
Séance dédiée à Pierre Pécaut et Hubert Bannerot

**L'AMÉLIORATION DES PLANTES LÉGUMIÈRES :
LES PROGRÈS RÉALISÉS ET LES TRAVAUX EN COURS**

par Mathilde Causse¹

Les plantes légumières sont caractérisées par une grande diversité d'espèces (plus de 30 légumes couramment commercialisés en France) et de conditions de culture (des jardins familiaux à la culture industrielle en plein champ ou sous abris). Même si la France est le troisième exportateur européen, la production française ne couvre pas du tout les besoins. Au niveau sociétal, la consommation de fruits et légumes baisse, alors que leur rôle pour la prévention de différents problèmes de santé (notamment liés à l'obésité et aux maladies cardio-vasculaires) est reconnu. Les attentes des consommateurs concernent principalement le respect de l'environnement, la qualité sanitaire et la qualité organoleptique. Pour la filière c'est la performance économique qui prime. La sélection peut jouer un rôle prépondérant dans la réponse à ces enjeux.

Les progrès réalisés par la recherche concernent l'ensemble des objectifs de sélection, mais le focus sera mis sur l'évolution des outils du sélectionneur et des connaissances sur les résistances aux pathogènes et la qualité des fruits, chez les solanacées et la tomate en particulier. En effet la tomate est à la fois une espèce d'importance majeure parmi les plantes horticole mais aussi une espèce modèle pour ces aspects.

Les ressources génétiques

Les ressources génétiques constituent la base du progrès. Très tôt des collections ont été constituées à partir de prospections dans les pays d'origine pour les espèces sauvages, ou à partir des variétés localement conservées. En France, depuis les années 90, des réseaux de conservation de ces collections ont été constitués en partenariat entre l'Inra, le GEVES et les sociétés semencières. Ces collections ont permis la découverte et l'utilisation d'un grand nombre de mutations en sélection.

De nouveaux outils de sélection : les marqueurs moléculaires

Concernant les outils de sélection, la généralisation des marqueurs moléculaires, depuis le début des années 90, a permis des avancées importantes dans la connaissance de l'organisation des génomes, la génétique comparative et la sélection assistée par marqueurs. Ces nouveaux outils ont considérablement modifié le paradigme de la sélection végétale en permettant un nouvel accès à la variabilité des espèces sauvages, la comparaison de l'organisation des génomes entre espèces et l'amélioration de l'efficacité de la sélection. Grâce aux travaux du groupe de Steven Tanksley, à l'Université de Cornell (USA), la tomate a été une espèce pionnière pour l'utilisation de marqueurs moléculaires. Le type de marqueurs moléculaires utilisés a évolué avec la découverte de nouvelles

¹ Directrice de recherches, INRA, Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, Avignon

techniques, les marqueurs RFLP (Restriction Fragment Length polymorphism), qui ont été d'abord utilisés pour construire une carte génétique saturée du génome de la tomate (Tanksley *et al.*, 1992) et analyser la diversité de la tomate et de ses espèces apparentées ayant été progressivement remplacés par les marqueurs utilisant la PCR, avec plusieurs techniques disponibles. Plus récemment, des milliers de marqueurs SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ont été identifiés par séquençage de gènes chez plusieurs accessions.

La cartographie des gènes utiles a toujours été d'une importance primordiale pour les sélectionneurs de tomates. Les marqueurs moléculaires ont permis aux généticiens de localiser rapidement les gènes d'intérêt sur les cartes génétiques.

Les résistances aux maladies

Chez la tomate, plus de 60 bio-agresseurs sont connus (champignons, nématodes, bactéries, virus, insectes...), provoquant des dégâts plus ou moins importants. Les résistances aux pathogènes constituent un objectif primordial de sélection pour les légumes, souvent consommés frais, et pour lesquels les traitements phytosanitaires doivent être réduits. Très tôt, les sélectionneurs ont recherché des gènes de résistance. Les anciennes variétés n'en possédant quasiment aucun, c'est dans les espèces apparentées à la tomate cultivée que la plupart des sources de résistance ont été détectées.

La plupart des gènes de résistance aux maladies utilisés dans les programmes de sélection ont été cartographiés. Suite à l'identification de marqueurs PCR liés au gène d'intérêt, des marqueurs spécifiques ont été mis en place, ce qui simplifie l'étape de génotypage pour les sélectionneurs. Aujourd'hui les sélectionneurs utilisent ces marqueurs au quotidien dans leurs programmes.

Parmi les 45 gènes de résistance cartographiés, 17 ont été clonés et leur structure identifiée (Labate *et al.*, 2007 ; Tomato Genome Consortium, 2012). La connaissance de la structure de ces gènes, identifiés parallèlement chez de nombreuses espèces a révélé une structure relativement conservée de tous ces gènes avec quelques domaines caractéristiques. Par ailleurs, la comparaison des génomes des espèces proches, notamment des trois espèces de solanacées, tomate, piment et pomme de terre, ont montré quelques cas de colinéarité des gènes de résistance à un même pathogène (Dijian-Caporalino *et al.*, 2007 ; Thabuis *et al.*, 2003). Des travaux récents ont également mis en évidence les conditions de durabilité de ces sources de résistance, notamment par le cumul de résistances majeures et de résistances partielles (Quenouille *et al.*, 2014).

La qualité des fruits, une sélection plus complexe

Concernant la qualité des fruits, la sélection de variétés aux fruits de longue conservation a profondément impactée la filière : elle a permis la délocalisation d'une partie de la production, a satisfait les attentes des distributeurs, mais a déconcerté les consommateurs, en modifiant la texture des fruits (Causse *et al.*, 2003). Comme pour les résistances aux pathogènes, les marqueurs moléculaires ont permis l'identification de plusieurs gènes impliqués dans la durée de conservation, mais aussi de gènes contrôlant la couleur du fruit ou sa forme.

La qualité gustative est régie par un ensemble de composantes liées aux saveurs (sucrée, acide), aux arômes (plus de 30 composés volatils parmi les 400 identifiés jouent un rôle prépondérant) et à la texture (ferme, fondant, farineux, juteux...). Chacune de ces composantes a un déterminisme génétique quantitatif, contrôlé par plusieurs gènes à effets variables (ou QTL pour quantitative trait loci) et influencés par l'environnement.

Grâce aux marqueurs moléculaires, les QTLs peuvent être détectés et localisés sur les cartes génétiques, et leurs effets individuels quantifiés. En raison du faible polymorphisme moléculaire chez les cultivars de tomate, la plupart des études a longtemps concerné des descendance

interspécifiques. Ainsi la cartographie de QTL a permis d'utiliser en sélection des espèces sauvages apparentées à la tomate cultivée. Plusieurs types de population ont été utilisés, de F2 ou rétrocroisement dans les premières études, aux populations homozygotes telles que lignées recombinantes (Causse *et al.*, 2002), backcross avancés (Fulton *et al.*, 1997) ou lignées d'introgession (Eshed et Zamir, 1995). Des QTL ont été détectés dans tous les cas, parfois avec des effets importants. Les QTL peuvent être séparés en deux types : quelques QTL stables au quels que soient les environnements ou les années, et de nombreux QTL spécifiques d'un état (Paterson *et al.*, 1991). Certains QTL impliqués dans la variation d'une caractéristique ont été détectés chez les descendances issues de différentes accessions d'une espèce ou d'espèces différentes (Grandillo *et al.*, 1999; Fulton *et al.*, 2002).

La cartographie de QTL a permis une découverte importante : les espèces de tomates sauvages, en dépit de leurs faibles caractéristiques en comparaison aux accessions cultivées, possèdent des allèles qui peuvent contribuer à l'amélioration de la plupart des caractères agronomiques (de Vicente et Tanksley, 1993). Ces transgressions étaient difficiles à prévoir, mais pouvaient apporter un progrès important pour les sélectionneurs, comme l'ont montré Gur et Zamir (2004) par pyramidage de régions porteuses de QTL de rendement introduites de l'espèce sauvage *S. pennellii*.

Une carte de QTL contrôlant plusieurs attributs de la qualité sensorielle des fruits de la tomate a révélé des relations entre QTL pour les attributs sensoriels et pour la composition chimique des fruits (Causse *et al.*, 2002). Le poids des fruits et la teneur en solides solubles sont corrélés négativement et des QTL pour ces deux traits sont souvent détectés dans les mêmes régions, avec des effets opposés des allèles, ce qui suggère un effet pléiotropique responsable de cette corrélation. Ces informations sont importantes pour identifier les possibilités et les limites de l'introgession de QTL pour le contenu en sucres dans les variétés à gros fruits.

Des expériences de cartographie fine ont permis de cartographier précisément les QTL dans une région chromosomique et de vérifier l'existence d'un ou plusieurs QTL liés dans la même région (Paterson *et al.*, 1990). La cartographie fine est également une étape importante pour le clonage de QTL, comme le montre le succès du clonage de QTL qui contrôlent le poids des fruits (Frary *et al.*, 2000), la forme du fruit (Tanksley, 2004) ou le contenu en solides solubles (Fridman *et al.*, 2000).

Concernant la forme des fruits, quatre QTL majeurs ont été identifiés (contrôlant le nombre de loges, l'aspect fascié, l'allongement du fruit et sa forme plus ou moins pyriforme). Il a été montré que la quasi totalité des formes de fruits rencontrés sur le marché pouvait être prédit par les formes alléliques présentes à ces quatre gènes (Rodriguez *et al.*, 2011).

La sélection assistée par marqueurs

De nouvelles approches ont été proposées afin d'introduire les informations de cartographie de gènes / QTL dans les schémas de sélection. L'efficacité et la complexité de la sélection assistée par marqueurs (SAM) dépendent de la nature génétique du trait (monogénique ou polygénique). Pour les traits monogéniques, le backcross assistée par marqueurs (BCAM) est la stratégie la plus simple, elle est très couramment utilisée, alors que pour les traits polygéniques diverses stratégies sont disponibles.

La SAM peut être particulièrement efficace pour un caractère difficile et coûteux à évaluer comme la qualité sensorielle des fruits. Une fois les marqueurs moléculaires étroitement liés aux allèles souhaitables identifiés, la SAM peut être réalisée dans les populations en ségrégation et à un stade précoce du développement de la plante. Il est ainsi possible d'effectuer plusieurs cycles de sélection par an. Le BCAM est efficace pour cumuler rapidement plusieurs QTL dans un seul génotype. La disponibilité de marqueurs PCR fiables s'est avérée cruciale pour le succès d'un tel

schéma de sélection. Néanmoins, il est apparu important de réévaluer l'effet des QTL dans la descendance, car des effets inattendus peuvent limiter le succès du BCAM. En outre l'effet du fond génétique sur l'expression de QTL a été montré et risque d'entraver l'utilisation de marqueurs moléculaires dans la SAM.

Connaissance de la séquence du génome

Récemment les technologies de séquençage à haut débit ont permis de disposer de séquences de références pour la plupart des espèces horticoles dont le génome n'est pas trop gros. Ainsi on dispose d'une séquence de référence de très grande qualité chez la tomate (Tomato Genome Consortium 2012). En parallèle des bases de données du répertoire des gènes présents dans chaque région chromosomique, de leur spécificité (stade et organe) d'expression et des profils locaux de recombinaison sont disponibles (<https://solgenomics.net>). Jusqu'à une date récente, le faible niveau de polymorphisme révélé par les marqueurs au sein de l'espèce de tomate cultivée a limité l'utilisation des marqueurs pour la sélection des lignées élites. La disponibilité de la séquence génomique ouvre de nouvelles perspectives pour l'identification des gènes qui sous-tendent les caractères d'intérêt et la découverte de millions de polymorphismes nucléotidiques (SNP).

Le génome de plusieurs centaines d'accessions a été reséquéncé et quelques millions de SNP identifiés (Lin *et al.*, 2014). Ces SNP fournissent une nouvelle source de marqueurs polymorphes qui sera particulièrement utile pour l'exploitation de la variabilité intraspécifique.

Quelques perspectives

Depuis le début de la sélection de la tomate en France par Pierre Pécaut, dans les années 50, les connaissances ont beaucoup évolué et la sélection a été progressivement transférée aux sociétés privées qui créent chaque année des dizaines de nouvelles variétés. Les marqueurs moléculaires ont permis de nombreuses découvertes sur la structure du génome. La transgénése a également été un outil essentiel pour la recherche sur la fonction et la régulation des gènes. L'utilisation des OGM est néanmoins limitée en Europe à la recherche, du fait du rejet des consommateurs. Les nouvelles techniques de modification du génome (Cardi 2016), beaucoup plus précises et permettant de cibler des modifications ponctuelles, offrent de nouveaux horizons pour la sélection. Leur utilisation, possible dans de nombreux pays, dépendra en Europe des réglementations qui leur seront attribuées.

Aujourd'hui, les recherches visent à accélérer le débit et la précision du phénotypage, à mieux comprendre les interactions entre génotypes et environnement, notamment en construisant des modèles prédictifs et à mieux intégrer la connaissance de la diversité au niveau des génomes dans les schémas de sélection, notamment par la recherche d'associations entre génotypes et phénotypes (Sauvage *et al.*, 2014) et par la maîtrise de la sélection génomique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) CAUSSE M., SALIBA-COLOMBANI V., LECOMTE L., DUFFE P., ROUSSELLE P., BURET M., 2002. – QTL analysis of fruit quality in fresh market tomato: a few chromosome regions control the variation of sensory and instrumental traits. *J Expt Bot* **53**, 2089-2098
- (2) CAUSSE M., BURET M., ROBINI K., VERSCHAVE P., 2003. – Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. *J Food Sci* **68**, 2342-2350
- (3) DE VICENTE M.C., TANKSLEY S.D., 1993. – QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. *Genetics* **134**, 585–596
- (4) DJIAN-CAPORALINO C., FAZARI A. ARGUEL M. J., VERNIE T., VANDECASTEELE C., BRUNOUD G., PALLOIX A., LEFEBVRE V., 2007. – Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. *Theor Appl Genet* **114**, 473-486
- (5) ESHED Y., ZAMIR D., 1995. – An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield associated QTL. *Genetics* **141**, 1147-1162
- (6) FRARY A., NESBITT T.C., FRARY A., GRANDILLO S., VAN DER KNAAP E., CONG B., LIU J., MELLER J., ELBER R., ALPERT K.B., TANKSLEY S.D., 2000. – *fw-2.2*: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science* **289**, 85-88
- (7) FRIDMAN E., PLEBAN T., ZAMIR D., 2000. – A recombination hotspot delimits a wild-species quantitative trait locus for tomato sugar content to 484 bp within an invertase gene. *Proc Natl Acad Sci* **97**, 4718-4723
- (8) FULTON T.M., BECK-BUNN T., EMMATTY D., ESHED Y., LOPEZ J., PETIARD V., UHLIG J., ZAMIR D., TANKSLEY S.D., 1997. – QTL analysis of an advanced backcross of *Lycopersicon peruvianum* to the cultivated tomato and comparisons with QTLs found in other wild species. *Theor Appl Genet* **95**, 881-894
- (9) FULTON T.M., BUCHELI P., VOIROL E., LOPEZ J., PETIARD V., TANKSLEY S.D., 2002. – Quantitative trait loci (QTL) affecting sugars, organic acids and other biochemical properties possibly contributing to flavor, identified in four advanced backcross populations of tomato. *Euphytica* **127**, 163-177
- (10) GRANDILLO S., KU H.M., TANKSLEY S.D., 1999. – Identifying the loci responsible for natural variation in fruit size and shape in tomato. *Theor Appl Genet* **99**, 978-987
- (11) GUR A., ZAMIR D., 2004. – Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding. *PLOS Biology* **2**, 1610-1615
- (12) LIN T., ZHU G., ZHANG J., XU X., YU Q., ZHENG Z., ZHANG Z., LUN Y., LI S., WANG X., HUANG Z., LI J., ZHANG CI., WANG T., ZHANG Y., WANG A., ZHANG Y., LIN K., LI C., XIONG G., XUE Y., MAZZUCATO A., CAUSSE M., FEI Z., GIOVANNONI J.J., CHETELAT R.T., ZAMIR D., STÄDLER T., LI J., YE Z., DU Y. & HUANG S., – 2014. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature Genetics* **46**, 1220-1226
- (13) PATERSON A.H., DAMON S., HEWITT J.D., ZAMIR D., RABINOWITCH H.D., LINCOLN S.E., LANDER E.S., TANKSLEY S.D., 1991. – Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations, and environments. *Genetics* **127**, 181-197
- (14) PATERSON A.H., DE VERNA J.W., LANINI B. and TANKSLEY S.D., 1990. – Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes, in an interspecies cross of tomato. *Genetics* **124**, 735–742

-
- (15) QUENOUILLE J., PAULHIAC E., MOURY B. and PALLOIX A., 2014. – Quantitative trait loci from the host genetic background modulate the durability of a resistance gene: a rational basis for sustainable resistance breeding in plants. *Heredity* **112**, 579–587
- (16) CARDI T., 2016. – Cisgenesis and genome editing: combining concepts and efforts for a smarter use of genetic resources in crop breeding. *Plant Breeding* doi:10.1111/pbr.12345
- (17) LABATE J-A., GRANDILLO S., FULTON T., MUÑOS S., CAICEDO A-L., PERALTA I., Y JI, CHETELAT R-T., SCOTT J-W., GONZALO M-J., FRANCIS D., YANG W., VAN DER KNAAP E., AM BALDO, B SMITH-WHITE, LA MUELLER, JP PRINCE, NE BLANCHARD, DB STOREY, STEVENS M-R., ROBBINS M-D., FEN WANG J., LIEDL B-E., O’CONNELL M-A., STOMMEL J-R., AOKI K., IJIMA Y., SLADE A-J., HURST S-R., LOEFFLER D., STEINE M-N., VAFEADOS D., MCGUIRE C., FREEMAN C., AMEN A., GOODSTAL J., FACCIOTTI D., VAN ECK J., CAUSSE M., – 2007. 1 Tomato. In “Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants”, Volume 5, Vegetables, C. Kole (Ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 11-135.
- (18) RODRÍGUEZ G-R., MUÑOS S., ANDERSON C., SIM S-C., MICHEL A., CAUSSE M., MCSPADDEN GARDENER B-B., FRANCIS D., AND VAN DER KNAAP E., 2011. – Distribution of SUN, OVATE, LC, and FAS Alleles in Tomato Germplasm and their Effect on Fruit Morphology. *Plant Physiol* **156**,275-285.
- (19) SAUVAGE C., SEGURA V., BAUCHET G., STEVENS R., DO P-T., NIKOLOSKI Z., FERNIE A-R. and CAUSSE M., 2014. – Genome Wide Association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. *Plant Physiology* **165**, 1120–1132.
- (20) TANKSLEY S-D., GANAL M-W., PRINCE J-P., DE VICENTE M-C., BONIERBALE M-W., BROUN P., FULTON T-M., GIOVANNONI J-J., GRANDILLO S., MARTIN G-B., MESSEGUER R., MILLER J-C., MILLER L., PATERSON A-H., PINEDA O., RÖDER M-S., WING R-A., WU W., YOUNG N-D., 1992. – High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics* **132**, 1141-1160.
- (21) TANKSLEY S-D., – 2004. The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *Plant Cell* **16**, S181-S189.
- (22) THABUIS A., PALLOIX A., PFLIEGER S., DAUBEZE A-M., CARANTA C. and LEFEBVRE V., 2003. – Comparative mapping of *Phytophthora* resistance loci in pepper germplasm: evidence for conserved resistance loci across Solanaceae and for a large genetic diversity. *Theor. Appl. Genet.* **106**, 1473-1485.
- (23) The Tomato Genome Consortium. 2012. – The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature* **485**, 635–641.