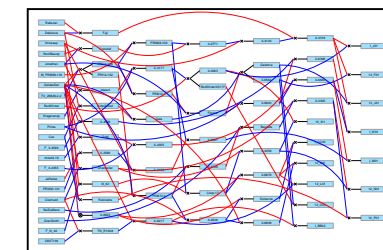




Création variétale chez les arbres fruitiers: Les généticiens ont-ils 20 ans d'avance?

François LAURENS

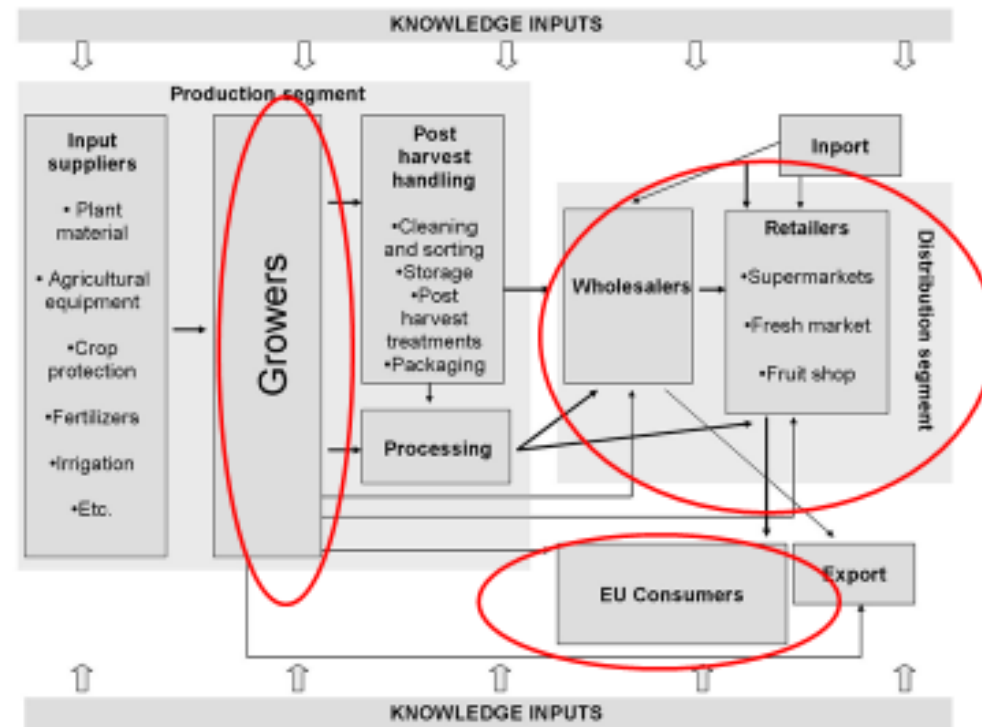
Avec les contributions de Elisabeth Chevreau, Charles Eric Durel, Henri Duval, José Quero-Garcia, Hélène Muranty



La sélection chez les arbres fruitiers est un processus long, coûteux et complexe

Nombreux critères de sélection pour des utilisateurs/destinataires variés

The fruit supply chain



Quelques caractéristiques des vergers fruitiers européens

Faible nombre de variétés

(souvent sensibles aux parasites)

Vergers à forte densité

↗ **traitements phytosanitaires**
↗ **éclaircissage**
↗ **fertilisation**

Coûts de Main d'œuvre élevés

Taille
Récolte

Principaux objectifs de sélection

- Production régulière et forte (“pack out”)
- Haute qualité organoleptique

Principaux critères pris en compte pour évaluer la qualité des fruits

- **Attrait du fruit**
 - calibre, couleur, défauts cosmétiques
- **Goût**
 - sucre/acidité
 - texture
 - Arôme
 - ...
- **Aptitude à la conservation**



Principaux critères pris en compte pour évaluer la qualité de la pomme à couteau

- **Attrait du fruit**

(5-10 caractères)

- calibre, couleur, défauts cosmétiques

- **Goût**

- sucre/acidité
- texture
- Arôme
- ...

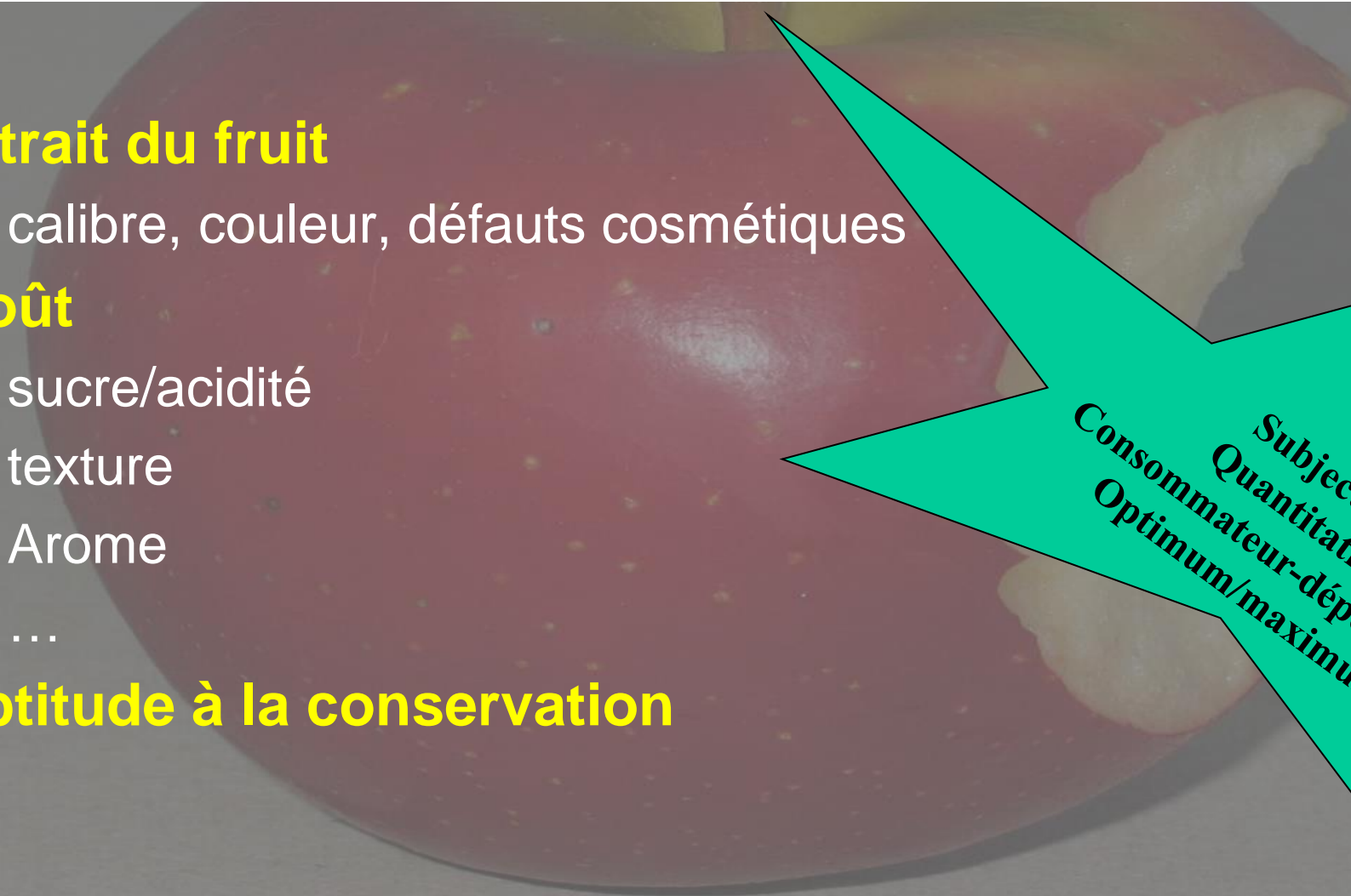
(10-20 caractères)

- **Aptitude à la conservation**

+ les mêmes caractères tout au long de la conservation

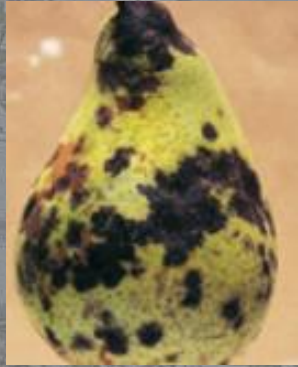
Principaux critères pris en compte pour évaluer la qualité de la pomme à couteau

- **Attrait du fruit**
 - calibre, couleur, défauts cosmétiques
- **Goût**
 - sucre/acidité
 - texture
 - Arôme
 - ...
- **Aptitude à la conservation**



Subjectifs
Quantitatifs
Consommateur-dépendants
Optimum/maximum

Principaux objectifs de sélection



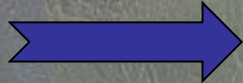
- Résistance aux maladies et aux ravageurs



Principaux objectifs de sélection

- Production régulière et forte (pack out)
- Haute qualité organoleptique
- Résistance aux maladies et aux ravageurs

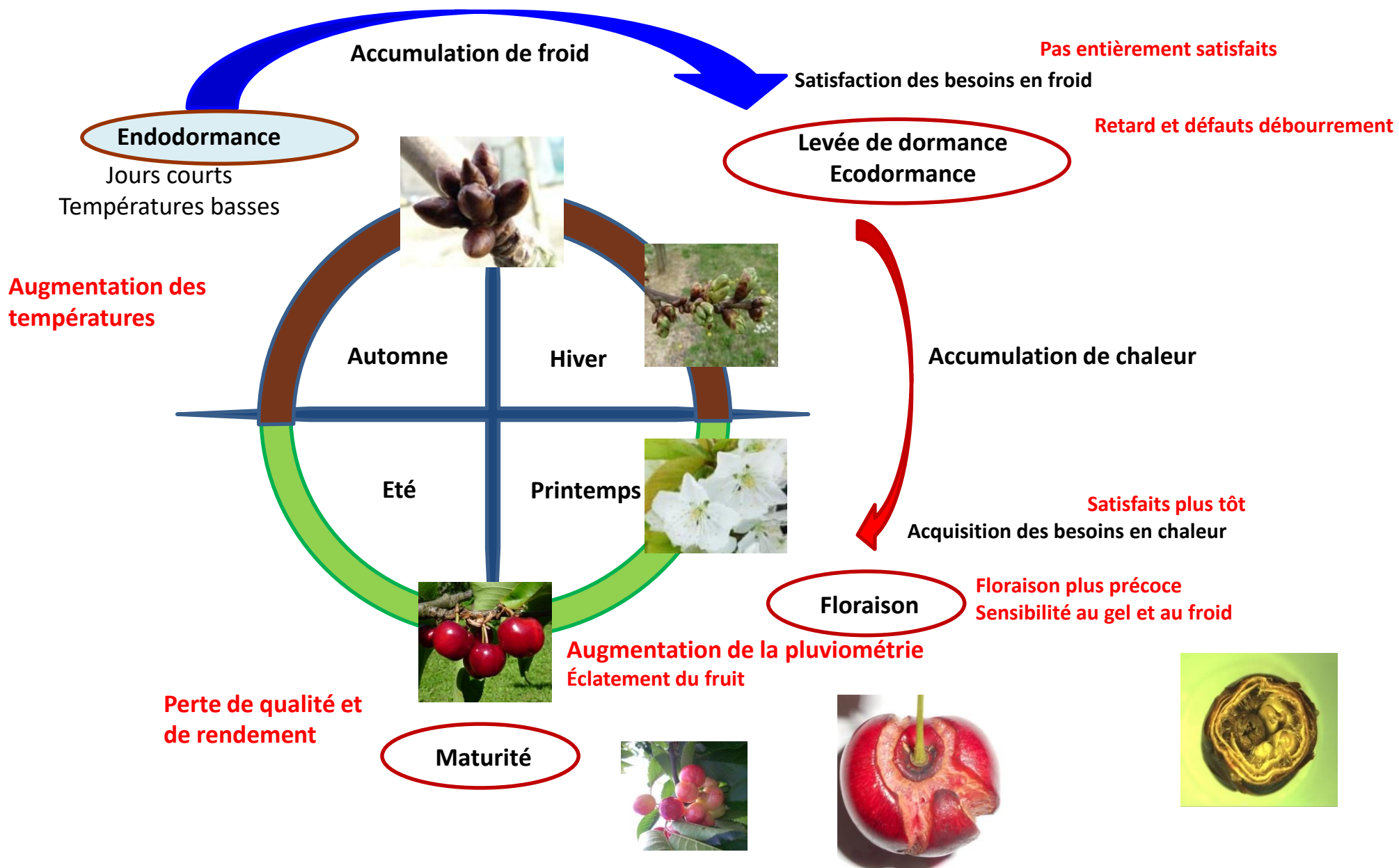
et nouveaux challenges:
- Changement climatique



Principaux caractères affectés par les changements climatiques

- **Phénologie**
- **Qualité du Fruit**
- ↗ **Maladies émergentes**
- **...???**

Sweet cherry is already affected by climate change



Principaux objectifs de sélection

- Production régulière et forte (pack out)
- Haute qualité organoleptique
- Résistance aux maladies et aux ravageurs

et nouveaux challenges:

- Changement climatique
- Nouvelles régulations phytosanitaires
- Nouvelles attentes des consommateurs



La sélection chez les arbres fruitiers est un processus long, coûteux et complexe

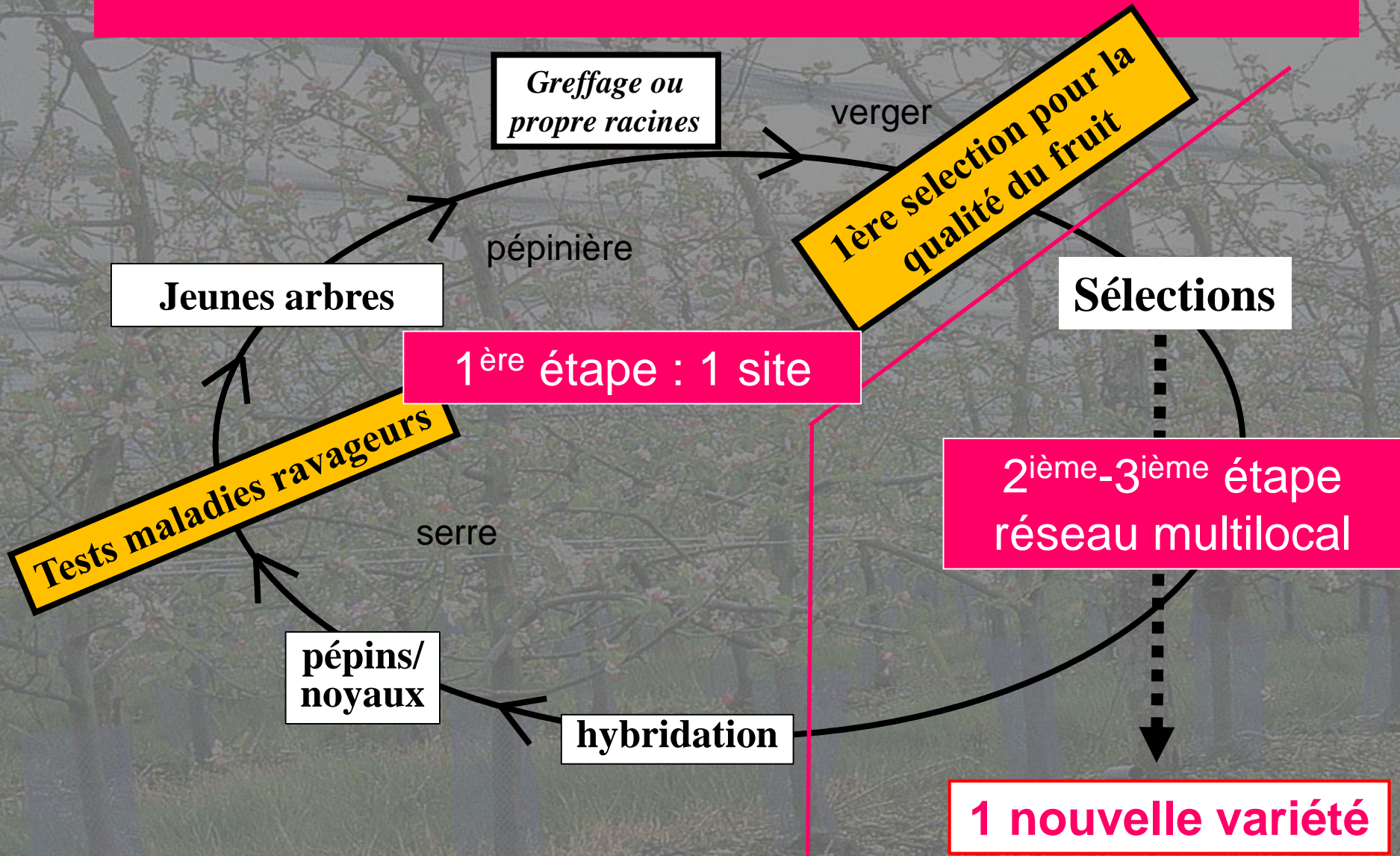
Nombreux critères de sélection pour des utilisateurs/destinataires variés

Limites/contraintes intrinsèques aux arbres fruitiers:

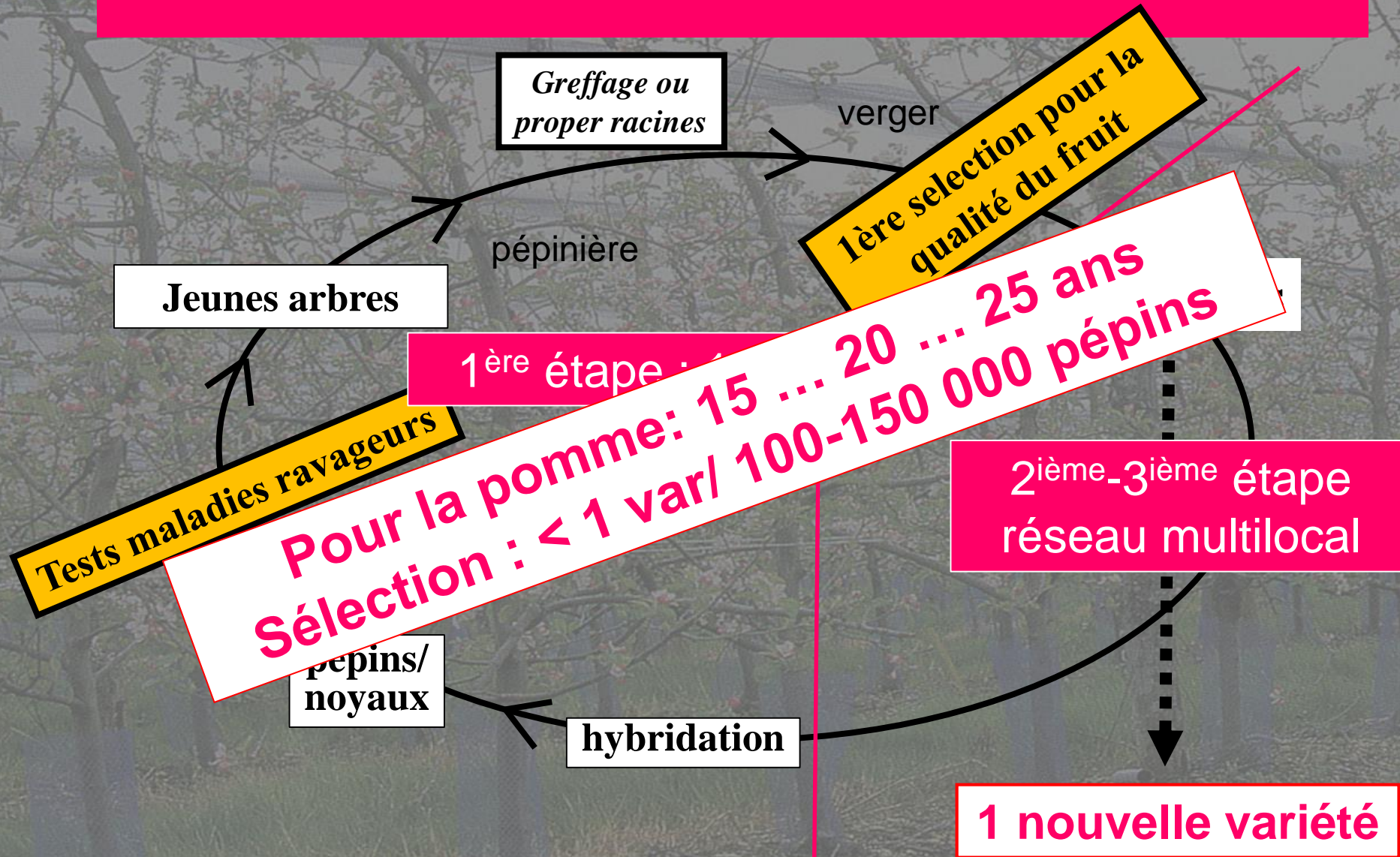
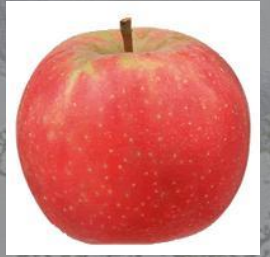
- taille/emprise au sol => ↗ surfaces
 - Physiologie: juvénilité
 - « Pérennité »
 - Génétique f(espèces): hétéro/homozygotie; **déterminismes complexes**
- } ↗ durée

⇒ faibles connaissances génétiques
⇒ cycles de sélection longs et coûteux
(base génétique étroite)

Processus de sélection



Processus de sélection pommier



Qqs variétés récentes issues du programme INRA...



Dalinette Choupette®

INRA-Pep Davodeau Ligonnière
protection: 2006
Qqs 10aines d'ha



Inored Story®

INRA-Novadi
protection: 2015
>1M d'arbres plantés



Lespin Garance®

INRA-Novadi
protection: 2013: pour le marché bio



Dalinbel Antarès®

INRA-Pep Davodeau Ligonnière
protection: 2002
Qqs 10aines d'ha



Ariane®

INRA
protection: 2004
≈1M d'arbres plantés



Qqs variétés récentes issues du programme INRA...



Cepuna

Obtenteur : INRA
 Editeur : CEP INNOVATION

GKE NV détient les droits exclusifs pour l'exploitation de la marque et de la variété Cepuna (cot)

Le fruit
 Epoque de maturité
 Juste après Conférence



Angélyls

Obtenteur : INRA
 Editeur : CEP INNOVATION

En UE et en Suisse, l'association Angélyls détient les droits exclusifs pour la plantation et la commercialisation de la variété.

Le fruit
 Epoque de maturité
 Mi-septembre
 Calibre



Platiprim

Editeur : CEP INNOVATION
 Obtenteur : EARL QUARTIER NEUF / INRA

Le fruit
 Epoque de maturité
 10 à 15 jours avant Platifruit

Calibre du fruit
 A / 3A

Attrait et Coloration
 Fruit rond et coloration brillante, rigolée, très beau, très coloré

Qualité Gustative
 Bonne fermeté, texture fine, sucrée

L'arbre
 Vigueur
 Moyenne

Port
 Intermédiaire

Epoque de floraison



Koolgat

Editeur : CEP INNOVATION
 Obtenteur : INRA / ESTERIS / INRA

Le fruit
 Epoque de maturité
 Dans le calendrier de ORANGESEED Blue

Forme et Calibre
 Calibre 3A dominant, fruit rond

Attrait et Coloration
 Bonnet lustré, présentation sans tache marquée

Qualité Gustative
 Aromatique et équilibré, texture fine et compacte, chair ferme, très juteux

Evolution après récolte
 Très bon comportement après passage en frigo

L'arbre
 Vigueur
 Très vigoureux

Port
 ...



BERGEVAL® Avicô

Variété résistante à la sharka

Editeur : CEP INNOVATION
 Obtenteur : INRA

Le fruit
 Epoque de maturité
 Dans le calendrier de MALECOB Avicô, après ORANGESEED Blue

Forme et Calibre
 Fruit légèrement oblong, 2A / 3A, poids moyen 60 à 70 g

Attrait et Coloration
 Bonnet très attraitif. Semblance avec 60% de orange/rouge sur un fond orangé lumineux

Qualité Gustative
 De très bonne qualité gustative, très ferme, croquant, acidité, juteux, bon maintien des arômes après passage en frigo

L'arbre
 Vigueur
 Bonne

Port
 Proche de celui de Bergamot, de mise à fruit régulière à une mise en place des pousses avant 60 à 70% de la taille adulte

Epoque de floraison



Digat

Editeur : CEP INNOVATION
 Obtenteur : INRA

Le fruit
 Epoque de maturité
 Dans le calendrier de BERGAROUDE/Avicô

Forme et Calibre
 Potentiel de calibre 2A / 3A

Attrait et Coloration
 Coloration rouge intense très lumineuse et brillante. Contraste marqué entre le fond

Qualité Gustative
 Très bonne qualité gustative. Chair fine et compacte, juteux

Evolution après récolte
 Bonne tenue générale

L'arbre
 Vigueur
 Bonne vigueur

Port
 ...



Anegat

Variété résistante à la sharka

Editeur : CEP INNOVATION
 Obtenteur : INRA

Le fruit
 Epoque de maturité
 Début Bergamot, après Verigo

Forme et Calibre
 Cône potential de calibre 3A / 4A

Attrait et Coloration
 Coloration lumineuse orangé colorée avec un blush rouge

Qualité Gustative
 Bonne qualité gustative. Chair très fine, très ferme, doux, juteux

Evolution après récolte
 ...



Folfer

Editeur : CEP INNOVATION
 Obtenteur : INRA

Le fruit
 Epoque de maturité
 + 8 à + 12 jours, maturité groupée / Burles

Calibre
 Gros calibre homogène 28 à 30 mm / Poids moyen = 12 à 13 g

Attrait
 Très attraitif, lumineux, rond

Coloration
 Epiderme rouge clair / Couleur à maturité optimale 5

Qualité Gustative
 Equilibrée, croquant, juteux, sucré

Forme et Calibre
 Très bonnet

Phénotype
 Court, trapu

L'arbre
 Port
 Etalé

Vigueur
 ...



Fertile

Editeur : CEP INNOVATION
 Obtenteur : INRA

Le fruit
 Epoque de maturité
 + 15 jours / Burles, entre Folfer et Summit

Calibre
 Potential de gros calibre en maintenant la charge - Poids moyen : 18 à 22 g

Attrait
 Rond

Coloration
 Epiderme rouge à récolter stade couleur 5/6

Qualité Gustative
 Bonne, acidulée, très croquant

Forme et Calibre
 Très bonnet (Qualité 25 - 30-40)

Phénotype
 Court

L'arbre
 Port
 Semi-ouvert

Vigueur
 Vigoureuse



Feroni

Editeur : CEP INNOVATION
 Obtenteur : INRA

Le fruit
 Epoque de maturité
 + 22 à + 25 jours / Burles

Calibre
 Gros calibre, poids moyen = 18 g, 28 à 30 mm

Attrait
 Attraitif, fruit lumineux

Coloration
 Epiderme rouge foncé, chair sanguine; à maturité, code couleur 6 CTDF

Qualité Gustative
 Bonne, bon équilibre sucre/acidité

Forme et Calibre
 Bonne

Phénotype
 Long

L'arbre
 Port
 Semi-érigé

Evolution récentes

↗ des technologies et méthodes moléculaires

↗ des capacités de stockage et d'analyse
↗ Bioinformatique

↗ **Connaissances génétique/génomique fonctionnelle**
Meilleure prise en compte de la diversité

↗ **Efficacité de la sélection**



An integrated approach for increasing breeding efficiency in apple and peach

Laurens E., Aranzana M.J., Arus P., Bonany J., Corelli L. Patocchi A., Peil, A., Quihot B., Stella A., Troillard V., Velasco R., van de Weg E., ...

1 March 2011- 31 August 2015

EU-FP7 large collaborative project (Budget 10M€)



→ Amélioration des outils de génotypage



...HiDRAS



< 2007	2008-09	2010	2011	2012	2013	2014
SSRs						
≈100						

→ Amélioration des outils de génotypage



...HiDRAS



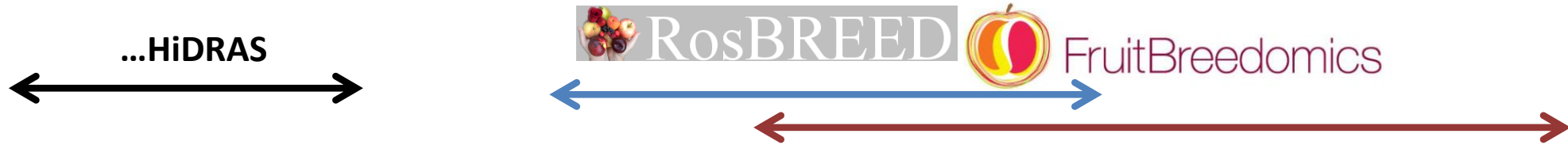
< 2007	2008-09	2010	2011	2012	2013	2014
SSRs	SNPs					
≈100	384					



The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.)

Riccardo Velasco^{1,20}, Andrey Zharkikh^{2,20}, Jason Affourtit³, Amit Dhingra⁴, Alessandro Cestaro¹, Ananth Kalyanaraman⁵, Paolo Fontana¹, Satish K Bhatnagar², Michela Troggio¹, Dmitry Pruss², Silvio Salvi^{1,6}, Massimo Pindo¹, Paolo Baldi¹, Sara Castelletti¹, Marina Cavaiuolo¹, Giuseppina Coppola¹, Fabrizio Costa¹, Valentina Cova¹, Antonio Dal Ri¹, Vadim Goremykin¹, Matteo Komjanc¹, Sara Longhi¹, Pierluigi Magnago¹, Giulia Malacarne¹, Mickael Malnoy¹, Diego Micheletti¹, Marco Moretto¹, Michele Perazzolli¹, Azeddine Si-Ammour¹, Silvia Vezzulli¹, Elena Zini¹, Glenn Eldredge², Lisa M Fitzgerald², Natalia Gutin², Jerry Lanchbury², Teresita Macalma², Jeff T Mitchell², Julia Reid², Bryan Wardell², Chinnappa Kodira³, Zhoutao Chen³, Brian Desany³, Faheem Niazi³, Melinda Palmer³, Tyson Koepke⁴, Derick Jiwan⁴, Scott Schaeffer⁴, Vandhana Krishnan⁵, Changjun Wu⁵, Vu T Chu⁷, Stephen T King⁷, Jessica Vick⁷, Quanzhou Tao⁸, Amy Mraz⁸, Aimee Stormo⁸, Keith Stormo⁸, Robert Bogden⁸, Davide Ederle⁹, Alessandra Stella⁹, Alberto Vecchiotti⁹, Martin M Kater¹⁰, Simona Masiero¹¹, Pauline Lasserre¹², Yves Lespinasse¹², Andrew C Allan¹³, Vincent Bus¹⁴, David Chagné¹⁵, Ross N Crowhurst¹³, Andrew P Gleave¹³, Enrico Lavezzo¹⁶, Jeffrey A Fawcett^{17,18}, Sebastian Proost^{17,18}, Pierre Rouzé^{17,18}, Lieven Sterck^{17,18}, Stefano Toppo¹⁹, Barbara Lazzari⁹, Roger P Hellens¹³, Charles-Eric Durel¹², Alexander Gutin², Roger E Bumgarner⁷, Susan E Gardiner¹⁵, Mark Skolnick², Michael Egholm³, Yves Van de Peer^{17,18}, Francesco Salamini^{1,9} & Roberto Viola¹

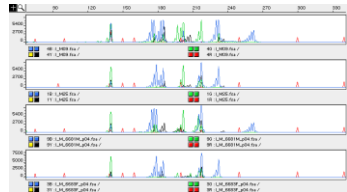
→ Amélioration des outils de génotypage



< 2007	2008-09	2010	2011	2012	2013	2014
SSRs	SNPs					
≈100	384	9 000		20 000	487 000	



Axiom®_Apple480
●●●

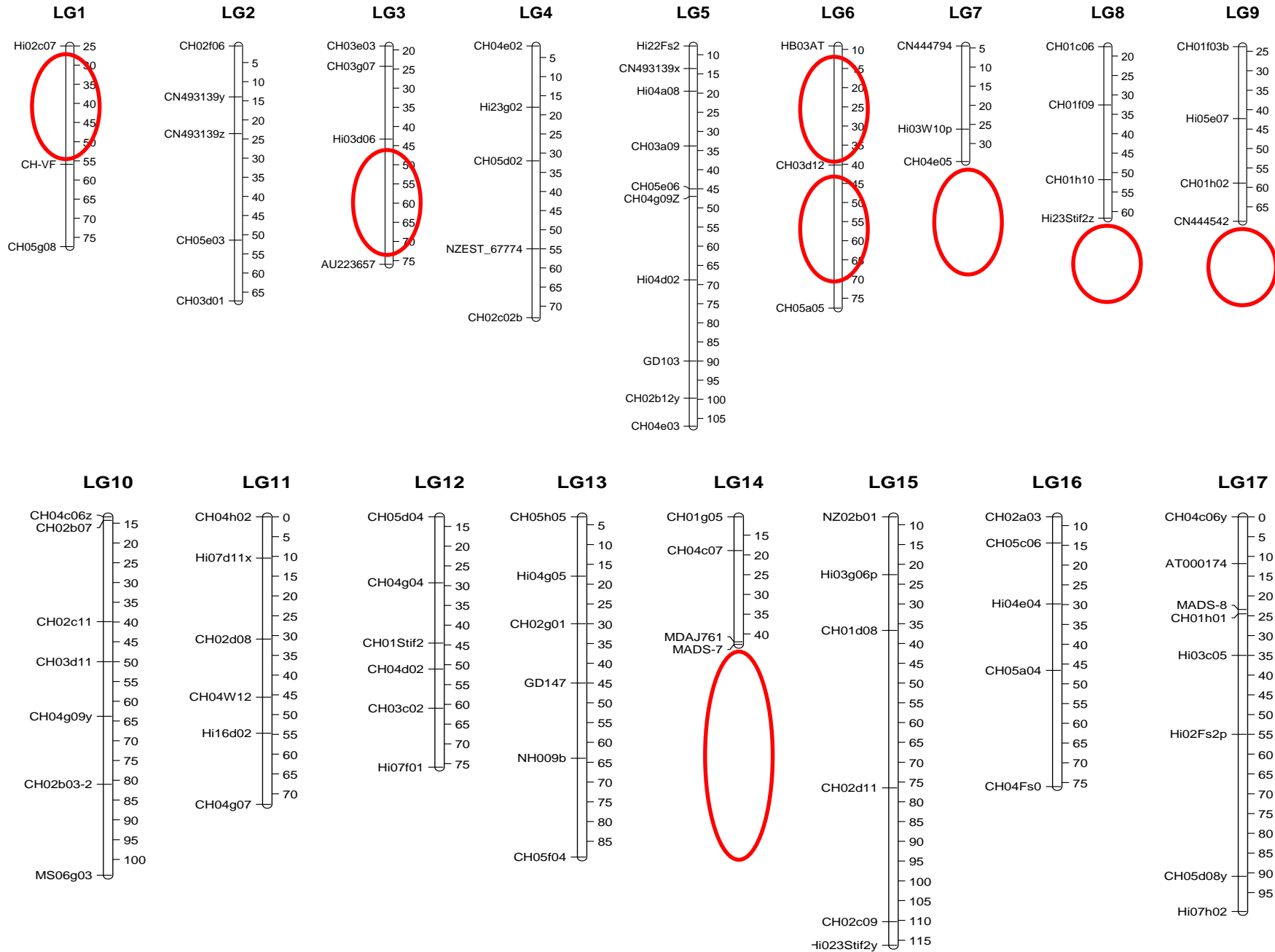


Chagné et al, 2012

Bianco et al, 2014

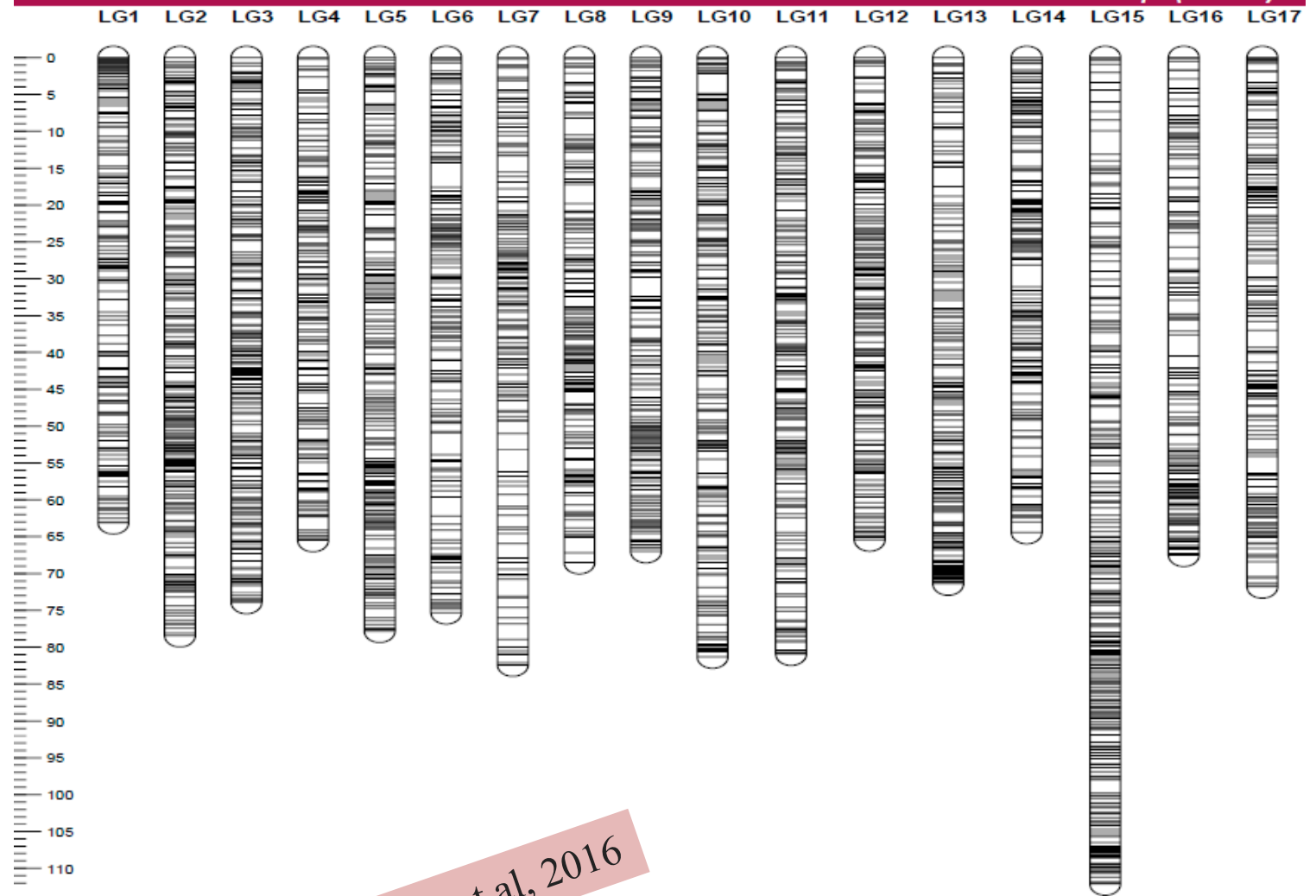
Bianco et al, 2017

Exemple de carte génétique du pommier il y a 10 ans





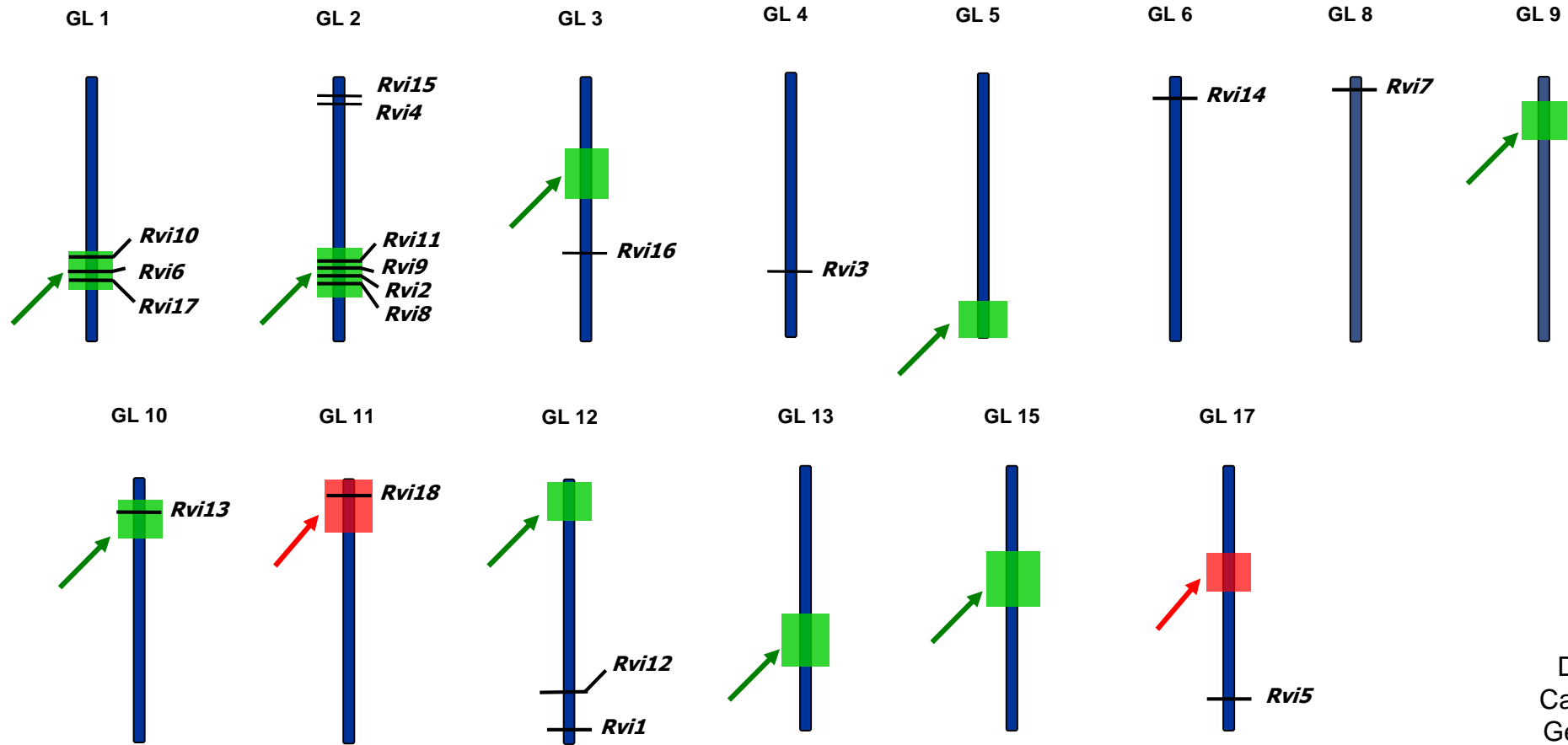
HIGH DENSITY FPs GENETIC MAP *Join Map (V4.1)*



Di Pierro et al, 2016



Gènes majeurs et QTLs identifiés contre la tavelure chez le pommier



R genes

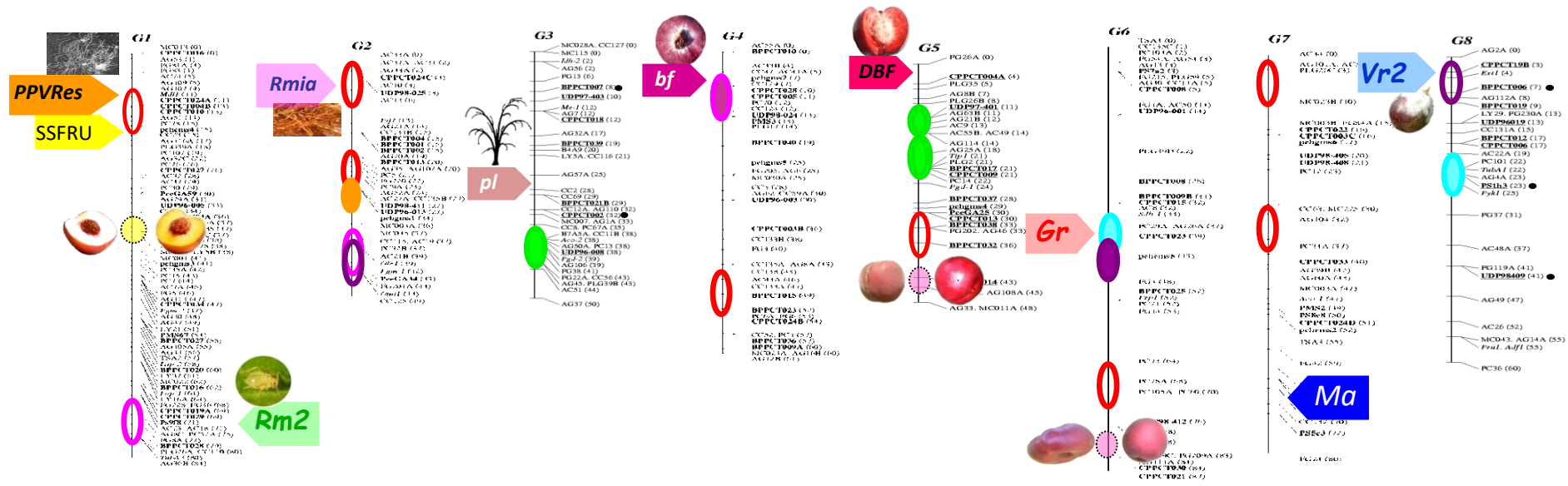
QTLs : **specific** or **broad-spectrum** (various *V. inaequalis* strains)

Durel et al., 2003
 Calenge et al., 2004
 Gessler et al., 2006
 Freslon et al., 2008
 Bus et al., 2011
 Lê Van et al., 2012
 Soriano et al., 2014

De nombreux caractères en ségrégation... de nombreux QTLs chez la pêche



Position sur la carte de référence des gènes majeurs et des QTLs identifiés à partir de nos populations



Résistance aux bio-agresseurs

- PPVRes** → Locus majeur de résistance à la sharka abricotier
- Vr2** → Locus majeur de résistance à l'oïdium pêcher
- Rm2** → Locus majeur de résistance au puceron vert pêcher
- Gr** → Locus majeur de couleur du feuillage pêcher
- Rmia** → Locus majeur de résistance au nématode
- Ma** → Locus majeur de résistance au nématode
- QTL majeur résistance à Myzus *P. davidiana*
- QTL majeur résistance oïdium *P. davidiana*
- QTL résistance à la sharka *P. davidiana*

Qualité du fruit et composés phénoliques

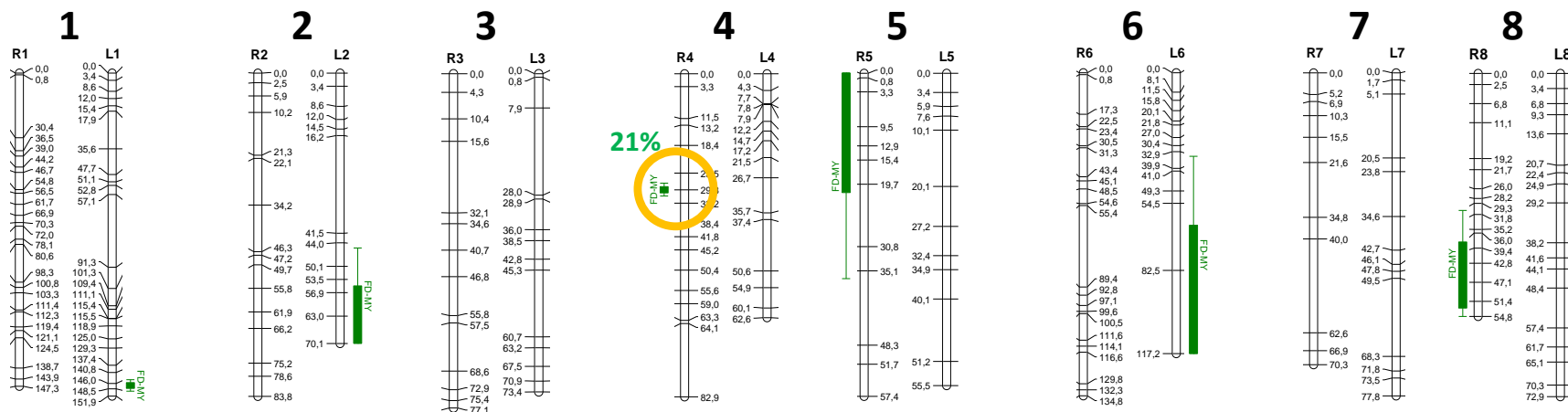
- DBF** → Locus dominant chair sanguine pêche
 - bf** → Locus récessif chair sanguine pêche
 - SSFRU** → Locus « peu de fructose »
 - QTL majeur production Ethylène abricotier
 - QTL majeur acide Chlorogénique
 - QTL majeur Acide 3,5-diCQ
- Mais aussi des caractères mendéliens classiques (pêche/nectarine, fruit plat/rond, chair jaune/blanche ...)

QTLs besoins en froid et date de floraison chez la cerise

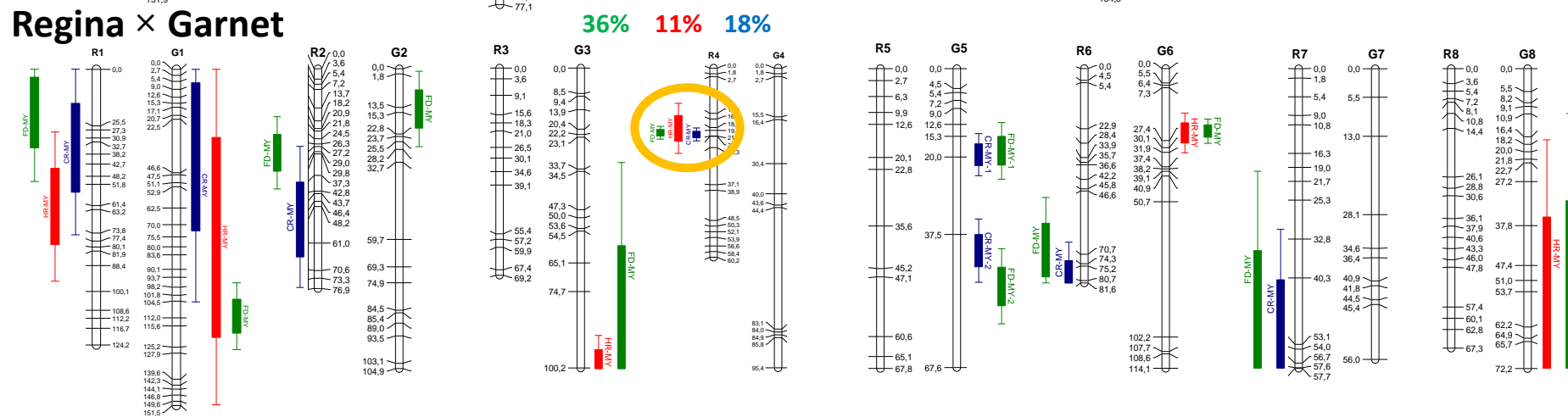


FD: 6 years

Regina × Lapins



Regina × Garnet

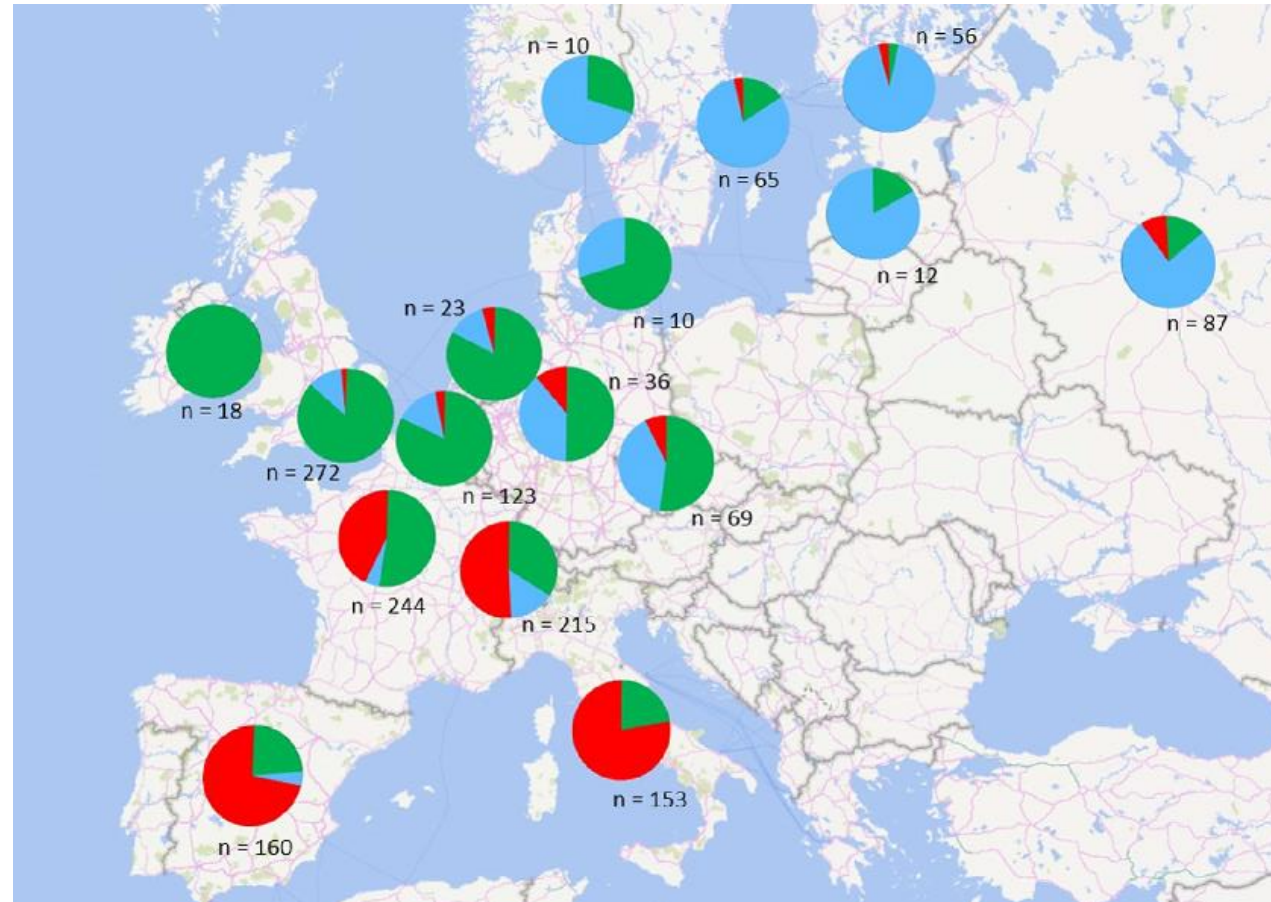


Chill requirements
 Flowering date
 Heat requirements

CR & HR: 3 years – FD: 5 years

Castède et al, New Phytol 2014

→ Structure de la diversité génétique Européenne



Urrestarazu et al, 2016

Structure of the EU apple genetic diversity Genetic composition of the groups of apple cultivars clustered by country of origin for K=3 groups (depicted in blue, green and red) inferred with Structure.



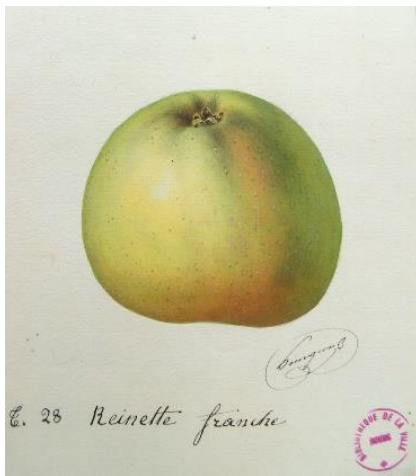
Axiom®_Apple480

Reinette Franche

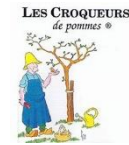
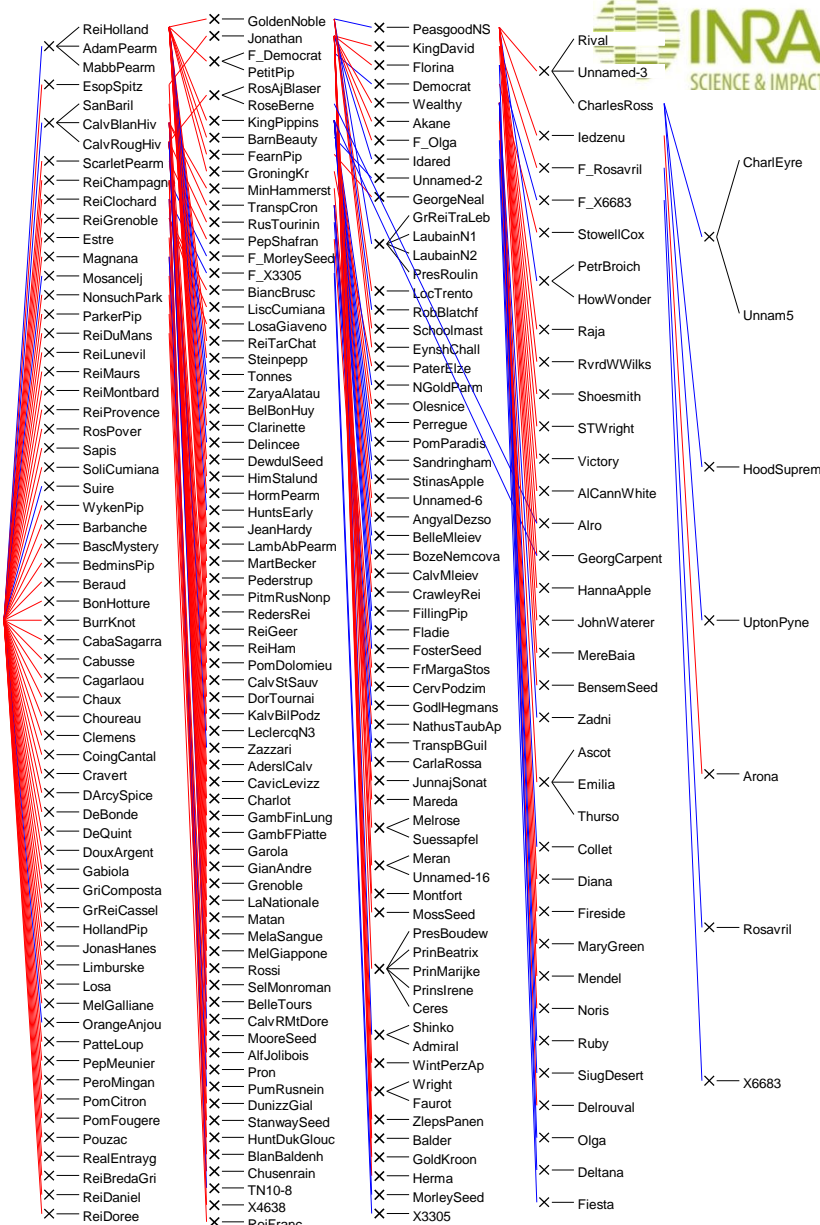
➔ 120 descendants multi-generation !

Origine ~1510

Normandy, France



Reinette Franche



(Muranty et al., 2018, in prep.)

= 'it is the primitive species of the French Reinettes' (J.P. Mayer, 1776)

= 'the mother of a considerable number of varieties' (A. Leroy, 1870)



→ Amélioration des connaissances génétiques sur les principaux caractères agronomiques prenant en compte la diversité génétique



Cartographie génétique basée sur une grande diversité allélique

Pedigree Based Analysis

Génétique d'association

Nombreuses descendances connectées par leurs pedigrees

variétés anciennes

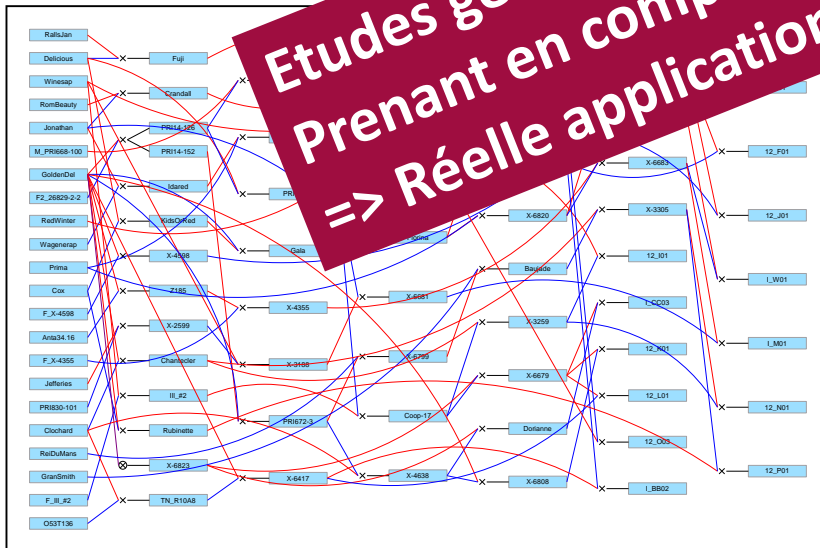
Pommier: 25 familles (1500 ind) ; 7 collections / 480 K SNPs

Pêcher: 18 familles (1475 ind) ; 5 collections / 9K SNPs

Pommier: 1200 ind ; 6 collections / 480 K SNPs

Pêcher: 1580 ind ; 5 collections / 9K SNPs

Etudes génétiques bcp plus fines Prenant en compte la diversité génétique Européenne => Réelle application en sélection



→ Améliorer les méthodes de sélection

Sélection assistée par marqueur (SAM)

Objectif : utiliser les marqueurs moléculaires pour remplacer la sélection phénotypique classique

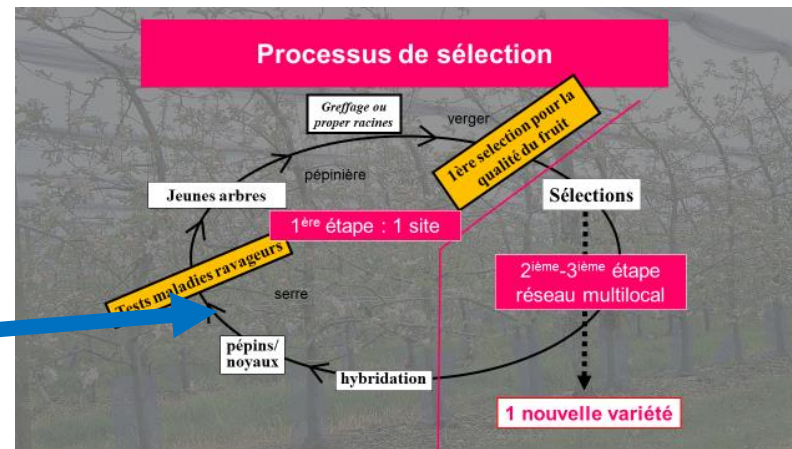
↘ Coûts and ↗ efficacité

↘ temps

↘ espace

↗ qualité

SAM



→ Améliorer les méthodes de sélection



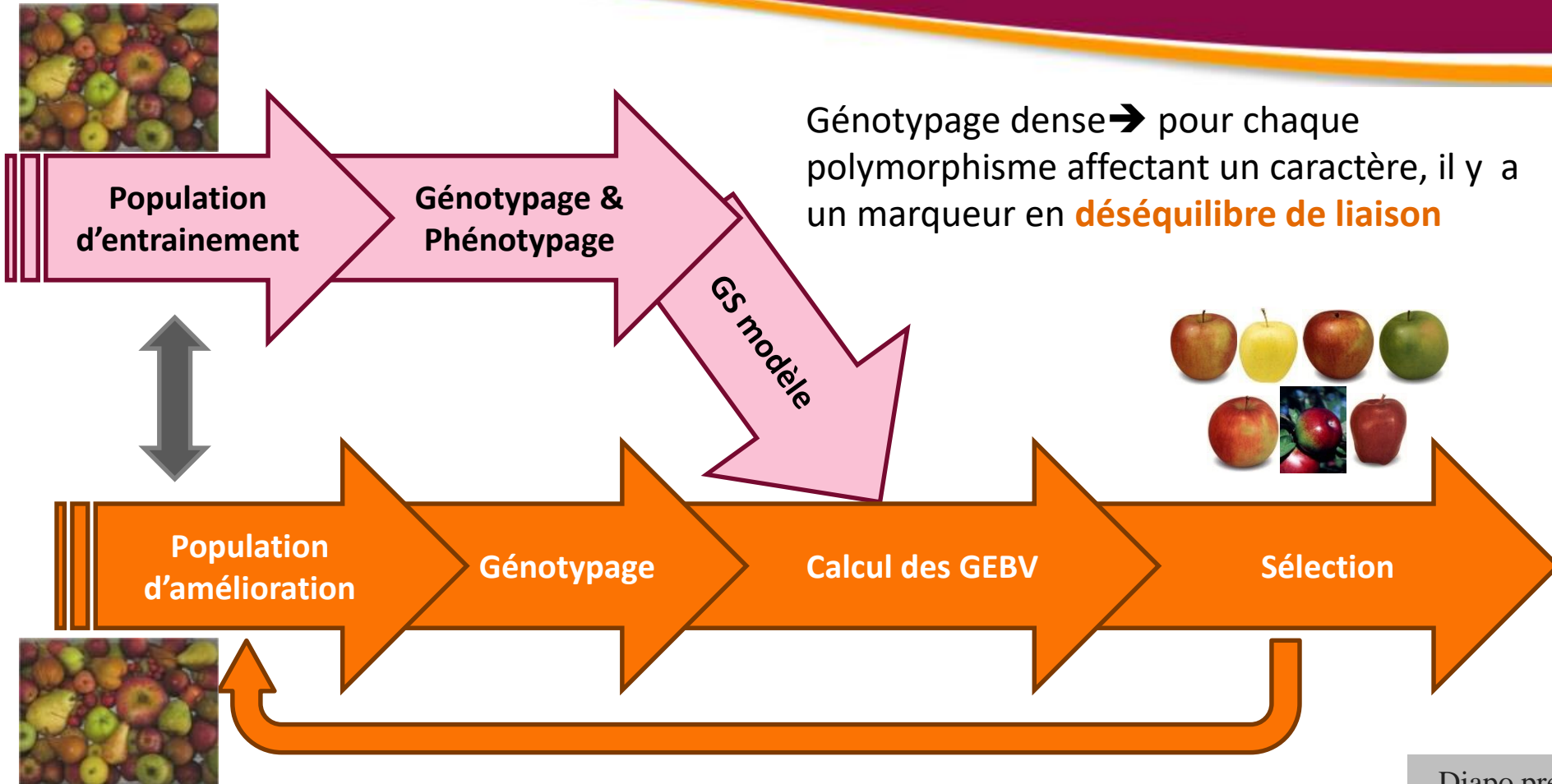
Sélection assistée par marqueur (SAM)

Exemples de caractères sélectionnés en SAM en routine dans qqs programmes d'amélioration

Trait / Locus	Marker
Résistance tavelure Rvi6=Vf (LG1)	Rvi6_42M10SP6_Y124 (SNP)
Résistance tavelure Rvi2=Vh2 (LG2)	Rvi2_region53_M417 (SNP)
Résistance oïdium PI2 (LG11)	PI2_3_Y211 (SNP)
Texture du fruit Md-PG1 (LG10)	PG_FEM_LC_19 (SNP)
Fermeté en conservation Md-ACO1 (LG10)	ACO_FEM_cg_4 (SNP)
Fermeté en conservation Md-ACS1 (LG15)	ACS_FEM_cg_5 (SNP)
Croquant (LG16)	Crispness_SNP1 (ss475881704; SNP1 from RosBREED)
Acidité (LG16)	Acidity_SNP2 (ss475876558; SNP2 from RosBREED)

Jänsch et al 2015
Pagliarani et al, 2016
Baumgartner, et al, 2016

→ Nouvelles approches Sélection génomique



Diapo préparée par H. Muranty

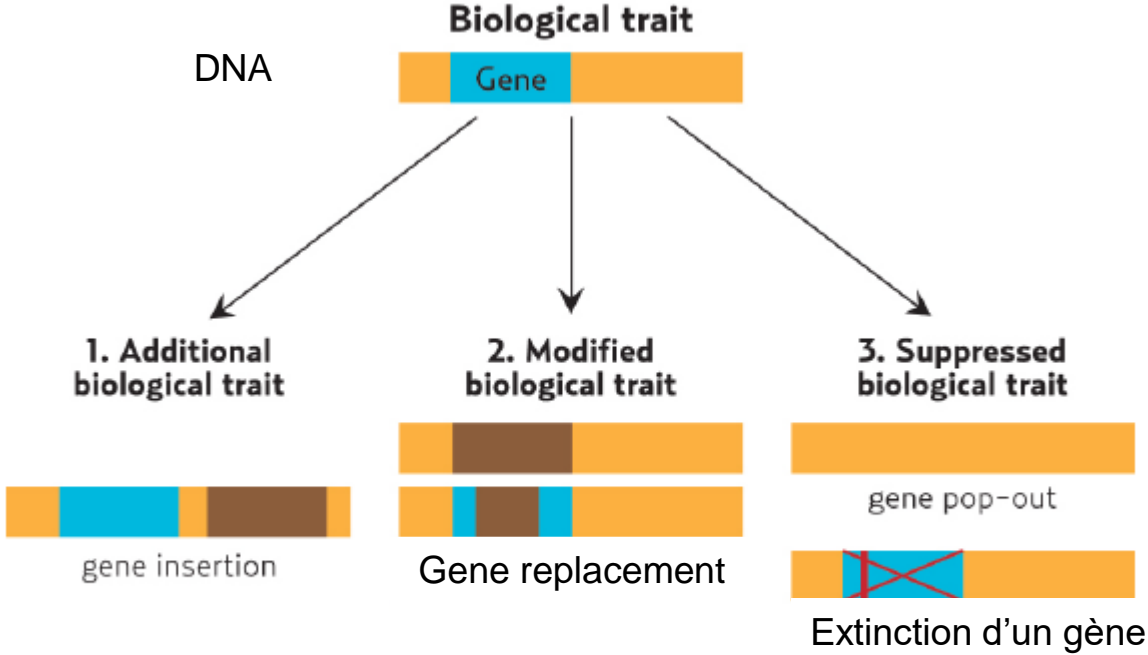
→ Nouvelles approches

New Breeding Technologies (NBT)

Actuellement disponibles et testées chez les fruits :

- Cisgenèse
- Variétés greffons non-OGM sur des Porte-greffe OGM
- « Fast breeding »
- Edition du génome par des nucléases (CRISPR-Cas9, ...)

L'édition des génomes par des nucléases



L'édition des génomes par des nucléases

Où en est-on chez les arbres fruitiers ?

- plusieurs exemples de mutagenèse ciblée (= KO) chez plusieurs espèces : preuves de concept
- aucun exemple de remplacement de gène (=KI) : beaucoup plus difficile à obtenir

Espèce	Type	Gène cible et phénotype	Pays	Référence
Pommier	KO	PDS : plantes albinos	Japon	Nishitani et al 2016
Citrus	KO	Lob1 : résistance au Xanthomonas	USA	Jia et al 2016
Pommier	KO	Mlo7 : résistance à l'oïdium	Italie	Malnoy et al 2016
Vigne	KO	PDS : plantes albinos	Japon	Nakajima et al 2017
Kiwi	KO	PDS : plantes albinos	Chine	Wang et al 2017
Vigne	KO	WRKY52 : résistance au Botrytis	Chine	Wang et al 2018
Cacao	KO	NPR3 : résistance au Phytophthora	USA	Fister et al 2018

Un outil de plus, en complément de la mutagenèse et de la transgenèse, mais pas une révolution



L'évolution de la législation sur les « NBT »

Aux USA :

- législation OGM basée sur le produit et non le processus d'obtention
- examen au cas par cas par 3 agences successives :
 - APHIS : santé animale et végétale
 - FDA : alimentation
 - EPA : environnement
- déjà **7 produits issus de KO par CRISPR considérés comme « non-régulés » par l'APHIS**

En EUROPE:

Arrêt du 25 Juillet 2018 de la Cour de Justice de l'Union Européenne : **tous les organismes obtenus par mutagenèse sont des organismes génétiquement modifiés (OGM)** (seuls ceux issus de techniques traditionnelles de mutagenèse développées antérieurement à l'adoption de la directive n° 2001/18 sur les OGM sont exclus de son champ d'application).

=> Les variétés dont le génome est modifié par les technologies d'édition du génome sont donc soumises aux procédures d'évaluation des risques, d'autorisation, de traçabilité et d'étiquetage des OGM, ceci même si les modifications ne se traduisent pas par l'introduction d'un fragment d'ADN exogène.

Les généticiens ont-ils 20 ans d'avance?

OUI : ils anticipent les problématiques futures et mettent en œuvre les outils et méthodologies les plus performantes

MAIS : les caractères à prendre en compte sont nombreux, interconnectés et souvent très complexes; certains émergents

IMPOSSIBLE de combiner dans une variété l'ensemble des allèles favorables pour tous les caractères d'intérêt

La variété IDEALE n'existera pas mais un bon compromis est possible

Avec l'aide de tous les utilisateurs finaux
(producteurs, distributeurs, consommateurs)

Les perspectives

➤ **Poursuivre l'amélioration des outils de génotypage:** ↗ ↗ ↗ efficacité + ↘ ↘ ↘ coûts

=> ↗ connaissances sur le **Génotype**

=> ↗ utilisation en sélection

Mais les améliorateurs, les producteurs, les consommateurs sont intéressés par le
Phénotype = **Génotype** x **Environnement** x Management (**GxExM**)

➤  des approches multidisciplinaires (agronomie, bioinformatique, physique, ...)

➤ Etudes en cours:

- interaction GxExM (réseaux cerise, GEMFruit-pommier pêcher, ...)
- épigénétique

Les perspectives

➤ **Poursuivre l'amélioration des outils de génotypage:** ↗ ↗ ↗ efficacité + ↘ ↘ ↘ coûts

=> ↗ connaissances sur le **Génotype**

=> ↗ utilisation en sélection

Mais les améliorateurs, les producteurs, les consommateurs sont intéressés par le
Phénotype = **Génotype** x **Environnement** x Management (**GxExM**)

➤  des approches multidisciplinaires (agronomie, bioinformatique, physique, ...)

➤ Etudes en cours:

- interaction GxExM
- épigénétique

- Phénotypage haut débit
- mais aussi analyse sensorielle





Merci pour votre attention

