



BIOLAFFORT

**Sélection de levures œnologiques
pour la fermentation alcoolique.**

**Comment allier phénotype et
génotype pour tirer le meilleur de la
diversité ?**

Joana COULON

Responsable R&D Microbiologie
BIOLAFFORT

SELECTION DE LEVURES

Sélection massale



- ✓ Repose sur le hasard.
- ✓ Une combinaison d'avantages et d'inconvénients.

OPTIMISATION

Utilisation d'une boîte à outils :

- **Phénotypique** : mieux connaître les individus d'un point de vue physiologique.
- **Génotypique** : savoir les déterminants génétiques liés à un trait phénotypique (QTL).

Comment rassembler le meilleur de plusieurs individus ?

⇒ **Hybridation.**

Qu'est ce qu'un QTL?

Quantitative Trait Loci

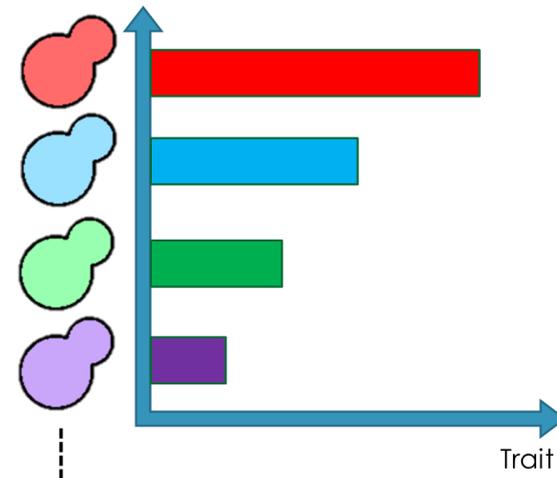
Endroit du génome
relié à une
caractéristique que
l'on peut mesurer
(phénotype).

Analyse du génome



QTL du trait X ?

Trait œnologique X (AV, SO₂, vitesse de fermentation...)



Un QTL peut être :

- Un changement de **paires de bases** (entraînant la modification de l'activité d'une protéine par ex).
- Un **réarrangement chromosomique** (modification de l'expression d'un gène par ex).

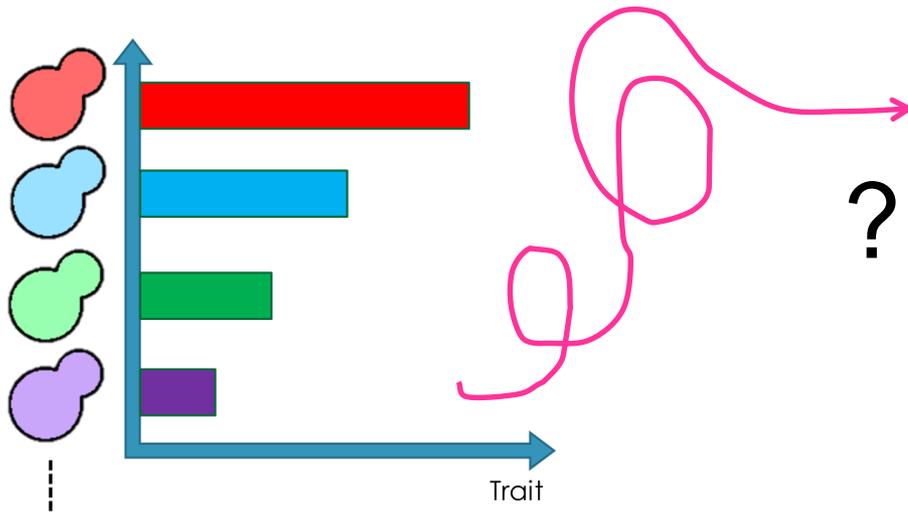
Le travail avec les QTL permet de réaliser de la **sélection assistée par marqueurs (SAM)**.

- Plus facile d'analyser les individus sur leur génotype que sur leur phénotype (pas de variations liés à l'environnement).
- Lors de croisements, permet de retrouver les individus portant les QTLs recherchés de l'un ET l'autre des parents.

BUT :

TROUVER DE NOUVEAUX QTL POUR AUGMENTER LE PÉRIMÈTRE DE LA SAM.

POUR POUVOIR ETENDRE LE PORTEFEUILLE DE QTL.....



```
ATTCTAGCATCCATGTCTACTAG...  
ATTCBAGCATCCATGCCTACTAG...  
ATTCGAGCATGCATGCCTACTTG...  
ATTCBAGCATCCATGTCTACTAG...
```

- ✓ **Génotyper** un grand nombre d'individus (connaître leurs variations génétiques les uns par rapport aux autres).
- ✓ **Phénotyper** un grand nombre d'individus dans différentes conditions œnologiques.

⇒ **Génotype disponible sur 200 descendants de deux croisements.**



94 descendants



95 descendants

- Pouvoir réaliser un **grand nombre de fermentations alcooliques** en même temps (petit volumes).
- **Capacité analytique** importante sur des échantillons de **faible volume**.

⇒ **Mise en œuvre d'une nouvelle méthode de phénotypage en conditions œnologiques.**



10-15 mL



350 fermentations

⇒ **Développement d'analyses enzymatiques à haut débit** (collaboration plateforme métabolomique de UBx).



- ✓ Glucose / Fructose
- ✓ Glycérol
- ✓ Acide Acétique
- ✓ SO₂, Acétaldéhyde, Pyruvate
- ✓ Acide malique

Mise en place d'un plan d'expérience :

Deux croisements de souches œnologiques



94 descendants



95 descendants

1272 fermentations

3 conditions environnementales

2 moûts



Sauvignon Blanc (SB14)



Merlot (M15)

2 niveaux de micro-oxygénation

GM

M15_Sk

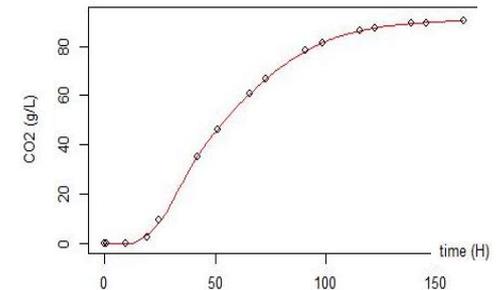
μ-Ox

SB14_Sk

M15

O₂

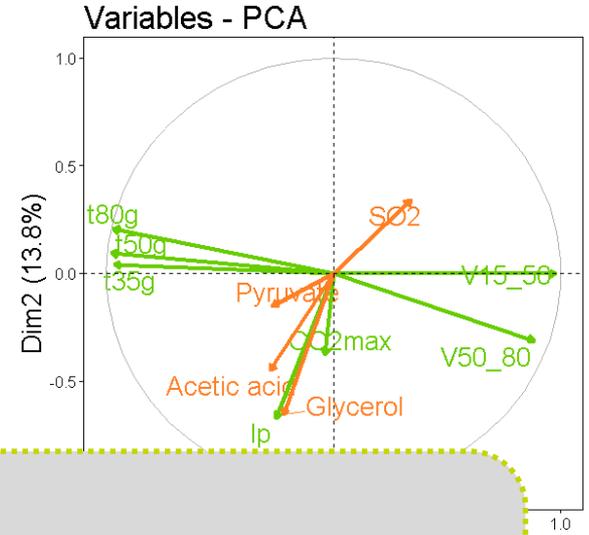
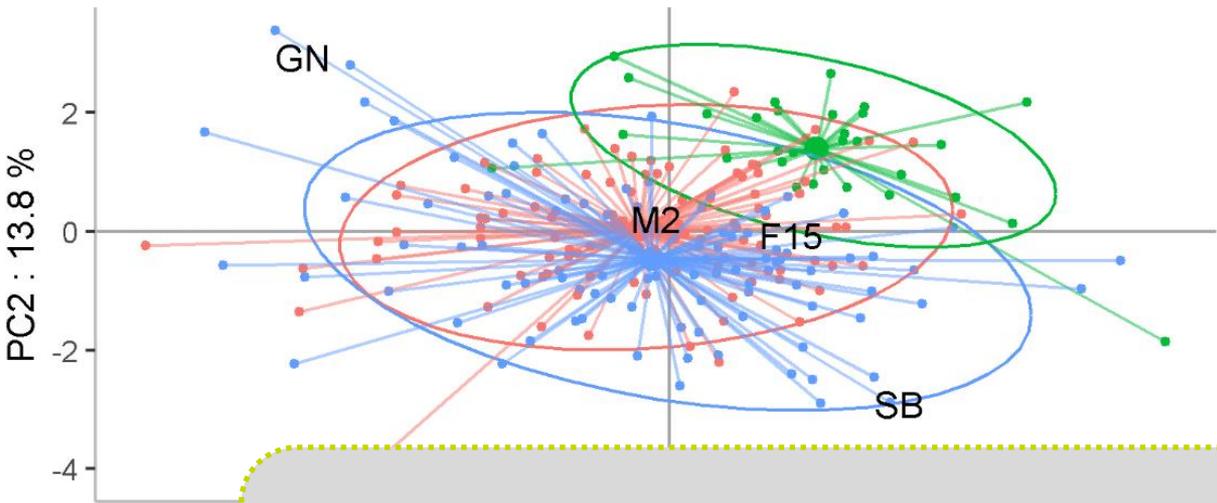
11 phenotypes
(~ 14 000 data points)



6 traits liés à la cinétique de fermentation



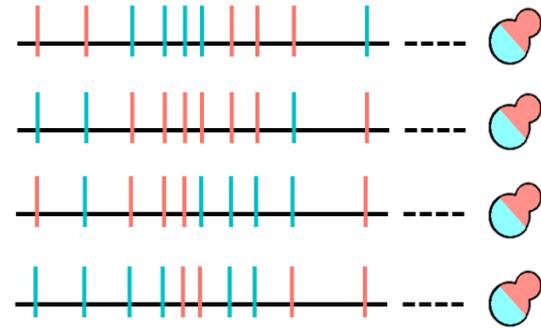
5 concentrations de composés clés en œnologie



Quels sont les QTL impliqués dans cette variabilité ?

Dispersion et variabilité phénotypique

- Souches issues des deux croisements : phénotypes très dispersés.
- **Souches commerciales** : moins dispersées.



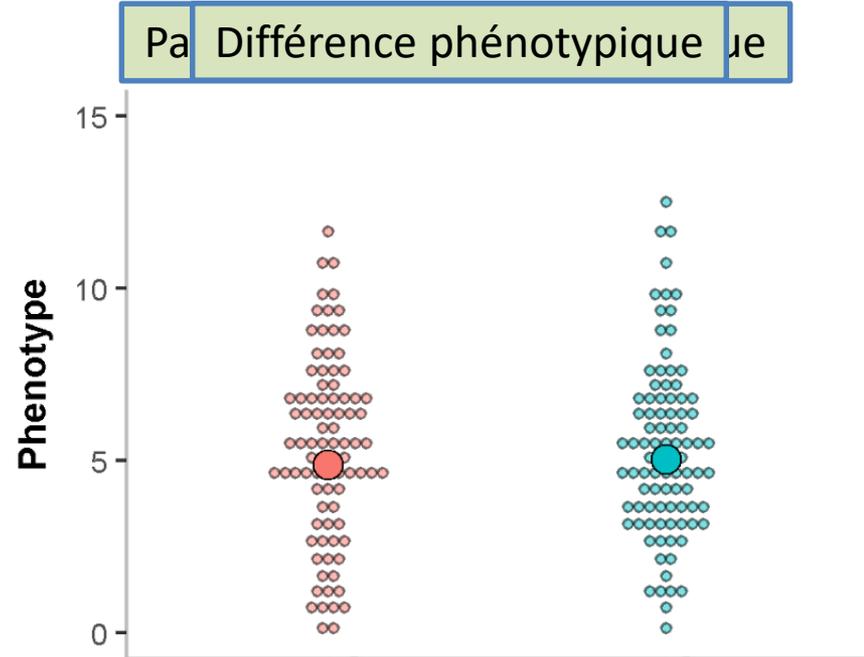
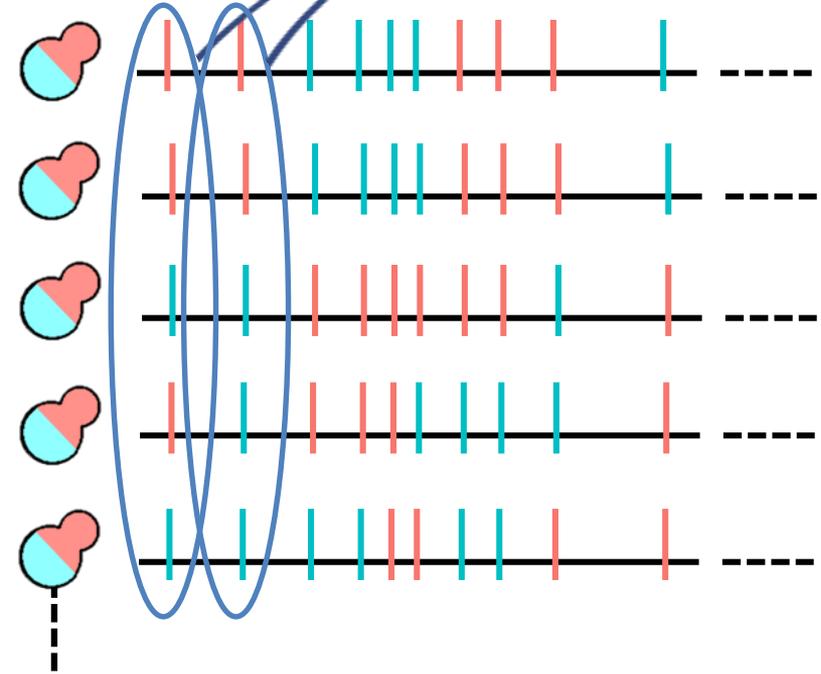
leurs la

meiose, entraînent des variabilités phénotypiques.

⇒ Réserve importante de variation génétique non exploitée, qui surpasse celle des souches commerciales.

Génotypage

Test de liaison par marqueur

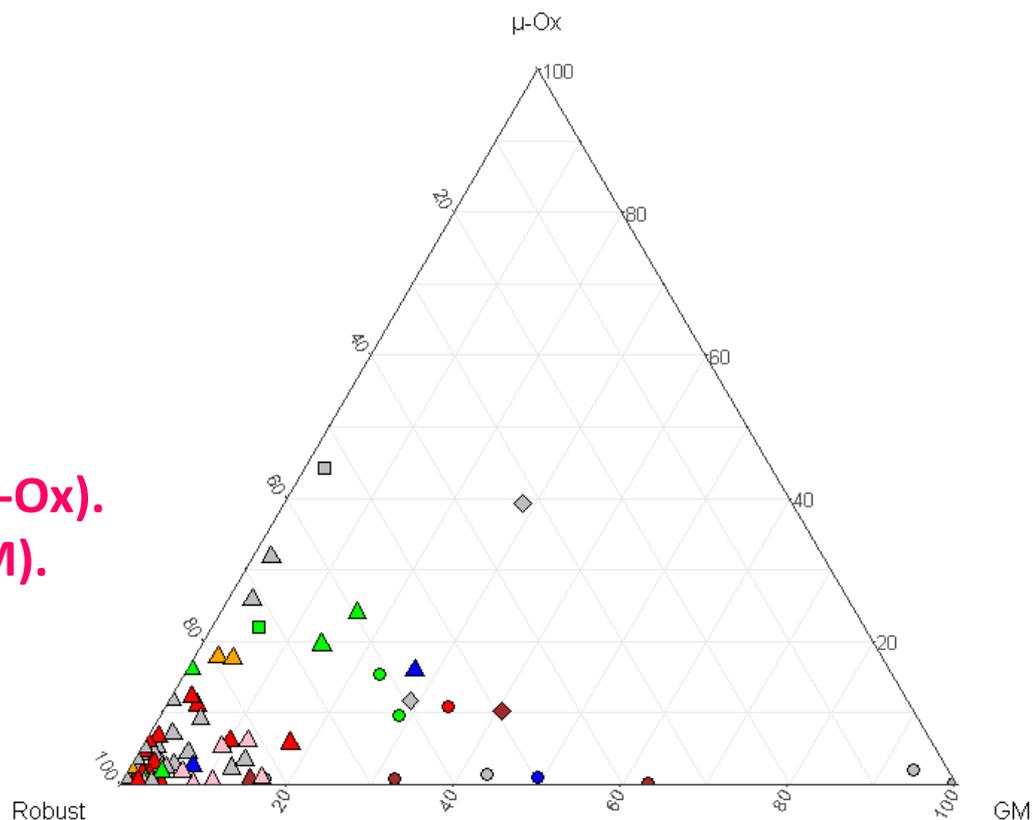


⇒ 77 Quantitative Trait Loci (QTL)

Quel est l'impact de l'environnement sur le phénotype attribué à un QTL ?

Analyse de variance

- ✓ Effet « moût » (Merlot/Sauvignon blanc) (GM).
- ✓ Effet micro-oxygénation (μ -Ox).
- Peu d'effet « micro-oxygénation » (μ -Ox).
- Interaction avec le type de moût (GM).
- 70 % des QTL sont robustes.



14 QTL

12 ANS



	2003-2007	2007-2010	2011-2014	2012-2015
POF	1			
FA	1	2 + 1*		
PDM				4
Agglutination				2
Malique				
Pyruvate				
Glycérol				
SO ₂				
AV	1		1	
Phase de latence	1			

* QTL à confirmer par des analyses moléculaires

	2003	2015	2014-2017
POF			
FA			19*
PDM			
Agglutination			
Malique			4 + 8*
Pyruvate			13* (?)
Glycérol			3*
SO ₂			3 + 2*
AV			12*
Phase de latence	1		1

1. Détection de 77 QTL relatifs à des paramètres œnologiques.

2. 70 % sont robustes à l'environnement.

⇒ Force de frappe de l'analyse à haut débit, tant d'un point de vue « phénotype » que « génotype ».

65 QTL
3 ANS

* QTL à confirmer par des analyses

ET MAINTENANT?

- **Confirmation** des QTL les plus intéressants par des tests moléculaires.
- Intégration dans les projets de **sélection assistée par marqueurs**.
- Construction d'un **parent-donneur universel** (réservoir à QTL).

Merci et bravo à :

Emilien Peltier (doctorant du projet).
Aux stagiaires impliqués dans ce travail....

Philippe Marullo.
Margaux Bernard.

MERCI DE VOTRE ATTENTION !