

Master Sciences du Végétal - Uds

11 octobre 2011



Origine de la diversité clonale des variétés de vigne



INRA

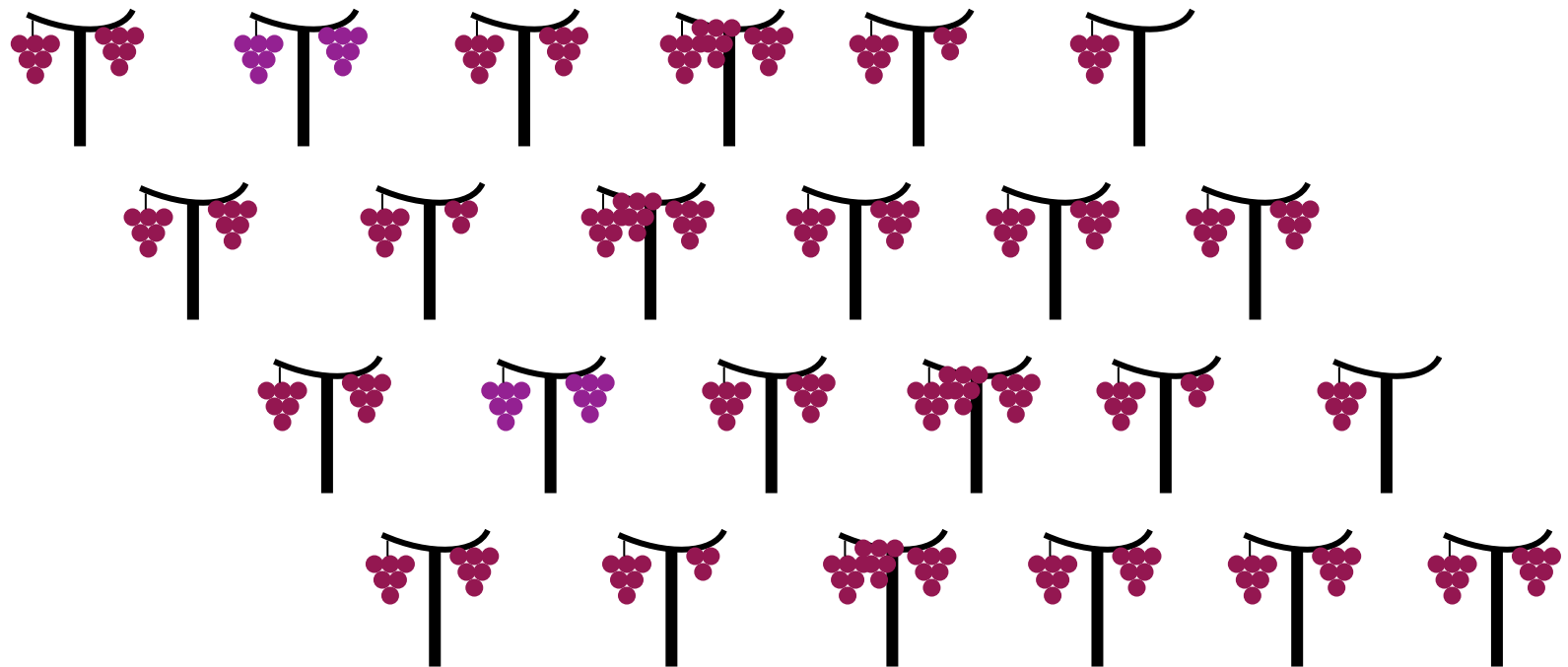
UMR Santé de la Vigne et Qualité du Vin



Les clones de vigne



- Les variétés de vigne sont constituées de clones



Définition du clone

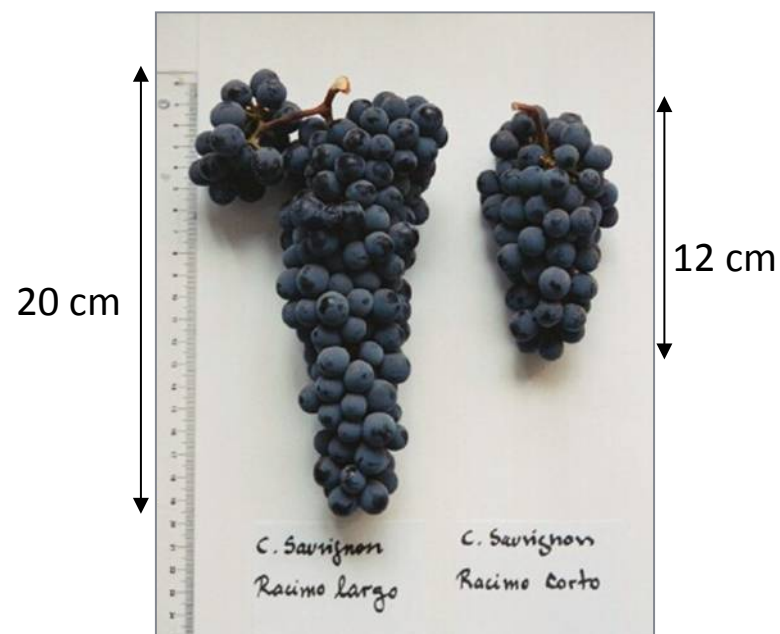


Définition du Larousse : Individu ou population d'individus provenant de la reproduction végétative ou asexuée d'un individu unique.

Les clones de vigne portent le même nom de variété, partagent des caractères ampélographiques communs, mais peuvent se différencier les uns des autres.



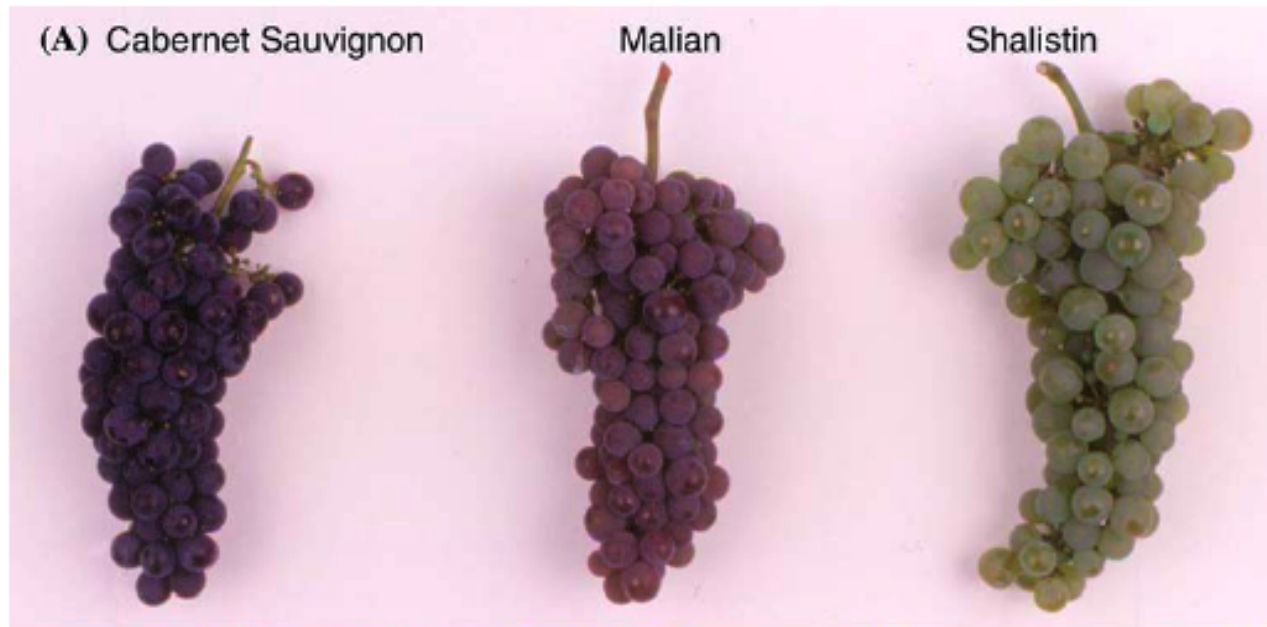
Variabilité clonale du cabernet sauvignon



**Différence de taille de grappes de deux clones
de cabernet sauvignon chiliens**



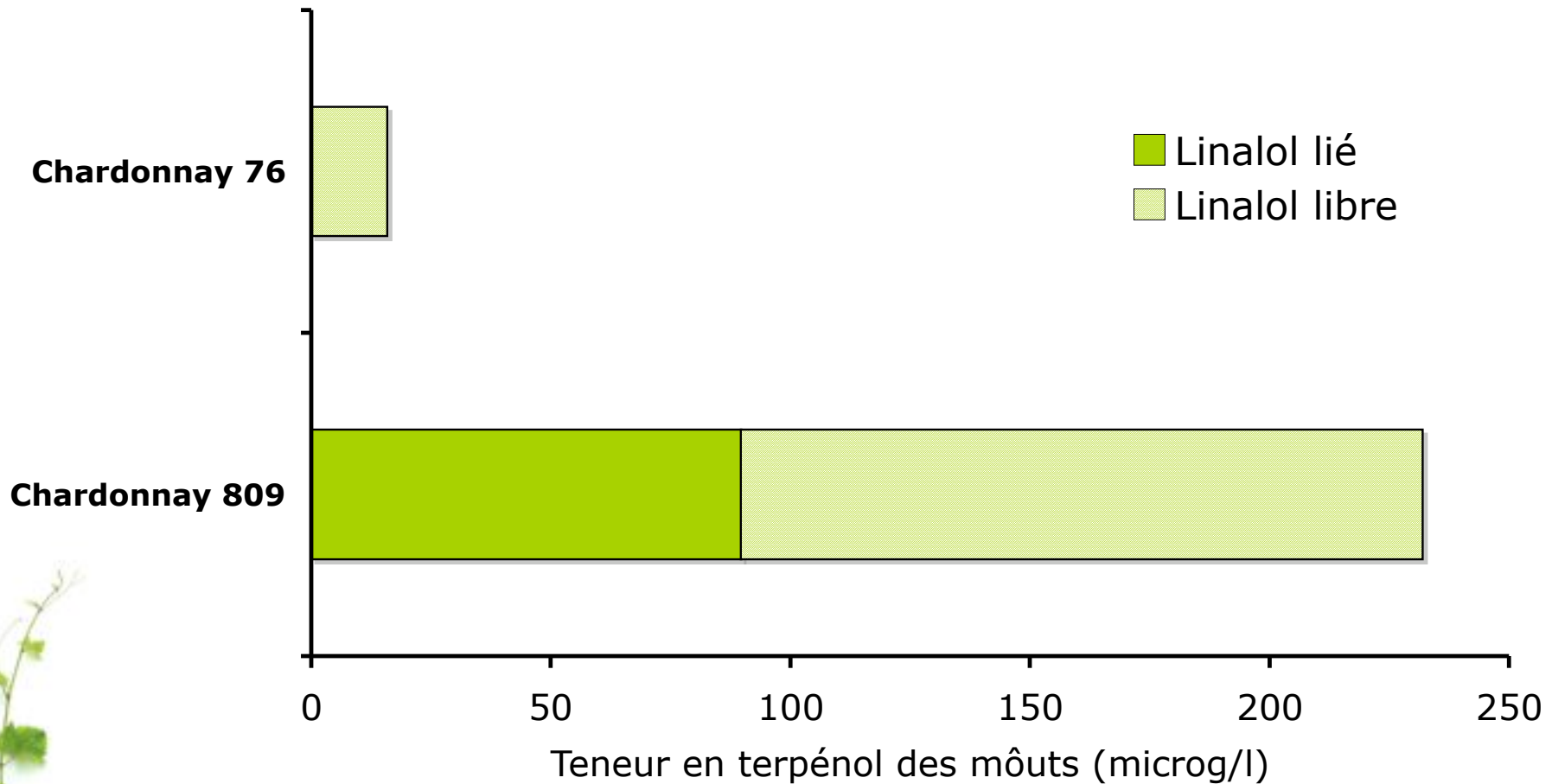
Variabilité clonale du cabernet sauvignon



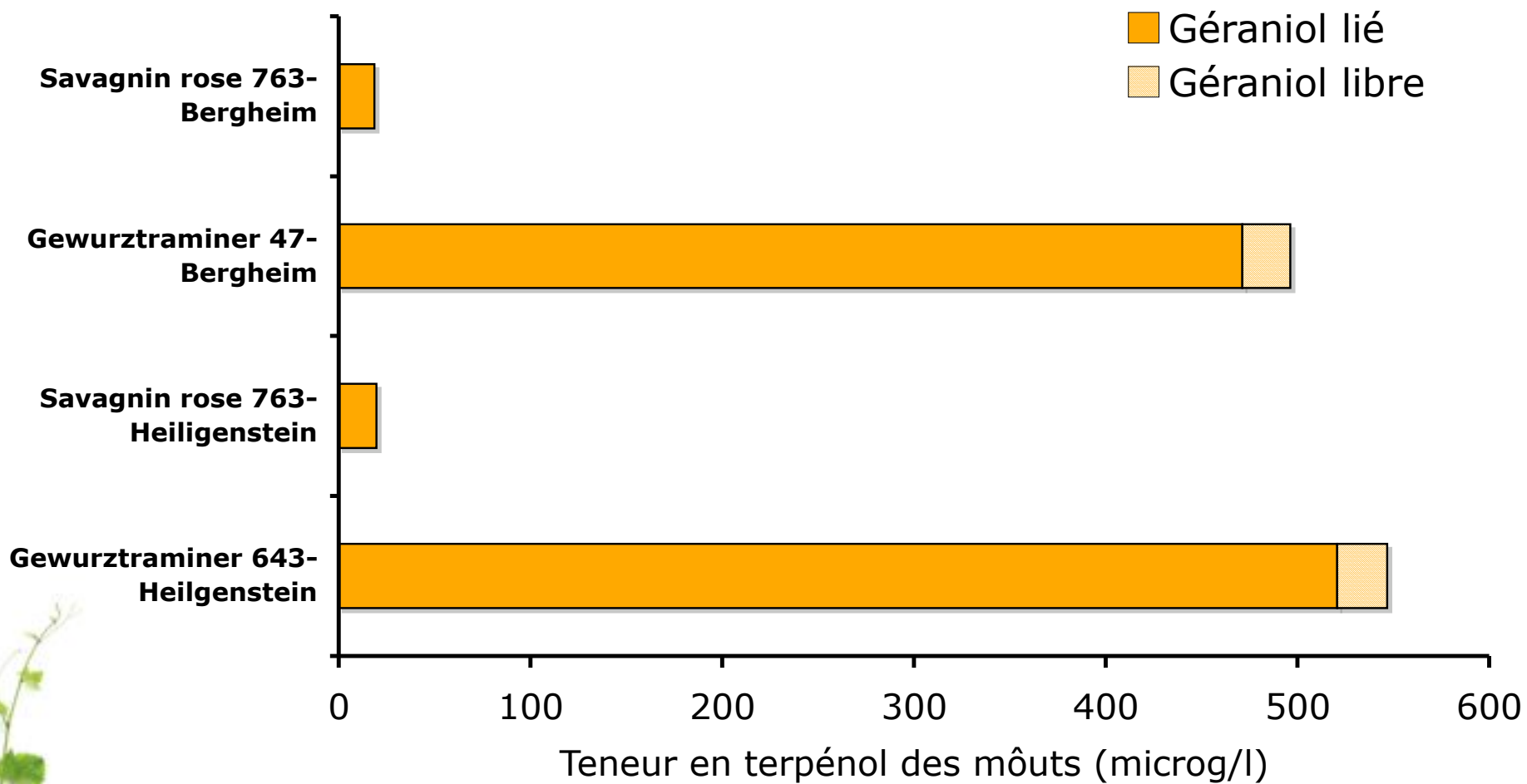
Variabilité aromatique de deux clones de chardonnay



Lugny - 2002



Variabilité aromatique entre deux clones de savagnin



Clonalité vérifiée à 17 locus microsatellites

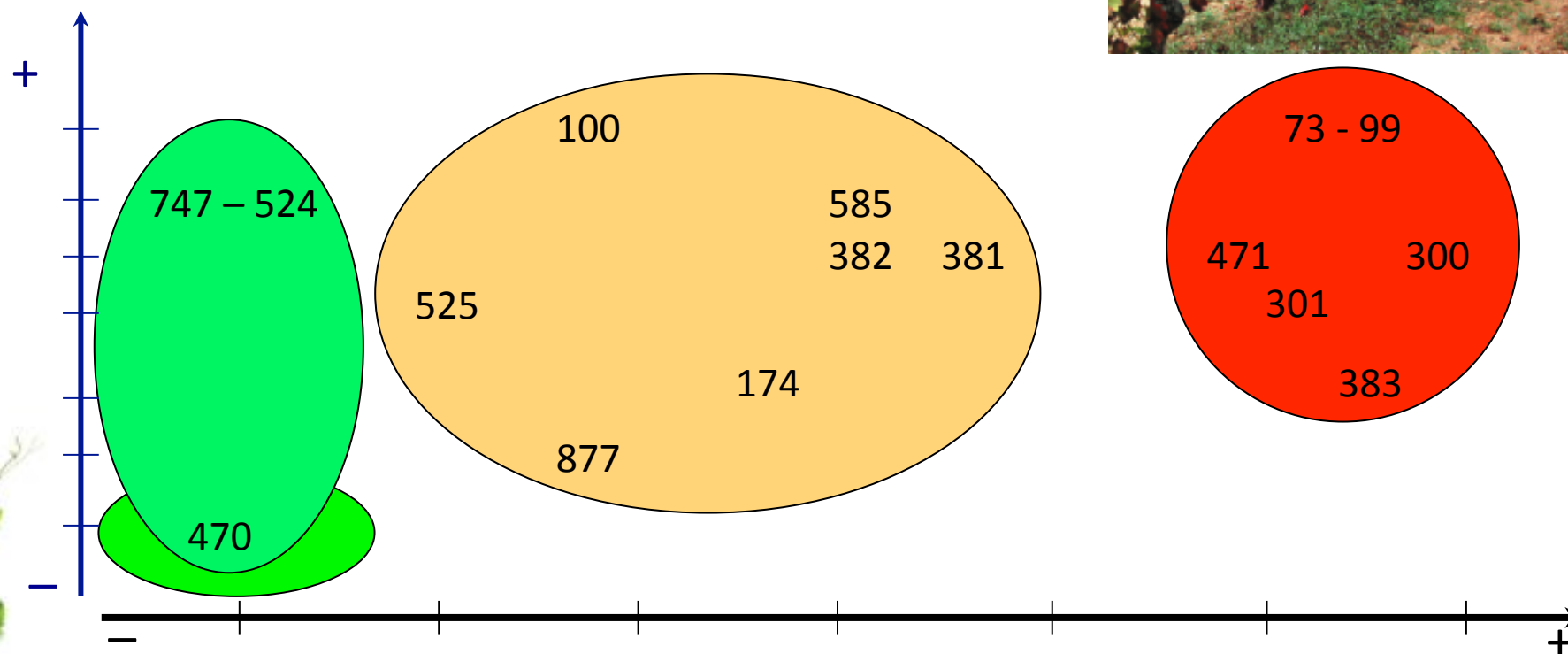
Eric Duchène INRA-Colmar



Diversité clonale de la syrah et dépérissement



Productivité clones



Sensibilité au dépérissement

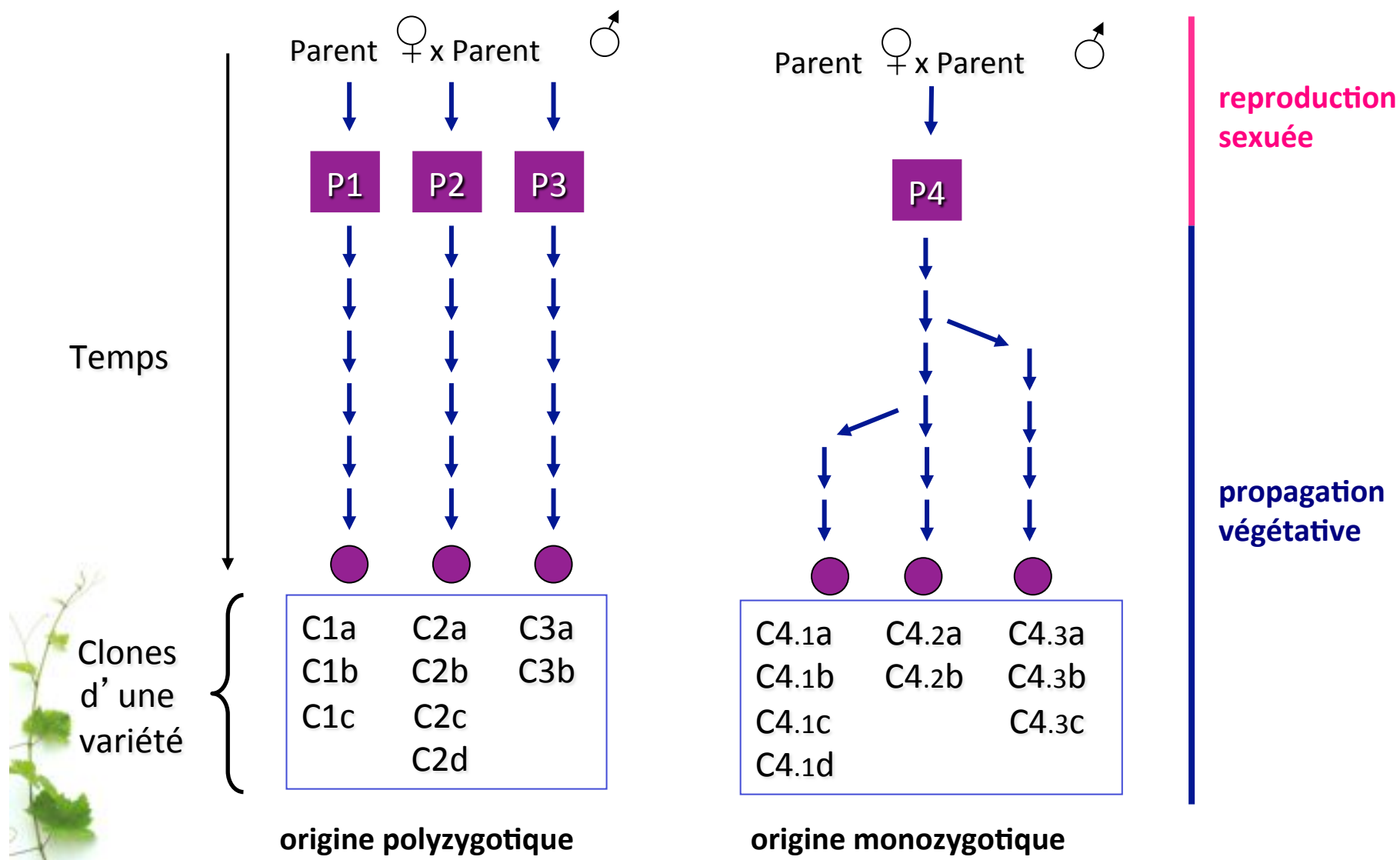
Origine de la variabilité clonale

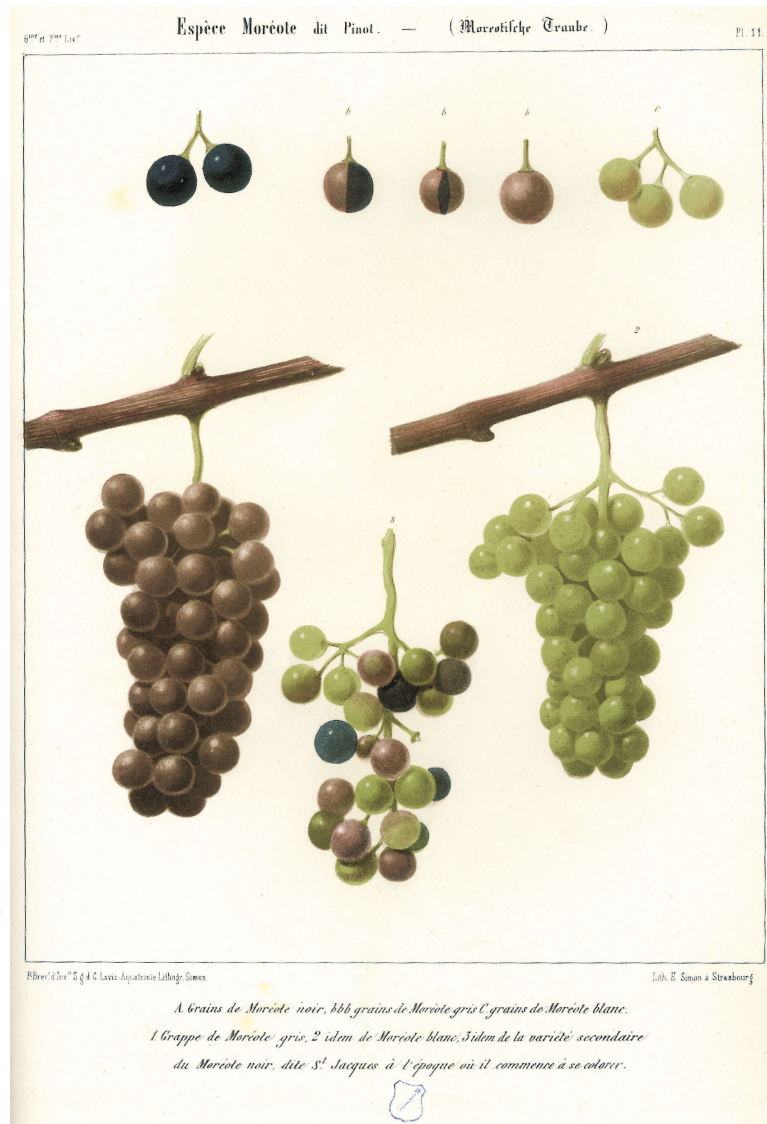


1. Quelle est l'origine de la variabilité observée dans les collections de clones appartenant à une même variété ?



Hypothèses de constitution des variétés





Analyse du groupe variétal des pinots à l'aide de marqueurs microsatellites

Diversité des clones de pinot analysés



- 477 clones de pinot



Pinot noir



Pinot gris



Pinot blanc



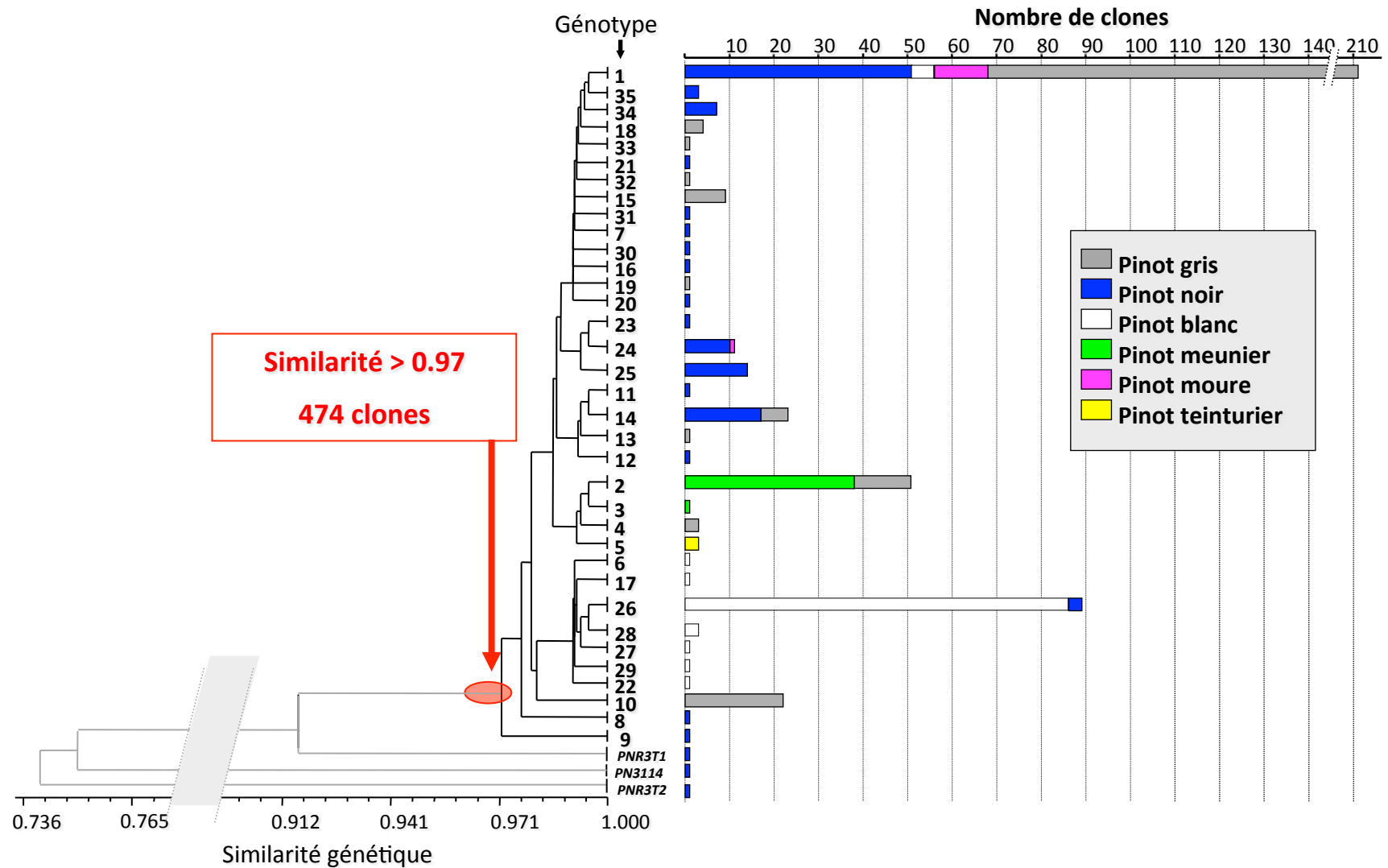
Pinot moure

Tous ces clones portent le même nom et présentent des caractères ampélographiques communs

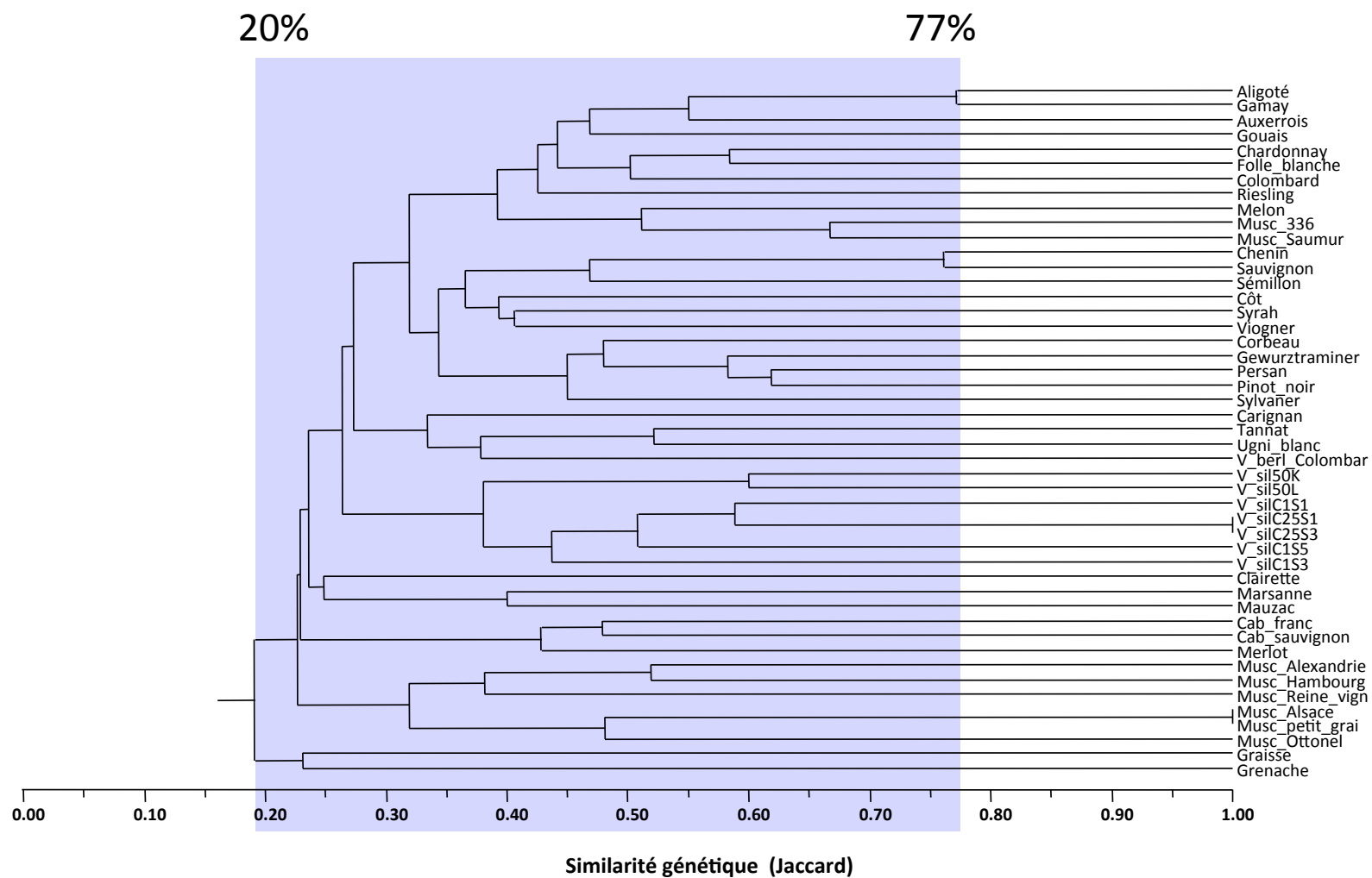
- analysés à 50 loci microsatellite, répartis sur les 19 groupes de liaison



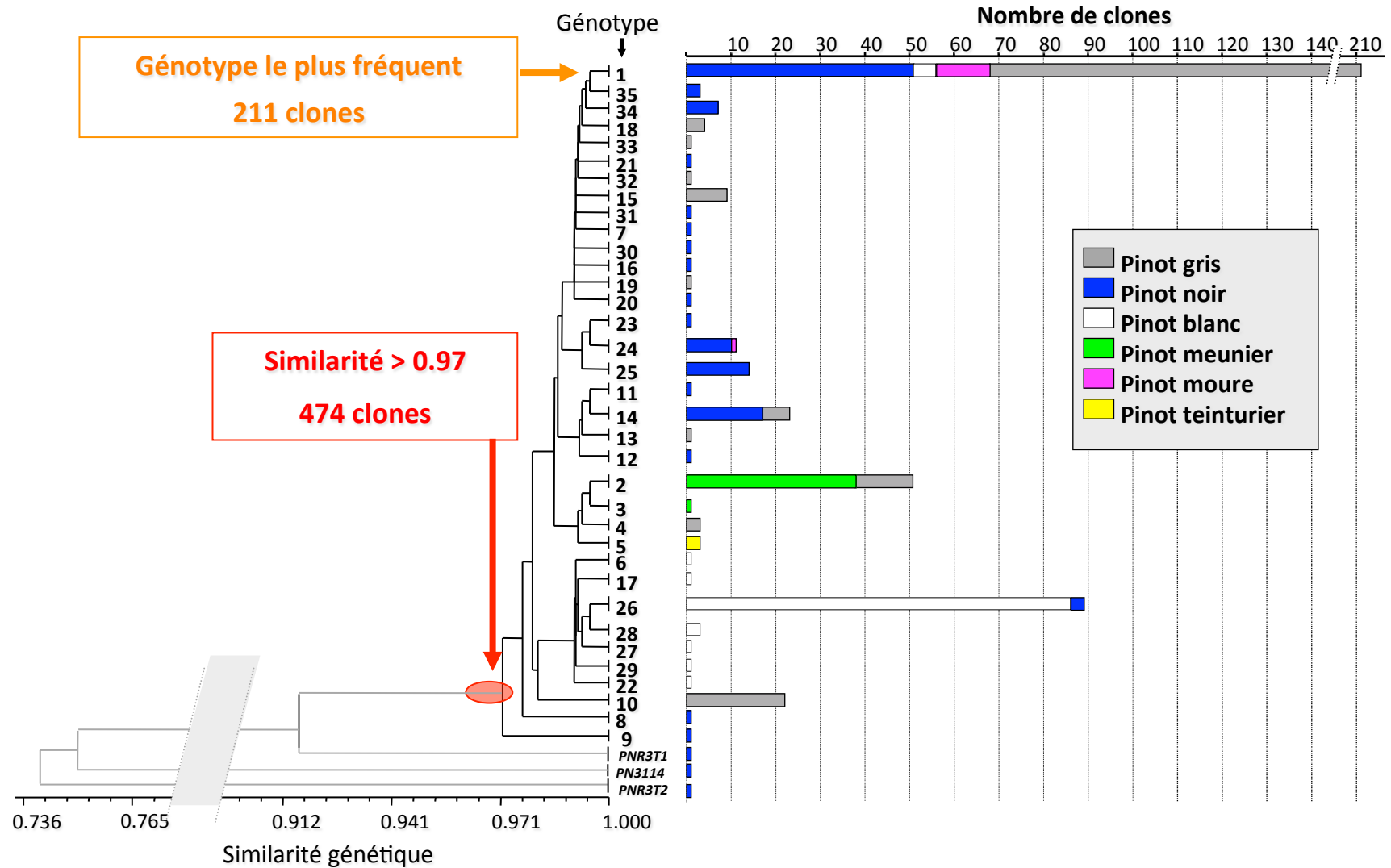
Similarité génétique des clones de pinots



Similarité génétique des variétés de cuve



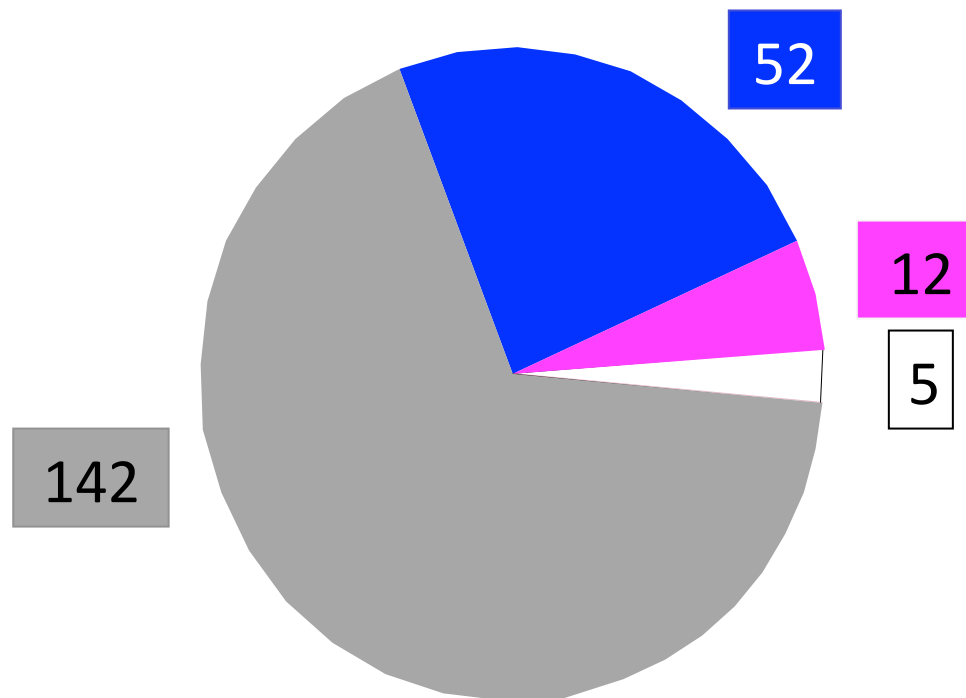
Similarité génétique des clones de pinots



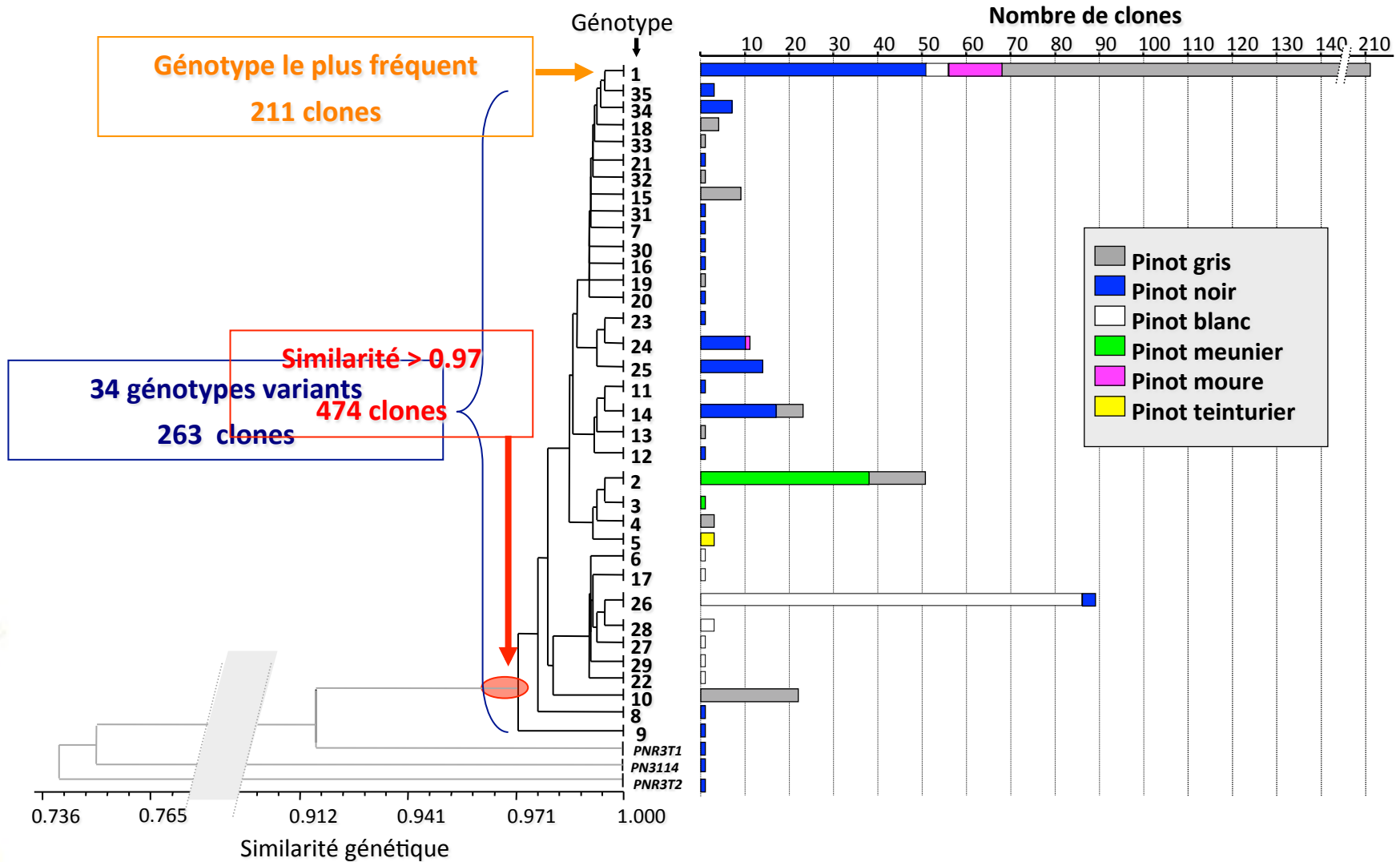
Similarité génétique des clones de pinots



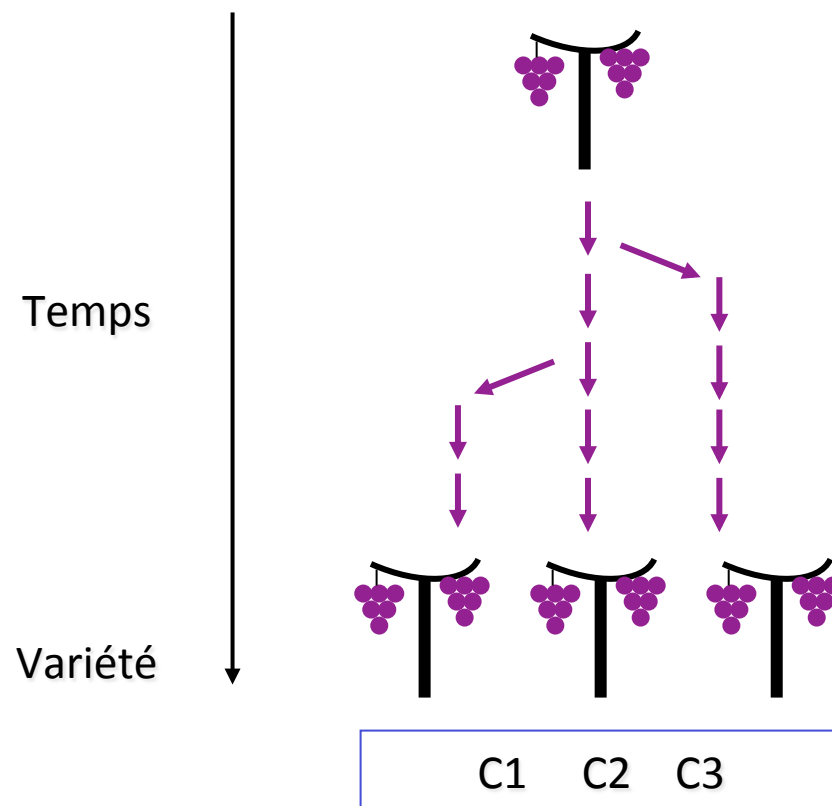
- 474 clones présentent une similarité génétique $> 0,97$
- 211 clones partagent le même génotype



Similarité génétique des clones de pinots



Origine monozygotique des variétés

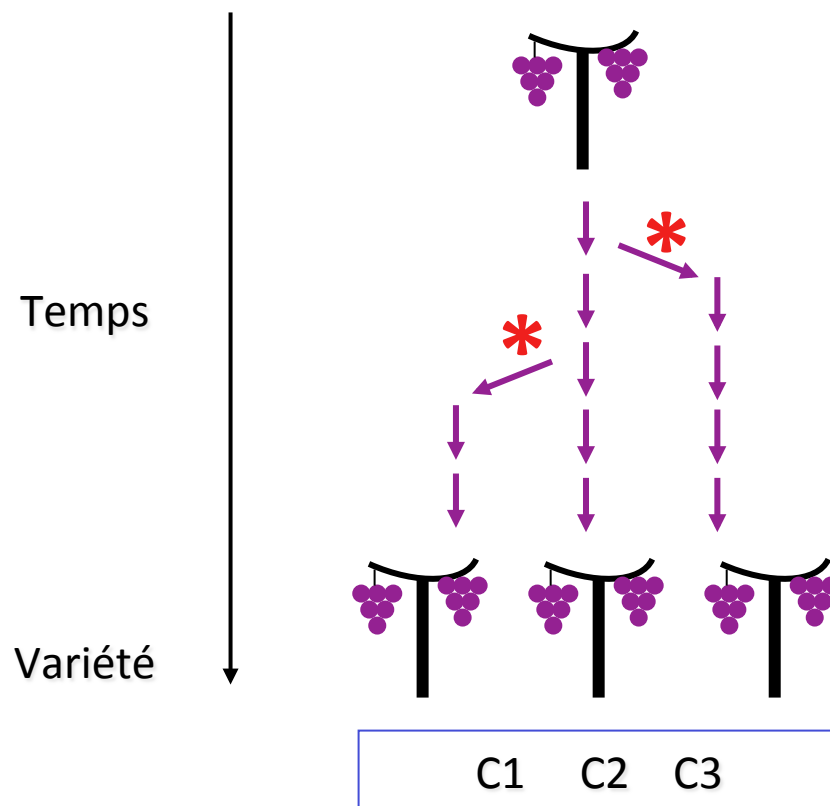




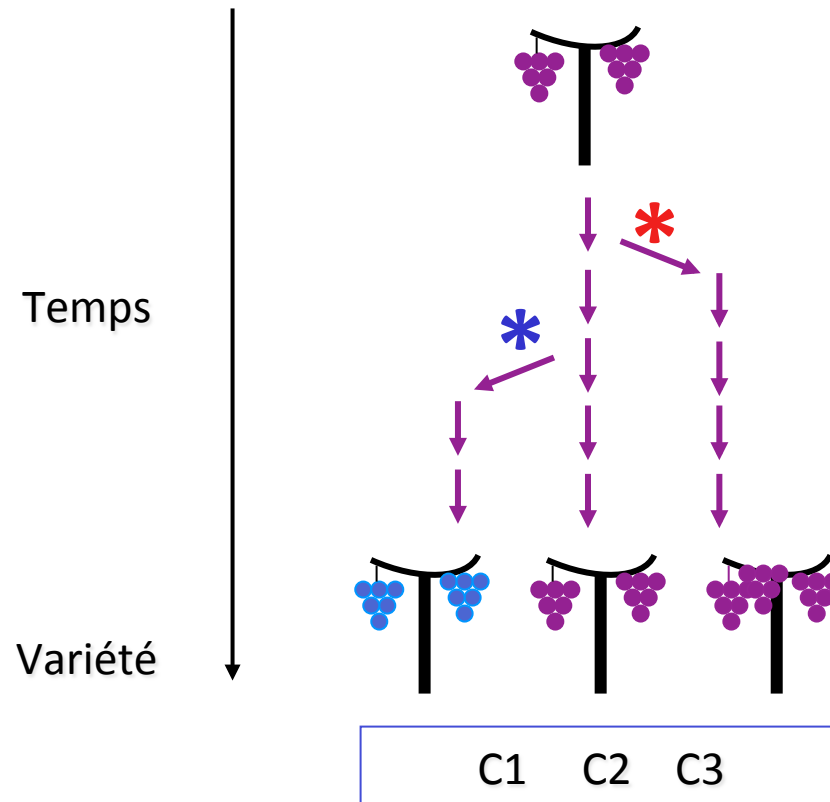
**En théorie tous les clones sont
identiques entre eux**



Origine monozygotique des variétés



Origine monozygotique des variétés



* mutations





Tous les clones reconnus comme appartenant à la même variété sont-ils d'origine monozygotique???



Analyse de clones en collection



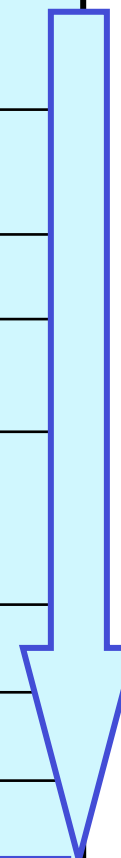
Collections clonales	origine	Nbre de clones analysés	Nbre de locus analysés
cabernet franc	Montreuil-Bellay	18	6
cabernet - sauvignon	Chili - Bordeaux Autres régions	77	89
chenin	Montreuil-Bellay	42	6
grolleau	Montreuil-Bellay	52	12
pinots	Colmar Bourgogne Champagne	477	50
riesling	Colmar	46	132
savagnins	Colmar	42	53
syrach	ENTAV	21	50
		775	



Analyse de clones en collection



Collections clonales	origine	Nbre de clones analysés	Nbre de locus analysés	Nbre de clones avec une similarité génétique > 97%
cabernet franc	Montreuil-Bellay	18	6	17
cabernet - sauvignon	Chili - Bordeaux Autres régions	77	89	76
chenin	Montreuil-Bellay	42	6	40
grolleau	Montreuil-Bellay	52	12	49
pinots	Colmar Bourgogne Champagne	477	50	474
riesling	Colmar	46	132	46
savagnins	Colmar	42	53	42
syrah	ENTAV	21	50	21
Populations clonales majoritairement d'origine monozygotique				



Pourquoi étudier la variabilité clonale?



1. Quelle est l'origine de la variabilité observée dans les collections de clones appartenant à une même variété ?
2. Quels sont les types de mutation somatique connus?



Les mutations somatiques



- Variation du nombre de motifs microsatellite
- Mutations ponctuelles
- Insertion d'éléments mobiles
- Délétions
- Recombinaison



Les mutations somatiques



■ Variation du nombre de motifs microsatellite

LCS34603.DNA>	ATAATACCTT	CCTAATTTAG	GACTCTCAAT	TG TATATATA	TATATATATA
LCS34605.DNA>	ATAATACCTT	CCTAATTTAG	GACTCTCAAT	TG TATATATA	TATATATATA
LCS34603.DNA>	TAT ----GAG	TATTATTCCT	CTAATAAAGA	TATAGGGAAT	TGAGAAATAC
LCS34605.DNA>	TATATAT GAG	TATTATTCCT	CTAATAAAGA	TATAGGGAAT	TGAGAAATAC
LCS34603.DNA>	CTTTGATGAT	TTACA.....			
LCS34605.DNA>	CTTTGTTGAT	TTACA.....			



25 marqueurs microsatellite polymorphes au niveau clonal

marqueurs	cab fc	cab sauv	chenin	grolleau	pinots	riesling	savagnins	Groupe de liaison
VMC1e11			X		X			16
VMC2h4		X			X			12
VMC3a9	X	X	X		X			17
VMC5g7		X			X		X	2
VMC5h11		X						19
VMC6c10			X					14
VMC7g5					X	X		1
VMC8a7						X		1
VMC8g6					X			12
VrZAG25					X			10
VrZAG62						X		7
VrZAG79			X		X			5
VrZAG93		X						2
VVMD7					X		X	7
VVMD8					X			11
VVMD25		X			X			11
VVMD27							X	5
VVMD28			X		X			3
VVMD30				X				15
VVMD31		X						7
VVMD32					X	X		4
VVMD36					X			3
VVS2					X	X	X	11
VVS5		X			X			6
LTR-SSR	nd	nd	nd	nd	X	X	X	8

Identification des clones



**Marquage
moléculaire**



Matrice de marqueurs pour l'identification des clones

	Marker A Marker B Marker C Marker D Marker E Marker F						
	A	B	C	D	E	F	
clone 1							ACDEF
clone 2							BE
clone 3							ABCDF
clone 4							BDE
clone 5							AC
clone 6							CDEF
clone 7							ABD
clone 8							CF
clone 9							E
clone 10							ACEF
clone 11							CDF
clone 12							ACD

Les mutations somatiques



- Mutations ponctuelles (SNP)

CGTTGTCCCAG**G**GCCGACTACCGAC



CGTTGTCCCAG**T**GCCGACTACCGAC

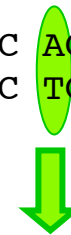


L'exemple du pinot meunier

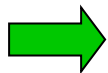


Allèles du gène GAI: régulateur négatif de la réponse aux gibberelines

211
Vvgai1 CGCTGGCATG GATGAGCTTC ACGCTGTTTT GGGCTACAAC
VvGAI1 CGCTGGCATG GATGAGCTTC TCGCTGTTTT GGGCTACAAC



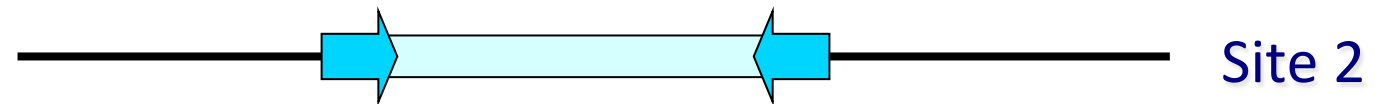
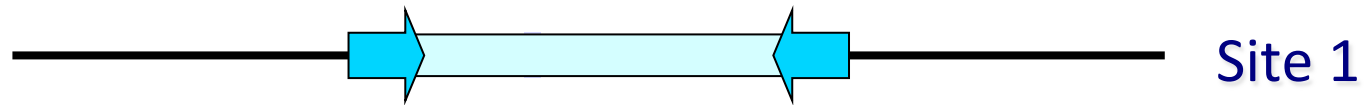
Vvgai1 1 MKREYHHPHH PTCSTSPTGK GKMWDADPQQ DAGMDEI**H**AV LGYNVKASDM AEVAQKLEQL
VvGAI1 1 MKREYHHPHH PTCSTSPTGK GKMWDADPQQ DAGMDEI**L**AV LGYNVKASDM AEVAQKLEQL



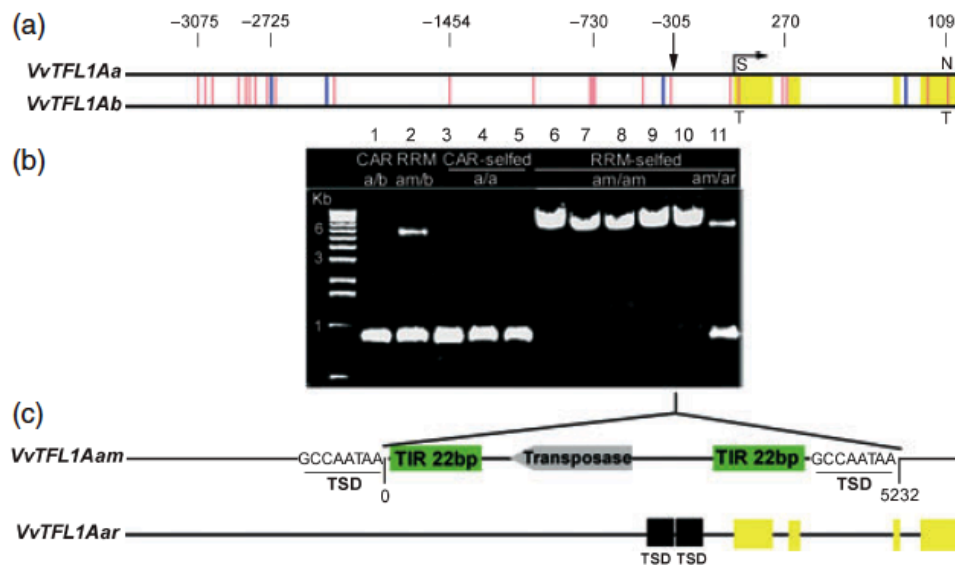
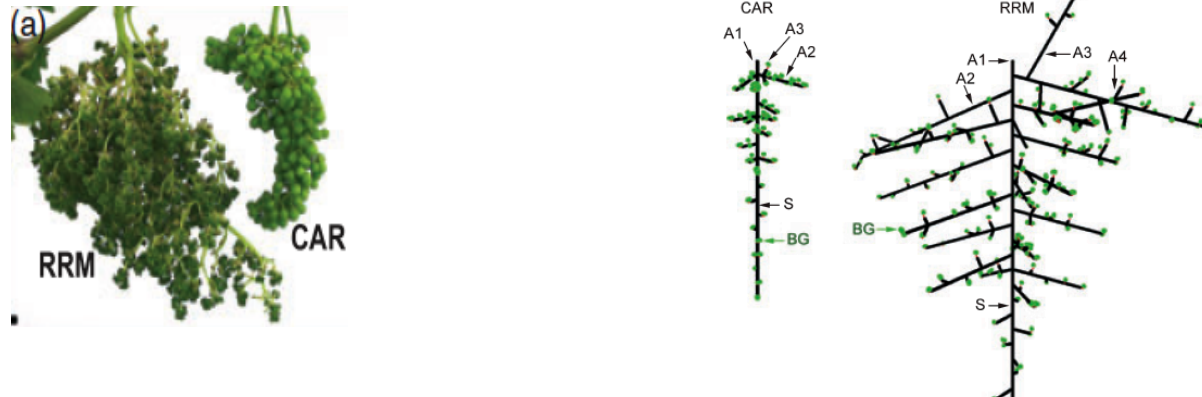
Modification de la protéine : mutation dominante



Mobilité des transposons : couper-coller



Variabilité clonale de la forme de la grappe



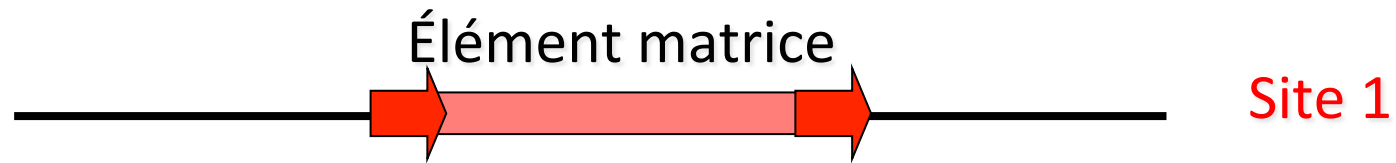
La forme de la grappe est déterminée par le gène *VvTFLA*



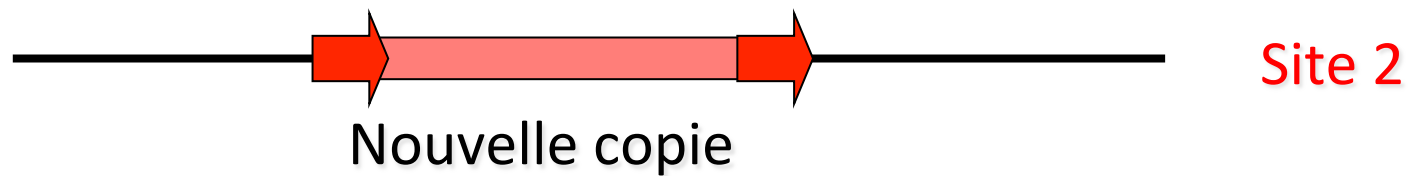
Insertion dans le promoteur de *VvTFLA* : ↗
Gène *VvTFLA*

Taille du transposon = 5Kb

Mobilité des rétroéléments : copier-coller



Intermédiaire de transposition ARN



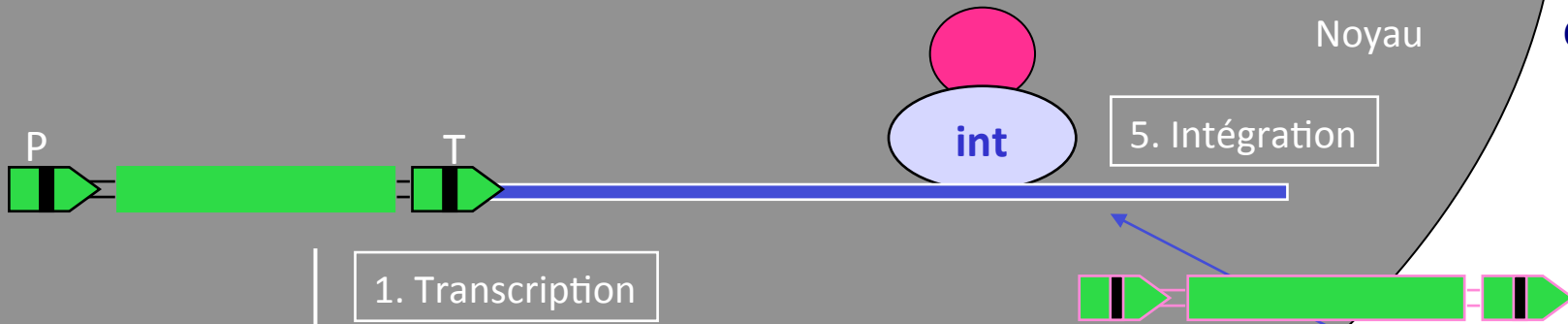
Les insertions créées sont stables et se comportent
comme des loci mendéliens



Cycle des rétrotransposons à LTR

Noyau

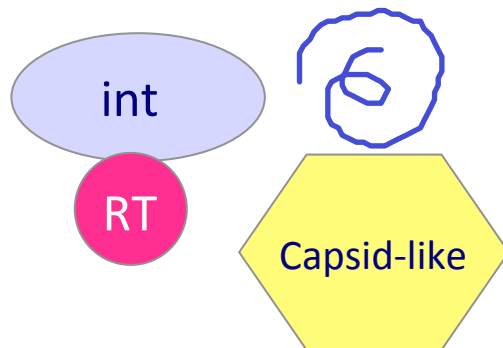
Cytoplasme



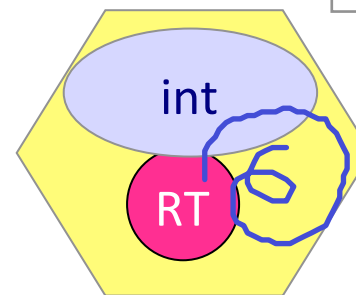
5. Intégration

ARNm

ARN génomique

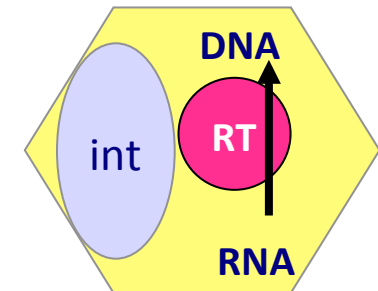


2. Synthèse protéique

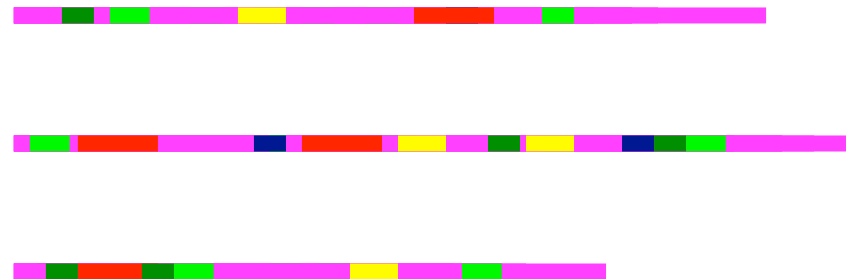


3. Constitution de Virus-like particules

4. Transcription inverse



Augmentation du nombre de copies : phénomène invasif qui contribue à accroître la taille des génomes

Ch
com

Les rétrotransposons à LTR chez les plantes

		taille génome en Mpb	% Rt à LTR
<i>Hordeum vulgare</i>	orge	4800	70
<i>Zea mays</i>	maïs	3200	50 à 80
<i>Vitis vinifera</i>	vigne	487	11,6
<i>Oryza sativa</i>	riz	430	22
<i>Arabidopsis thaliana</i>	arabidopsis	145	4,8

Les rétrotransposons à LTR composent la majeure partie du génome de la plupart des plantes



Conséquences de l'activité des rétrotransposons

- L'insertion de rétrotransposon dans ou à proximité de gènes peut être délétère pour le gène ;
- L'insertion de rétrotransposon dans ou à proximité de gènes peut conduire à un nouveau pattern de transcription;
- La machinerie des rétrotransposons peut reverse-transcrire des ARNm épissés de l'hôte et insérer ces rétrogènes à de nouvelles positions dans le génome hôte



Conséquences de l'activité des rétrotransposons

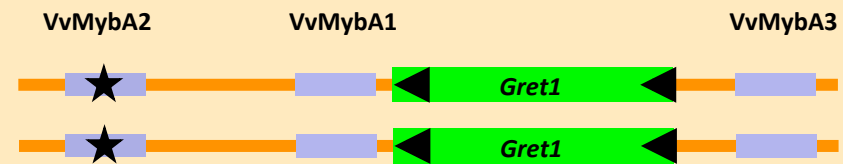
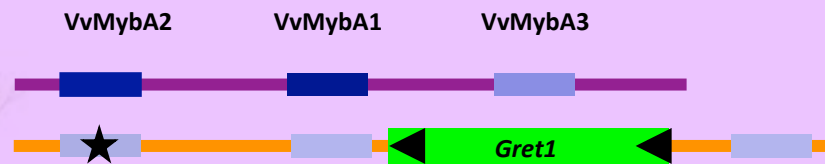


- Certains rétrotransposons ont un rôle d'isolateur de boucles de chromatine. À de nouvelles positions, ils peuvent modifier la régulation des gènes à l'intérieur de la boucle;
- Les rétrotransposons étant souvent méthylés pour empêcher leur transcription, cette régulation épigénétique peut être propagée aux gènes adjacents
- La présence des rétrotransposons peut conduire à des réarrangements du génome par recombinaison inégale ou ectopique

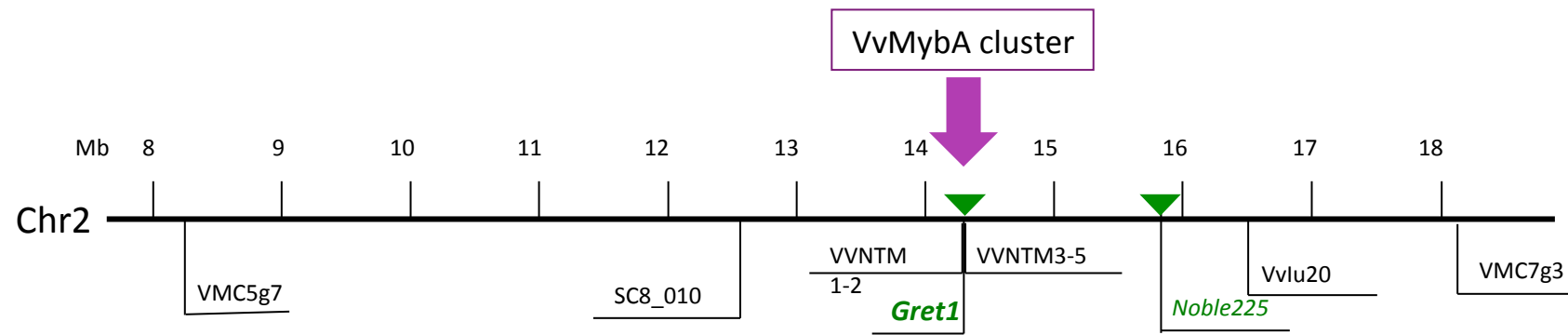


Les rétrotransposons sont une force évolutive
importante des gènes et des génomes

Gret1 au locus de la couleur dans les variétés cultivées



Localisation du locus de la couleur

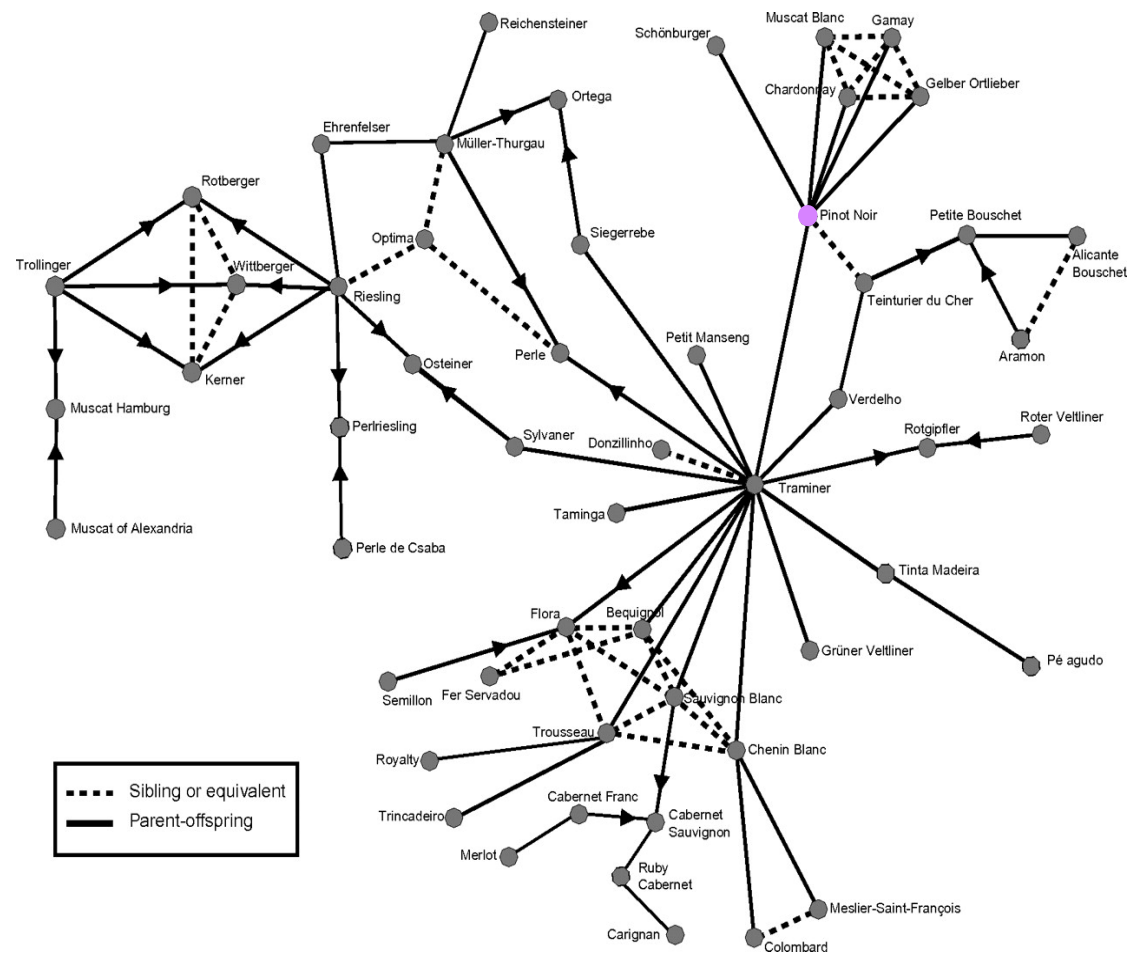


Gret1 au locus de la couleur



			Gret1+/Gret1+	Gret1+/Gret1-	Gret1-/Gret1-
<i>Vitis vinifera</i>	<i>cultivé</i>	blanc	26	0	0
		coloré	0	16	2

Toutes les variétés sont plus ou moins apparentées



Myles S et al. PNAS 2011;108:3530-3535

Variabilité clonale au locus de la couleur



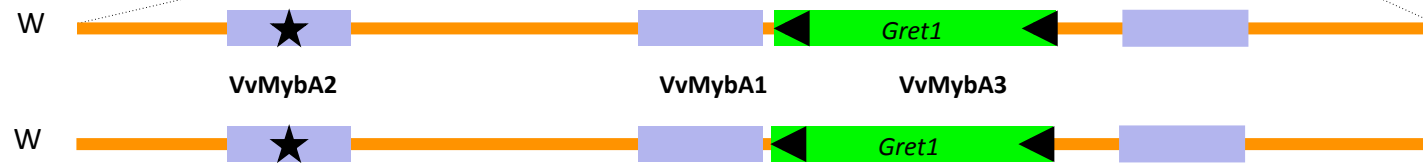
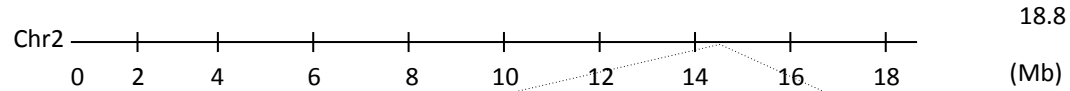
Chardonnay, Chasselas, Italia ou Savagnin



Aramon, Cabernet-sauvignon, Grenache, Pinot ou Terret

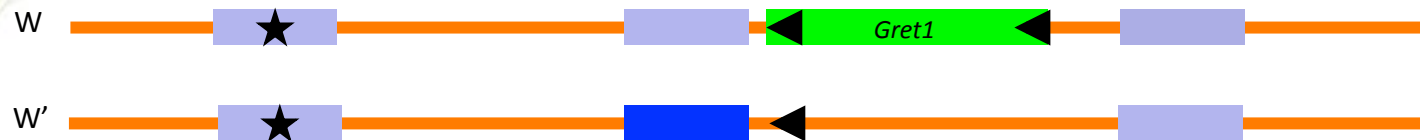
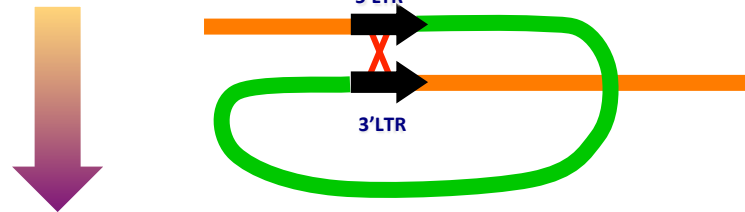


De l'Italia au Ruby Okuyama



Italia

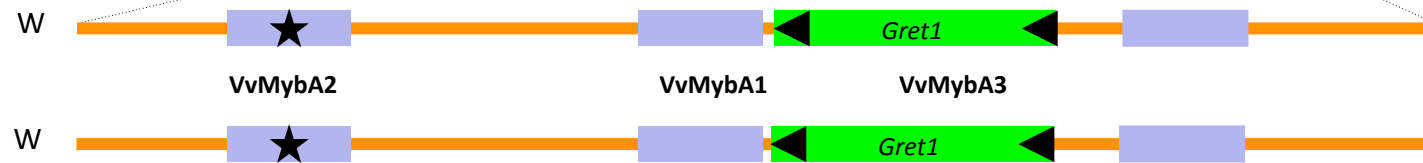
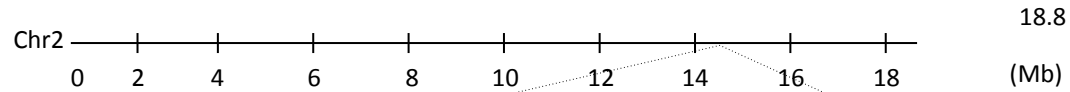
excision partielle de
Gret1



Ruby Okuyama

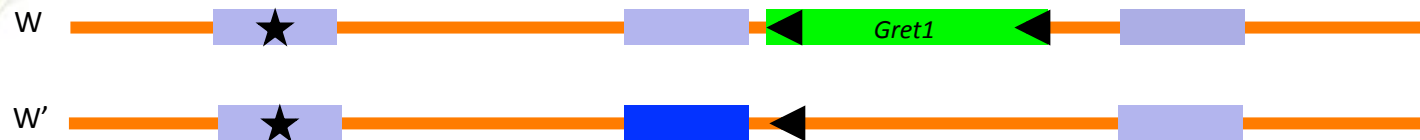
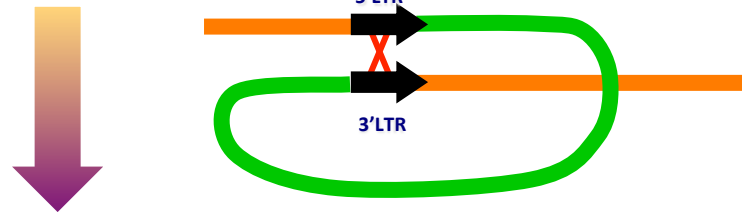


Du Chardonnay blanc au Chardonnay rose



Chardonnay blanc

excision partielle de
Gret1

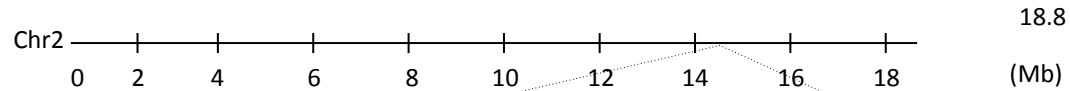


Chardonnay rose

This et al (2007) TAG

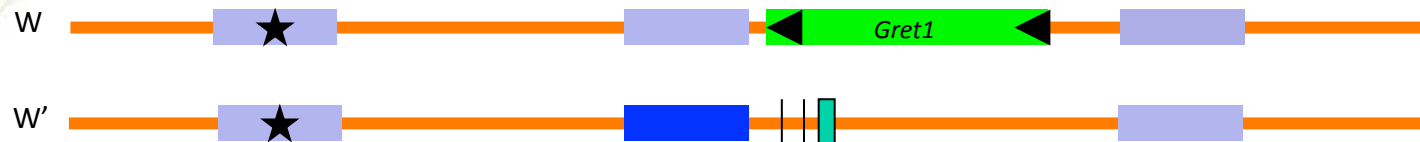


Du Savagnin blanc au Savagnin rose



Savagnin blanc

Délétion, insertion et mutations ponctuelles

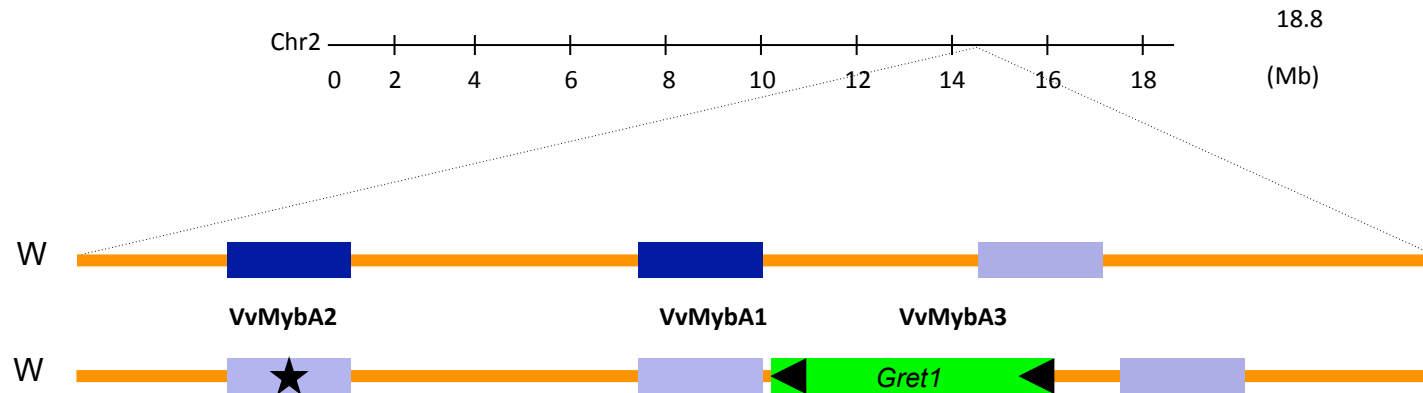


Savagnin rose

This et al (2007) TAG



Du Cabernet sauvignon au Shalistin



Cabernet sauvignon

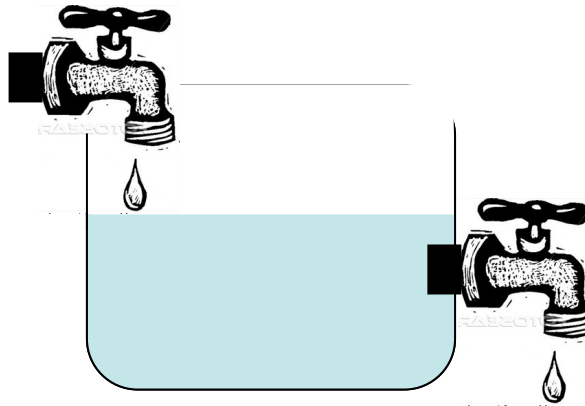
Délétion



Shalistin

Vie et mort des rétrotransposons

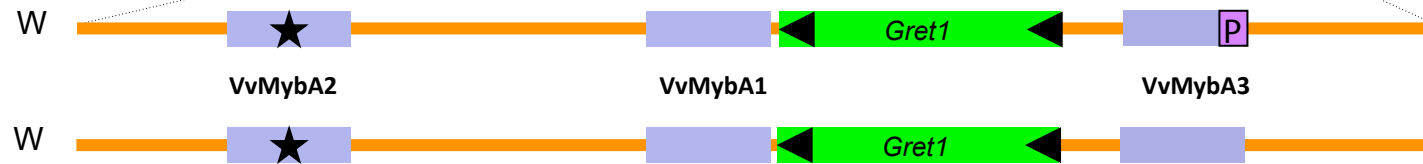
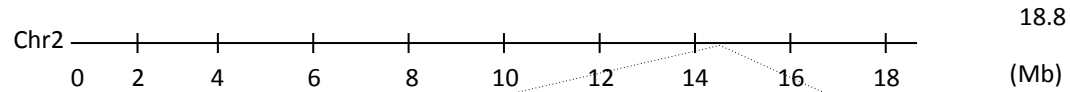
Amplification



Elimination



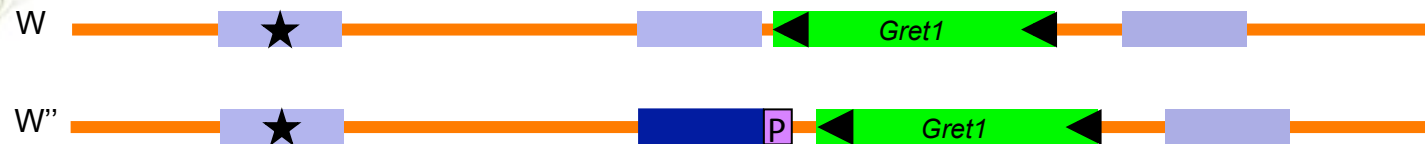
De l'Italia au Benitaka



Italia



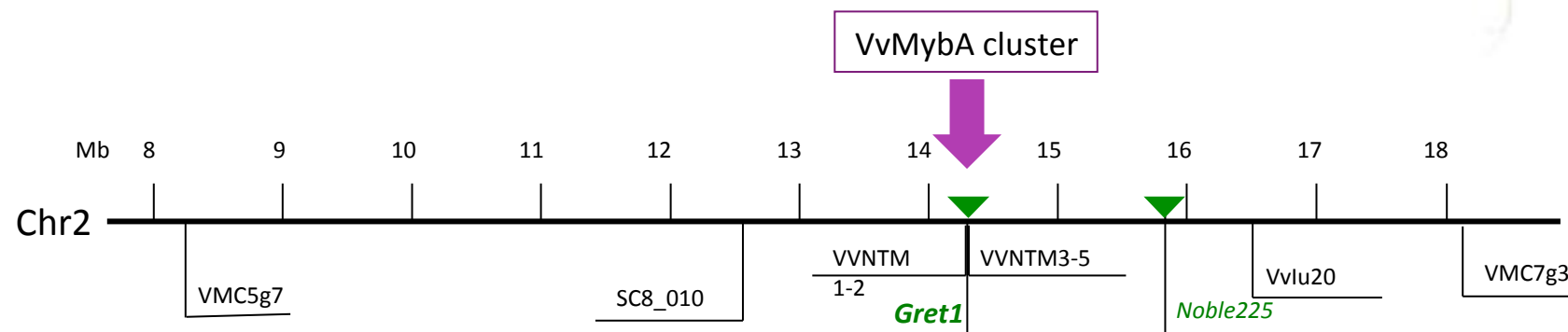
Recrutement d'un promoteur
par recombinaison illégitime



Benitaka



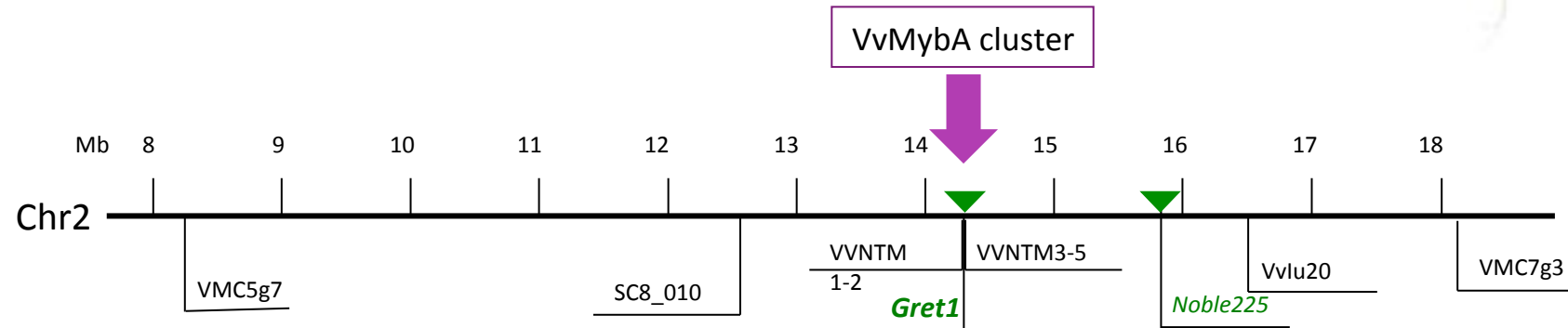
Haplotypes du Pinot noir



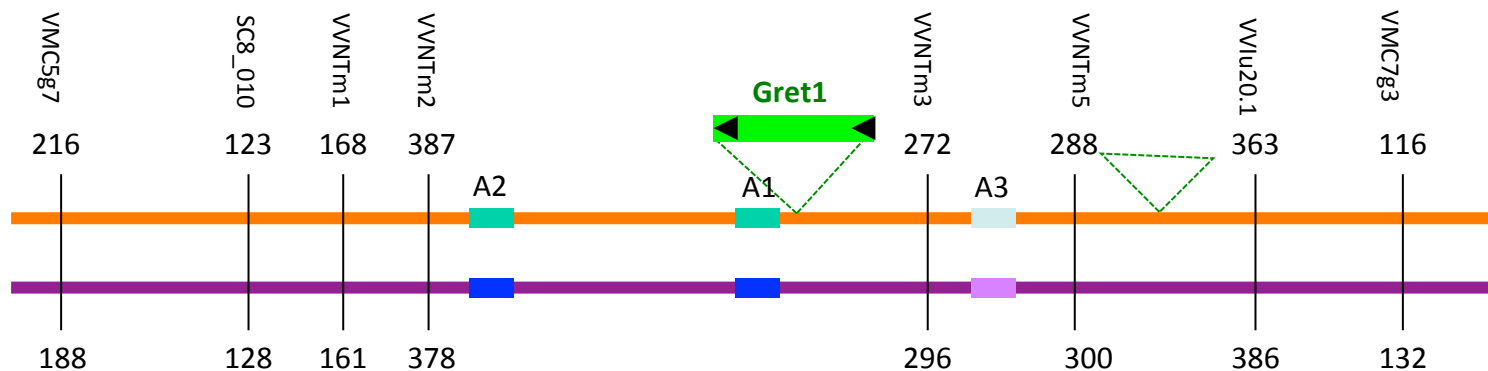
	VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	<i>Gret1</i>	VVNTm3	VVNTm5	<i>Noble225</i>	VVlu20.1	VMC7g3
genotype	188-216	123-128	161-168	378-387	Full/empty	272-296	288-300	Full/empty	363-396	116-132



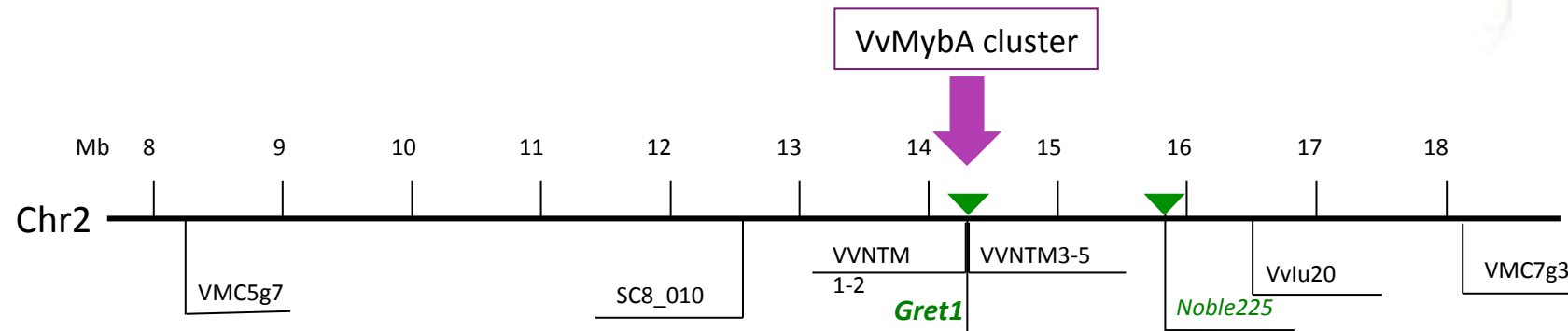
Haplotypes du Pinot noir



	VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	Gret1	VVNTm3	VVNTm5	Noble225	VVlu20.1	VMC7g3
genotype	188-216	123-128	161-168	378-387	Full/empty	272-296	288-300	Full/empty	363-396	116-132
haplotypes	216	123	168	387	Full site	272	288	Full site	363	116
	188	128	161	378	Empty site	296	300	Empty site	386	132



Génotypes de différents clones de Pinot blanc



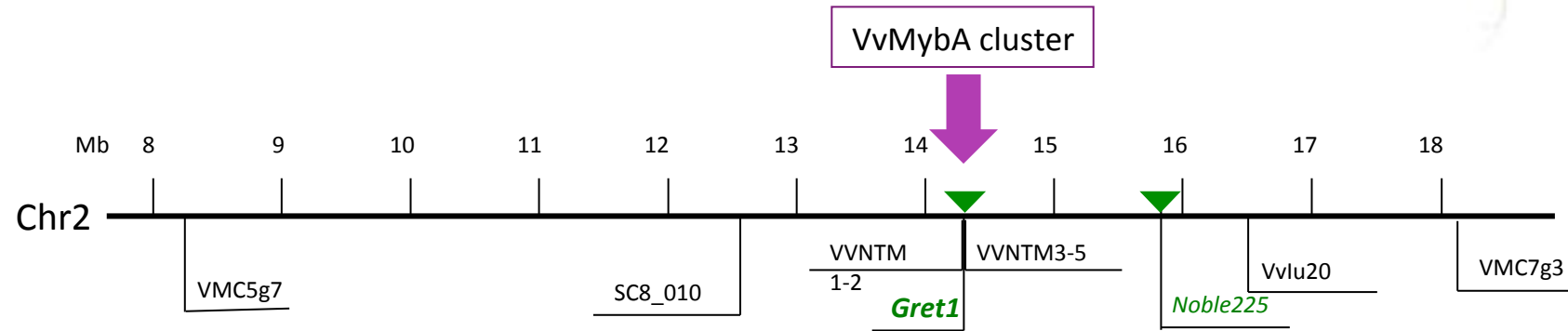
clone nb	VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	Gret 1		VVNTm3	VVNTm5	Noble225		Vvlu20	VMC7g3
					empty site	full site			empty site	full site		
ref	188-216	123-128	161-168	378-387	1	1	272-296	288-300	1	1	363-386	116-132
13	188-198	123-128	168	387	0	1	272-296	288-300	1	1	363-386	116-132
3	188-216	123-128	168	387	0	1	272	288	0	1	363	116
2	188-216	123-128	168	387	0	1	272	288	1	1	363-386	116-132
1	188-216	123-128	168	387	0	1	272	288-300	1	1	363-386	116-132
1	188-198-216 6	123-128	161-168	378-387	0	1	272-296	288-300	1	1	363-386	116-132



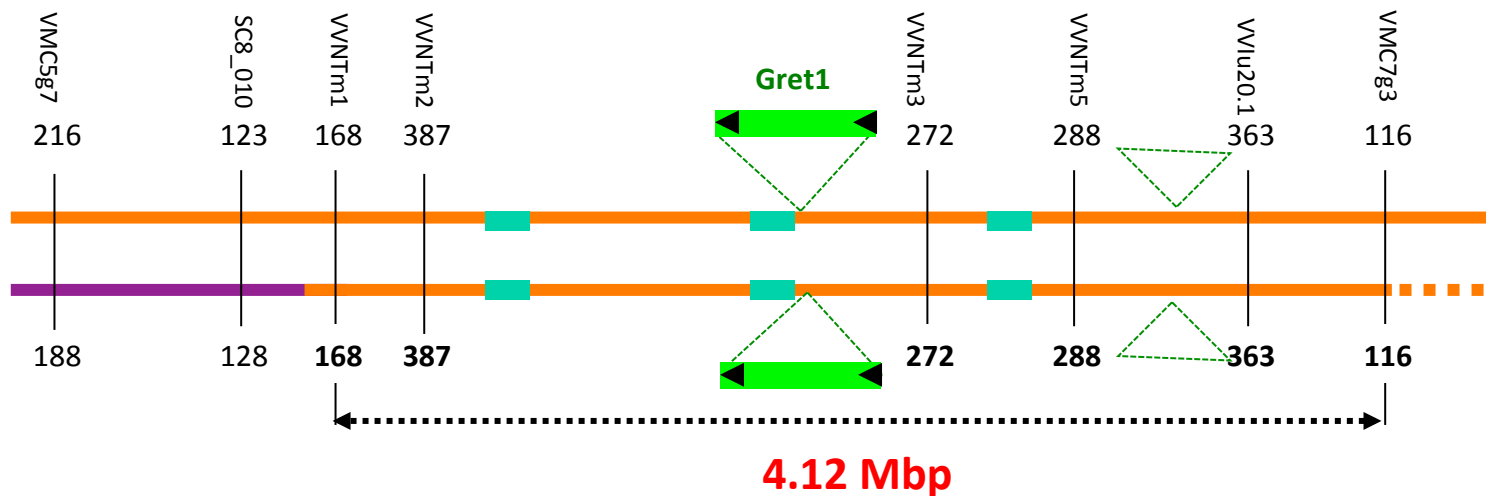


136.75 Kb

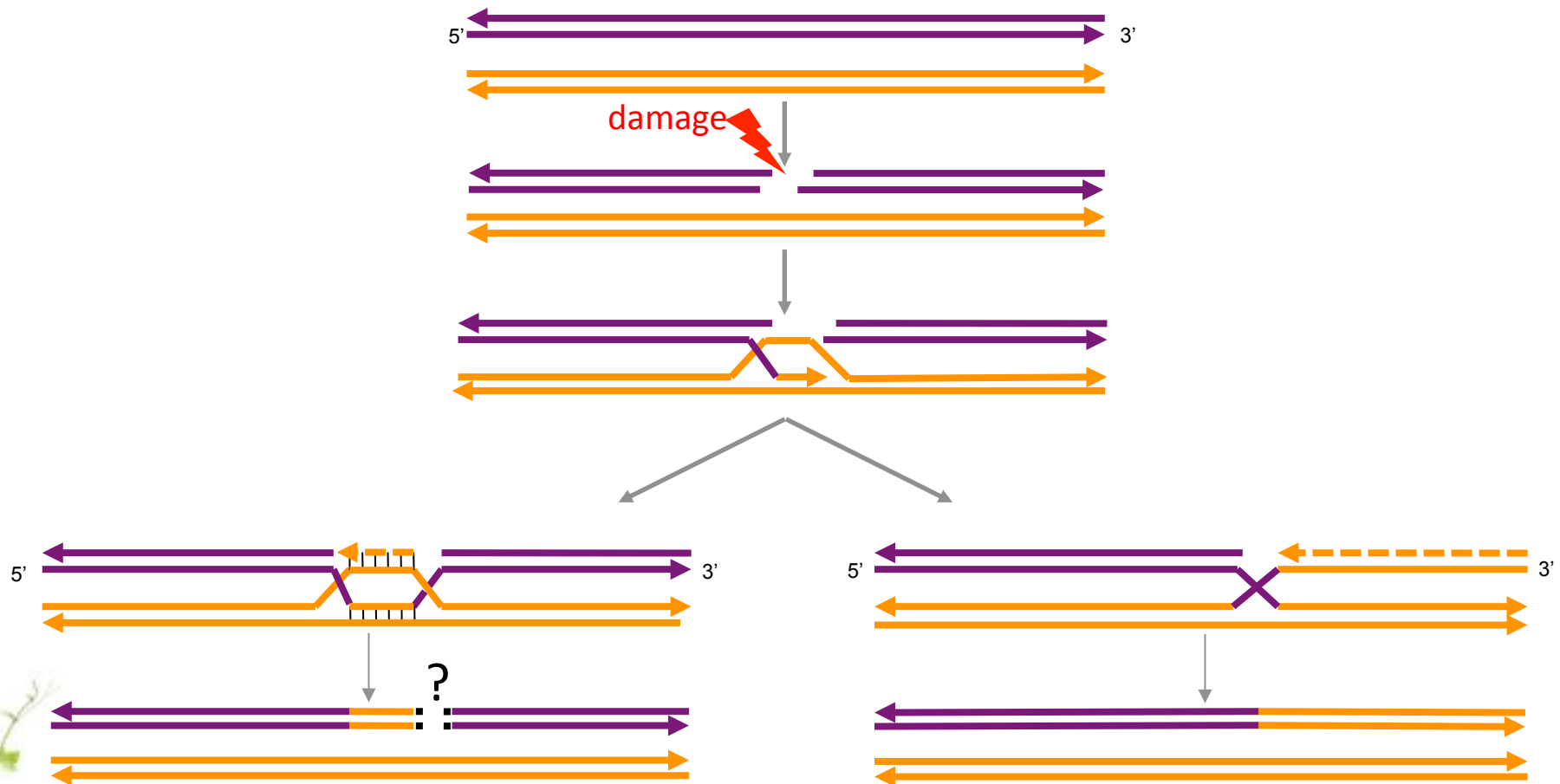
Haplotypes-2 de Pinot blanc



Clone nb		VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	Gret1	VVNTm3	VVNTm5	Noble225	VVlu20.1	VMC7g3
2	genotype	188-216	123-128	168	397	full site	272	288	full site	363	116
	haplotypes	216	123	168	387	full site	272	288	full site	363	116
		188	128	168	387	full site	272	288	full site	363	116



Remplacement chromosomique par conversion génique



Recombination dans les cellules somatiques sans crossing over



Taille de la région remplacée : de 4.12 to 0.14 Mb

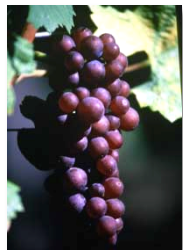
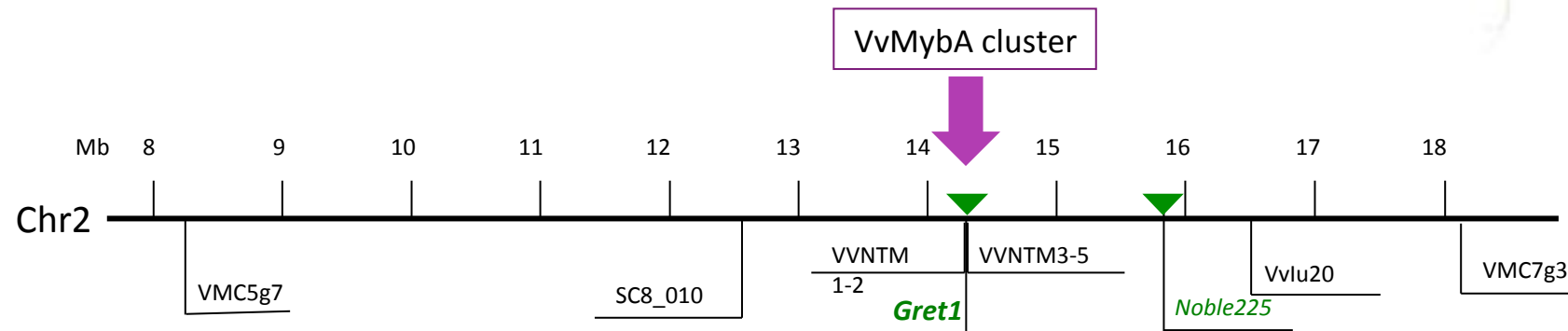
Pourquoi étudier la variabilité clonale?



1. Quelle est l'origine de la variabilité observée dans les collections de clones appartenant à une même variété ?
2. Quels sont les types de mutation somatique connus?
3. Comment se propagent ces mutations?



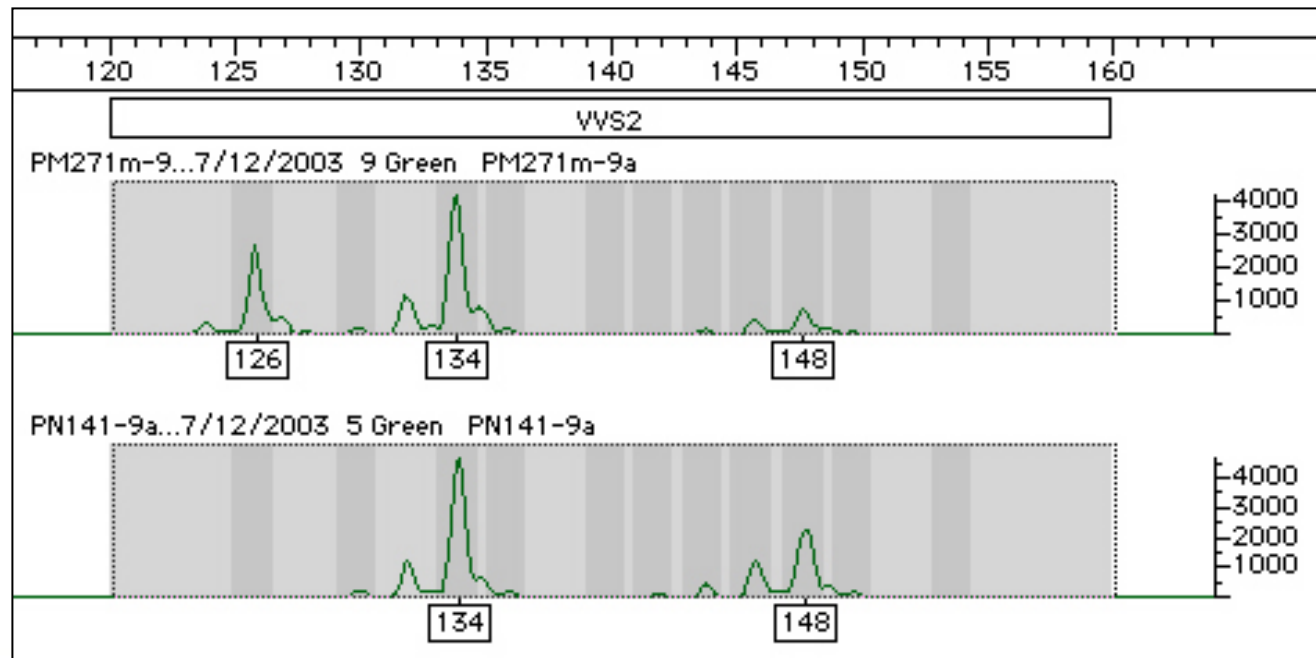
Génotypes de Pinot gris



clone nb	VMC5g7	SC8_0146_010	VVNTm1	VVNTm2	Gret 1		VVNTm3	VVNTm5	Noble225		Vvlu20	VMC7g3
					empty site	full site			empty site	full site		
ref	188-216	123-128	161-168	378-387	1	1	272-296	288-300	1	1	363-386	116-132
4	188-216	123-128	161-168	378-387	1	1	272-296	288-300	1	1	363-386	116-132
3	188-198-216	123-128	161-168	378-387	1	1	272-296	288-300	1	1	363-386	116-132



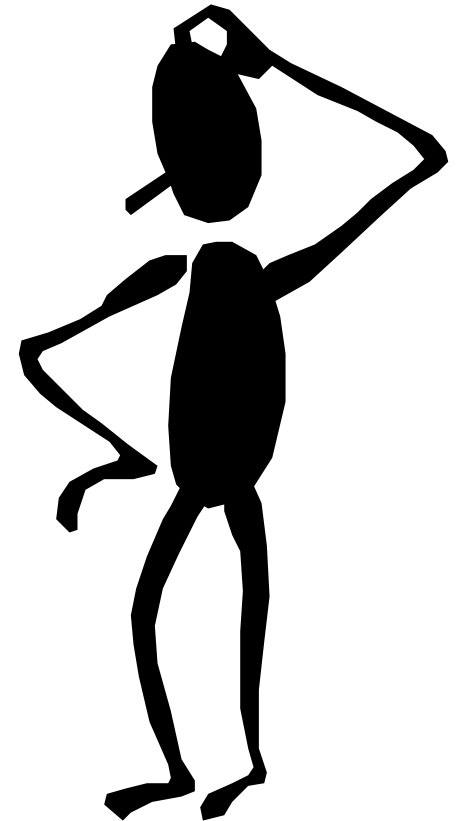
Le triallélisme



artefact



chimérisme



Génotypes et phénotypes de deux clones agréés de pinot gris



Origine des plantes	Origine tissulaire de l' ADN	PG52		PG53	
		Locus	Phénotype des baies	Locus	Phénotype des baies
		VVS2	VVMD32	VVS2	VVMD32
Clone		gris		gris	
	feuille	126:134: 148	236:252: 268	134:148	236:268
	racine	126:134	236:252	134:148	236:268



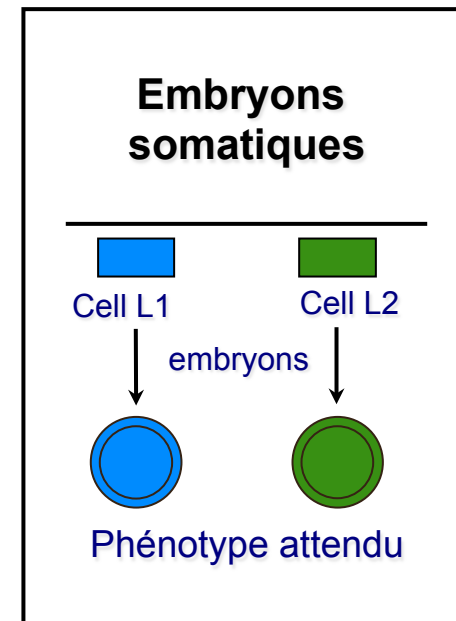
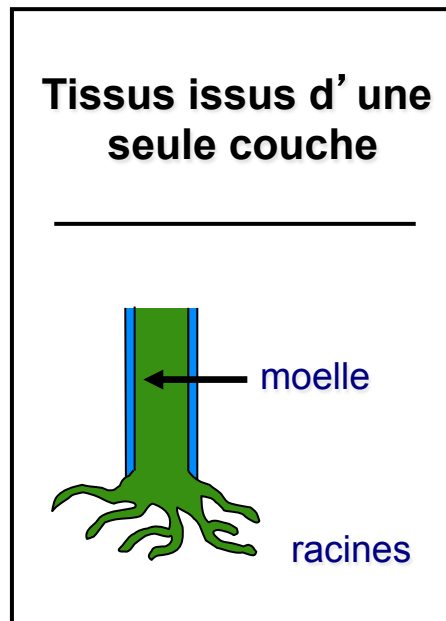
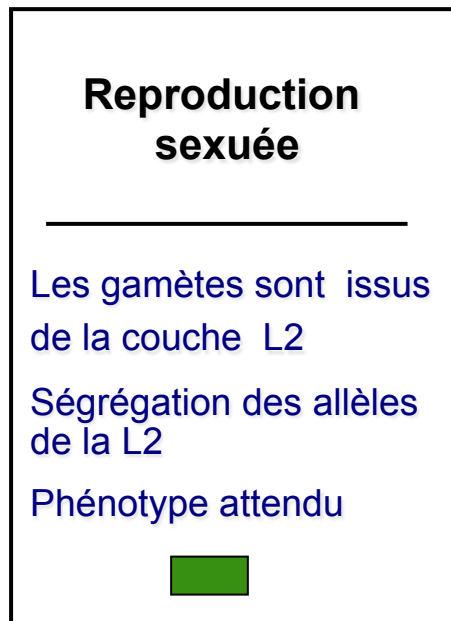
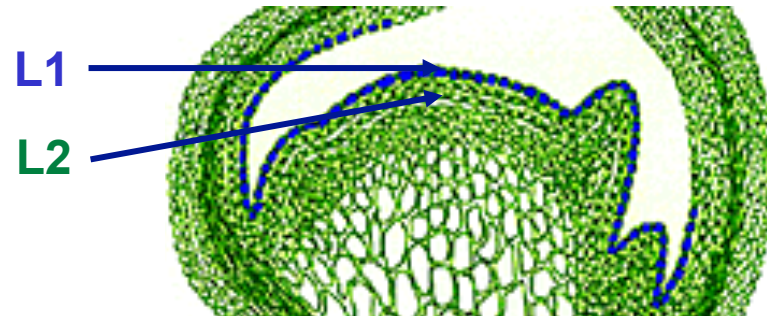
Génotypes et phénotypes de deux clones agréés de pinot gris

Origine des plantes	Origine tissulaire de l' ADN	PG52		PG53	
		Locus	Phénotype des baies	Locus	Phénotype des baies
		VVS2	VVMD32	VVS2	VVMD32
Clone		gris		gris	
	feuille	126:134: 148	236:252: 268	134:148	236:268
	racine	126:134	236:252	134:148	236:268
Descendance d' autofécondation		blanc		blanc	
	feuille	126	236	134	236
	feuille	134	252	148	268
	feuille	126:134	236:252	134:148	236:268

Génotypes et phénotypes de deux clones agréés de pinot gris

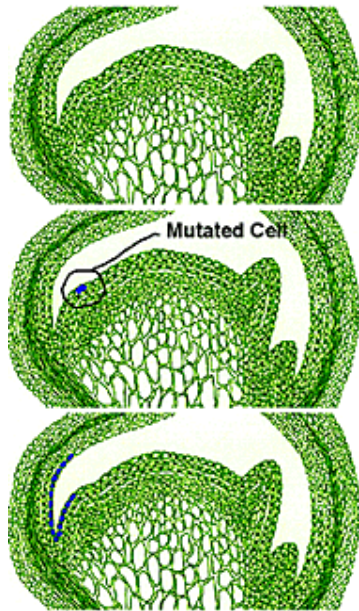
Origine des plantes	Origine tissulaire de l' ADN	PG52		PG53	
		Locus	Phénotype des baies	Locus	Phénotype des baies
		VVS2	VVMD32	VVS2	VVMD32
Clone		gris		gris	
	feuille	126:134: 148	236:252: 268	134:148	236:268
	racine	126:134	236:252	134:148	236:268
Descendance d' autofécondation		blanc		blanc	
	feuille	126	236	134	236
	feuille	134	252	148	268
	feuille	126:134	236:252	134:148	236:268
Plantes issues d' embryogenèse somatique		noir		noir	
	feuille	134:148	236:268	134:148	236:268

Comment révéler un état chimérique?

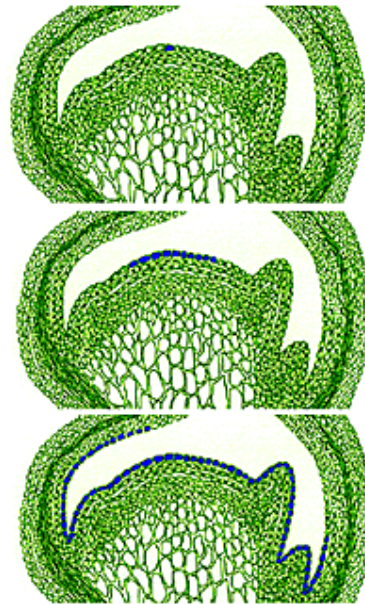


Différents types de chimère chez les plantes

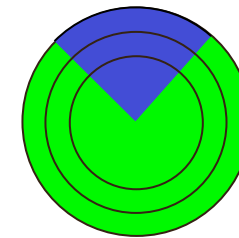
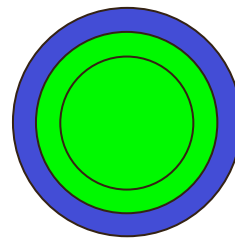
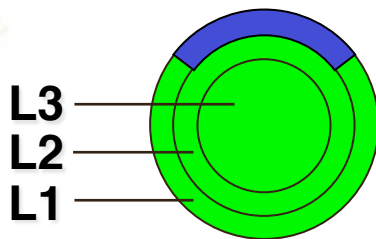
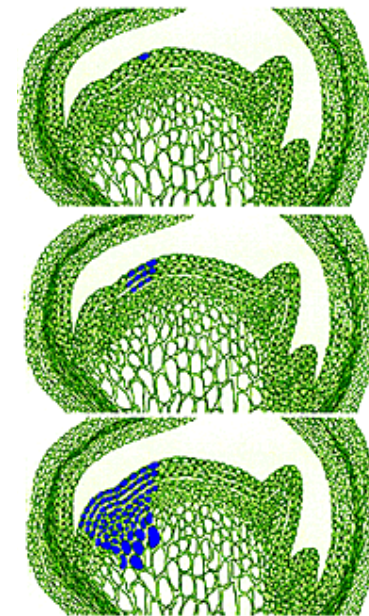
méricline



péricline



sectorielle



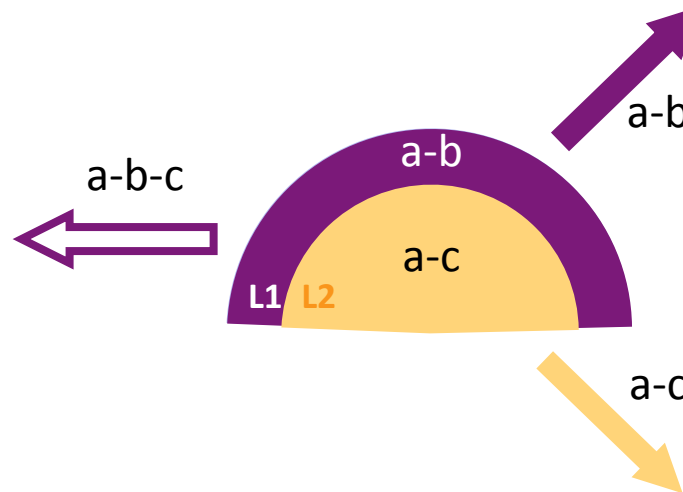
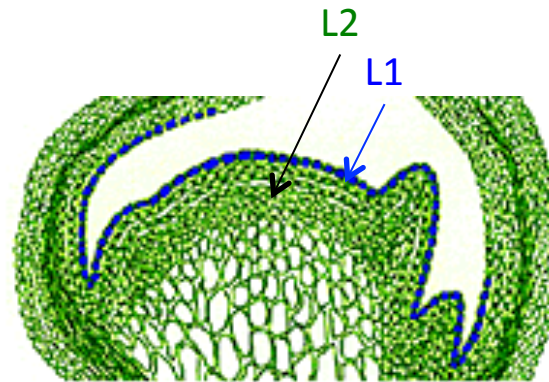
Structure maintenue par
multiplication végétative

Les clones de Pinot gris sont des chimères

Pinot gris



Stable structure through vegetative propagation

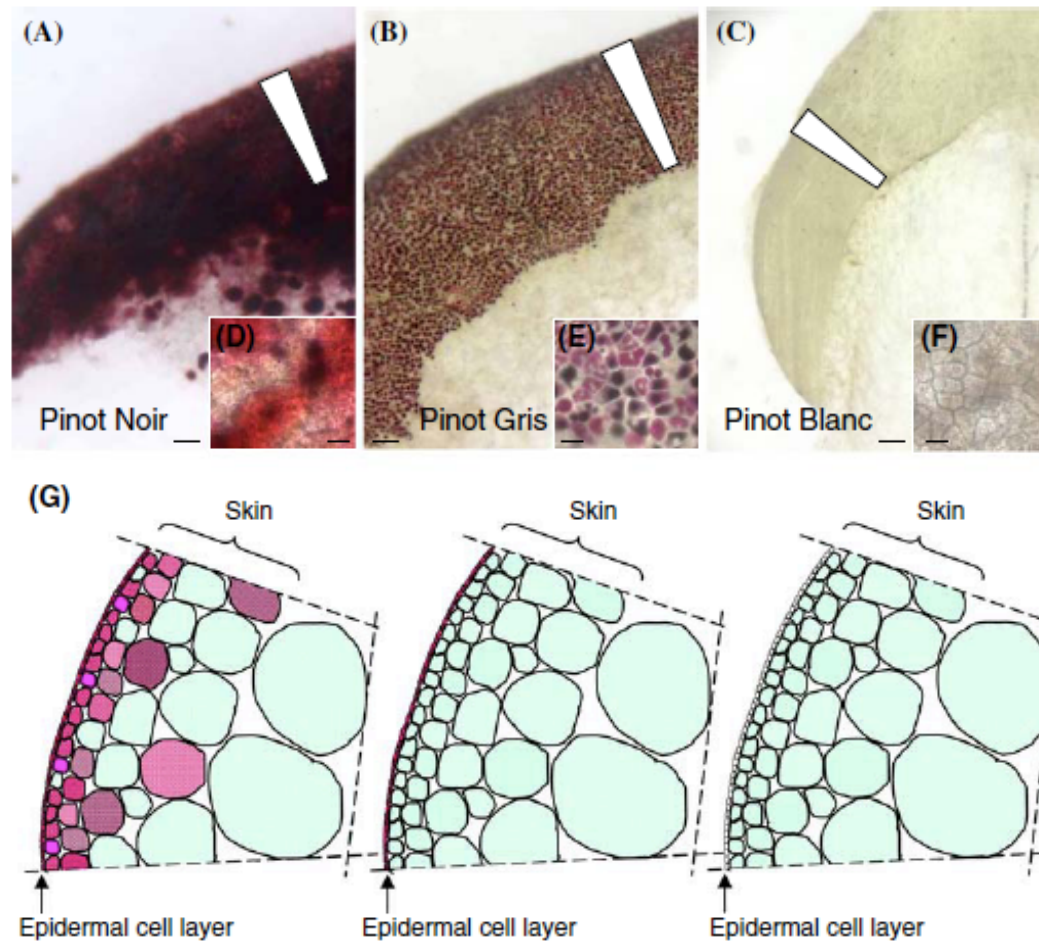


Regenerated from
L1 somatic embryos
Pinot noir type

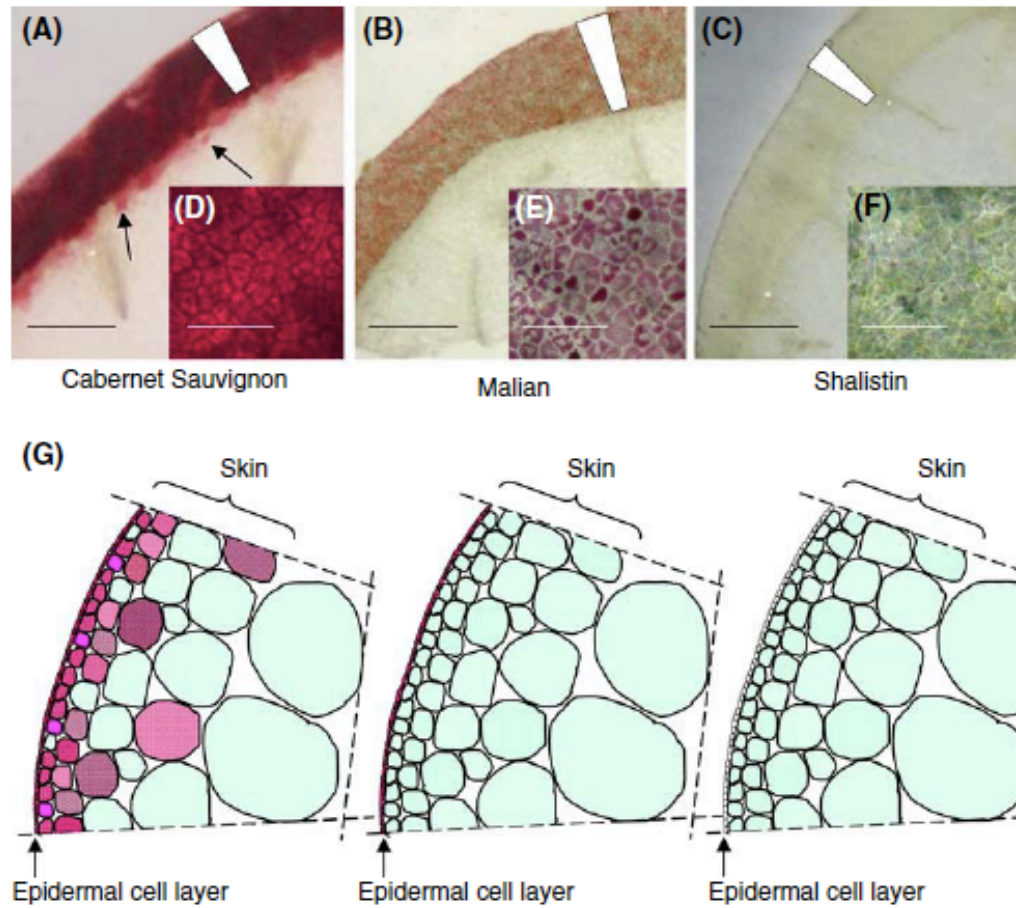


Self-fertilization
(L2)
Pinot blanc type

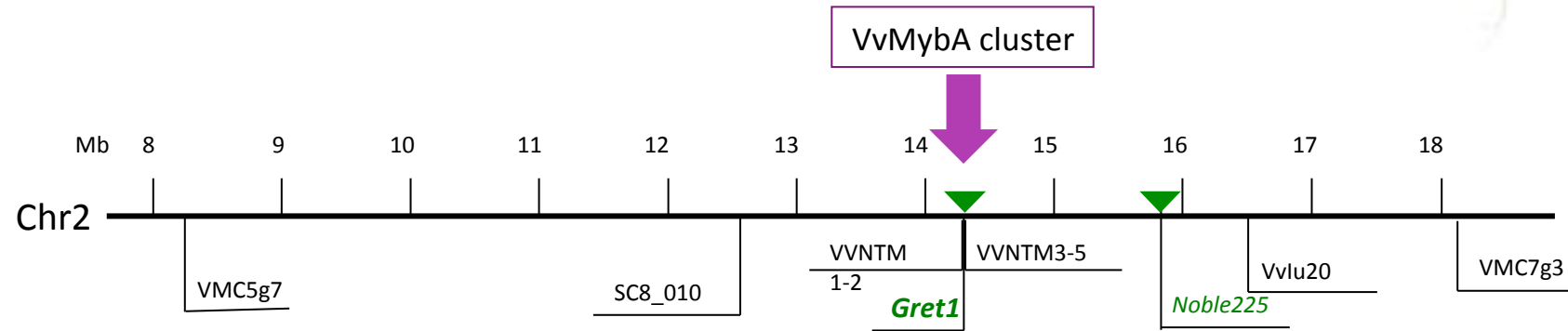
Les couches cellulaires de baies de Pinot



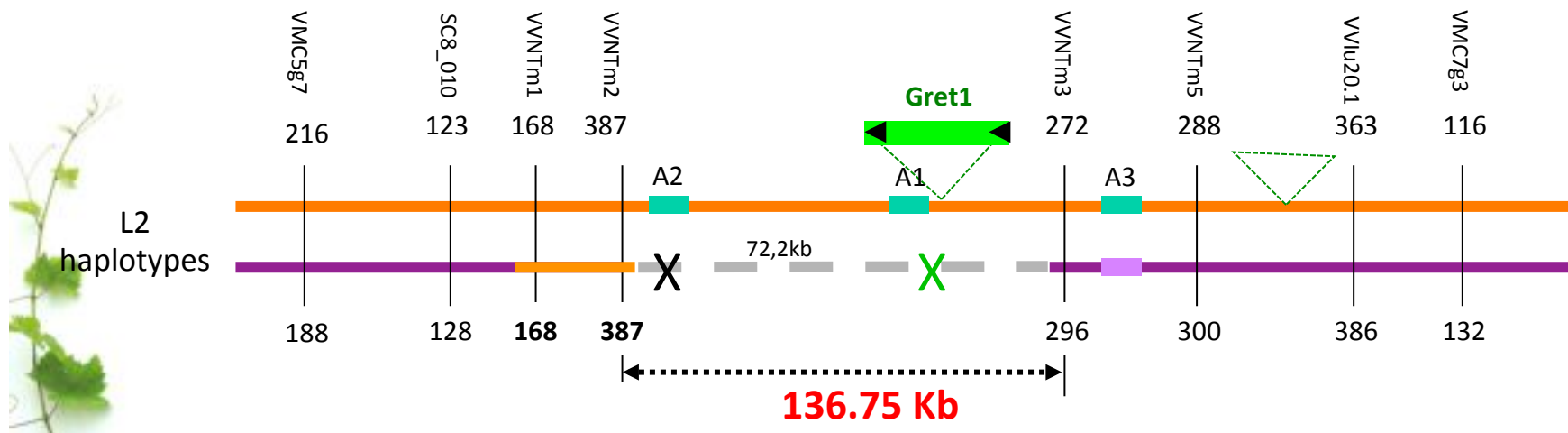
Les couches cellulaires de baies de Cabernet Sauvignon



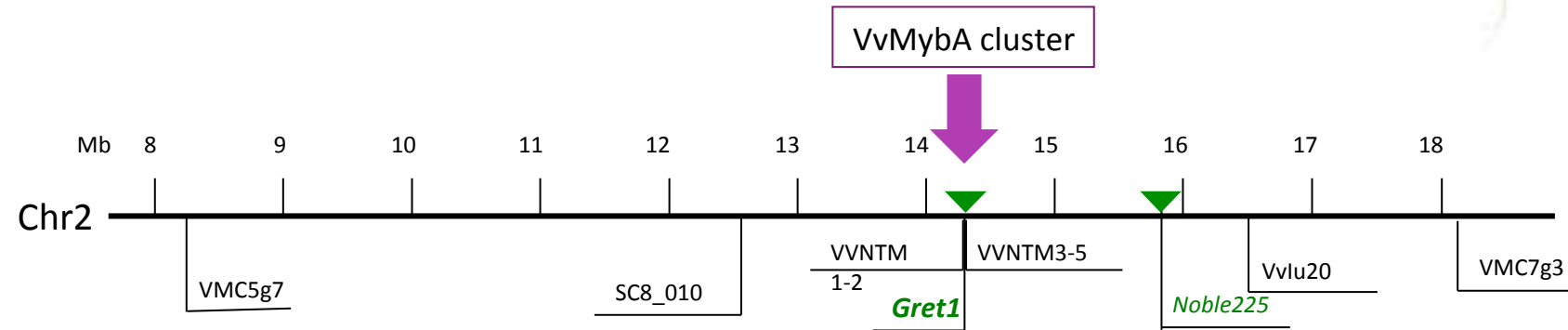
L'haplotypes-1 de Pinot gris



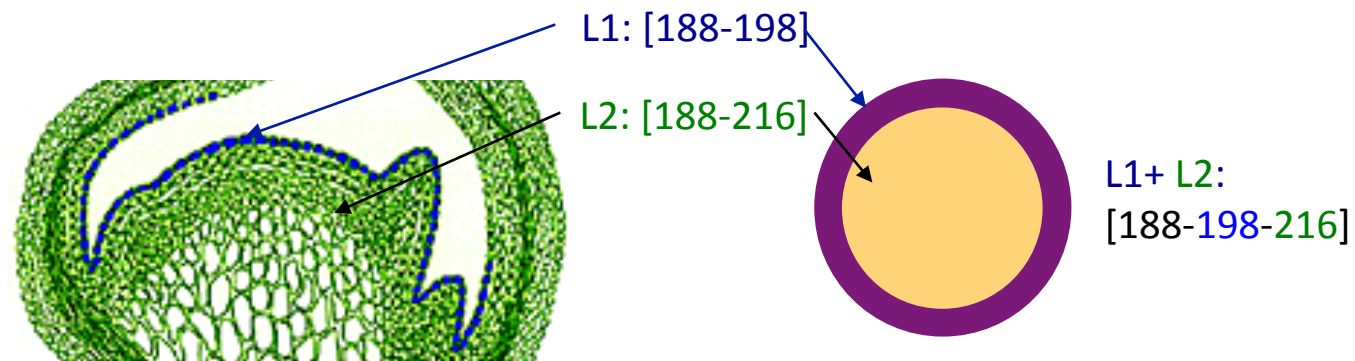
Clone nb		VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	Gret1	VVNTm3	VVNTm5	Noble225	VVlu20.1	VMC7g3
1	genotype	188-198-216	123-128	161-168	378-387	Full/empty	272-296	288-300	Full/empty	363-386	116-132
	L2	216	123	168	387	Full site	272	288	Full site	363	116
	haplotypes	188	128	168	387	0	296	300	Empty site	386	132



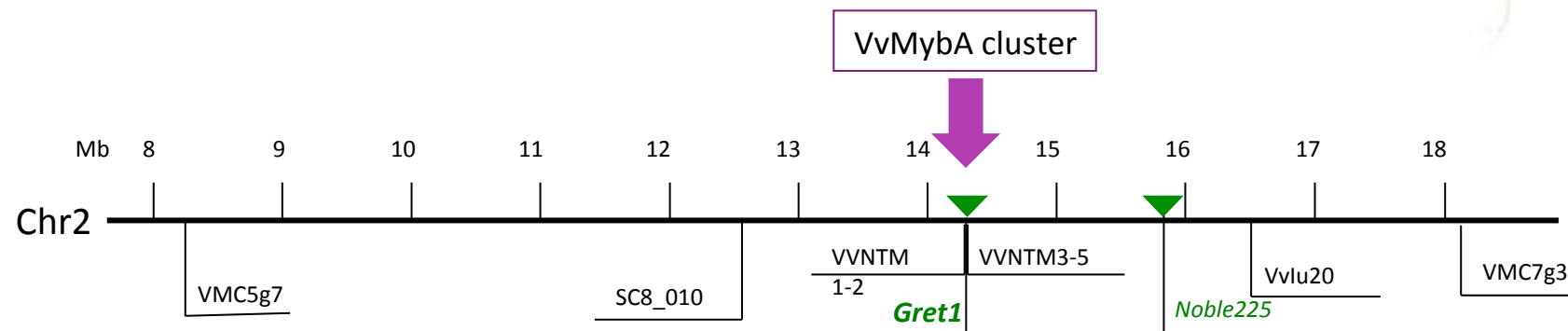
L'haplotypes-1 de Pinot gris



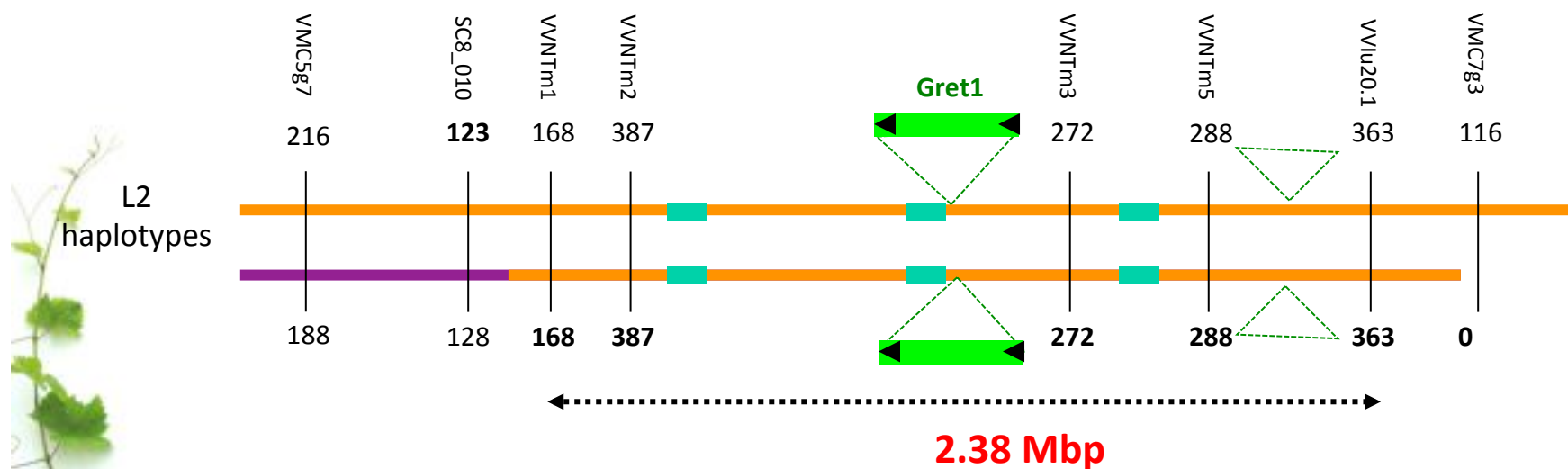
Clone nb		VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	Gret1	VVNTm3	VVNTm5	Noble225	VVlu20.1	VMC7g3
1	genotype	188- 198-216	123-128	161 -168	378 -387	Full/empty	272-296	288-300	Full/empty	363-386	116-132
	L2	216	123	168	387	Full site	272	288	Full site	363	116
	haplotypes	188	128	168	387	0	296	300	Empty site	386	132
	L1	198	123	168	387	Full site	272	288	Full site	363	116
	expected haplotypes	188	128	161	378	Empty	296	300	Empty site	386	132



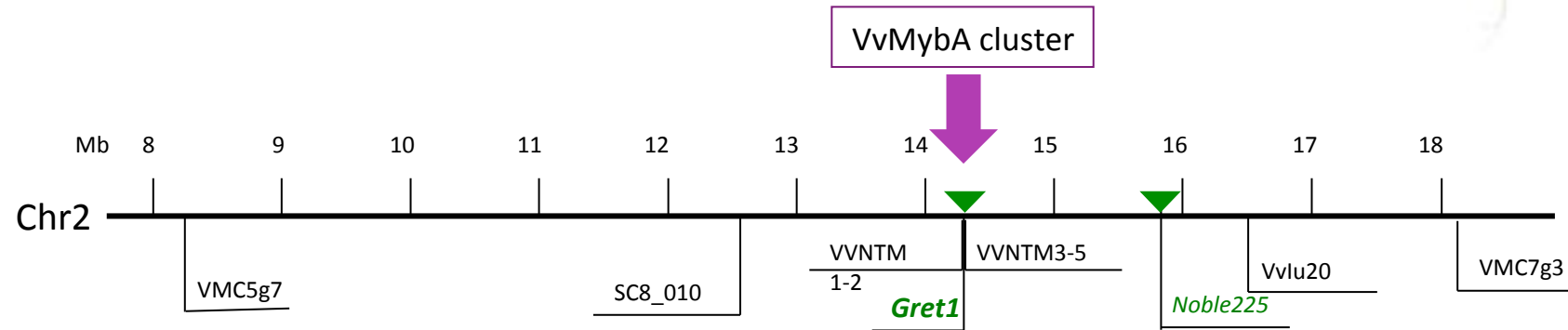
L'haplotypes-2 de Pinot gris



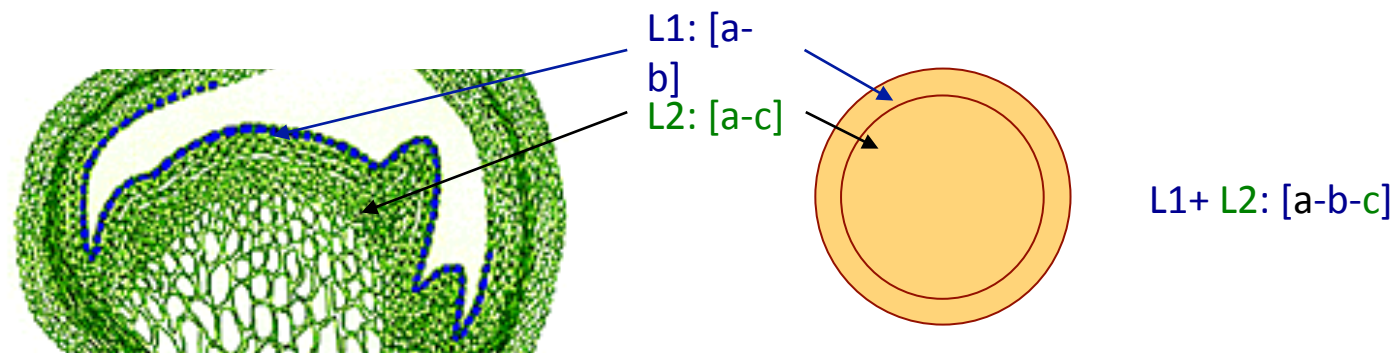
Clone nb		VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	Gret1	VVNTm3	VVNTm5	Noble225	VVlu20.1	VMC7g3
1	genotype	188-216	123-128	161-168	378-387	Full/empty	272-296	288-300	Full/empty	363-386	116-132
	L2	216	123	168	387	full site	272	288	full site	363	116
	haplotypes	188	128	168	387	full site	272	288	full site	363	0



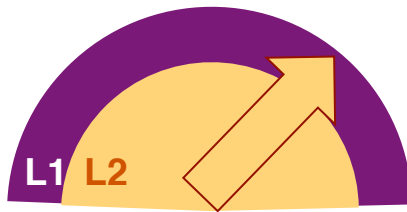
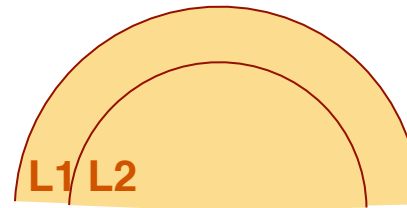
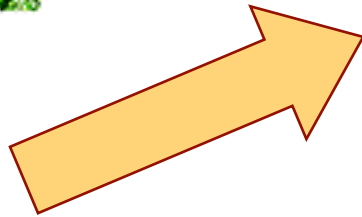
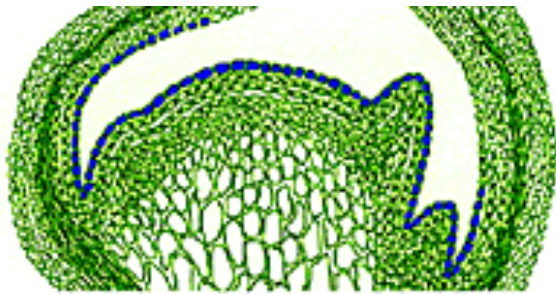
Certains clones de Pinot blanc sont aussi des chimères



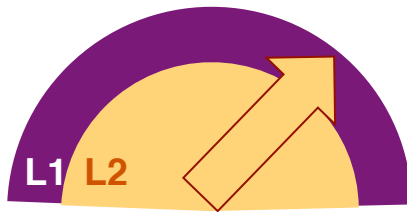
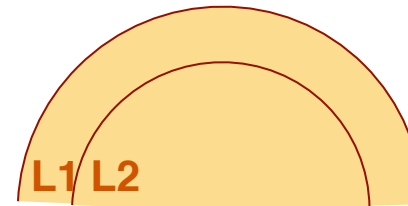
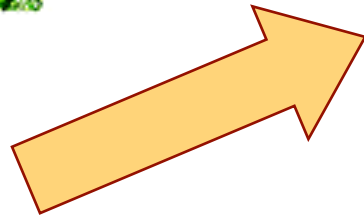
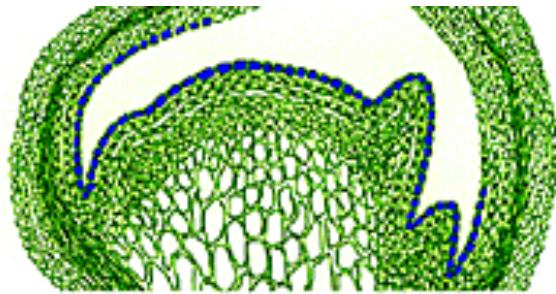
Clone nb		VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	<i>Gret1</i>	VVNTm3	VVNTm5	<i>Noble225</i>	VVlu20.1	VMC7g3
1	genotype	188-198-216	123-128	161-168	378-387	full site	272-296	288-300	full site	363-386	116-132
	L2	198	123	168	387	full site	272	288	full site	363	116
	haplotypes	188	128	168	387	0	296	300	empty site	386	132
	L1	198	123	168	387	full site	272	288	full site	363	116
	expected haplotypes	216	128	161	378	?	?	?	?	?	?



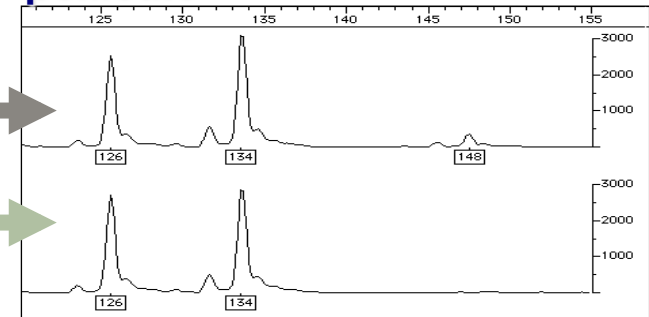
Réarrangements cellulaires de L2 -> L1



Réarrangements cellulaires de L2 -> L1



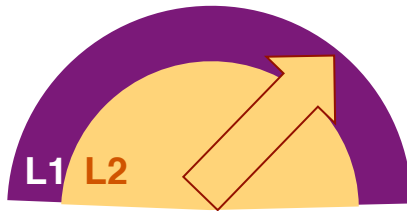
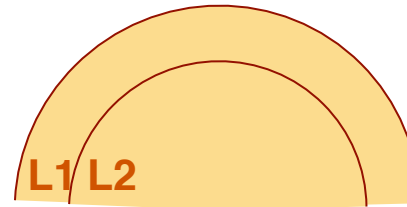
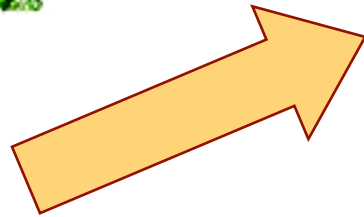
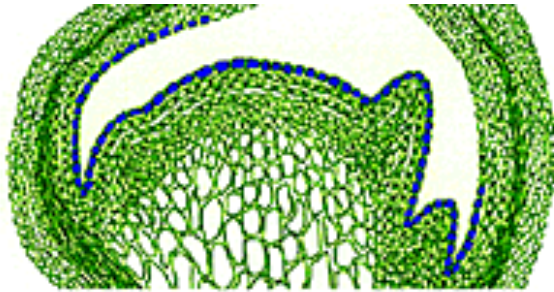
pellicule



VVS2



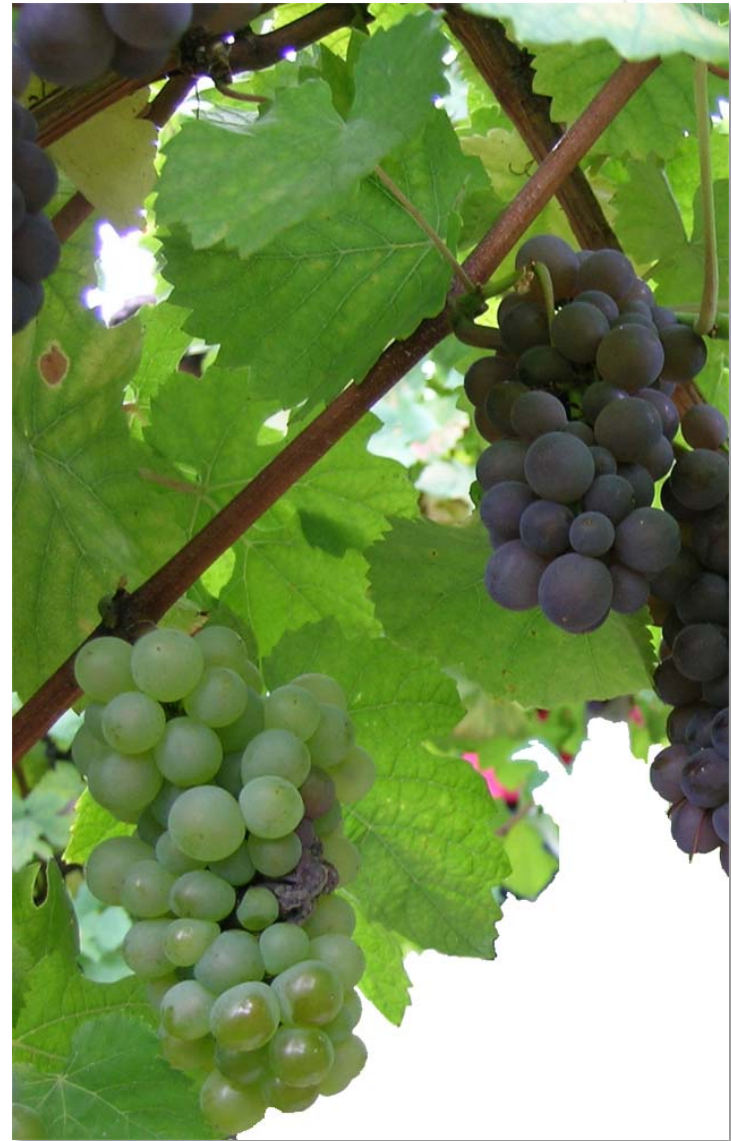
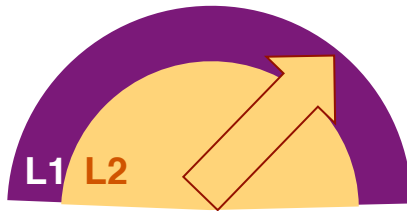
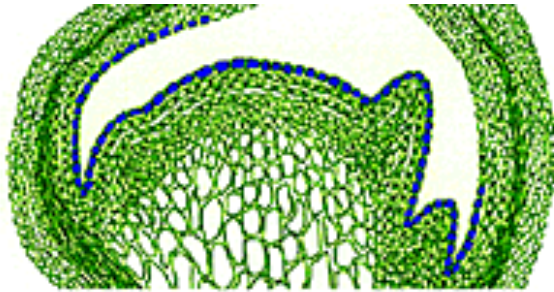
Réarrangements cellulaires de L2 -> L1



Hocquigny et al. (2004) Genome

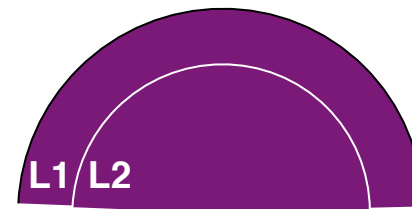
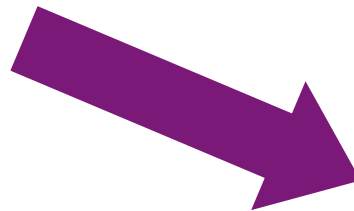
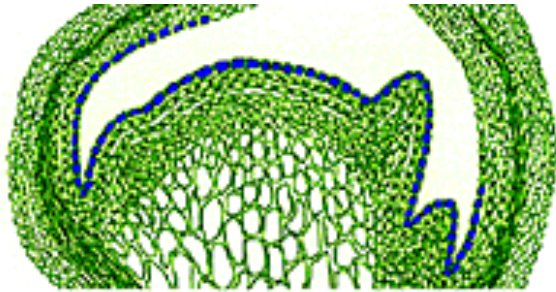


Réarrangements cellulaires de L2 -> L1



Hocquigny et al. (2004) Genome

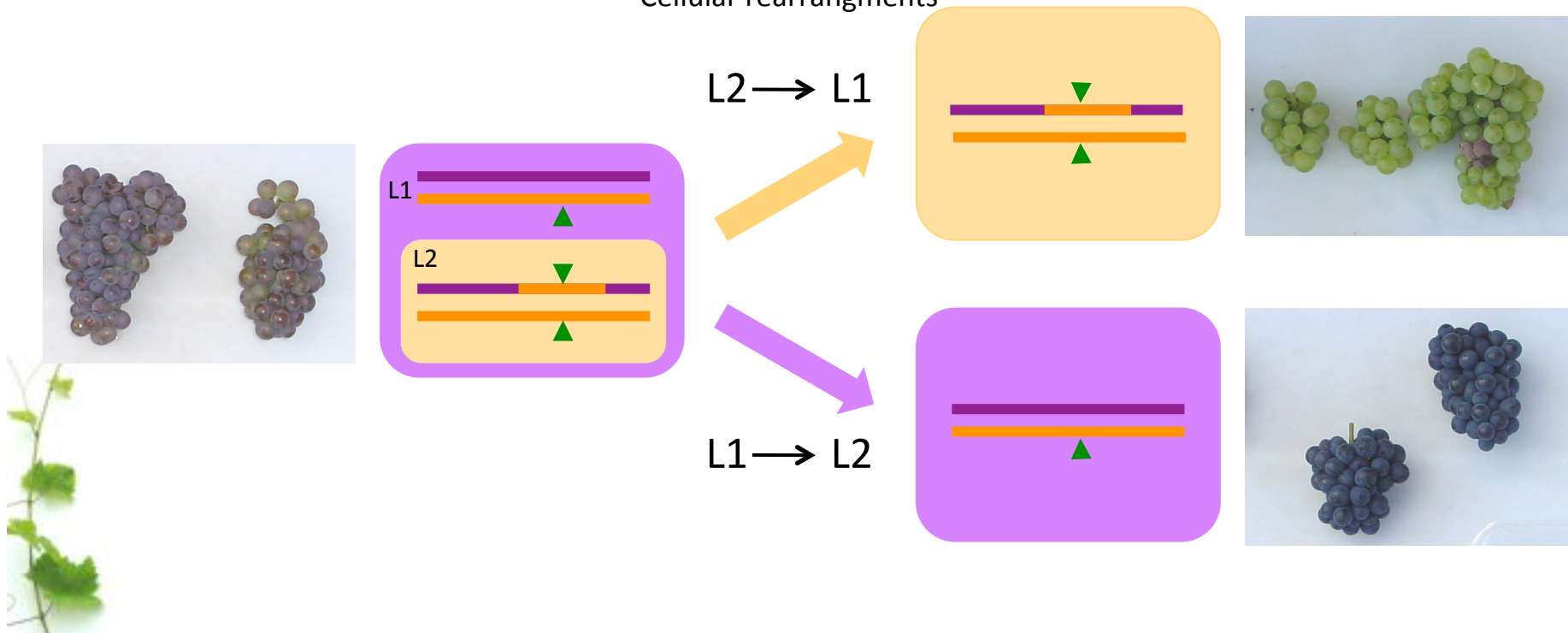
Réarrangements cellulaires de L1 -> L2



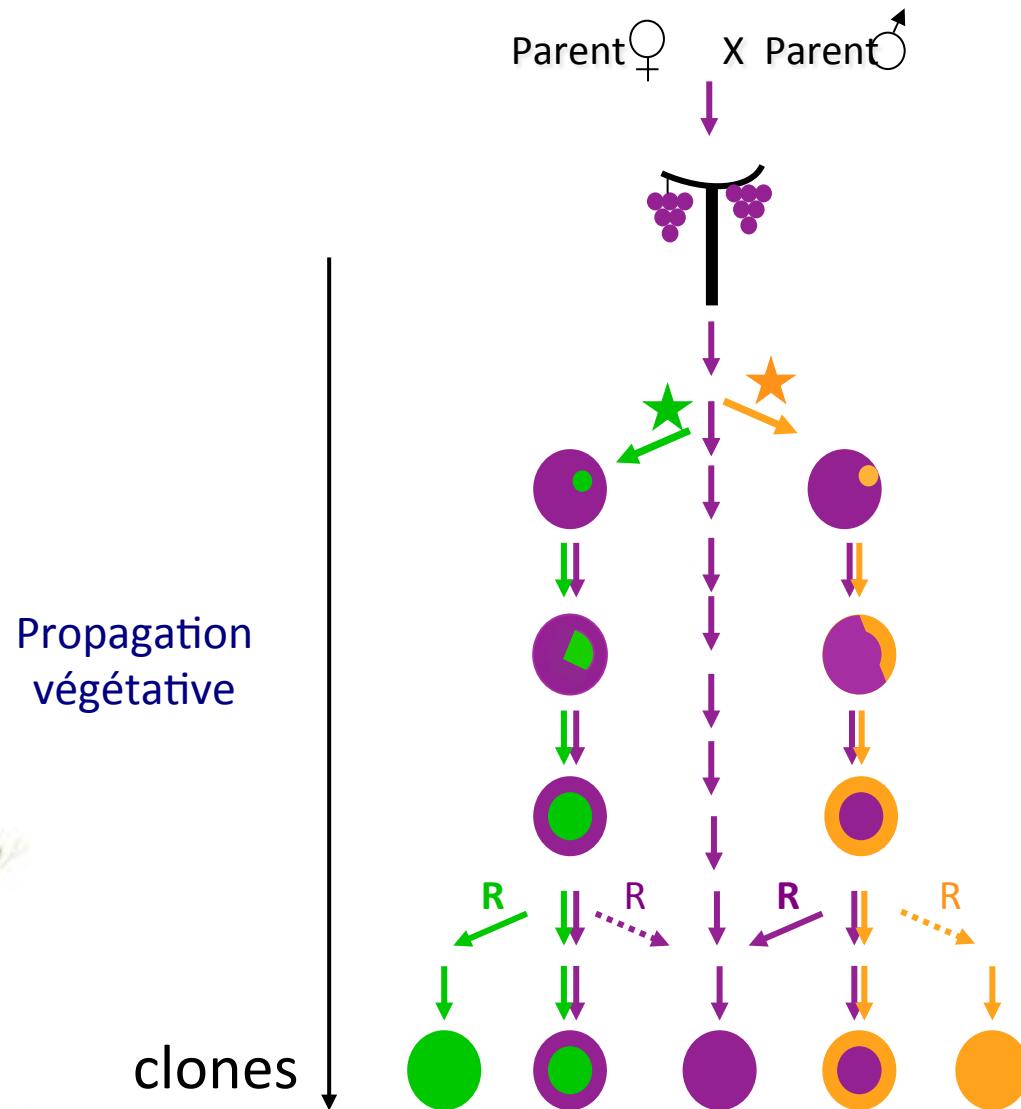
Trois variants de couleur du même clones de pinot

Clone genotypes	VMC5g7	SC8_010	VVNTm1	VVNTm2	Gret 1		VVNTm3	VVNTm5	Noble225		VVIu20	VMC7g3
					full site	empty site			full site	empty site		
gris original	188-216	123-128	161-168	378-387	1	1	272-296	288-300	1	1	363-386	116-132
blanc variant	188-216	123-128	168	387	1	0	272	288	1	1	363-386	116-132
noir variant	188-216	123-128	161-168	378-387	1	1	272-296	288-300	1	1	363-386	116-132

Cellular rearrangements



Origine de la diversité clonale



Genetic alterations:

- ★ Nbre de motifs microsatellite
- ★ SNP
- ★ Recombination illégitime
- ★ Large délétions/insertions
- ★ Eléments mobiles
- ★ Remplacements chr.

Mutations somatiques dans la couche cellulaire L1 ou L2

Invasion progressive des cellules mutées via un secteur méricline, puis une chimère méricline stable

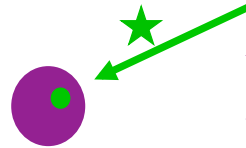
Réarrangements cellulaires majoritairement de la L2 vers la L1 et possiblement de la L1 vers la L2



Origine de la diversité clonale



Parent ♀ X Parent ♂



Genetic alterations:

- ★ Nbre de motifs microsatellite
- ★ SNP
- ★ Recombination illégitime
- ★ Large délétions/insertions
- ★ Eléments mobiles
- ★ Remplacements chr.

Mutations somatiques dans la couche cellulaire L1 ou L2

Invasion progressive des cellules mutées via un secteur mericline, puis une chimère méricline stable

Réarrangements cellulaires majoritairement de la L2 vers la L1 et possiblement de la L1 vers la L2



L'exemple du pinot meunier



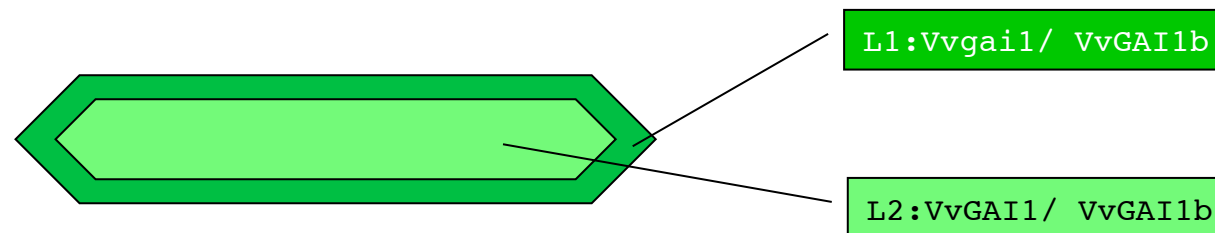
Allèles du gène GAI: régulateur négatif de la réponse aux gibberelines

211

Vvgai1	CGCTGGCATG	GATGAGCTTC	ACGCTGTTTT	GGGCTACAAC
VvGAI1	CGCTGGCATG	GATGAGCTTC	TCGCTGTTTT	GGGCTACAAC
VvGAI1b	CGCCGGCATG	GATGAGCTTC	TCGCTGTTTT	GGGCTACAAC

Vvgai1	1	MKREYHHPHH	PTCSTSPTGK	GKMWDADPQQ	DAGMDEIHAV	LGYNVKASDM	AEVAQKLEQL
VvGAI1	1	MKREYHHPHH	PTCSTSPTGK	GKMWDADPQQ	DAGMDELLAV	LGYNVKASDM	AEVAQKLEQL
VvGAI1b	1	MKREYHHPHH	PTCSTSPTGK	GKMWDADPQQ	DAGMDELLAV	LGYNVKASDM	AEVAQKLEQL

➡ Modification de la protéine

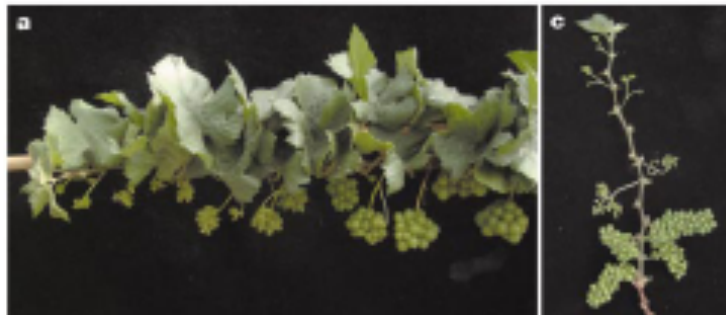


L'exemple du pinot meunier



L1:Vvgai1/ VvGAI1b

L2:VvGAI1/ VvGAI1b



Plant régénéré à partir de cellules L1
Vvgai1/ VvGAI1b



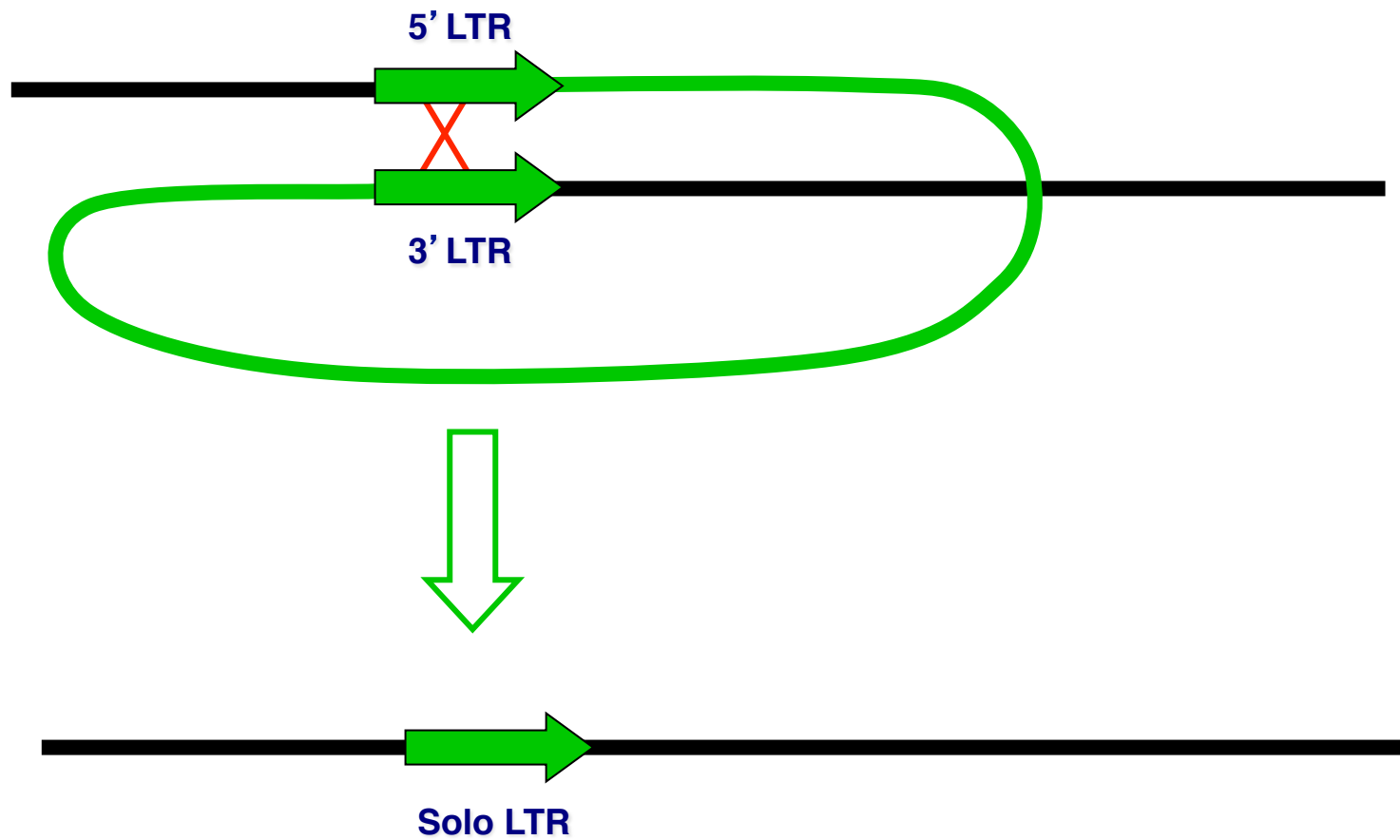
Plant régénéré à partir de cellules L2
VvGAI1/ VvGAI1b



Modification de la réponse aux gibbérelines

Boss et Thomas Nature 2002

Formation des solo LTR

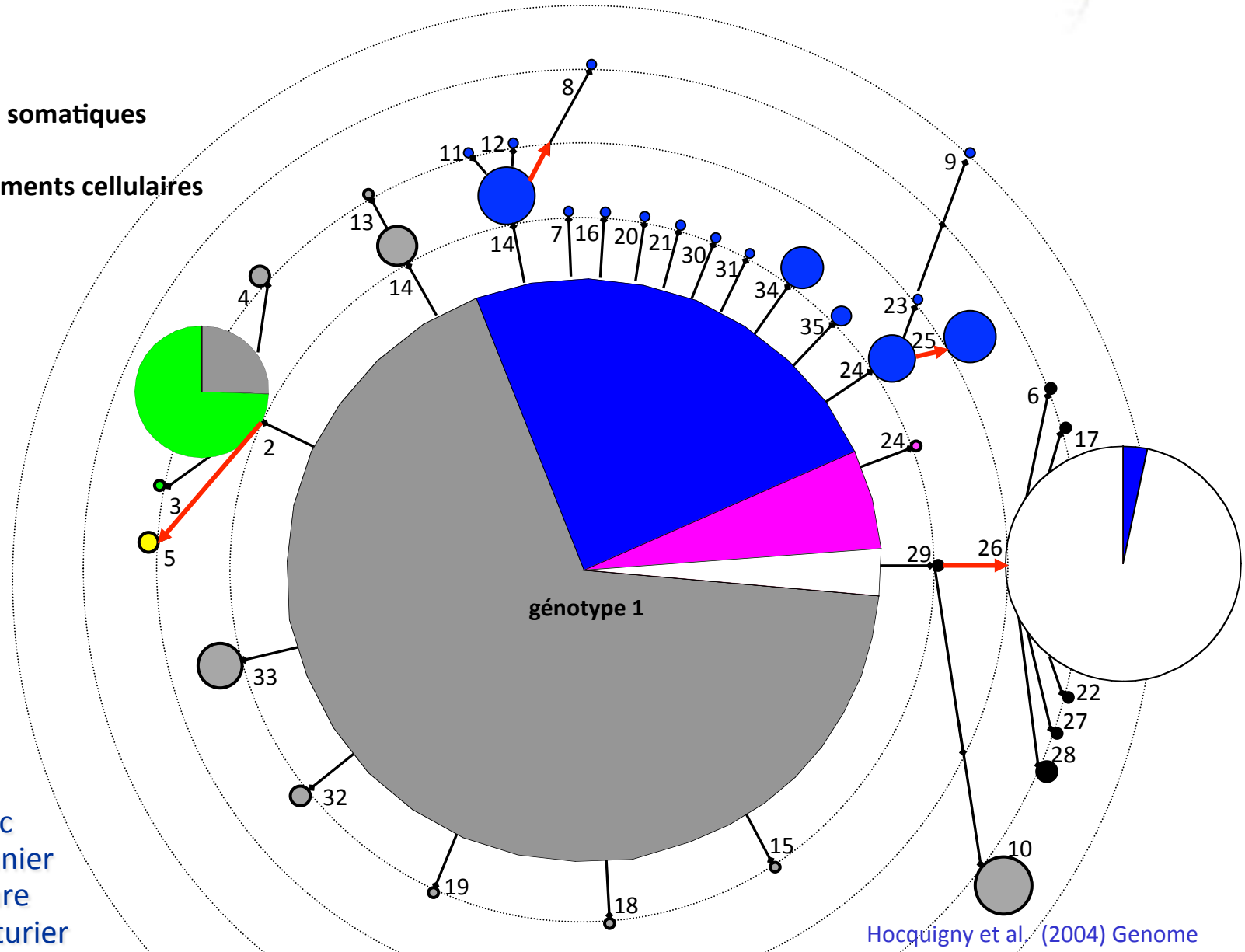


Phylogénie des clones de pinot



—▶ Mutations somatiques

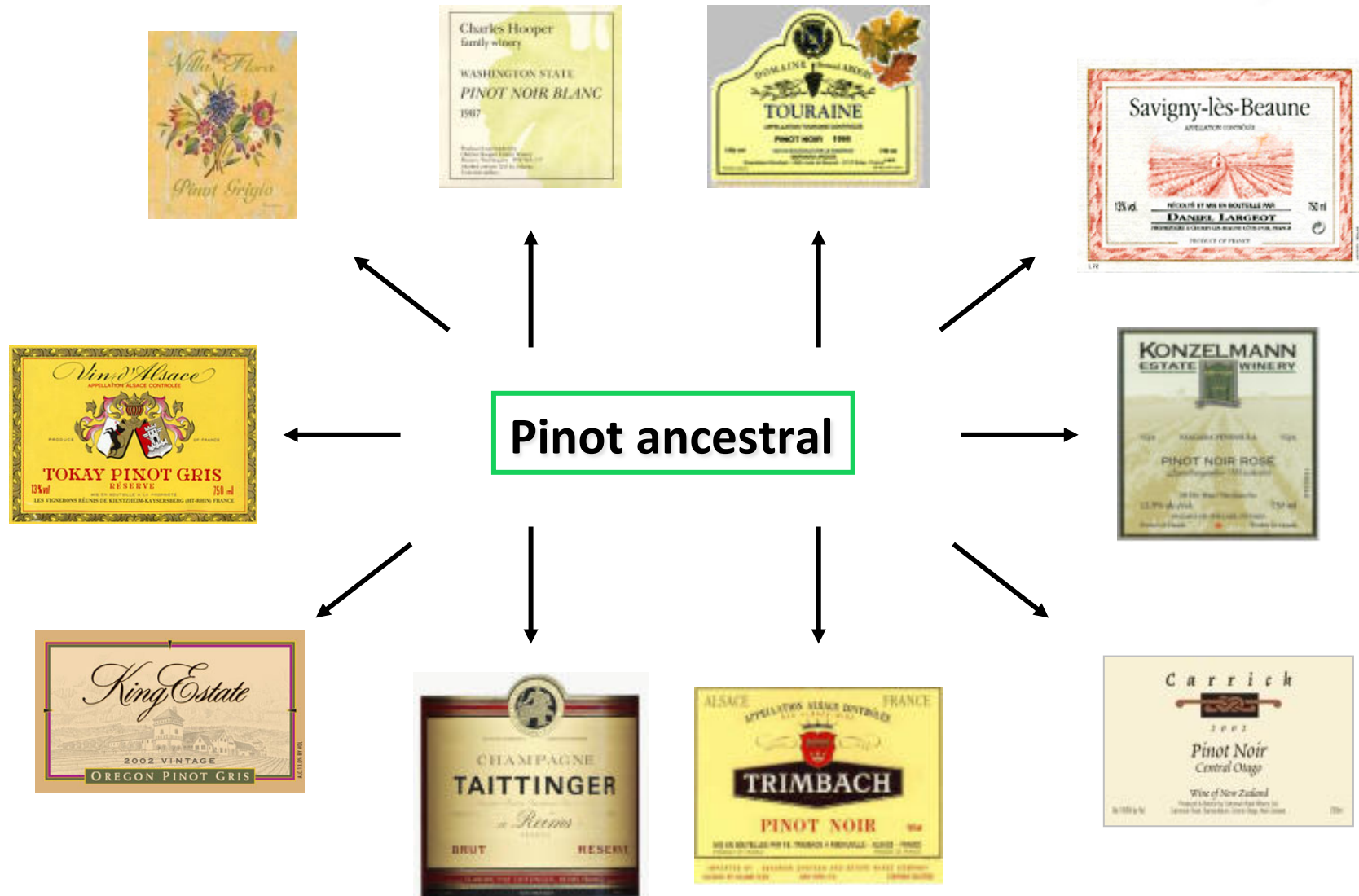
→ Réarrangements cellulaires



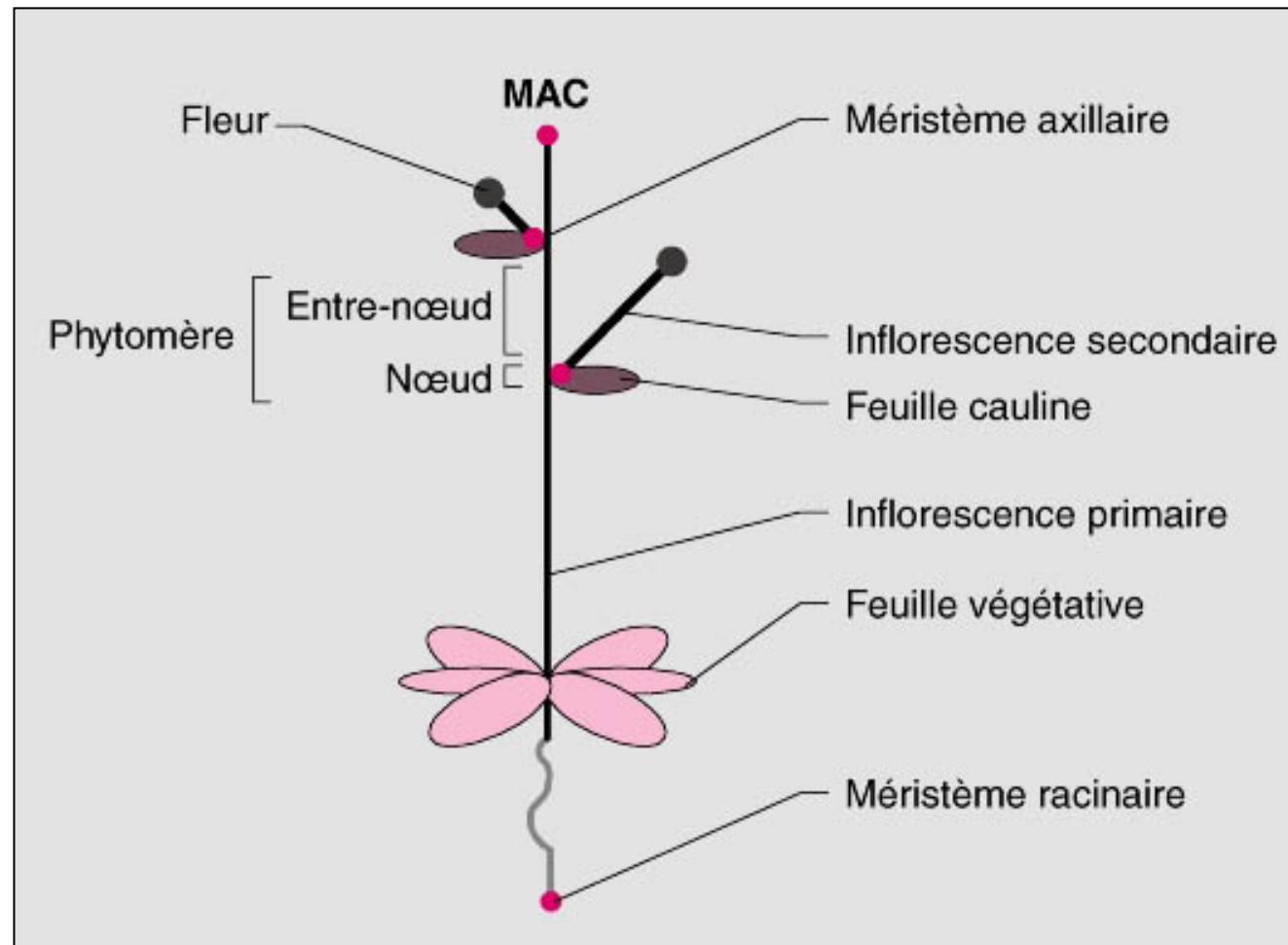
Hocquigny et al. (2004) Genome



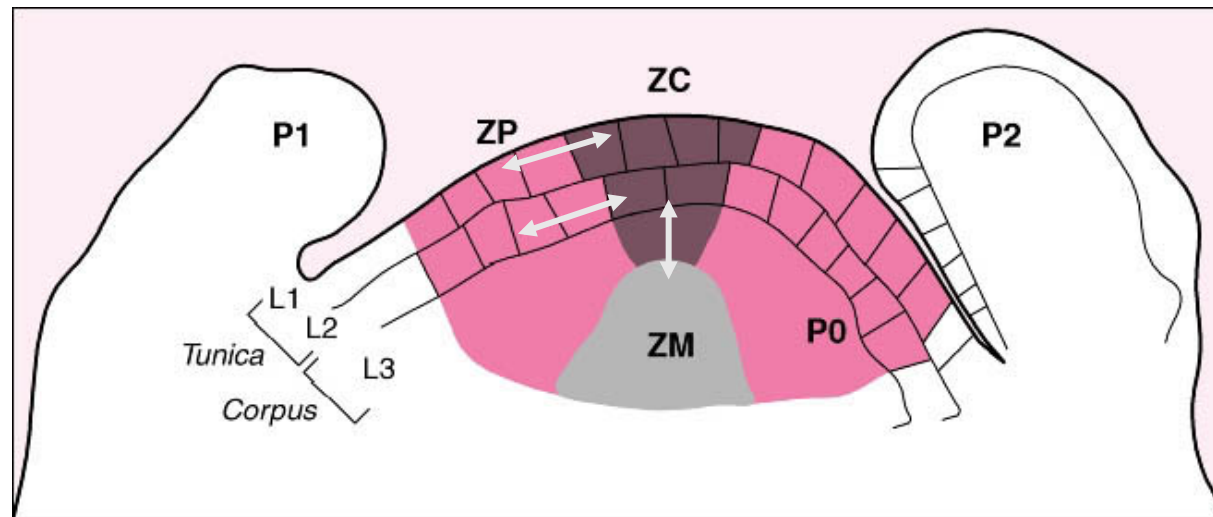
Diversité phénotypique des pinots



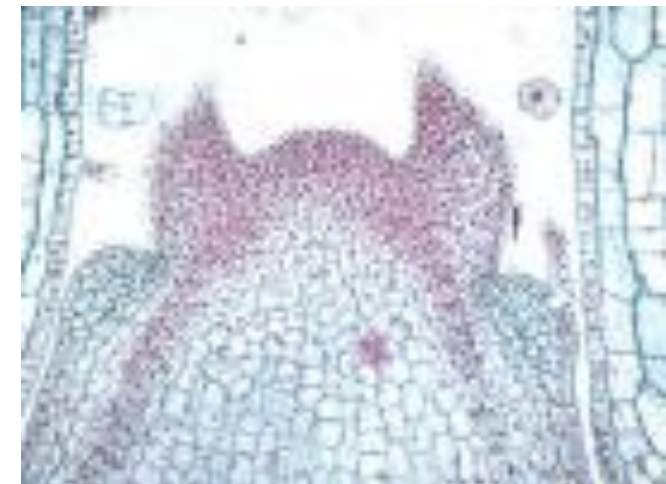
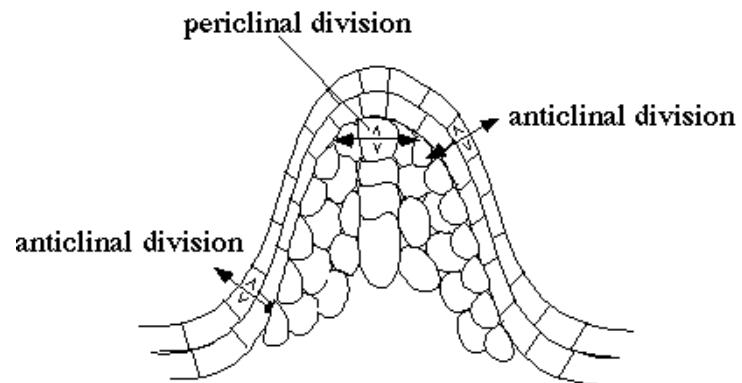
L'architecture des plantes supérieures



Les méristèmes caulinaires



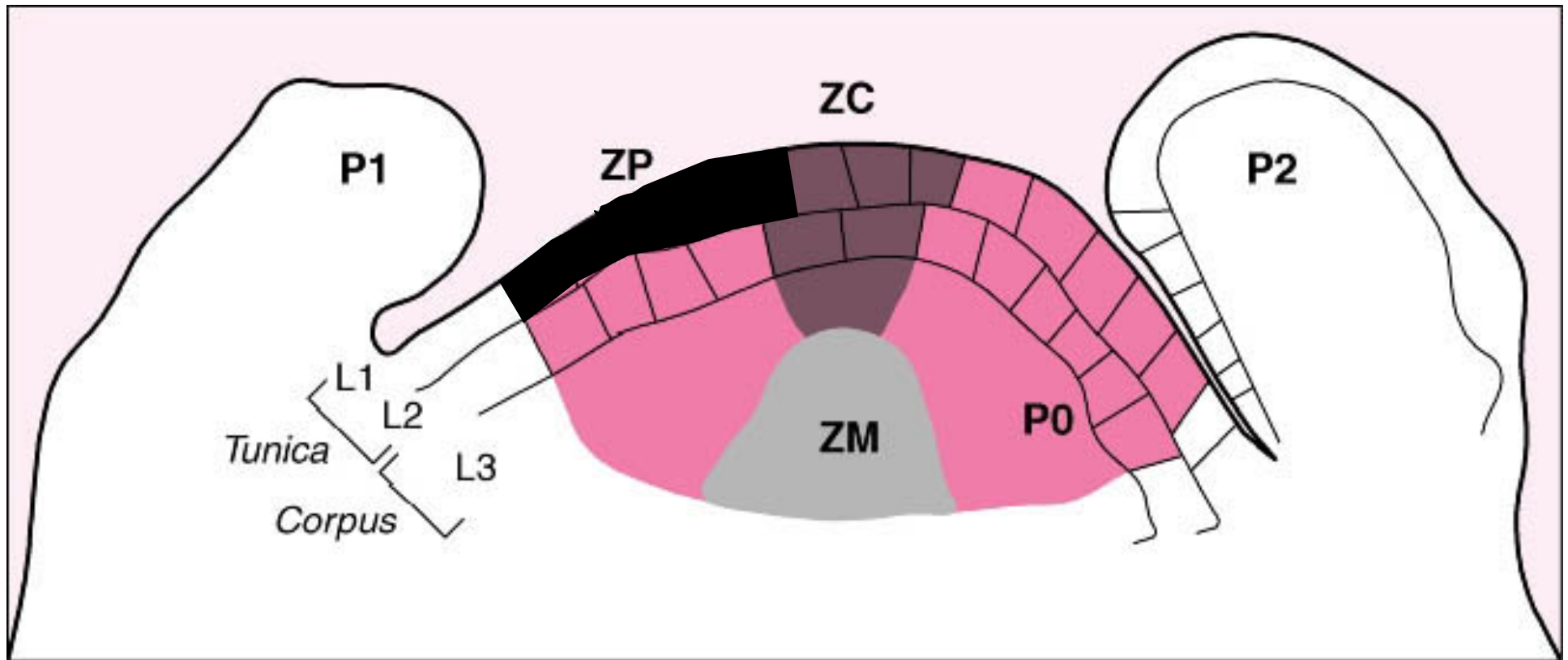
Autran & Traas Médecine&Sciences 2001



Les méristèmes caulinaires



Divisions anticlinales de la cellule mutée



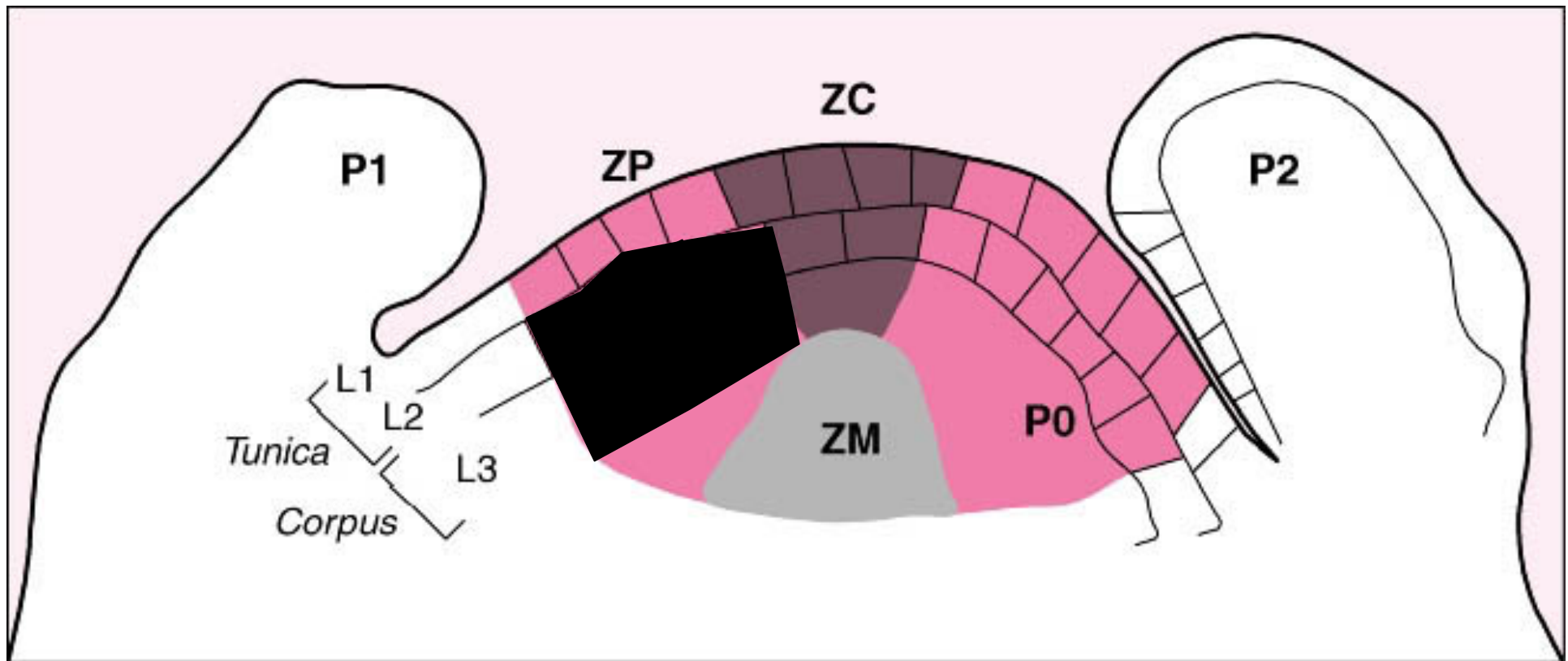
Multiplication de la cellule mutée sur une couche cellulaire



Les méristèmes caulinaires



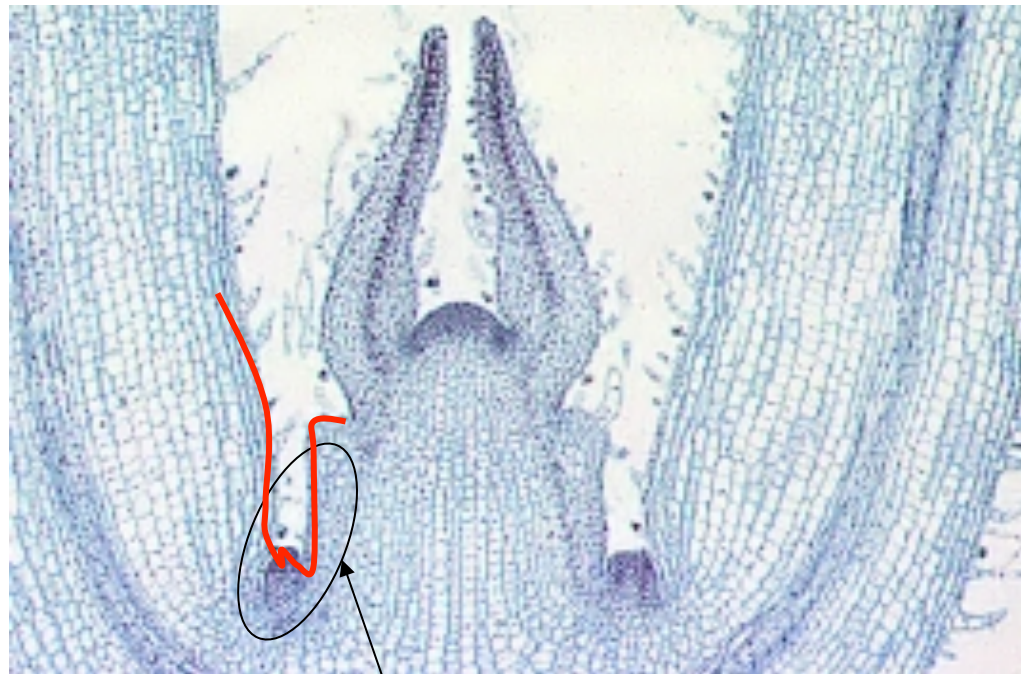
Divisions anticlinales et synclinales de la cellule mutée



Multiplication de la cellule mutée dans un massif cellulaire



Les méristèmes caulinaires



Genèse d'un bourgeon axillaire en chimère péricle



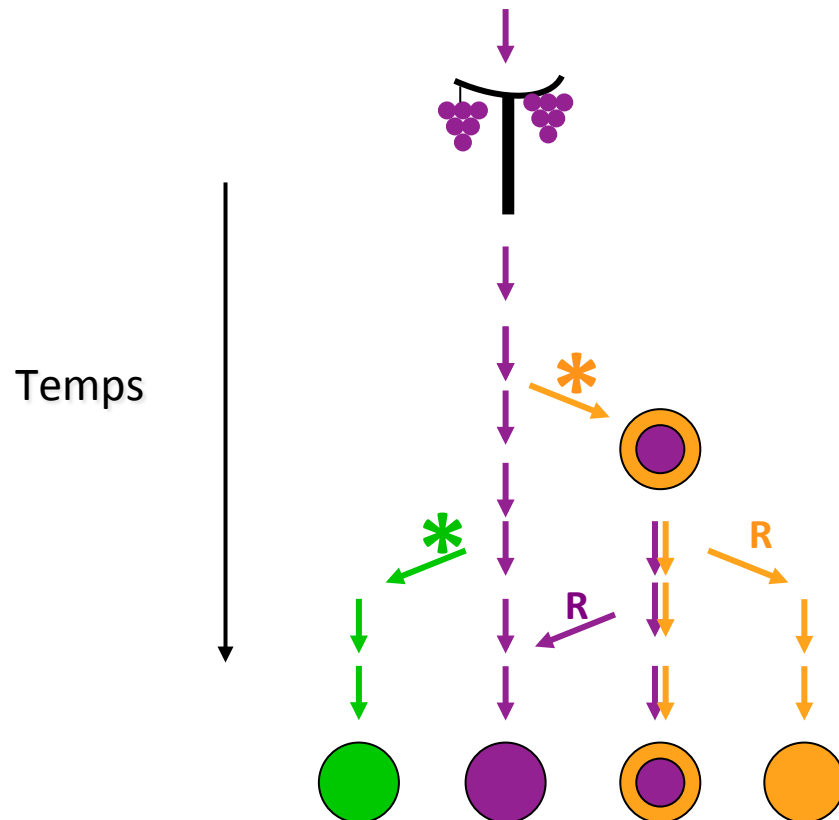
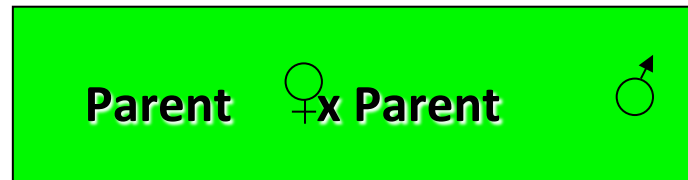
Pourquoi étudier la variabilité clonale?



1. Quelle est l'origine de la variabilité observée dans les collections de clones appartenant à une même variété ?
2. Quels sont les types de mutation somatique connus?
3. Comment se propagent ces mutations?
4. A quelle vitesse la vigne évolue-t-elle?



Origine de la diversité intra-variétale



G1a	G2a	G3a	G4a
G1b	G2b	G3b	G4b
G1c		G3c	

Groupe
variétal

multiplication
végétative

mutations : * *



chimères



réarrangements
cellulaires



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	1961 (INRA) 1 clone agréé en 1997	Quelques centaines ha

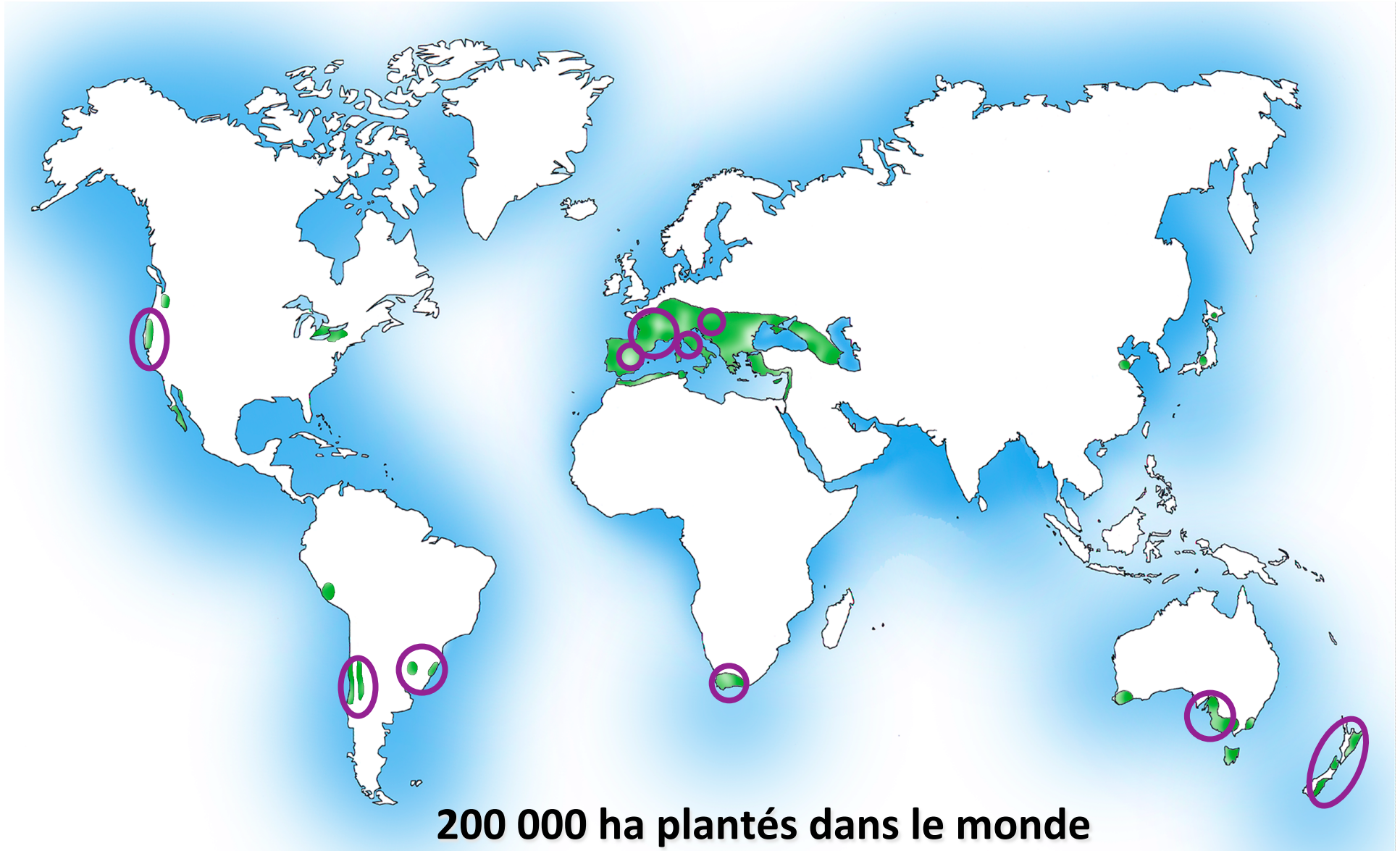


Variabilité et dispersion des cabernet sauvignon

Travail réalisé en collaboration avec le groupe de
P. Hinrichsen (Chili)



Les vignobles de cabernet sauvignon



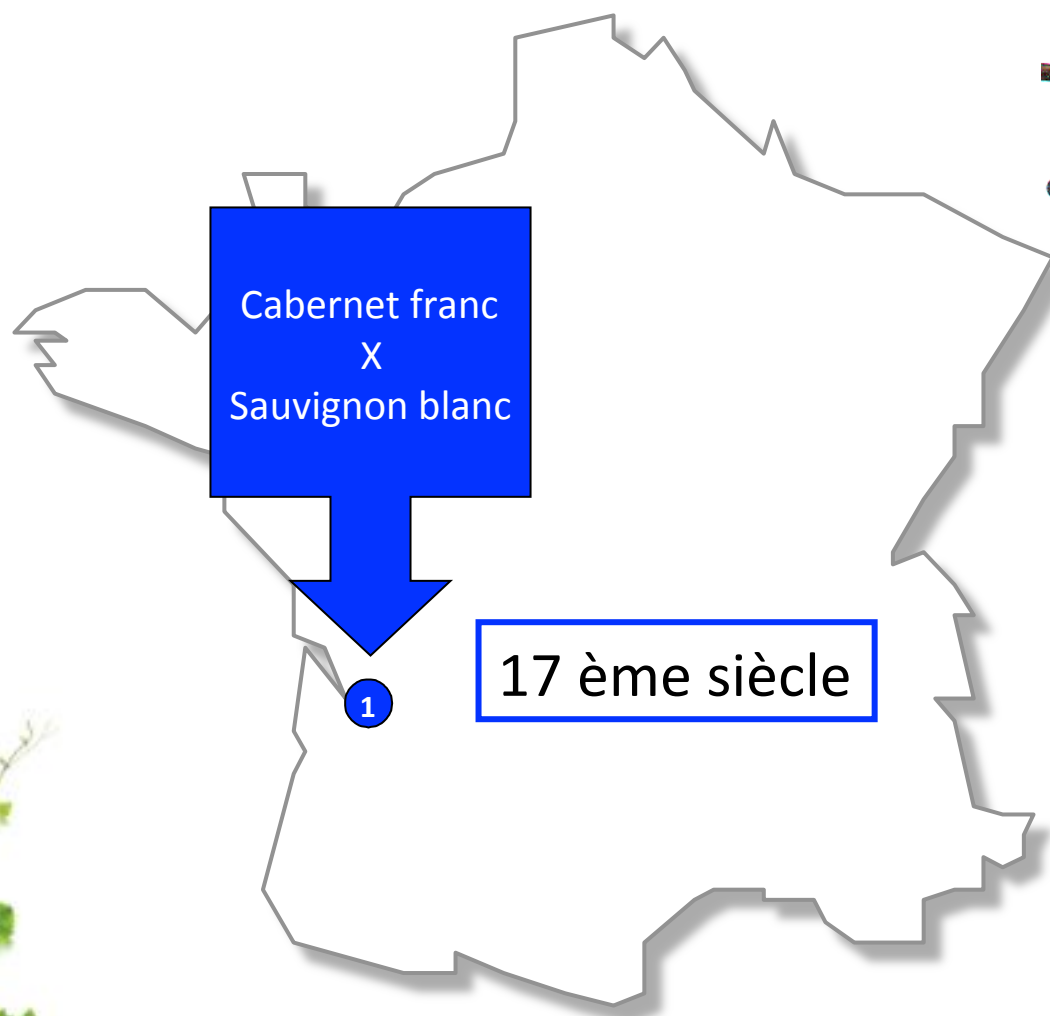
Les objectifs de l'étude



- Quel est le niveau de variabilité intra-variétale du cabernet sauvignon?
- La dispersion géographique des clones a-t-elle eu une influence sur leur diversification?



Origine du cabernet sauvignon



Analyse des clones de cabernet sauvignon



89 loci microsatellite

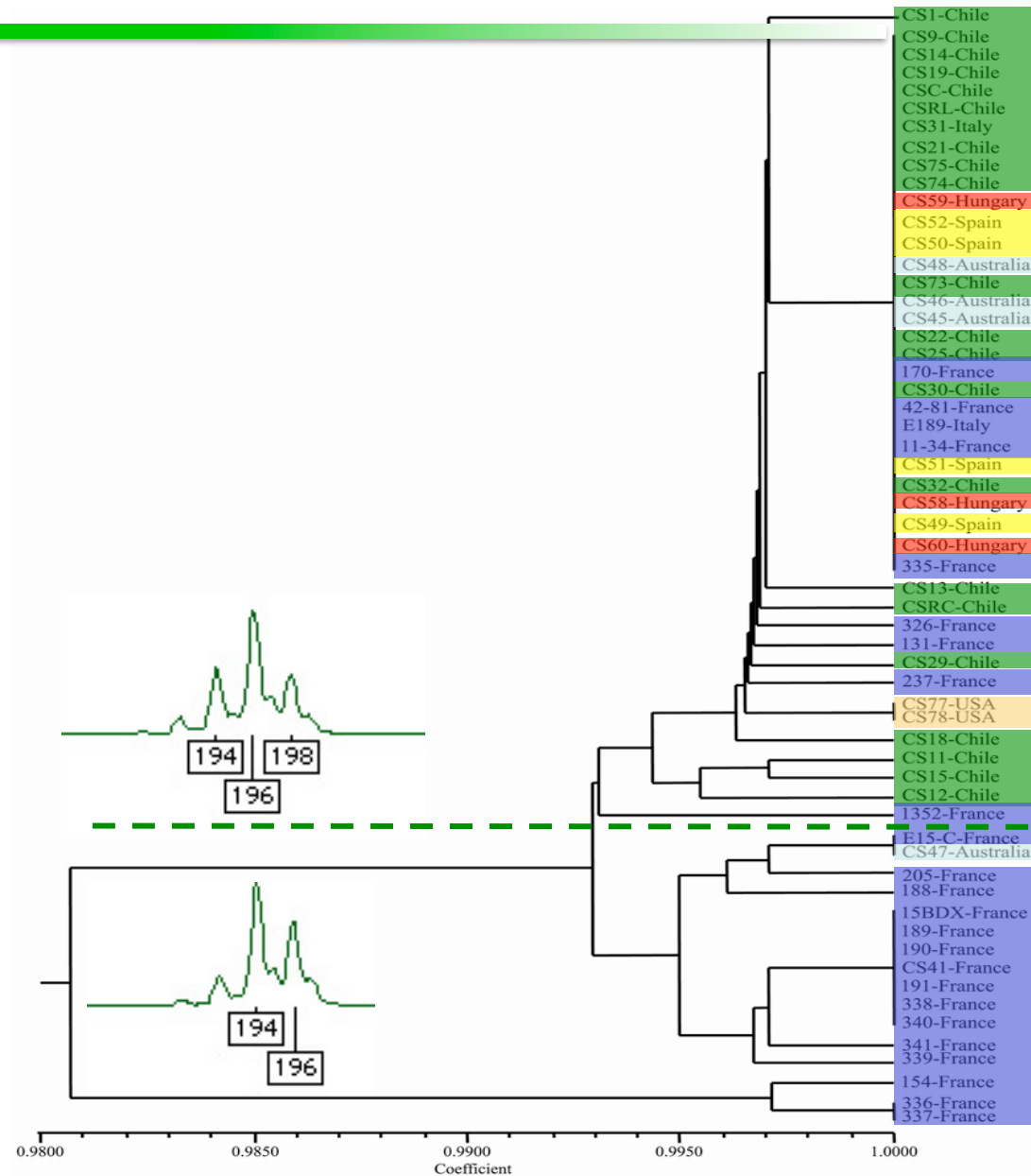
Origine		Nombre de clones	Nombre de génotypes/origine
Chili		37	9
France		24	13
Espagne		4	1
Hongrie		3	1
Italie		2	1
Australie		4	2
USA		2	1
Total		76	



Phylogénie des clones de cabernet sauvignon

Génotype 2

Génotype 1



Phylogénie des clones de cabernet-sauvignon

Chili

Australie

Espagne

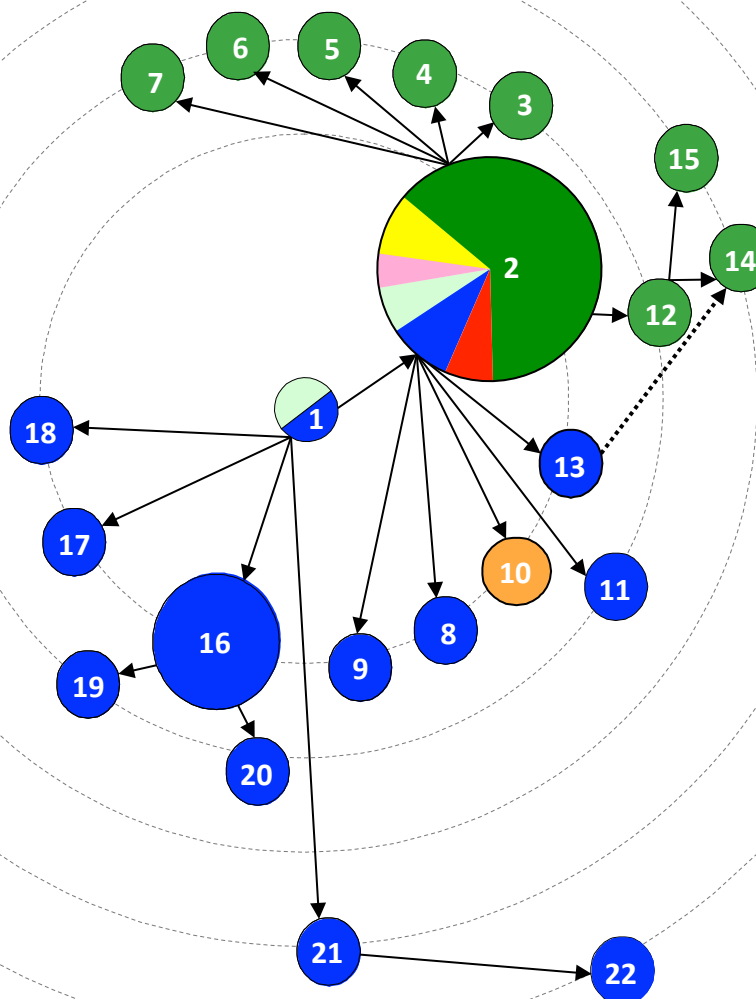
Hongrie

Italie

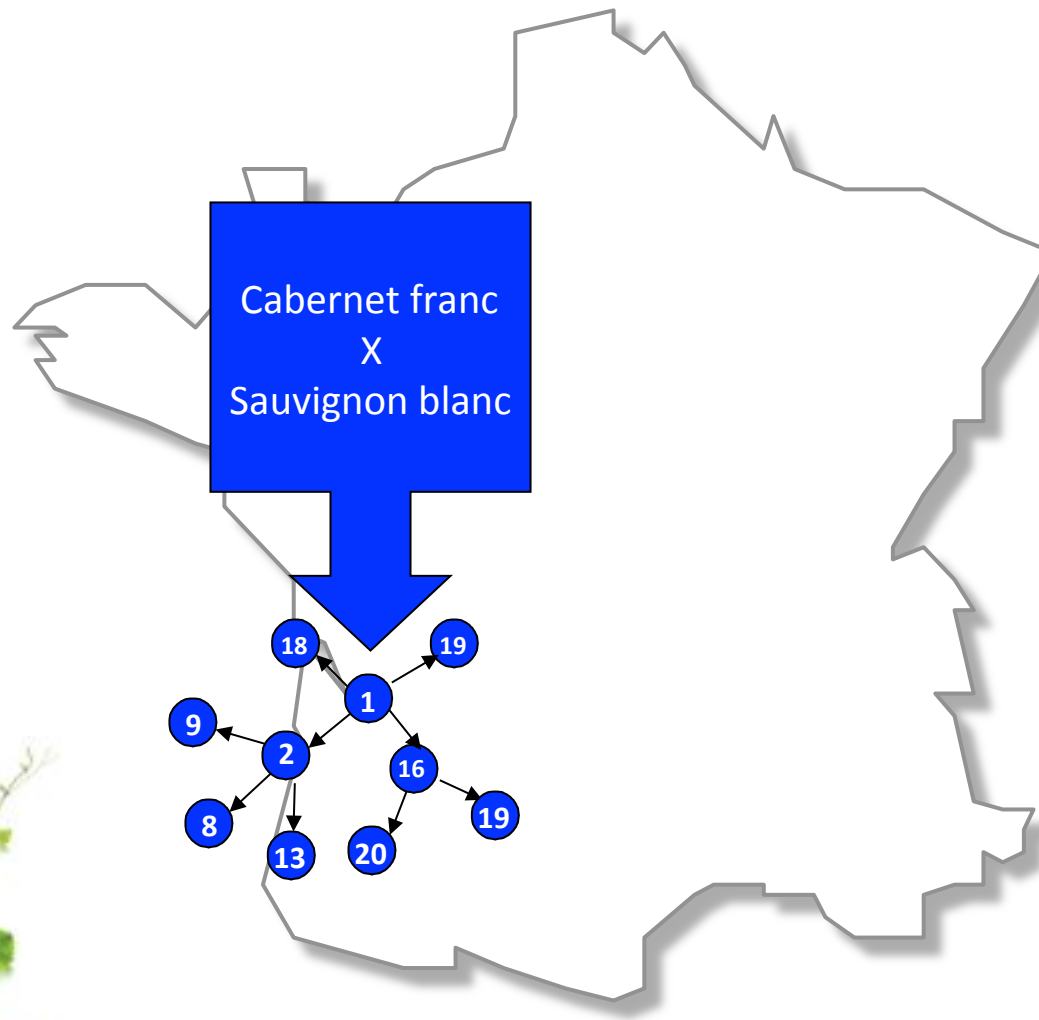
France

USA

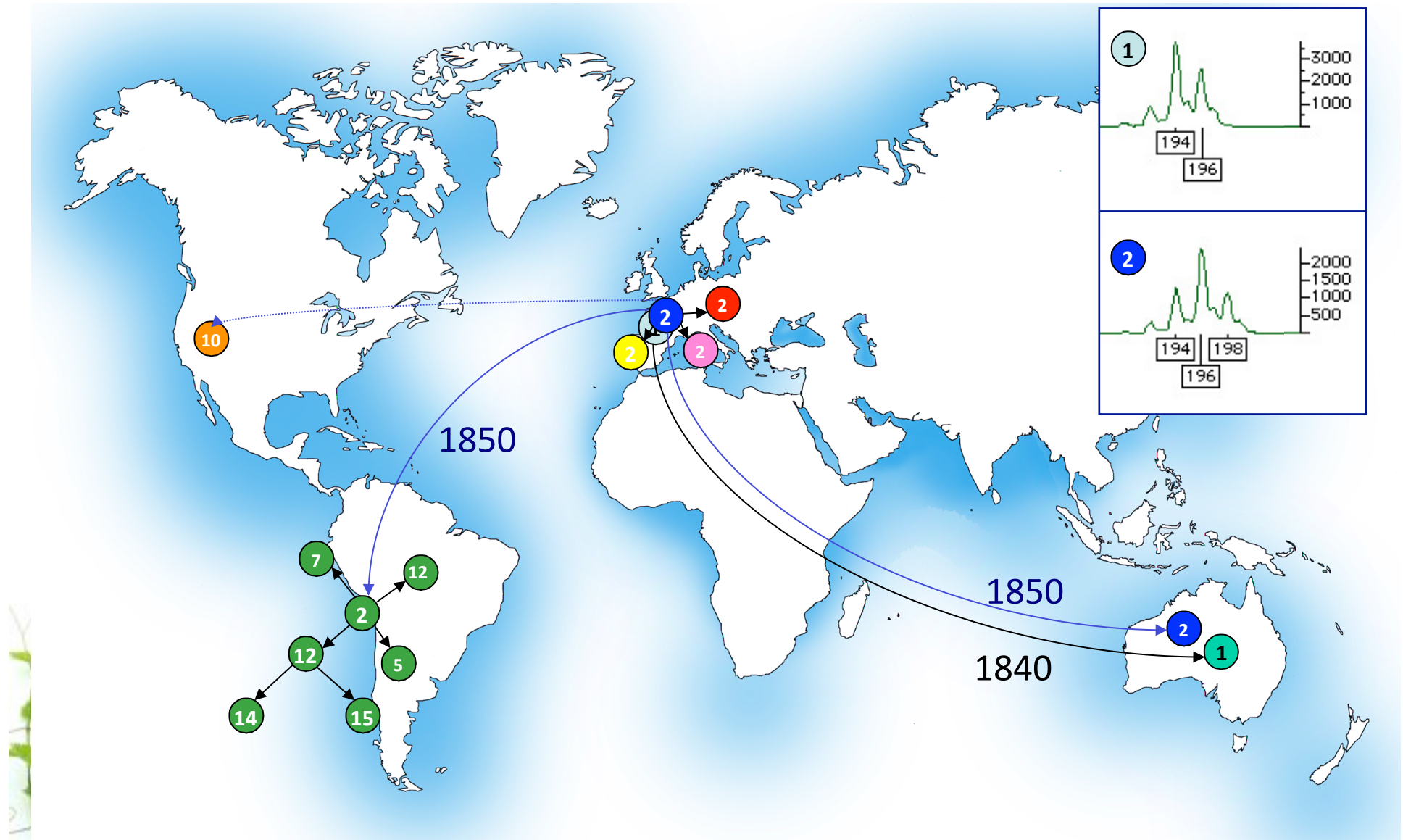
22 génotypes



Divergence des clones de cabernet sauvignon



Dispersion du cabernet sauvignon



Conclusions



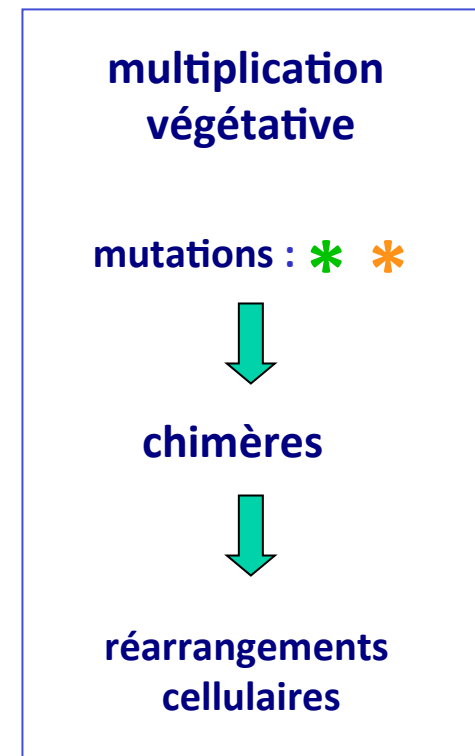
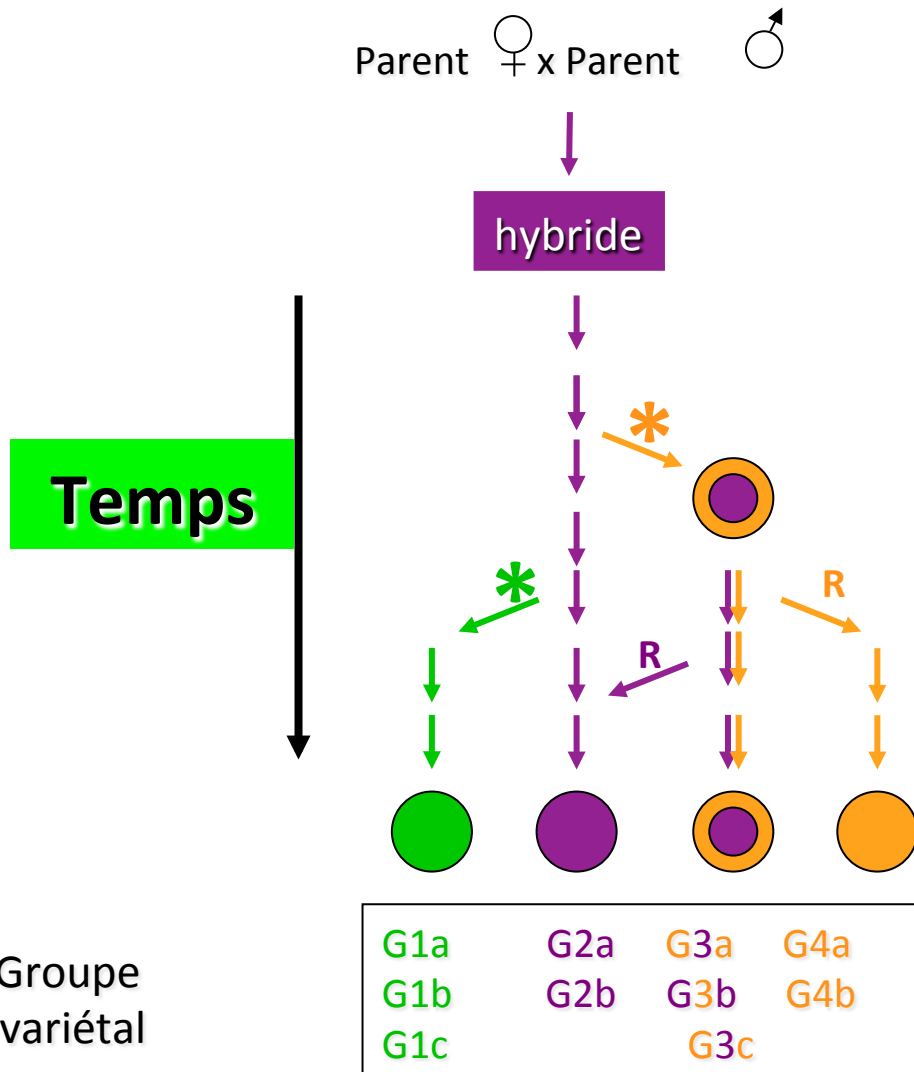
Les clones de cabernet sauvignon dispersés dans le monde présentent pratiquement tous le même génotype au locus VMC5g7

- cette mutation est-elle apparue entre 1840 et 1850?
- ces clones ont-ils une meilleure valeur adaptative?
- les clones proviennent-ils tous de la même région située à proximité d' un port (celui de Bordeaux) ?

En 150 ans, les clones chiliens se sont diversifiés
indépendamment des clones français



Origine de la diversité intra-variétale



Vitesse d'évolution des clones?



	locus analysés	locus variants tri-alléliques	locus di-alléliques pouvant résulter de réarrangements	Epoque d'apparition de la variété
cabernet sauvignon	84	17	0	XVII ème
pinot	50	15	3	romaine?
riesling	132	10	2	?
savagnins	53	4	1	?
muscat Ottonel	93	0	0	XIX ème



⇒ Vitesse d'évolution des clones très difficile à évaluer

Résumé



- ☺ Les clones de variétés de vigne sont tous d'origine monozygotique, sinon, ce ne sont pas des clones!
- ☺ L'accumulation de mutations somatiques les différencient
- ☺ Des structures en chimères et des réarrangements cellulaires sont à l'origine de l'envahissement des cellules mutées



mais...

- ☹ Dans très peu de cas, la relation entre génotype et phénotype a été établie
- ☹ Les marqueurs microsatellites ne permettent pas la distinction de tous les clones



Questions en suspens...



- Quelles mutations sont responsables de variations phénotypiques?
- Quels sont les facteurs favorisant l'apparition de ces mutations?





Des clones à la viticulture



Les clones de vigne



- Les variétés de vigne sont constituées de clones



- La propagation végétative de la vigne

Avant le phylloxera : par marcottage ou provinage



Marcottage ou provinage

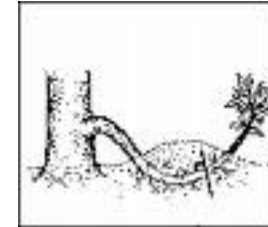


Photo Françoise Deixonne



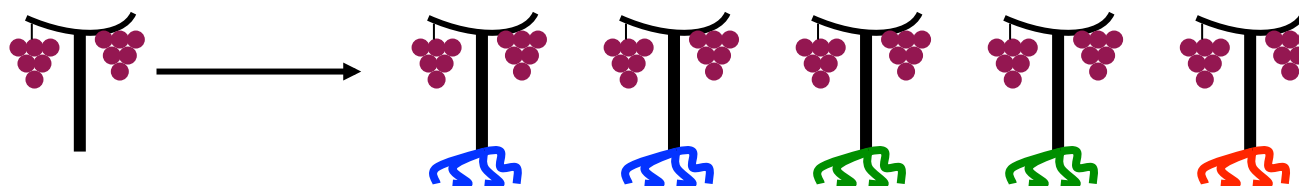
Situation actuelle



- Les variétés de vigne sont constituées de clones



- Les clones sont multipliés par propagation végétative (greffage d'un greffon sur un porte-greffe)



clone

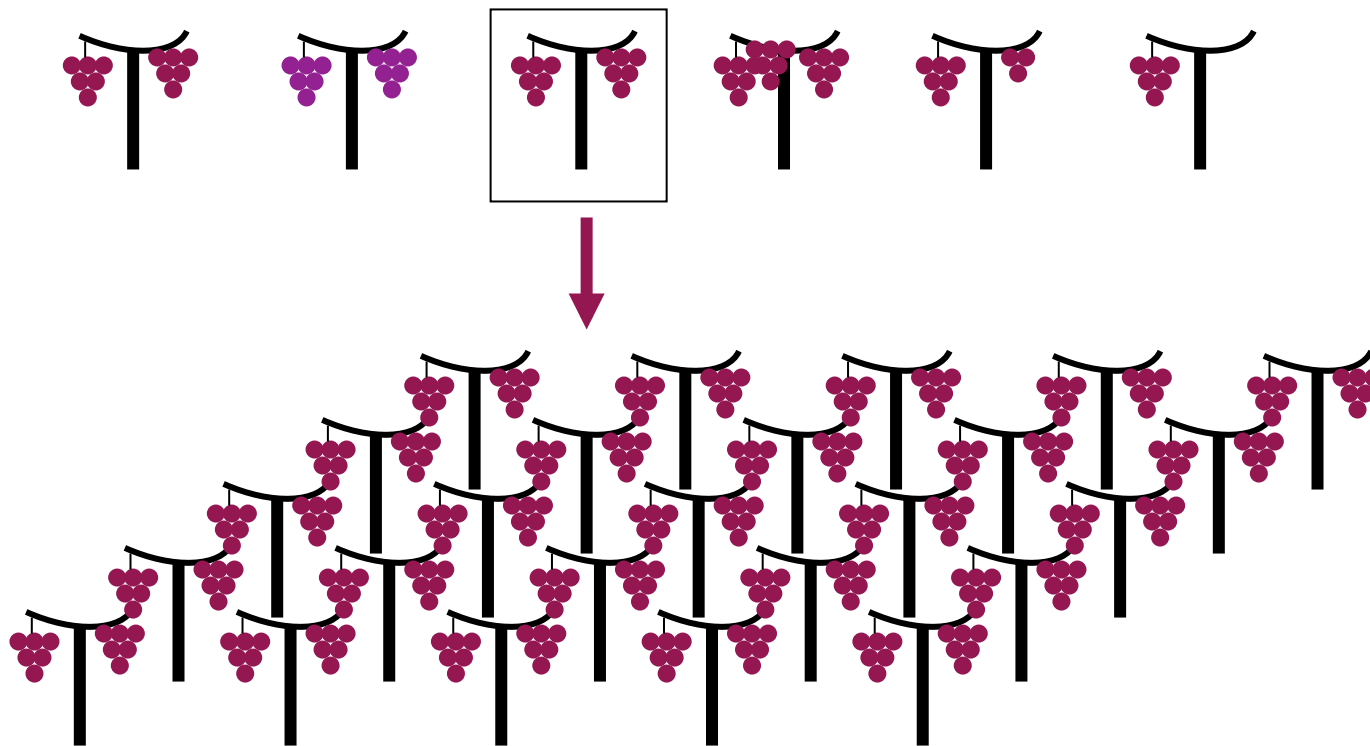
Plants du clone multiplié par greffage



La sélection clonale



- Seuls quelques clones issus de la sélection clonale sont cultivés



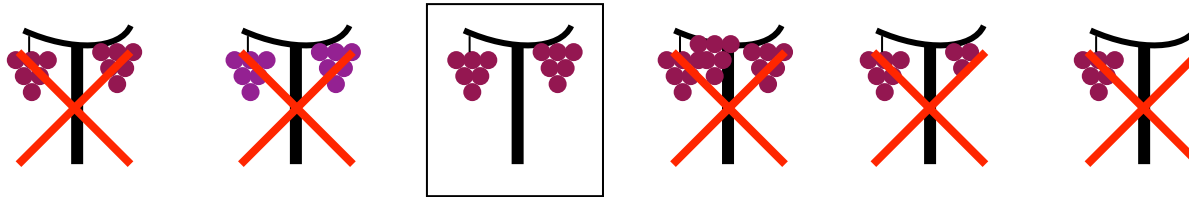
sélection sur des critères sanitaire et qualitatif



La sélection clonale



- Seuls quelques clones issus de la sélection clonale (qualité sanitaire et critère qualitatif) sont cultivés



- La diversité intra-variétale de la vigne est menacée.



Situation du problème



- Les collections clonales sont une des richesses de notre patrimoine viticole.



Un peu d'histoire...



- Avant 1945, les variétés étaient constituées de populations de clones ayant survécus à la crise phylloxérique (1868)
- Années 45-60, la sélection clonale a conduit à l'agrément de clones exempts de maladies et de bons rendements
- Arrachage des vieilles vignes plantées en population de clones au profit des clones agréés
- Années 70 : constitution des collections clonales pour sauvegarder la diversité encore existante dans les vieilles vignes



Quelques chiffres...



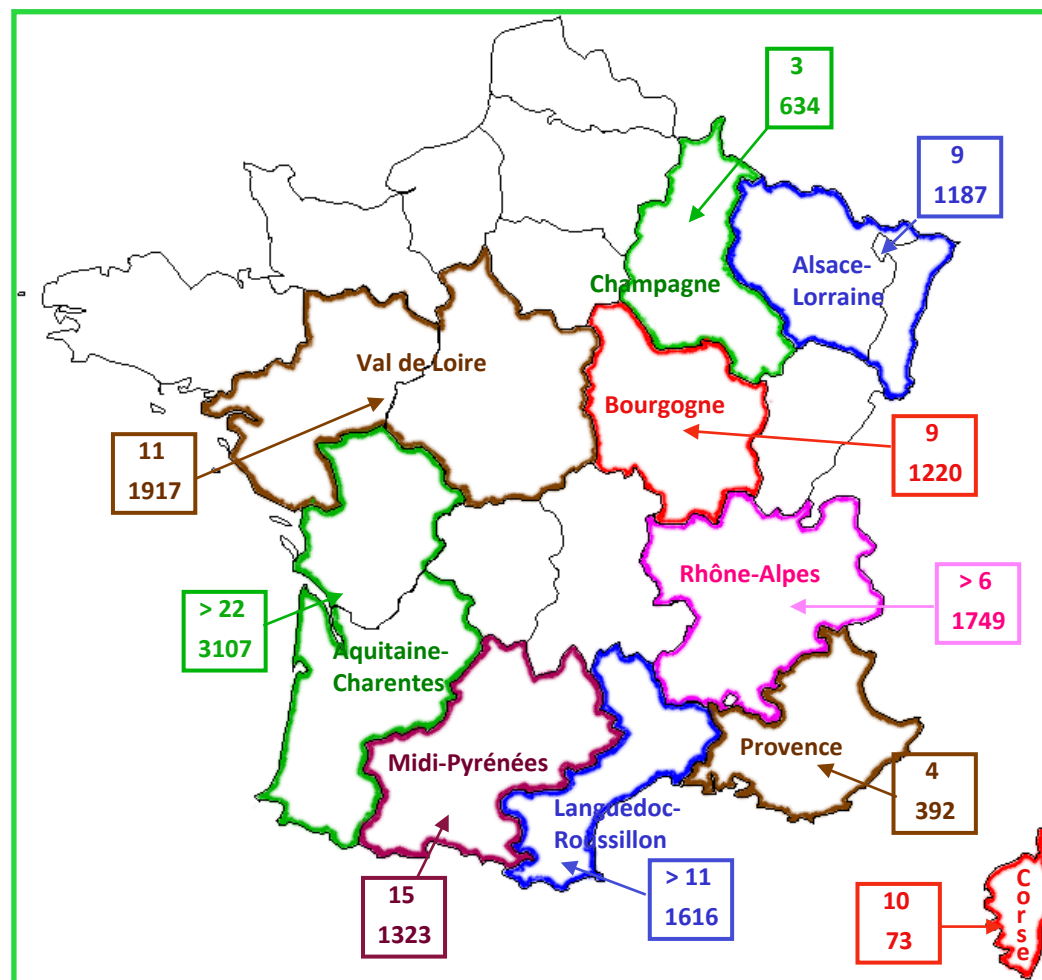
- 5000 à 6000 cépages cultivés dans le monde
- En France, 705 clones agréés par le CTPS appartenant à 136 variétés de cuve*
- Plus de 90% de la surface viticole française est plantée en clones agréés
- Le nombre de clones par variété est variable
- de 1 (ex: riesling) à 43 (ex: pinot noir)

*ONIVINS 7/2004



Les collections clonales de variétés de cuve

10 régions viticoles
90 variétés représentées
140 conservatoires
> 13 000 clones



Nombre de variétés
Nombre de clones

Les collections clonales en Alsace



variétés	clones en collection		clones agréés « alsaciens »	
	période de prospection	nombre d'entrées (2005)	année d'agrément	nombre de clones
savagnins	1972-74	204	1971	2 GW
			1979-81	4 SB, 1 GW, 1 SR
			2003	5 GW
riesling	1976-78	182	1971	1
			2007	8 à 10
pinot	1980-82	509 PG (200), PB (200), PN (100)	1971	1 PN, 2 PG, 2 PB
sylvaner	1987-89	292	1971 1976	2
knipperlé	2001-02	66		0

De la station Impériale de Recherches Agronomiques d' Alsace et de Lorraine (1896)...



Ancien couvent des Catherinettes en 1897

MERCI

...au Centre INRA –Colmar (2011)



INRA

UMR Santé de la Vigne et Qualité du Vin



UNIVERSITÉ DE STRASBOURG