

Perspectives offertes par la voie de la génomique

Serge DELROT (Université de Poitiers)

L'exposé développe les applications potentielles des recherches actuelles en génomique (applications à long terme) et transcriptomiques (applications à court terme). Les travaux actuellement en cours ont pour objectifs de limiter la sensibilité de la plante et d'augmenter les moyens de défense.

L'enjeu est d'identifier des défenses et marqueurs de stress.

La génomique est l'étude des génomes (l'ensemble des gènes d'une plante), plus précisément des régions intergéniques, des transcripteurs, et des protéines responsables du phénotype des plantes. Les sujets d'études sont très complexes, car ils débutent dès l'interaction classique de la plante et du champignon. En effet, les réactions de défense mettent en jeu toute une série de gènes.

L'hypothèse du « gène endogène » est utilisée pour expliquer les interactions entre la plante et les pathogènes. Deux types de gènes sont en jeu :

- le gène typique de la plante : qui est celui de la résistance
- le gène typique du champignon : le gène de la virulence.

Démarche

Des gènes de résistance ont été clonés sur les monocotylédones et dicotylédones, classés en six familles, dont quatre comportent des domaines **e-sin-which-repeat** ???, et des séquences de 24 acides aminés susceptibles d'interagir avec la poche hydrophobe et certaines protéines.

A côté de ces séquences LLR, des séquences NPR fixent les nucléotides. Toute une série de gènes peut ainsi être impliquée dans la résistance.

Chez la vigne, ces gènes commencent à être connus.

Les gènes de résistance sont organisés de différentes façons selon les plantes étudiées : des locites complexes où il y a côte à côte plusieurs gènes de résistance (comme chez la tomate et le lin). On distingue des locites simples (un gène, qui se présente sous plusieurs formes alléliques), et d'autres pouvant avoir aussi deux allèles. Quelques fois même, le gène est présent ou absent selon le génotype considéré.

Pour accéder à ces gènes de résistance, il faut cloner des gènes déjà connus (notamment ceux impliqués dans l'interaction plante-champignon par exemple), et séquencer le génome de la vigne. Cette dernière opération est actuellement en cours ; sur le cabernet sauvignon, sous l'égide du International Grape Genom, dont la représentante française est Anne-Françoise Adam-Blondon du laboratoire de génomique végétale d'Evry.

Pour séquencer un chromosome présentant environ 100 millions de paires de bases, il est nécessaire de la fragmenter, puis de l'insérer dans des objets biologiques (de type chromosomes artificiels, de levure, ou chromosomes bactérien) qui pourront être répliqués et transférés dans d'autres laboratoires.

Chacun des bacs contient 150 KB du génome environ. Sous l'effet du séquençage des extrémités des bacs, des possibilités de séquençage vont être trouvées dans le but de reconstituer la séquence complète du chromosome.

Travaux en cours et perspectives

Les gènes de résistance sont facilement identifiés sur les bacs, ce qui permet de suivre sa position sur les chromosomes. Ce phénomène a été observé par l'URGV, qui a construit le bac de référence au niveau mondial. Une banque de bacs correspond à 45000 bacs pour la vigne, et couvre près de 18 fois le génome. Le génome de la vigne sera séquencé fin 2006.

Beaucoup de laboratoires se sont mobilisés, et de nombreux financements ont été trouvés (hors France). Les travaux sur le séquençage du génome de la vigne seront très utiles pour la compréhension de la vigne, la manipulation du génome, et les pratiques culturales en général.

L'IGPP s'est fixé plusieurs objectifs, dont le principal reste celui de la réduction des intrants. Les travaux sont menés à long terme. Une seconde approche a donc été privilégiée en parallèle, qui vise à étudier la régulation de l'expression du génome. Les travaux sont en cours avec les laboratoires de Montpellier et Bordeaux, avec le soutien de Genoplant.

Des résultats apparaissent aujourd'hui :

3200 unigènes ont été identifiés (sur 15000 EST transcrits exprimés dans la grappe de raisin), et ont permis de fabriquer une première génération de microarrays. Les laboratoires ont choisi comme condition d'étude la maturation.

La configuration expérimentale combine un témoin et un traité : les ARN messagers du témoin sont marqués par un marqueur fluorescent, et les marqueurs du traitement sont d'une autre couleur. Les ARN messagers de l'un et de l'autre sont hybridés avec des morceaux d'ADN : il en ressort la possibilité de faire des rapports de fluorescence et de conclure si un gène est induit ou exprimé dans les conditions données.

On conclut que très peu de gènes sont infectés par botrytis sur le chardonnay. C'est certainement pour cela que la maladie peut s'y développer. Il conviendrait dès lors de lancer des expérimentations sur d'autres cépages plus résistants.

Une seconde génération de microarrays sera très rapidement disponible : les deux lames contiendront chacune 15000 gènes.

En conclusion, les aspects génomiques et transcriptomiques sont en plein développement : il font notamment l'objet d'un programme COST (858) comprenant 5 groupes de travail : écophysiologie, transcriptomique, maturation, stress biotique, génomique. 12 pays et 66 partenaires sont impliqués. La prochaine réunion de travail aura lieu le 30 avril et le 1^{er} mai à **Ascoma** (Alpes Suisse).