

Séquençage du génôme de la vigne : quelles perspectives pour notre viticulture ?

Dr Hélène Berges - INRA Toulouse - Centre National de Ressources Génomiques Végétales

[L'INRA et la génomique au service de la vigne : de nouveaux outils pour l'amélioration des cépages et la gestion des ressources génétiques.](#)

Les équipes du département de Génétique et d'Amélioration des plantes (DGAP) de l'INRA travaillant sur la vigne mènent des recherches dans deux grands domaines :

* l'analyse des ressources génétiques dont l'INRA est dépositaire (porte-greffes, cépages)

* l'analyse des bases génétiques de divers caractères d'intérêt agronomique tels que la résistance aux maladies, la composition de la baie, sa qualité

Dans ces deux domaines, les outils de la génomique permettent des avancées des connaissances et le développement de nouvelles applications, notamment pour l'identification des cépages et la création de nouvelles variétés.

La Génomique et les ressources génétiques

Les ressources génétiques de la vigne dont l'INRA a la charge, représentent un énorme patrimoine scientifique, économique et culturel. Plus de 3000 cépages de vigne (*Vitis vinifera*) ainsi que des espèces apparentées provenant du monde entier, sont conservés sur plusieurs sites :

* au conservatoire du Domaine de Vassal, à Marseillan près de Sète (Centre INRA de Montpellier), sont conservés quelques 7000 types génétiques différents dont environ 5000 de *Vitis vinifera* et

diverses espèces du genre *Vitis* ou de genres voisins

* les conservatoires des stations INRA de Bordeaux et de Colmar regroupent plusieurs centaines de clones des principaux cépages de ces deux régions

L'informatique et les techniques de marquage moléculaire (étude directe de l'ADN) sont de puissants outils de gestion de cette vaste biodiversité. Les marqueurs moléculaires permettent d'établir les empreintes génétiques des cépages, véritables «co-de-barres» qui en facilitent l'identification. Ils permettent de mieux caractériser les liens de parentés entre cépages.

C'est ainsi qu'ont été montrés les liens entre des cépages très différents : Chardonnay, Pinot, Gouais. Ces mêmes techniques ont aussi montré des apparentements plus forts entre cépages d'une même zone géographique (cépages bourguignons, par exemple) qu'entre cépages de zones différentes (Bordelais, Bourgogne, Sud-Ouest). Ces outils sont des aides très précieuses pour la gestion des collections. Des applications pratiques sont déjà développées au service des viticulteurs : identification des cépages à partir de bois, vérification de l'homogénéité de lots de plants de vigne, etc.

La Génomique et l'amélioration de la vigne

Les techniques de marquage moléculaire ont aussi permis des progrès considérables dans l'analyse des bases génétiques de

caractères d'intérêt agronomique : la carte génétique de la vigne est commencée. Elle va permettre de mieux comprendre le génome de la vigne et son fonctionnement. La fonction de certains gènes a déjà été identifiée (gènes de résistance à l'oïdium, gènes contrôlant le développement du pépin, gènes contrôlant la teneur en sucre et la taille de la baie), d'autres sont en cours d'identification. Ces connaissances seront très utiles pour la création de nouvelles variétés mais aussi pour mieux comprendre la physiologie du développement et de la maturation de la baie de raisin, et ses interactions avec les systèmes de culture.

L'équipe d'Anne-Françoise Adam-Blondon, chercheur à l'INRA (URGV-Evry), est impliquée dans le projet de séquençage du génome de la vigne. Ce projet est un programme international de recherche « *Mieux comprendre la vigne* », basé sur le séquençage du génome de la vigne et l'exploitation des données correspondantes. Coordonné par l'INRA en lien avec le GENOSCOPE-Centre national de séquençage d'Evry et le CRA (Conseil pour la recherche et l'expérimentation en agriculture) italien, ce programme international a pour objectif le séquençage complet du génome de la vigne afin d'explorer, notamment, les déterminants génétiques de la résistance de la vigne aux maladies et de la tolérance aux facteurs environnementaux (sécheresse, froid,...). Disposer de la séquence complète du génome permettra en outre de mieux comprendre les mécanismes physiologiques et génétiques

impliqués dans la maturation des baies ou l'expression des qualités aromatiques. Ce programme sera ouvert ultérieurement aux autres pays intéressés.

Le Centre National de Ressources Génomiques Végétales

L'exploration des génomes représente un enjeu majeur pour la connaissance appliquée au règne végétal. La génomique est définie comme l'étude exhaustive des gènes :

- * localisation au sein du génome (cartes génétiques et physiques)
- * séquençage
- * identification de leur fonction biologique
- * variabilité au sein d'individus d'une même espèce

Elle permet d'identifier des « gènes d'intérêt » des végétaux pouvant intervenir dans la résistance aux pathogènes (virus, bactéries, champignons), la qualité (saveur des fruits et légumes, composition en acides gras ou vitamines, qualité boulangère...), mais également dans les performances agronomiques (précocité, architecture, rendement...). En tenant compte de la diversité existant entre tous les individus d'une même espèce et les formes sauvages apparentées, la génomique permet d'approfondir la connaissance des principales voies métaboliques dans les plantes et de rationaliser la sélection de nouvelles variétés. Les nombreux programmes de génomiques développés depuis quelques années, aussi bien par les entreprises privées que les laboratoires publics, ont entraîné la création et la prolifération de ressources génomiques.

Ces collections sont principalement représentées par des clones bactériens, définis comme une population de bactéries possédant des molécules identiques d'un ADN recombinant provenant d'une espèce végétale. Le fragment

d'ADN est inséré dans un vecteur de clonage. La molécule d'ADN recombinant issu de ce clonage ayant été introduite dans une cellule bactérienne hôte où elle se réplique.

Ces collections génomiques sont majoritairement :

- * des clones BACs. Les Bacterial artificial chromosome (BAC) sont des vecteurs utilisés pour le clonage de fragments d'ADN (taille d'insertion de 100 à 300 kb, moyenne de 150 kb) dans des cellules d'*Escherichia coli*. Les BACs sont la source de clones d'ADN la plus utilisée pour les programmes de séquençage de génome de taille importante
- * des clones d'ESTs (Expressed Sequences tags). Ce sont des courts fragments d'ARN messagers, spécifiques de tissus ou de conditions, qui sont amplifiés et clonés. Ils représentent des marqueurs de séquences exprimées

Ces ressources génomiques végétales constituent un enjeu stratégique majeur pour l'identification de gènes d'intérêt. Le développement des nombreux projets génomiques chez les végétaux, a généré une quantité considérable de collections génomiques. La majorité de ces collections était conservée au sein des instituts qui les ont construites. En France, il n'existait pas de structure gérant ce patrimoine génomique. C'est dans ce contexte qu'a été décidé la création d'un centre unique en France chargé de la conservation et de la valorisation des ressources génomiques végétales.

Le CNRGV a pour but de réunir l'ensemble des collections de matériels génomiques déjà existants et à venir, des plantes cultivées et les plantes modèles (Vigne, Riz, *Arabidopsis Thaliana*, Blé, Luzerne, Tournesol, Colza, Tomate, Maïs, Melon...), de les entretenir, de les valider, et d'en assurer la distribution auprès de la communauté

scientifique régionale, nationale et internationale.

L'objectif du CNRGV est de gérer ces ressources génomiques au profit de l'ensemble de la collectivité, en vue d'une valorisation la plus large possible, en mettant en place les procédures de qualité nécessaires à leur multiplication, leur stockage, leur référencement et leur diffusion.

Les missions principales du CNRGV sont :

- * Collecter, valider et entretenir les ressources génomiques végétales
- * Diffuser les échantillons biologiques
- * Produire et diffuser des outils génomiques à façon l'information biologique relative à ces échantillons.
- * Etre à la pointe de technologies liées à l'analyse des génomes
- * Proposer des formations en génomique et accueillir des équipes.

Depuis le 1^{er} janvier 2004, le CNRGV (unité de recherche de l'INRA-DGAP) est installé dans des locaux provisoires sur le site d'Auzeville et a débuté son activité.

Le CNRGV est composé d'une équipe hautement qualifiée d'ingénieurs spécialisés dans les domaines de compétences complémentaires (Génomique, BioRobotique et Informatique). Le laboratoire est doté de technologies de pointe en génomique et d'équipements automatisés garantissant un traitement haut débit et standardisé des collections.

Le CNRGV possède déjà une collection de BAC de la vigne : BAC library of *Vitis vinifera* Cabernet Sauvignon (Adam-Blondon AF et al., (2005) Construction and characterization of BAC libraries from major grapevine cultivars. *Theor Appl Genet.* 110 (8):1363-71) et propose des services associés à cette ressource (criblage de la banque).