

Comment les levures œnologiques se sont adaptées à la fermentation du moût de raisin

THÉMATIQUE DE RECHERCHE :

Qualité microbiologique
des produits
et des procédés

*Deux équipes de recherche Inra, en collaboration avec le Centre national de séquençage, ont séquencé le génome d'une levure œnologique *Saccharomyces cerevisiae*. L'analyse de son génome a permis de mieux comprendre les mécanismes d'adaptation de cette levure à la fermentation du moût de raisin. Cette étude montre en particulier que plusieurs événements de transfert de gènes ont façonné le génome de cette souche et participent ainsi à l'évolution des levures œnologiques.*

Les levures *Saccharomyces cerevisiae* jouent un rôle primordial lors de l'élaboration des vins. Elles sont responsables de la transformation des sucres du moût de raisin en alcool et sont à l'origine de diverses molécules qui ont un impact sur les propriétés sensorielles du vin.

L'inoculation du moût de raisin avec des souches *S. cerevisiae* sélectionnées à partir de fermentations spontanées est une opération largement répandue (levurage) qui permet d'assurer le bon déroulement de la fermentation tout en limitant les risques d'altération. Le moût de raisin est très acide, riche en sucres et en alcool, pauvre en azote, lipides et vitamines et dépourvu d'oxygène. Il constitue un environnement très sélectif pour les microorganismes. L'adaptation des souches œnologiques à cet environnement stressant repose sur des propriétés spécifiques, en particulier leurs capacités fermentaires et leur résistance à l'alcool. Ces souches ont également été sélectionnées pour leur faible production de composés indésirables (acétate, H₂S) ainsi qu'une formation équilibrée de composés d'arômes.

Ces propriétés résultent d'une forte sélection par l'environnement œnologique et du criblage, par sélection humaine, de nombreuses souches afin de sélectionner les caractéristiques requises. Ces propriétés technologiques sont bien décrites. Par contre, on ne connaît pas leur origine génétique ni ce qui fait qu'une levure *S. cerevisiae* œnologique soit parfaitement adaptée à la fermentation du moût de raisin, contrairement à une autre souche de la même espèce.

DÉMARCHE DE RECHERCHE

Afin d'identifier les particularités génétiques qui permettent d'expliquer l'adaptation de cette levure à la fermentation œnologique, deux équipes de recherche de l'Inra de Montpellier et de Versailles-Grignon, en partenariat avec le Centre national de séquençage (Génoscope, Evry), ont réalisé le séquençage et l'analyse du génome diploïde *S. cerevisiae* EC1118, une des souches les plus utilisées pour inoculer le moût de raisin. Le génome de cette souche œnologique a été comparé à celui de la souche de laboratoire de référence.



↳ ÉTAT DES CONNAISSANCES

La comparaison des génomes montre que la souche EC1118 possède plusieurs dizaines de milliers de mutations par rapport à la levure de laboratoire. La souche œnologique est hétérozygote : elle possède deux génomes qui diffèrent par environ 10000 polymorphismes de séquence. Les chromosomes de la souche œnologique présentent plusieurs réarrangements par rapport à ceux de la souche de référence, en particulier une translocation qui, en modifiant l'expression d'un gène clé, permet une meilleure résistance aux sulfites.

L'adaptation aux conditions œnologiques a entraîné l'acquisition de plusieurs dizaines de nouveaux gènes. Ces gènes spécifiques ont un rôle dans le métabolisme, dans le transport des sucres et de l'azote, ou encore dans la gestion des stress environnementaux. Ces fonctions peuvent s'avérer très utiles à la levure lors de la fermentation du vin. Ces gènes sont fonctionnels pendant la fermentation œnologique et certains d'entre eux sont retrouvés dans de nombreuses autres souches œnologiques. Le fait qu'ils aient été conservés au cours de l'évolution suggère qu'ils apportent un avantage sélectif.

Ces gènes trouveraient leur origine dans le génome d'autres levures partageant vraisemblablement la même niche écologique. Ils ont été acquis par transfert horizontal, lors d'événements anciens et indépendants. Un des ancêtres est une levure appartenant à une espèce proche, non connue à ce jour. L'autre ancêtre a été identifié, il s'agit d'une levure plus éloignée génétiquement, fréquemment rencontrée comme contaminant dans le vin. Le flux génétique, favorisé par la proximité écologique, serait donc un facteur important pour l'adaptation des levures œnologiques à la fermentation du moût de raisin.

La connaissance du répertoire génique et des particularités structurales de EC1118 permet de mieux connaître les mécanismes qui ont participé à l'évolution et à l'adaptation de ces souches à la fermentation œnologique. L'enjeu des études actuelles est de relier les variations de séquence aux propriétés des souches. D'un point de vue industriel, ces connaissances sont essentielles pour identifier les gènes clés des propriétés technologiques et constituent une aide précieuse pour la sélection de souches. Elles offrent également de nouvelles perspectives en terme d'amélioration des souches.

How wine yeasts have adapted to grape must fermentation

RESEARCH AREA:

Microbiological quality
 of products and processes

*Two Inra research teams, working in collaboration with the National Sequencing Centre, have sequenced the genome of a wine yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. Analysis of its genome has enabled a clearer understanding of the mechanisms governing adaptation of this yeast to grape must fermentation. In particular, this study has shown that several gene transfer events have fashioned the genome of this strain and thus participated in the evolution of wine yeasts.*

**Saccharomyces cerevisiae* yeasts play an essential role in wine-making. They are responsible for transforming sugars in the grape must into alcohol, and are also the source of various compounds that have an impact on the sensorial properties of wine.*

The inoculation of grape must with *S. cerevisiae* strains selected from spontaneous fermentations is a widely employed process (yeasting) that ensures the satisfactory course of fermentation while limiting the risks of spoilage. Grape must is very acid; it contains high levels of sugars and alcohol, low levels of nitrogen, lipids and vitamins, and is devoid of oxygen. It constitutes a highly selective environment for micro-organisms. The adaptation of wine strains to this stressful environment is based on specific properties, particularly their fermentability and resistance to alcohol. These strains have also been selected for their low production of undesirable compounds (acetate, H₂S) and the balanced formation of aroma compounds.

These properties results from the detailed selection of numerous strains by the oenological environment and screening, as well as by human selection, so that the required traits can be chosen. These technological properties are well described. However, we do not know their genetic origin, or why a *S. cerevisiae* wine yeast is perfectly adapted to grape must fermentation, unlike another strain in the same species.

RESEARCH APPROACH

In order to identify the genetic specificities that could explain the adaptation of this yeast to wine fermentation, two INRA research teams in Montpellier and Versailles-Grignon, in partnership with the National Sequencing Centre (Genoscope, Evry), sequenced and analysed the diploid genome of *S. cerevisiae* EC1118, one of the strains most widely used to inoculate grape must. The genome of this wine strain was compared with that of a strain from a reference laboratory.



↳ STATE OF THE ART

Comparison of the genomes showed that strain EC1118 had several tens of thousands of mutations when compared to the reference yeast. The wine strain was heterozygous: it had two genomes which differ by about 10,000 sequence polymorphisms. Chromosomes of the wine strain exhibited several rearrangements when compared with those of the reference strain, and particularly a translocation which allows better resistance to sulphites by modifying the expression of a key gene.

Adaptation to oenological conditions has led to the acquisition of several dozen new genes. These specific genes affect metabolism, the transport of sugars and nitrogen and the management of environmental stresses. These functions may prove to be of considerable value to the yeast during wine fermentation. These genes are functional during wine fermentation, and some of them are found in numerous other oenological strains. The fact that they have been conserved during evolution suggests that they ensure a selective advantage.

These genes may originate from the genome of other yeasts that probably share the same ecological niche. They have been acquired through horizontal transfer during ancient and independent events. One of the ancestors is a yeast belonging to a neighbouring species, not known at present. The other ancestor has been identified as a more genetically distant yeast that is frequently encountered as a contaminant in wine. The gene flow favoured by ecological proximity may thus be an important factor in the adaptation of wine yeasts to grape must fermentation.

Knowledge of the gene repertoire and structural specificities of EC1118 has enabled a clearer understanding of the mechanisms that participated in the evolution and adaptation of these strains to wine fermentation. The challenge of current studies is to link sequence variations to the properties of different strains. From an industrial point of view, this knowledge is essential to identifying genes that are crucial to technological properties and would constitute a valuable aid in strain selection. It also offers new prospects in terms of strain improvement.

CONTACT

Sylvie Dequin, sylvie.dequin@supagro.fr

INRA-Montpellier SupAgro-University Montpellier | Joint Research Unit 1083 for Oenology

Montpellier Research Centre