***(encadré 1)***. En parallèle, des résultats de plus en plus fins, fiables, rapides et économiques ont été obtenus sur la phylogénie des espèces du genre *Vitis*, la compréhension des relations entre *V. vinifera* et *V. sylvestris* ou encore la découverte des parentés entre cépages à l'aide de ces mêmes marqueurs. L'accès à la séquence du génome en réduit considérablement le coût de développement. Cependant, ces marqueurs ne sont pas adaptés à certaines applications comme l'étude

■ Encadré 2:

Comparaison des nouvelles méthodes de séquençage proposées par 454-Roche et Solexa-Illumina avec la méthode classique de Sanger. La méthode Sanger **(A)** a été utilisée pour obtenir la séquence de référence du génome de la vigne et de *Botrytis cinerea*. Elle est basée sur la construction de banques de fragments d'ADN de chromosomes de vigne dans des bactéries. Les extrémités de chacun des fragments sont ensuite séquencées. L'utilisation de banques de fragments de différentes tailles et la longueur des séquences générées permettent de résoudre une grande partie des problèmes posés par les séquences répétées et de réaliser la séquence *de novo* de génomes complexes. Très récemment, de nouvelles méthodes de séquençage automatique à très haut débit ont été mises au point **(B)** et **(C)**. Dans les deux cas les fragments d'ADN ne sont plus pérennisés dans des clones bactériens mais directement liés individuellement, soit à des microbilles disposés dans les micro-puits d'une plaque **(B)**, soit directement sur une lame **(C)**. Ils sont ensuite tous séquencés en parallèle. Les séquences obtenues sont plus courtes et ne permettent pas de résoudre les séquences répétées. Elles sont donc plutôt prévues pour re-séquencer partiellement de nouvelles variétés et comparer leur séquence à une séquence de référence obtenue avec la méthode **(A)**. Ces méthodes permettent néanmoins de faire baisser significativement les coûts de séquençage puisque une séquence 10X du génome de la vigne couterait de 400 à 600 k€ **(B)** à 16-20 k€ **(C)** contre 10 000 k€ par la méthode **(A)**.

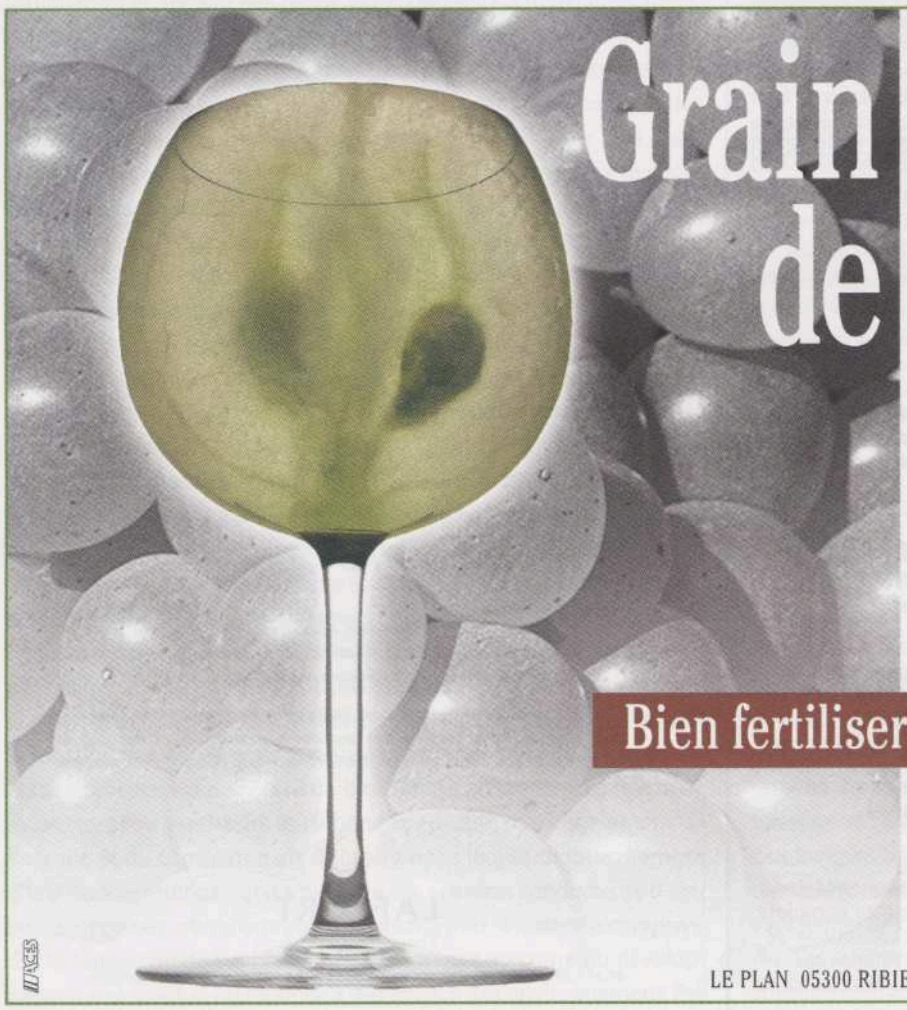


de l'histoire évolutive des espèces ou pour rendre compte de la diversité des gènes. Or, une des opportunités de valorisation des collections de ressources génétiques est leur utilisation pour mettre en évidence des associations éventuelles entre des variations de séquence des gènes et des variations des caractéristiques phénotypiques. Comme en génomique fonctionnelle, ce type d'étude est d'autant plus efficace qu'il est sans *a priori*, ce qui suppose d'étudier la variation de séquence de l'ensemble des gènes. La démarche actuelle, qui a montré son efficacité dans l'étude des maladies génétiques chez l'homme, est de définir des sous-collections de quelques dizaines d'individus représentant au maximum la diversité des ressources génétiques dont l'ensemble des gènes ou l'ensemble du génome sera re-séquencé ***(encadré 2)***. Cette information sera ensuite utilisée pour définir des outils de génotypage permettant maintenant d'analyser en parallèle plusieurs centaines de milliers de marqueurs de type mutation d'une base, appelés marqueurs SNP, dans de larges collections d'individus et ainsi de mettre en évidence des associations variation de séquence/phénotype avec une bonne fiabilité statistique.

Comprendre l'origine de la variabilité clonale pour développer des outils d'identification et de gestion des clones

Au sein d'une variété, les différents clones disponibles correspondent à des descendants par multiplication végétative, chacun d'une souche choisie pour ses aptitudes culturales et son état sanitaire ***(encadré 1)***.
Depuis longtemps déjà, les scientifiques cherchent des réponses aux questions suivantes: (i) quelle est l'origine des clones d'une variété donnée, (ii) en quoi diffèrent-ils et (iii) quelles applications peut-on attendre de ces différences pour identifier et choisir les clones? L'utilisation de marqueurs microsatellites pour étudier la diversité génétique de larges collections de clones pour différentes variétés a montré qu'ils ont en commun plus de 98 % de leur génome et a permis de conclure que les tous les clones d'une variété donnée sont issus d'un individu originel unique au départ.
La petite fraction du génome qui différencie les clones d'une même variété correspond à des évènements rares de mutations de différents types (modification d'une base, insertion d'une séquence correspondant à un élément mobile ou variation du nombre de répétitions d'un microsatellite) qui apparaissent au cours des générations de multiplication végétative. Le plus souvent, ces mutations n'affectent que certaines assises cellulaires de la plante qui est alors une chimère qui ne peut se propager que par multiplication végétative (mutations somatiques; ***figure 2)***.
L'observation ampélographique ne permet pas d'identifier les clones, surtout à des stades précoces du développement de la plante. L'utilisation de marqueurs moléculaires pourrait donc s'avérer utile en complément la procédure de certification, pour l'identification, la traçabilité et éventuellement la protection du matériel clonal.
Or, les différents types de marqueurs moléculaires basés sur les connaissances actuelles, encore trop partielles, ne permettent l'identification que d'un petit nombre de clones. Une vision globale, à l'échelle du génome, des fréquences des différents types de mutations somatiques à l'origine de la diversité inter-clonale doit être établie en re-séquençant les génomes de plusieurs clones d'une même variété afin de permettre le développement de nouveaux marqueurs moléculaires capables d'identifier tous les clones de vigne et d'améliorer leur sélection. ■

***NDLR**: Les parties 1 et 2 de cette étude ont été publiées dans les numéros 129 Spécial (novembre 2008) et 130 (janvier 2009) de la Revue des Œnologues.*



Grain de mémoire

Jusqu'au cœur de la cellule, ce grain de raisin témoigne d'une nutrition harmonieuse assurée par la fertilisation organique et organo-minérale de sa parcelle.

Il se souvient de ce démarrage intempestif de végétation vite maîtrisé par un apport d'urgence en sous-solage. Il se souvient de ces déficiences nutritionnelles évitées de justesse grâce à des pulvérisations foliaires d'appoint.
Arrivé à maturité, il fermentera tranquillement pour le meilleur du vin.

Bien fertiliser c'est déjà mieux vinifier

OvinAlp FERTILISATION

LE PLAN 05300 RIBIERS TÉL 33 (0)4 92 63 24 44 FAX 33 (0)4 92 62 23 06