

## **Résumé de thèse - Marion DELAME**

**Titre :** Recombinaison génétique et transmission de caractères morphologiques, phénologiques et métaboliques dans les hybrides interspécifiques entre *Vitis vinifera* et *Muscadinia rotundifolia*

### **Contexte et objectif de la thèse :**

La viticulture européenne, fragilisée par l'introduction de bioagresseurs importés du continent Nord-Américain, tels que le mildiou ou l'oïdium, est fortement dépendante du recours aux produits phytosanitaires. L'émergence de souches résistantes aux fongicides et la volonté de développer une viticulture respectueuse de l'environnement ont conduit à la création de nouvelles variétés de vigne résistantes aux maladies. La vigne cultivée européenne *Vitis vinifera* étant sensible à ces maladies, la recherche s'est orientée vers des espèces de vigne apparentées d'origine américaine ou asiatique pour introduire des facteurs de résistance. *Muscadinia rotundifolia* est aujourd'hui l'espèce la plus intéressante avec, notamment, un niveau élevé de résistance au mildiou et à l'oïdium mais aussi à d'autres bio-agresseurs de la vigne (black-rot, phylloxera, maladie de Pierce, nématodes vecteurs du virus du court-noué...) (Bouquet, 1980).

*M. rotundifolia* est une espèce d'origine sub-tropicale (Floride) et possède des caractéristiques culturelles et organoleptiques inadaptées à une utilisation directe en viticulture. Pour éliminer ces défauts, le processus d'introgession a été utilisé. L'introgession est une méthode de sélection reposant sur un croisement entre les deux espèces d'intérêt, *V. vinifera* et *M. rotundifolia*, suivi d'une série de pseudo-rétrocroisements (ou pseudo-backcross) par *V. vinifera*. Ces rétrocroisements permettent de substituer le fond génétique de *M. rotundifolia* par celui de *V. vinifera*, et donc d'éliminer les défauts associés à *M. rotundifolia*, tout en conservant ses caractères de résistance. Cependant, les croisements *M. rotundifolia* x *V. vinifera* sont très difficiles à réussir et les croisements *V. vinifera* x *M. rotundifolia* fournissent un nombre de pépins viables très faible (Detjen, 1919). De plus, la majorité des hybrides F1 obtenus sont stériles et des anomalies phénotypiques sont observées dans les descendances des rétrocroisements (Patel and Olmo, 1955).

L'objectif de la thèse est d'identifier i) les causes, notamment sur les plans génétique et génomique, qui rendent les croisements entre *M. rotundifolia* et *V. vinifera* difficiles et donc limitent le transfert des caractères entre les deux espèces et ii) les caractères phénotypiques devant être spécifiquement éliminés au cours de ce transfert. Cet objectif repose sur deux approches. D'une part, l'analyse génétique et génomique de différents niveaux de pseudo-backcross a pour but d'identifier les singularités de la recombinaison méiotique entre les génomes des deux espèces et de localiser des régions chromosomiques ayant un impact sur la survie des descendants. D'autre part, la comparaison au niveau phénotypique des deux espèces a pour objectif l'identification de caractères spécifiques de *M. rotundifolia*. L'étude de la transmission de ces caractères dans différentes populations de pseudo-backcross permet d'établir leur déterminisme génétique. L'enjeu final de ces travaux est d'apporter les connaissances permettant de développer de nouveaux outils de sélection afin d'optimiser le processus d'introgession des facteurs de résistance issus de *M.*

*rotundifolia*. Plus globalement, ils visent à explorer l'impact sur les échanges chromosomiques au cours de la méiose de la coexistence de génomes homéologues au sein d'une même cellule.

## **I- Analyse génomique :**

La première partie de la thèse vise à analyser, dans des hybrides interspécifiques entre *M. rotundifolia* et *V. vinifera*, l'impact de la coexistence de génomes homéologues sur le taux de recombinaison et la transmission des allèles de chaque espèce. Lors de précédents travaux, une première carte génétique de *M. rotundifolia*, basée sur 191 marqueurs microsatellites, a été établie et un niveau de macrosynténie élevé a ainsi été observé entre les deux génomes (Blanc *et al.*, 2012). Cette carte a également confirmé la présence de 20 paires de chromosomes homologues chez *M. rotundifolia* contre 19 paires chez *V. vinifera*, les chromosomes 7 et 20 de *M. rotundifolia* correspondant respectivement aux parties supérieure et inférieure du chromosome 7 de *V. vinifera*.

L'objectif de la thèse est de poursuivre cette analyse de façon plus poussée en augmentant la densité de marqueurs des cartes génétiques. Pour cela, la technique de Génotypage par séquençage (GBS) a été utilisée pour identifier des SNP. Des données de génotypage ont été acquises sur trois populations de différents niveaux de pseudo-backcross (BC) issues de deux sources différentes de *M. rotundifolia*. Les cartes génétiques parentales ont été établies à l'aide d'un millier de marqueurs SNP pour chacune. D'autre part, l'analyse des données SNP obtenues par GBS, associées à des données de reséquençage de plusieurs accessions de *M. rotundifolia*, a conduit à la localisation des régions introgressées, dans les BC.

L'analyse des cartes génétiques, connaissant la localisation des régions introgressées, a mis en évidence plusieurs caractéristiques intéressantes. Tout d'abord, le niveau élevé de macrosynténie observé précédemment a été confirmé. Aucune inversion chromosomique ou translocation n'a pu être observée. D'autre part, l'analyse des taux de recombinaison sur la carte d'un hybride pseudo-F1 *M. rotundifolia* x *V. vinifera* nous a permis d'observer le comportement particulier du chromosome 20 de *M. rotundifolia* qui recombine peu avec son homéologue, le chromosome 7 de *V. vinifera*. De plus, la ségrégation de chaque marqueur SNP a été étudiée et la position des marqueurs ne respectant pas une ségrégation mendélienne a été analysée. Il a ainsi été possible d'identifier des régions induisant des distorsions de ségrégation, quelle que soit la source de *M. rotundifolia* utilisée. Ces distorsions sont majoritairement situées dans des régions homéologues, i.e. des régions constituées d'un chromosome issu de *M. rotundifolia* et d'un chromosome issu de *V. vinifera*. Dans certaines régions, l'allèle issu de *M. rotundifolia* est préférentiellement éliminé ; dans d'autres régions, il est préférentiellement conservé. Enfin, des anomalies de recombinaison ont été observées dans les cartes parentales des populations de BC2 et BC4. La comparaison des taux de recombinaison entre les deux parents, *V. vinifera*, d'une part, et hybride, d'autre part, d'une même population a permis de mettre en évidence une suppression des recombinaisons dans les régions homéologues (*M. rotundifolia/V. vinifera*) et un accroissement du taux de recombinaison dans les régions homologues (*V. vinifera /V. vinifera*) du parent hybride. Il

apparaît donc, dans ce cas, que les recombinaisons ont préférentiellement lieu dans les régions homologues. Cette observation a été faite sur les chromosomes présentant à la fois des régions homologues et des régions homéologues. À l'inverse, les chromosomes constitués uniquement d'une région homologue ou d'une région homéologue, ce qui concerne tous les chromosomes du parent F1 et une partie des chromosomes des BC, présentent des taux de recombinaison similaires à ceux observés dans des croisements intraspécifiques.

## **II- Analyse phénotypique :**

La deuxième partie de la thèse porte sur la comparaison phénotypique de *M. rotundifolia* et de *V. vinifera* afin d'inventorier l'ensemble des caractères spécifiques de *M. rotundifolia*. Une première étude bibliographique a conduit à l'établissement d'une liste de 119 caractères phénotypiques relatifs à la phénologie, la morphologie et l'anatomie. L'observation comparée de ces caractères sur un groupe d'accessions de *V. vinifera* et un groupe d'accessions de *M. rotundifolia* a mis en évidence 30 caractères présentant des spécificités chez *M. rotundifolia*. L'ensemble de ces caractères a ensuite été observé dans les trois populations de BC présentées précédemment. L'analyse du déterminisme génétique de ces caractères a conduit à l'identification de 74 facteurs contrôlant 20 caractères. Parmi les 54 facteurs détectés sur les cartes des parents hybrides, 37 étaient localisés dans une région homéologue. Peu de facteurs ont été observés dans les régions porteuses de facteurs de résistance connus chez *M. rotundifolia*.

Afin de compléter la comparaison des deux espèces, les composés du métabolisme secondaire des feuilles et des baies a été étudié. Une analyse non ciblée de tous les composés présents a été réalisée par chromatographie liquide (LCMS) sur les feuilles et les baies et par chromatographie gazeuse (GCMS) sur les baies. En LCMS, 26 ions spécifiques ont été détectés dans les feuilles et 124 dans les baies. En GCMS, 21 composés volatils et 16 composés glycosylés spécifiques ont été identifiés. Une analyse ciblée des 26 ions détectés dans les feuilles en LCMS a ensuite été réalisée sur les trois populations de BC. La distribution de la quantité relative de chaque ion dans les populations montre, en général, un contrôle génétique double. La teneur de chaque ion est en effet contrôlée par un facteur principal de type absence/présence de l'ion dans la feuille. Un deuxième facteur, dont l'effet est conditionné par la présence du premier facteur, fait varier la quantité de cet ion dans la feuille. Sur les 26 ions étudiés, 24 ions présentaient une ségrégation dans au moins une population. Des facteurs génétiques ont pu être détectés pour tous ces ions, similaires pour chaque ion, quelle que soit la population et la source de *M. rotundifolia*. Des facteurs de type absence/présence ont été détectés sur trois chromosomes dont le chromosome 18, porteur de la résistance *Rpv2/Run2* au mildiou et à l'oïdium.

## **Conclusion :**

L'objectif de la thèse était d'identifier les causes génétiques et génomiques rendant les croisements entre *M. rotundifolia* et *V. vinifera* difficiles et les caractères phénotypiques devant être spécifiquement éliminés lors des croisements. D'une part, l'analyse génétique a

permis d'identifier des régions chromosomiques impliquées dans la réussite des croisements et dans la viabilité des individus. Elle a également mis en évidence un schéma de recombinaison particulier limitant les recombinaisons interspécifiques dans les niveaux avancés de pseudo-backcross. D'autre part, la comparaison de *M. rotundifolia* et *V. vinifera* au niveau phénotypique et métabolique a conduit à l'identification de caractères et de composés spécifiques de *M. rotundifolia*. Pour la majorité d'entre eux, leur déterminisme génétique a pu être étudié et a permis la détection de nombreux facteurs impliqués dans leur transmission.

Les principaux résultats de cette thèse permettent aujourd'hui de définir une nouvelle stratégie de sélection à adopter pour l'introgression de facteurs de résistance issus de *M. rotundifolia*. Cette stratégie repose sur une meilleure compréhension des échanges chromosomiques entre les deux espèces lors des croisements et sur la connaissance du déterminisme génétique des principaux défauts et qualités de *M. rotundifolia*. On peut espérer que l'optimisation des schémas de sélection basée sur ces principes permette de réduire de plusieurs années les programmes de création de cépages résistants aux maladies.

### **Bibliographie :**

Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Dumas V., Mestre P., Merdinoglu D., 2012. A reference genetic map of *Muscadinia rotundifolia* and identification of Ren5, a new major locus for resistance to grapevine powdery mildew. *Theoretical and Applied Genetics*, 125 (8), 1663-1675.

Bouquet A., 1980. *Vitis* x *Muscadinia* hybridization: A new way in grape breeding for disease resistance in France. *Proceedings of the third International Symposium on Grape Breeding*. Davis, University of California, 42-61.

Detjen L. R., 1919. The limits in hybridization of *Vitis rotundifolia* with related species and genera. *North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin*, 17, 5-26.

Patel G. I., Olmo H. P., 1955. Cytogenetics of *Vitis*: I. The hybrid *V. vinifera* x *V. rotundifolia*. *American Journal of Botany*, 42, 141-159.

### **Publications :**

Studying recombination rates in *Muscadinia rotundifolia* x *Vitis vinifera* backcrosses helps to improve grapevine breeding strategy (en préparation)

Phenotypic comparative analysis of *Vitis vinifera* and *Muscadinia rotundifolia* and genetic control of *M. rotundifolia*'s specific traits (en préparation)

Comparison of leaves and berries metabolism between *Vitis vinifera* and *Muscadinia rotundifolia* and genetic control of *M. rotundifolia*'s specific compounds (en préparation)

### **Communications orales :**

Localisation de facteurs de résistance au mildiou et à l'oïdium de la vigne : *Rpv2* et *Run2*, Delame M., 1<sup>ère</sup> réunion du réseau Résistance, 19-21 novembre 2014, Lauret, France.

Introgression chez la vigne de gènes de *Muscadinia rotundifolia* impliqués dans la résistance aux maladies, Delame M., Journées Jeunes Chercheurs du département BAP, 11-12 avril 2016, Lyon, France.

Introgression chez la vigne de gènes de *Muscadinia rotundifolia* impliqués dans la résistance aux maladies, Delame M., Séminaire d'audition des ISPV et des IAE en FCPR, 21 juin 2016, Dijon, France.

Introgression chez la vigne de gènes de *Muscadinia rotundifolia* impliqués dans la résistance aux maladies, Delame M., 3<sup>ème</sup> réunion du réseau Résistance, 8-10 novembre 2016, Lauret, France.

Introgression chez *Vitis vinifera* de gènes de *Muscadinia rotundifolia* impliqués dans la résistance aux maladies, Delame M., Séminaire d'audition des ISPV et des IAE en FCPR, 7 juin 2017, Marcy-l'Etoile, France.

**Poster :**

Introgression of *Muscadinia rotundifolia* Resistance Genes into Grapevine, Delame M., Gazon M., Dumas V., Blanc S., Rustenholz C., Baltenweck R., Claudel P., Prado E., Duchene E., Merdinoglu D., Plant & Animal Genome XXV Conference, 14-18 janvier 2017, San Diego, USA.