Rencontre thématique – AAF 25 mai 2016 – Yves Lespinasse Génétique et amélioration des arbres fruitiers – cas du pommier Une carrière à l'interface INRA – pépiniéristes/arboriculteurs

Résumé:

Diplômé de l'Ecole Nationale Supérieure d'Horticulture en 1970 et formé en cytogénétique chez Yvonne Cauderon à Versailles, j'ai débuté ma préparation au concours INRA à Bordeaux avant d'être sollicité par Angers après mon temps de service national comme coopérant en Tunisie (1970-1972). Assistant de recherches en 1973 au département 'Génétique et Amélioration des Plantes', 2 axes principaux ont constitué l'ossature de mes travaux :

* connaître la structure et le fonctionnement des génomes, le rôle et l'interaction des gènes – j'ai sélectionné les premières plantes haploïdes de pommier et de poirier (x=17 chromosomes). Ces recherches « fondamentales » avaient pour objectif d'approfondir les connaissances génétiques de l'espèce, mais étaient non applicables à court terme pour les producteurs.

* moderniser et adapter les démarches de sélection pour l'amélioration des espèces et la création variétale – j'ai étudié les relations entre le pommier et ses bioagresseurs tout en développant la création de nouvelles variétés résistantes ou peu sensibles, travaux directement applicables chez les producteurs.

La recherche et l'obtention de plantes haploïdes a débuté par l'emploi de la technique du gène marqueur pour repérer au sein de descendances, les plantes d'origine maternelle, à priori haploïdes, puis successivement par androgenèse et par parthénogenèse induite in situ après pollinisation par du pollen irradié. Les plantes haploïdes doublés homozygotes sont actuellement des outils génétiques utilisés dans le séquençage très précis des génomes du pommier et du poirier; l'un des haploïdes doublés de pommier est le support de travaux en épigénétique : le pommier pourrait être l'une des plantes pérennes modèle, permettant d'approfondir le rôle de facteurs, tels que l'âge ou l'environnement, qui modulent l'expression des gènes sans altérer la molécule ADN.

L'étude des relations entre le pommier et ses bioagresseurs a porté principalement sur la tavelure du pommier (*Venturia inaequalis*) ; la caractérisation de nouvelles races par hôtes différentiels, le phénotypage des symptômes des descendants résistants sont à la base des travaux actuels engagés par pathologistes et généticiens pour construire des génotypes à résistance durable. Ces recherches ont été étendues au niveau européen à partir de la mi-90 ; Le groupe angevin est aujourd'hui l'un des principaux moteur de ces programmes visant à rendre le pommier résistant ou peu sensible à la tavelure, l'oïdium, le feu bactérien et le puceron cendré.

La création de nouvelles variétés, partie appliquée de ce programme, a été conduite à partir de la mi-80 en partenariat avec les pépiniéristes français ; plusieurs obtentions INRA et co-obtentions ont été diffusées par les pépiniéristes, dont la plus visible sur le marché est aujourd'hui la variété 'Ariane'. Par ailleurs, de nouvelles variétés de pommier à cidre sont en cours de développement. Le dialogue professionnels – chercheurs INRA est bien engagé et peut contribuer à redonner espoir à une filière arboricole en difficulté économique.

<u>Phases-clés</u>: création de plantes haploïdes et haploïdes doublés de pommier et de poirier, outils génétiques pour progresser dans la connaissance de leur génome et de leur fonctionnement - élaboration d'une stratégie d'amélioration du pommier selon 3 axes : qualité des produits, résistance aux bioagresseurs, architecture de l'arbre adaptée au verger moderne - implication de la filière professionnelle pour l'innovation variétale, avec une évolution vers la diffusion de co-obtentions en partenariat avec les pépiniéristes - coordination de projets européens pour développer une recherche européenne et internationale sur ces espèces fruitières.

Génétique et amélioration des arbres fruitiers cas du pommier

Une carrière à l'interface Recherche INRA – pépiniéristes / arboriculteurs

> Rencontre thématique Yves Lespinasse

élu membre titulaire Section 1 en décembre 2015





CV – études et carrière INRA

- Diplôme d'Ingénieur Horticole à l'Ecole Nationale Supérieure d'Horticulture – Versailles, Juin 1970
- Certificat de Génétique, 2ème cycle à la Faculté des Sciences d'Orsay – Juin 1970
- Service dans la coopération technique en Tunisie -1970-1972; île de Djerba la douce...
- 1970 recruté à l'INRA en qualité d'Agent Contractuel Scientifique; 1973 reçu au concours d'Assistant de Recherches; 1976 - Chargé de Rech.; 1986 - Directeur de Rech; 1994 - HDR Univ. Rennes
- 1991 directeur de l'Unité « Amélioration des Espèces fruitières et ornementales » 3 mandats de 4 ans. Retraite fin 2011.



L'INRA: une recherche publique finalisée au cœur des enjeux de développement de l'agriculture et du monde rural, et plus largement de l'alimentation et de l'environnement.

Mots-clés: pluridisciplinarité, connaissance, expertise, innovation...

- Le Département 'Génétique et Amélioration des Plantes' (GAP):
 - Objectif 1: connaître la structure et le fonctionnement des génomes, le rôle et l'interaction des gènes
 - Objectif 2: moderniser et adapter les démarches de sélection pour l'amélioration des espèces et la création variétale



Ma mission de chercheur en réponse à ces objectifs

- Projet 1: rechercher des plantes haploïdes de pommier, puis par doublement chromosomique, obtenir des plantes homozygotes.
 - Une plante homozygote est utile pour mieux connaître la génétique des caractères
 - Sans intérêt immédiat pour les producteurs.
- Projet 2 : créer de nouvelles variétés de pommier résistantes ou peu sensibles aux bio-agresseurs.
 - Un long processus d'hybridations engagé depuis 1960 20 ans de la graine à la variété qui bénéficie des avancées en méthodologie de la sélection
 - Intérêt pour les producteurs mais admis tardivement



Intérêt des plantes haploïdes

- Cytologie et cytogénétique
 - ✓ Méiose
 - ✓ Caryotype
- Mutagenèse
 - ✓ Élargir la gamme des mutants
- Biologie moléculaire et cellulaire
 - ✓ Transformation génétique
 - ✓ Carte génétique
- Amélioration génétique
 - ✓ Testeurs pour évaluation génétique
 - ✓ Sélection de géniteurs performants
 - ✓ Création de porte-greffe F1





Acad. Agric. 25 Mai 2016 - Y. Lespinasse



Acad. Agric. 25 Mai 2016 - Y. Lespinasse

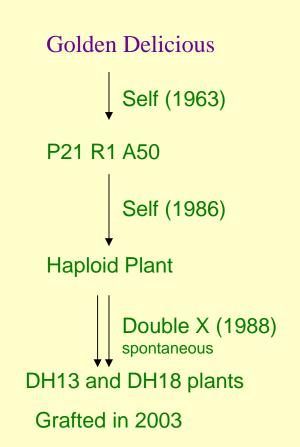




Acad. Agric. 25 Mai 2016 - Y. Lespinasse

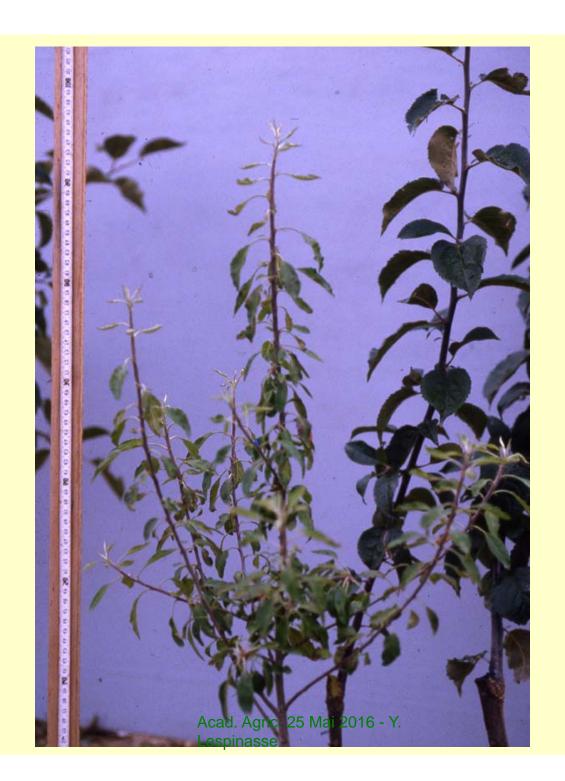
Creating a doubled haploid apple







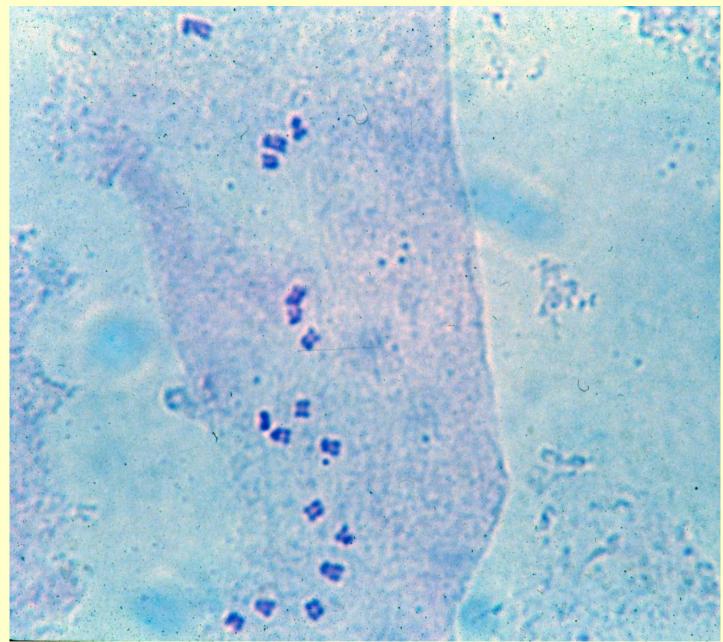






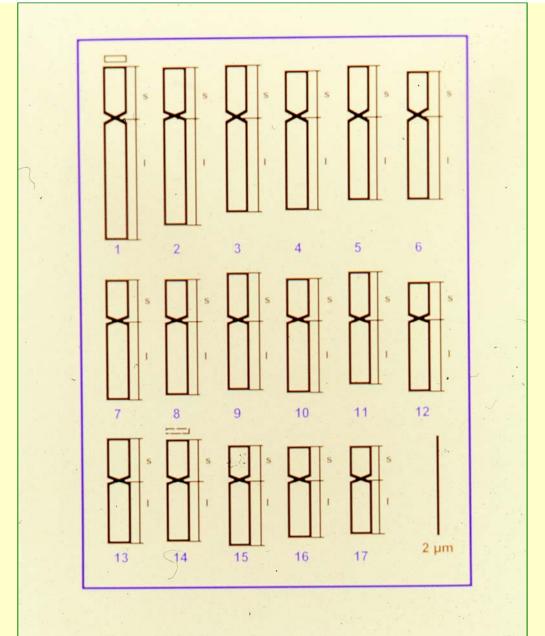


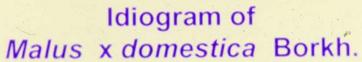






Acad. Agric. 25 Mai 2016 - Y. Lespinasse















Acad. Agric. 25 Mai 2016 - Y. Lespinasse

1980

Création et description d'une plante haploïde de Pommier (*Malus pumila* Mill.)

Y. LESAINASSE et Marie GODICHEAU

Station d'Arboriculture fruitière Centre de Recherches d'Angers, I.N.R.A Beaucouzé, 49000 Angers

e

ARTICLES

Résumé

Une plante haploïde d'origine maternelle, a été détectée dans la descendance issue de la pollinisation de la variété de pommier "Topred delicious", 2n = 34 par un type à feuillage rouge (issu de Malus pumila niedzwetzkyana), dont la couleur est sous la dépendance d'un gène dominant R, utilisé comme marqueur. Cet haploïde, 2n = 17, présente une faible vigueur, sa tige est grèle, ses feuilles petites. Nous avons pu le multiplier par greffage.

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

2010

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 Vecchietti9, 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

We report a high-quality draft genome sequence of the domesticated apple (Malus × domestica). We show that a relatively recent (>50 million years ago) genome-wide duplication (GWD) has resulted in the transition from nine ancestral chromosomes to 17 chromosomes in the Pyreae. Traces of older GWDs partly support the monophyly of the ancestral paleohexaploidy of eudicots. Phylogenetic reconstruction of Pyreae and the genus Malus, relative to major Rosaceae taxa, identified the progenitor of the cultivated apple as M. sieversii. Expansion of gene families reported to be involved in fruit development may explain formation of the pome, a Pyreae-specific false fruit that develops by proliferation of the basal part of the sepals, the receptacle. In apple, a subclade of MADS-box genes, normally involved in flower and fruit development, is expanded to include 15 members, as are other gene families involved in Rosaceae-specific metabolism, such as transport and assimilation of sorbitol.

IN

Acad. Agric. 25 Mai 2016 - Y. Lespinasse



Le génome du pommier décrypté

- La séquence complète du génome du pommier (var. 'Golden Delicious') vient d'être publiée (Août 2010)
- Les recherches que j'ai conduites de 1975 à 1990 ont facilité cette découverte plante homozygote.
- Ce résultat va permettre une accélération sans précédent des recherches génétiques pour mieux répondre aux défis dont, réduction des pesticides et changements climatiques - grâce à une création plus efficace de nouvelles variétés.



Apple: An ideal model to study epigenetics? *Epicenter* Team leader: Etienne Bucher IRHS Angers

It is a perennial plant

Was multiplied by grafting for centuries

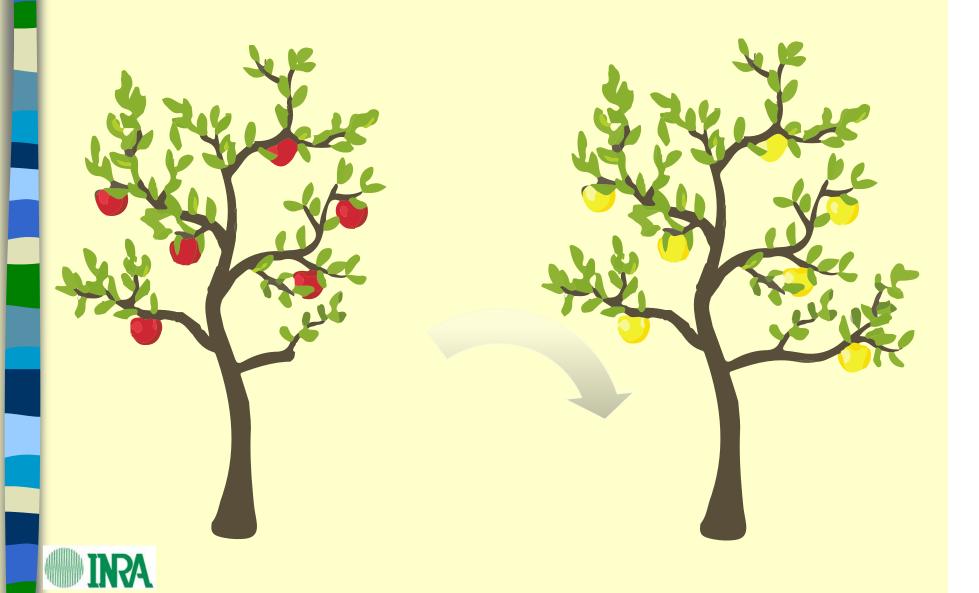
Golden delicious since approx. 1891

Large collection of "mutants"

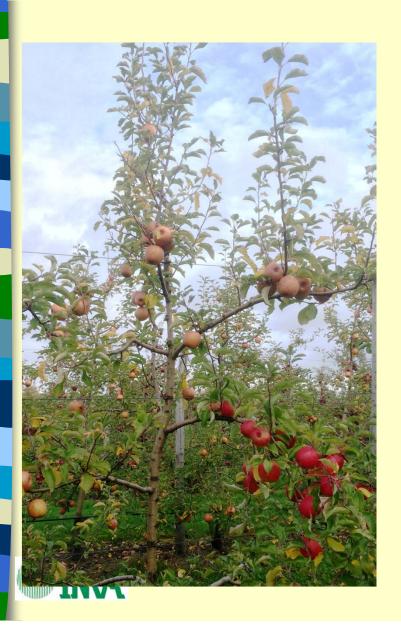




Apple: An ideal model to study epigenetics?



Apple epialleles?







Diversité épigénétique chez la variété 'Gala' ?

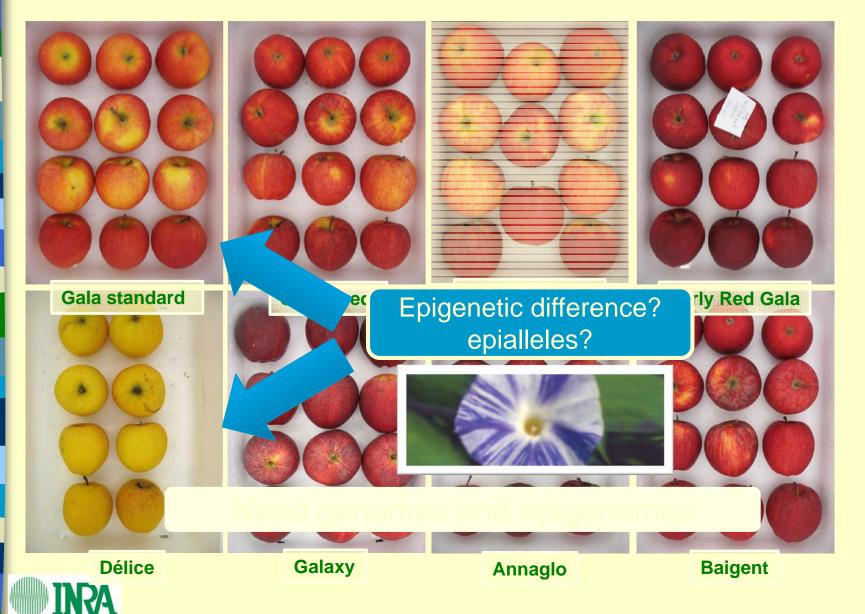


Photo: Rémi Guisnel, INF

Golden Delicious doubled haploid



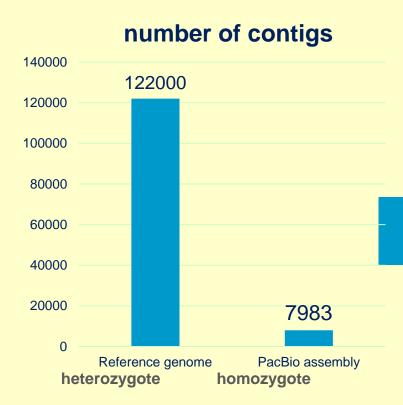








Sequencing the doubled haploid apple







Nicolas Daccord

de novo assembled PacBio sequencing reads: 7'983 contigs



The main biological questions

Which genes are under epigenetic control?

Which traits are epigenetically regulated?

Which epigenetic marks are sexually and asexually transmitted in trees?

Which signals can have an impact on the epigenome of trees?



Sexual and asexual transmission of epigenetic marks in apple

asexual transmission: Cloning by grafting





comparison of the epigenetic state of the scion donor to the newly grown scion

Sexual transmission of epigenetic marks







We obtained 1234 seeds!



Summary

New apple genome will be accomplished soon

We are establishing apple as an epigenetic model system

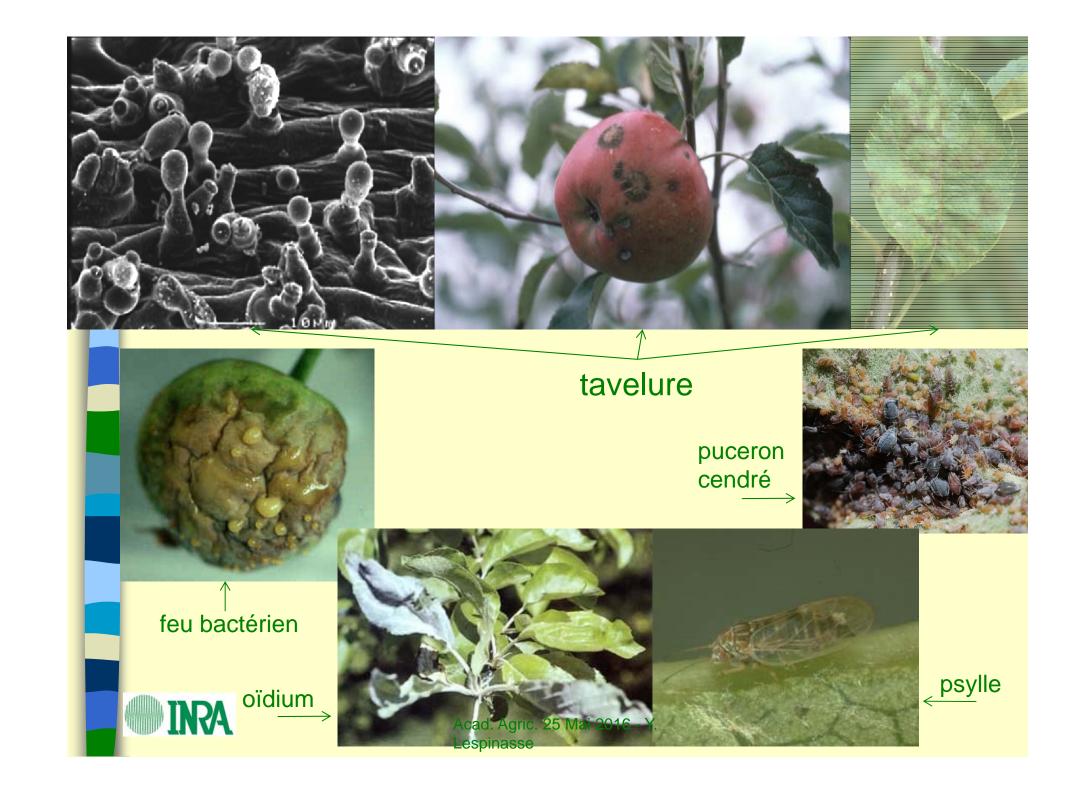
We study the genomes and epigenomes of "mutants"

 And how epigenetic marks are transmitted through germline passage

We study *global* epigenetic diversity of one variety







Spécificité de résistance

Liée à la variabilité du pouvoir pathogène du champignon

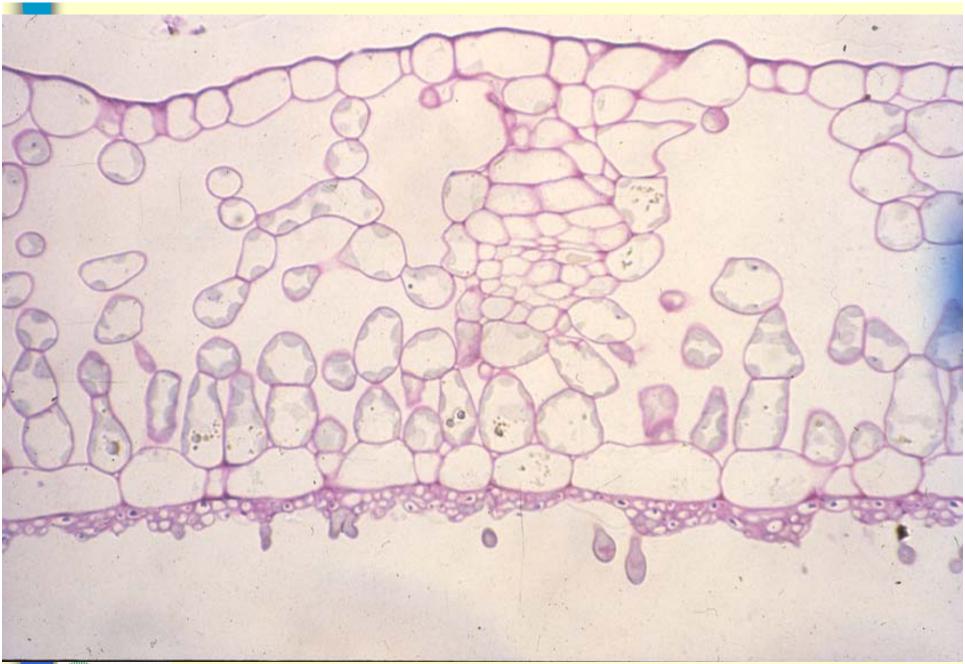
=> races de *Venturia inaequalis* définies vis-à-vis d'une gamme de génotypes de *Malus* portant différents gènes majeurs

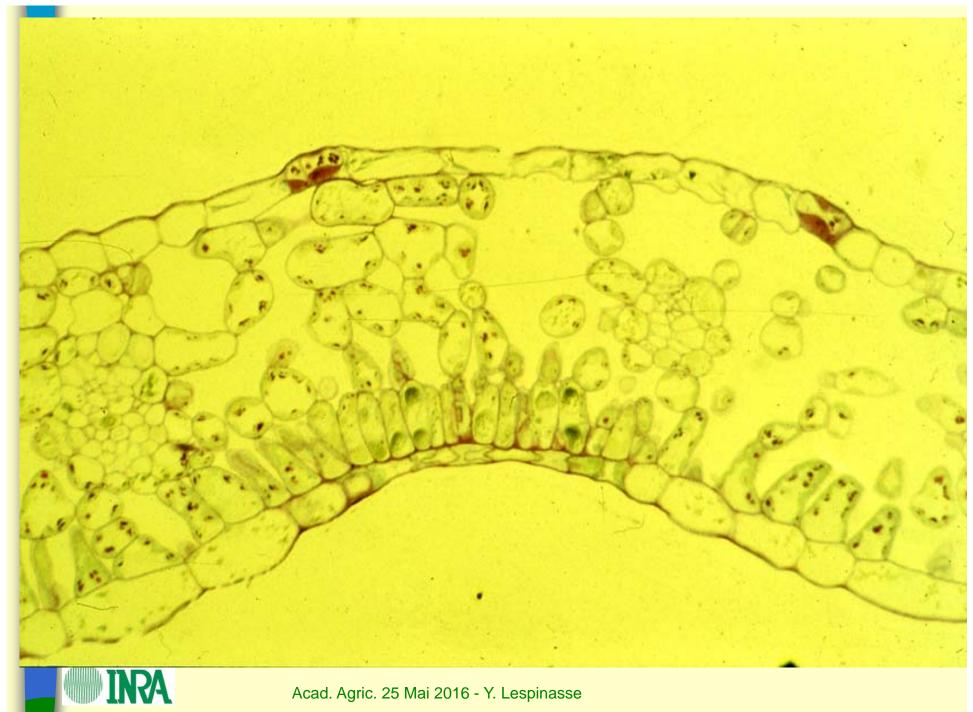
		Pathodemes							
		Dolgo	Geneva	M. pumila		M. microma	Florina	Golden	M. flo821
				si	s'i	lus	Vf + Vg	Vg	Vf + Vfh
Pathotypes	1	R	R	R	R	R	R	S	R
	2	S	S	S	S	R	R	S	R
	3	R	S	R	R	R	R	S	R
	4	R	R	R	S	R	R	S	R
	5	R	R	R	R	S	R	S	R
	6	R	R	R	R	R	S	S	R
	7	R	R	R	R	R	R	R	S

race 8 (*Malus sieversii*) et race de virulences '6+7'

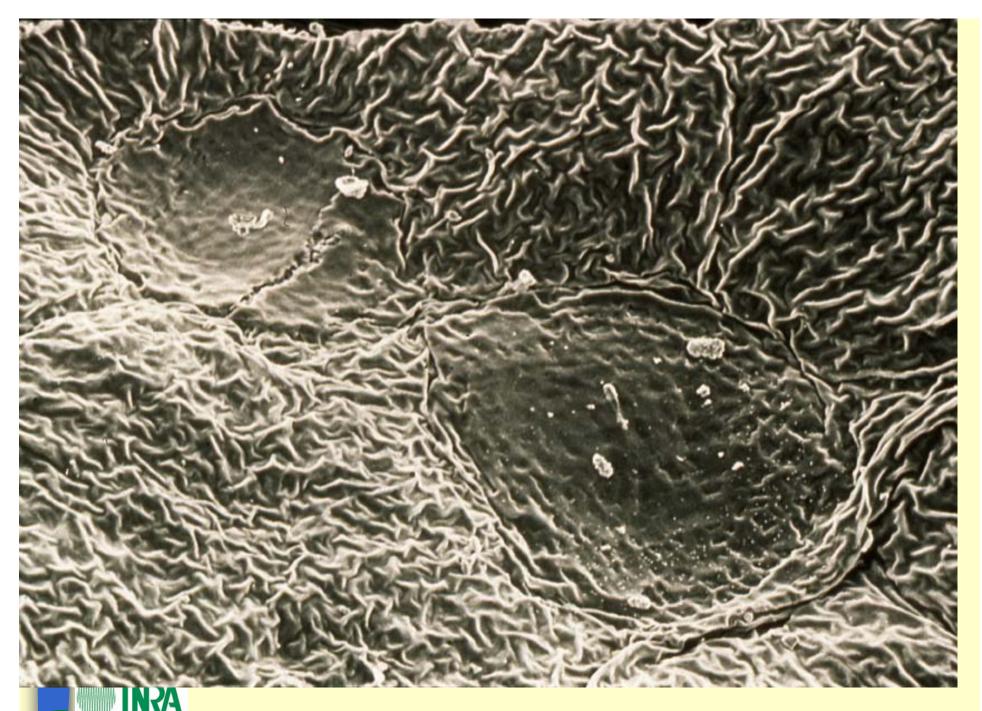
Figure 1 - Les classes de symptômes dans la descendance d'un croisement entre une variété résistante *Vf* et une variété sensible (Photos UMR GenHort)













Acad. Agric. 25 Mai 2016 - Y. Lespinasse

La demande des producteurs

- Décennie 1970
 - Le trio variétal: Golden Delicious, Red Delicious, Granny Smith
 - Aucune attente exprimée en matière de résistance aux bio-agresseurs
 - Réponse polie au discours du chercheur...
 - Exemple de 'Florina' (1977): une variété de pommier en avance sur son temps (50% de réduction des pesticides) mais différente du trio variétal - dont saveur et conservation bien que adoptée en Suisse et Italie du Nord mais le marché ne suit pas.
 - Demande « convenue » pour créer par ex. 'Golden' résistante aux maladies...



La demande des producteurs

- Décennie 80: le tournant
 - 1985: du Daminozide (Alar) dans les pots pour bébés aux USA - retiré du commerce en 1989.
 - Une prise de conscience des producteurs...
 - Un pépiniériste angevin, Guy Ligonnière, s'intéresse à mon programme de création de variétés résistantes aux maladies...
 - Les producteurs font à la fin de la décennie 80 une démarche pour que ce programme bénéficie de davantage de moyens...
 - Leur demande devient pressante! des variétés résistantes... tout de suite...



Le dialogue avec les professionnels

- Le dialogue s'instaure avec les arboriculteurs du moins avec certaines personnalités - mais reste difficile à un niveau collectif car ils sont peu regroupés.
- Le dialogue se construit avec les pépiniéristes qui créent une SARL en 1997, aujourd'hui appelée NOVADI, partenaire de la création de nouvelles variétés de pommier moins sensibles aux bio-agresseurs.

Voir Y. Lespinasse, 2007. Innovation variétale: démarche partenariale engagée avec les pépiniéristes producteurs de plants de pommier. Innovations agronomiques, 1, 123-127.



Discussion - conclusion

- Concordance des temps ?
 - Le chercheur doit nourrir son travail de travaux 'amont' non expliqués - non explicables ? - aux professionnels, travaux qui peuvent s'avérer très utiles plus tard.
 - Le chercheur INRA doit développer des recherches appliquées qui répondront aux demandes des professionnels - et de la société. Ces recherches appliquées n'ont pas été comprises par les professionnels des décennies 70-80; le contexte a certainement changé.
 - Le chercheur doit avoir les moyens de tenir le cap, malgré l'incompréhension : importance de la recherche publique !



Discussion - conclusion

- Concordance des temps ?
 - Les professionnels attendent des résultats rapides et probants - or, la biologie n'est pas une science exacte et réserve bien des surprises: contournement des gènes de résistance... devoir d'explication de la part du chercheur!
 - Le niveau de formation des arboriculteurs a considérablement augmenté: le chercheur peut mieux s'expliquer que par le passé.
 - Le dialogue professionnels-chercheurs INRA est mieux engagé aujourd'hui et peut contribuer à redonner espoir à une filière arboricole en difficulté face à des prix non rémunérateurs.
 - Voir les rencontres organisées autour des CIAG (Carrefours de l'Innovation Agronomique).

http://www.inra.fr/ciag





1977 : Florina



Baujade



2003 : Ariane

Choupette



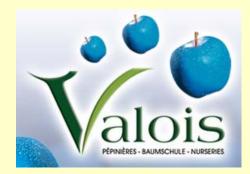
Pitchounette

INA Antarès

Initial

Acad. Agric. 25 Mai 2016 - Y. Lespinasse























GenHor

Naissance de l'UMR GenHort en 2003





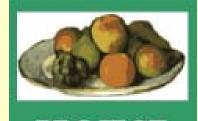




HIDRAS



ISAFRUIT



PROJECT



European Fruit Research Institutes Network



ISAFRUIT 2006-2010

- Titre: Accroître la consommation de fruits en Europe grâce à une approche multidisciplinaire conduisant à des fruits et produits de meilleure qualité, selon des procédures s'inscrivant dans le Développement Durable.
- A l'origine le réseau EUFRIN : European Fruit Research Institutes Network.
- ISAFRUIT : 40 instituts dont 2 extérieurs (HortResearch et Université Davis) et 21 PME – 200 chercheurs.
- Budget total : 21,4 millions €
 - Contribution UE: 13,8 millions €



Résumé

- * Elaboration d'une stratégie d'amélioration du pommier bâtie selon 3 axes : qualité des produits, résistance aux bio-agresseurs, architecture de l'arbre adaptée au verger moderne. Implication de la filière professionnelle, essentiellement les pépiniéristes (SARL 'Novadi', 'Les Naturianes®') avec financement partiel des programmes de sélection pour des co-obtentions.
- * Obtention (Première mondiale) de plantes haploïdes de pommier et de poirier ; valorisation au niveau cytogénétique (caryotype, méiose) et séquençage du génome.
- * Direction de l'Unité de Recherches de 1991 à 2003 ; renforcement de l'axe GAP-SPE ; construction d'un nouveau bâtiment ; mise en route de l'UMR GenHort ; synergie forte entre l'Unité de Recherches et l'Unité Expé.
- *Coordination du projet européen DARE (Durable Apple Resistance in Europe) de 1998 à 2002 ; co-coordination du projet européen ISAFRUIT (Increasing fruit consumption through a trans-disciplinary approach delivering high quality produce from environmentally, sustainable production methods.) de 2006 à 2010.



Yves Lespinasse le parcours d'un chercheur de 1970 à 2011

