



HAL
open science

Effet de la variabilité des lignines sur l'efficacité de la production de bioéthanol à partir de bois de peuplier cultivé en taillis à courtes rotations

Gilles G. Pilate

► **To cite this version:**

Gilles G. Pilate. Effet de la variabilité des lignines sur l'efficacité de la production de bioéthanol à partir de bois de peuplier cultivé en taillis à courtes rotations. Les Journées Condorcet, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). FRA., Jul 2015, Paris, France. 24 diapos. hal-02793420

HAL Id: hal-02793420

<https://hal.inrae.fr/hal-02793420>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Condorcet

Structure Fédérative de Recherche
« Agro-Sciences, Environnement et
Développement Durable » CNRS 3417

Les Journées Condorcet 2015

Effet de la variabilité des lignines sur l'efficacité de la
production de bioéthanol à partir de bois de peuplier
cultivé en taillis à courtes rotations

Gilles Pilate

9 Juillet 2015, UTC / ESCOM



Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières INRA-Orléans



G.
Bodineau

3 équipes

- 1- Physiologie moléculaire de la formation du bois
- 2- Prédiction et Gestion de la Diversité des Génomes et des Populations
- 3- Génétique et Physiologie de l'Adaptation

Projet d'unité

Valorisation des ressources génétiques forestières en vue d'une production durable de bois d'œuvre et de biomasse ; impact écologique des populations domestiquées sur l'écosystème dans un contexte climatique changeant

Partenaire PIA « Xyloforest » et « Genius »



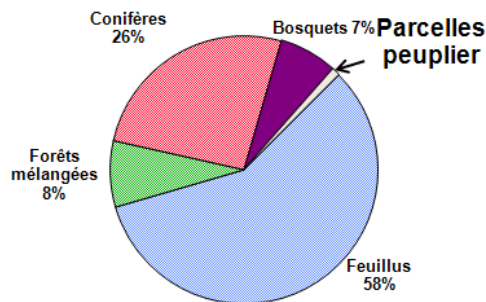
Contexte

Peupliers cultivés: 650,000 ha en Europe dont 250,000 ha en France et 30,000 ha en Belgique

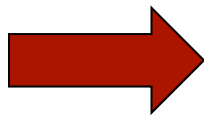
Fort potentiel de croissance et haute productivité

Rotations courtes

Plantations monoclonales : production homogène à haute valeur ajoutée



(Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2000)



Les peupleraies cultivées, des forêts à forte productivité

Culture de peuplier dédiée à la production de biomasse

2 systèmes :

• Taillis à Courte Rotation (TCR)

- 1 000 à 2 000 tiges/ha,
- Rotations de 7 à 10 ans
- Rendement 10 – 12 t MS/ha/an
- Produit : petit arbres (diam. 15-20 cm)
- Plantation agricole, récolte forestière

• Taillis à Très Courte Rotation (TTCR)

- 10 000 à 15 000 tiges/ha,
- Rotations de 2 à 3 ans,
- Rendement : 12 – 15 t MS/ha/an
- Produit : rejets (diam. 3-4 cm)
- Plantation agricole, récolte agricole

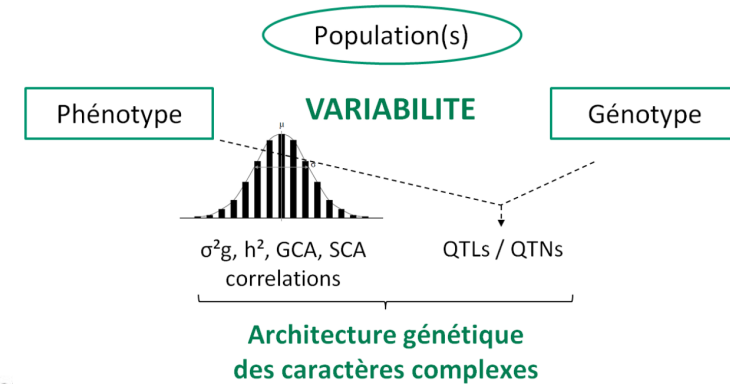
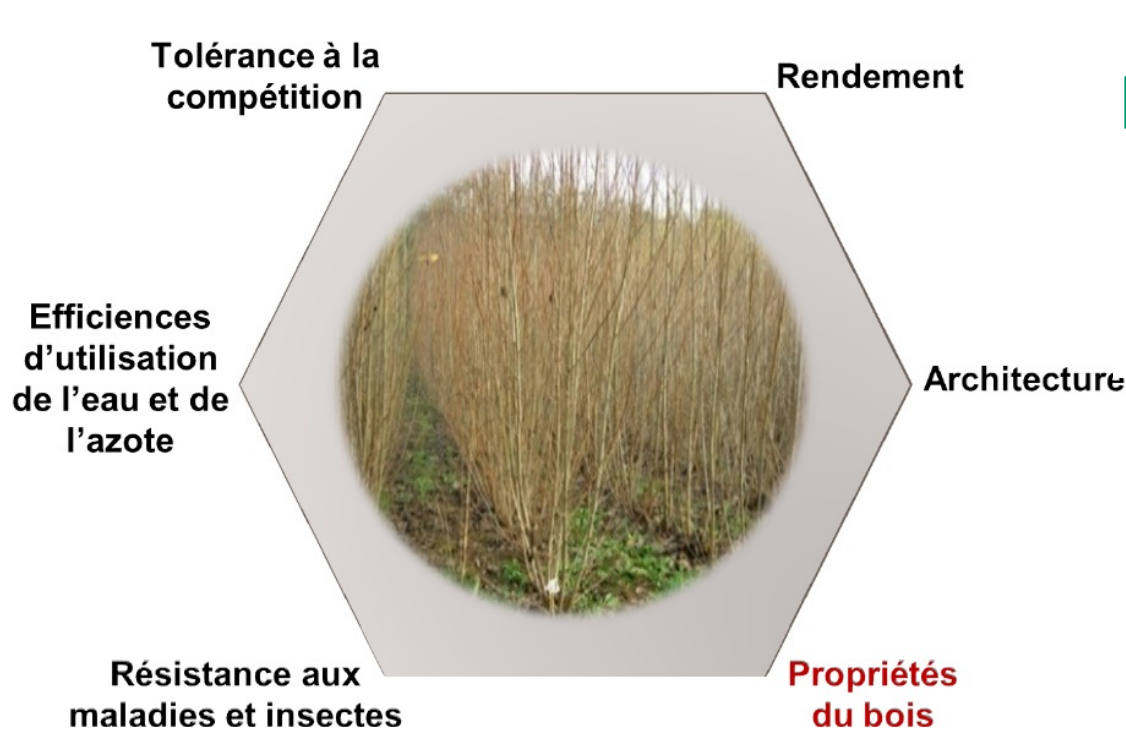


Interêt grandissant pour la biomasse ligno-cellulosique

- Valorisation de la biomasse sous forme de Biocarburant de 2^{ème} génération : « Ethanol 2G »

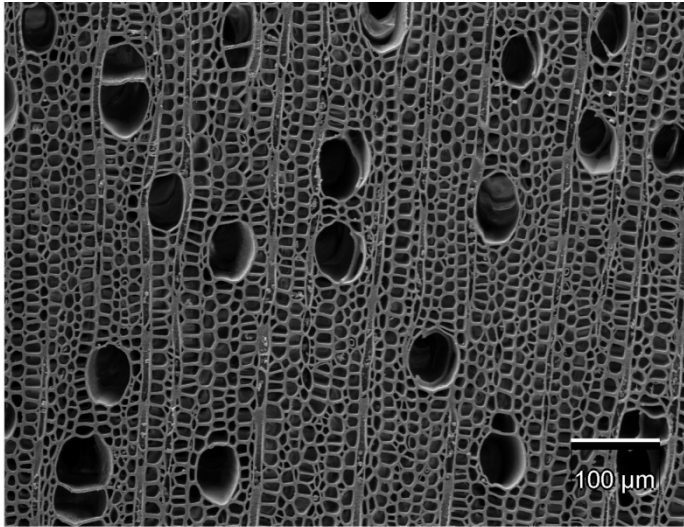
1- Optimiser les critères de sélection pour l'amélioration génétique du peuplier exploité en TCR

⇒ Déploiement de nouvelles variétés dédiées

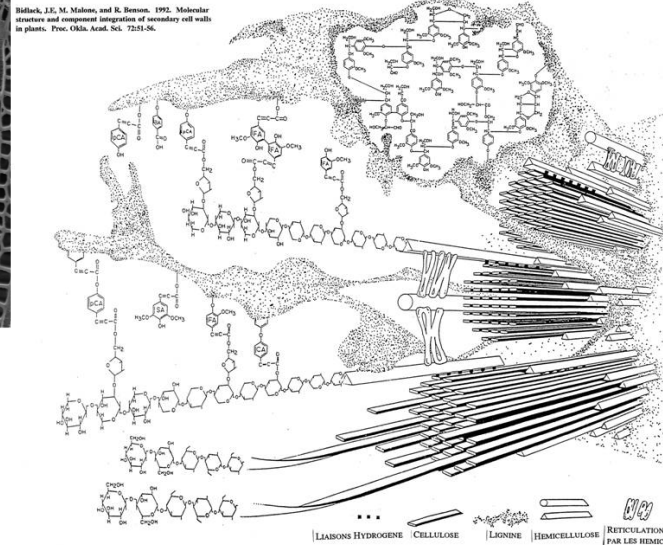


- Critère **phytosanitaire** : impact de la rouille foliaire intensifié par la densité de plantation.
- Critère de **productivité** : croissance juvénile en compétition, aptitude au rejet de souche.
- Critère « **Qualité de la biomasse** » : critères spécifiques à la production de biocarburants.

Propriétés chimiques du bois mesurées pour la production de bioéthanol



Des microfibrilles de cellulose cimentées dans une matrice de lignines et d'hémicelluloses



Évaluation qualitative et quantitative des constituants de la paroi secondaire : teneurs en lignines, composition en lignines, teneurs en cellulose et hemicellulose

Évaluation technologique : rendement de la saccharification
→ teneur en sucres libérés par hydrolyse enzymatique

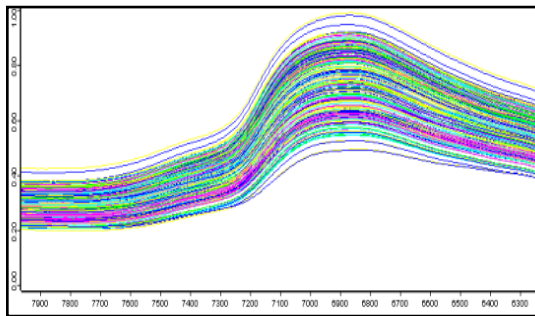
Dosages biochimiques coûteux et surtout laborieux

Alternative à **haut-débit** : la **spectrométrie infrarouge**

Développement de phénotypage à haut débit

Evaluation indirecte par Spectrométrie Proche InfraRouge (SPIR)

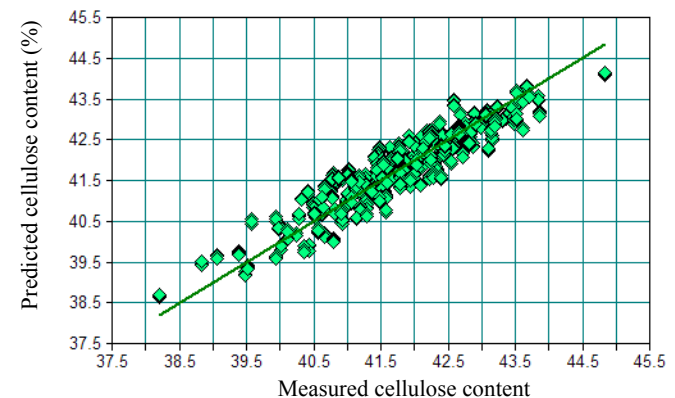
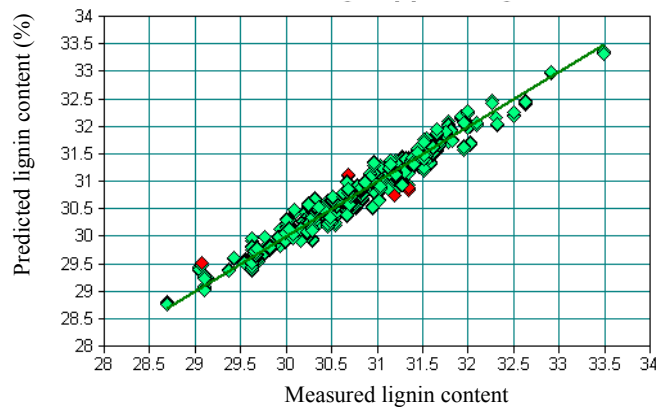
- Les informations d'un spectre IR peuvent être utilisées pour évaluer les propriétés physico-chimiques d'échantillons biologiques
- Calibration ou Étalonnage
 - construction d'un modèle prédictif
 - combinaison de spectres et mesures de référence dans un set de calibration
 - méthodes multivariées (e.g. Partial Least Square Regression, PLS-R)
- Prédiction : application du modèle



**NIR spectra
collection**

**Reference
data**

	Set de données	Echantillon	Répertoire	Fichier	%extraits
1	Test	1	M:\Bruker\QY	Chene 9.0	9.97
2	Test	1	M:\Bruker\QY	Chene 9.1	9.97
3	Test	1	M:\Bruker\QY	Chene 9.2	9.97
4	Test	1	M:\Bruker\QY	Chene 9.3	9.97
5	Calibrage	2	M:\Bruker\QY	chêne 1.0	9.61
6	Calibrage	2	M:\Bruker\QY	chêne 1.1	9.61
7	Calibrage	2	M:\Bruker\QY	chêne 1.2	9.61
8	Calibrage	2	M:\Bruker\QY	chêne 1.3	9.61
9	Calibrage	3	M:\Bruker\QY	chêne 2.0	9.88
10	Calibrage	3	M:\Bruker\QY	chêne 2.1	9.88
11	Calibrage	3	M:\Bruker\QY	chêne 2.2	9.88
12	Calibrage	3	M:\Bruker\QY	chêne 2.3	9.88
13	Calibrage	4	M:\Bruker\QY	chêne 3.0	9.3
14	Calibrage	4	M:\Bruker\QY	chêne 3.1	9.3
15	Calibrage	4	M:\Bruker\QY	chêne 3.2	9.3
16	Calibrage	4	M:\Bruker\QY	chêne 3.3	9.3

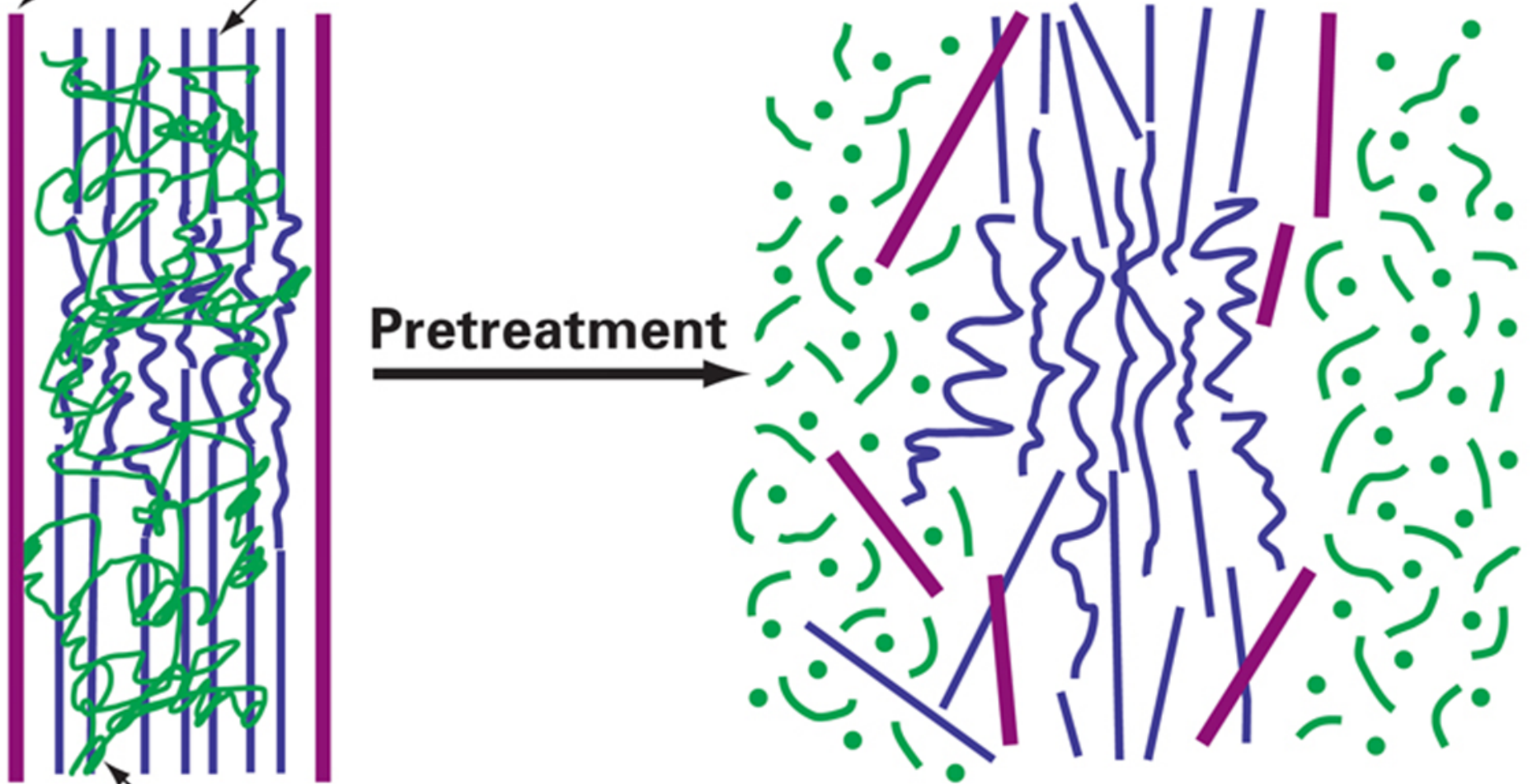


Lignin

Cellulose

Hemicellulose

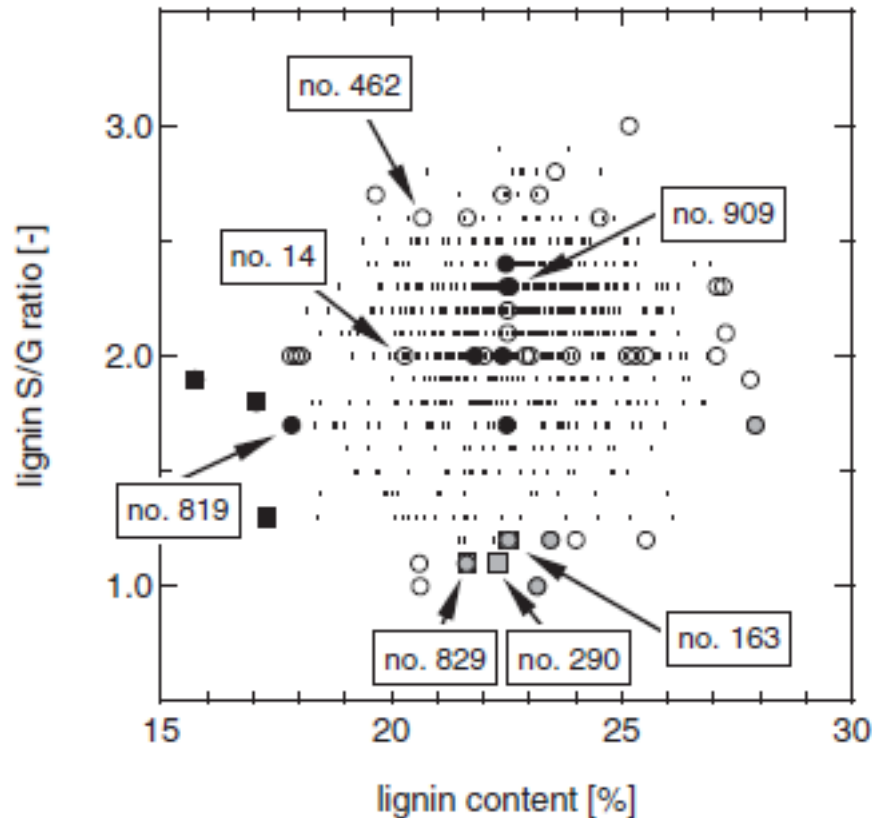
Pretreatment



Lignin content in natural *Populus* variants affects sugar release

Michael H. Studer^{a,b,1}, Jaclyn D. DeMartini^{a,b}, Mark F. Davis^{b,c}, Robert W. Sykes^{b,c}, Brian Davison^{b,d}, Martin Keller^{b,d}, Gerald A. Tuskan^{b,e}, and Charles E. Wyman^{a,b,2}

6300–6305 | PNAS | April 12, 2011 | vol. 108 | no. 15



Analysis of a large collection of biological samples from 1,100 geographically distributed, undomesticated *Populus trichocarpa* genotypes for lignin content and S/G ratio. The sampled trees covered a wide span in lignin content (15.7–27.9%) and S/G ratio (1.0–3.0). Strong correlation between some lignin parameters and saccharification yield.

SYBIOPOP: a SYstems BIOlogy approach to improve POPlar biorefinery feedstock by deciphering the genetic architecture of lignocellulosic biomass production and quality

Contexte : Amélioration génétique du peuplier pour une valorisation de sa biomasse lignocellulosique en bioraffinerie

Objectif : Analyser les mécanismes génétiques impliqués dans la variabilité de caractères liés à l'élaboration de la biomasse

Approche : Combinaison de données génomiques, transcriptomiques, et phénotypiques dans des populations naturelles de peuplier noir

Durée : 48 mois (01/01/2014 - 31/12/2017)



Matériel

Une population d'association composée de 1000 clones de *P. nigra* issus d'une dizaine de populations naturelles couvrant l'aire de répartition de l'espèce en Europe de l'Ouest

En dispositif sur 2 sites contrastés : Orléans et Savigliano (Italie)



Données phénotypiques

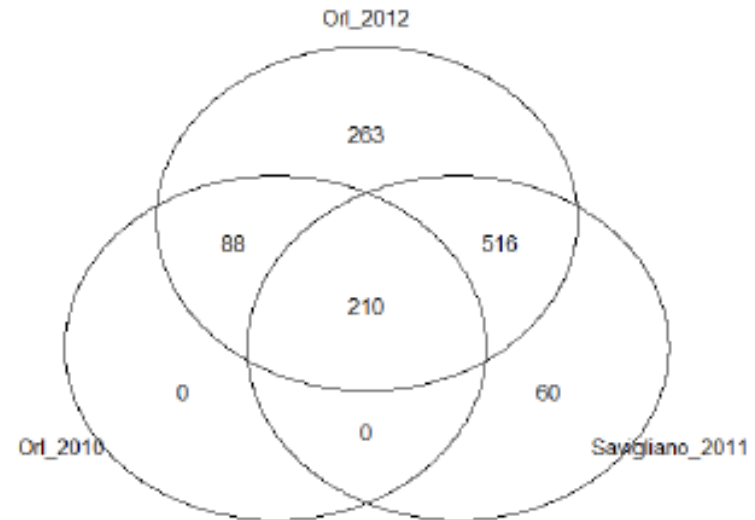
Stratégie basée sur des calibrations

Production de biomasse : modèles allométriques

Qualité de la biomasse : calibrations SPIR

Trois prélèvements d'échantillons effectués sur les 2 sites

- 1 Orléans - 2010
~ 300 génotypes × 3 reps
- 2 Savigliano - 2011
~ 800 génotypes × 3 reps
- 3 Orléans - 2012
~ 1000 génotypes × 3 reps



Analyses biochimiques sur des échantillons de référence:

Teneurs en extractibles,

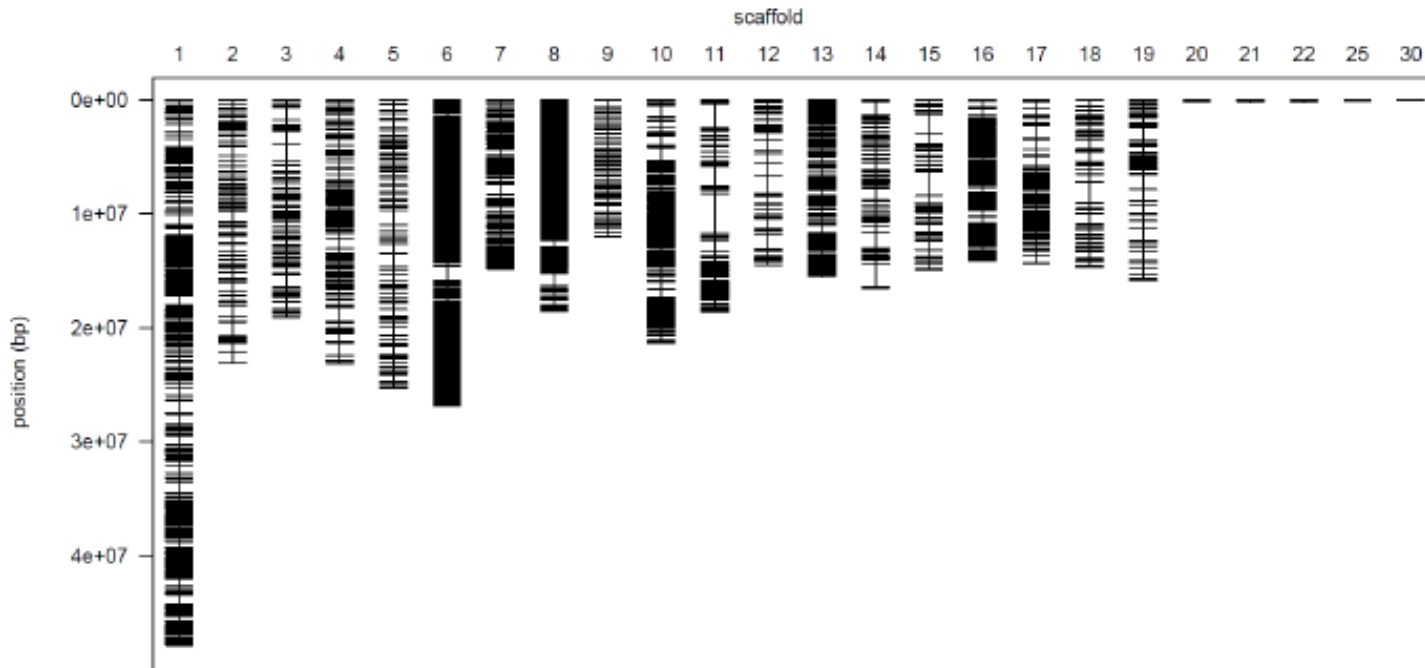
Teneurs en lignines (Klason) et composition des lignines (S/G)

Teneurs en sucres (HPLC)

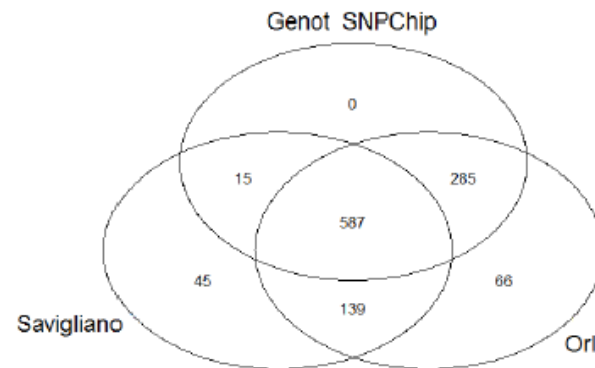
Test de saccharification

Données moléculaires

Génotypage au moyen d'une puce Illumina 8000 SNP (projet NovelTree)



850 individus génotypés



Données moléculaires (2)

RNA-Seq (2015)

240 génotypes 2 reps

1) Séquences des gènes exprimés dans le bois : up to 10^6 SNPs ?

2) Transcriptomique : niveau d'expression des gènes exprimés dans le bois

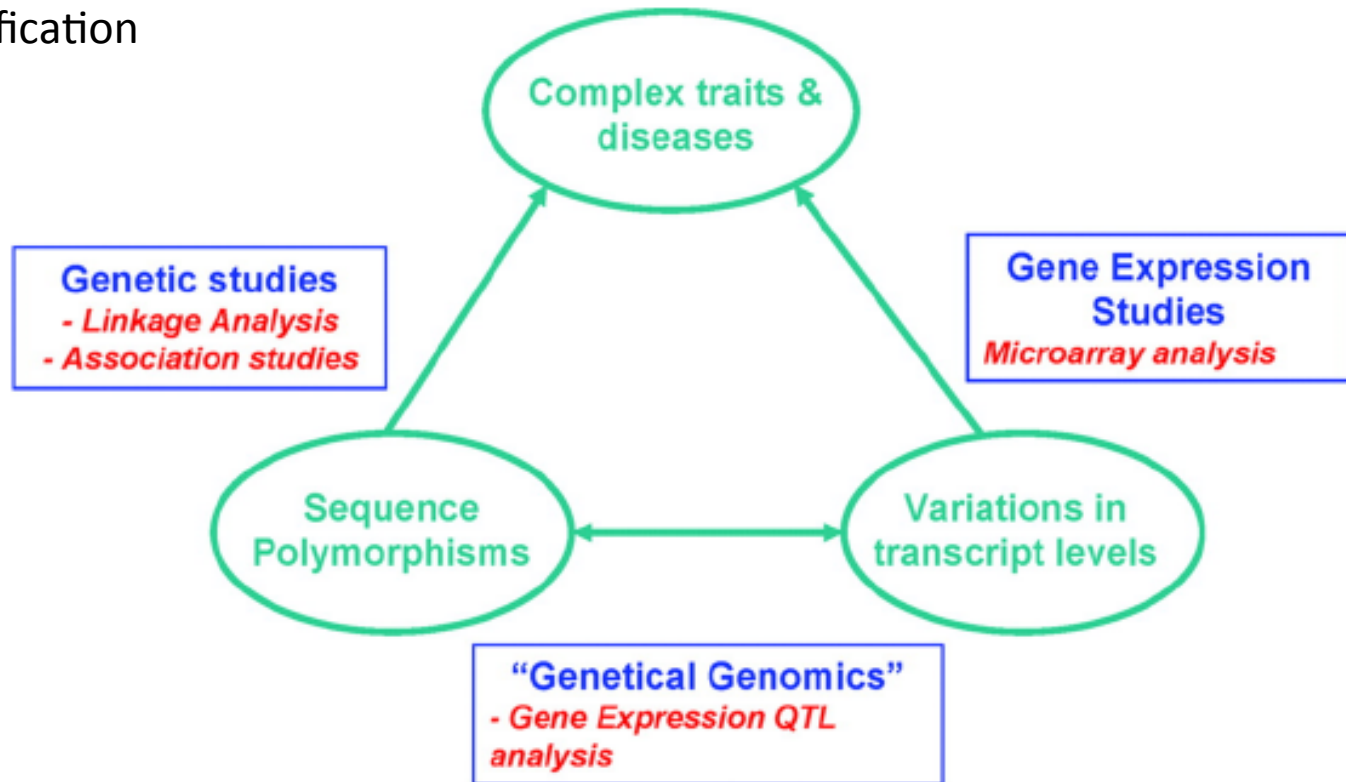


Prélèvements réalisés du 15 au 26 Juin 2015

Perspectives

Pour compléter cette approche de biologie systémique :

- Combinaison des informations génomiques, transcriptomiques et phénotypiques
- Etablissement de réseaux de gènes impliqués dans l'élaboration des caractères mesurés
- Evaluation de la sélection génomique chez un arbre forestier pour l'aptitude à la saccharification



2- Effet de modifications des lignines sur l'efficacité de la production de bioéthanol à partir de bois

Essai au champ de peuplier GM à lignines modifiées installé en 2008



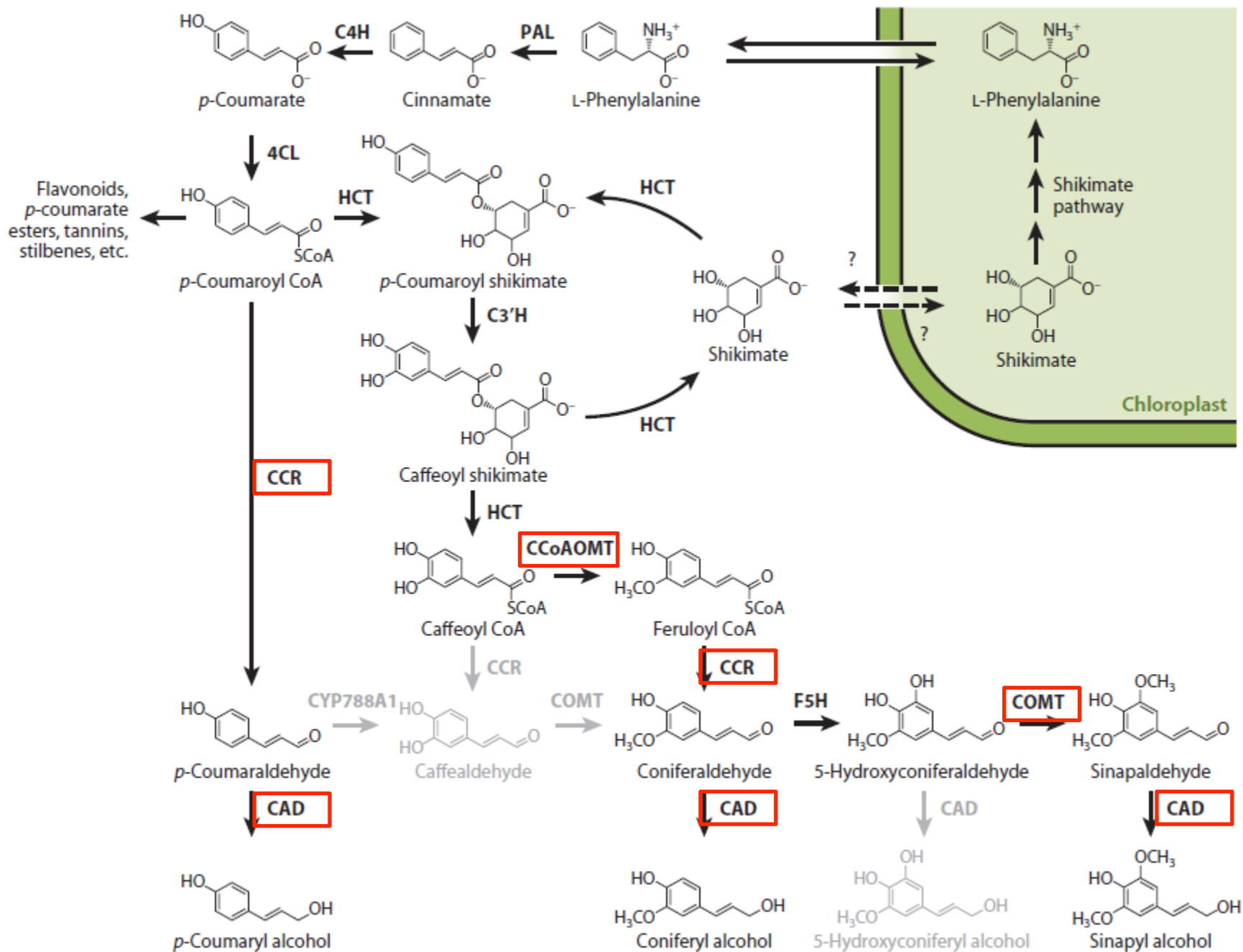


Figure 2

Récolte et échantillonnage de l'essai en Février 2012

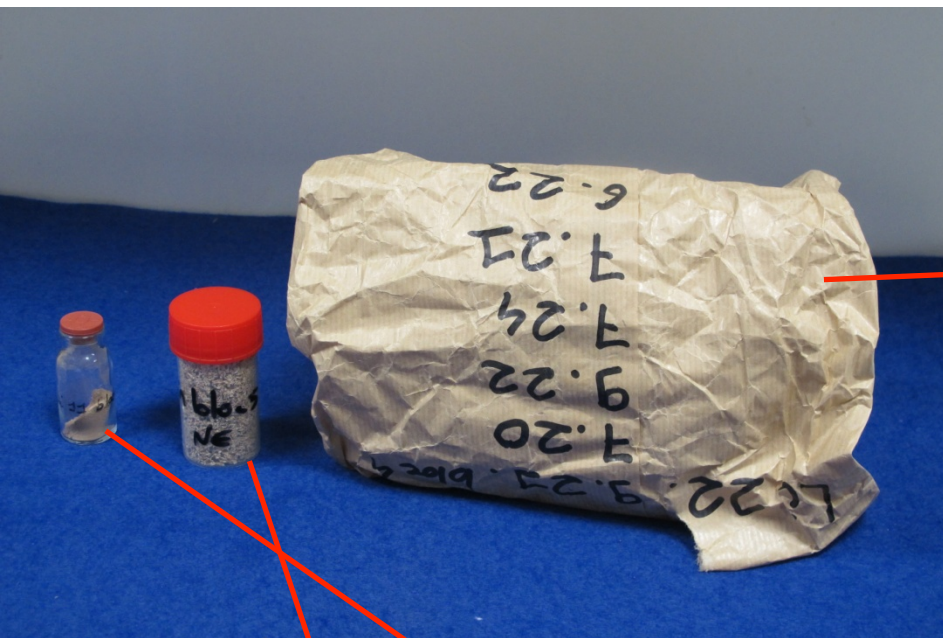


Récolte et échantillonnage de l'essai en Février 2012

Différents types d'échantillons



Analyses :
Lignines (NIRS)
Saccharification, SSF

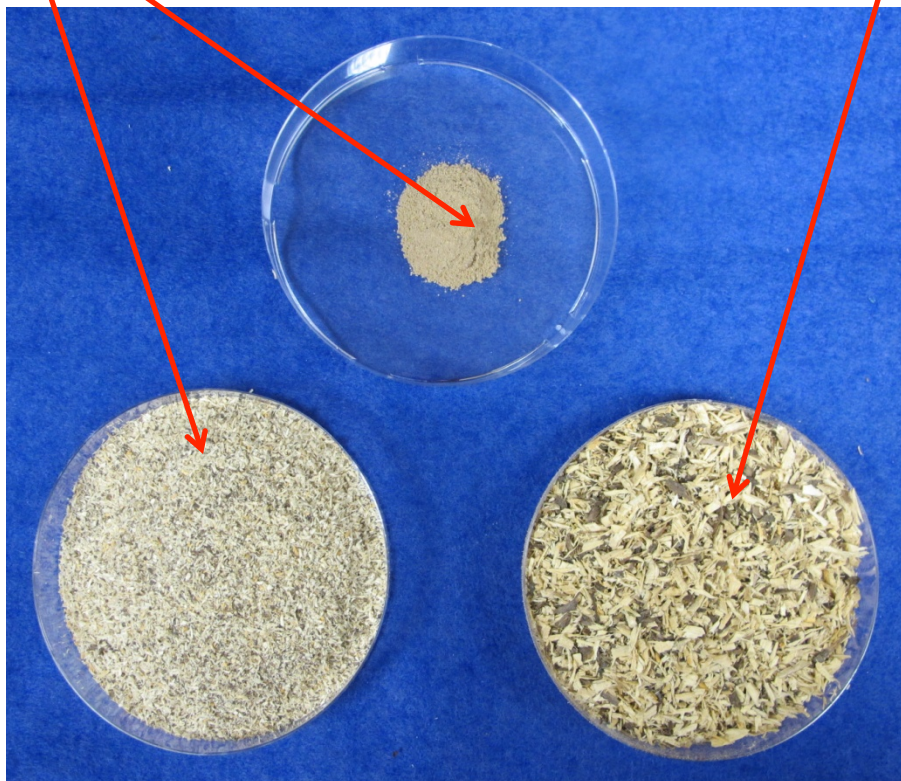


Different coarseness for different kind of analyses...

**6mm particle size :
SSF and Fast Pyrolysis Bio-Oils**

**1mm particle size
for High Throughput
Saccharification assay**

**50 μ m particle size for Py-GC-MS
and MIR and NIR**

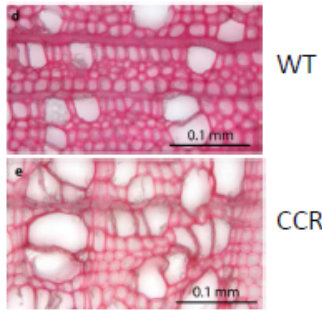
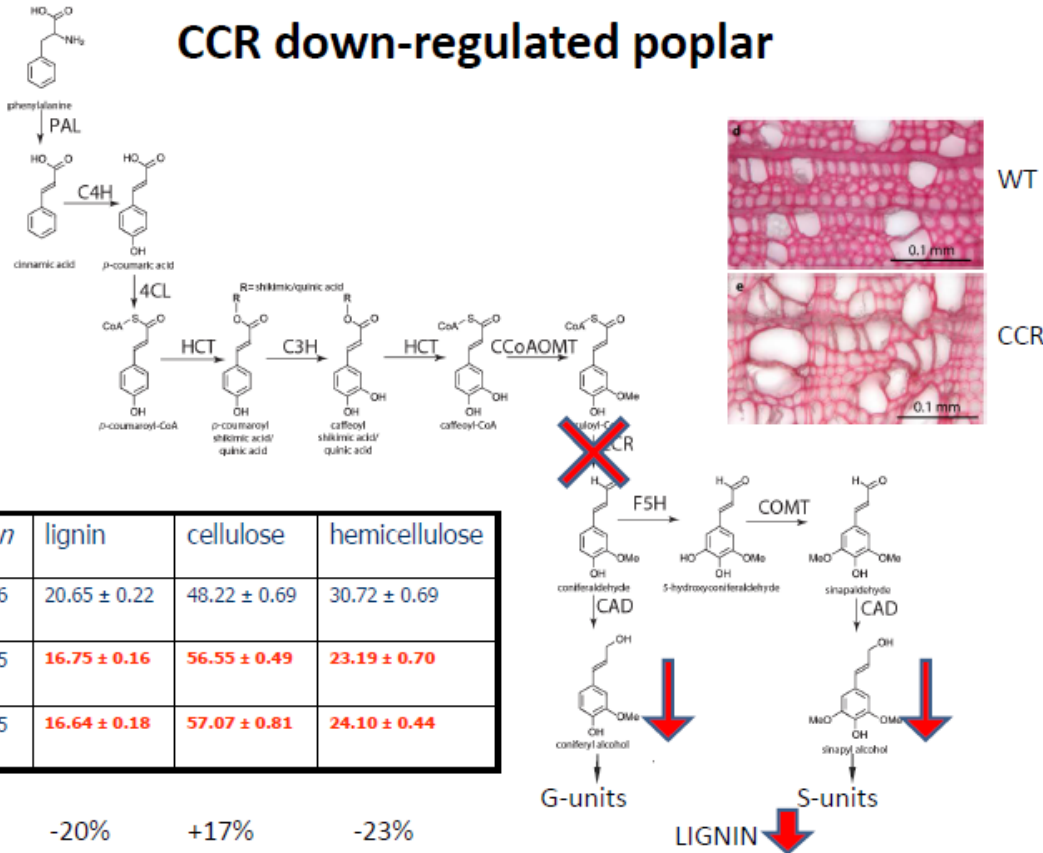




Improved saccharification and ethanol yield from field-grown transgenic poplar deficient in cinnamoyl-CoA reductase

Rebecca Van Acker^{a,b}, Jean-Charles Leplé^c, Dirk Aerts^d, Véronique Storme^{a,b}, Geert Goeminne^{a,b}, Bart Ivens^{a,b}, Frédéric Légée^e, Catherine Lapiere^e, Kathleen Piens^f, Marc C. E. Van Montagu^{a,b,1}, Nicholas Santoro^g, Clifton E. Foster^g, John Ralph^h, Wim Soetaert^d, Gilles Pilate^c, and Wout Boerjan^{a,b,1}

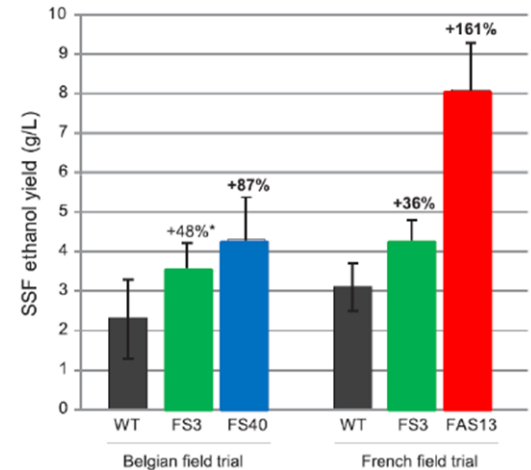
CCR down-regulated poplar



Line	n	lignin	cellulose	hemicellulose
WT	6	20.65 ± 0.22	48.22 ± 0.69	30.72 ± 0.69
FS3	5	16.75 ± 0.16	56.55 ± 0.49	23.19 ± 0.70
FS40	5	16.64 ± 0.18	57.07 ± 0.81	24.10 ± 0.44

-20% +17% -23%

SSF ethanol yield/g wood fully red trees



(Van Acker et al., 2014)

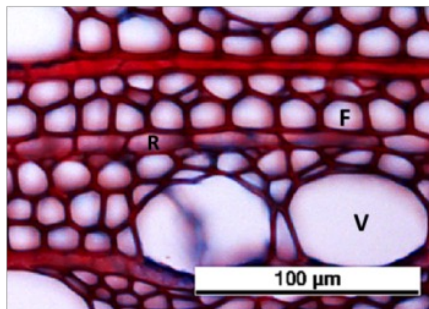
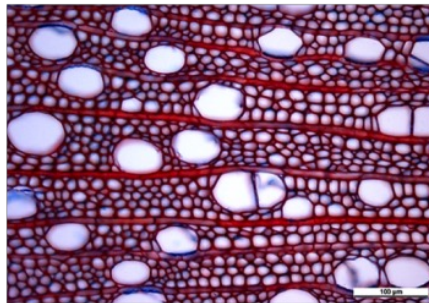
Conclusions

- **importante variabilité naturelle des lignines à l'intérieur d'une espèce**
- **modifications des lignines par transgénèse ont des effets importants sur le rendement en bioéthanol**
- **l'aptitude des arbres à lignines modifiées à croître et à se développer doit être soigneusement évaluée dans différentes conditions environnementales**
- **les résultats obtenus en serre ne reflètent pas toujours les observations en champ**
- **il est assez facile de réduire par génie génétique le contenu en lignines : résultats technologiques intéressants souvent associés avec des problèmes de conduction de la sève**
- **les modifications dans la structure des lignines n'affectent pas le développement des arbres**
- **...**

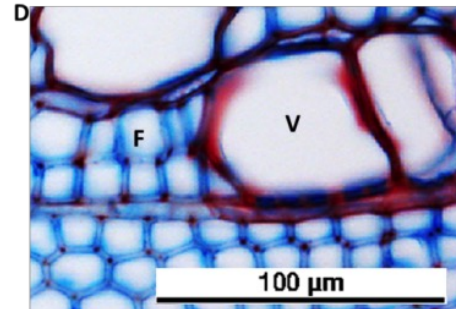
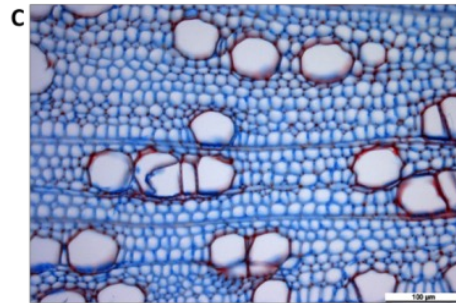
Perspectives

- utiliser un promoteur adapté pour obtenir les effets désirés tout en limitant les effets indésirables ciblage des modifications au niveau des fibres.
- alternativement, production de peupliers GM modifiés pour des facteurs de transcription régulant les lignines dans les fibres sans affecter les vaisseaux
- Comparaison des effets des variations induites (peupliers GM) et des variations naturelles (population d'association)
- Effet de la variabilité des lignines sur l'efficacité des prétraitements types organosolv ou liquide ioniques, susceptibles de mieux préserver la réactivité chimique des lignines
- Projet ANR en préparation

WT



GM Poplar



- GM poplar: OE of a transcription factor
- 20% Klason lignin reduction
- Grow as the WT (in the greenhouse)
- Candidate for a new field trial

Safranin- Alcian Blue staining

Financements

ANR JCJC SYsBioPop
FP7 EnergyPoplar
FP7 Noveltree
Région AMC2B
PIA XyloForest
PIA Genius

Vincent Segura
Véronique Jorge
Catherine Bastien
Léopoldo Sanchez
Odile Rogier
Jean-Paul Charpentier
Kevin Ader
Patrick Poursat
José Almeida
Mesfin Gebreselassie (Doc)

Françoise Laurans
Annabelle Déjardin
Jean-Charles Gaudin
Jean-Charles Leplé
Nathalie Boizot
Marie-Claude Lesage-Descauses
Véronique Laine-Prade
Amra Šećerović (Doc)
Camille Grand-Perret
Marija Ćosić