

PROPOSITION D'UN PROJET DE THÈSE A L'ÉCOLE DOCTORALE

« Écologie, Géosciences, Agronomie, ALimentation »

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Titre de la thèse : Etude et caractérisation du microbiote champenois associé à l'altération « arôme champignon frais » ou ACF		
Acronyme : MAGNUM (<u>M</u> icrobiota <u>A</u> CF on <u>G</u> rapes and <u>N</u> atural <u>U</u> seful <u>M</u> icrobiota)		
Champ disciplinaire 1 : Alimentation		
Champ disciplinaire 2 : Ecologie		
Trois mots-clés : microbiote des raisins, arômes de champignons frais, interactions		
Unité d'accueil : LUBEM UR3882		
Nom, prénom du directeur de thèse : COTON Monika Adresse mail : monika.coton@univ-brest.fr Nom, prénom du co-directeur/co-encadrant de thèse 1 (le cas échéant) : PICOT Adeline Adresse mail : adeline.picot@univ-brest.fr Nom, prénom du co-encadrant de thèse 2 (le cas échéant) : PENSEC Flora Adresse mail : flora.pensec@univ-brest.fr		
Financement (origine et montant): 100% CIFRE		
Contact(s) (adresse postale): Laboratoire de Biodiversité et Écologie Microbienne (UR 3882) Parvis Blaise Pascal, Technopole Brest-Iroise, 29280 Plouzané		
Mode de recrutement		
Le mode de recrutement du doctorant dépend de la nature du financement du projet de thèse. Pour identifier le mode de recrutement, veuillez consulter le site web de l'ED EGAAL - <u>cliquez ici</u> . Le projet de thèse ne sera pas publié si cette information est manquante. Concours Autre (précisez): CIFRE		
Dépôt des candidatures avant le 18 juillet Entretien scientifique et technique à partir du 24 juillet – en visioconférence Entretien auprès des ressources humaines de l'entreprise à partir du 3 août – sur site		

Toutes les rubriques de ce document doivent être remplies.

Une fois complété, merci d'enregistrer ce document au format pdf avec le nom suivant :

Nom du Directeur thèse_Unité_Acronyme du sujet_FR.pdf

ED EGAAL - Direction: 65 rue de Saint-Brieuc - CS 84215 - 35042 Rennes Cedex - France

Tél: 02 23 48 52 75 - **Mail**: <u>ed-EGAAL@u-bretagneloire.fr</u> **Site Web**: https://ed-egaal.doctorat-bretagneloire.fr



DESCRIPTION SCIENTIFIQUE DU PROJET DE THÈSE

Contexte socio-économique et scientifique :

Dans un contexte de réchauffement climatique et d'évolution des pratiques culturales, les professionnels de la filière viti-vinicole champenoise constatent une modification de la fréquence, de l'intensité et des conséquences des contaminations fongiques de la vigne. Sur certains millésimes, cette modification du microbiote peut occasionner des défauts organoleptiques qui ne seront détectables qu'après l'élaboration du vin. Depuis une dizaine d'années, il a notamment été constaté une apparition plus fréquente du défaut appelé « arôme de champignon frais ». Ce défaut n'est pas détecté au nez sur grappe et sur moût mais se révèle dans les mois qui suivent la fin des fermentations. Les professionnels intuitent un lien entre des millésimes chauds et humides, un état macroscopique du raisin et l'apparition de ce défaut ACF.

Mais aujourd'hui, aucune étude scientifique ne décrit les caractéristiques et la variabilité du microbiote des raisins champenois qu'ils soient sains ou altérés. L'objectif de ce travail de recherche est donc de caractériser ce microbiote champenois, à la fois dans ses points communs et dans sa diversité, et d'établir son rôle dans l'apparition des arômes ACF sur vin.

Hypothèses et questions scientifiques :

Le vignoble Champenois est un vignoble particulier de par sa position géographique septentrionale. Le raisin croit sous un climat à la fois océanique avec de fort apport en eau et continental avec des températures marquées aux extrêmes. Les trois cépages utilisés sont le Pinot Noir, le Meunier et le Chardonnay. Cette diversité de matière première et la multitude des terroirs dont elle est issue contribuent aux caractéristiques et la typicité des vins obtenus.

En Champagne, comme dans d'autres vignobles, la qualité des vins obtenue repose en grande partie sur les caractéristiques de matière première. Si l'influence des conditions pédo-climatiques est suivie et documentée, en revanche, le microbiote « standard » d'un raisin champenois n'a, à ce jour, jamais été décrit.

Dans ce contexte, le premier objectif visera à identifier et cartographier le microbiote des raisins au cours de leur développement et investiguer si un lien permanent existe entre des parcelles ayant donné des vins ACF et des parcelles témoin. Pour ce faire, des approches complémentaires de métagénétique et culture-dépendante seront employées. Une analyse globale incluant les données récoltées telles que les facteurs pédo-climatiques et les pratiques culturales sera faite afin de comprendre les facteurs pouvant impacter l'écosystème microbien. En parallèle, une approche d'analyse des réseaux de co-occurrence à partir des données métagénétiques sera menée afin de mieux comprendre les interactions entre espèces clés et potentiellement impliquées dans l'apparition du défaut ACF et pour mettre en évidence des espèces ayant un effet « répresseur » sur les espèces fongiques indésirables. Des essais pour démontrer l'effet « répresseur » seront également menés au moyen de tests biologiques sur matrice. Enfin, l'effet des facteurs abiotiques, en lien avec les conditions climatiques, sur la croissance des champignons et le développement des composés volatils associés aux défauts organoleptiques sera étudié par néphélométrie laser haut-débit et dosage biochimique, respectivement. Les modèles d'étude correspondront à une ou des espèces fongiques identifiées au cours de l'étude. Les résultats permettront de déterminer les valeurs cardinales de croissance par modélisation secondaire et pourront renseigner sur les conditions les plus favorables au développement desdits défauts.

Principales étapes de la thèse et démarche :

Tâche 1 : Caractérisation du microbiote des raisins : Cette tâche portera sur l'étude du microbiote champenois par des approches culture-indépendante (métagénétique) et culture-dépendante. En fonction de la diversité des espèces identifiées par les deux approches, les espèces capables de produire des composés associés aux composés volatils indésirables seront déterminées.

Tâche 2 : Etude des interactions : Les interactions possibles entre espèces-clés et potentiellement impliquées dans la production de composés volatils indésirables seront étudiées par une approche d'analyse des réseaux de co-occurrence à partir des données métagénétiques obtenues. Cette approche permettra de mettre en évidence des taxons associés « positivement » ou « négativement » à l'altération. Ensuite, des tests biologiques sur matrice raisin ou moût seront menés afin d'évaluer l'effet potentiellement « répresseur » en inoculant seuls ou en mélange des microorganismes d'intérêt en présence des souches fongiques d'altération.

Tâche 3: Etude physiologique et des conditions nécessaires à la production de composés indésirables : La croissance des espèces clés, seules ou en mélanges, impliquées dans la production de composés volatils indésirables





sera évaluée en faisant varier des conditions abiotiques mimant un changement climatique. A partir des données obtenues, un modèle de croissance et de risques de production de composés indésirables pourra être proposé.

Approches méthodologiques et techniques envisagées :

Tâche 1 : L'étude du microbiote sera effectuée sur un minimum de 12 parcelles de vignes et à partir de prélèvements sur baie à environ 6 stades clés pré et post-récolte par des analyses métagénétiques et pasteuriennes. Une collection de travail de souches fongiques d'intérêt sera également élargie et la capacité de production des composés volatils sera évaluée pour un panel de souches présélectionnées par des techniques biochimiques.

Tâche 2 : L'analyse des réseaux de co-occurrence sera faite à partir des données métagénétiques obtenues entre des parcelles « sensibles » versus « non-sensibles » à l'altération pour mettre en évidence des taxons participant positivement ou négativement à l'apparition de l'altération. Afin d'évaluer le potentiel « répresseur » de taxons d'intérêt, des tests biologiques seront réalisés sur matrice, à l'échelle laboratoire, après sélection des microorganismes (basée sur leur diversité phénotypique et/ou génétique) et en présence des espèces fongiques d'altération. Le suivi de la croissance des espèces altérantes sera fait par qPCR afin de déterminer si les micro-organismes « répresseurs » permettent de réduire leur développement.

Tâche 3 : La technique de néphélométrie laser, permettant un criblage en haut-débit, sera employée pour suivre la croissance des espèces fongiques sélectionnées et pour déterminer les vitesses de croissance en fonction de différents facteurs abiotiques testés (par modélisation primaire). Ensuite, les valeurs cardinales de croissance seront établies par modélisation secondaire et mises en relation avec les données des dosages des composés volatils indésirables obtenues sur les mêmes échantillons. L'ensemble des données seront analysées afin de proposer un modèle de croissance et de risque de production de composés volatils indésirables.

Compétences scientifiques et techniques requises pour le candidat

Le candidat devra avoir le profil suivant :

- Formation BAC+5 de type Ingénieur / Master 2 Recherche, avec une spécialisation en microbiologie, biologie moléculaire, avec des compétences en analyse de données sur son domaine de spécialisation (techniques culture-dépendante et -indépendante, PCR, traitements de données NGS, statistiques...)
- Capacité à manipuler au laboratoire en autonomie et à acquérir de nouvelles techniques
- Rigueur, réactivité, esprit de synthèse, capacité à travailler en équipe et à reporter sur l'avancée de ses travaux
- Capacité à adapter le niveau scientifique en fonction du contexte et à vulgariser ses travaux
- Bonnes compétences rédactionnelles indispensables (protocoles, rapports, synthèses...), maîtrise du pack office et des analyses statistiques
- Capacité à **s'exprimer en anglais** (lecture d'article scientifique, rédaction et présentation orale lors de congrès internationaux)
- Un intérêt **certain pour l'œnologie**, l'élaboration de boissons fermentées ou les biotechnologies ainsi que des connaissances en **biochimie** seront un réel avantage.
- Un vif intérêt pour les **expérimentations et le terrain** est recommandé. Le doctorant sera présent en entreprise sur la période pré-vendange et vendanges (au moins 3 mois / an).

ENCADREMENT DE LA THÈSE¹

Nom de l'unité d'accueil :	Nom de l'équipe d'accueil :
Laboratoire de Biodiversité et Écologie Microbienne (EA 3882)	Ecosystèmes à composante fongique
Nom du directeur de l'unité :	Nom du responsable de l'équipe :
COTON Emmanuel	MOUNIER Jérôme

¹ Dans l'ED EGAAL, si 1 scientifique dans la direction de la thèse = 100% d'encadrement doctoral ; si 2 personnes impliquées dans la direction de la thèse = entre 50% et 70% d'encadrement doctoral pour l'HDR directeur ; si 3 personnes impliquées dans l'encadrement de la thèse : répartition :40% - 30% de l'encadrement doctoral.





Coordonnées du directeur de l'unité :	Coordonnées du responsable de l'équipe :	
emmanuel.coton@univ-brest.fr	jerome.mounier@univ-brest.fr	
Directeur de thèse		
Nom, prénom : COTON Monika		
Fonction : Maître de conférences		
Année d'obtention de l'HDR : 2012		
Employeur : UBO		
Taux d'encadrement doctoral dans le présent sujet : 40%		
Taux d'encadrement doctoral en cours (directions et co-directions) (%) : 80%		
Nombre de directions/co-directions de thèse en cours : 2		
Co-encadrant de thèse 1 (le cas échéant)		
Nom, prénom : PICOT Adeline		
Fonction : Maître de conférences		
Année obtention du doctorat : 2010		
Titulaire de l'HDR : □ oui ⊠ non Si oui, année d'obtention de l'HDR :		
Employeur : UBO		
École doctorale de rattachement : ED EGAAL		
Taux d'encadrement doctoral dans le présent projet : 30%		
Taux d'encadrement doctoral en cours (directions/co-directions/co-encadrements) (%) : 30%		
Nombre de directions/co-directions/co-encadrements de thèse en cours : 1		
Co-encadrant de thèse 2 (le cas échéant)		
Nom, prénom : PENSEC Flora		
Fonction : Maître de conférences		
Année obtention du doctorat : 2013		
Titulaire de l'HDR : □ oui ⊠ non Si oui, a	année d'obtention de l'HDR :	
Employeur : UBO		
École doctorale de rattachement : ED EGAAL		
Taux d'encadrement doctoral dans le présent projet : 30%		
Taux d'encadrement doctoral en cours (directions/co-directions/co-encadrements) (%) : 30%		
Nombre de directions/co-directions/co-encadrements de thèse en cours : 1		
Partenaire privé (si financement CIFRE, privé,)		
Nom, prénom : BREVOT Marc – LE GUILLOU Romain - HERVE Marion		





Fonction : Directeur R&D - Directeur Vignoble - Chef de projet R&D

Entreprise: MHCS

Taux d'encadrement doctoral dans le présent projet :

Taux d'encadrement doctoral en cours (directions/co-directions/co-encadrements) (%) :

Nombre de directions/co-directions/co-encadrements de thèse en cours :

Devenir des anciens doctorants du directeur et co-directeur(s)/co-encadrant(s) de thèse (depuis 5 ans)

Compléter les informations suivantes pour chaque ancien doctorant

Nom, prénom : GILLOT Guillaume

Date de début et de fin de thèse : 01/10/12-30/09/15

Direction de thèse: Emmanuel COTON, co-encadrants Monika COTON et Jean-Luc JANY

Emploi actuel, lieu : Chef de Projet, ADRIA Développement, Quimper

Contrat (post-doc, CDD, CDI): CDI

Liste des publications issues de ce travail de thèse :

- 1. Gillot, G., Jany, J. L., Dominguez-Santos, R., Poirier, E., Debaets, S., Hidalgo, P. I., Ullan, R. V., Coton, E., & Coton, M. (2017). Genetic basis for mycophenolic acid production and strain-dependent production variability in *Penicillium roqueforti*. Food Microbiol, 62, 239-250.
- 2. Gillot, G., Jany, J. L., Poirier, E., Maillard, M. B., Debaets, S., Thierry, A., Coton, E., & Coton, M. (2017). Functional diversity within the *Penicillium roqueforti* species. Int J Food Microbiol, 241, 141-150.
- 3. Gillot, G., Jany, J. L., Coton, M., Le Floch, G., Debaets, S., Ropars, J., Lopez-Villavicencio, M., Dupont, J., Branca, A., Giraud, T., & Coton, E. (2015). Insights into *Penicillium roqueforti* Morphological and Genetic Diversity. PLoS One, 10, e0129849.
- 4. Ropars, J., Lopez-Villavicencio, M., Dupont, J., Snirc, A., Gillot, G., **Coton, M.**, Jany, J. L., Coton, E., & Giraud, T. (2014). Induction of sexual reproduction and genetic diversity in the cheese fungus *Penicillium roqueforti*. Evol Appl, 7, 433-441.

Nom, prénom : LEGRAND Fabienne

Date de début et de fin de thèse: 01.05.2014 - 16.10.2017

Direction de thèse : Gaétan LE FLOCH, co-encadrante Adeline PICOT

Emploi actuel, lieu : ANSES, Paris Contrat (post-doc, CDD, CDI) : CDD

Liste des publications issues de ce travail de thèse :

- 1. Legrand, F., Chen, W., Cobo-Díaz, J. F., Picot, A. and Le Floch, G. 2019. Effects of agronomic practices and soil properties in soil fungistasis against *Fusarium graminearum*. FEMS Microbiology Ecology. **95**:fiz056
- 2. Legrand, F., Picot, A., Cobo-Díaz, J.F., Carof M., Chen, W. and Le Floch, G. 2018 Effect of tillage and static abiotic soil properties on microbial diversity. Applied Soil Ecology 132:135-145
- 3. Legrand, F., Picot, A., Cobo-Díaz, J. F., Delaunois, B., Cor, O., Barbier, G. and Le Floch, G. 2018 Development of qPCR assays to monitor the ability of *Gliocladium catenulatum* J1446 to reduce the cereal pathogen *Fusarium graminearum* inoculum in soils. European Journal of Plant Pathology 152:285–295.
- 4. Legrand, F., Picot, A., Cobo-Díaz, J. F., Chen, W. and Le Floch, G. 2017 Challenges facing the biological control strategies for the management of Fusarium Head Blight of cereals caused by *F. graminearum*. Biological Control 113, 26–38.





Nom, prénom : DUBRULLE Guillaume

Date de début et de fin de thèse 01.10.2016 - 30.09.2019

Direction de thèse: Gaétan LE FLOCH, co-encadrantes Adeline PICOT & Flora PENSEC

Emploi actuel, lieu: en recherche d'emploi

Contrat (post-doc, CDD, CDI):

Liste des publications issues de ce travail de thèse :

1. Dubrulle, G., Pensec, F., Picot, A., Rigalma, K., Pawtowski, A., Nicolleau, S. et al. 2019. Phylogenetic diversity and effect of temperature on pathogenicity of *Colletotrichum lupini* Plant Disease 104, 938-950.

Publications majeures des 5 dernières années du directeur de thèse et co-directeur(s)/co-encadrant(s) sur le sujet de thèse :

- 1. LEGRAND F, CHEN W, COBO-DÍAZ JF, PICOT A, LE FLOCH G. (2019). Co-occurrence analysis reveal that biotic and abiotic factors influence soil fungistasis against *Fusarium graminearum*. FEMS Microbiol. Ecol. 95, fiz056
- 2. COTON M, HYMERY N, PIQUERAS J, POIRIER E, MOUNIER J, COTON E, PICOT A. (2019). *Monascus* spp. used in wheat kernel solid-state fermentations: growth, extrolite production and citrinin cytotoxicity. *World Mycotoxin Journal*. 12, 223-232. doi: 10.3920/WMJ2018.2425
- COBO-DIAZ JF, BARONCELLI R, LE FLOCH G, PICOT A. (2019). Combined metabarcoding and co-occurrence network
 analysis to profile the bacterial, fungal and *Fusarium* communities and their interactions in maize stalks. Frontiers in
 Microbiology.
- 4. GILLOT, G., JANY, J. L., POIRIER, E., MAILLARD, M. B., DEBAETS, S., THIERRY, A., COTON, E., COTON, M. (2017). Functional diversity within the *Penicillium roqueforti* species. Int J Food Microbiol, 241, 141-150.
- 5. COTON, M., PAWTOWSKI, A., TAMINIAU, B., BURGAUD, G., DENIEL, F., COULLOUMME-LABARTHE, L., FALL, A., DAUBE, G., & COTON, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. FEMS Microbiol Ecol, 93.





Origine(s) du financement de la thèse : 100% CIFRE

Montant brut mensuel : Non communiqué

État du financement de la thèse : Acquis

Date du début/durée du financement de la thèse : 1.11.2020, 36 mois

Date: 24/6/2020

Nom, signature du directeur d'unité : COTON Emmanuel

LUBEM O

Nom, signature du responsable de l'équipe : MOUNIER Jérôme

Monrier

Nom, signature du directeur de thèse : COTON Monika



