



**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 ?

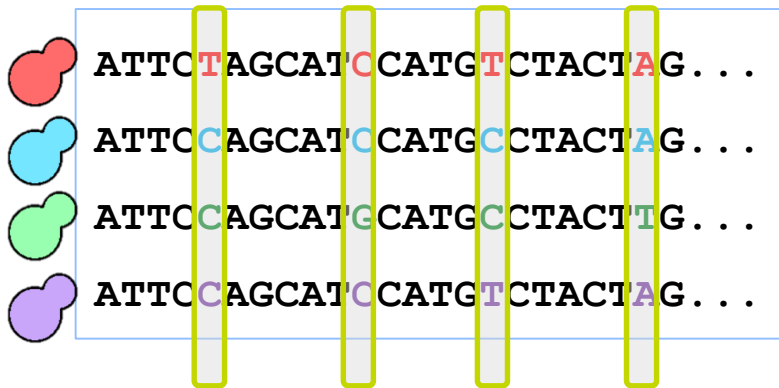
⇒ **Hybridation.**

# Qu'est ce qu'un QTL?

Quantitative Trait Loci

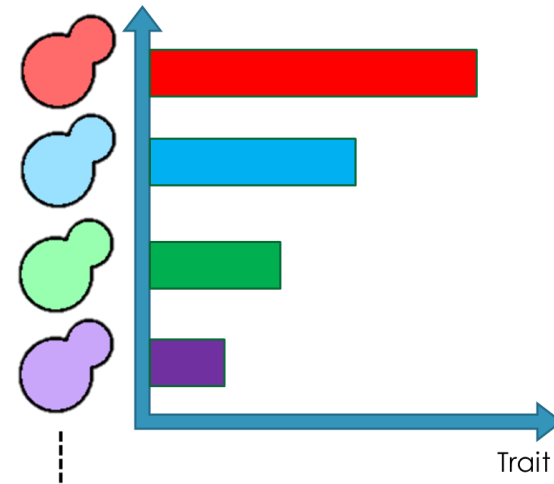
Endroit du génome  
relié à une  
caractéristique que  
l'on peut mesurer  
(phénotype).

## Analyse du génome



QTL du trait X ?

Trait œnologique X (AV, SO<sub>2</sub>,  
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).

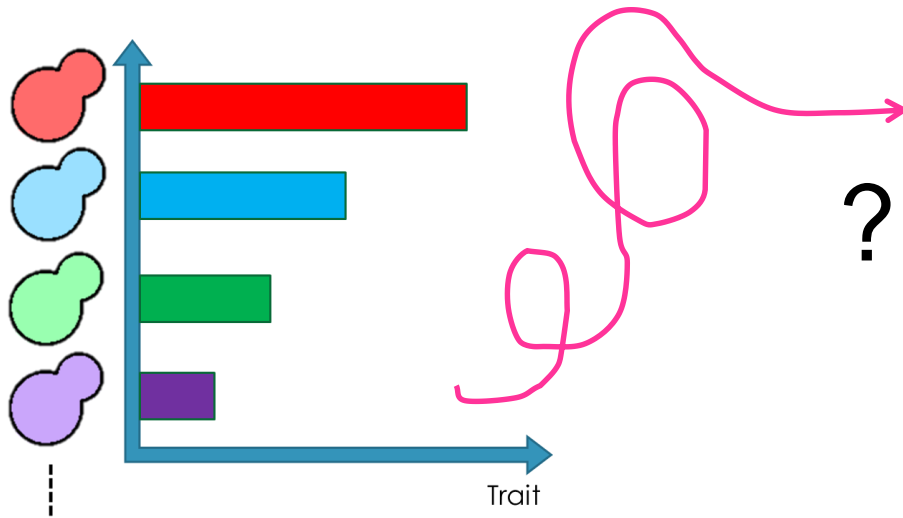
Le travail avec les QTL permet de réaliser de la **sélection assistée par marqueurs (SAM)**.

- 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...

Réunir un  
grand nombre  
d'informations

- ✓ **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.**



- 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
- ✓ SO<sub>2</sub>, 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

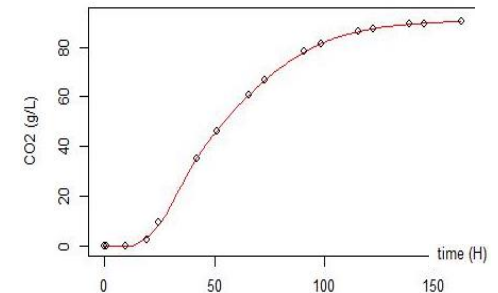
μ-Ox

SB14\_Sk

M15

O<sub>2</sub>

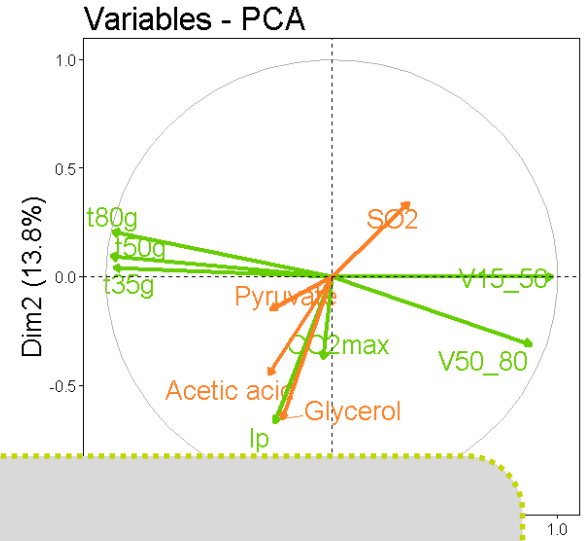
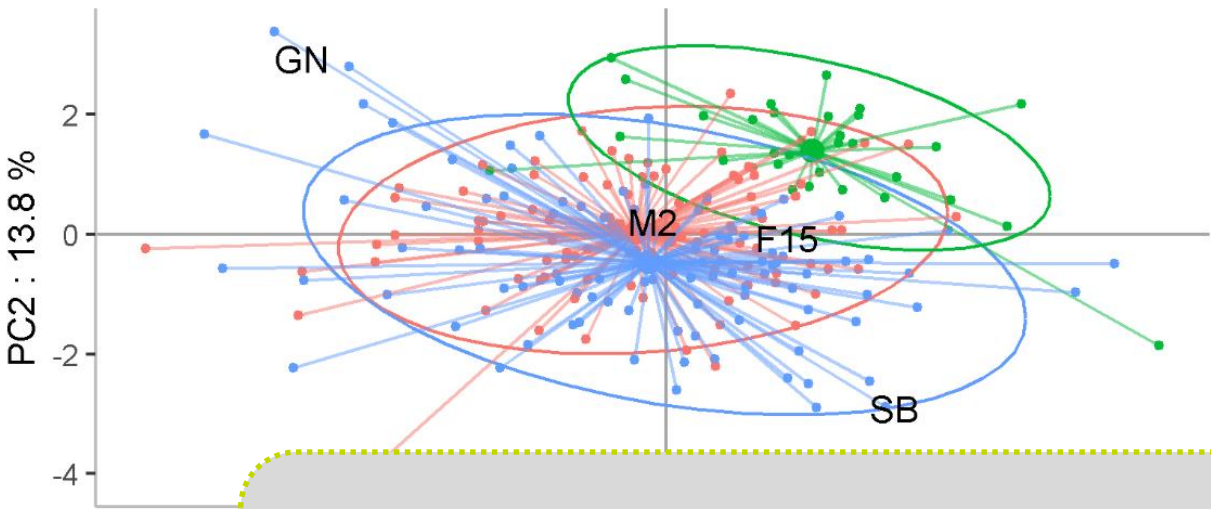
11 phenotypes  
(~ 14 000 data points)



6 traits liés à la cinétique de fermentation



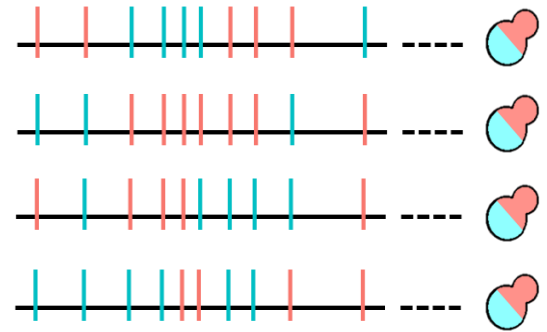
5 concentrations de composés clés en œnologie



## 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

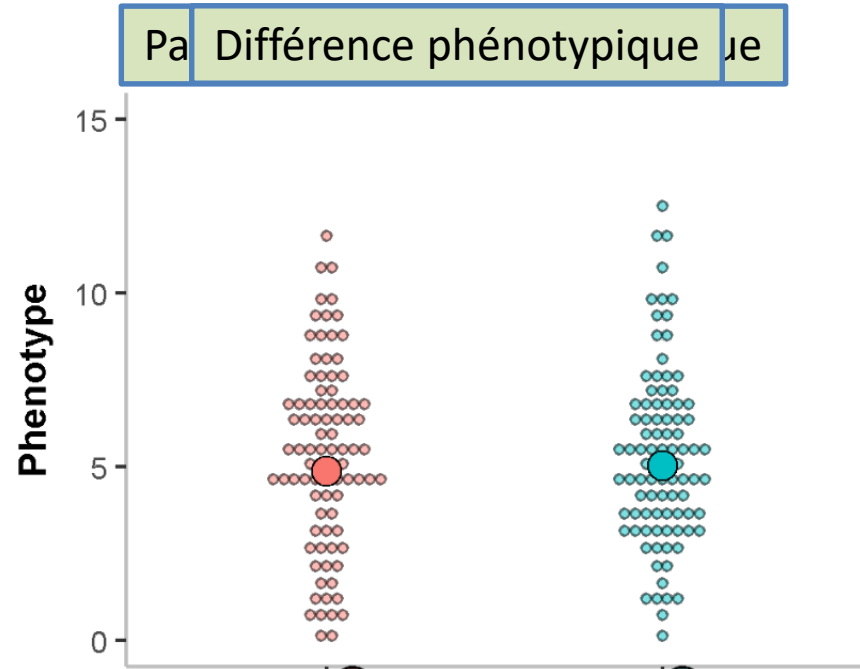
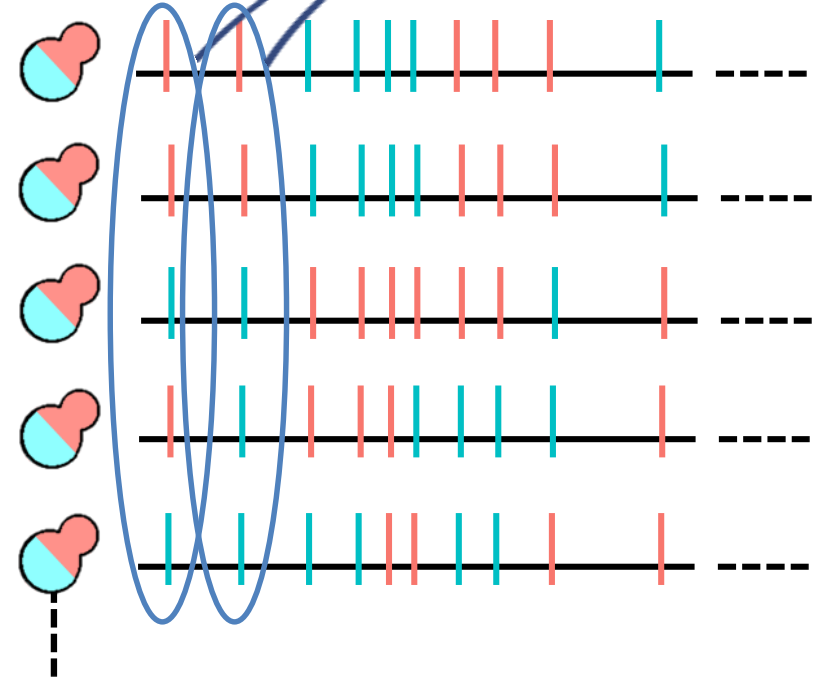
meiose, entraînent des variabilités phénotypiques.

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



Génotypage

Test de liaison par marqueur

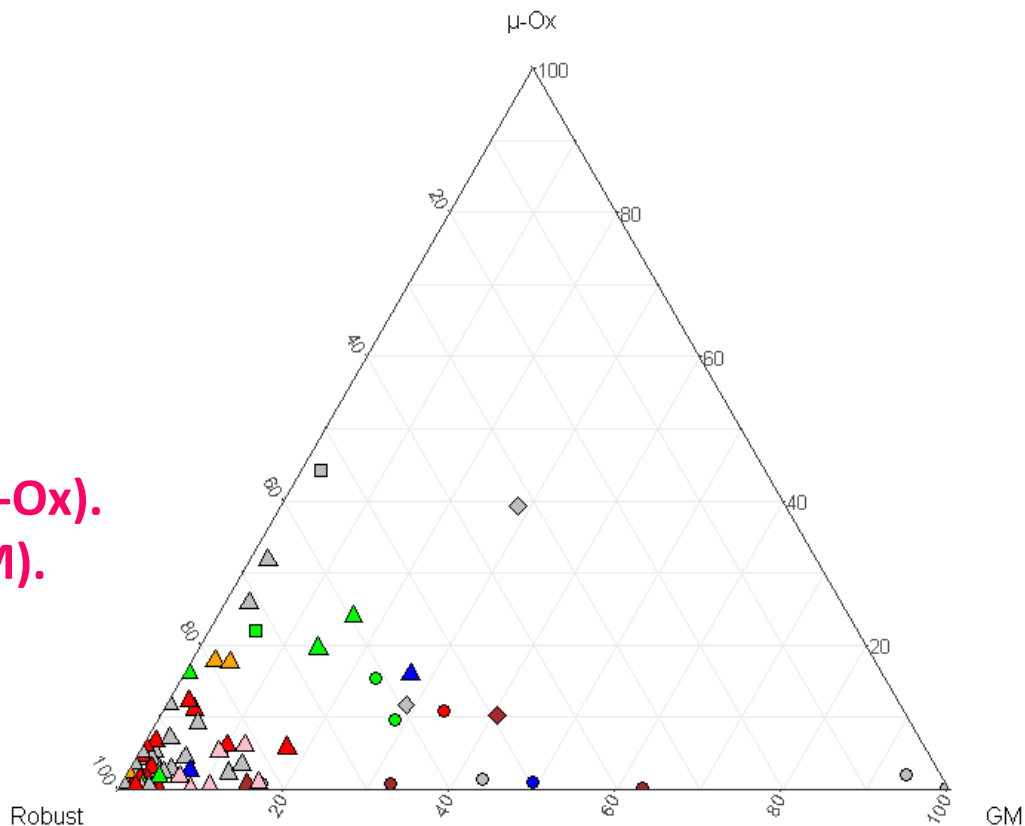


⇒ 77 Quantitative Trait Loci (QTL)

# 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 ( $\mu$ -Ox).
- Peu d'effet « micro-oxygénation » ( $\mu$ -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 <sub>2</sub>				
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 <sub>2</sub>			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 !**