



### FICHE PROJET DE THESE pour ANNEE 2018-2019

Fiche à adresser par voie électronique (format word), à l'Ecole Doctorale **avant le 15 janvier 2018** (délai de rigueur)

<b>Discipline du Doctorat</b> <i>Cf l'article 1<sup>er</sup> de règlement intérieur de l'ED Indiquer le n° à 7 chiffres et l'intitulé (tout ou partie selon le cas)</i>	4200006 - Aspects moléculaires et cellulaires de la Biologie
<b>Mention du Doctorat</b> <i>Cf l'article 1<sup>er</sup> de règlement intérieur de l'ED Indiquer le n° de la section CNU et l'intitulé</i>	Biochimie et Biologie moléculaire (64°)
<b>Domaine scientifique principal</b>	Génétique -
<b>Domaines scientifiques secondaires</b>	Biochimie - physiologie
<b>Entités de rattachement</b> - Centre de recherche (UMR LISA, UMR SPE, EA 7310, EA 7311, INRA) - Projet structurant ou UR	UMR AGAP INRA-CIRAD Corse – San Giuliano
<b>Direction de la thèse</b> - Directeur - Co-directeur éventuel envisagé Pour chacun, donner : (i) Nom, prénom, grade ; (ii) tél et E-mail ; (iii) préciser la qualité d'HDR (ou non-HDR) pour les Docteurs qui ne sont ni PR ni DR ; (iv) établissement d'affectation pour les extérieurs Préciser si une convention (de codirection ou de cotutelle) est envisagée	Directeur : Luro François CR1 tél: 04 95 59 59 46 <a href="mailto:francois.luro@inra.fr">francois.luro@inra.fr</a> HDR, INRA (UMR AGAP corse)  Co-directeur : Tomi Félix Pr UCPP <a href="mailto:tomi.f@univ-corse.fr">tomi.f@univ-corse.fr</a> UMR SPE
<b>Collaborations extérieures éventuelles envisagées</b> Université, Grand organisme, Entreprise	Scé Rémy Cointreau
<b>Type de financement visé</b> <i>(barrer les mentions inutiles)</i>	<b>Contrat d'Entreprise : CIFRE COINTREAU</b>
<b>Connaissances et compétences requises chez l'étudiant –</b> Préciser le (les) Master(s) dont le projet de thèse est une suite	Le candidat devra maîtriser les concepts et méthodes permettant d'appréhender la structure des génomes (, la variation des caractères et la cartographie génétique. Ainsi, il devra avoir des connaissances académiques et des compétences parmi les champs disciplinaires suivants : bio-informatique, génomique, génétique et biochimie. Il devra avoir une formation solide et une pratique de la gestion et de l'analyse de données (maîtrise de R) et des outils bio-info de l'analyse des données de séquence de l'ADN. Un fort intérêt pour la biologie de la plante et l'expérimentation de terrain est aussi nécessaire. Le/la candidat(e) aura également une motivation importante pour l'interdisciplinarité, le travail en équipe, et le co-encadrement de stagiaires. Autonomie, sens de l'organisation et rigueur méthodologique sont indispensables. Le permis B est obligatoire.

<b>Titre de la thèse</b>	<b>Etudes des diversités génétiques et biochimiques (huile essentielle de zest) des orangers et des bigaradiers et de l'hérédité d'expression des composés aromatiques</b>
<b>Abstract 1</b> (5-8 lignes, police Arial 10) : Présentation concrète du projet de thèse – Aspects scientifiques <i>Finalité, méthodologie et problématique, intérêt scientifique, caractère innovant</i>	Pour mieux contrôler la qualité du produit transformé (le spiritueux) il est nécessaire de s'assurer de la qualité de la matière première, le fruit (orange et bigarade). L'objectif est donc l'évaluation de la diversité génétique par des outils de prospection du polymorphisme de position d'éléments transposables dans le génome des variétés étudiées et en parallèle celle de la composition chimique et sensorielle des huiles essentielles, son hérédité et déterminer quelques facteurs environnementaux impactant sa qualité sensorielle.
<b>Abstract 2</b> (5-8 lignes, police Arial 10) : Présentation des enjeux de la thèse <i>Adéquation avec la politique scientifique de l'UCPP - Intérêt de la recherche dans le cadre du développement régional</i>	La thèse s'appuiera sur des ressources biologiques présentes en Corse (Inra de San Giuliano) et sera en quête de variétés et de procédés de préparation de la matière première, améliorés. Ce sera l'occasion de valoriser l'environnement (climat, variété, savoir-faire) de la Corse dans la production agrumicole. La thèse s'accorde parfaitement avec les thématiques scientifiques d'AGAP et de l'UCPP.
Explicitation sur page suivante	

**Dossier de candidature** : une lettre de motivation (une page maximum), un CV détaillé incluant notamment les notes de M1-M2, les coordonnées de personnes pouvant vous recommander, et toute autre pièce qui vous paraît utile en lien avec les compétences attendues

**Dépôt de dossier avant le 12 septembre 2018** à Luro François ([francois.luro@inra.fr](mailto:francois.luro@inra.fr))

**Sélection finale** des candidats par entretien oral : 17 et 18 de septembre 2018

**Début de thèse** : 1<sup>er</sup> octobre 2018 Durée : 3 ans

**Montant brut annuel de la bourse CIFRE** : 32 878 €

## Explicitation du Projet de thèse

1°) Présentation des aspects scientifiques du projet de thèse (1 page environ, police Arial 10)

*Finalité, méthodologie et problématique, intérêt scientifique, caractère innovant*

Les agrumes se caractérisent par la présence d'huiles que l'on retrouve aux niveaux de la peau des fruits, des feuilles et des pétales de fleurs. Cette huile dite essentielle est un mélange complexe de plusieurs dizaines (voir centaines) de molécules qui pour la plus part portent un caractère odorant particulier, plus ou moins fort. La composition de cette huile essentielle varie en qualité et en quantité selon les tissus (feuilles/fleurs/zests) selon les espèces et selon les conditions de culture. Sa composition a souvent été utilisée pour étudier la diversité entre variétés ou entre espèces (Lota et al. 2001a,b, 2002 ; Kirbaslar & Kirbaslar 2006 ; Dugo et al. 2011 ; Delor & Naef 2011, Luro et al. 2012). Les composés organiques volatils (COV) libérés dans l'atmosphère environnante joueraient un rôle infochimique dans l'interaction biotique (Blée, 2002, Niinemets et al., 2013) et aussi dans l'acclimatation au stress abiotique. Les COV sont souvent considérés comme un mécanisme permettant aux plantes de réagir aux stress et d'en atténuer les conséquences négatives (Loreto et Schnitzler, 2010).

Les huiles essentielles d'agrumes sont très utilisées par l'industrie cosmétique, par la parfumerie, ou l'industrie agroalimentaire. Elles ont également des propriétés anxiolytiques, antiseptiques et antioxydatives encore peu exploitées par la médecine conventionnelle (Besignano et al. 2011). La société Cointreau fabrique un alcool à partir de l'huile essentielle de bigarade et d'orange.

La matière première utilisée pour extraire l'huile est l'écorce du fruit séchée. Les arbres sont cultivés dans des pays hors de l'UE. La qualité de cette matière première est très fluctuante et les huiles extraites doivent être mélangées avec d'autres extraits pour obtenir la répétabilité et la qualité de l'expression sensorielle du produit final. L'origine de cette fluctuation est inconnue et sans outil de traçabilité on ne peut l'attribuer à un mélange variétal, des techniques culturales ou des procédés de séchage non standardisés. La société Cointreau souhaite donc mieux contrôler la qualité de la matière première par le développement d'outils de traçabilité et des procédés pour un optimum de qualité. Une étude de la diversité variétale sur le plan aromatique (chimique et sensorielle) pourrait conduire à la sélection d'une variété répondant mieux aux attentes. Pour compléter, la diversification des produits fait partie des objectifs de la société. Elle souhaite exploiter les potentialités aromatiques de l'huile essentielle d'un autre agrume, l'orange. Dans la perspective de la création d'une variété avec une composition aromatique conforme aux attentes

(combinaison d'orange et de bigarade) une étude de l'hérédité des composés aromatiques est requise pour produire des marqueurs génétiques de sélection précoce, car les agrumes sont des arbres avec une longue phase juvénile (5 à 8 ans).

Pour répondre à ces attentes la thèse s'articule autour de 3 objectifs :

- 1) Etudier la diversité génétique, aromatique et sensorielle des oranges et oranges amères du CRB agrumes INRA-CIRAD de San Giuliano et des variétés travaillées par Cointreau,
- 2) Etudier l'hérédité des composés aromatiques de l'orange et développer des marqueurs génétiques de sélection précoce de ces mêmes composés,
- 3) Evaluer l'effet de facteurs « environnementaux » sur la composition et l'expression sensorielle de l'huile essentielle des zests d'oranges et d'oranges amères.

Les méthodologies qui seront développées associeront des méthodes d'analyse du génome (séquençage NGS, marqueurs de transposons, carte génétique, GBS) des composés volatils (CPG –SM) et d'analyse sensorielle et se baseront sur la disponibilité des ressources génétiques CRB agrumes INRA-CIRAD (150 accessions d'oranger et 40 de bigaradier et une population en ségrégation de 120 hybrides avec l'orange et la clémentine comme parents). L'étude de diversité génétique des agrumes ayant évolué uniquement par mutations, basée sur la mobilité des éléments transposables dans le génome a souvent été prospectée sur plusieurs espèces végétales mais peu chez les agrumes où seul l'origine génétique du caractère rouge de la pulpe des oranges sanguines a été élucidée (Butelli et al. 2012). La technique GBS pour l'analyse des génomes expérimentée depuis 2 ans par notre équipe est une approche rapide à moindre coût pour l'obtention de cartes génétiques avec une forte densité de marqueurs. Les études d'hérédité des composés aromatiques sont peu développées car font appel à des jurys d'experts en analyse sensorielle que beaucoup de laboratoire en chimie ne disposent pas. Le partenariat entre la société Cointreau, l'UMR AGAP corse et l'UMR SPE de l'Université de Corse apporte toutes les compétences nécessaires au bon déroulement de cette thèse.

2°) Présentation des enjeux de la thèse (1 page environ, police Arial 10)

*Adéquation avec la politique scientifique de l'UCPP - Intérêt de la recherche dans le cadre du développement régional.*

*Les enjeux de la thèse en termes d'application des résultats concernent à la fois les structures de recherche (UMR INRA-CIRAD et UCPP) et la société privée Rémy-Cointreau (demandeur et financeur de la thèse).*

*Pour l'UMR SPE de l'UCPP (laboratoire de chimie et biomasse) ce sujet est dans les thématiques de recherche « diversité des composés aromatiques des agrumes », et plus pour assoir leur expertise que pour implémenter leur base de données puisque le sujet proposé est basé sur des variétés déjà analysées par le passé (Thèse Marie Laure Lotta 2000) mais avec des appareils moins performants que ce de dernière génération (seuil de détection plus bas) que le laboratoire dispose aujourd'hui. Ce laboratoire de l'UMR SPE a développé depuis plus de 20 ans une collaboration avec la station INRA de San Giuliano sur l'étude de la diversité des agrumes selon la composition de leurs huiles essentielles qui ont fait l'objet de sujets de stages d'IUT, de Master ou de thèses.*

*Par ailleurs, contrairement aux analyses faites par le passé où la quantification était proportionnelle à la somme des aires de surface des pics détectés par la chromatographie, nous envisageons cette fois ci de mesurer les composés en vraies valeurs quantitatives exprimées en unité de masse par volume d'huile essentielle analysé et permettra ainsi d'aborder la génétique quantitative.*

*Grâce au partenariat avec la société Rémy-Cointreau c'est aussi l'occasion de parfaire les connaissances sur les combinaisons molécule aromatique et expression sensorielle, secteur où les compétences ne sont pas très présentes et pourtant nécessaires dans le développement des programmes de création variétale.*

*Pour l'UMR INRA-CIRAD il s'agit de disposer d'outils de marquage génétique qui permettent une identification variétale dans les taxons ayant évolué par mutation (outils de traçabilité pour la gestion du CRB) et de marqueurs de sélection précoce des locus impliqués dans l'expression de caractères d'intérêt (pour la sélection assistée par marqueurs).*

*La société Rémy-Cointreau n'exploite pas (encore) d'oranges douces ou amères produites en Corse mais serait intéressée de connaître l'effet du Terroir de Corse sur la qualité organoleptique de la liqueur. On peut d'ores et déjà considérer que les conditions environnementales particulières de la Corse propices à une agrumiculture de qualité et une production qui tend de plus en plus vers une agriculture biologique (du moins sans pesticides) pourraient être des atouts en faveur d'un développement d'une activité agricole dédiée à la fabrication de cette liqueur. Le partenariat avec Rémy-Cointreau n'est pas nouveau et a déjà débuté depuis quelques années avec l'utilisation de variétés d'oranges sanguines de la collection Inra-Cirad pour le développement d'une liqueur « cointreau blood orange » (<https://www.licorea.com/cointreau-blood-orange-p-2951.html?language=fr>).*