

---

**OBJECTIFS ET STRATEGIES POUR L'AMELIORATION  
GENETIQUE CHEZ LES ESPECES FRUITIERES**

**OBIECTIVE ŞI STRATEGII ÎN AMELIORAREA GENETICĂ A  
SPECIILOR POMICOLE**

FRANCOISE DOSBA\*

**SUMMARY**

Fruit growing has been in constant evolution for many years and particularly during the last century. The concept of productivity has been replaced by sustainable agriculture, integrated pest management, biological control products quality. These new objectives for fruit production are also translated in new objectives for genetic breeding programmes. The main strategies are focused on the elaboration of polygenic and multiple resistances the accumulation of complex and favourable characters based on precise phenotypic descriptions of the agronomical characters, and markers assisted selection.

The genetic diversity is explored, either inside the cultivated species or outside, and the genetic variability of the pathogens are also taken into account. Different examples of the use of new biotechnologies are presented and discussed : interspecific hybridization, somaclonal variation, genetic engineering. The last ten years were those of the huge developpement of fruit genomic, in order to have access to the expression of the genes involved in the main characters of the cultivated plants.

This evolution is causing an important evolution of the agronomical research at the world level, such as concentrations of teams, elaborations of international projects and organisation research of nets.

De tout temps, les hommes ont connu une réelle fascination pour les arbres fruitiers. Produire des fruits de qualité d'un aspect sanitaire irréprochable a toujours fait l'objet de nombreuses études et recommandations. Au 18e siècle, on se contentait d'apporter un fumier organique ou d'éliminer les branches ou les racines malades.

Cette approche agronomique s'est peu à peu rationalisée pour faire place au 20 ème siècle à une arboriculture intensive s'appuyant sur l'apport de fumures minérales importantes et la réalisation de traitements pesticides garantissant une couverture totale sur le plan sanitaire. Au cours de cette même période, des travaux de recherche fort nombreux et importants ont été conduits en amélioration génétique des espèces fruitières. Outre l'innovation vanétale et la qualité des fruits les objectifs de résistance aux parasites majeurs sont apparus de manière plus affirmée.

---

\* Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier – France

Dans ce contexte nouveau d'élaboration de fruits de bonne qualité sanitaire et alimentaire, et de respect de l'environnement, la nécessité d'une maîtrise génétique des relations entre les espèces fruitières et leurs bio agresseurs est clairement affichée.

Depuis une quinzaine d'années l'arboriculture fruitière a opéré une évolution notable pour une production raisonnée voire écologique où les intrants sont limités et appliqués après élaboration d'une véritable stratégie de gestion du verger.

Les récentes avancées de la recherche en biologie végétale permettent depuis quelques années de revoir complètement les objectifs et les stratégies à mettre en œuvre en s'appuyant sur une véritable démarche scientifique. C'est surtout dans le domaine de la résistance aux parasites que les évolutions des programmes d'amélioration génétique sont les plus notables. Ils combinent le plus souvent biotechnologies et approches conventionnelles.

#### **Les objectifs actuels doivent répondre aux besoins de l'arboriculture fruitière**

Jusqu'à présent les mécanismes génétiques utilisés pour élaborer des cultivars résistants ont été fondés sur des gènes majeurs, et le plus souvent dominants. Un des exemples le plus significatif est le gène Vf de résistance à la tavelure (*Venturia inaequalis*) provenant de *Malus floribunda* 821 dont la résistance a été contournée par la race 6.

D'autres gènes majeurs de résistance sont connus également mais dans la plupart des programmes d'amélioration génétique on a peu utilisé la variabilité des gènes de résistance pour faire face à la variabilité de *Venturia inaequalis* et c'est essentiellement le gène Vf qui a été utilisé (Parisi et Lespinasse, 1999). Un des objectifs essentiels maintenant est donc de trouver des sources polygéniques de résistance de manière à obtenir des résistances durables aux agents pathogènes.

Chez une espèce fruitière déterminée, plusieurs bioagresseurs majeurs peuvent exister simultanément. Trouver une solution génétique pour l'un d'entre eux sans en apporter pour un second tout aussi important n'est pas très satisfaisant. Les sources de résistance pouvant être diverses il convient alors de rechercher des géniteurs apportant des sources de résistance à plusieurs parasite(s) et / ou ravageur(s) ou de trouver des méthodes de sélection faisant appel à des plans de croisements complexes pour satisfaire ce deuxième objectif de multirésistance (Fischer et Richter, 1996).

Outre la confrontation entre la variabilité de l'hôte et du pathogène, ce qui est déjà complexe à appréhender, il apparaît de plus en plus impératif de ne pas occulter les interactions entre les variétés et les porte-greffe d'une part, entre le scion et le milieu d'autre part. Tout programme d'amélioration génétique devrait donc être conduit en intégrant au moins dans sa phase finale la caractérisation des interactions multiples entre le bioagresseur, les génotypes (variété et porte-greffe) et le milieu.

Enfin, mais c'est un objectif évident qu'il faut rappeler, un programme d'amélioration génétique pour la résistance ne peut se concevoir sans l'objectif de la combinaison des résistances génétiques à d'autres caractères, en particulier de comportement agronomique et de qualité des produits.

#### **Les nouvelles stratégies mises en œuvre laissent espérer des résultats performants**

La première stratégie à mettre en œuvre tourne autour d'une évaluation rigoureuse et précise du comportement vis à vis d'un bioagresseur. Des tests précoces de sélection doivent être mis en œuvre (King *et al* 1997 ; Kervella *et al*, 1998, Urbanietz *et al* 1999), et des sources diversifiées de résistance doivent être utilisées (Fischer et Fischer, 1999 ; Pierronnet et Salesses, 1997).

De même la caractérisation du type de résistance peut être précisée (Hartmann, 1998), ainsi que la valeur générale et les caractéristiques spécifiques d'un géniteur (Gradziel *et al*, 1998)

Après une phase assez empirique de sélection procédant par sélection clonale ou par sélection à partir de croisements contrôlés ou de semis de hasard, la nécessité de mieux connaître le déterminisme génétique et l'héritabilité des caractères est de plus en plus clairement affichée. Des descendances conséquentes de croisements divers entre des clones choisis, et confrontées à la variabilité d'un agent pathogène (plusieurs souches étudiées), permettent de préciser l'hérédité de la résistance à la tavelure chez le pommier (Bagnara *et al*, 1996), à la Sharka chez l'abricotier (Dicenta et Andergon 1998).

L'élargissement de la base de la diversité génétique a été et est toujours largement utilisé pour l'amélioration génétique des porte-greffe, (Lang *et al*, 1997 ; Bartish et Weeden, 1999), mais aussi des variétés, soit en vue de réaliser un programme d'introgession par rétrocroisements, soit en vue de créer de nouveaux fruits (Givondov et Pashkoulov, 1998). Mais bien souvent, hormis pour les porte-greffe où les exemples de succès sont nombreux, l'introgession d'un caractère est mal maîtrisée, ou est trop longue et difficile à réaliser.

Les nouvelles technologies de biologie cellulaire sont à cet effet des stratégies prometteuses pour l'avenir. La variation somaclonale, qui consiste à induire et sélectionner des variants par le simple processus de multiplication *in vitro* en exerçant une pression de sélection, a donné quelques résultats encourageants (Hammerschlag *et al*, 1995 ; Chevreau *et al*, 1998).

Des types cellulaires ou génétiques particuliers comme les protoplastes ou les haploïdes peuvent être aussi intéressants pour brasser de l'information génétique et / ou créer des structures homozygotes difficiles à obtenir chez les arbres fruitiers.

D'autres approches comme la mutagénèse *in vitro*, l'embryogénèse somatique ou l'évaluation *in vitro* des génotypes vis à vis des agents pathogènes sont aussi des outils indispensables pour mieux maîtriser la résistance chez des espèces aussi diverses que l'olivier, le pommier ou les *Prunus* (Rugini *et al*, 1999 ; Masuda et Yoshioka, 1998 ; Lansac *et al*, 1998).

Les espoirs les plus prometteurs mais aussi les interrogations les plus grandes sont liées actuellement aux stratégies d'amélioration mettant en jeu la transgénèse. D'abord, elle a été réalisée sur des tissus juvéniles, et donc ne correspondant pas à un génotype déterminé (Ravelonandro *et al*, 1993, Camara Machado *et al*, 1995) et faisant appel à des gènes viraux codant pour une protéine de capsid, (Scorza *et al* , 1995) ou à des gènes codant pour des protéines lytiques de bactéries ou des lysozymes, (Norelli *et al*, 1999).

Des transformations sur des tissus adultes de génotypes correspondant à des cultivars d'intérêt agronomique ont été maintenant réussies (Chevreau, 1998 ; Ravelonandro *et al*, 1998). L'expression des gènes a été vérifiée, la transmission à la descendance par reproduction sexuée a été réalisée et les mécanismes de la résistance induite ont été analysés (Ravelonandro, 1997 ; Ravelonandro *et al*, 1998).

Cependant l'évaluation des risques liés à l'utilisation de gènes exogènes est loin d'être connue. Il semble donc que l'on ait maintenant un outil extraordinaire pour aborder les aspects résistance conjugués à l'approche moléculaire du génome ; des stratégies efficaces se mettent progressivement en place.

La biologie moléculaire permet tout d'abord d'analyser la diversité génétique en vue d'orienter, par exemple la recherche de géniteurs de résistance (Badenes *et al*, 1996). Le développement de cartes génétiques pour les principales espèces fruitières a constitué

une première étape pour rechercher des marqueurs moléculaires associés à ou plusieurs gène(s) de résistance (Dirlewanger *et al*, 1996 ; Quarta *et al*, 1998 ; Urbanietz *et al*, 1999).

Le développement de nouveaux marqueurs comme les SCAR (Séquence Characterized Amplified Regions) a facilité l'établissement de cartes finement détaillées dans le voisinage du gène de résistance Vf (Tartarini *et al*, 1999), tandis que la technique B S A (Bulk Segregant Analysis) a permis d'identifier un fragment d'ADN lié au gène Vm, et, à partir de son séquençage, d'identifier des amorces spécifiques pour produire un marqueur S T S du gène (Cheng *et al*, 1998).

Ces quelques exemples montrent la puissance des marqueurs moléculaires développés actuellement et leur intérêt pour sélectionner dans des populations hybrides les individus possédant des gènes de résistance.

Si l'accès au gène lui-même n'est pas encore effectif, on peut imaginer que très rapidement avec les progrès spectaculaires de la génomique, cela deviendra possible. Il n'en reste pas moins que l'art du sélectionneur demeure nécessaire et que la conjugaison de la recombinaison et de l'introgession de gènes par différents procédés permettra des gains génétiques plus conséquents et mieux maîtrisés.

Vers une approche plus intégrative de la recherche pour la résistance aux bio-agresseurs

Les perspectives offertes actuellement relèvent de plusieurs évolutions. La première concerne l'évolution et le rapprochement des disciplines scientifiques. La génomique est utile pour accéder au gène mais aussi pour appréhender de manière plus intégrative le fonctionnement des végétaux et leur capacité d'adaptation en fonction du milieu. Finalement le grand défi du 21<sup>e</sup> siècle sera de comprendre et d'expliquer le fonctionnement des arbres fruitiers vis à vis des parasites, en combinant des outils comme la génomique et les modèles probabilistes.

Une autre évolution importante concerne l'organisation de la recherche. Les laboratoires dans le monde travaillant sur un programme d'amélioration pour la résistance aux parasites chez les espèces fruitières sont bien identifiés (Laurens, 1999 ; WCHR, 1998). La concentration des compétences s'effectue au niveau de chaque pays dans des laboratoires où les spécialistes de différentes disciplines sont rassemblés pour une approche scientifique plus globalisante.

Cette organisation se traduit aussi au niveau européen. Les projets de l'Union Européenne permettent ainsi de fédérer les efforts sur de lourds projets comme par exemple la carte européenne du pommier (Maliepaard *et al*, 1999), la dissection génétique des mécanismes de résistance aux pathogènes du pommier et de leur variabilité (Durel *et al*, 1999).

En définitive, les évolutions de ces dernières années sont considérables tant au niveau des méthodologies scientifiques que de l'organisation de la recherche au niveau national et international. On peut donc penser que les efforts portés sur des espèces modèles comme *Arabidopsis thaliana* pourront s'appliquer à d'autres espèces, alimenter les nouvelles stratégies à mettre en œuvre, et favoriser le développement des compétences nécessaires à une approche scientifique plus globale.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. PARISI L. et LESPINASSE Y. (1999). *Pathogenicity of a strain of Venturia inaequalis race 6 on apple clones (Malus spp)*. Acta Horticulturae 443-447.
2. FISCHER C. et RICHTER K. (1996). *Breeding for fire blight resistance with in a multiple resistance breeding programme in apples*. Acta Horticulturae, 375-381.

3. BAGNARA G. L., RIVALTA L., LAGHI M. et QUARTA R. (1996). *Evaluation of fire blight resistance in pear : combining ability and breeding strategy*. Acta Horticulturae. 383-392.
4. DICENTA F. et AUDERGON J.M. (1998). *Inheritance of resistance to plum pox potyvirus (PPV) in 'Stella' apricot seedlings*. Plant Breeding 117, 579-581.
5. KING G.J., ALSTON F.H., BROWN L.M., CHEVREAU E., EVANS K. M., DUNEMANN F., JANSE JI., LAURENS F., LYNN J.R., MALIEPAARD C., MANGANARIS A.G., ROCHE P., SCHMIDT H., TARTARINI S., VERHAEGH J. et VRIELINK R. (1997). *Multiple field and glasshouse assessments increase the reliability of linkage mapping of the Vf source of scab resistance in apple*. Theoretical et Applied Genetics 96, 699-708 .
6. KERVELLA J., PASCAL T., PFEIFFER F. et DIRLEWANGER E. (1998). *Breeding for multiresistance in peach tree*. Acta Horticulturae, 177-184.
7. URBANIETZ A., SCHMIDT H. et DUNEMANN F. (1999). *Molecular markers in early seedling tests for scab and mildew in apples*. Acta Horticulturae, 429-434.
8. FISCHER M. et FISCHER C. (1999). *Evaluation of Malus species and cultivars at the Fruit Genebank Dresden-Pillnitz and its use for apple resistance breeding*. Genetic Resources & Crop Evolution 46, 235-241.
9. GRADZIEL T.M, THORPE M.A., BOSTOCK R.M. et WILCOX S. (1998). *Breeding for brown rot (Monilinia fructicola) resistance in clingstone peach with emphasis on the rôle of fruit phenolics*. Acta Horticulturae, 161-170.
10. LANG G., HOWELL W., OPHARDT D. et MINK G. (1997) *Biotic and abiotic stress responses of interspecific hybrid cherry rootstocks*. Acta Horticulturae. 217-224.
11. BARTISH I. V. et WEEDEN N.F. (1999). *The use of interspecific crosses in Malus to map the genes of characters important for apple rootstock breeding*. Acta Horticulturae, 319-323.
12. GIVONDOV A. et PASHKOULOV D. (1998). *Results of interspecific hybridization in Prunus genus*. Bulgarian Journal of Agricultural Science 4, 447-451.
13. HAMMERSCHLAG F.A., RITCHIE D., WERNER D., HASHMI G., KRUSBERG L., MEYER R. et HUETTEL R. (1995). *In vitro selection of disease resistance in fruit trees*. Acta Horticulturae, 19-26.
14. CHEVREAU E., BRISSET M.N., PAULIN J.P. et JAMES D.J. (1998) *Fire blight resistance and genetic trueness-to-type of four somaclonal variants from the apple cultivar Greensleeves*. Euphytica 104, 199-205.
15. RUGINI E., GUTIERREZ-PESCE P., SPAMPINATO P.L., CIARMIELLO A. et D'AMBROSIO C. (1999). *New perspective for biotechnologies in olive breeding : morphogenesis, in vitro selection and gene transformation*. Acta Horticulturae, 107-110.
16. LANSAC M., CHALAK L., CARDONA B., SORBREI A., BODIN-FERRI M., DOSBA F., LABONNE G., QUIOT L., and QUIOT JB., 1998. *In vitro inoculation of Prunus species with plum pox potyvirus* . Acta Horticulturae 472, 2, 455-461.
17. MASUDA T. et YOSHIOKA T. (1998). *In vitro selection of a mutant resistant to Alternaria blotch disease in 'Indo' apples*. Technical News Institute of Radiation Breeding. Institute of Radiation Breeding, NIAR, MAFF, Naka gun, Japan.
18. RAVELONANDRO M., BACHELIER J., DUNEZ J., SCORZA R., CALLAHAN A., CORDTS J. et GONSALVES D. (1993). *Genetic engineering plum pox virus coat protein gene in plants*. Acta Horticulturae, 327-330.
19. CAMARA MACHADO A. d., KNAPP E., PUHRINGER H., HANZER V., WEISS H., KATINGER H. et CAMARA MACHADO M.L. d. (1995). *The approach of*

pathogen-mediated resistance breeding against plum pox virus in stone fruit trees. *Rasteniiev' Dni Nauki* **32**, 28-32.

20. SCORZA R., LEVY L., DAMSTEEGT V., YEPES L. M., CORDTS J., HADIDI A., SLIGHTOM J. et GONSALVES D. (1995). *Transformation of plum with the papaya ringspot virus coat protein gene and reaction of transgenic plants to plum pox virus*. Journal of the American Society for Horticultural Science **120**, 943-952.

21. NORELLI J. L., MILLS J.Z., JENSEN L. A., MOMOL M. T. et ALDWINCKLE H. S. (1999). *Genetic engineering of apple for increased resistance to fireblight*. Acta Horticulturae, 541-546.

22. CHEVREAU E. (1998). *Apple and pear biotechnology at INRA Angers. Tree biotechnology : towards the millennium*. Nottingham University Press, Nottingham, UK.

23. RAVELONANDRO M., SCORZA R., BACHELIER J.C., LABONNE G., LEVY L., DAMSTEEGT V., CALLAHAN A. M. et DUNEZ J. (1997). *Resistance of transgenic Prunus domestica to plum pox virus infection*. Plant disease **81**, 1231-1235.

24. RAVELONANDRO M. (1997). *Plums resistant to sharka disease*. Biofutur, 53-54

25. RAVELONANDRO M., SCORZA R., RENAUD R. et SALESSES G. (1998). *Transgenic plums resistant to plum pox virus infection and preliminary results of cross-hybridization*. Acta Horticulturae, 67-71.

26. BADENES M. L., ASINS M. J., CARBONELL E. A. et LLACER G. (1996). *Genetic diversity in apricot, Prunus armeniaca, aimed at improving resistance to plum pox virus*. Plant Breeding **115**, 133-139.

27. DIRLEWANGER E., PASCAL T., ZUGER C. et KERVELLA J. (1996). *Analysis of molecular markers associated with powdery mildew resistance genes in peach (Prunus persica (L.) Batsch) x Prunus davidiana hybrids*. Theoretical & Applied Genetics **93**, 909-919.

28. QUARTA R., DETTORI M. T., VERDE I., GENTILE A. et BRODA Z. (1998). *Genetic analysis of agronomic traits and genetic linkage mapping in a BCl peach population using RFLPs and RAPDs*; Acta horticulturae, 51-59.

29. TARTARINI S., GIANFRANCESCHI L., SANSAVINI S. et GESSLER C. (1999). *Development of reliable PCR markers for the selection of the Vf gene conferring scab resistance in apple*. Plant Breeding **118**, 183-186.

30. CHENG F. S., WEEDEN N. F., BROWN S. K., ALDWINCKLE H. S., GARDINER S. E. et BUS V. G. (1998). *Development of a DNA marker for Vm, a gene conferring resistance to apple scab*. Genome **41**, 208-214.

31. LAURENS F. (1999). *Review of the current apple breeding programmes in the world : objectives for scion cultivar improvement*. Acta Horticulturae, 163-170.

32. WCHR World Conférence in Horticulture Research – Rome (1998). MALIEPAARD C., ALSTON F., ARKEL G. V., BROWN L., CHEVREAU E., DUNEMANN F., EVANS K., GARDINER S., GUILFORD P., HEUSDEN S. V., JANSE J., LAURENS F., LYNN J., MANGANARIS S., NIJS T. D., PERIAM N., RIKKERINK E., ROCHE P., RYDER C., SANSAVINI S., SCHMIDT H., TARTARINI S., VERHAEGH J., VRIELINK R. et KING G. (1999). *The European apple map*. Acta Horticulturae, 325-330.

33. DUREL C. E., LESPINASSE Y., CHEVALIER M., CHEVREAU E., NIJS A. P. M. D., DJOUVINO V., DUNEMANN F., EVANS K. M., FISCHER C., GESSLER C., KELLERHALS M., LAURENS F., MANGANARIS A. G., PARISI L., SANSAVINI S., SCHMIDT H., SCHOUTEN H. J. et SCHREIBER H. (1999). *Genetic dissection of apple resistance regarding pathogen variability : co-ordination of European research programmes*. Acta Horticulturae, 435-441.