

Master Sciences du Végétal - UdS

4 octobre 2011

Génétique de la vigne

frederique.pelsy@colmar.inra.fr



Laboratoire de génétique et d'amélioration de la vigne

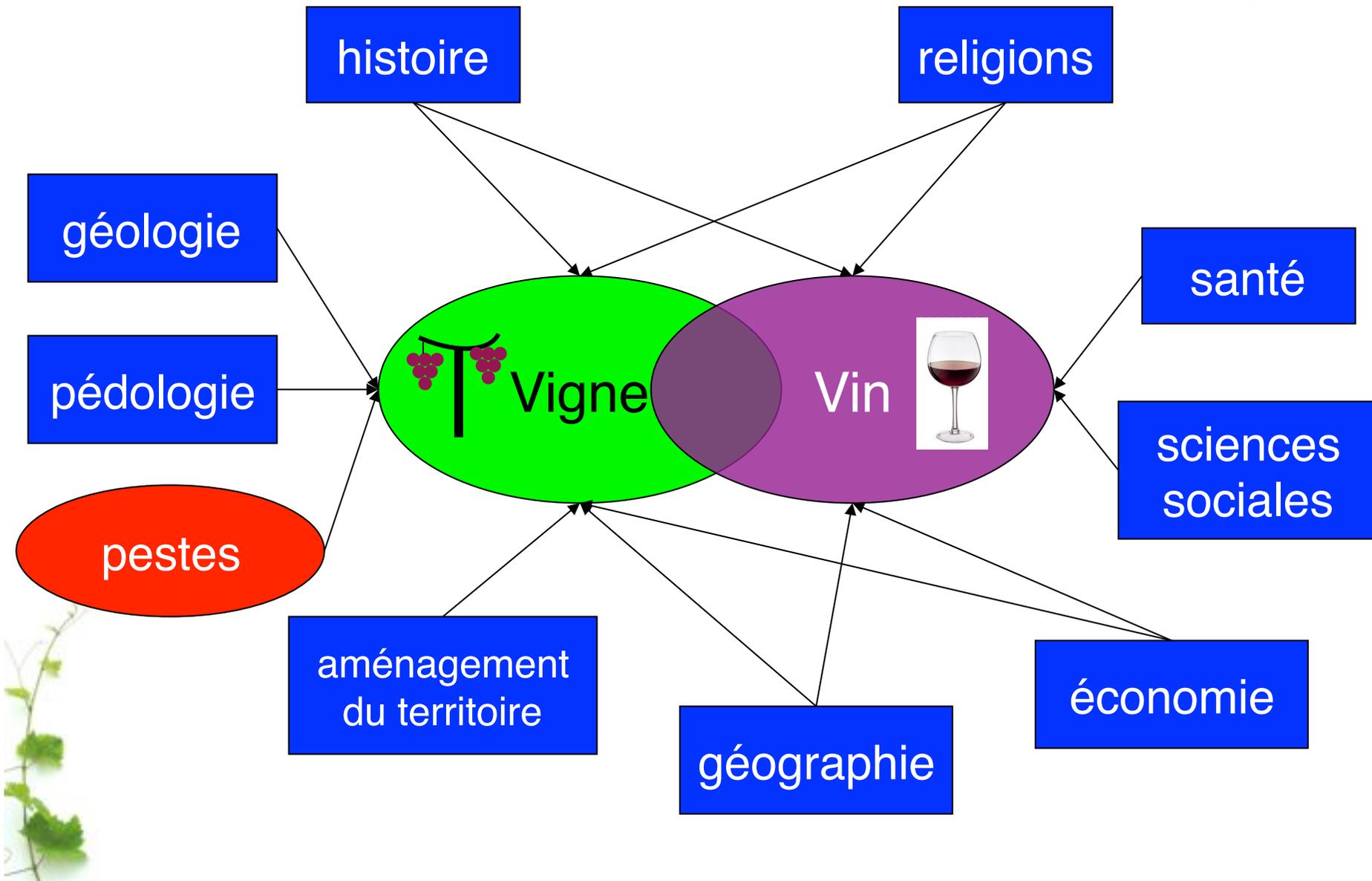
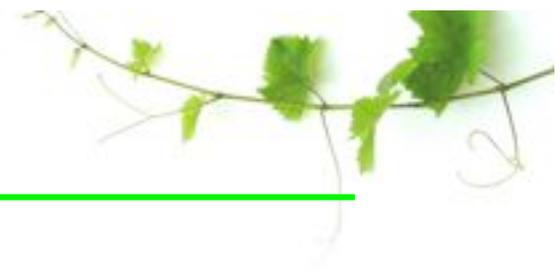


INRA

UMR Santé de la Vigne et Qualité du Vin



La vigne : un point focal des sciences



Les 10 variétés les plus cultivées dans le monde

Surface de la vigne cultivée : \approx 8 millions ha

	Nom de la variété	Surface (ha)	Pays producteurs	%
1°	Sultanine blanche	400 000	USA, Turquie, Iran, Grèce, Afghanistan, Chili, Australie	5,00
2°	Airen blanc	390 000	Espagne	4,88
3°	Grenache noir	240 000	Espagne, France	3,00
4°	Merlot noir	200 000	France, Italie, Bulgarie, USA	2,50
5°	Ugni blanc	190 000	France	2,38
6°	Cabernet-Sauvignon noir	165 000	France, Chili, Russie, Bulgarie	2,06
7°	Carignan noir	160 000	France	2,00
8°	Chardonnay	140 000	France, USA, Australie	1,75
9°	Dattier de Beytouth	120 000	Italie, Turquie, Grèce, Espagne, Bulgarie, Roumanie, Yougoslavie	1,50
10°	Sangiovese	95 000	Italie	1,19

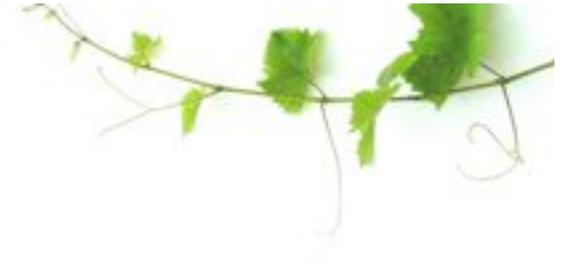
26%

Plan du cours 1



- **La diversité des Vitacées**
- **Origine de la diversité des Vitacées**
- **La domestication de la vigne cultivée**
- **Les apparentements entre variétés**
- **L'intérêt des vignes américaines et asiatiques**
- **Le génome de la vigne**

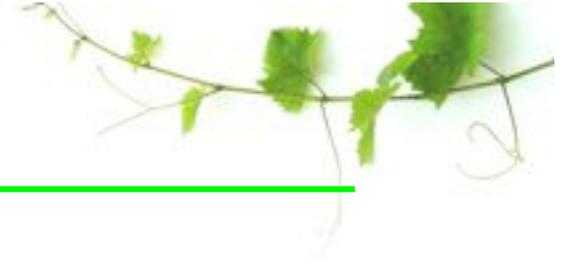




La diversité des Vitacées



Pourquoi étudier la diversité?



Différencier les caractères partagés des caractères particuliers

Aider à la décision pour la sauvegarde des ressources génétiques

Comprendre l'histoire évolutive des espèces et des variétés

Comprendre l'histoire co-évolutive de la vigne et de ses pathogènes

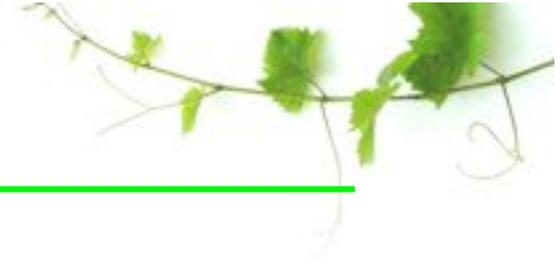


Comment étudier la diversité?

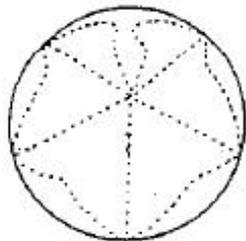
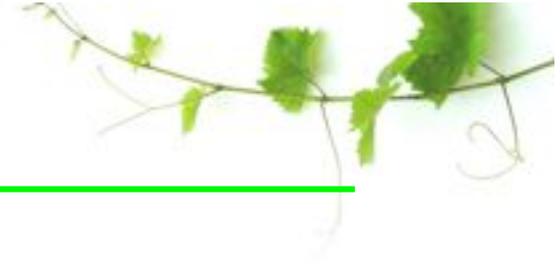
Polymorphisme

Ampélographique

- référentiels morphométriques et technologiques spécifiques de la vigne



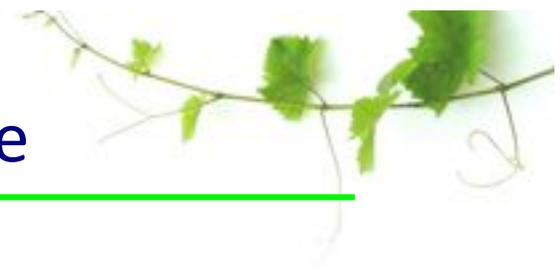
L'ampélographie



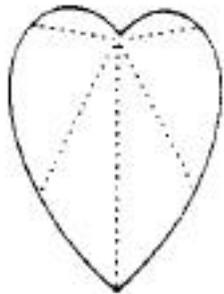
- Rameaux (forme, couleur,...)
- Distribution des vrilles
- Forme des feuilles
- Pubescence des feuilles
- Forme des grappes
- Forme des baies
- Couleur des baies
- Etc...



Exemple d'un critère ampélographique

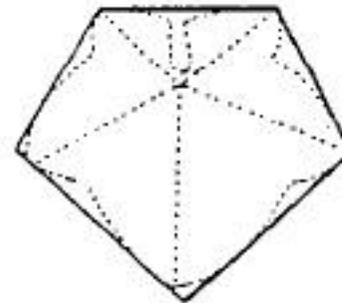


Cordiforme



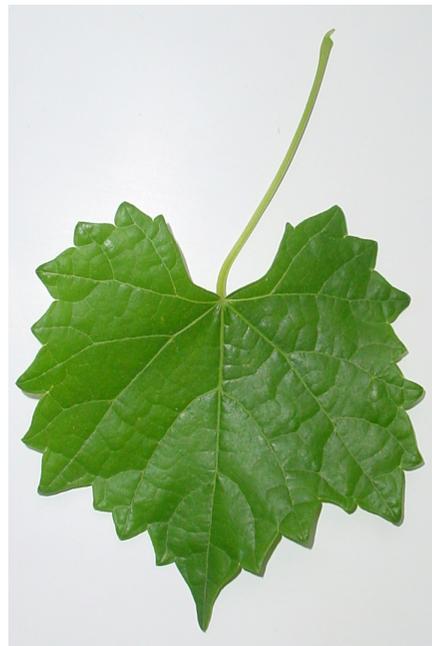
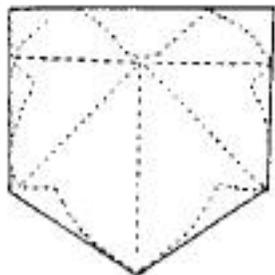
Vitis amurensis

Pentagonale



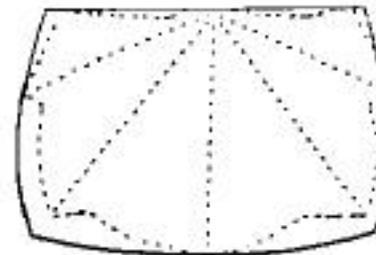
Vitis silvestris

Cunéiforme



Muscadinia rotundifolia

Réniforme



Vitis rupestris



Comment étudier la diversité?

Polymorphisme

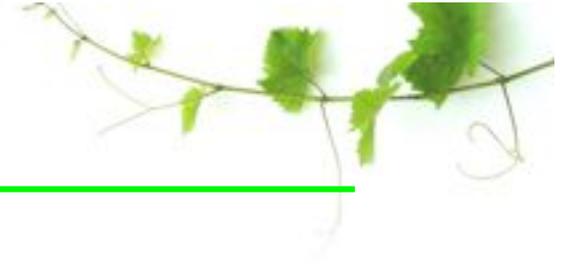
Ampélographique

- référentiels morphométriques et technologiques spécifiques de la vigne

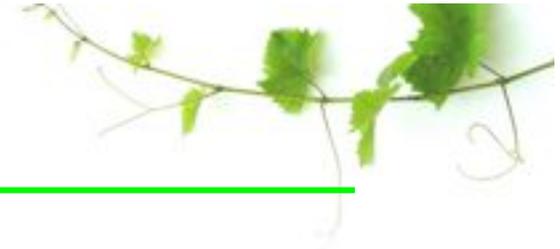
Génotypique

Marqueurs nucléaires, mitochondriaux ou chloroplastiques

- marqueurs neutres (microsatellite, AFLP, RFLP...)
- gènes : structure (SNP, SSCP, séquences), niveau d'expression
- éléments transposables : structure et sites d'insertion



Les marqueurs microsatellite



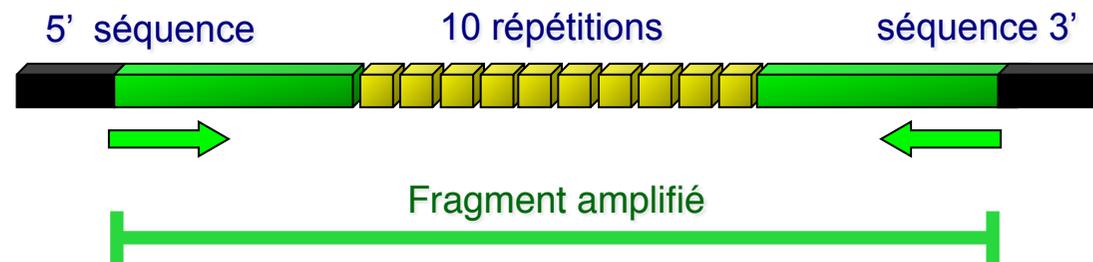
■ Exemple de séquences présentant un motif microsatellite

```
LCS34603.DNA>   ATAATACCTT CCTAATTTAG GACTCTCAAT TGTATATATA TATATATATA
LCS34605.DNA>   ATAATACCTT CCTAATTTAG GACTCTCAAT TGTATATATA TATATATATA

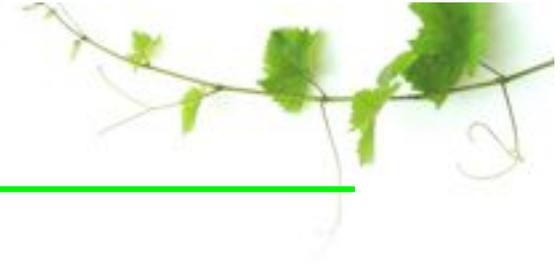
LCS34603.DNA>   TAT----GAG TATTATTCCT CTAATAAAGA TATAGGGAAT TGAGAAATAC
LCS34605.DNA>   TATATATGAG TATTATTCCT CTAATAAAGA TATAGGGAAT TGAGAAATAC

LCS34603.DNA>   CTTTGATGAT TTACA.....
LCS34605.DNA>   CTTTGTTGAT TTACA.....
```

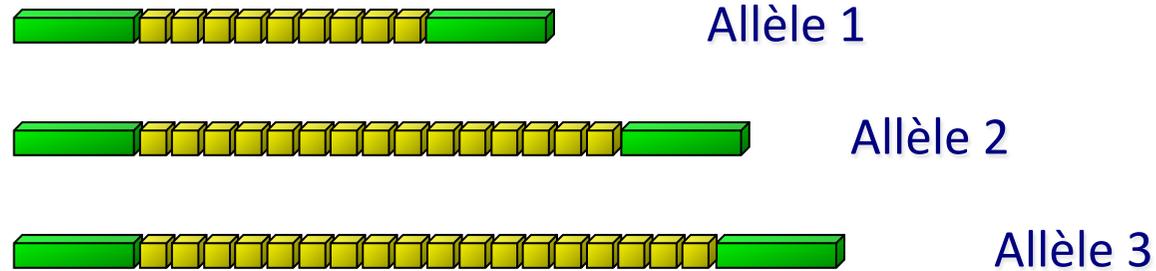
■ Marqueurs locus-spécifique



Les marqueurs microsatellites

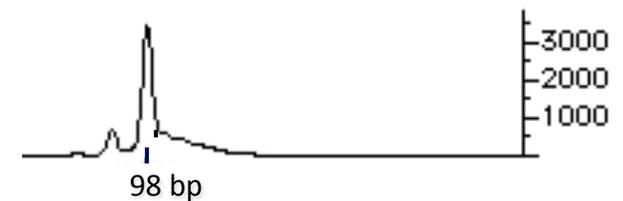
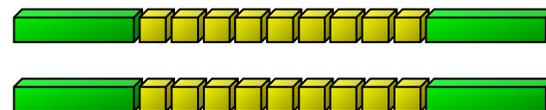


- Polymorphisme de longueur des allèles et multi-allélisme

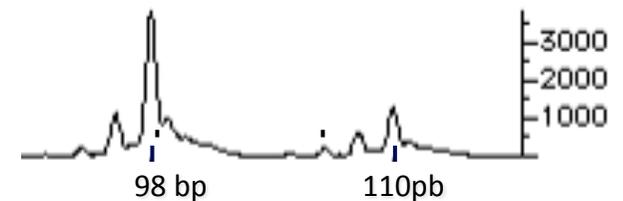
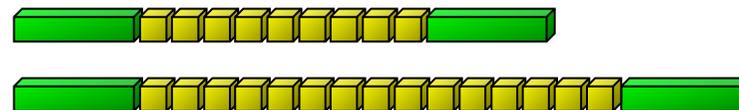


- Co-dominance des allèles des loci microsatellite nucléaires

◆ locus homozygote



◆ locus hétérozygote

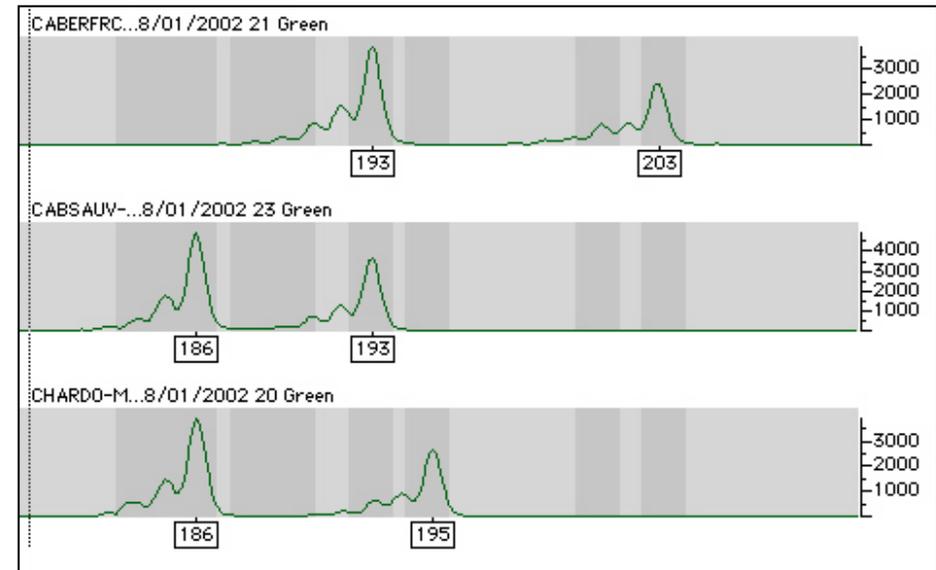
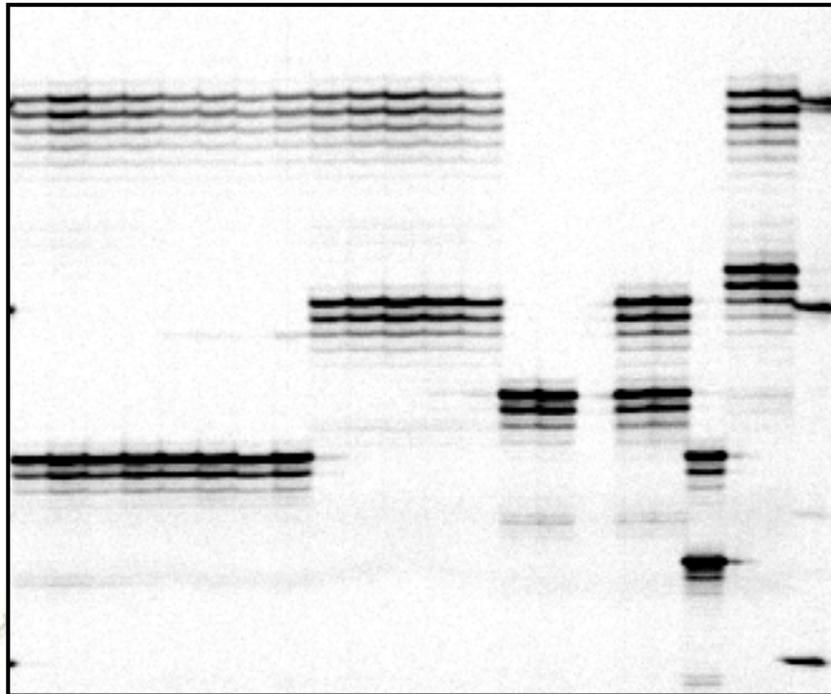


séquenceur ABI PRISM 310

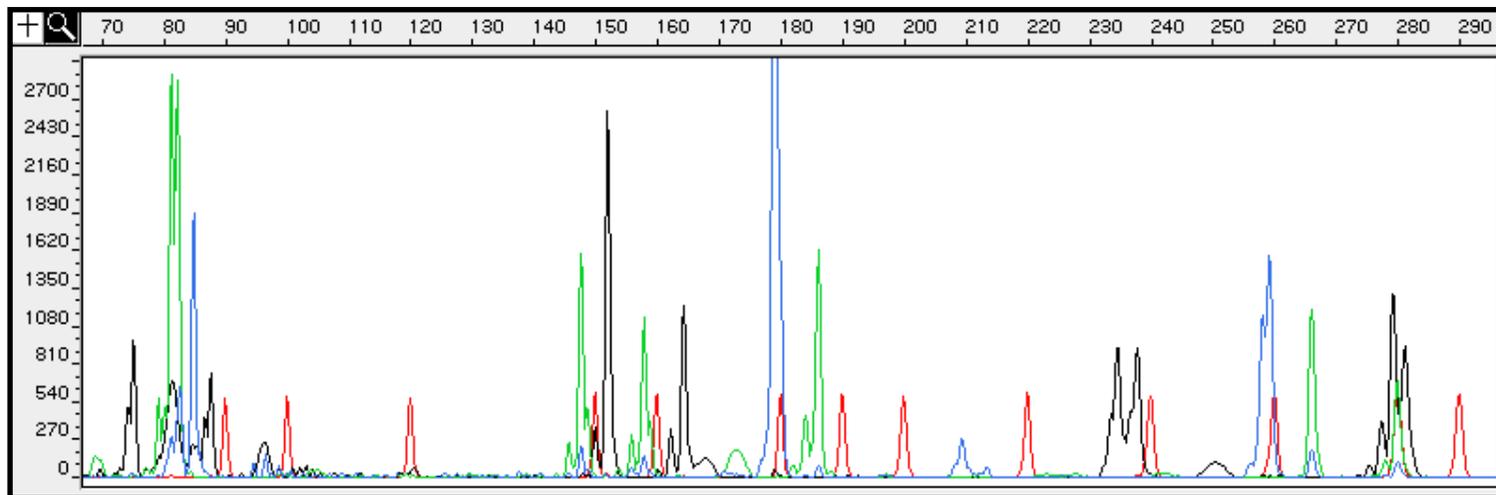


Détection du polymorphisme microsatellite

GW47
GW48
GW643
SR763
SB611
SB612
SB613
SB614
PB54
PB55
PG52
PG53
PN162
CB60
CR61
MO59
AB56
AB57
RB49
SY50
SY487



Multiplexage des marqueurs microsatellite



Analyse simultanée possible de 12 marqueurs par injection

En rouge: le marqueur de taille moléculaire



Origine de la diversité des Vitacées



Datation des premiers fossiles de vigne à l'éocène

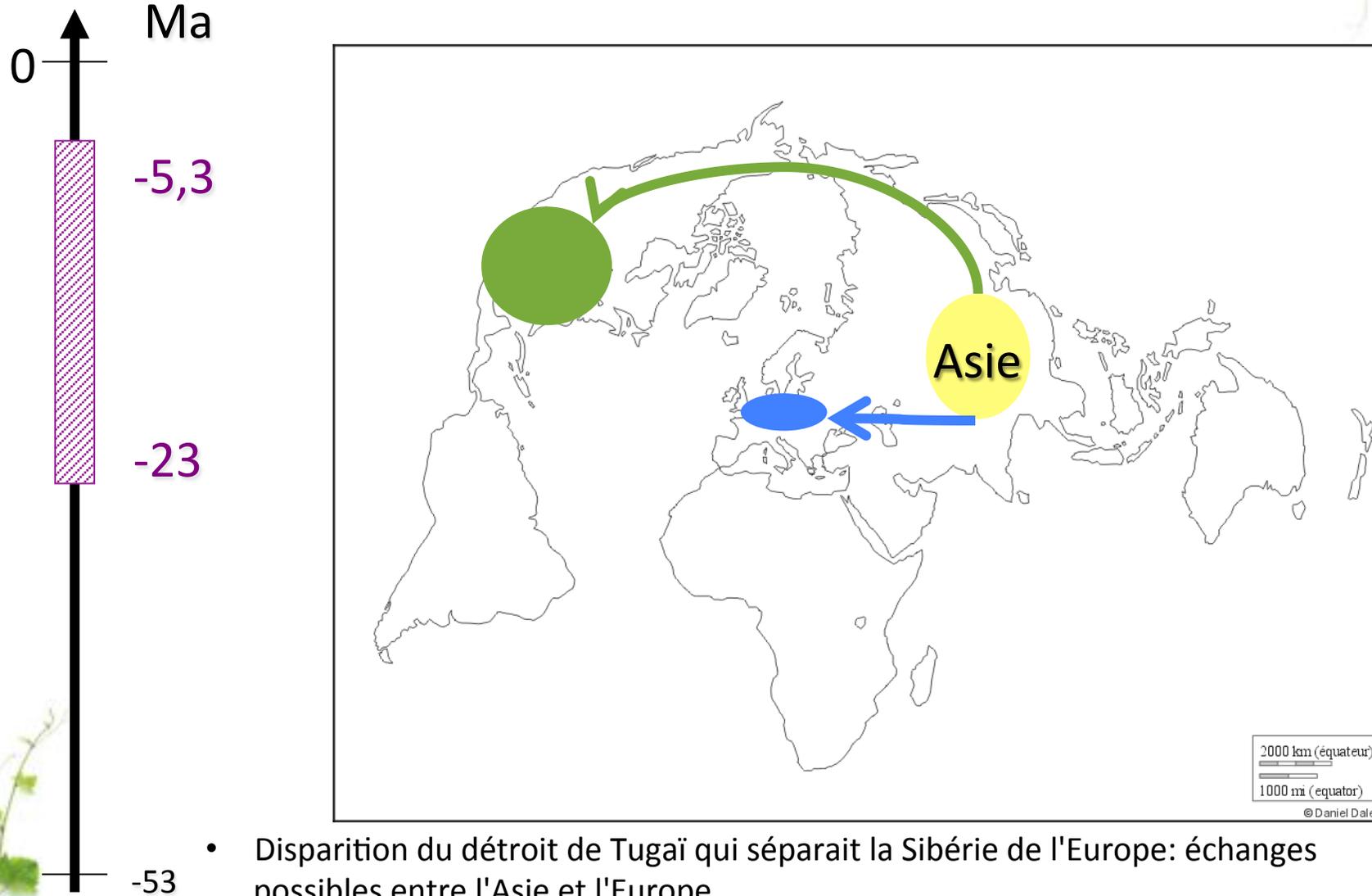
Ma
0



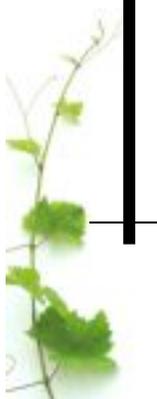
(-53 Ma)

-53

Possible propagation des *Vitis* au miocène (- 23,0 à 5,3 Ma)



- Disparition du détroit de Tugaï qui séparait la Sibérie de l'Europe: échanges possibles entre l'Asie et l'Europe
- Le détroit de Behring est un passage terrestre, en partie forestier pendant une phase de climat chaud, entre l'Asie et l'Amérique du Nord

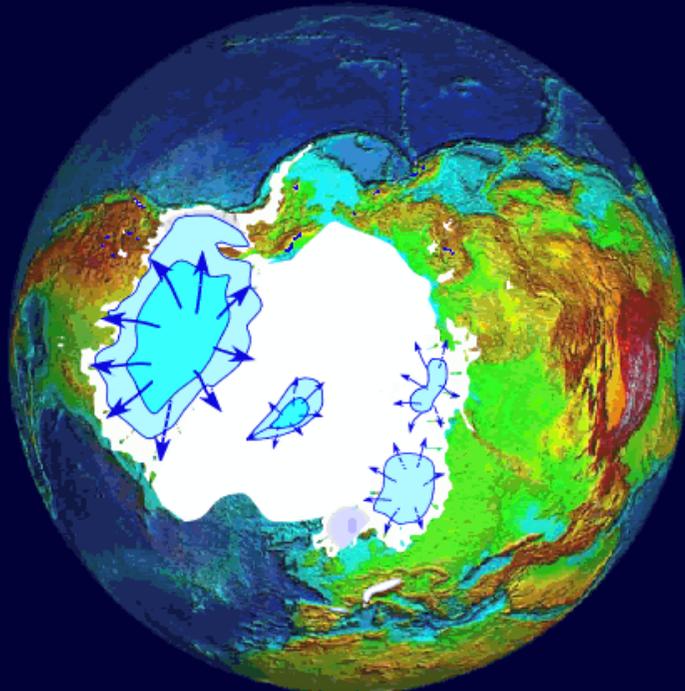


Oscillations climatiques du quaternaire (sur 2,5 Ma)

Ma
0
-2,5

8 cycles de glaciation/périodes interglaciaires (tous les 100 000 ans)

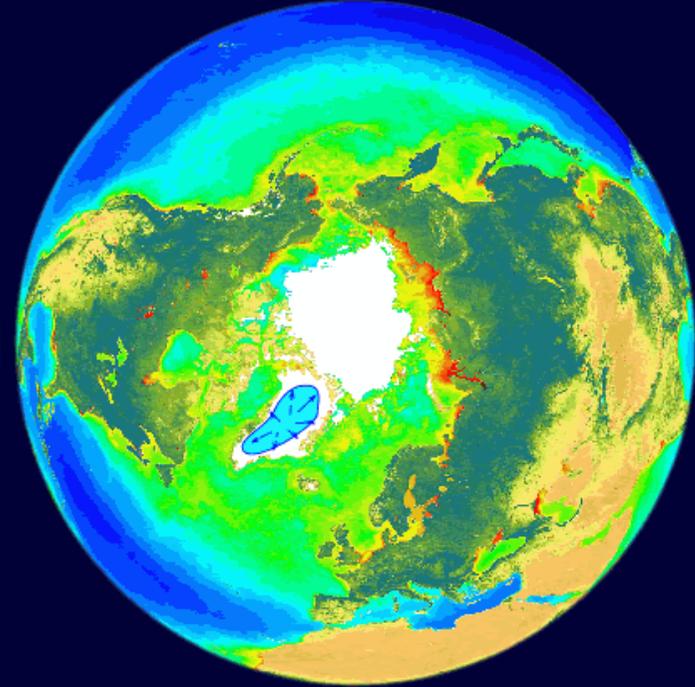
durant la dernière grande glaciation
il y a environ 18'000 ans



calottes majeures
(et banquise)

sur modèle numérique de terrain NOAA

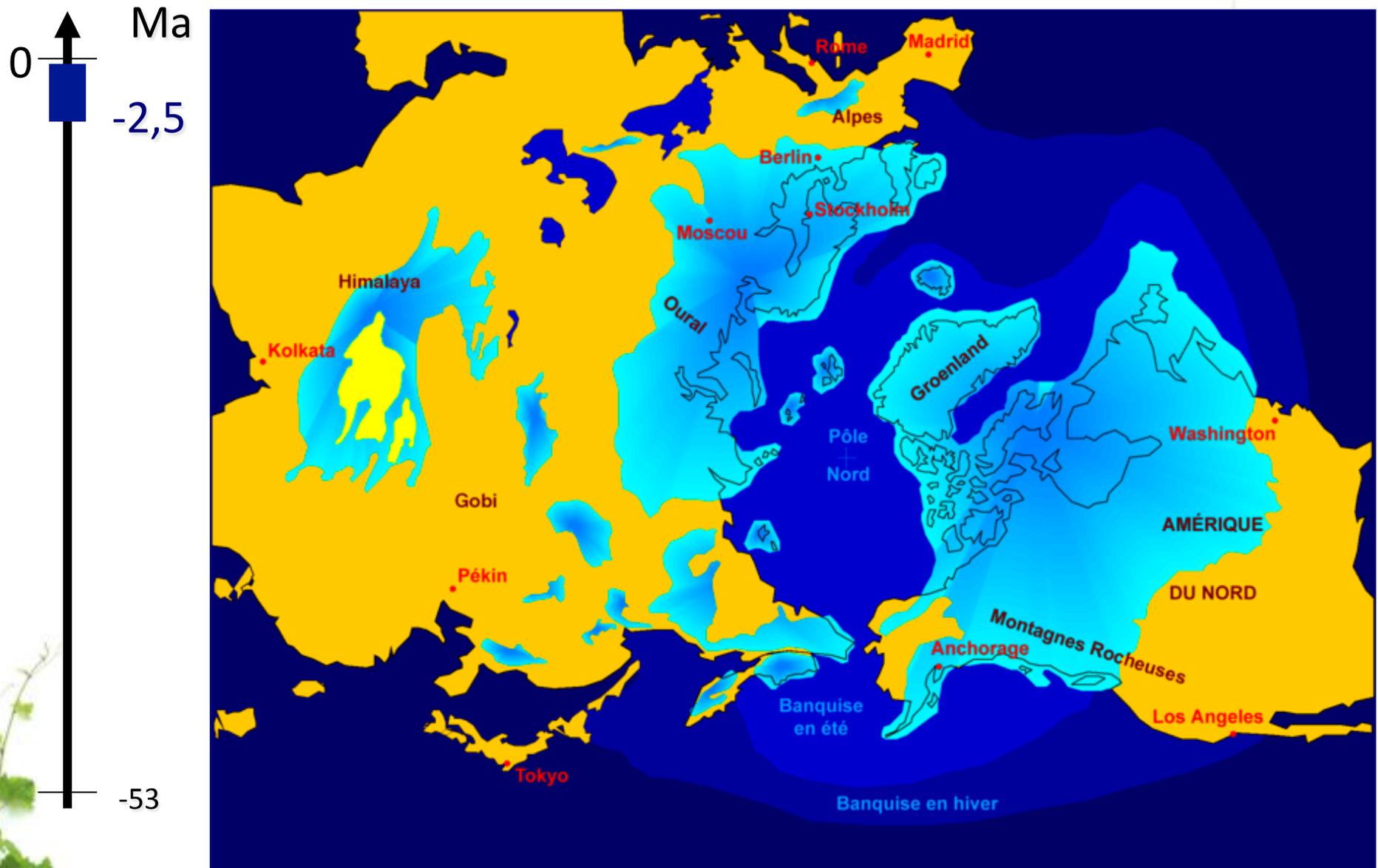
été 2000



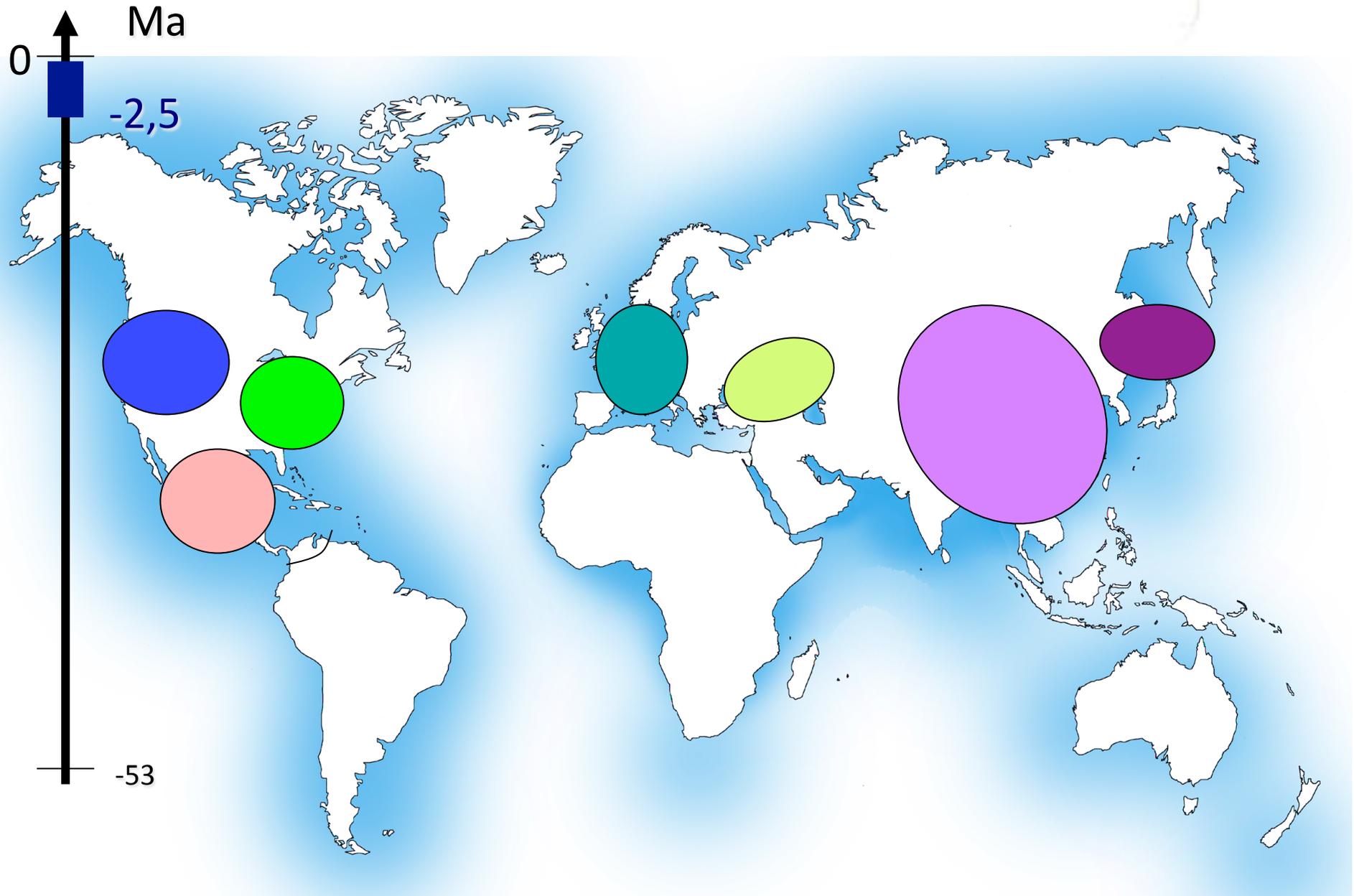
concentration de chlorophylle
par satellite Seawifs

-53

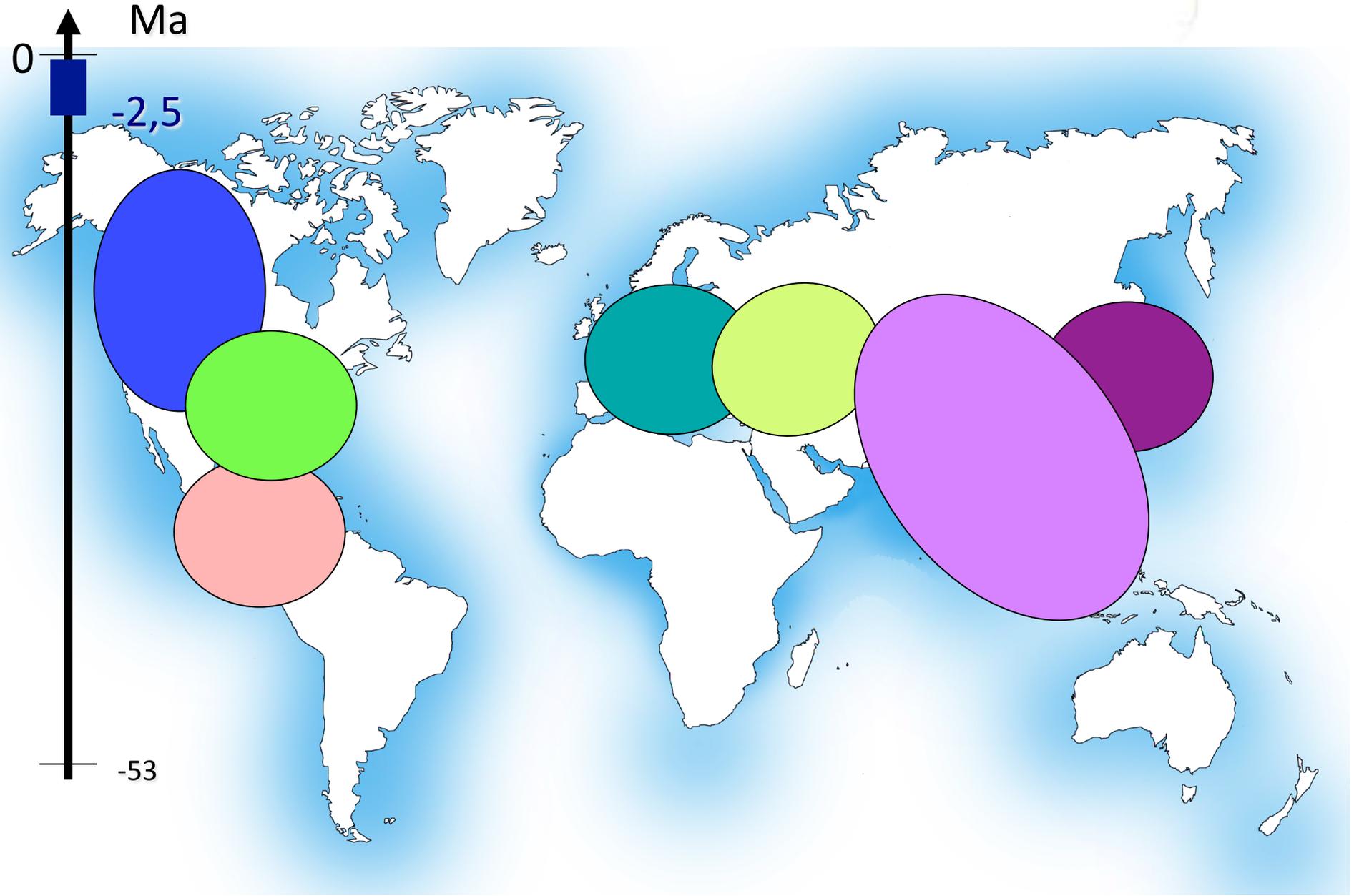
Carte de l'hémisphère nord durant la dernière glaciation



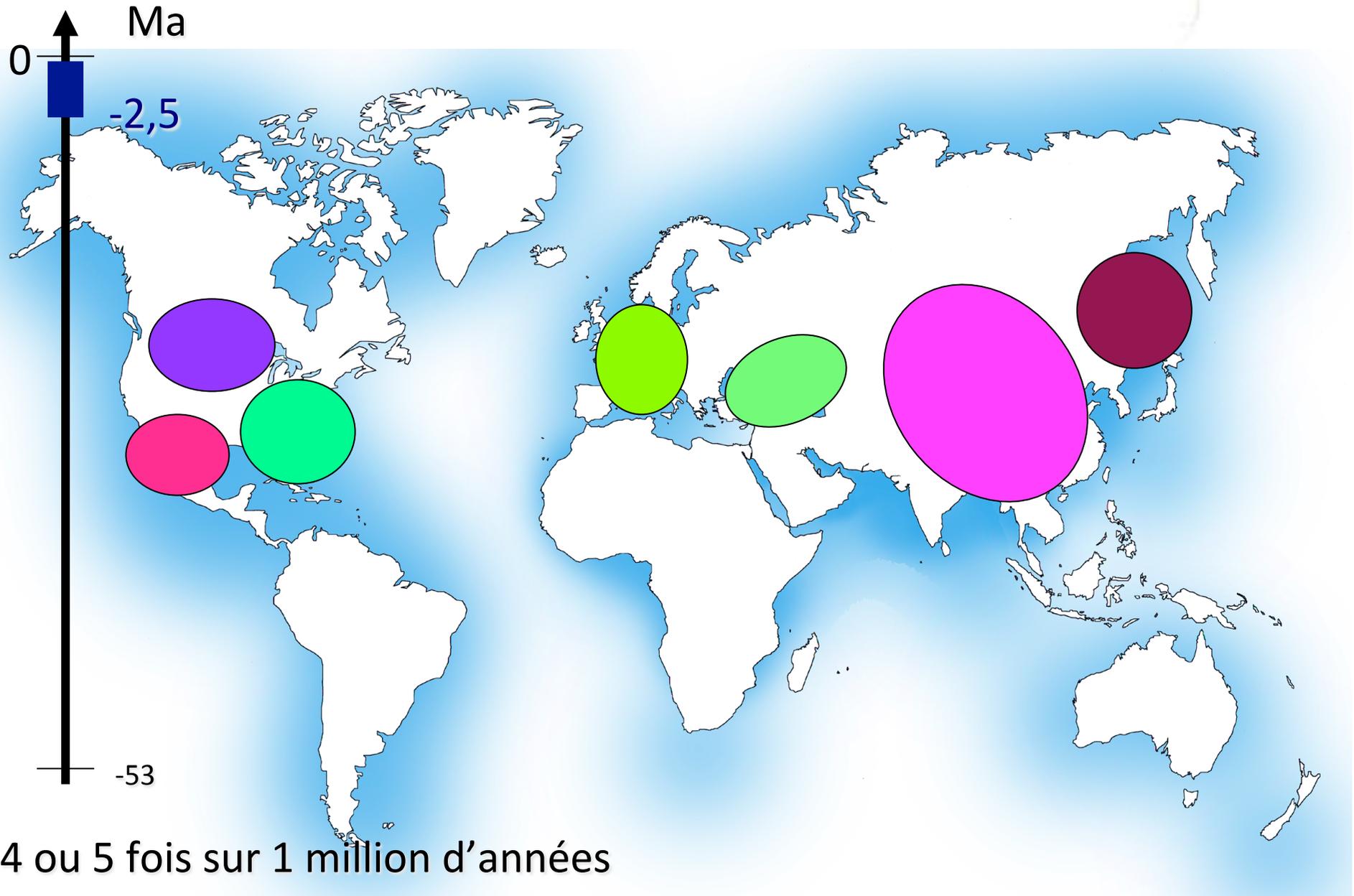
Contraction et fragmentation des populations de Vitacées durant les glaciations successives



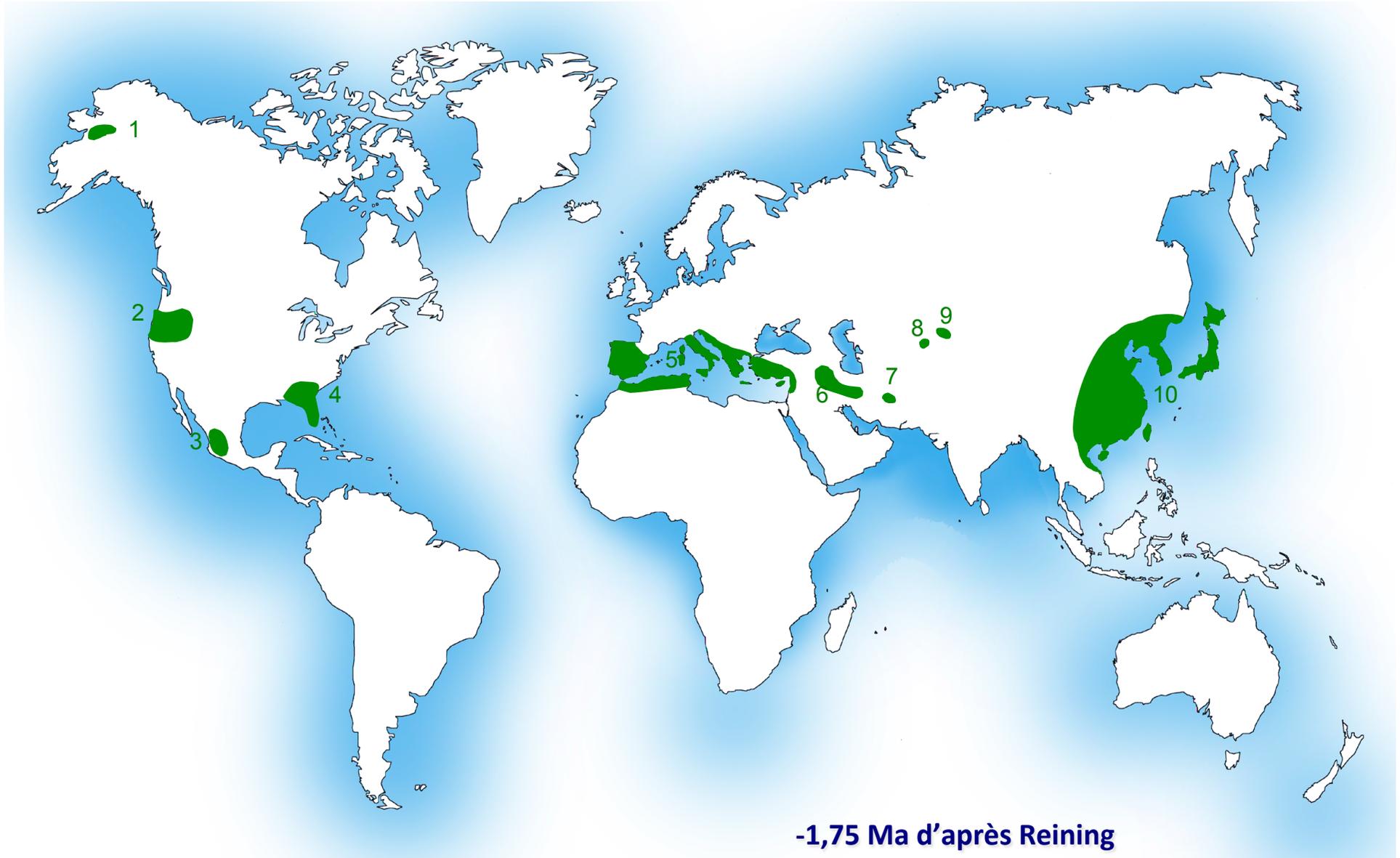
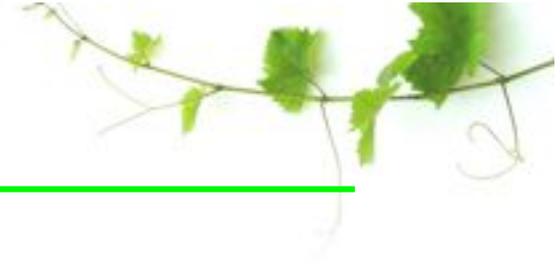
Expansion rapide, recolonisation et brassage des populations durant les périodes interglaciaires



Contraction et fragmentation des populations de Vitacées durant les glaciations successives

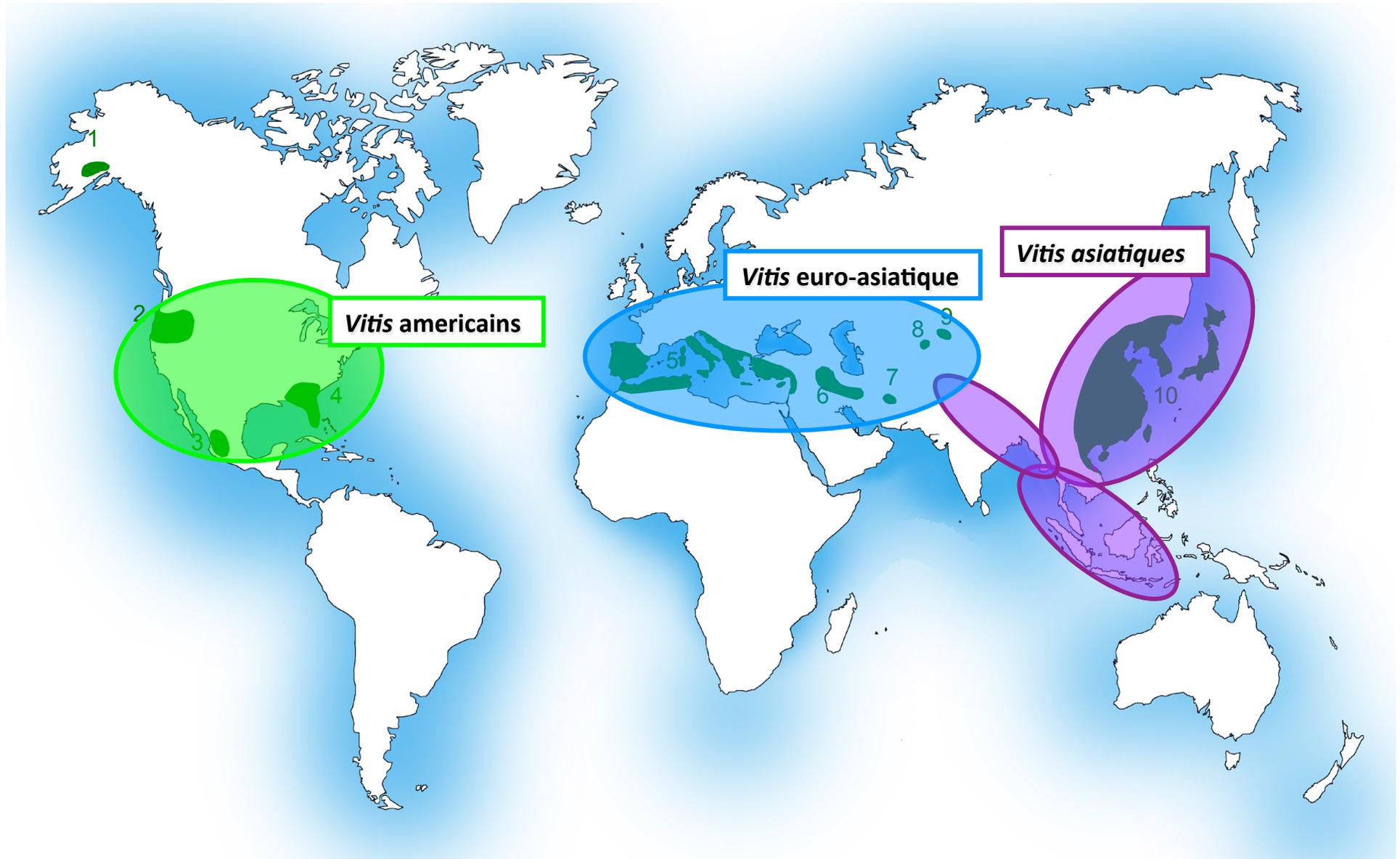
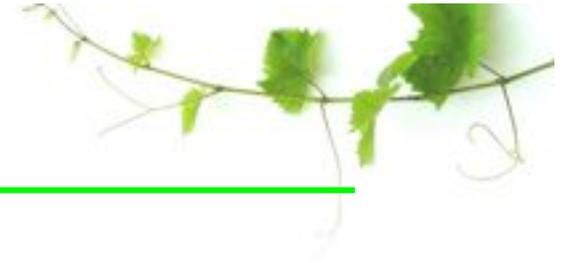


Refuges des temps glaciaires

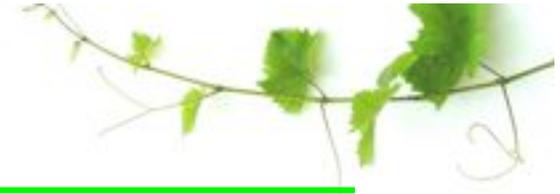


-1,75 Ma d'après Reining

Répartition actuelle des espèces de *Vitis*



Diversité phénotypique des Vitacées



Ampelopsis aconitifolia



Ampelopsis heterophylla



Parthenocissus quinquefolia

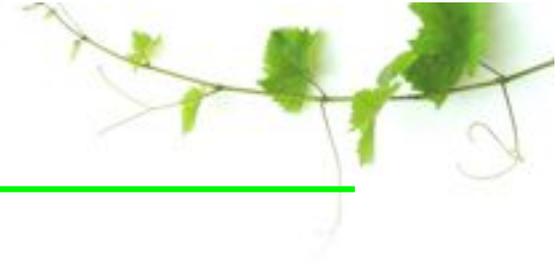


Vitis vinifera



Muscadinia

Diversité des Vitacées



Famille des Vitacées: 17 genres

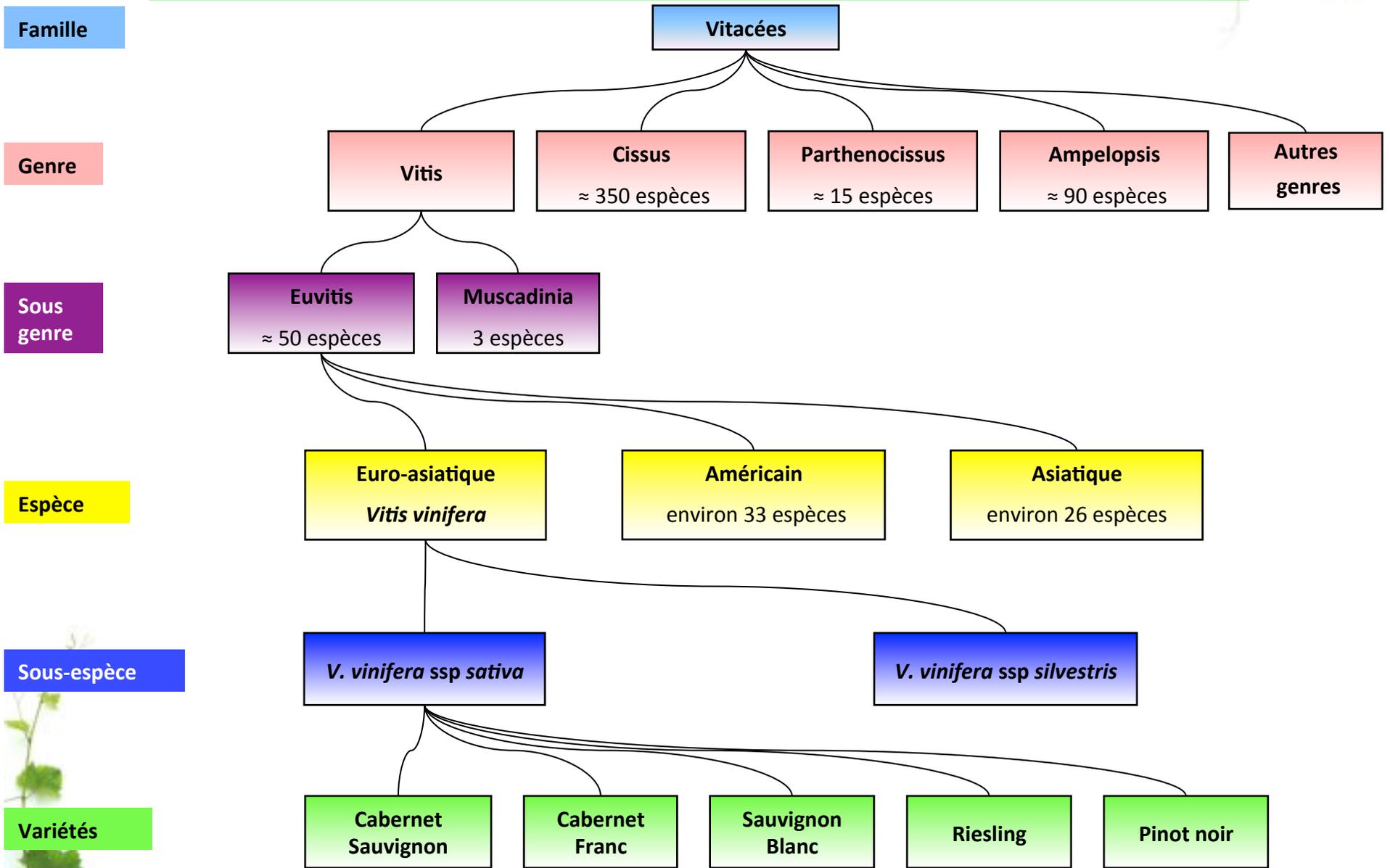
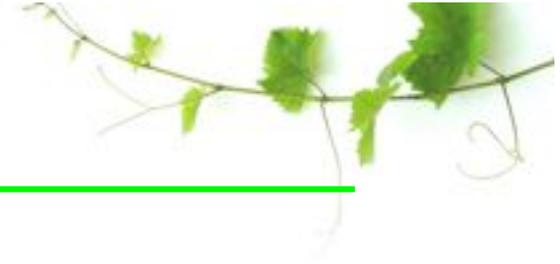
- 1000 à 1200 espèces

Genre *Vitis* : 60 espèces

- 33 américaines
- 26 asiatiques
- 1 européenne : forme cultivée et sauvage



Phylogénie des Vitacées





La domestication de la vigne cultivée





Exploitation des raisins de vignes sauvages par les chasseurs-cueilleurs du Paléolithique

À partir de - 500 000



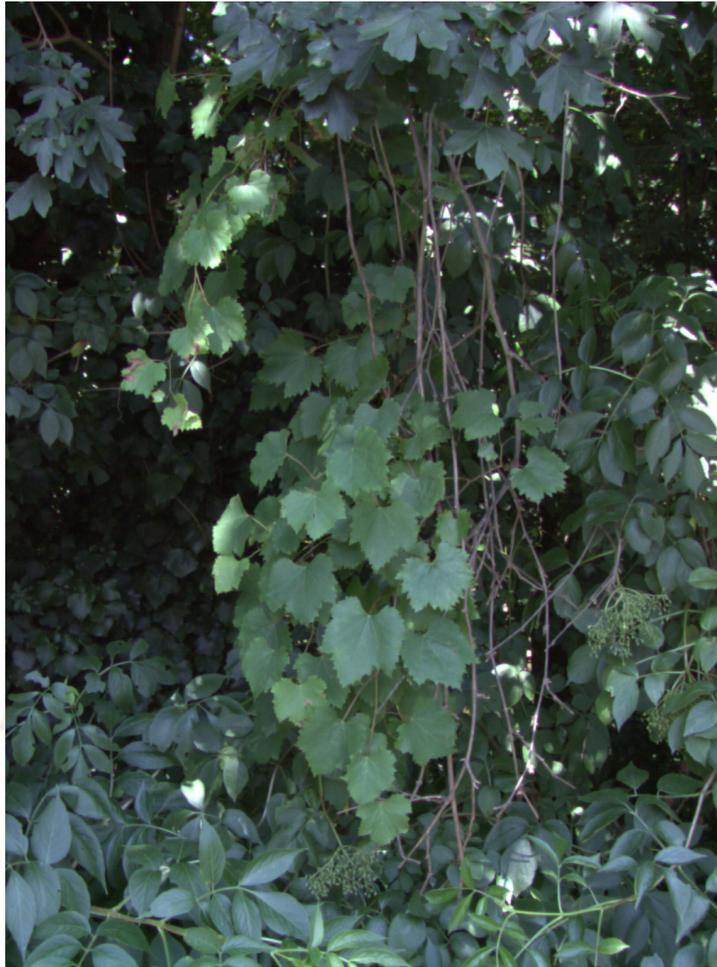
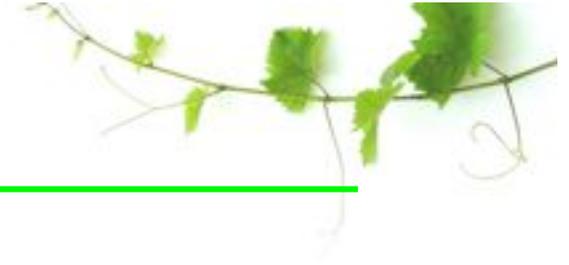
Grotte Chauvet
-31 000



Grotte de Lascaux
-15 000



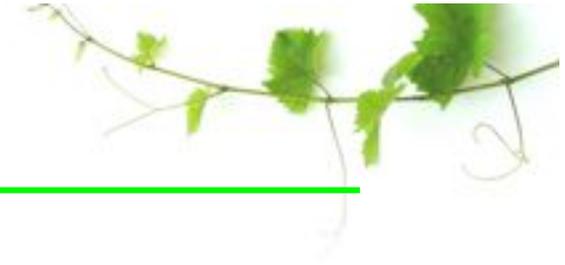
La vigne sauvage



Vitis silvestris

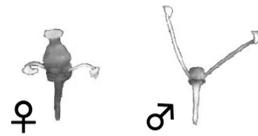
- Dioïque
- Les pieds femelle portent de petites baies colorées
- Plante pérenne, qui grimpe sur la canopée des arbres ou en lisière de forêt
- Sensible à l'attaque de nombreux pathogènes : mildiou, oïdium, phylloxera
- Reste \approx 500 individus en France (Corse et Pyrénées) : espèce en voie d'extinction

La vigne sauvage vs la vigne cultivée



La vigne sauvage

Dioïque (pieds mâle et femelles distincts)



Petites baies et petites grappes

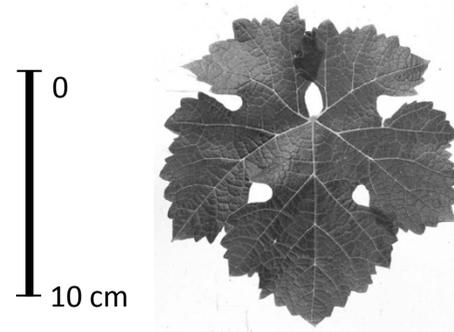


Goût aigre et âpre

Raisins consommés comme fruit frais par les hommes du paléolithique



Pépins ronds avec un bec court



La vigne cultivée

Hermaphrodite (tous les pieds sont mâles et femelles)

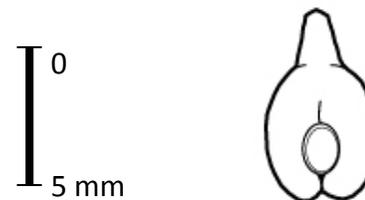


Baies charnues et grosses grappes



Goût sucré et aromatique

Vigne cultivée à partir du olithique pour la production de vin



Pépins en forme de poire avec un bec allongé

La domestication de la vigne au Néolithique



-8500 à -7000

■ Sélection

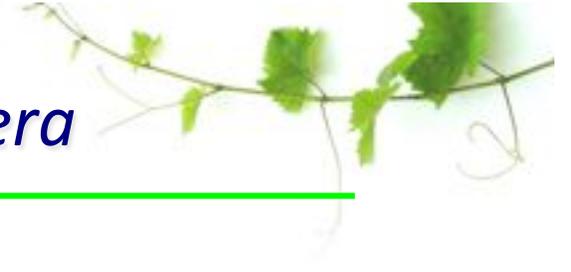
- Hermaphrodisme \Rightarrow modification de la forme des pépins
- Grosseur des baies et des grappes
- Sucre
- Arômes

■ Développement de la propagation végétative

■ Développement des techniques viticoles et vinicoles



Foyers de domestication de *Vitis vinifera*



La domestication de la vigne cultivée a-t-elle eu lieu uniquement dans un seul site ou y a-t-il eu plusieurs foyers de domestication???



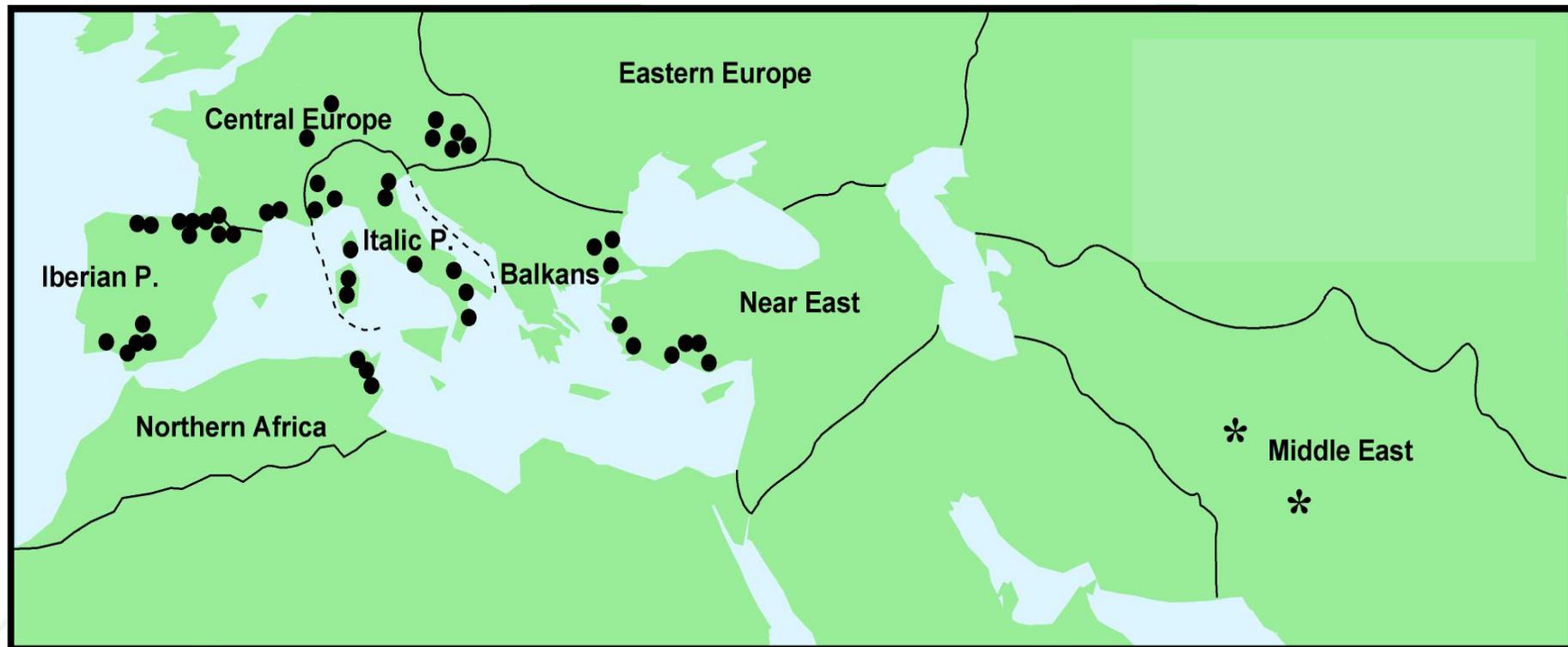
Marquage microsatellite chloroplastique

- Hérité monoparentale (maternelle) des chloroplastes
- Suivi possible de la dissémination par graine ou bouturage
- Vitesse d'évolution du génome chloroplastique < génome nucléaire
- Un allèle/locus par chromosome chloroplastique



1201 échantillons de vignes sauvages et cultivées

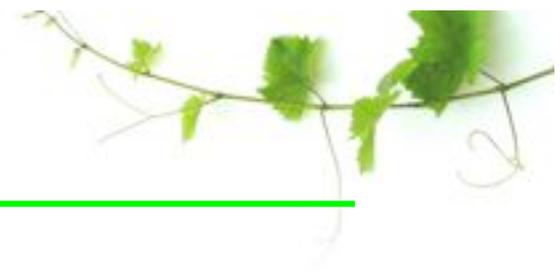
Sites de collecte des vignes sauvages



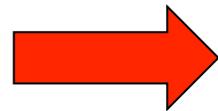
* Localisation précise inconnue

9 marqueurs microsatellite chloroplastiques analysés

Caractérisation des haplotypes



9 marqueurs microsatellite chloroplastiques analysés

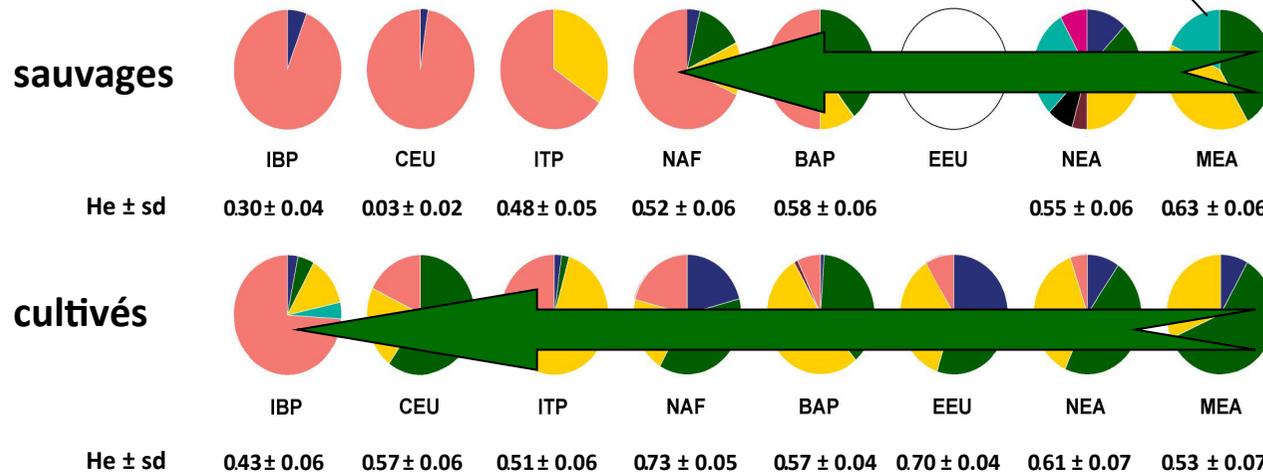
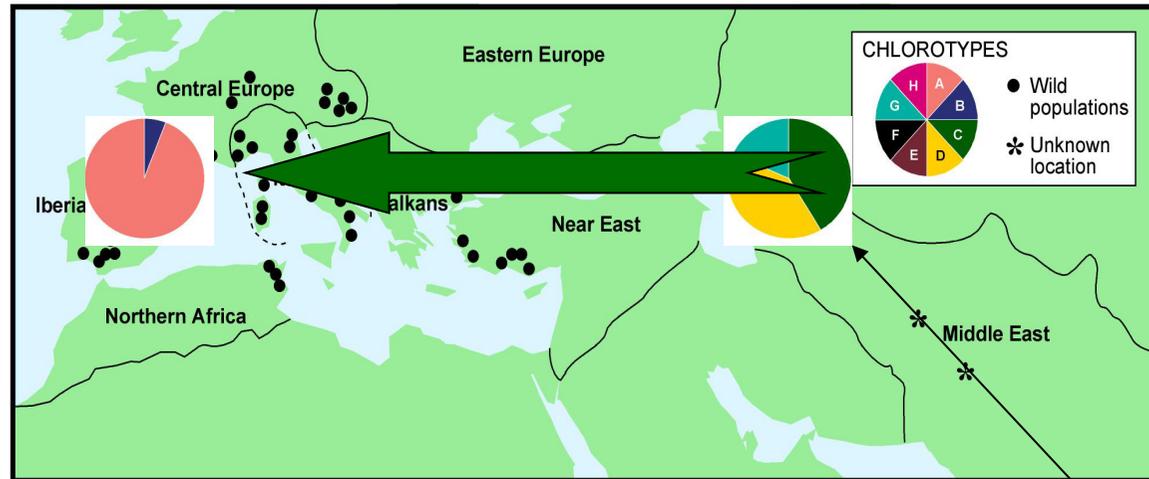


8 haplotypes (A à H)

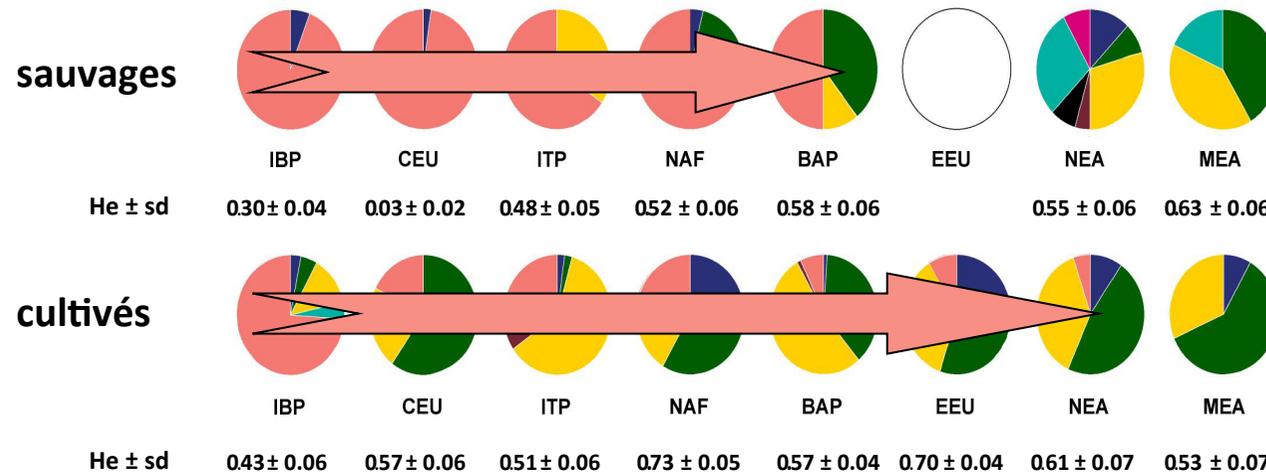
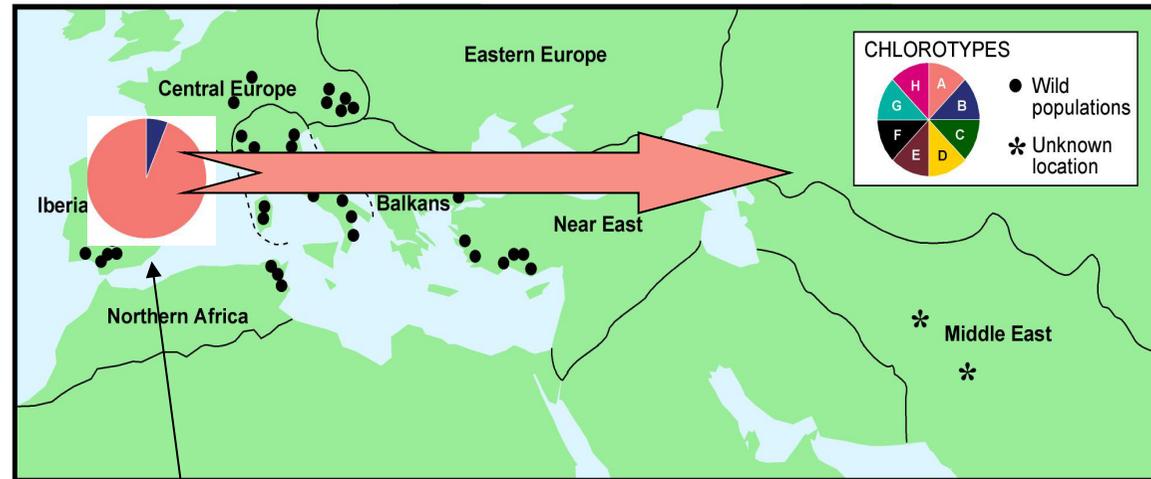
	cpSS3	cpSS5	cpSS10	NTCP-8	NTCP-12	cCSS5	cCSS9	ccSS14	cCSS14
A	106	105	114	248	119	255	166	200	280
B	106	105	115	248	119	255	165	201	281
C	106	105	116	248	119	255	165	202	282
D	107	105	115	248	118	254	165	201	281
E	107	104	114	249	118	254	165	201	281
F	107	104	116	249	119	255	165	201	281
G	106	105	114	248	119	255	165	200	280
H	106	105	115	248	119	255	166	200	280



Un foyer de domestication à l'est

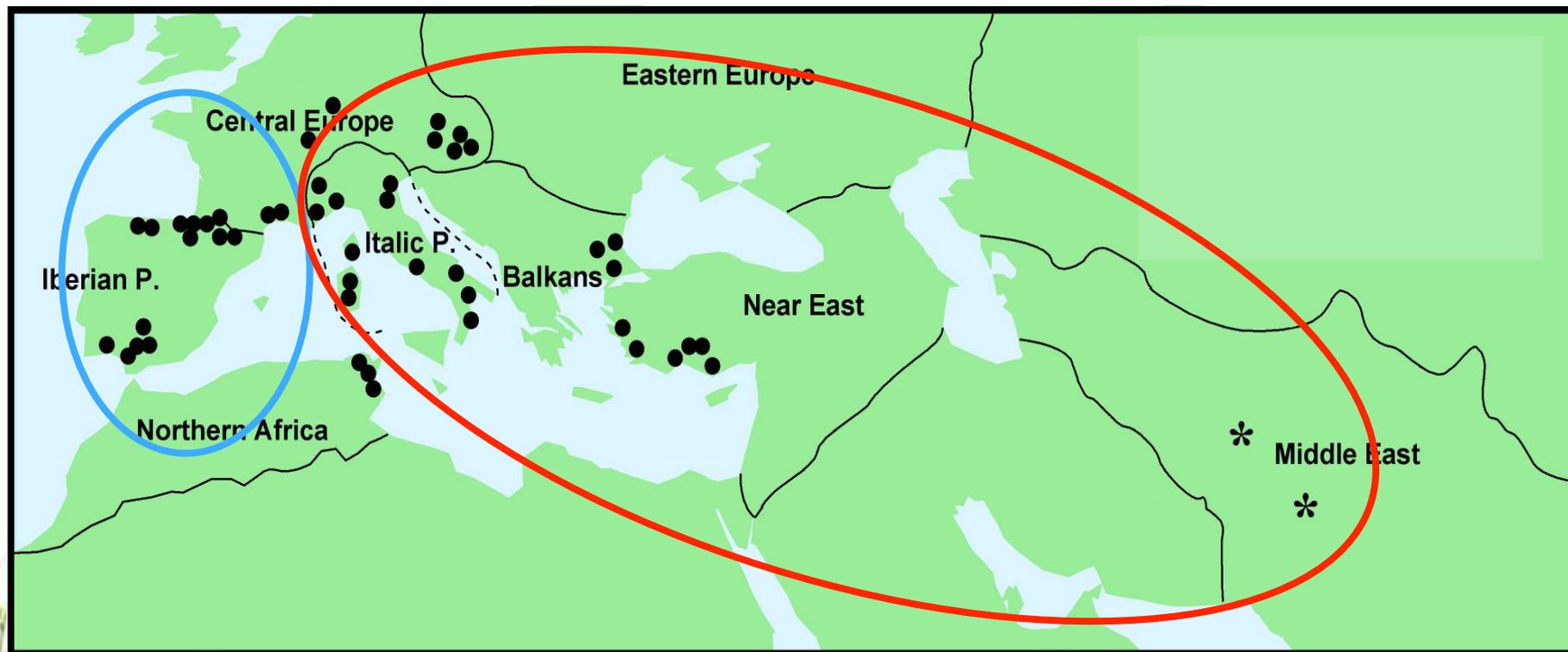


Un autre foyer de domestication à l'ouest



Structuration des populations sauvages et cultivées de vigne

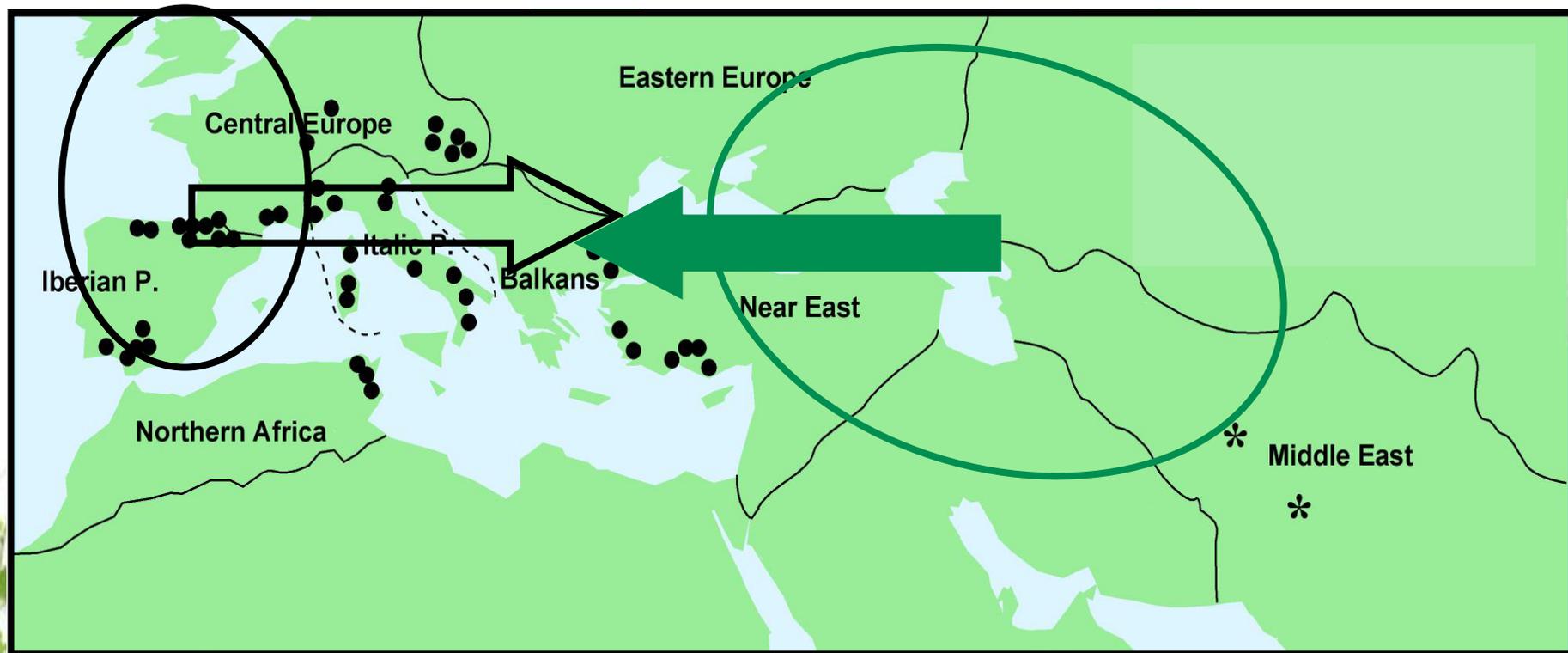
Deux groupes principaux



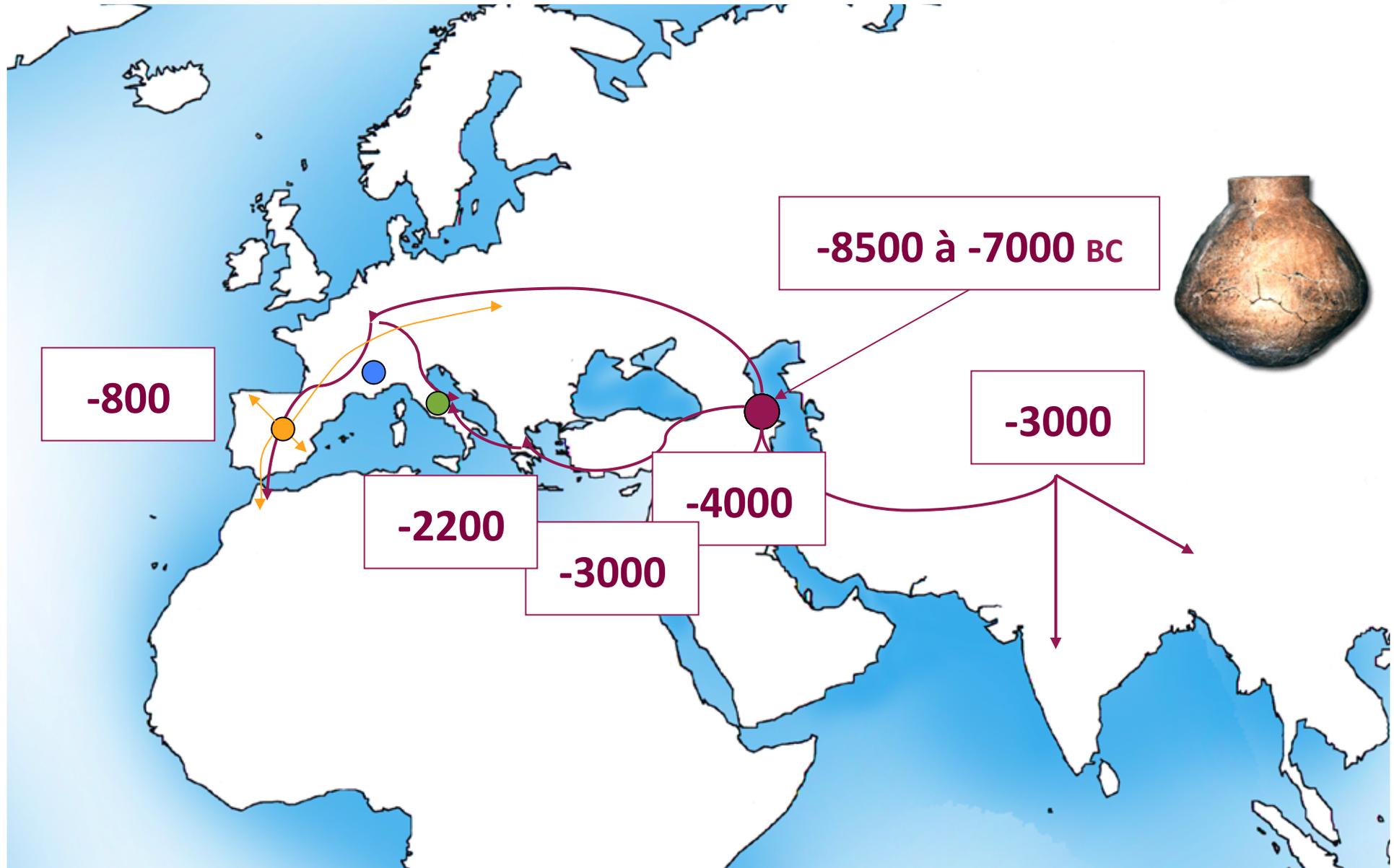
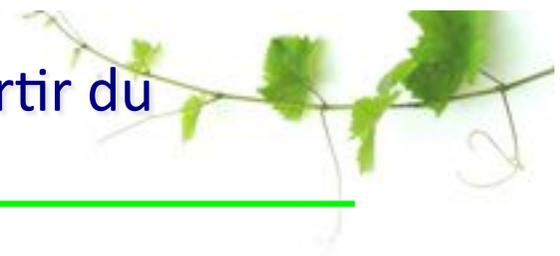
Structuration identique des populations sauvages et cultivées de l'olivier



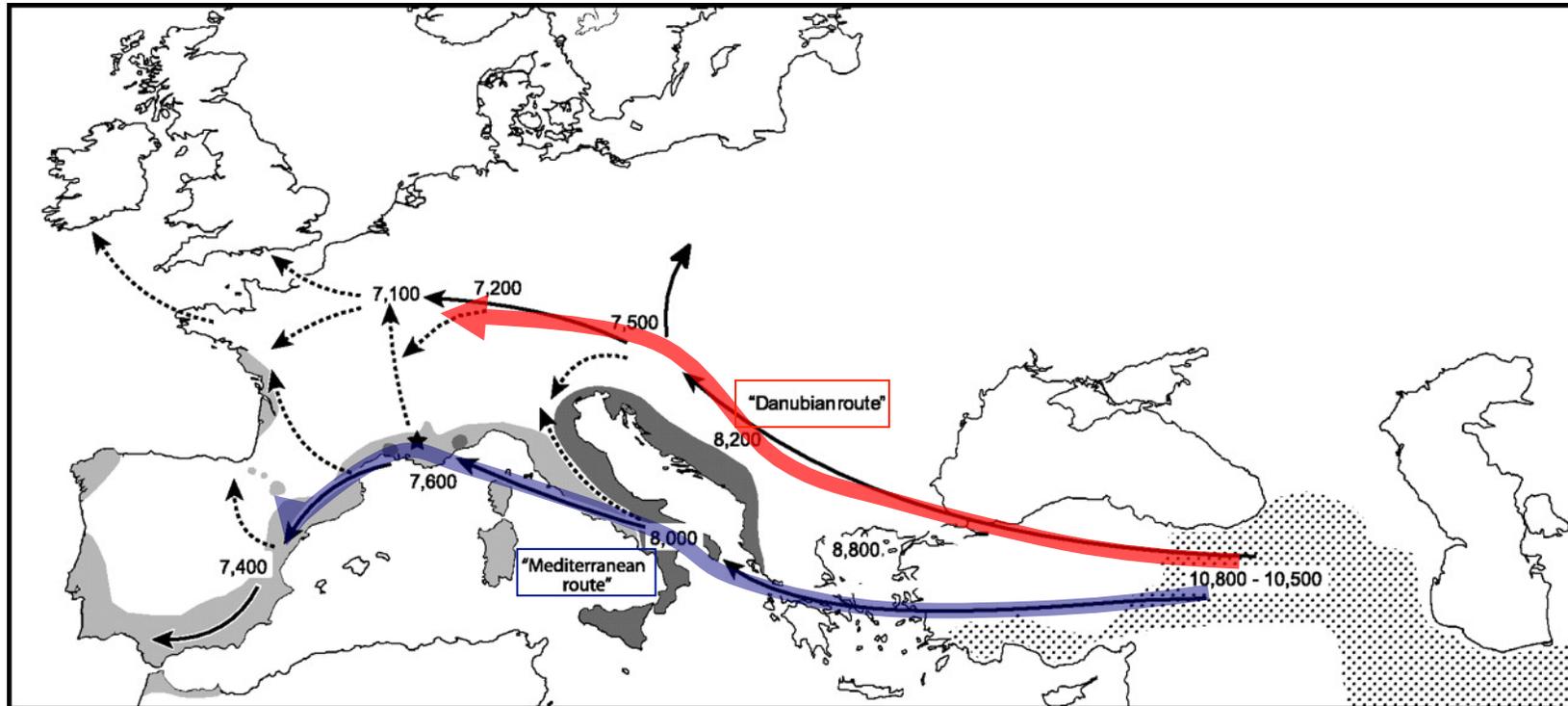
Olivier: fruit et feuille.



Domestication et dispersion de la vigne à partir du Néolithique



Les deux routes de propagation des cultures au Néolithique



Fernández H. et.al. PNAS 2006;103:15375-15379

Map shows occidental part of the current geographic distribution of the wild goat, *Capra aegagrus* (dotted area), as well as the two main waves for the initial advancement of the Neolithic culture into Europe: the Mediterranean route and the Danubian route (4, 8, 9)

Les fosses de Gevrey-Chambertin sont les premières traces de plantations de vignes de l'époque gallo-romaine découvertes en Bourgogne et dateraient du 1er siècle de notre ère



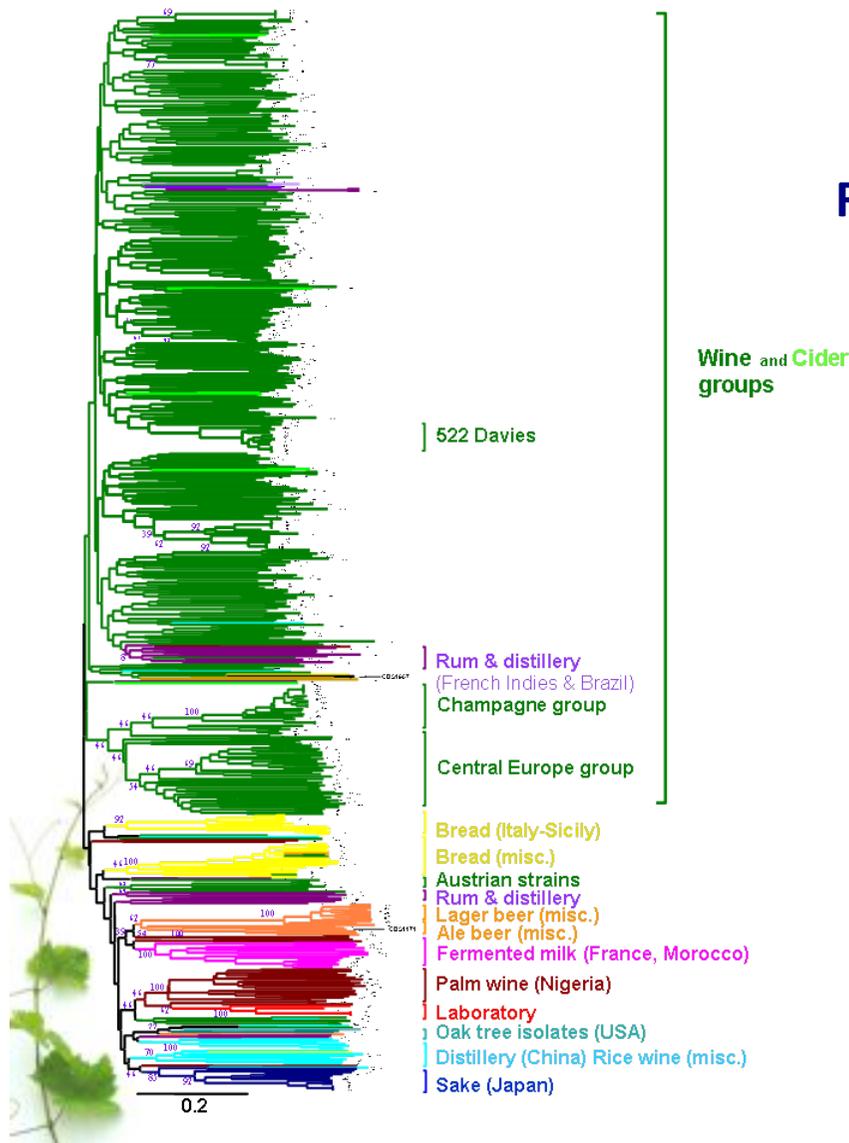
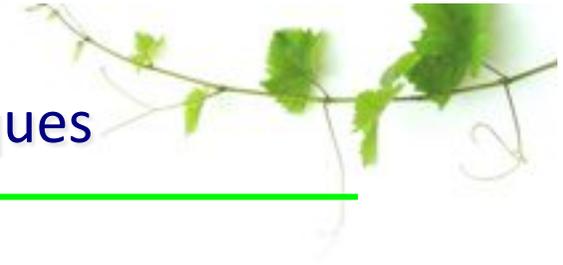
© INRAP

Culture en plaine



monument au marchand de vin de Til-Châtel, conservé au musée de Dijon

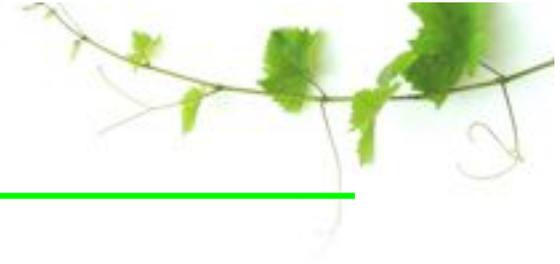
Biodiversité et origine des levures oenologiques



Résultats obtenus sur 650 isolats

- Une forte structuration en fonction de l'origine technologique
- Une partie de la variabilité génétique liée à l'origine géographique
- Un lien fort avec l'histoire de la vigne
- Origine des levures : la Mésopotamie

La vigne cultivée, aujourd'hui



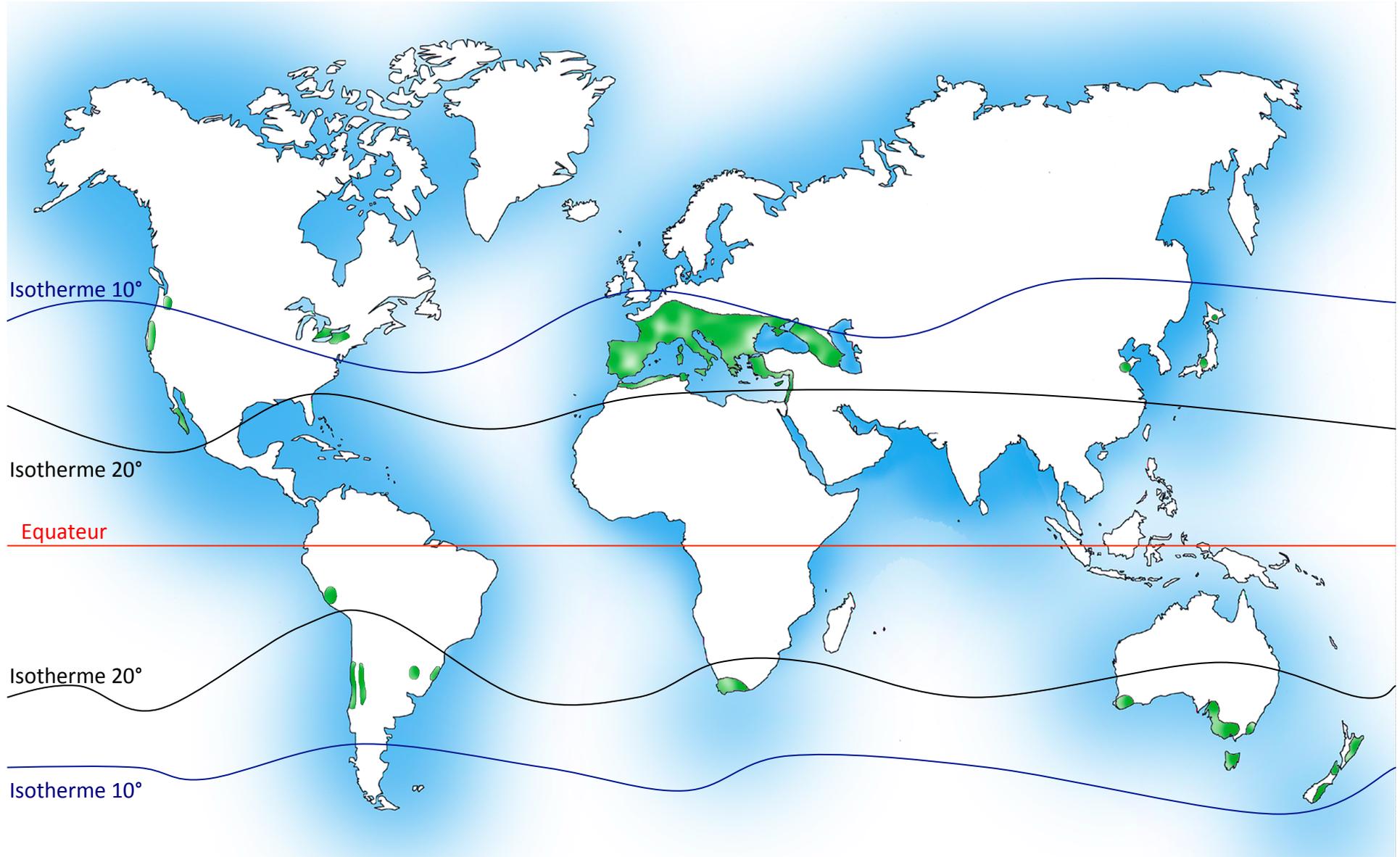
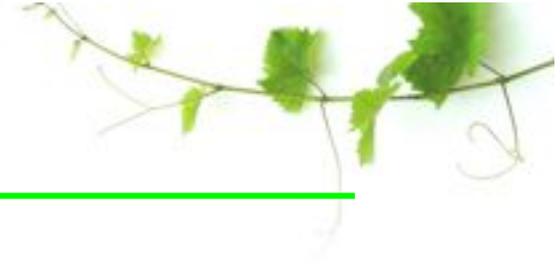
- Hermaphrodite
- Auto-fertile
- Inter-fertile

5000 variétés cultivées

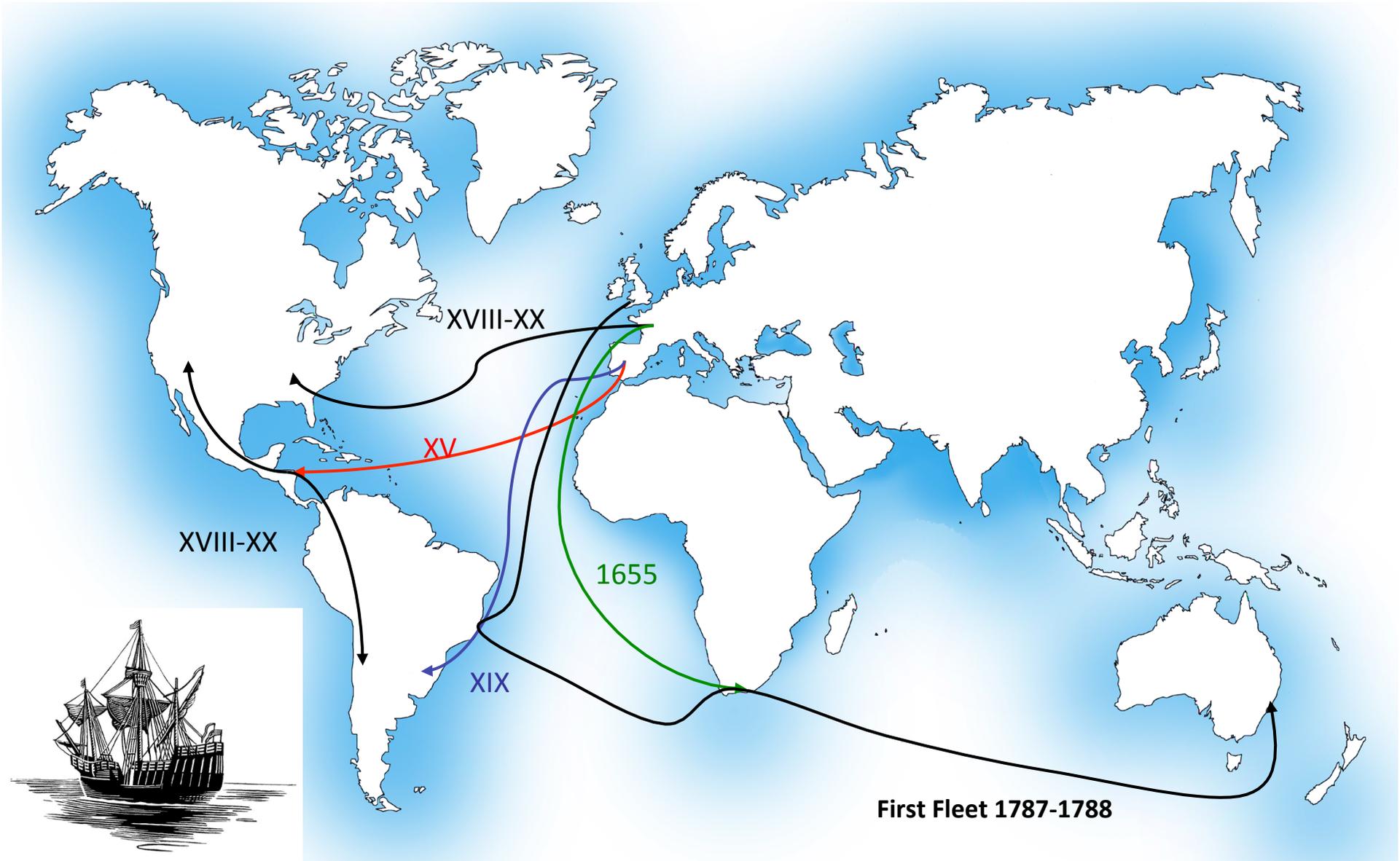
- Sensibilité aux basses températures et aux fortes humidités
- Culture restreinte aux régions tempérées



Distribution mondiale des vignobles



Dispersion des variétés de vigne dans le monde, par graines ou par boutures, à partir de 1492



Diversité des variétés de cuve : le “top 10”

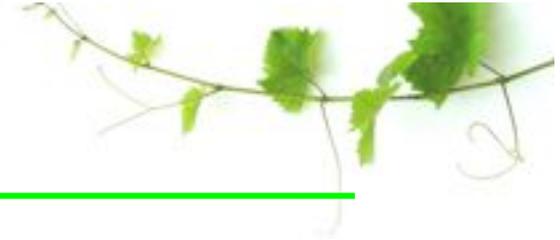
	France (2003) Production viticole			Monde (2001) Production viticole	
	rang	Surface (Mha)	%	surface (M ha)	%
Total		865,3	100	7886	100
Variétés de cuve					
merlot noir	1	115,5	13,35	200	3,04
grenache noir	2	100,3	11,59	240	2,54
ugni blanc	3	84,4	9,75	190	2,41
carignan noir	4	81,1	9,37	160	2,09
syrah	5	64,6	7,47	65	0,82
cabernet sauvignon	6	59,9	6,92	165	2,03
chardonnay	7	41	4,74	140	1,78
cabernet franc	8	38,4	4,44	45	0,57
gamay	9	35,9	4,15	40	0,5
pinot noir	10	27	3,12	60	0,76
Total		648,1	74,9	1305	16,55



Les apparentements entre variétés



Taux d'hétérozygotie de 8 variétés

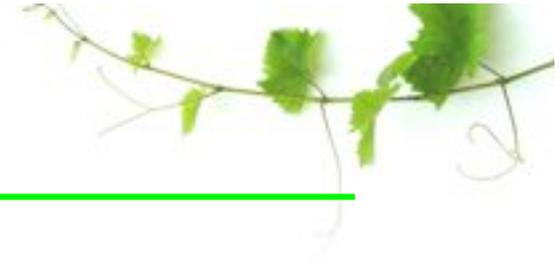


Variétés	Nbre de locus microsatellites analysés	Taux d' hétérozygotie moyen
cabernet franc	38	68%
cabernet -sauvignon	89	88%
chenin	14	75%
grolleau	12	67%
pinots	50	73%
riesling	132	67%
savagnins	53	69%
syrah	50	72%

En moyenne : 3 loci sur 4 sont hétérozygotes



Lexemple du cabernet-sauvignon



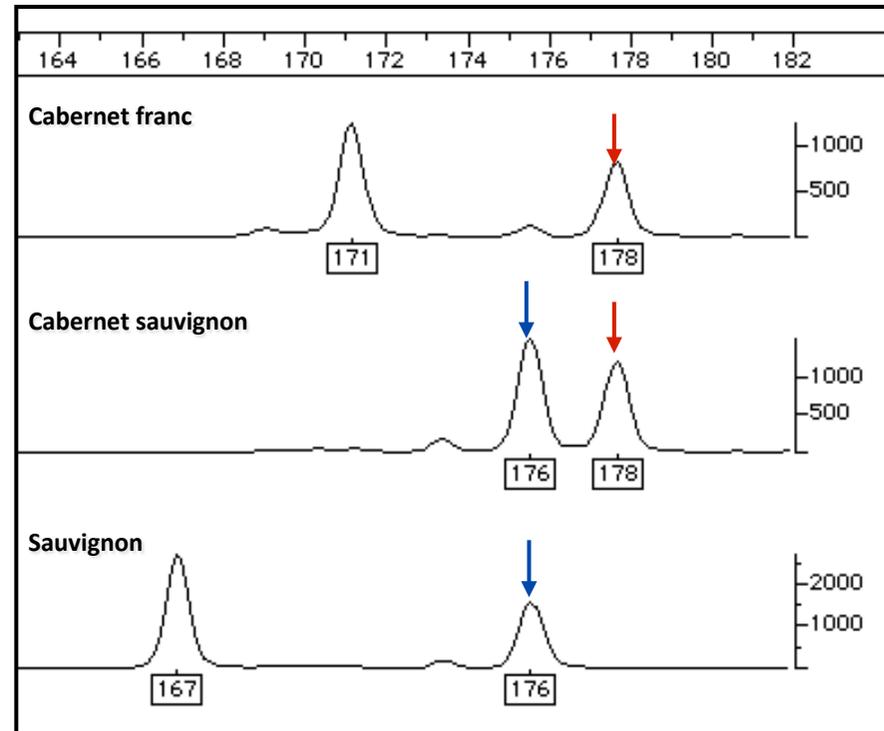
Cabernet franc



Cabernet sauvignon



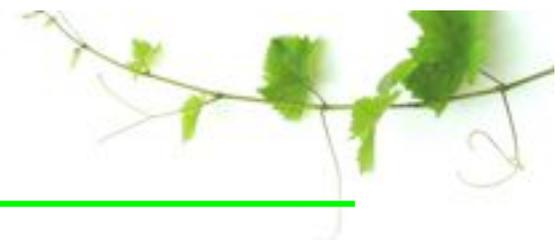
Sauvignon blanc



Origine de quelques variétés de cuve

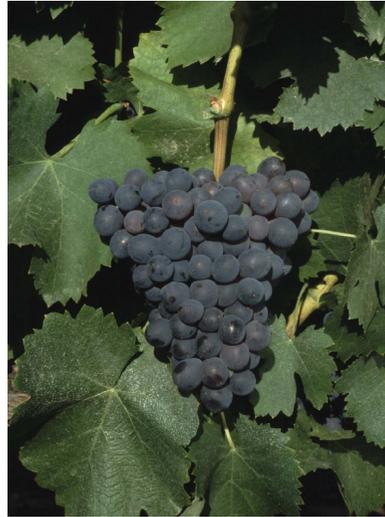
	Parent 1	Parent 2	Epoque	Surfaces cultivées en France ha (2003)
chardonnay gamay noir melon aligoté auxerrois	gouais	pinot	Moyen age	41 000 35 900 11 000 13 400 >1 700
cabernet sauvignon	cabernet franc	sauvignon blanc	XVII ème	59 900
muscat Ottonel	chasselas	muscat d'Alsace?	XIX ème	158
marselan	cabernet sauvignon	grenache noir	1965 (INRA) 1 clone recommandé en 1997	750 ha (2005)
caladoc	cot	grenache noir	1962 (INRA) 1 clone recommandé en 1989	1857 ha

Le Marselan et le Caladoc



Cabernet-Sauvignon

X



Grenache noir

X

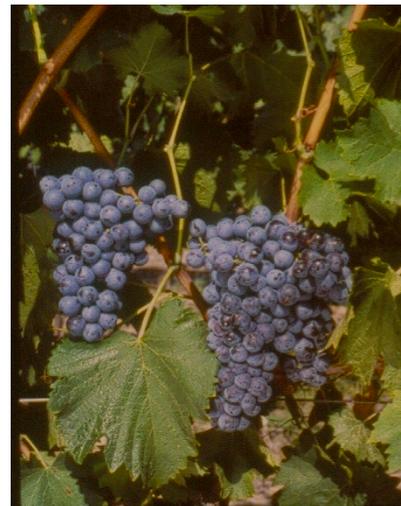


Cot

Marselan



Caladoc



Alain Bouquet

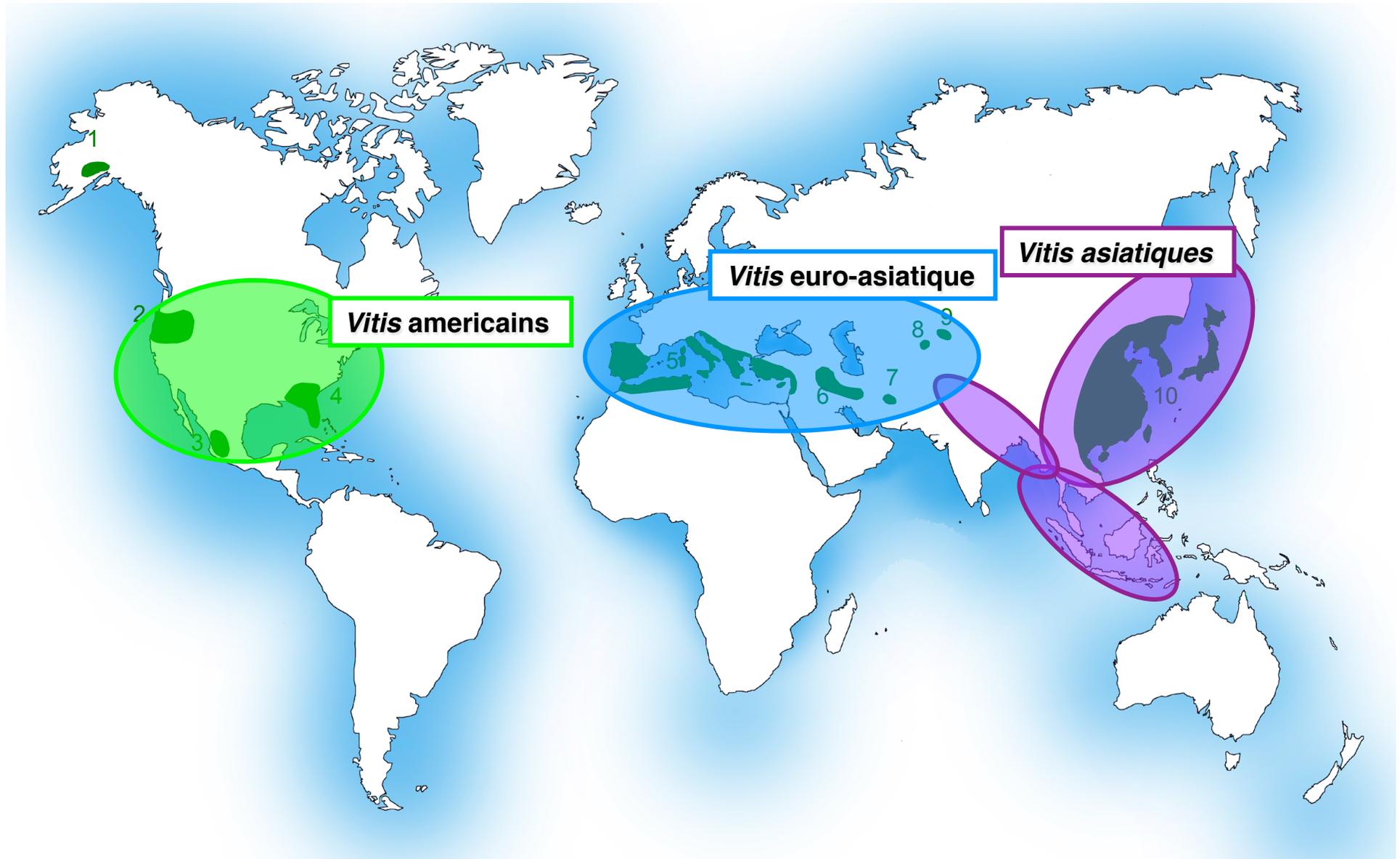
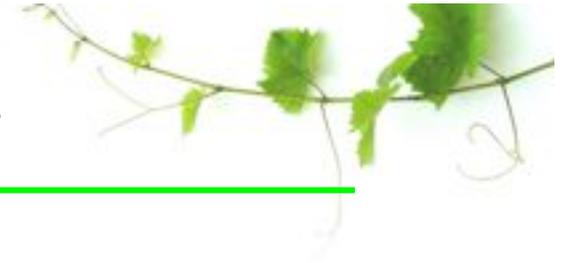




Pourquoi s'intéresser aux vignes
américaines et asiatiques??



Répartition actuelle des espèces de *Vitis*



De nombreux pathogènes de la vigne sont d'origine américaine

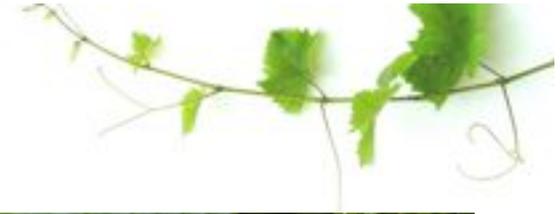
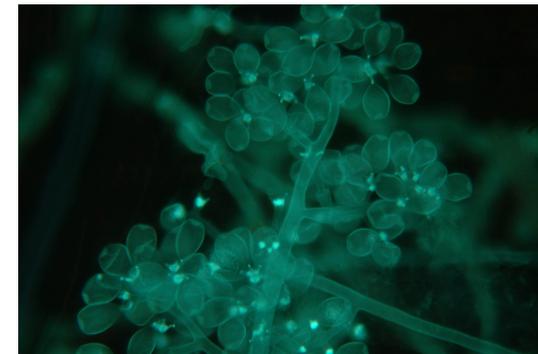
☹️ Oïdium introduit en 1845



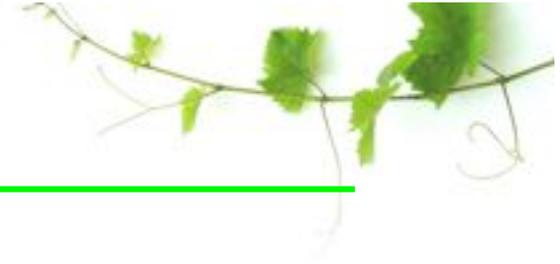
☹️ Phylloxera signalé à partir de 1863



☹️ Mildiou signalé pour la première fois dans le Bordelais en 1879



La crise phylloxérique en Europe



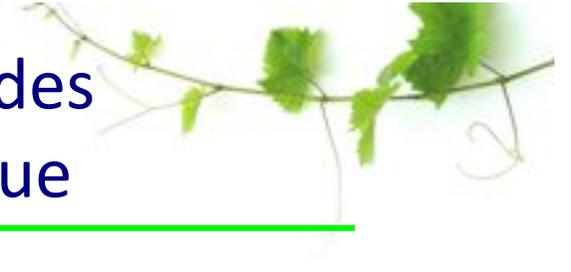
- Le phylloxera est originaire de la Côte Est des Etats Unis
- Destruction de 2,5 millions d' hectares de vigne
- Destruction de la plupart des vignes sauvages endémiques en Europe

- La lutte s'organise à partir de 1880

- Le phylloxera a gagné tous les pays d' Europe
- Gagne la Californie en 1873
- Actuellement, il est en progression en Australie et en Arm



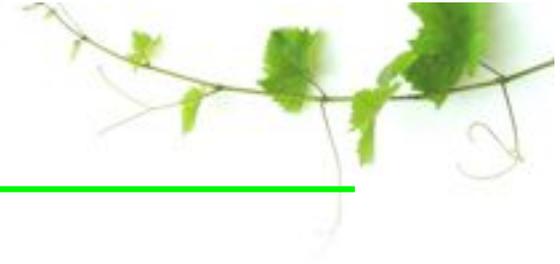
Les vignes américaines et asiatiques : des sources de gènes d'intérêt agronomique



😊 Les vignes américaines possèdent des résistances à différentes maladies dont le phylloxera



Résistance au phylloxera

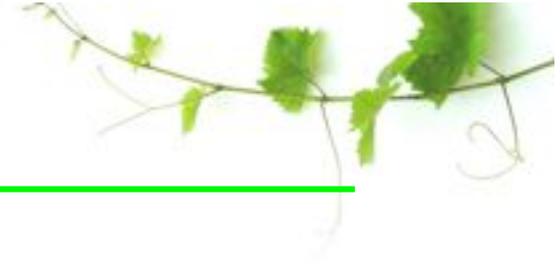


Hybrides producteurs directs (HPD)

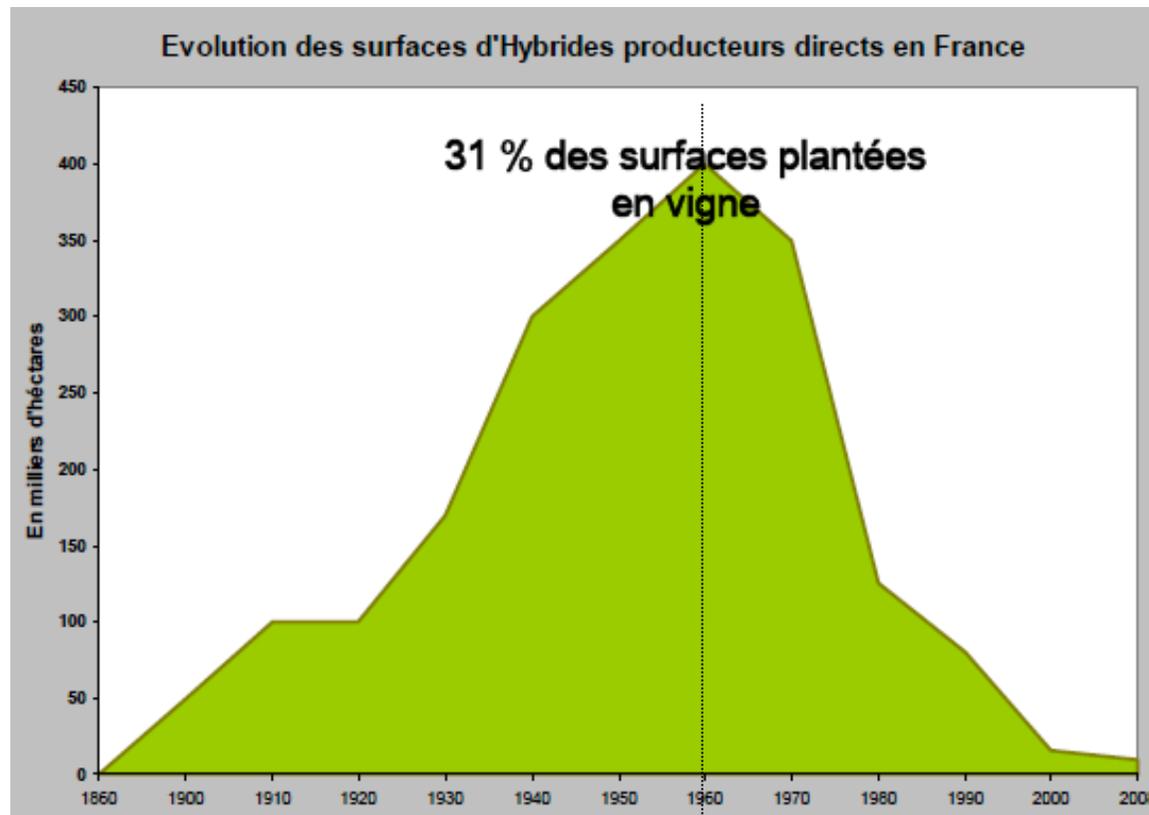
- Croisement entre variétés américaines résistantes et *V. vinifera*
- Plus de 1700 hybrides créés
- Interdiction en 1934 de planter de l'isabella, du noah, clinton à cause de teneur en méthanol
- En 1958 : 1/3 du vignoble français est planté en hybrides (400 000 ha)
- Actuellement, tous les hybrides sont évincés sauf le Baco blanc pour la production d' Armagnac
- Problème principal des HPD: le goût foxé apporté par les géniteurs américains



Résistance au phylloxera



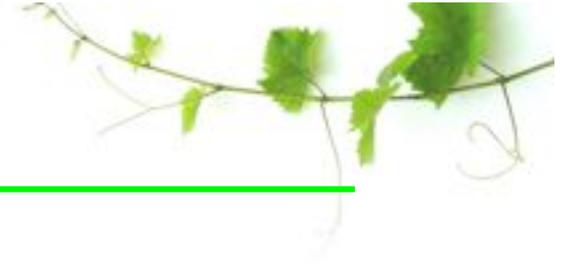
Hybrides producteurs directs (HPD)



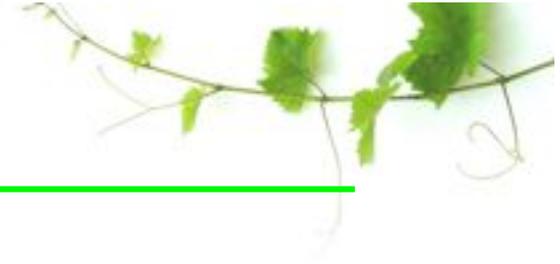
2%: 10 000 ha



Galles phylloxériques sur feuilles



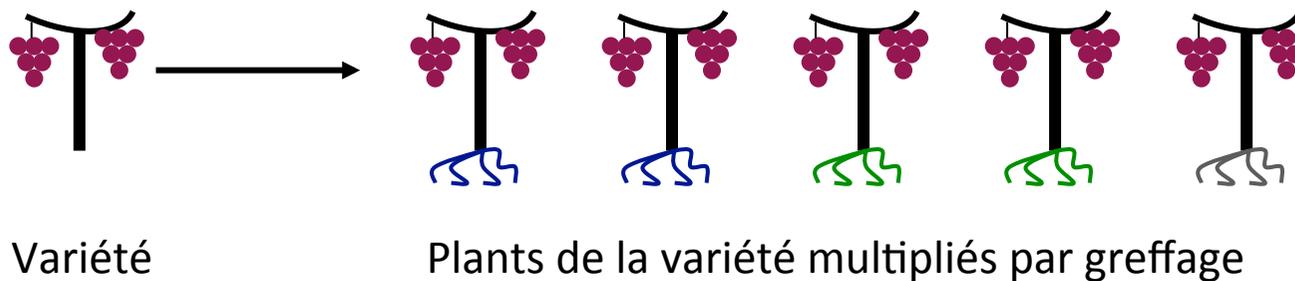
Résistance au phylloxera



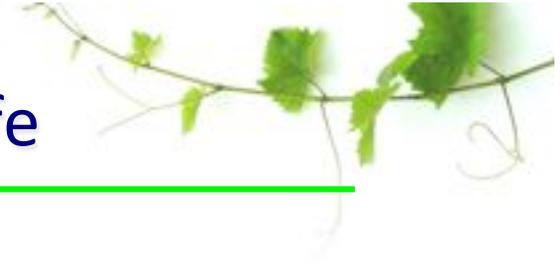
Les porte-greffes

Les greffons producteurs sont multipliés par propagation végétative

Les greffons européens sont greffés sur un porte-greffe américain



Intérêt de l'utilisation d'un porte-greffe



- Résistance au phylloxera
- Résistance aux nématodes
- Adaptation au sol (ex: résistance à la chlorose calcaire en Champagne et Bourgogne)
- Résistance à la sécheresse
- Résistance au sel
- Maîtrise de la vigueur du greffon



Les vignes américaines et asiatiques : des sources de gènes d'intérêt agronomique



☺ Les vignes américaines possèdent des résistances à différentes maladies

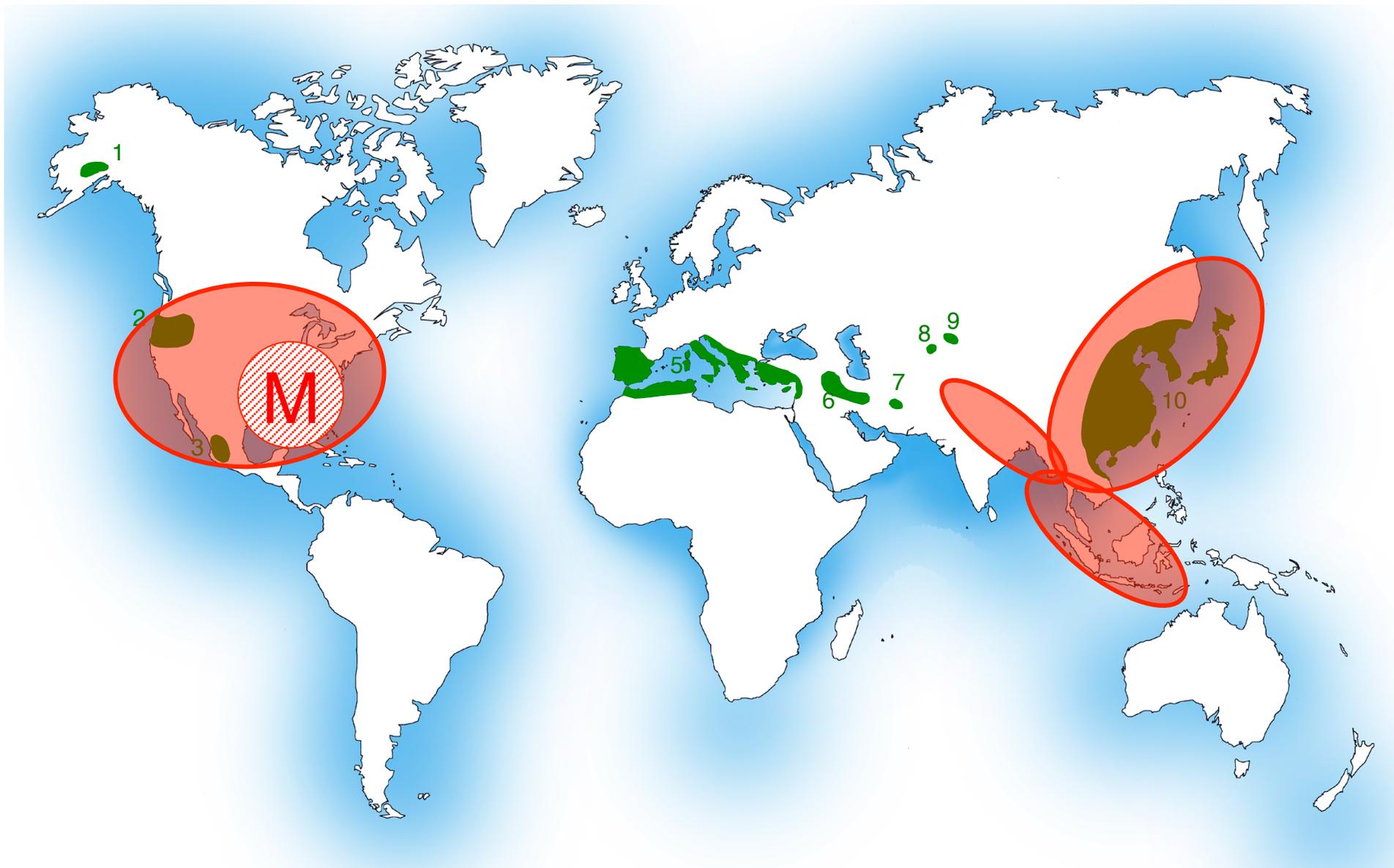
ex: phylloxera, mildiou, oïdium, nématodes vecteurs du court-noué, ...

☺ Les vignes asiatiques sont résistantes au mildiou et au froid

☹ Apportent des faux goûts à contre-sélectionner pour l'introggression de leur gènes d'intérêt dans *V. vinifera*



Répartition actuelle des espèces de *Vitis* résistantes au mildiou





Le génome de la vigne



Le génome de la vigne

doi:10.1038/nature06148

nature

LETTERS

The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla

The French–Italian Public Consortium for Grapevine Genome Characterization*



- Diploïde (n=19 chromosomes)
- Taille du génome : **487Mpb**

Contexte scientifique

Deux génomes séquencés

- Lignée 40024 (Jaillon et al. 2007)
- Pinot noir (Velasco et al. 2007)

La lignée 40024 a été créée à Colmar par 9 autofécondations successives de Pinot

Niveau d'homozygotie : 93%

Sans perte de vigueur ni de fertilité

Pinot hétérozygote à $\approx 75\%$



Contexte scientifique



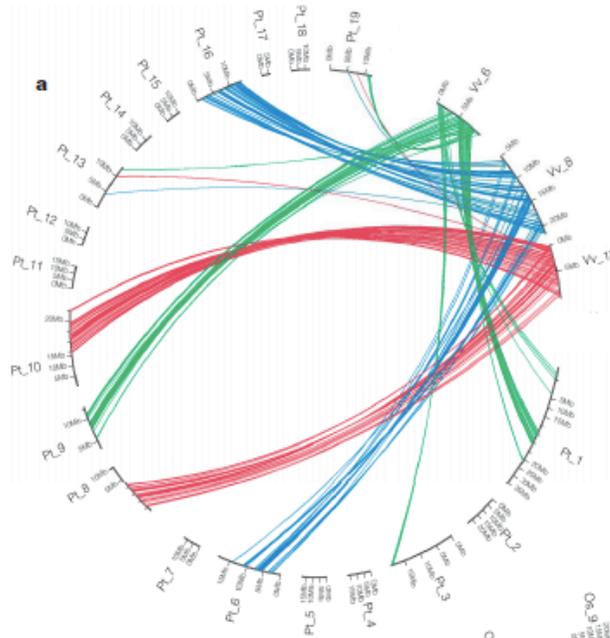
➡ Le génome de la vigne est le quatrième génome de plante séquencé

	vigne	arabidopsis	riz	peuplier
Taille du génome	487 MB	125 Mb	389 Mb	485 Mb
nombre de chromosomes (n)	19	5	12	19
nombre de gènes total	30,434	25,498	37,544	45,555
terpene synthases	89 + 27	40	40	40
stilbene synthases	43 + 5	4	>30	>30

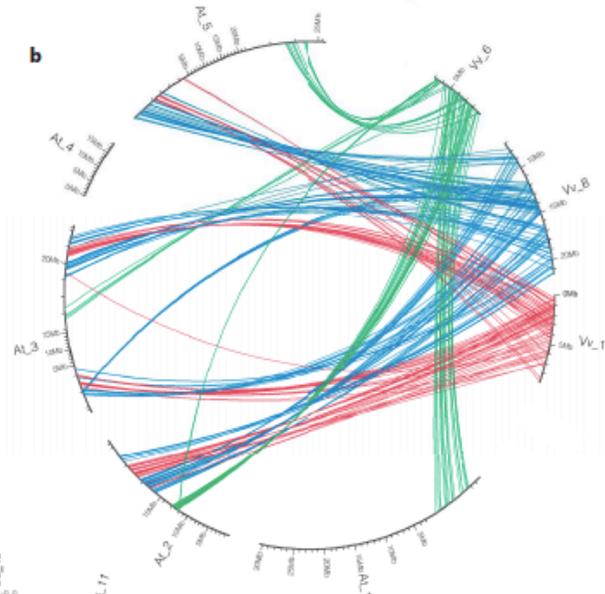
Le nombre de gènes impliqués dans les caractères spécifiques de la vigne et du vin sont en plus grand nombre que pour les autres plantes



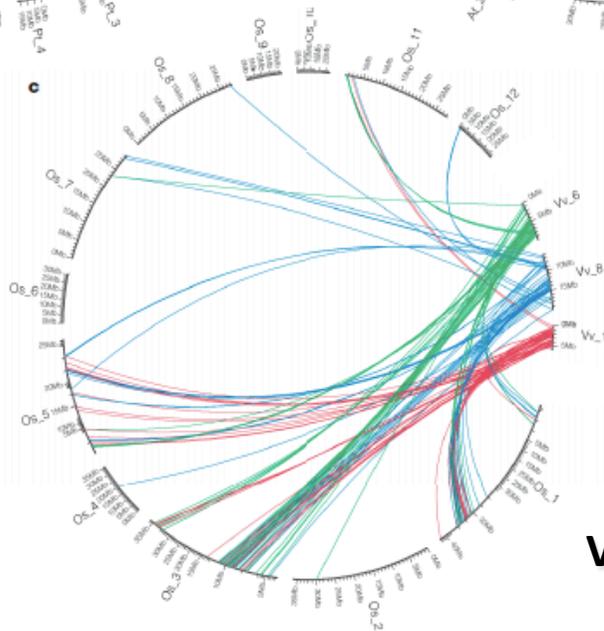
Apport du séquençage du génome de la vigne



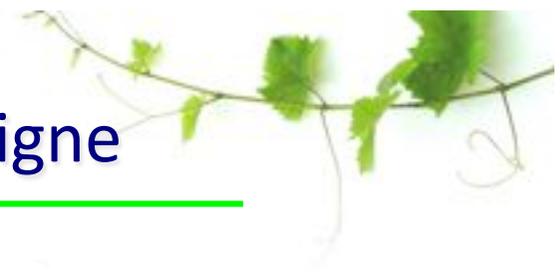
Vigne/peuplier



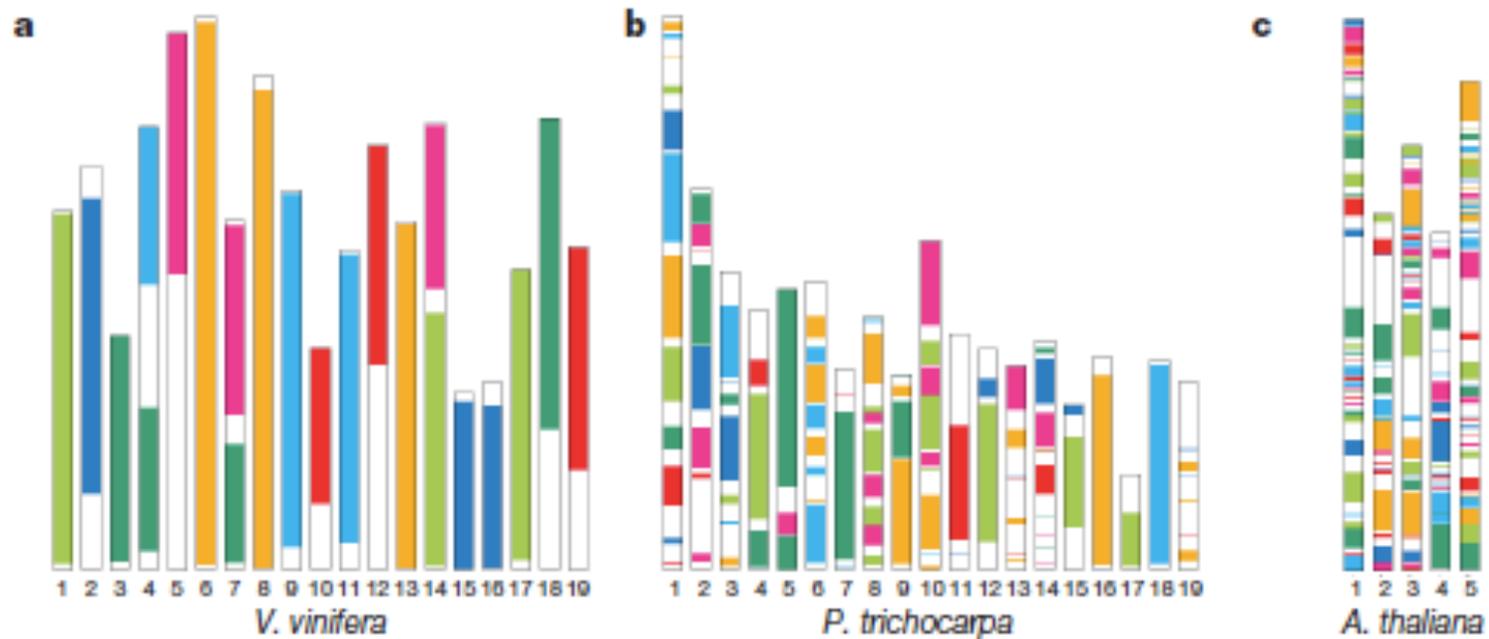
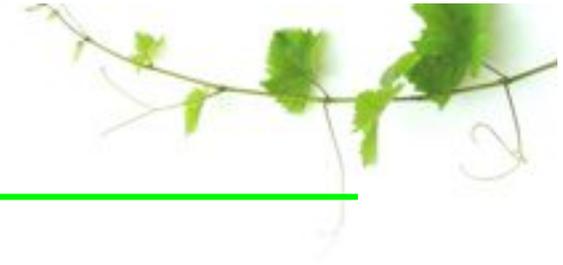
Vigne/arabidopsis



Vigne/riz



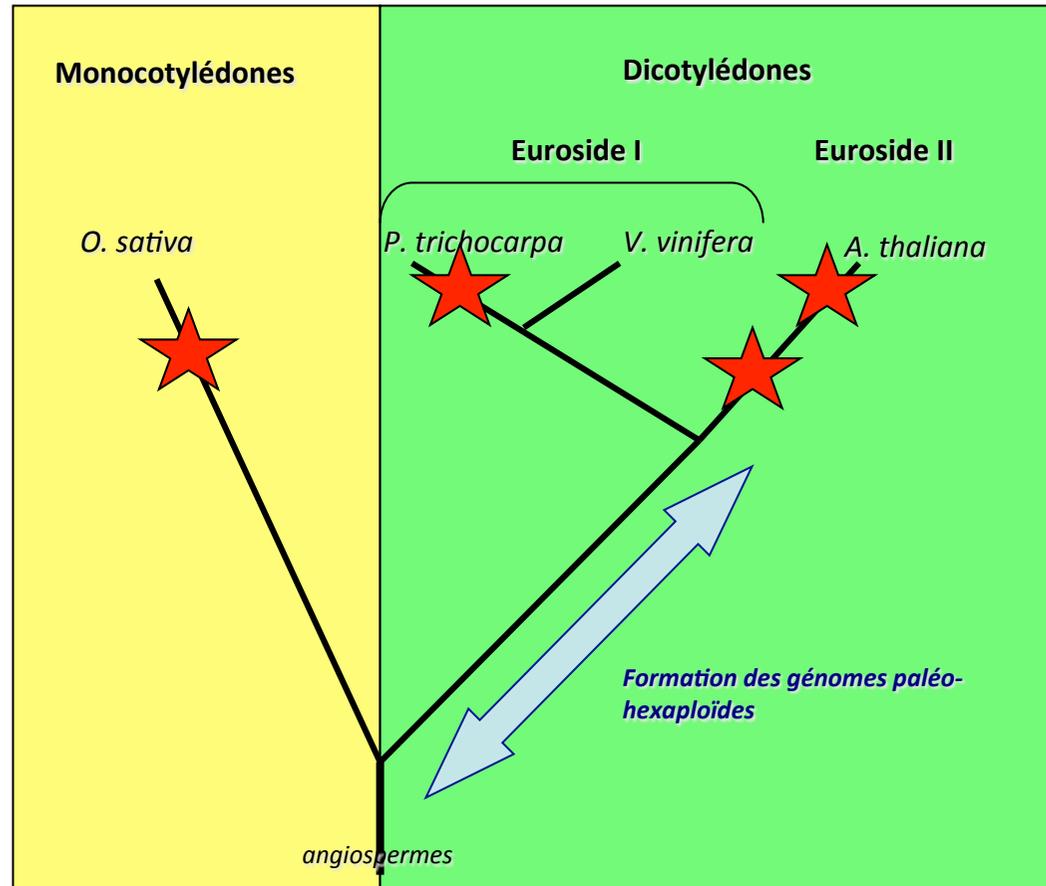
La vigne : un génome assez primitif



Génome paléohexaploïde



Polyploidization des génomes des angiospermes



Événements de polyploïdisation



oidium



Cleistothecia squashed open to show several
asci with ascospores.

sexual spores in cleistothecia in the bark of
vines [[17](#),[18](#)].

[http://www.ipmnet.org/plant-disease/disease.cfm?](http://www.ipmnet.org/plant-disease/disease.cfm?RecordID=525)

RecordID=525

