

IDENTIFICATION DE MARQUEURS MOLÉCULAIRES D'ESPÈCES DE CHÊNES POUR LA VALORISATION DES CHÊNAIES DE LA RÉGION CENTRE-VAL DE LOIRE

Présenté par Gaëlle Buche



Institut de Chimie Organique et Analytique UMR 7311

Université d'Orléans-CNRS



Journée Entreprise-Recherche
Multi-valorisation des plantes du Val de Loire
20 mars 2020 à Tours



1 Le projet Chêne & Vin

2 Matériel et méthode

3 Résultats statistiques



1 Le projet Chêne & Vin

2 Matériel et méthode

3 Résultats statistiques



Le projet Chêne & Vin

Projet régional qui concerne 2 secteurs d'activités

Le projet Chêne & Vin

Projet régional qui concerne 2 secteurs d'activités



l'œnologie

Amélioration de la qualité
et de la commercialisation
des vins de Loire



Le projet Chêne & Vin

Projet régional qui concerne 2 secteurs d'activités



l'œnologie

Amélioration de la qualité
et de la commercialisation
des vins de Loire



la sylviculture

Valorisation des forêts de
chênes de la région Centre
Val de Loire



Le projet Chêne & Vin

-  Deux espèces de chêne prédominantes en Région CVL : le chêne sessile et le chêne pédonculé
-  Espèces distinguées en forêt grâce aux caractères morphologiques (glands et feuilles)

Le projet Chêne & Vin

-  Deux espèces de chêne prédominantes en Région CVL : le chêne sessile et le chêne pédonculé
-  Espèces distinguées en forêt grâce aux caractères morphologiques (glands et feuilles)



Chêne pédonculé



Chêne sessile

→ Méthode non applicable aux hybrides et aux grumes utilisées par les tonneliers

Le projet Chêne & Vin

 Deux espèces de chêne prédominantes en Région CVL : le chêne sessile et le chêne pédonculé

 Espèces distinguées en forêt grâce aux caractères morphologiques (glands et feuilles)



Chêne pédonculé



Chêne sessile

→ Méthode non applicable aux hybrides et aux grumes utilisées par les tonneliers

 A ce jour l'analyse ADN reste la seule méthode fiable d'identification des espèces

Le projet Chêne & Vin

 Deux espèces de chêne prédominantes en Région CVL : le chêne sessile et le chêne pédonculé

 Espèces distinguées en forêt grâce aux caractères morphologiques (glands et feuilles)



Chêne pédonculé



Chêne sessile

→ Méthode non applicable aux hybrides et aux grumes utilisées par les tonneliers

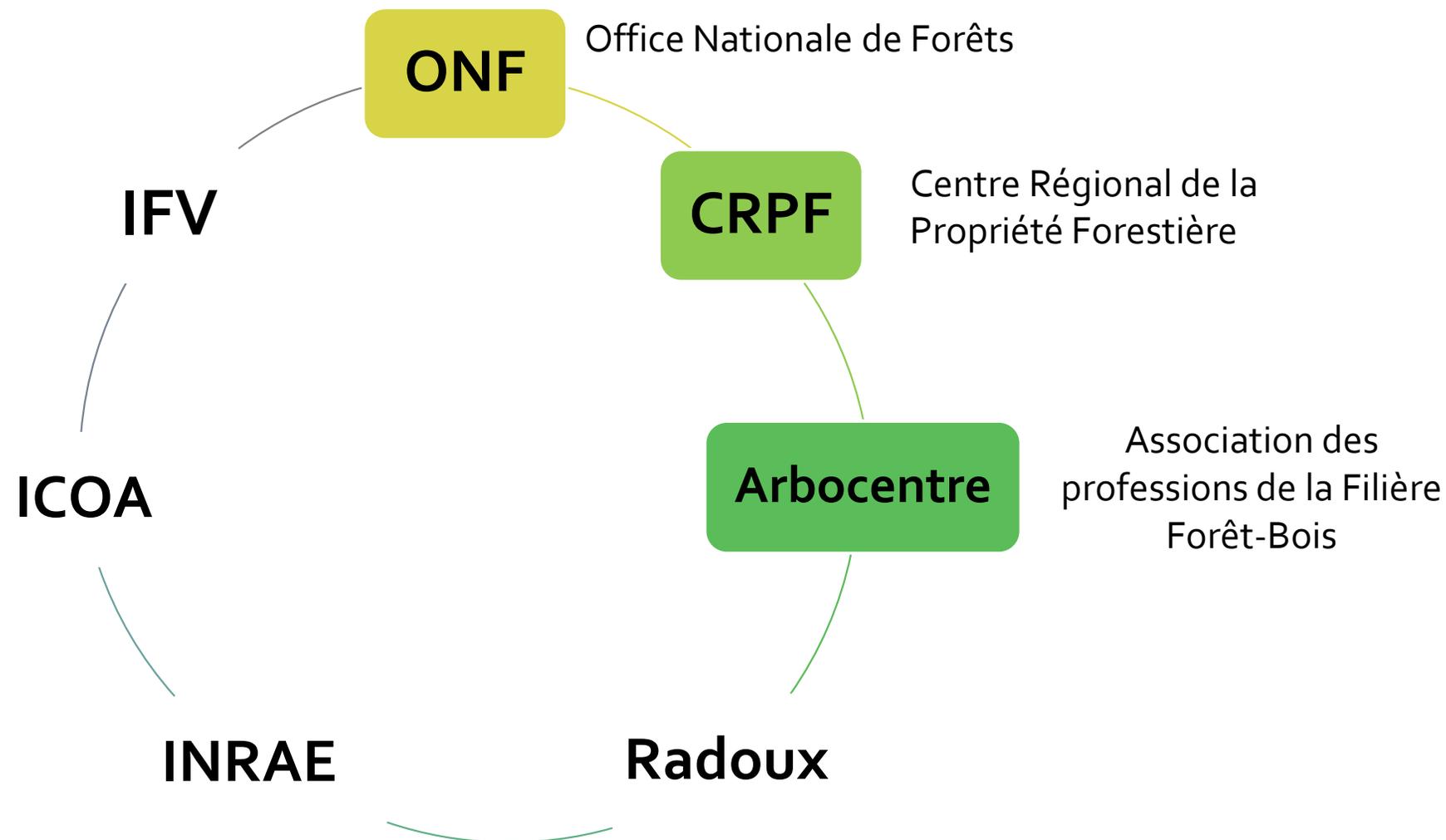
 A ce jour l'analyse ADN reste la seule méthode fiable d'identification des espèces

Objectifs du projet :

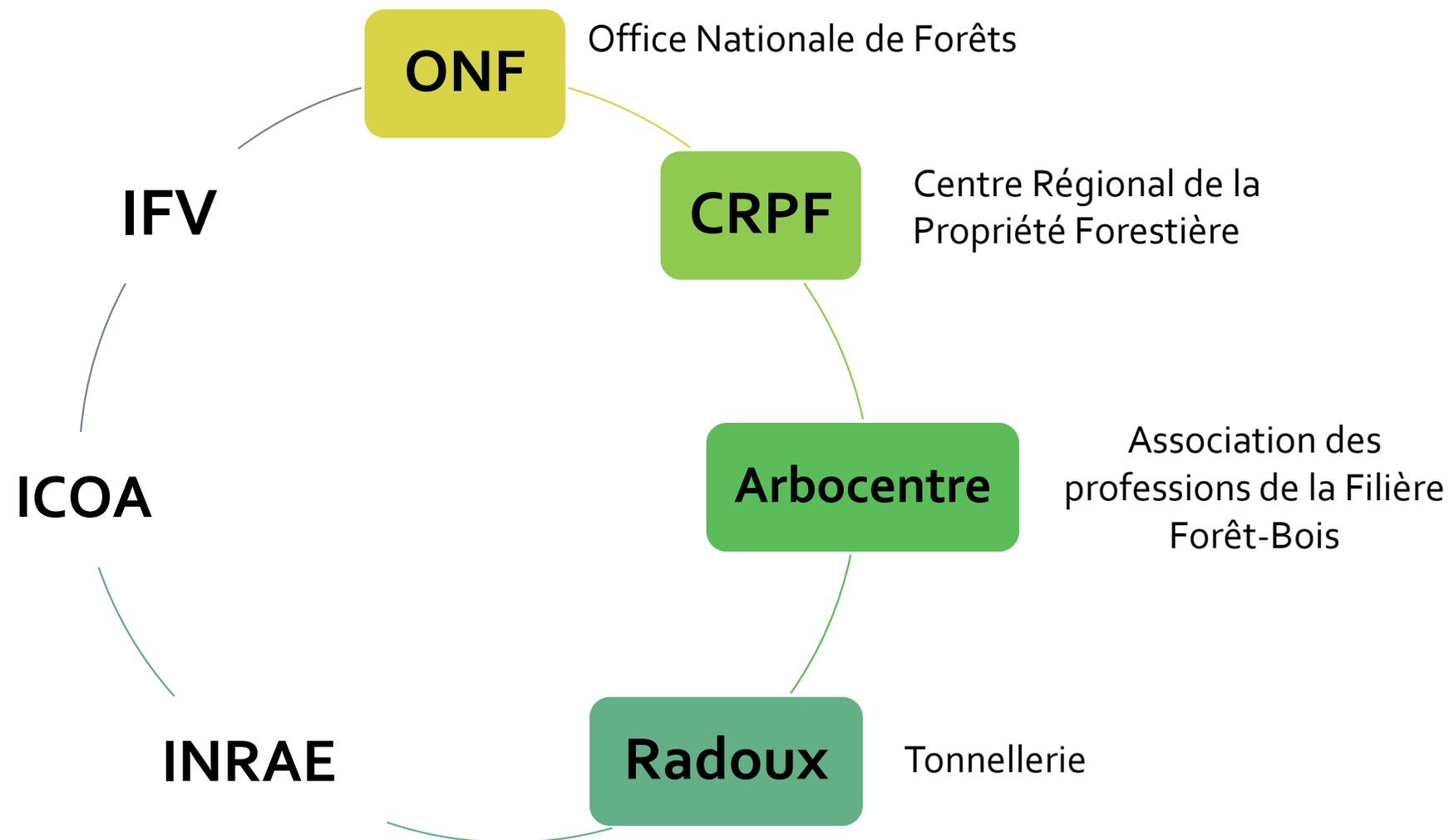
Trouver des marqueurs moléculaires et développer une méthode d'analyse chimique

**Développer une méthode Spectrométrie Proche Infra Rouge de terrain
permettant de différencier les espèces de chêne**

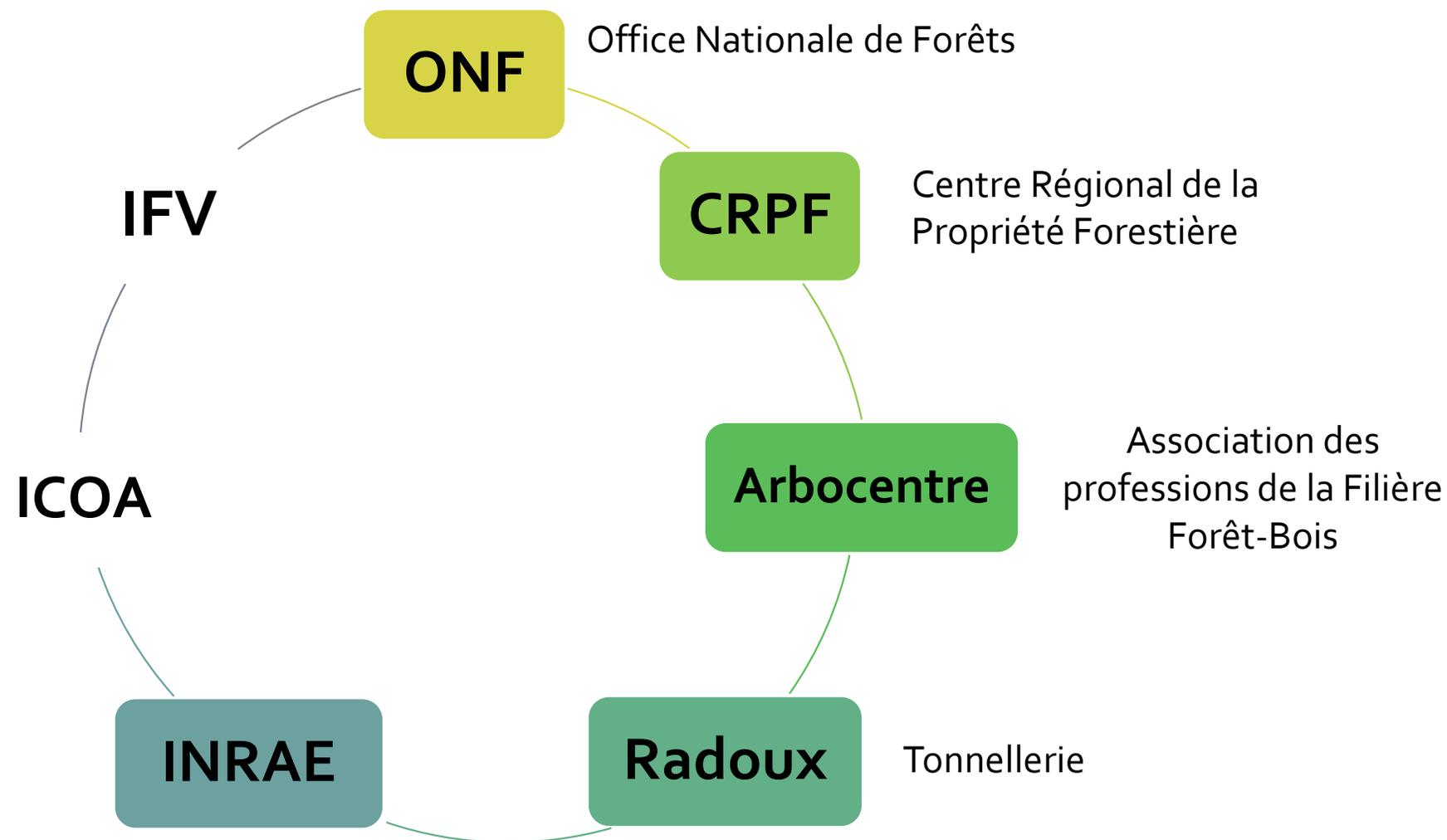
Les partenaires du projet



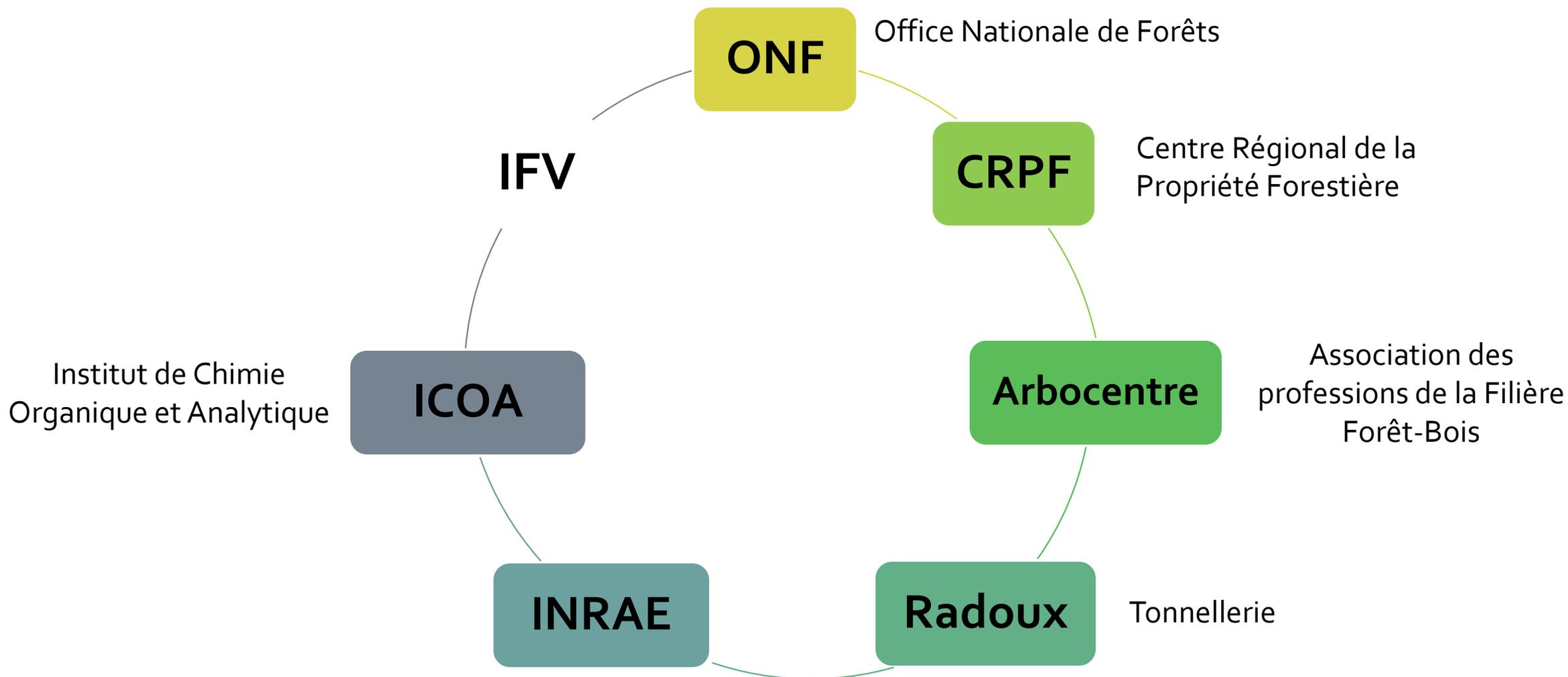
Les partenaires du projet



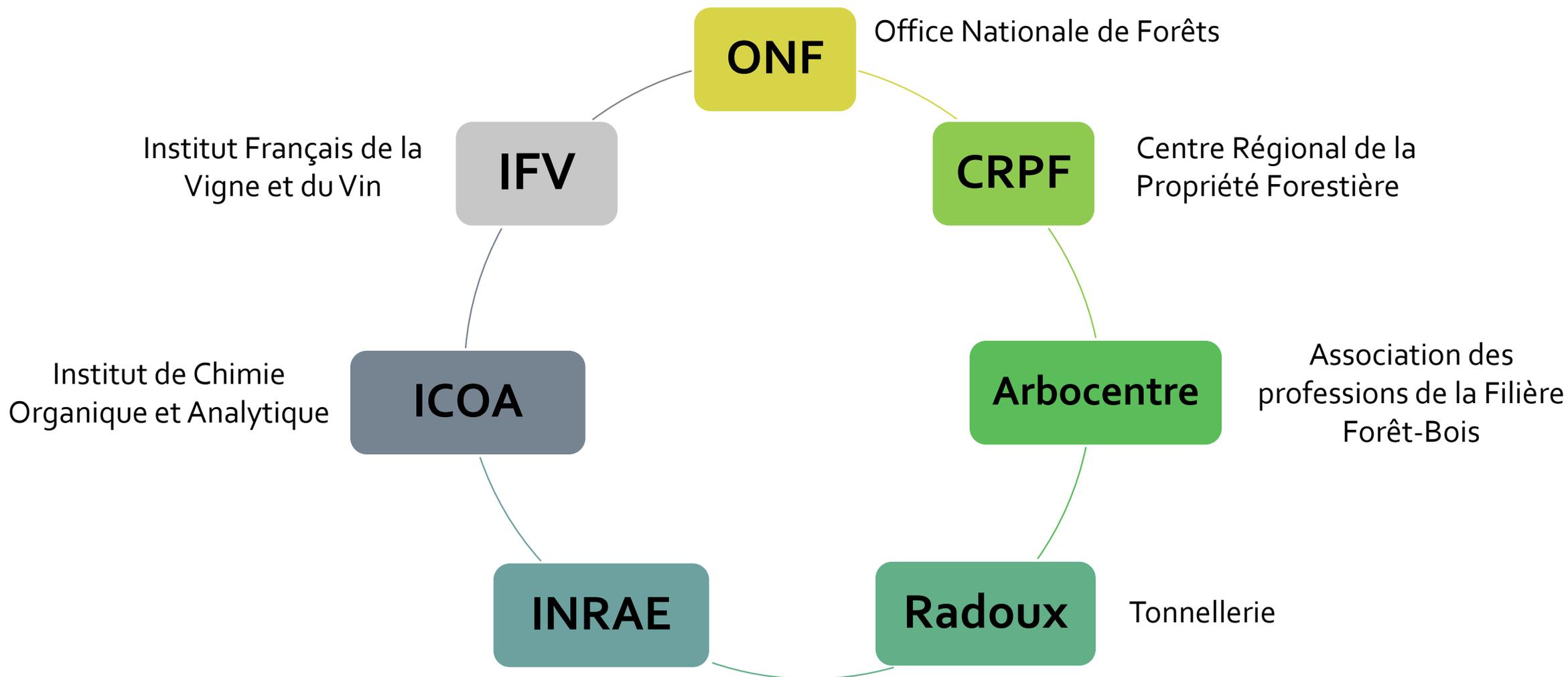
Les partenaires du projet



Les partenaires du projet



Les partenaires du projet



Les objectifs de l'ICOA

Extraire les molécules non volatiles des échantillons de chêne

Réaliser des empreintes chromatographiques de ces extraits

Comparer les empreintes des différents extraits

Déterminer si certaines molécules permettent de différencier les espèces de chêne

Les objectifs de l'ICOA

Extraire les molécules non volatiles des échantillons de chêne

Réaliser des empreintes chromatographiques de ces extraits

Comparer les empreintes des différents extraits

Déterminer si certaines molécules permettent de différencier les espèces de chêne

Les objectifs de l'ICOA

Extraire les molécules non volatiles des échantillons de chêne

Réaliser des empreintes chromatographiques de ces extraits

Comparer les empreintes des différents extraits

Déterminer si certaines molécules permettent de différencier les espèces de chêne

Les objectifs de l'ICOA

Extraire les molécules non volatiles des échantillons de chêne

Réaliser des empreintes chromatographiques de ces extraits

Comparer les empreintes des différents extraits

Déterminer si certaines molécules permettent de différencier les espèces de chêne

1 Le projet Chêne & Vin

2 Matériel et méthode

3 Résultats statistiques



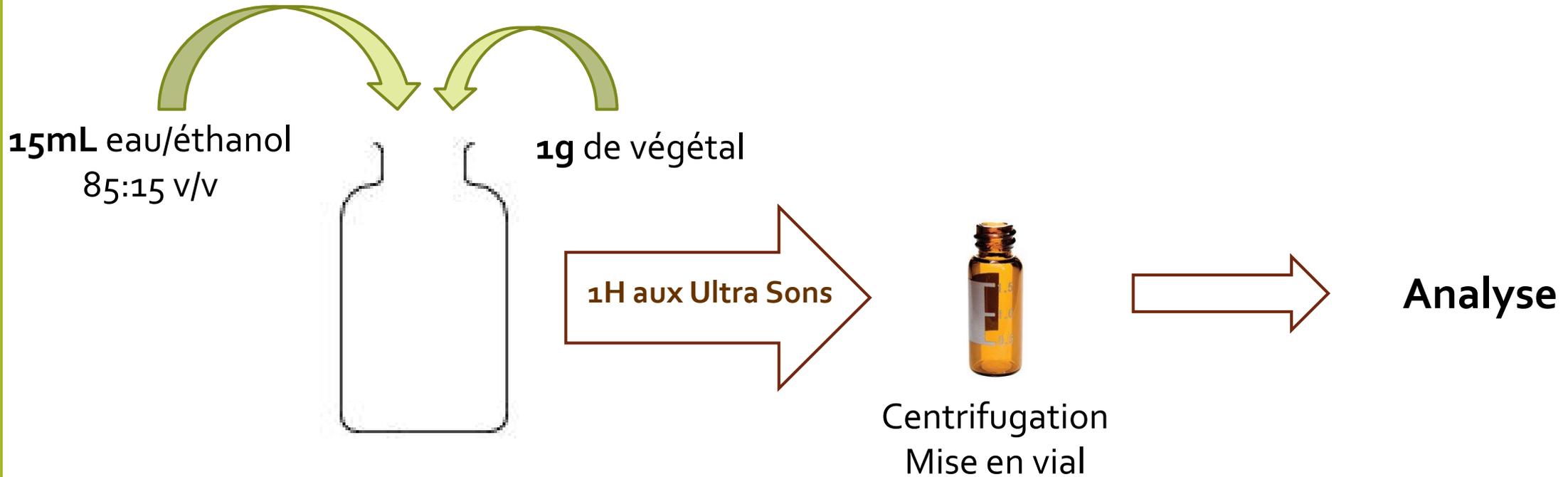
L'échantillonnage



- 10 forêts publiques et privées de la région Centre Val de Loire
- 10 arbres par forêt
- Séparation du duramen et de l'aubier
- Broyage des échantillons en poudre
- Assignation des espèces de chaque échantillon par analyses génétiques réalisées à partir du cambium ou des feuilles

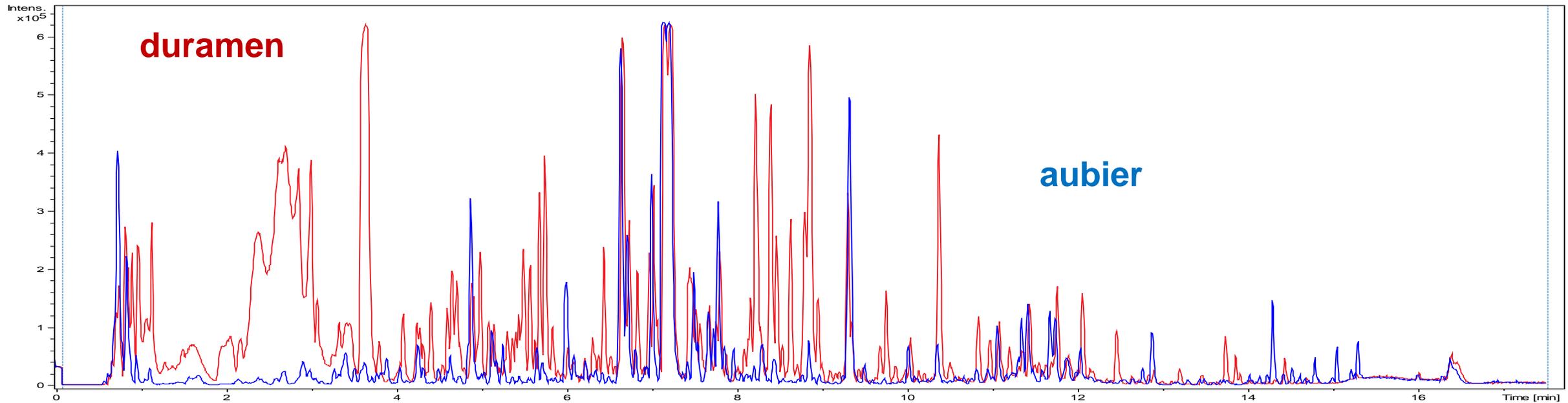
→ 89 échantillons : 53 sessiles 29 pédonculés et 7 hybrides

L'extraction



Plusieurs solvants d'extractions ont été testés pour obtenir une empreinte moléculaire la plus large possible : large variété de familles moléculaires du chêne

L'analyse UHPLC-HRMS

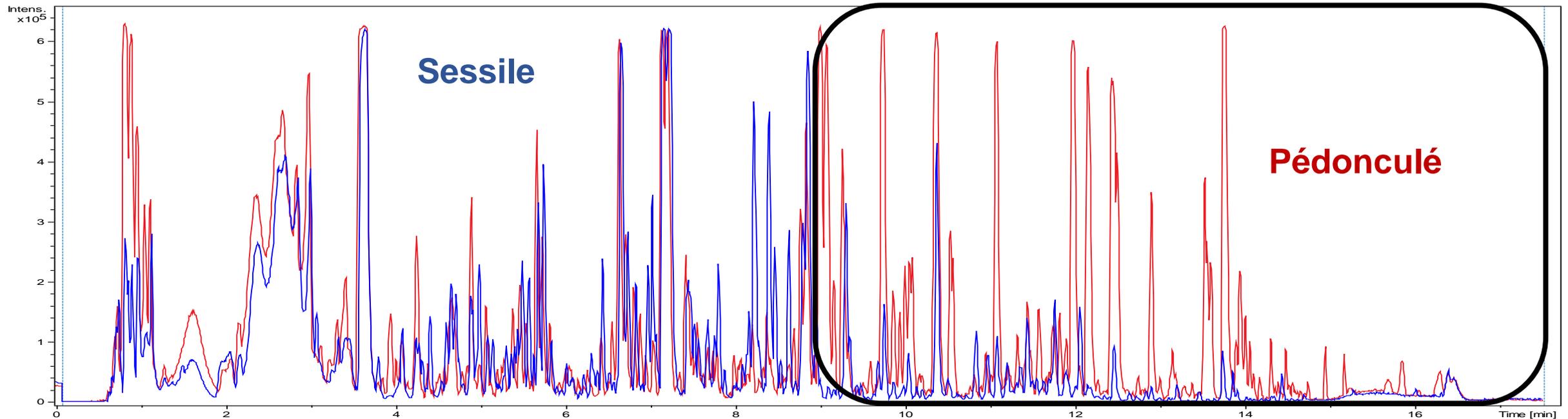


→ La partie duramen du chêne est beaucoup plus riche que la partie aubier

→ Pour la suite, présentation des résultats obtenus pour l'analyse de la partie duramen car l'aubier ne permet pas la discrimination d'espèces

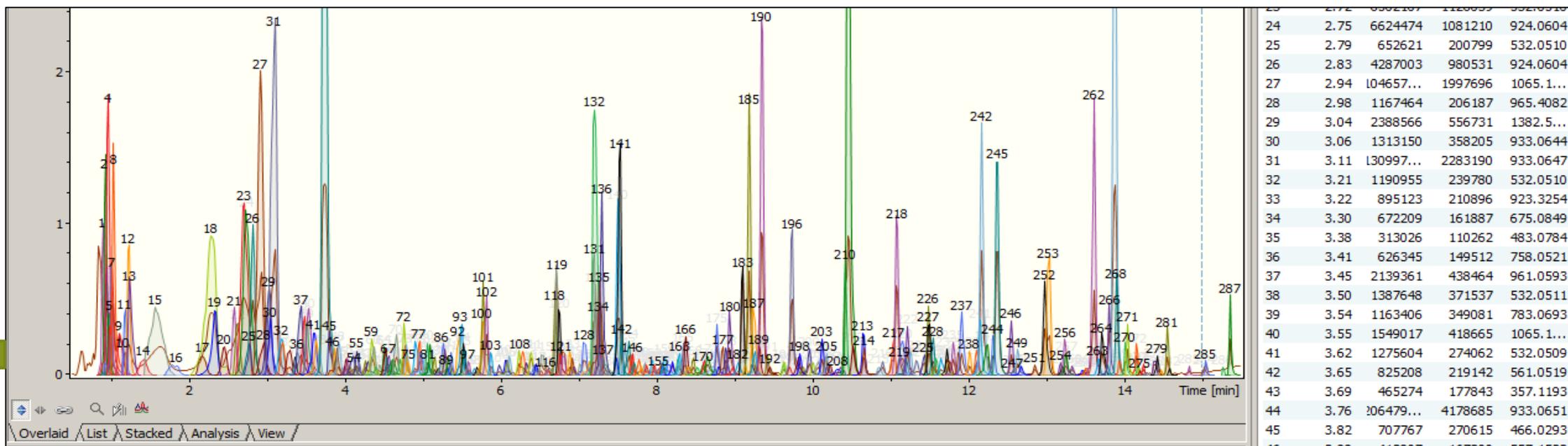
L'analyse UHPLC-HRMS

Duramen



- Première partie correspond majoritairement à l'élution des Tannins : peu de différence
- Différences visibles entre le chêne sessile et pédonculé à la fin du chromatogramme

L'outil DISSECT



Population	Tr et m/z associé	Tr et m/z associé
Echantillon A	Intensité	Intensité
etc	Intensité	Intensité

Construction de la matrice utilisée pour les traitements statistiques

404 variables pour 89 échantillons



L'analyse statistique

Une fois la matrice construite, 2 types d'analyses statistiques sont effectuées



L'analyse statistique

Une fois la matrice construite, 2 types d'analyses statistiques sont effectuées



Non supervisée

Répartition des
échantillons sans imposer
de groupe



L'analyse statistique

Une fois la matrice construite, 2 types d'analyses statistiques sont effectuées



Non supervisée

Répartition des échantillons sans imposer de groupe



Supervisée

Répartition des échantillons en imposant les groupes d'espèces obtenues à partir des analyses génétiques

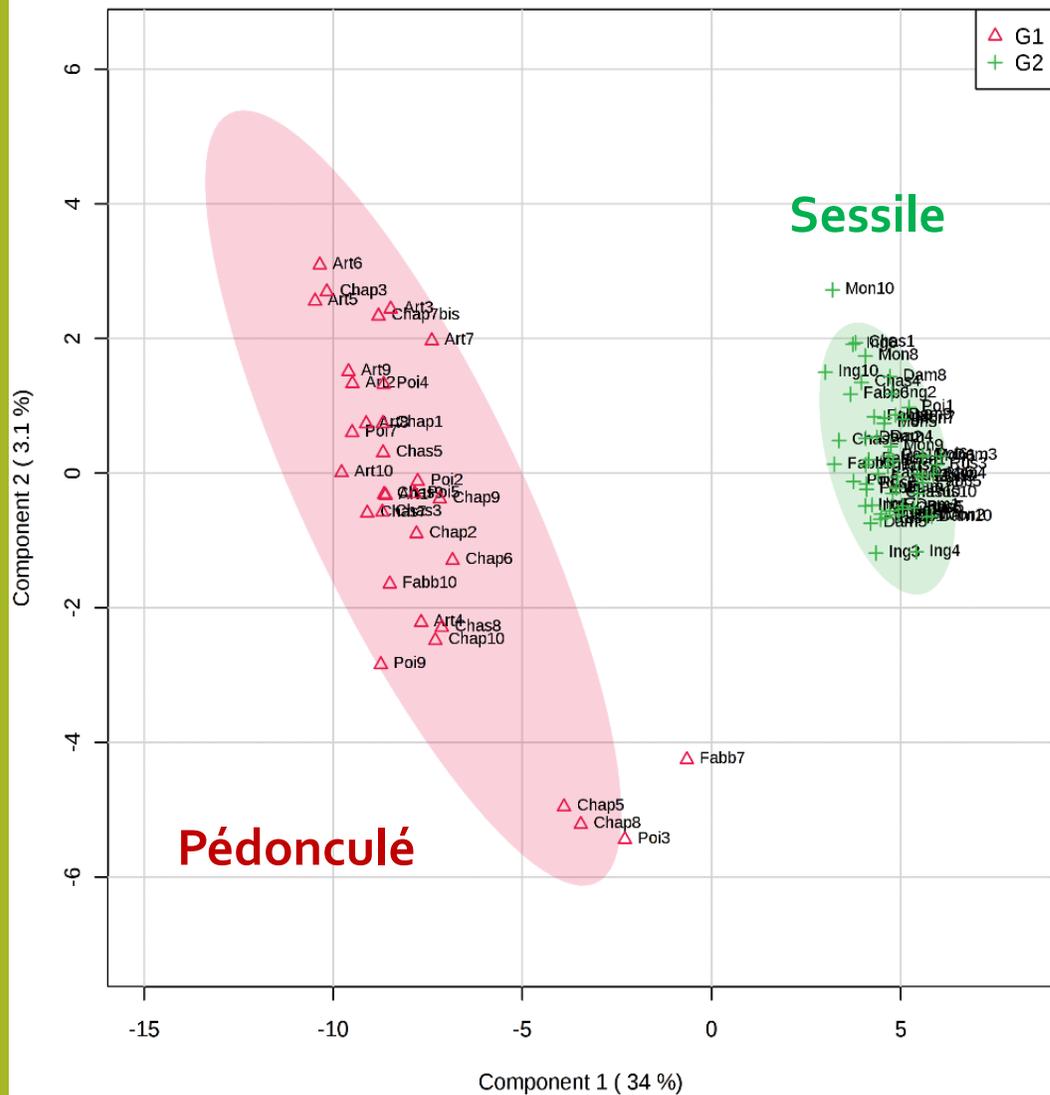
1 Le projet Chêne & Vin

2 Matériel et méthode

3 Résultats statistiques



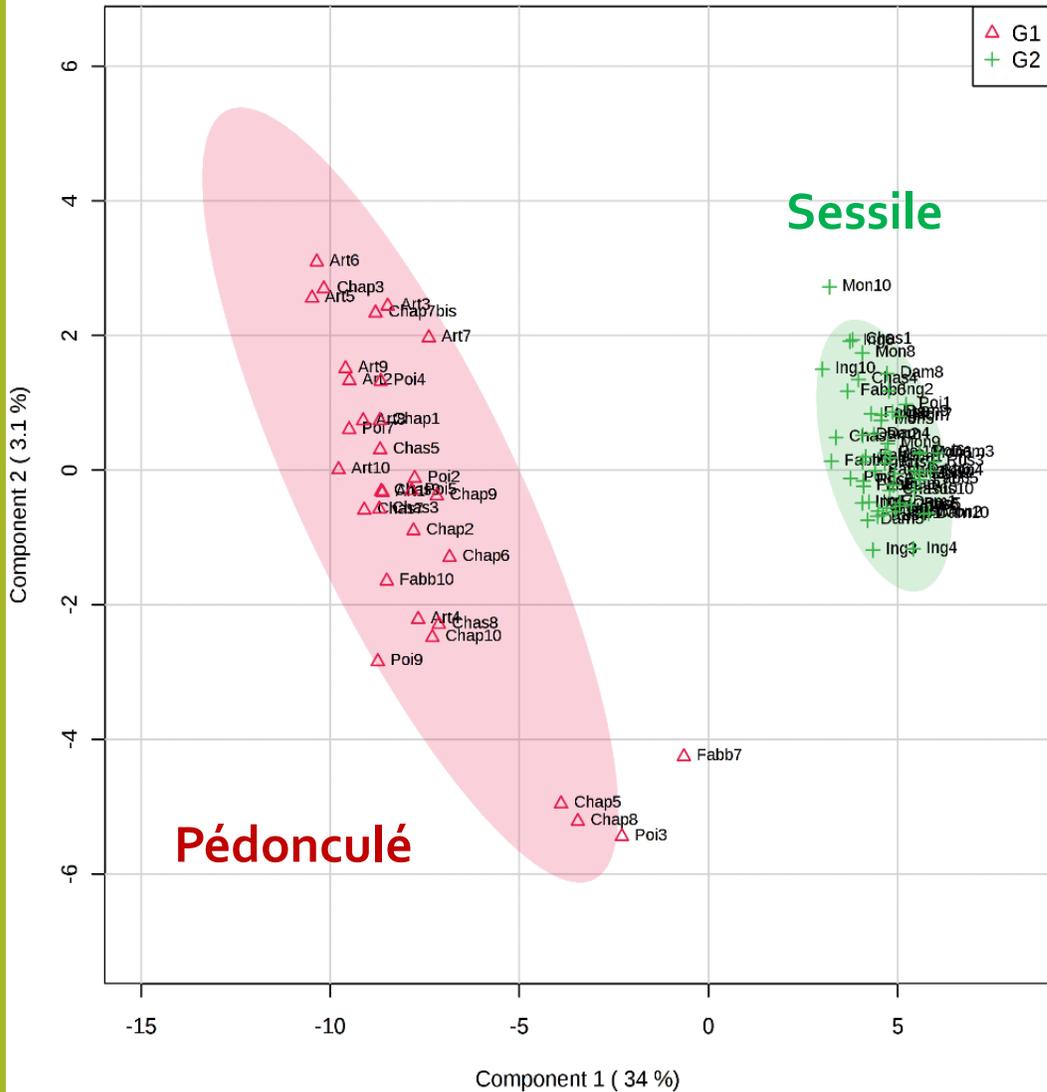
PLS-DA



Quelles molécules
permettent la
séparation des
groupes ?



PLS-DA



VIP

(Variables Importantes dans la projection)

VIP1 975.3722/8.64

VIP2 679.3703/10.45

... 533.3123/12

533.3123/12.16

725.3755/10.04

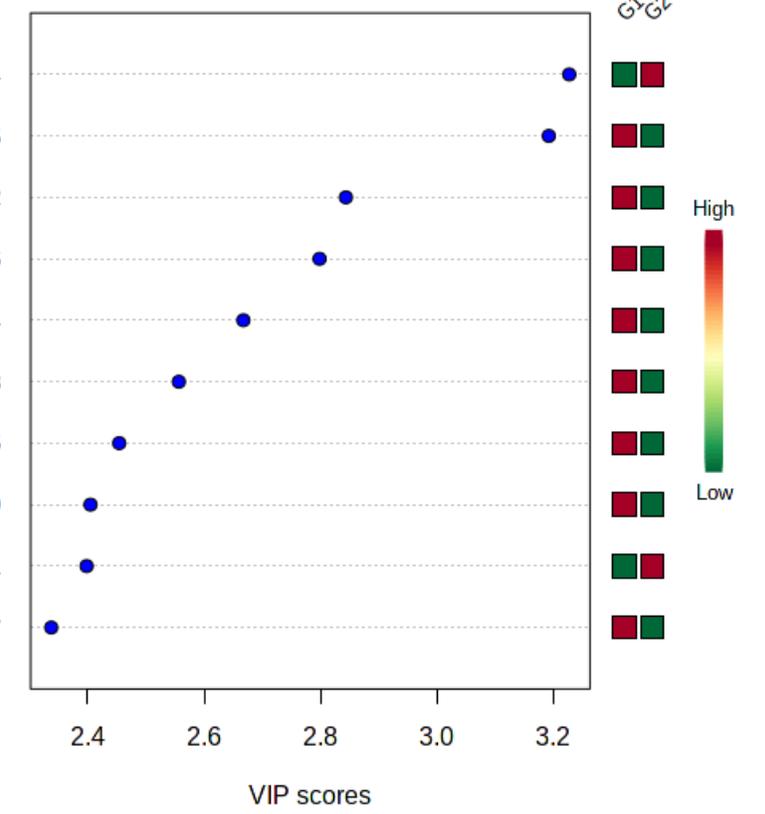
1391.7372/9.13

1403.7372/13.5

1419.7323/12.9

817.4019/10.41

517.3174/13.77



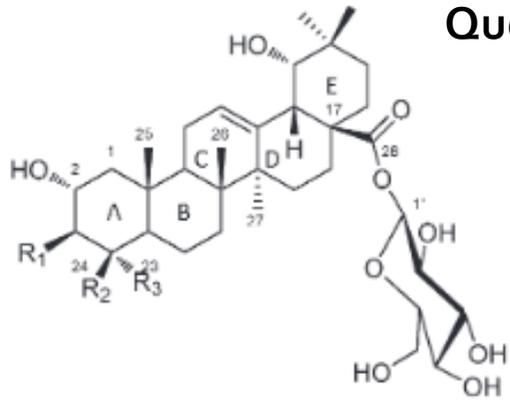
Quelles molécules permettent la séparation des groupes ?



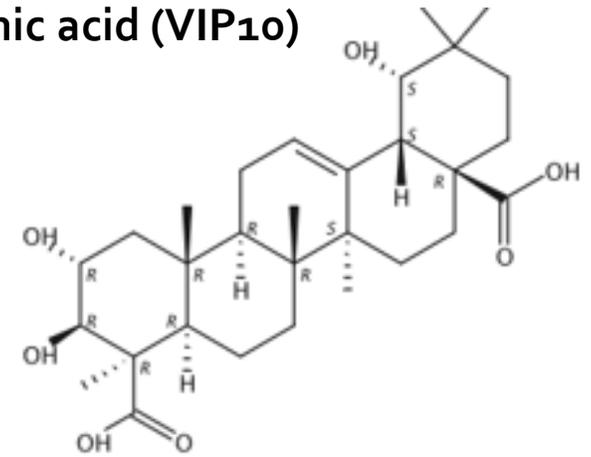
Proposition de structure de ces composés à l'aide de la littérature et de la spectrométrie de masse

Marqueurs moléculaires de type triterpéniques

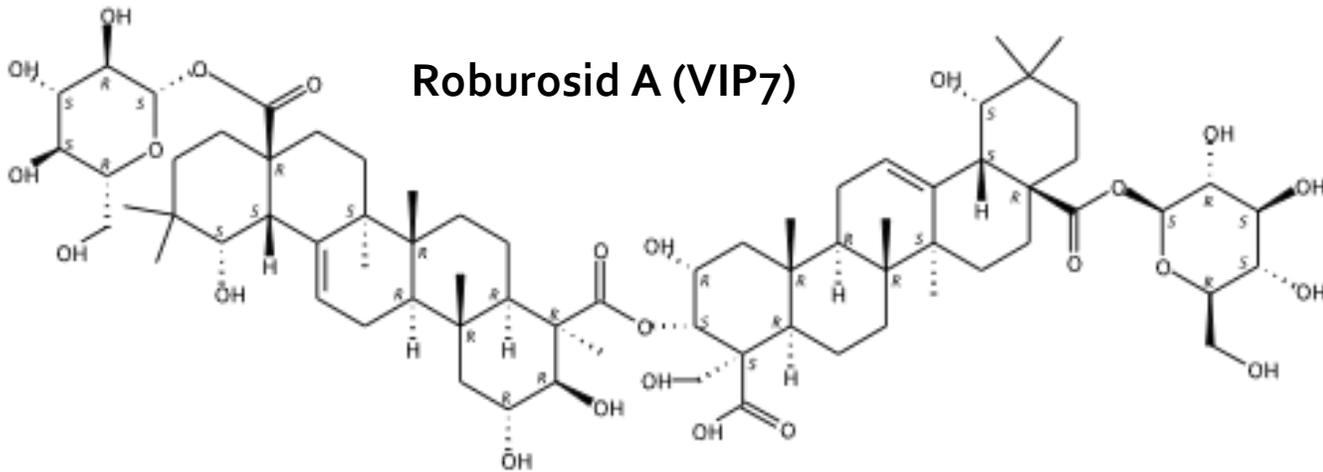
Quercotriterpenosid
(VIP9)



Bartogenic acid (VIP10)



Roburosid A (VIP7)



Bartogenic acid + sucre
(VIP2)

Conclusion



Mise en place d'un protocole d'extraction et d'une méthode d'analyse UHPLC-HRMS



Création d'une matrice statistique grâce à l'outil DISSECT après analyse des échantillons



Séparation des échantillons de chêne par groupe d'espèces (partie duramen du bois uniquement)



Mise en évidence de marqueurs moléculaires des espèces de chêne de type triterpènes

Conclusion



Mise en place d'un protocole d'extraction et d'une méthode d'analyse UHPLC-HRMS



Création d'une matrice statistique grâce à l'outil DISSECT après analyse des échantillons



Séparation des échantillons de chêne par groupe d'espèces (partie duramen du bois uniquement)



Mise en évidence de marqueurs moléculaires des espèces de chêne de type triterpènes

→ Données chimiques à corrélérer avec les données NIRS pour développer un outil utilisable sur le terrain

→ Vins en cours d'élevage avec différents type de bois : analyses sensorielles et chimiques des vins à venir

Merci de votre attention

