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

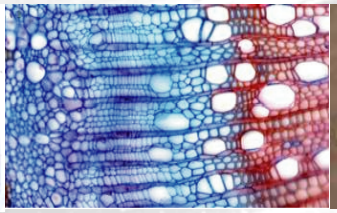
Structure Fédérative de Recherche « Agro-Sciences, Environnement et Développement Durable » CNRS 3417

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



INRA SCIENCE & IMPACT

AGPF

Unité Amélioration, Génétique & Physiologie Forestiéres
INRA Orléans
gilles.pilate@orleans.inra.fr

G. Bodineau

Unité Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières INRA-Orléans

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

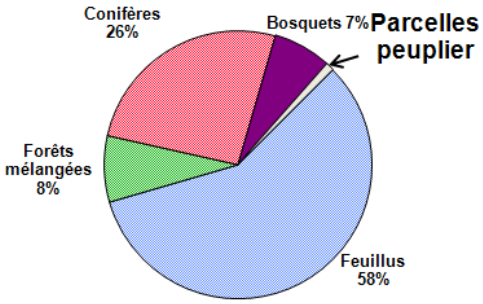
Projet d'unité

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

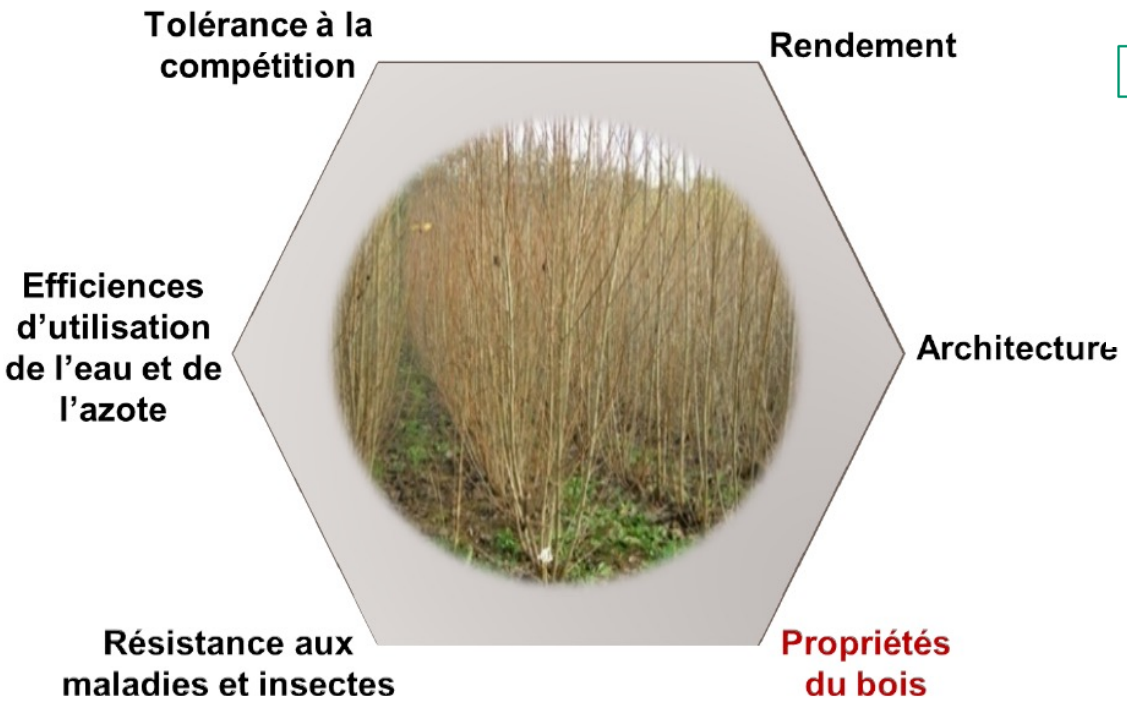
- **Taillis à Très Courte Rotation (TTCR)**
  - 10 000 à 15 000 tiges/ha,
  - Rotations de 2 à 3 ans,
  - Rendement : 12 – 15 t MS/ha/an
  - Produit : rejets (diam. 3-4 cm)
  - Plantation agricole, récolte agricole

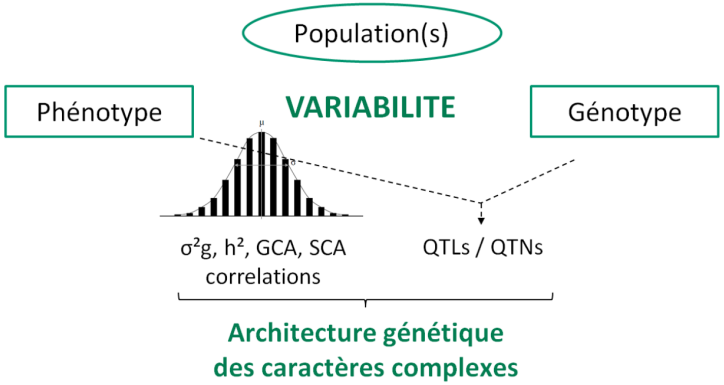
Interêt grandissant pour la biomasse ligno-cellulosique

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

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

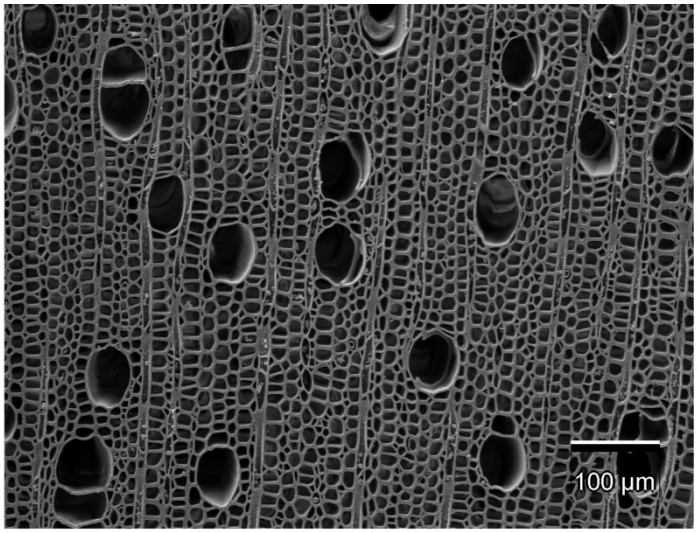
⇒ Déploiement de nouvelles variétés dédiées

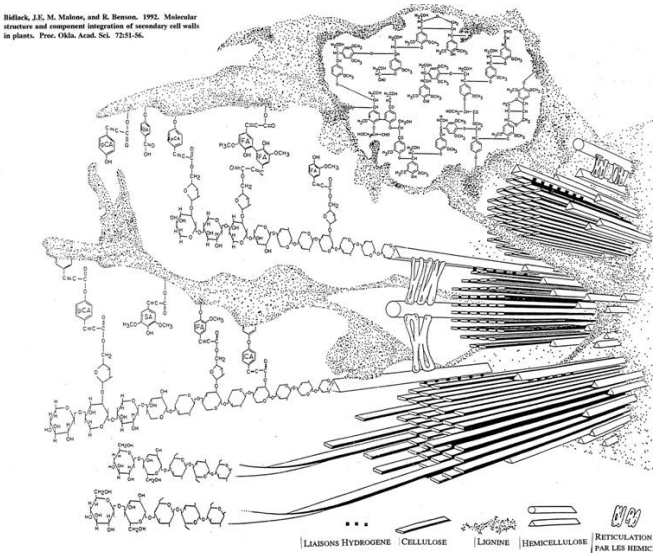




- Critère **phytosanitaire** : impact de la rouille foliaire intensifié par la densité de plantation.
- Critère de **productivité** : croissance juvénile en compétition, aptitude au rejet de souche.
- Critère « **Qualité de la biomasse** » : critères spécifiques à la production de biocarburants.

Propiétés 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
$\rightarrow$ teneur en sucres libérés par hydrolyse enzymatique

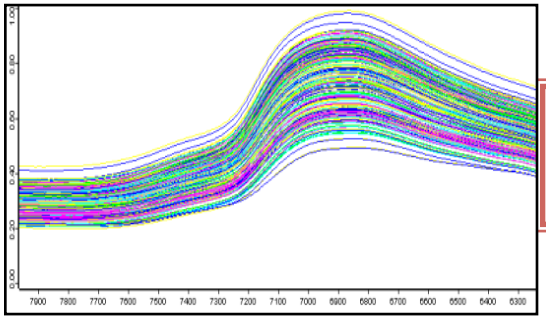
Dosages biochimiques couteux et surtout laborieux

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

Développement de phénotypage à haut débit

Evaluation indirecte par Spectrométrie Proche InfraRouge (SPIR)

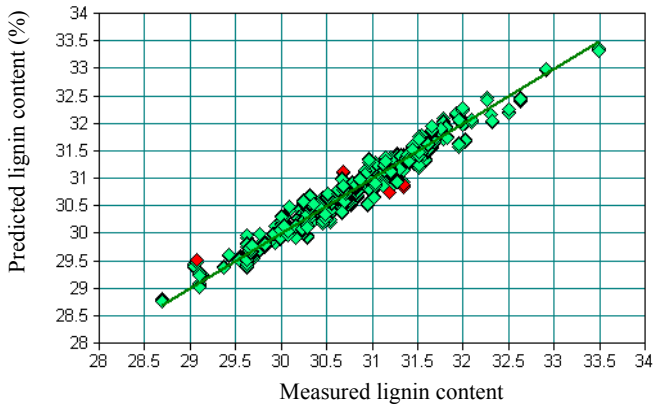
- Les informations d'un spectre IR peuvent être utilisées pour évaluer les propriétés physico-chimiques d'échantillons biologiques
- Calibration ou Étalonnage
  - construction d'un modèle prédictif
  - combinaison de spectres et mesures de référence dans un set de calibration
  - méthodes multivariées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

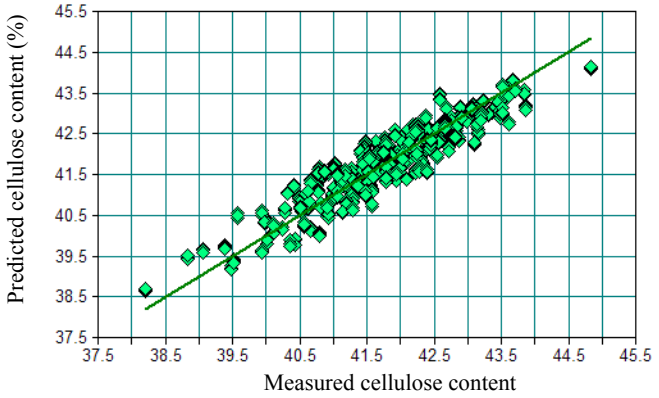


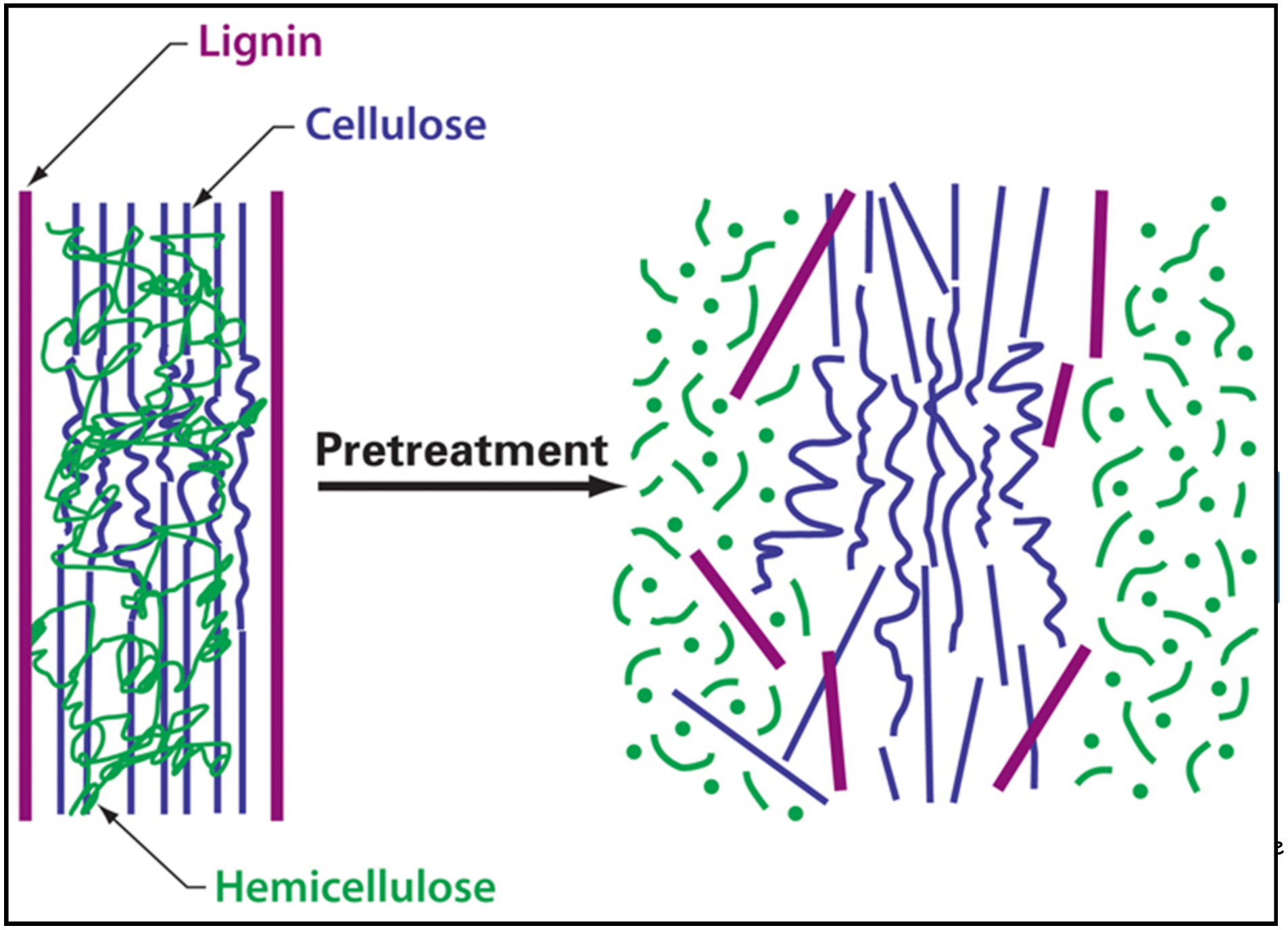
NIR spectra collection

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



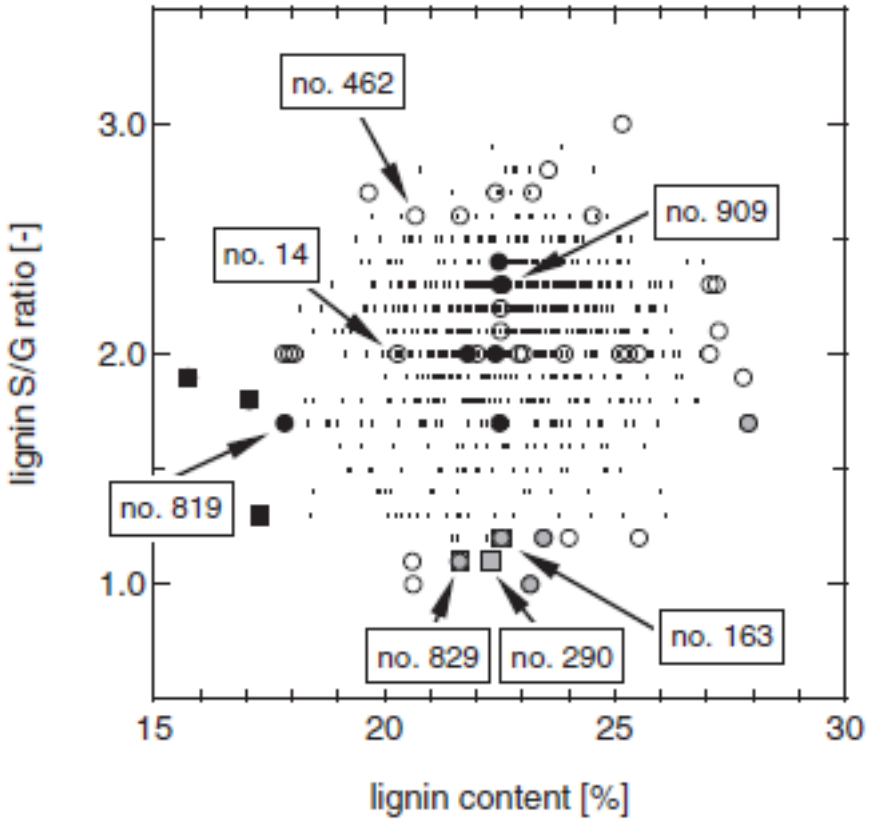



Lignin
Cellulose
Pretreatment
Hemicellulose

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

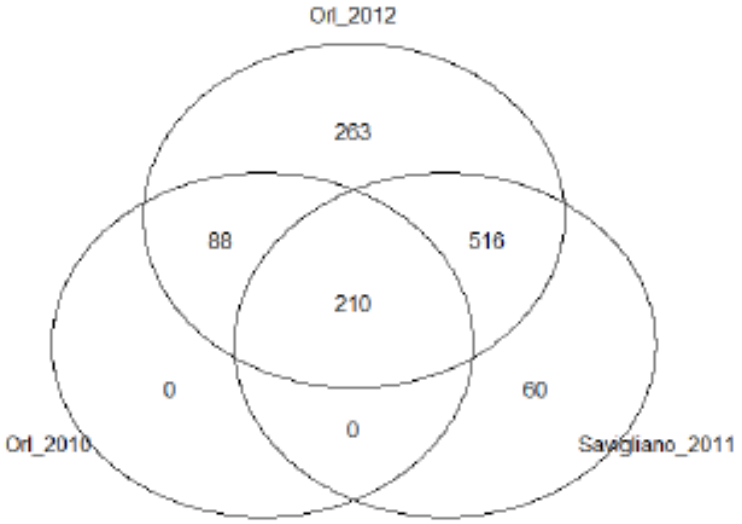
Stratégie basée sur des calibrations

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



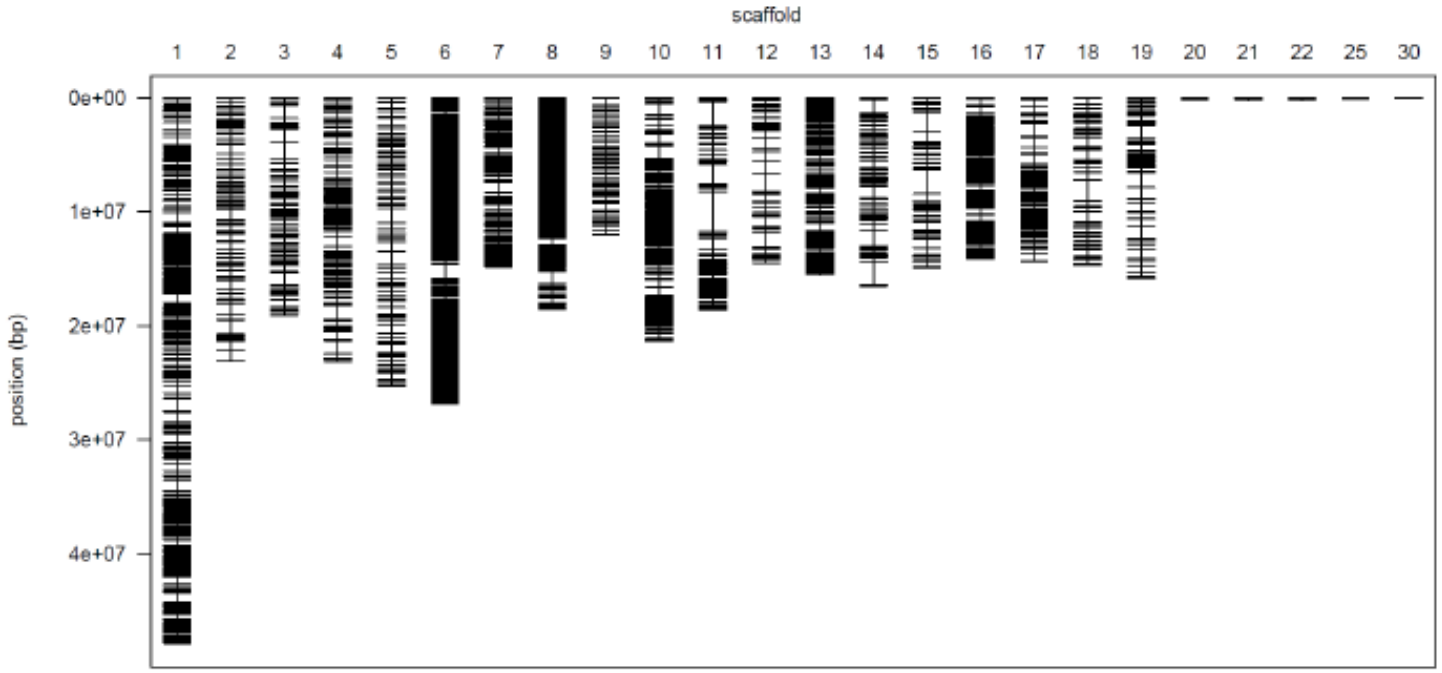
Analyses biochimiques sur des échantillons de référence:

- Teneurs en extractibles,
- Teneurs en lignines (Klason) et composition des lignines (S/G)
- Teneurs en sucres (HPLC)

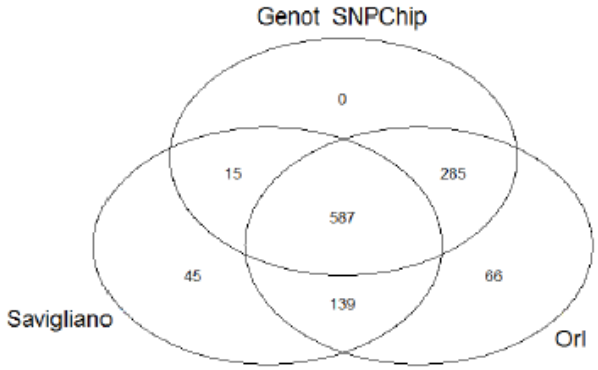
Test de saccharification

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 ?

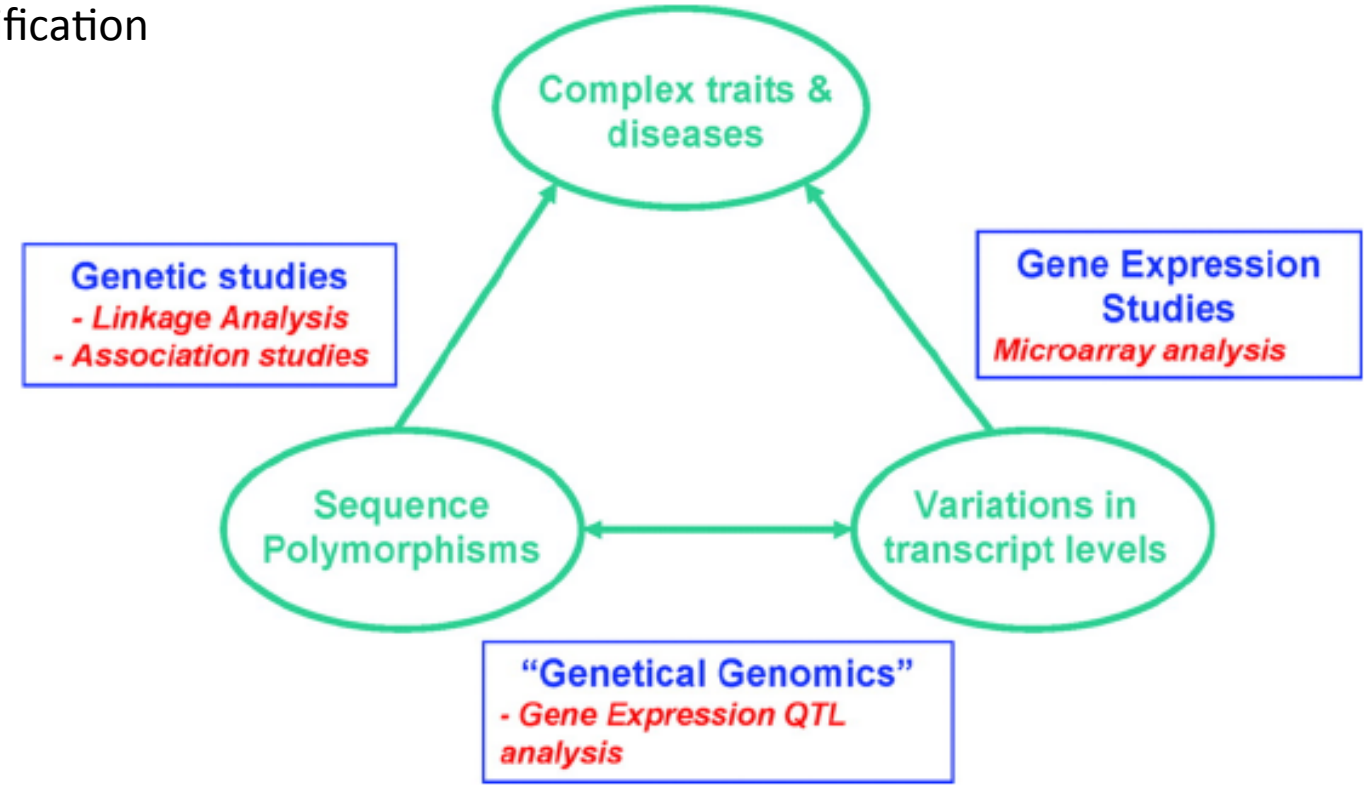
2) Transcriptomique : niveau d'expression des gènes exprimés dans le bois

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



Li & Burmeister, 2005, Hum. Mol. Genet

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

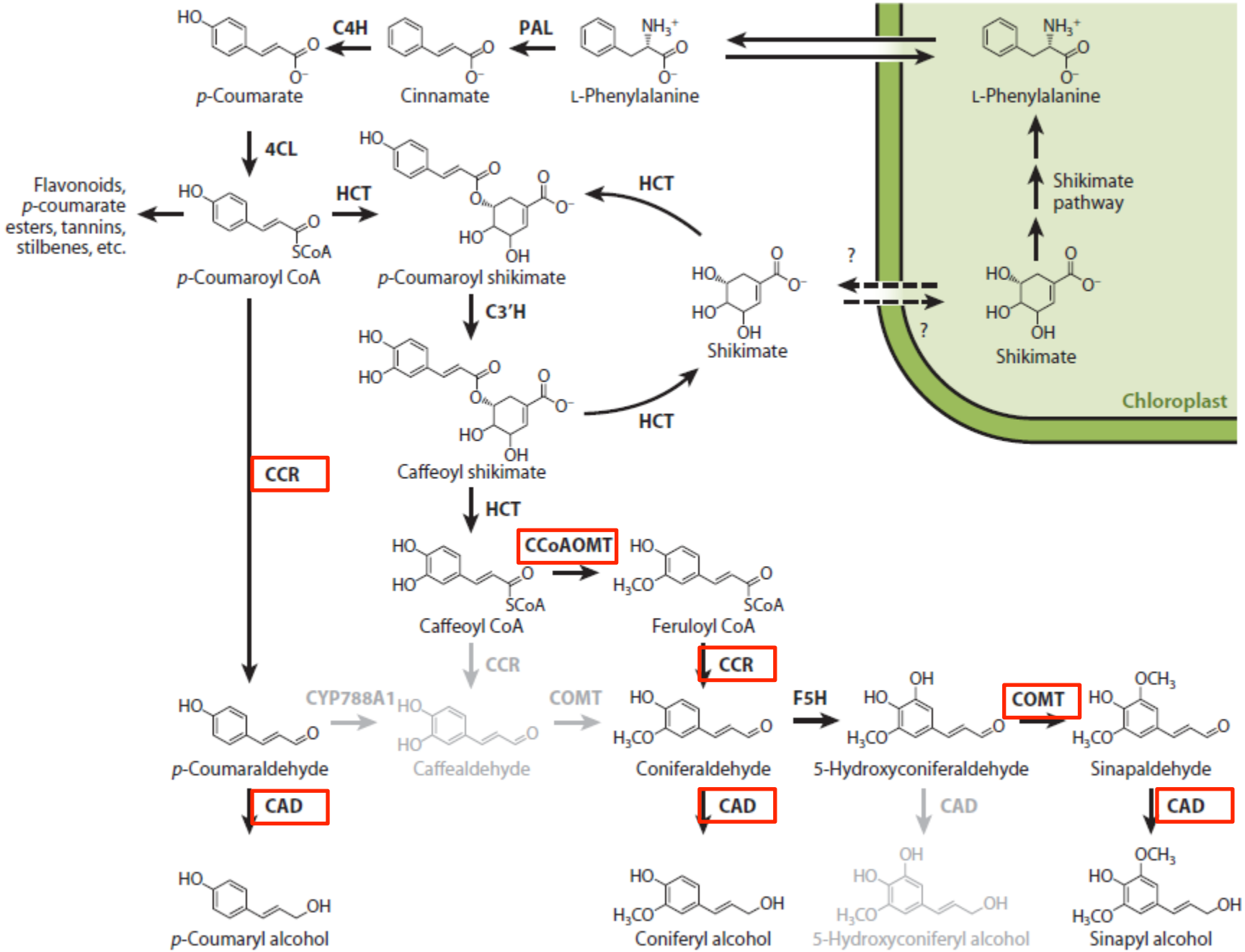

C4H
PAL
p-Coumarate
Cinnamate
L-Phenylalanine
L-Phenylalanine
Shikimate pathway
Chloroplast
4CL
Flavonoids, p-coumarate esters, tannins, stilbenes, etc.
HCT
p-Coumaroyl CoA
p-Coumaroyl shikimate
HCT
C3'H
Shikimate
Shikimate
?
?
Caffeoyl shikimate
HCT
CCR
CCoAOMT
Caffeoyl CoA
Feruloyl CoA
CCR
CCR
CYP788A1
COMT
F5H
COMT
p-Coumaraldehyde
Caffealdehyde
Coniferaldehyde
5-Hydroxyconiferaldehyde
Sinapaldehyde
CAD
CAD
CAD
CAD
p-Coumaryl alcohol
Coniferyl alcohol
5-Hydroxyconiferyl alcohol
Sinapyl alcohol

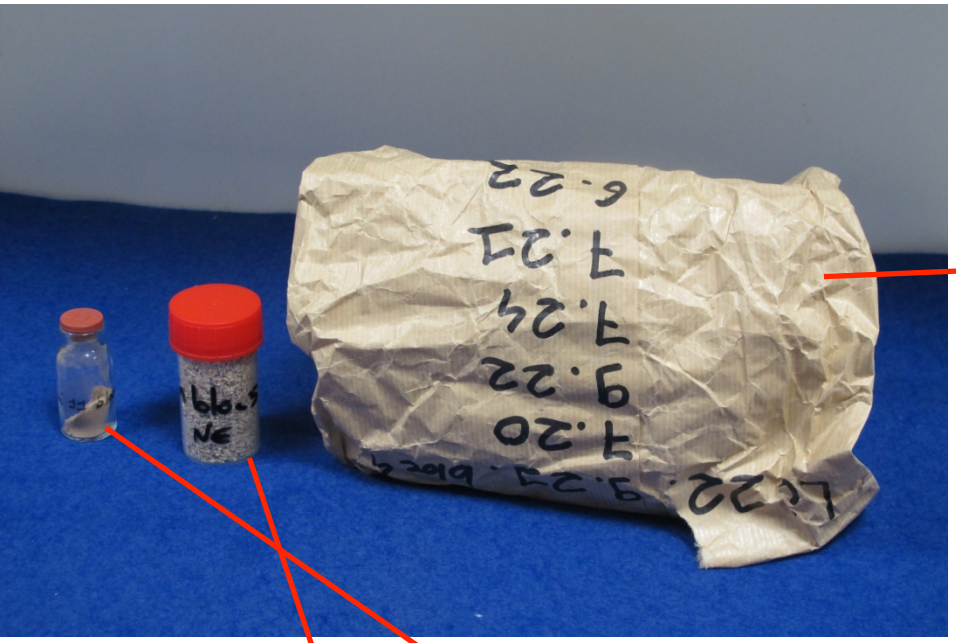
Figure 2

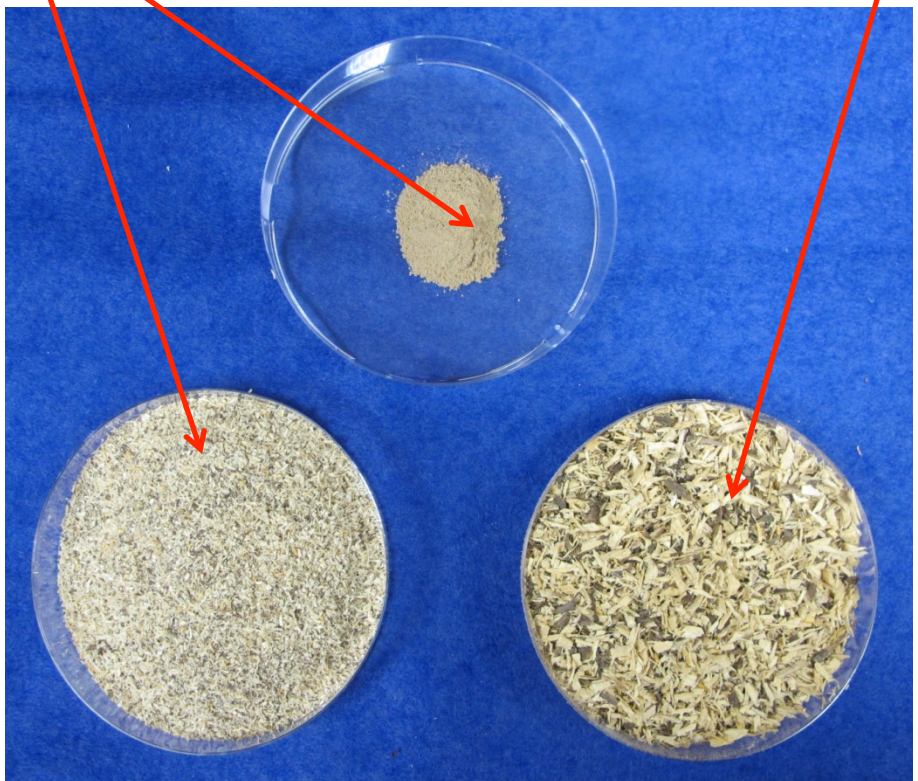
Récolte et échantillonnage de l'essai en Février 2012

energy poplar

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…

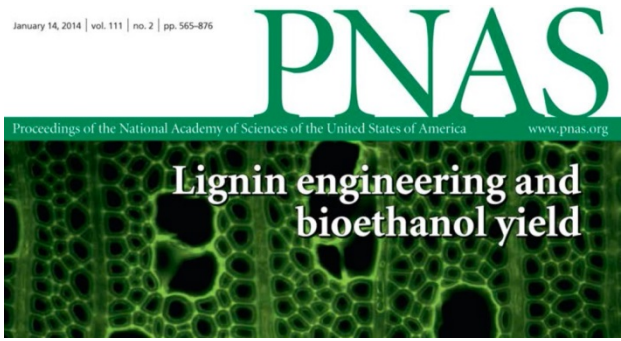
6mm particle size : SSF and Fast Pyrolysis Bio-Oils

1mm particle size for High Throughput Saccharification assay

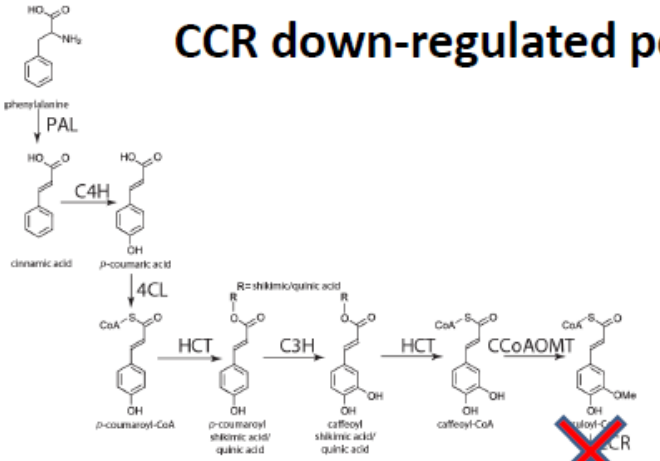
50µm particle size for Py-GC-MS and MIR and NIR

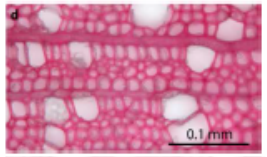
Improved saccharification and ethanol yield from field-grown transgenic poplar deficient in cinnamoyl-CoA reductase

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 Lapierre[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]

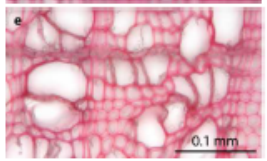


CCR down-regulated poplar





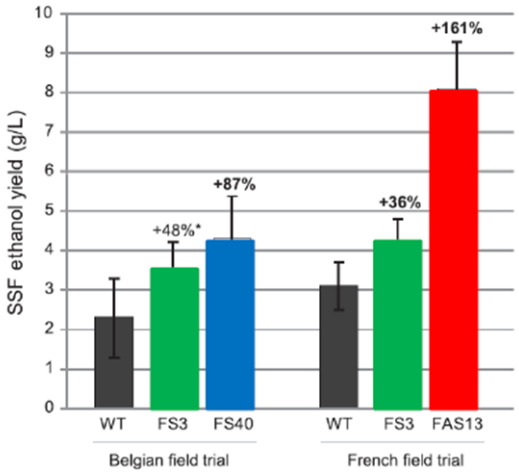
WT



CCR

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 trangénèse 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
- …

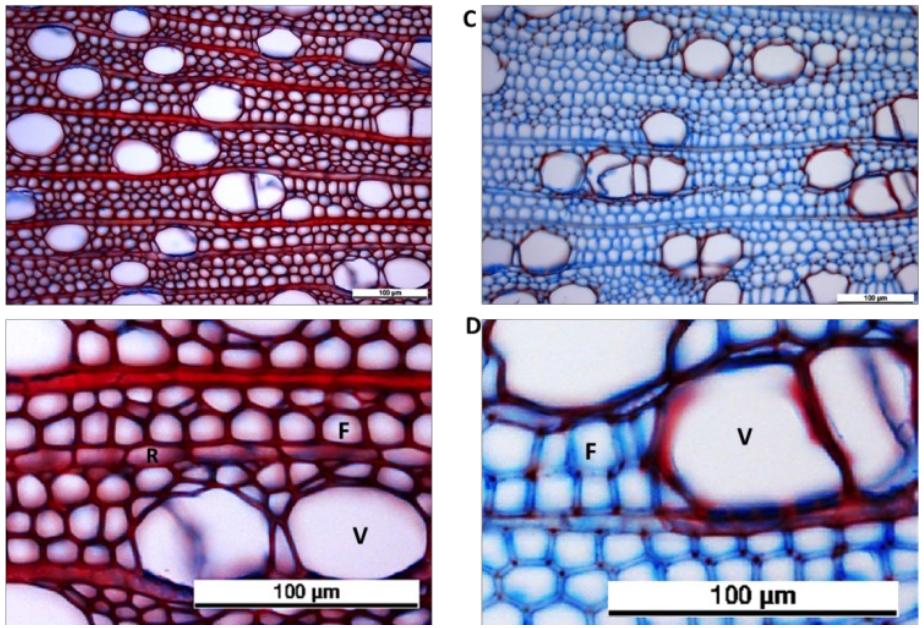
Perspectives

- 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



Safranin- Alcian Blue staining

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

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 Almeira
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

INRA SCIENCE & IMPACT