FACULTE D'AGRONOMIE ET BIO-INGENIERIE

DEPARTEMENT SCIENCES DES PRODUCTIONS VEGETALES

COURS DE BIOTECHNOLOGIES VEGETALES

Par Dr. Samson MUSONERIMANA, PhD.

Table des matières

Liste des figures 6
Liste des tableaux 7
Introduction 8
Chapitre I : Les progrès de la Biotechnologie 8
I.1. Définition de Biotechnologies 8
I.2. Les grands domaines de la biotechnologie 9
I.2.1. Le domaine agricole (biotechnologies vertes) 9
I.2.2. Le domaine de la santé (biotechnologies rouges) 9
I.2.3. Le domaine de l'industrie (biotechnologies blanches): 10
I.2.4. Le domaine de la biodiversité marine (biotechnologies bleues) 10
I.2. 5. Le domaine de la protection de l'environnement (biotechnologies jaunes): 11
I.3. Outils de la biotechnologie végétale 11
I.3.1. La culture « in vitro » 11
I. 3.2. Les plantes modèles 11
I.3.3. Biologie moléculaire et génie génétique 11
I.3.4. La bioinformatique 11
I.4. Objectifs et intérêts de la biotechnologie végétale 12
I. 4.1. Participer à l'avancée des connaissances 12
I. 4.2. Augmenter la biodiversité 12
I.4.3. Contribuer à un meilleur environnement 12
I.4.4. Améliorer la qualité sanitaire des aliments 12
I.5. La place des biotechnologies 12
I. 5.1. Connaître le génome 13
I. 5.2. Diminuer la durée de création. 13
Chapitre II : Les Cultures in vitro Végétales 14
II.1. Introduction 14
II.2. Définition 14
II.3. Les conditions de la culture in vitro : 14
II.3.1. Les explants 14
II.3.2. Le milieu synthétique 15
II.3.3. Les conditions stériles 17
II.3.4. L'environnement contrôlé 17
II. 3.5. L'espace est réduit 18

II. 4. Les Propriétés de la culture in vitro 18
II. 5. Techniques de Culture in vitro 19
II. 6. Etapes des cultures 19
II. 6.1. La mise en place des cultures (la plus délicate et difficile) 19
II. 6.2. La multiplication 20
II. 6.3. L'enracinement 20
II. 6.4. Le sevrage ou L'acclimatation 21
II. 7. Les applications de la culture in vitro 21
II. 8. L'intérêt de la Culture in vitro pour l'homme 22
II. 8.1. L'assainissement des végétaux 22
II. 8.2. La multiplication de masse 22
II. 8.3. L'accroissement de la diversité : 22
II. 8.4. La production de nouvelles espèces/variétés ou de plantes stériles : 22
II. 8.5.La multiplication de plantes sélectionnées pour : 22
II. 8.6. La sélection de plantes résistantes 22
Chapitre III : L'ADN recombinant 23
III.1. Définition 23
III.2. Technologies de l'ADN recombinant 23
III.2.1. Clonage des gènes 23
III.2.2 Les vecteurs de clonage 25
III. 2.3. Construction de "banques de gènes" 27
III 2.4. Préparation des vecteurs recombinés 29
III. 2.5 Exploitation des banques 29
Chapitre IV : La micro propagation : les techniques de culture in vitro – 32
IV. 1. Introduction 32
IV.2. Définition 32
IV.3. Différentes méthodes de culture in vitro 32
IV.3.1. La micro propagation in vitro ou le clonage végétal 33
IV.3.2. La culture de méristèmes ou l'élimination 35
IV.3.3. L'embryogénèse somatique 36
IV.3.4. L'haplo-diploïdisation ou la création de lignées pures 37

IV.3.5. Création de la variabilité (Mutagénèse) 39
IV.3.6. Le sauvetage des embryons 39
IV.4. Autres techniques 40
IV.4. 1. Obtention de protoplastes et fusion des protoplasmes 40
IV.4.2. Transformation génétique 41
IV.5. Les avantages de la culture in vitro 42
IV.6. Quelques Exemples historiques de la mise au point de la multiplication végétative in vitro 43
Chapitre V : Métabolisme des plantes (Primaire) 45
V.1.Introduction 45
V.2. Les différents Métabolites Primaires 45
V.2. 1. Acides aminés et protéines 46
V.2. 2. Lipides 48
V.2. 3. Glucides 49
V.2. 4. Nucléotides 52
V.3. Catabolisme 53
V. 3.1. Digestion 53
V. 3.2. Libération de l'énergie des composés organiques 54
V. 4. Énergie et métabolisme 54
V. 4. 1. Phosphorylation oxydative 54
V. 4.2. Libération de l'énergie des composés inorganiques 55
V. 4. 3. Absorption de l'énergie lumineuse 55
V. 5. Anabolisme 55
V. 5.1. Glucides et glycanes néoglucogenèse, cycle du glyoxylate, glycogénogenèse et glycosylation. 56
V. 5.2. Protéines 56
V. 6. Régulation et contrôle du métabolisme 57
V. 7. Thermodynamique du métabolisme 57
V. 8. Métabolisme et température 58
Chapitre VI : Métabolisme secondaire 59
VI.1. Introduction 59
VI.2. Les métabolites secondaires (ou produits naturels des plantes) 59
VI.3. Fonctions des métabolites secondaires 59
VI.4. Réponses allélopathiques 60
VI.5. Principes généraux de classification des métabolites secondaires 61
VI.5.1. Les terpénoïdes 61

VI.5.2. Les Alcaloïdes 62
VI.5.3. Les Molécules Phénoliques 64
VI.6. La phytothérapie 67
VI.6.1. Historique 67
VI.6.2. Définition de la phytothérapie : 67
VI.6.3. Définition des plantes médicinales : 68
VI.6.4. Différents types de la Phytothérapie : 68
VI.6.5. Avantages de la phytothérapie : 68
Chapitre VII : Produits végétaux (alimentaires et agricoles) 69
VII.1. Introduction 69
VII.2. Les produits végétaux primaires 70
VII.3.Les produits primaires des cultures temporaires: concepts, couverture et recommandations générales 70
VII.3.1. Le concept de superficie. 70
VII.3.2. La superficie couverte. 71
VII.3.3. Les cultures associées ou cultures mixtes. 71
VII.3.4. Les cultures successives. 71
VII.3.5. Les cultures itinérantes. 71
VII.3.6. Les cultures en serre ou sous abri. 71
VII.3.7. Les concepts de rendement et de production. 72
VII.3.8. La couverture du rendement et de la production. 72
VII.4. Définition et classification des produits primaires des cultures temporaires et recommandations spécifiques 72
VII.4.1. Les céréales 72
VII.4.2. Les légumes secs 73
VII.4.3. Les racines et les tubercules 74
VII.4.4. Les plantes saccharifères. 74
VII.4.5. Les plantes oléifères (des cultures temporaires exclusivement) 75
VII.4.6. Les plantes à fibres 76
VII.4.7. Les légumes. 77
VII.4.8. Le tabac. 78

VII.4.9. Les plantes fourragères 78
VII.5. les produits primaires des cultures permanentes : concepts, couverture et recommandations générales 79
VII.5.1. Le concept de superficie. 79
VII.5.2. La superficie couverte..... 79
VII.5.3. Les cultures mêlées et les arbres disséminés. 79
VII.6. Les produits primaires des cultures permanentes : 80
VII.6.1. Les fruits et les baies 80
VII.6.2. Les fruits à coque 81
VII.6.3. Les plantes oléifères 81
VII.6.4. Les épices, condiments et plantes aromatiques. 82
VII.6.5.Les autres cultures permanentes..... 82
Chapitre VIII : Protection des plantes 84
VIII.1. Introduction 84
VIII.2. les ennemis des cultures 84
VIII. 3. Méthodes alternatives en protection des plantes 84
VIII. 3.1. Produits phytosanitaires 84
VIII. 3.2. Protection des plantes contre le froid 85
VIII. 3.3. Protection des plantes contre les oiseaux 85
VIII. 3.4. Protection des plantes contre les insectes 85
VIII. 3.5. Protection des plantes contre les maladies 87
VIII. 4. Protection Intégrée : Concept et définitions 88
VIII. 5. Stratégies de Protection Intégrée 89
VIII. 6. Les principes généraux à respecter pour insérer la protection intégrée dans les programmes d'intensification durable..... 89
VIII. 7. Les méthodes de protection des plantes 89
VIII. 8.Protection internationale des plantes..... 90
VIII. 9. Mise sur le marché et échanges intracommunautaires 91
VIII. 10. Importations en provenance d'États tiers 91
Partie Travaux Pratiques et diriges (TP, TD) 92
Références Bibliographiques 93

Liste des figures

Figure 1 le matériel végétal d'une plante 15
Figure 2 la balance hormonale de la plante in vitro 16
Figure 3 Conditions stériles ; a : vitroculteur, b : Hotte à flux laminaire, c : chambre climatisée. 17
Figure 4 chambre de culture (=environnement contrôlé). 18
Figure 5 Schéma explicatif de la totipotence 19
Figure 6 La mise en place 20
Figure 7 la multiplication 20
Figure 8 L'acclimatation 21
Figure 9 Clonage des gènes 24
Figure 10 Transformation par un plasmide recombiné 25
Figure 11 Des exemples des vecteurs de clonage : Plasmide 25
Figure 12 Construction d'une banque d'ADN complémentaires 28
Figure 13 Les étapes de préparation d'un clone 29
Figure 14 le micro bouturage du rosier à partir d'un seul fragment de rosier 33
Figure 15 Exemple d'une culture in vitro par de microbouture 34
Figure 16 Sauvetage d'embryons interspécifiques 40
Figure 17 l'obtention de protoplastes et leur fusion 41
Figure 18 la nature du contenu informationnel d'ADN 42
Figure 19 Cycle de Crebs 54
Figure 20 Réponses allélopathiques 60
Figure 21 Précurseur : isopentenyl diphosphate 62
Figure 22 Les Alcaloïdes 63
Figure 23 Utilisation des alcaloïdes (drogues et poisons) 63
Figure 24 Le groupe phénol chez les Molécules Phénoliques 64
Figure 25 Lignine des parois végétales 65
Figure 26 structure de flavonoides 66
Figure 27 Protection du rayonnement UV 66
Figure 28 Protection des plantes contre le froid 85
Figure 29 Protection des plantes contre les insectes 86
Figure 30 Différents pièges (pièges colorés, à phéromones et autres pièges à appât, etc.) 86
Figure 31 Les différentes méthodes de lutte contre les ennemis naturels 90

Liste des tableaux

Tableau 1 les hormones végétales 16
Tableau 2 Des exemples..... 26
Tableau 3 Teneur en protéines des principaux aliments végétaux..... 47
Tableau 4 La teneur en protéines foliaires de certains végétaux 48
Tableau 5 L'utilisation de certains dérivés de la cellulose dans le domaine industriel (alimentaire essentiellement et autre)..... 50
Tableau 6 Classification des êtres vivants d'après leur métabolisme 53
Tableau 7 Type et origine des métabolites secondaires 61
Tableau 8 Quelques exemples de la protection des plantes contre les insectes 87
Tableau 9 Quelques exemples de la protection des plantes contre les maladies..... 88

Introduction

Les biotechnologies végétales sont des technologies qui recouvrent toutes les interventions en laboratoire sur les organes, les tissus, les cellules ou l'ADN des végétaux, soit pour mieux maîtriser ou accélérer leur production, soit pour améliorer leurs caractéristiques, au service de la recherche, de l'agriculture ou de productions industrielles. Ainsi que la maitrise de la protection de ces produits végétaux à différents niveaux.

Dans ce contexte, ce document est réparti en sept chapitres destiné aux étudiants BAC3 SPV FABI. Le premier chapitre présente les progrès de la biotechnologie, le deuxième la culture in vitro ; le troisième est ADN recombinant, la clé du monde biotechnologique. le quatrième traite les différentes techniques de la micro propagation, le cinquième et le sixième chapitres illustrent le métabolisme des plantes ou la biochimie végétale soit au niveau des métabolites primaires ou aux métabolistes secondaires, le septième chapitre résulte les différents produits végétaux issus de toute la flore terrestre .Le dernier chapitre explique la protection des plantes pour une agriculture durable.

Chapitre I : Les progrès de la Biotechnologie

La biotechnologie au sens large du terme, est l'utilisation de microorganismes ainsi que des cellules végétales, animales ou humaines pour la production de certaines substances à l'échelle agroalimentaire et industrielle. La biotechnologie végétale étudie les plantes et les cultures de tissus végétaux, vu leur importance en production d'aliments, de matière première et de médicaments. D'autre part, la culture d'organismes végétaux unicellulaires pour la production de biomasse ou l'extraction de produits de haute valeur ajoutée est une pratique qui augmente de jour en jour, à mesure que se développe la biologie moléculaire. Enfin, les techniques de la culture « in vitro » et la reproduction de plantes modifiées, via les techniques de génie génétique, ont déjà été expérimentées avec succès. Ces technologies permettent de remédier aux carences, d'améliorer les espèces et de mettre en place une résistance aux fléaux et aux maladies de nombreuses espèces végétales.

I.1. Définition de Biotechnologies

« Biotechnologie » est un terme relativement récent, puisqu'il est apparu pour la première fois vers 1960. IL est compose de bios (« vie » en grec) et de technologie (entré dans la langue française en 1656, au sens d'« étude des outils, machines et matières premières »). Bien que son étymologie soit assez précise, sa définition est un peu plus vague, en effet, l'application de la science et de la technologie aux organismes vivants pour la production du savoir, biens et services, en est une définition large. Un sens plus restreint du terme « biotechnologie », l'associe aux réalisations des plus 60 dernières années comprenant toutes les techniques de culture « in vitro » ainsi que les différents aspects de la génétique moléculaire, tels que le clonage de gènes, le séquençage, et aussi la microbiologie, la biochimie, la biophysique, la bio-informatique.

La biotechnologie est un domaine clairement multidisciplinaire impliquant la biochimie, la biologie moléculaire, la génétique, l'immunologie, la microbiologie, la pharmacologie, la fermentation, et l'agriculture. Elle est une Science de l'ingénieur. C'est-à-dire de celui qui cherche, conçoit, organise, construit, gère). Elle utilise la matière vivante pour dégrader, synthétiser et produire des matériaux (bioconversions-biosynthèses), en vue d'une activité agronomique ou industrielle, où l'innovation s'accompagne d'une bonne qualité et faisabilité, d'un progrès social et économique. Elle fait un large appel aux enzymes libres ou fixées, aux micro-organismes et aux structures cellulaires et subcellulaires active (biocatalyseurs, antigènes,..), aux biocapteurs, aux biosondes, à une ingénierie sophistiquée.

Aujourd'hui, les champs de recherches de la génétique, de la génomique et des biotechnologies concernent aussi bien Lhomme que l'animal, le végétal, les microorganismes ou les écosystèmes. Ainsi, les biotechnologies sont à l'origine d'avancées décisives dans différents secteurs comme celui de l'agriculture et l'environnement ou on y trouve la biotechnologie végétale qui étudie les plantes, et les cultures de tissus végétaux vu leur importance dominante en production d'aliments, de matière première et de médicaments.

I.2. Les grands domaines de la biotechnologie

Les biotechnologies jouent un rôle important dans le secteur des industries de la santé, mais ont aussi un rôle émergent dans les secteurs de l'environnement, de l'agriculture, de l'agroalimentaire, ainsi que pour la mise au point de processus industriels innovants. Selon l'OCDE, elles contribuent aujourd'hui à moins de 1 % du PIB des pays de l'OCDE, mais ce seuil pourrait monter à 2,7 % d'ici 2030 L'Union européenne « investit 1,9 milliard d'euros dans la création d'une bioéconomie européenne au titre du thème « Alimentation, agriculture et pêche, et biotechnologie»

I.2.1. Le domaine agricole (biotechnologies vertes)

Les biotechnologies vertes s'appliquent à l'agriculture et à l'alimentation, mais elles investissent également d'autres champs. Grâce aux biotechnologies vertes, les chercheurs espèrent parvenir à relever les défis lancés à l'agriculture et assurer tout à la fois production alimentaire, production d'énergie et production de biomatériaux en préservant l'environnement.

Les biotechnologies vertes reposent essentiellement sur les connaissances liées au fonctionnement du génome et des plantes. Les techniques du génie génétique permettent aujourd'hui de transférer certains gènes d'une espèce de plante à une autre. Objectif affiché : améliorer de façon ciblée la résistance du végétal tant aux insectes qu'aux virus ou encore aux herbicides. Aussi, la transgénèse dans les plantes est également étudiée comme moyen de développer des variétés végétales pouvant servir de bio-usines et produire des substances d'intérêt médical, biomédical oui industriel en quantités facile à isoler et à purifier.

I.2.2. Le domaine de la santé (biotechnologies rouges)

Le secteur de la santé (humaine et vétérinaire) fait de plus en plus appel aux biotechnologies pour découvrir, tester et produire de nouveaux traitements, ex. : vaccins, protéines viraux, etc. Les biotechnologies sont également très utilisées pour diagnostiquer et pour recombinantes, anticorps monoclonaux, thérapie cellulaire et génique (non-virale), vecteurs mieux comprendre les causes des maladies

Au-delà de soigner les malades, les biotechnologies promettent également de pouvoir mieux diagnostiquer les maladies, à l'aide de puces à ADN - dans le domaine de la cancérologie, elles permettent de réaliser des typages tumoraux -, par exemple ou encore de biocapteurs.

Grâce aux biotechnologies, les chercheurs découvrent, produisent et/ou testent aujourd'hui toutes sortes de nouveaux traitements. Ainsi, par exemple, des organismes sont spécialement conçus pour produire des antibiotiques et, grâce à des manipulations du matériel génétique d'une espèce, les chercheurs développent ce qu'ils appellent des thérapies géniques.

I.2.3. Le domaine de l'industrie (biotechnologies blanches):

Les biotechnologies blanches, appelées biotechnologies industrielles, ont pris de l'ampleur au cours de ces dernières décennies. Elles présentent plusieurs avantages liés au processus industriels et touchent de nombreux secteurs : ment à travers la réduction de l'utilisation et les rejets de des matières premières. Les biotechnologies blanches apportent ainsi les espoirs d'un développement durable et d'une industrie propres.

Les biotechnologies blanches sont des technologies utilisant du matériel biologique. Elles emploient des systèmes biologiques utilisant des procédés enzymatiques ou fermentaires, pour la fabrication, la transformation ou la dégradation de molécules. Ceci dans le but de produire des composés à partir des matières premières renouvelables. Elles différent des biotechnologies dites classiques dans le sens où celles-ci font appel aux techniques traditionnelles qui emploient les organismes vivants essentiellement pour l'alimentation humaine, telle que la fabrication du pain, du vin et du fromage. La biotechnologie moderne est venue afin d'affiner ces techniques traditionnelles et les rendre plus maitrisables grâce à la caractérisation des organismes via le génie génétique.

I.2.4. Le domaine de la biodiversité marine (biotechnologies bleues)

Les biotechnologies bleues sont centrées sur la biodiversité marine. Elles visent soit à développer l'exploitation des ressources encore inconnues provenant du monde marin, soit à développer et améliorer la gestion des espèces marines, qu'elles soient d'élevage ou sauvage, pour créer des produits et des applications d'intérêt industriel. De nombreux produits et applications de la biotechnologie bleue sont encore objet d'étude et de recherche, bien que certains d'entre eux soient réellement utilisés quotidiennement. Sans doute, l'utilisation des matières premières de la mer représente la biotechnologie bleue la plus répondue dans de nombreux secteurs différents. Ces matériaux, principalement des hydro colloïdes et des gélifiants, sont déjà largement utilisés dans l'alimentation, la santé, le traitement, etc. La médecine et la recherche sont d'autres grands bénéficiaires du développement de la bleue. Certaines molécules marqueurs provenant d'organismes marins sont maintenant couramment utilisées dans la recherche ont également été isolées des organismes marins. Certains biomatériaux et agents pharmacologique ou régénératifs sont produits ou étudiés pour leur utilisation dans ces secteurs. Enfin, des secteurs tels que l'agriculture et les cosmétiques analysent le potentiel de la biotechnologie bleue pour son développement futur.

I.2. 5. Le domaine de la protection de l'environnement (biotechnologies jaunes):

La biotechnologie jaune comprend toutes les applications de la biotechnologie directement liées à l'environnement. Ces applications peuvent être divisées en deux branches principales: l'entretien de la biodiversité et l'élimination des contaminants. En ce qui concerne le premier, il convient de mentionner l'application de la biologie moléculaire à l'analyse génétique des populations et des espèces qui font partie des écosystèmes, de leur comparaison et de leur classification, ainsi que des techniques de clonage visant à préserver les technologies de stockage des espèces et du génome. En ce qui concerne l'élimination des polluants ou la bioremédiation, la biotechnologie jaune utilise des microorganismes et des plantes pour isoler et éliminer différentes substances telles que les métaux lourds et les hydrocarbures, avec la possibilité supplémentaire d'utiliser ultérieurement ces substances ou sous-produits de cette activité.

I.3. Outils de la biotechnologie végétale

Pour atteindre ses objectives, la biotechnologie végétale a besoin d'outils adéquats pour étudier les végétaux au niveau cellulaire et moléculaire:

I.3.1. La culture « in vitro »

Visant à régénérer une plante entière à partir de cellules ou de tissus végétaux en milieu nutritif, en appuyant sur les propriétés de la cellule végétale qui sont :la plasticité et la totipotences et en utilisant des techniques modernes de culture cellulaires à savoir : la multiplication conforme, culture de méristèmes, culture d'embryons, l'embryogenèse somatique, culture d'haploïdes, cultures d'organismes génétiquement modifiés (OGM) .

I. 3.2. Les plantes modèles

Arabidopsis thaliana, le riz, le colza…, sont des plantes modèles dont le génome a été entièrement séquencé et étudié et qui ont contribué dans l'exploration de génomes plus complexes et plus vastes de plantes cultivées qui constituent des obstacles a leur analyse génétique et moléculaire.

I.3.3. Biologie moléculaire et génie génétique

L'ensemble des outils et des techniques de la biologie moléculaire permet de manière contrôlée l'étude de la modification des gènes et l'obtention d'organismes génétiquement modifiés (OGM) par transgénèse, et aussi de leur clonage, leur séquençage, leur découpage, en appuyant sur différents outils : enzymes de restriction, vecteurs, sondes…

Ainsi que, l'utilisation des marqueurs moléculaires pour identifier et sélectionner précocement les plantes qui possèdent des gènes induisant des caractères souhaités (résistance, qualité,).c'est la sélection assisté par marqueurs (PCR, microsatellites, ISSR, RADP…).

I.3.4. La bioinformatique

La bioinformatique propose d'organiser, de gérer et d'analyser la multitude de données produites par les méthodes de la génomique. Elle a pour mission de :

- stocker les données de génomique structurale et fonctionnelle dans de larges bases de données informatiques.
- Permettre à tous les biologistes d'y accéder de façon simple et rapide. A partir des données de séquençage, la bioinformatique développe des programmes pour

- Annoter les gènes: comparer les séquences d'organismes différents entre elles et prédire la fonction des gènes.
- Prédire des éléments: de régulation de l'expression des gènes et de localisation dans la cellule des protéines codées par les gènes.

I.4. Objectifs et intérêts de la biotechnologie végétale

I. 4.1. Participer à l'avancée des connaissances

Les progrès spectaculaires de la biologie moléculaire, de la bioinformatique et de diverses technologies comme le séquençage et l'analyse d'images, ont ouvert un nouveau champ d'investigation du vivant qu'on appelle la génomique qui permet désormais de dresser un catalogue de tous les gènes d'un organisme puis de comprendre leurs fonctions, leur régulations et leurs interactions. Ce programme porte sur le génome de plusieurs plantes : blé, mais, colza,…ou il s'intéresse aux gènes impliqués dans la résistance aux maladies, des caractères agronomiques et les qualités de la récolte.

I. 4.2. Augmenter la biodiversité

L'intégration de nouveaux caractères peut se faire, soit par des méthodes de sélection conventionnelle intégrant les nouvelles connaissances sur le génome, soit par transgénèse (OGM) lorsque la diversité génétique d'une espèce n'offre pas de possibilités d'amélioration. Quelle que soit la voie choisie, la génomique participe donc à l'enrichissement de la biodiversité.

I.4.3. Contribuer à un meilleur environnement

Exemple : les programmes de résistance du maïs à la sécheresse. L'eau est une ressource limitée dont l'agriculture est la première utilisatrice, devant l'industrie et la consommation humaine. Pour la culture du maïs, qui exprime des besoins en eau importants, une façon de mieux gérer l'eau consiste donc à créer des variétés qui tolèrent une disponibilité réduite en eau, sans que leurs capacités de production n'en soient affectées, cela grâce à l'introduction par transgénèse d'un gène de sorgho, céréale.

I.4.4. Améliorer la qualité sanitaire des aliments

Exemple : les blés et maïs résistants aux champignons parasites : Toutes les plantes, sauvages ou cultivées, sont sensibles à des champignons parasites qui les attaquent aux différents stades de leur développement, mais aussi après la récolte. Les pertes induites par l'action de ces derniers sont considérables. Des recherches en biotechnologie végétale permettront d'améliorer la résistance du blé et du maïs à certains champignons parasites.

I.5. La place des biotechnologies

Les biotechnologies peuvent intervenir à différents niveaux dans un programme de sélection : I.5.1. Exploiter la diversité. Il s'agit, pour le sélectionneur, d'accroître les possibilités de choix des parents à l'origine du croisement de départ. Les techniques de biologie cellulaire, sauvetage d'embryons et fusion de protoplastes, parce qu'elles permettent de s'affranchir des contraintes de la reproduction sexuée, constituent une aide largement utilisée, tout comme la transgénèse.

I. 5.1. Connaître le génome.

Les techniques de marquage moléculaire permettent de rendre plus précises et plus rapides les opérations classiques de sélection. Elles interviennent à chaque étape du cycle de sélection. Les outils mis en place sont les marqueurs moléculaires qui permettent l'analyse des individus, la construction de cartes génétiques pour localiser les gènes sur les chromosomes, la sélection assistée par marqueurs pour suivre les gènes au cours des générations. La recherche des gènes intervenants peut ainsi être facilitée et leur isolement est réalisé grâce à la génomique.

I. 5.2. Diminuer la durée de création.

Les gains de temps peuvent être réalisés de deux façons : soit en fixant plus rapidement le matériel génétique, pour l'obtention de lignées, soit en augmentant le nombre de générations par an. Les techniques mises en jeu font alors appel à la culture in vitro de gamètes ou haplodiploïdisation et à la culture d'embryons immatures.

II.1. Introduction

Dans les programmes classiques d'amélioration des plantes, pour créer une nouvelle variété il faut compter de 8 à 15 ans selon l'espèce. C'est très long, d'autant que les objectifs de sélection peuvent évoluer avec le temps : goût du consommateur, contraintes industrielles, etc.

II.2. Définition

Les techniques de culture in vitro sont des outils qui peuvent aider l'obtenteur de plantes à différents niveaux de son programme d'amélioration, notamment pour réduire les délais de mise sur le marché des nouveaux cultivars, mais aussi pour assainir les variétés, les conserver et réduire les coûts de production. Le but de la culture in vitro est de permettre la régénération de la plante entière autonomique et fertile à partir de propriété des cellules végétales : la totipotence

Gautheret est le premier à entrer dans histoire de la culture in vitro il énonce le concept de la totipotence cellulaire en 1939 et cultive pour la tout première fois des cellules isolées de carottes sur un milieu stérile et nutritif qui il réussit à faire vivre pendant quelques mois.

Les cultures in vitro végétales sont des cultures d'explants de plantes, sur un milieu synthétique dans des conditions stériles, dans un environnement contrôle et dans un espace réduit.

II.3. Les conditions de la culture in vitro :

Selon la définition de la culture in vitro cinq conditions primordiales sont utiles pour réussir cette technique

II.3.1. Les explants peuvent être des parties d'organes ou des organes entiers, (tige, feuille, racine, fleurs, etc.), des tissus, des pièces florales, des graines ou des embryons, des bourgeons ou des apex ou des méristèmes, des cellules somatiques ou sexuelles, des protoplastes.

Le choix de l'explant sera fonction de la technique utilisée, de l'objectif et de l'espèce travaillée.

Donc Tout type d'organes (Fig.2) peut être utilisé pour la culture in vitro cependant leur réactivité est variable et dépend de nombreux facteurs comme :

- L'âge de la plante-mère.
- La date de prélèvement de l'explant.
- La localisation de l'explant sur la plante.
- La taille et la nature de l'explant.
- L'espèce végétale sur lequel il est prélevé.

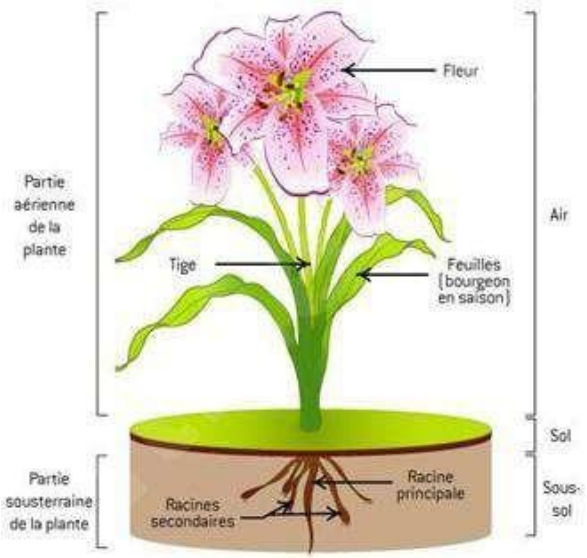

Figure 1 ***le matériel végétal d'une plante***

II.3.2. Le milieu synthétique est adapté dans sa composition à la technique, l'explant, l'objectif et l'espèce, voire le cultivar.

Il est en général composé d'eau, de macro et de microéléments, (sels minéraux), de substances de croissance : phytohormones et vitamines, de sucre et d'un agent gélifiant pour les milieux solides.

Le pH est ajusté le plus souvent entre 5 et 6. On modifie le milieu au cours des différentes étapes de production, on doit utiliser un milieu neuf toutes les 3 ou 4 semaines en général. L'explant doit trouver dans le milieu de culture tout ce dont il a besoin pour survivre se multiplier et éventuellement régénérer un nouvel individu en fait tout ce que la plante mère peut fournir :

Par les racines : les éléments minéraux, l'eau.

Par les feuilles et grâce à la photosynthèse : des sucres, le plus souvent du saccharose, aux milieux de culture pour fournir à l'explant une source de carbone, des vitamines qui favorise fréquemment le développement des cultures in vitro et des acides aminés, qui sont responsable de la prolifération.

Les régulateurs de croissance appelés Les hormones végétales, Qui sont responsables d'orienter la formation des organes car, ils induisent les phénomènes de croissance et de néoformation des organes. Les hormones utilisées sont principalement les auxines, les cytokinines.

Tableau 1 ***les hormones végétales***

L'auxine	Les cytokinines
• Stimule la croissance. • Régule la division et différenciation cellulaire. Favorise la rhizogenèse et l'élongation cellulaire.	• Stimule la division cellulaire. • Favorise la croissance cellulaire. • Régule la différenciation cellulaire (bourgeons et racines). • Active de la production de chlorophylle. Inhibe la sénescence des feuilles.

Le développement des différentes parties d'une plante en culture in vitro est lié aux concentrations en auxine et cytokinine. Ceci est appelé la balance hormonale. Si les concentrations d'auxine sont plus élevées que celles de la cytokinine, cela va favoriser la rhizogenèse (racines). En revanche, si les concentrations d'auxine sont moins élevées que celle de la cytokinine, l'explant va évoluer vers une fonction calogène (bourgeons). Enfin, si les concentrations en auxine et en cytokinine sont équivalentes, l'explant a un comportement calogène (cal).

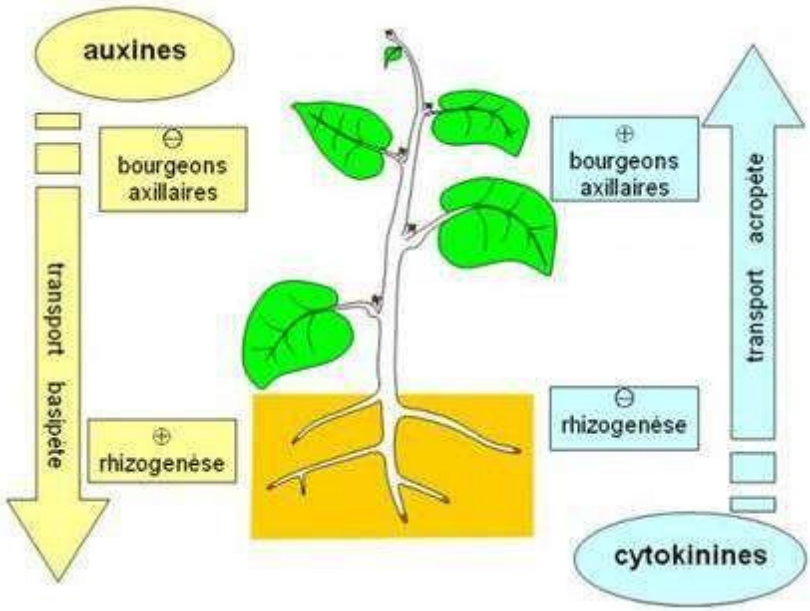

Figure 2 la balance hormonale de la plante in vitro

 les sels minéraux :

Parmi les sels minéraux on peut distinguer :

- Les macroéléments sont présents dans les milieux et interviennent en grande quantité à des concentrations de l'ordre du mg /L. Il s'agit de 6 éléments présents tels que l'azote (N), le calcium (Ca), le potassium (K), le soufre (S), le magnésium (Mg) et le phosphore (P).

- Les micros éléments, appelés parfois oligo-éléments, et bien qu'ils ne soient nécessaires à la plante qu'en faibles concentrations à des taux de l'ordre du µg/L, leur rôle est essentiel. Les principaux d'entre eux sont le fer (Fe), le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le molybdène (Mo), le bore (B) et le chlore (Cl), le cobalt (Co), le nickel (Ni), et l'aluminium(Al) etc...

Il existe pour chaque espèce végétale 3 milieux :

- Un milieu d'activation,
- Un milieu de multiplication et
- un milieu d'enracinement

II.3.3. Les conditions stériles sont obtenues par une désinfection des explants, une stérilisation du milieu de culture et des flacons ou tubes de culture. Les différentes opérations de mise en culture sont réalisées dans un environnement stérile obtenu par une hotte à flux laminaire horizontal : de l'air stérile est propulsé vers le vitroculteur.

Les conditions stériles sont primordiales à obtenir afin qu'aucun champignon ou bactérie ne vienne coloniser les milieux de culture, très favorables à leur prolifération, sous peine de nécrose de l'explant travaillé ainsi que de la technique utilisée.

Figure 3 Conditions stériles ; a : vitroculteur, b : Hotte à flux laminaire, c : chambre climatisée.

II.3.4. L'environnement contrôlé concerne notamment deux paramètres : la température de culture, et l'éclairement :

Figure 4 chambre de culture (=environnement contrôlé).

II. 3.5. L'espace est réduit car les plantes sont miniaturisées, cultivées dans des récipients tenant sur des étagères éclairées, ce qui permet d'avoir la possibilité de replanter des hectares de terrain à partir de plants cultivés sur quelques mètres carrés. On peut également conserver d'innombrables variétés à l'abri des parasites et indéfiniment sur une petite surface au sol.

II. 4. Les Propriétés de la culture in vitro

Le principe de la culture in vitro est réalisable grâce à une propriété que possèdent les cellules végétales : la totipotence végétative. La cellule végétale a pour particularité d'être la plupart du temps totipotente, c'est-à-dire que n'importe quelle cellule végétale à la possibilité, lorsqu'elle est placée dans un milieu approprié, de se dédifférencier et de se redifférencier et ainsi donner un nouvel organisme. Cette propriété a été émise par Haberland en 1902. Seuls les végétaux les plus évolués présentent des organes bien différenciés structurellement et fonctionnellement : tige, feuille, racine, fleur...

La totipotence débute par la formation de cals : amas de cellules indifférenciées qui permet de régénérer un individu entier génétiquement identique à la plante mère. Pour cela, il faut que les explants soient placés dans des conditions appropriées.

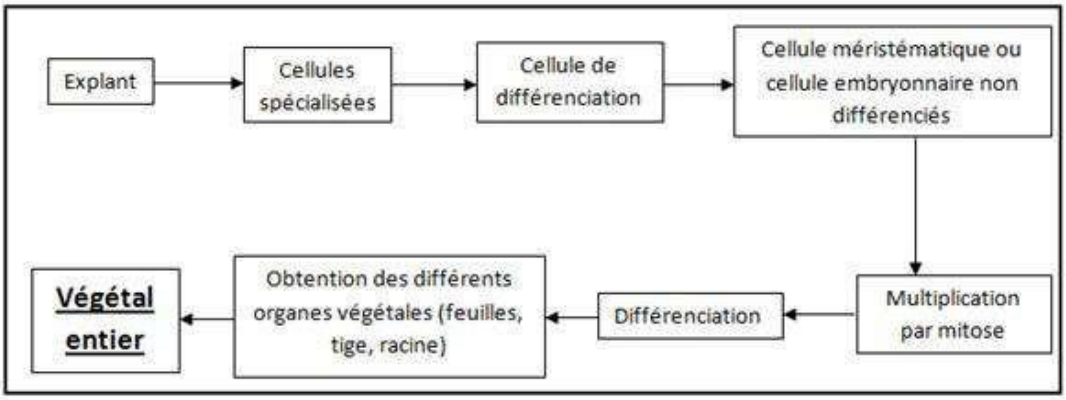

Figure 5 Schéma explicatif de la totipotence

II. 5. Techniques de Culture in vitro

Les différentes techniques de culture in vitro végétales sont la micro propagation, la culture de méristèmes, l'embryogenèse somatique, l'haplo-diploïdisation par androgenèse ou gynogenèse, la création de variantes, le sauvetage d'embryons immatures issus de croisements interspécifiques par exemple.

D'autres techniques existent : la culture de cellules et la production de métabolites secondaires, la bioencapsulation et la production de semences artificielles, la cryo-conservation à -196°C, la culture de protoplastes et la fusion somatique, la transformation génétique.

II. 6. Etapes des cultures

En général il y a 4 étapes de culture

II. 6.1. La mise en place des cultures (la plus délicate et difficile)

- Les plantes ou leurs graines sont le support de bactéries et de champignons divers.
- Il faut ; pour les cultiver dans un milieu stérile riche en sucre, les désinfecter en surface.
- Des parties de la plante, ou des graines, sont plongés dans un mélange d'eau de javel et d'une substance savonneuse pendant plusieurs dizaines de minutes.
- Ensuite, on travaille stérilement sous hotte à flux laminaire.
- Un flux d'air, après un passage à travers des filtres, vient du fond de la hotte vers la personne qui repique.
- Cela permet d'éviter que des contaminants (bactéries, champignons) viennent infecter le matériel.
- Selon la plante on découpe des morceaux de feuilles ou des bourgeons et on les place dans des pots individuels, ou on sème des graines.
- Soit Mise en culture à partir de graines ou Mise en culture à partir d'un nœud.
- Le bourgeon donne une tige feuillée ' du bourgeonnement axillaire.
- Si on part d'un morceau de tige, de pétiole, ou de feuille, c'est du bourgeonnement adventif.

Figure 6 La mise en place

II. 6.2. La multiplication : En culture in vitro, on multiplie les plantes par clonage d'elles-mêmes. En peut ainsi obtenir un grand nombre d'individus identiques entre eux et à l'individu de départ. On utilise pour ce faire la capacité de reproduction végétative des plantes et pour contrôle cette multiplication végétative on utilise les hormones végétales particulièrement les cytokinines.

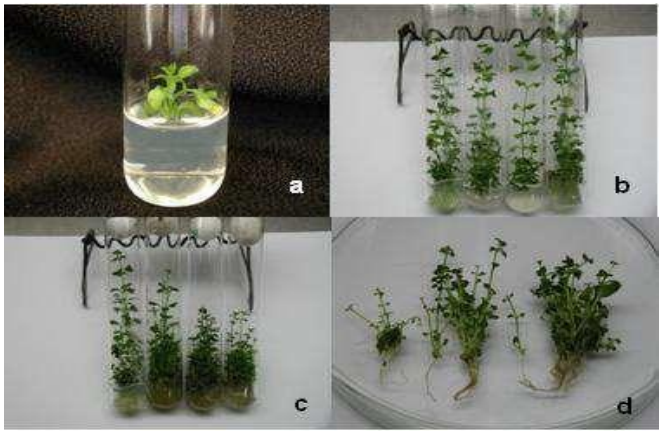

Figure 7 la multiplication

II. 6.3. L'enracinement

En culture in vitro on multiplie des tiges feuillées ; pour obtenir des plantes complètes il faut que ces tiges développent des racines. Cela s'obtient en transférant les tiges sur un milieu frais.

II. 6.4. Le sevrage ou L'acclimatation

Lorsque les tiges sont enracinées on peut acclimater les plantes c'est à dire les réhabituer à la vie à l'air libre. En débarrassant les racines de la gélose dans laquelle elles ont poussé et on repique les plantes dans le substrat adéquat (tourbe terreau…). Les plantes sont placées dans un milieu toujours confiné afin qu'elles s'adaptent progressivement à de l'air plus sec à des variations de luminosité et de température.

Le sevrage ou l'acclimatation est la mise en terre, le passage des conditions de laboratoire aux conditions de serre. Cette phase s'avère souvent critique, car les plantes en tubes sont placées dans des conditions optimales d'humidité. Leur passage vers le milieu ambiant doit se faire progressivement pour qu'elles puissent s'y acclimater. L'acclimatation se fait sous serres et les vitro-plants sont placés dans des micro-tunnels en film plastique permettant de maintenir une humidité élevée. Progressivement les micro-tunnels ou serres sont ouverts sur une durée de deux å trois mois avant de passer sous la pépinière et planter au champ.

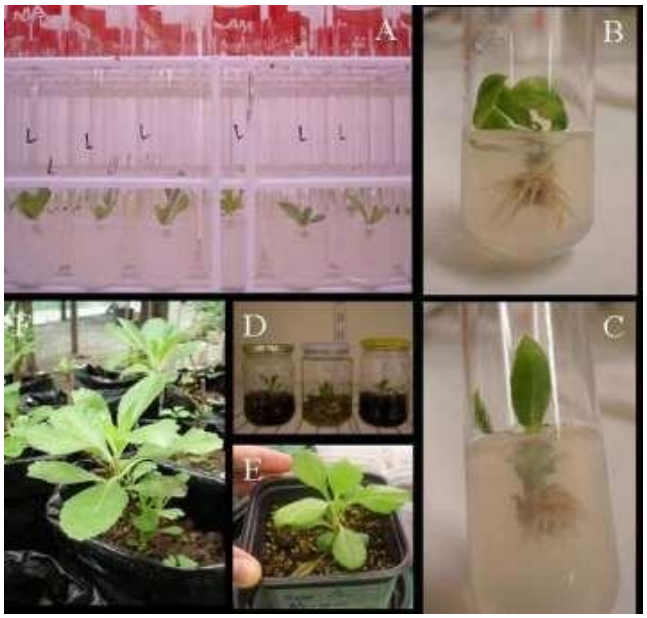

Figure 8 L'acclimatation

II. 7. Les applications de la culture in vitro

De nombreuses espèces sont concernées par l'utilisation des cultures in vitro, tant au niveau de l'élaboration de nouvelles variétés qu'au niveau de la production des plants, et des centaines de millions de plantes in vitro sont acclimatées annuellement dans le monde. On estime à plus de 300 espèces de plantes qui sont multipliées in vitro de façon industrielle.

Certaines plantes vertes sont multipliées uniquement par in vitro. De nombreuses variétés de plantes horticoles et maraîchères de grand intérêt, anciennes ou nouvelles, ont été sauvées de la menace de disparition, car virosées, par culture de méristèmes. Aujourd'hui, au Burundi la culture de pomme de terre de manioc de patate douce, de banane sont bien maitrisées pour la production des semences de première génération mais aussi la culture des orchidées s'est "démocratisée", grâce à la culture in vitro, on peut trouver dans le commerce des plantes carnivores protégées car elles sont multipliées in vitro.

On a créé des banques de conservation, par culture in vitro, des variétés anciennes et menacées de disparition. C'est un moyen de sauvegarder la biodiversité des espèces sauvages et les espèces rares ou difficiles à multiplier naturellement (peu de graines ou de rejets).

Enfin, les cultures in vitro permettent de mettre plus rapidement sur le marché les plants certifiés, ou encore d'assainir des collections.

II. 8. L'intérêt de la Culture in vitro pour l'homme

II. 8.1. L'assainissement des végétaux

La culture in vitro permet l'élimination des virus et des bactéries. Exemple : le virus de la pomme de terre, manioc ou de patate douce, ….

II. 8.2. La multiplication de masse

Grâce à cette technique, on peut obtenir, rapidement et indépendamment des conditions climatiques, un grand nombre de plantes qui sont stockées dans un espace réduit.

II. 8.3. L'accroissement de la diversité :

Des plantes rares, en voie de disparition, peuvent être conservées et multipliées en culture in vitro. De même, des plantes qui font peu de semences et qui sont difficiles à bouturer et/ou à greffer bénéficient aussi de cette technique. On peut ainsi obtenir des rosiers ou des vignes sur leurs propres racines.

II. 8.4. La production de nouvelles espèces/variétés ou de plantes stériles :

- Plantes résultant de croisement (hybrides) qui sont souvent stériles.
- Plantes transgéniques.
- Plantes à fruits sans pépins.
- Plante présentant une caractéristique intéressante comme par exemple la couleur particulière de ses fleurs ===►nouveau cultivar.

II. 8.5.La multiplication de plantes sélectionnées pour :

- Leur résistance aux maladies.
- Leur production plus importante.
- Leur tolérance à divers facteurs (sécheresse, excès d'eau, trop ou trop peu de sels, froid/chaud, herbicide).
- Leur vigueur.

II. 8.6. La sélection de plantes résistantes

On peut exercer une pression de sélection en cultivant les plantes sur des milieux contenant des concentrations croissantes en sels ou en herbicides. Les plus résistantes sont repiquées sur du milieu de plus en plus concentré.

On peut, par la même technique, sélectionner des plantes capables de vivre sur des milieux pauvres ou des plantes résistantes à certains pathogènes.

III.1. Définition

Le terme recombinant désigne de façon générale ce qui est obtenu par génie génétique. L'ADN recombinant est un fragment de matériel génétique d'un organisme qui est introduit artificiellement dans l'ADN d'un autre organisme, généralement une bactérie ou un virus dans lequel il va s'intégrer. L'ADN est responsable de la transmission des caractères héréditaires. Il s'agit d'un acide appelé nucléique, connu depuis 1889. La découverte de la structure de l'ADN, en 1953, est due à James Watson et Francis Crick qui élucidèrent les détails de son organisation.

III.2. Technologies de l'ADN recombinant

Les techniques d'étude de l'ADN sont devenues si performantes qu'il est actuellement courant d'isoler le segment d'ADN correspondant à n'importe quel gène spécifique. La clé de voûte de ces technologies réside dans la possibilité d'amplification de toute séquence définie. Cette amplification, le plus souvent par clonage du fragment d'ADN (un clone étant défini comme une population de cellules ou de molécules identiques à l'originale), permet d'obtenir des quantités illimitées de molécules d'ADN de séquence homogène.

III.2.1. Clonage des gènes

Un schéma ultra simplifié d'une expérience typique de clonage nécessite les éléments suivants :

- l'ADN intéressant (à étudier ou pour ce qu'il apporte) appelé également ADN passager, ADN étranger ou ADN cible)
- un vecteur de clonage (ou véhicule), dans l'exemple il s'agit d'un plasmide c'est à dire un élément génétique bactérien, extra chromosomique, capable de réplication autonome.
- une nucléase de restriction
- une ligase
- une cellule (procaryote ou eucaryote) pouvant servir d'hôte biologique.

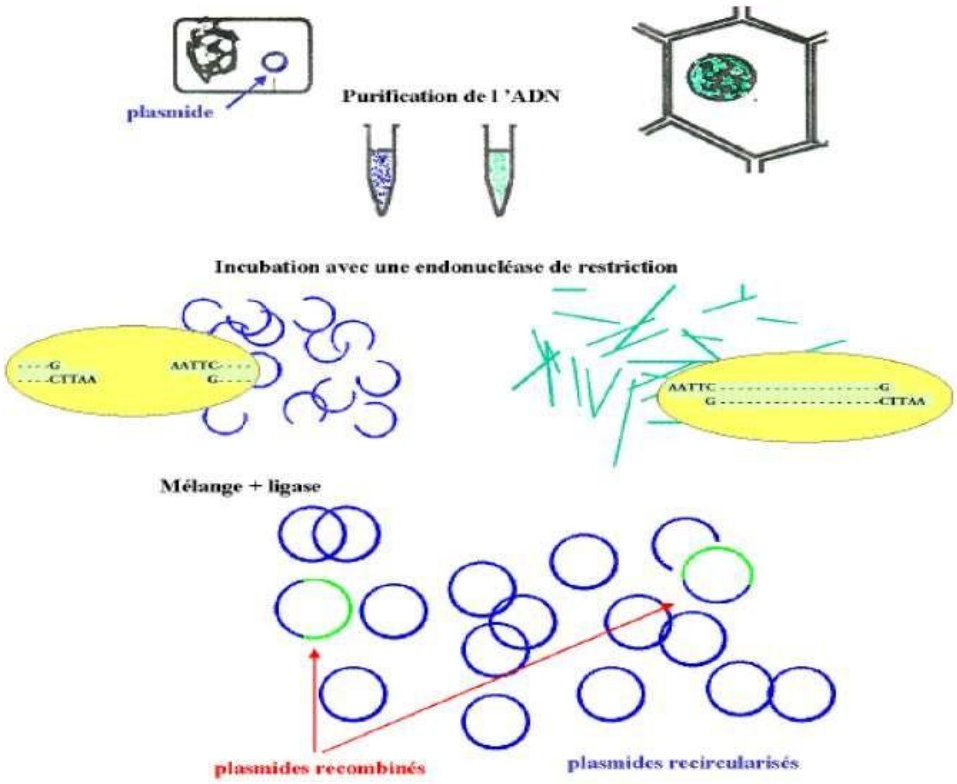

Figure 9 Clonage des gènes

De nombreuses enzymes de restrictions génèrent des extrémités cohésives et l'on peut insérer des fragments d'ADN digérés dans un vecteur présentant les mêmes extrémités c'est à dire traité par la même enzyme. Les nouvelles molécules sont ensuite refermées par une ligase. Cette recombinaison in vitro conduit à une molécule "chimère" qui sera transférée dans un hôte approprié par des moyens qui dépendent du choix de la cellule hôte. Après un temps de culture convenable on pourra obtenir des clones contenant chacun un vecteur recombiné, les clones différents entre eux par la nature de la séquence insérée dans le vecteur.

Comme le montre la figure ci-contre, après l'étape de transformation génétique de l'hôte, la population se compose en fait d'une grande quantité de cellules non transformées et parmi les bactéries transformées, beaucoup le sont par un vecteur recircularisé. Il faut donc pouvoir isoler rapidement les clones recombinés et caractériser les molécules recombinées, c'est cette partie du travail, la plus délicate, qui a apporté énormément de renseignements sur la structure des gènes. Le procédé de clonage lui-même n'est qu'un moyen pour identifier et isoler des gènes rapidement.

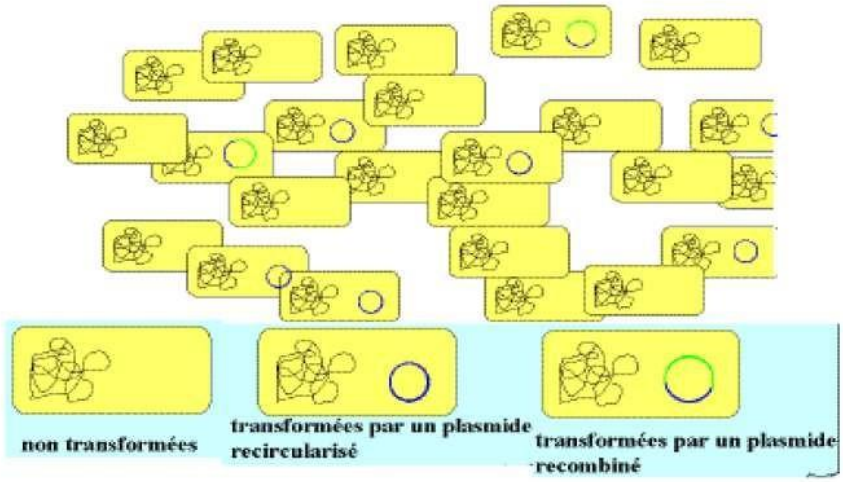

Figure 10 Transformation par un plasmide recombiné

III.2.2 Les vecteurs de clonage

Comme on le voit, le vecteur joue un rôle essentiel dans toute expérience de clonage. Il faut d'abord connaitre et étudier les véhicules avant de parler des passagers.

La plupart des fragments d'ADN étant incapable de réplication autonome, les vecteurs sont dérivés de réplicons naturels tels que les phages et les plasmides.

Les plasmides sont des petites molécules circulaires d'ADN double brin, ils portent certains gènes fonctionnels (tels que des gènes de résistance à certains antibiotiques) et on les appelle parfois "les pièces de rechange génétiques" des bactéries.

Les plasmides naturels ne sont pas utilisés tels quels car un vecteur doit répondre à un certain nombre de critères spécifiques :

- être aussi petit que possible car, dès que l'on dépasse 15kb, l'efficacité de transformation de la cellule hôte diminue rapidement
- être bien cartographié (gènes et sites de restriction) l'idéal étant de connaître la séquence complète.
- il doit se répliquer facilement dans la cellule hôte afin que de grandes quantités de molécules recombinées puissent être préparées.

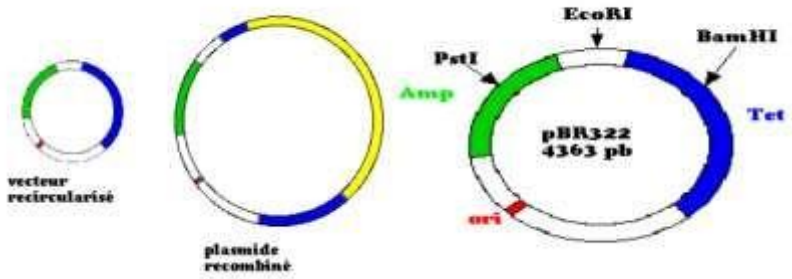

Figure 11 Des exemples des vecteurs de clonage : Plasmide

- Il doit posséder un marqueur de sélection qui permette de distinguer les cellules transformées par le vecteur des cellules non transformées
- Un vecteur idéal devrait de plus posséder un marqueur qui permette de distinguer les clones transformés par un vecteur recombiné de ceux transformés par ce vecteur non recombiné.
- Il doit posséder le plus possible de sites de restriction différents (mais chacun en un seul exemplaire) pour permettre une grande souplesse dans le clonage de différents produits de restriction.

L'une des plus célèbres constructions est celle du plasmide pBR 322 (Bolivar et Rodriguez), de très nombreux vecteurs utilisés actuellement en sont dérivés.

Le succès de ce vecteur tient à deux points :

- il s'agit d'un plasmide dont la réplication est sous contrôle "relâché" contrairement à beaucoup d'autres qui sont sous contrôle "stringent" c'est à dire que leur réplication est dépendante

de la synthèse protéique et de l'ADN polymérase III, on en trouve généralement de 1 à 5 par cellule, les plasmides sous contrôle "relâché" utilisent la polymérase I et peuvent se répliquer en absence de synthèse protéique, on en trouve de 30 à 50 copies par cellule ce qui augmente l'amplification.

- deux gènes de résistance, l'un à l'ampicilline, l'autre à la tétracycline peuvent servir de marqueurs pour sélectionner aisément les clones transformés par des plasmides recombinés.

L'insertion de la séquence à cloner dans l'un ou l'autre de ces gènes de résistance (au site BamHI dans le gène de résistance à la tétracycline, dans l'exemple ci-dessous) l'inactive, ce qui offre un moyen très pratique d'identification des clones transformés par des vecteurs recombinés selon le génotype :

Tableau 2 ***Des exemples***

clone	Génotype
Non transformé	ampS,tetS
transformé par un vecteur recircularisé	ampR,tetR
transformé par un vecteur recombiné	ampR,tetS (*)

D'autres vecteurs dérivés de celui-ci présentent des améliorations portant essentiellement sur la facilité de criblage des clones recombinés, sur la facilité d'insertion de l'ADN étranger, sur l'adaptation à l'utilisation ultérieure de l'ADN cloné (cartographie, séquençage, expression, étude de la régulation de l'expression...) et sur la taille des segments insérés.

- Le bactériophage M13 par exemple a été modifié pour en faire un vecteur, il présente la particularité de posséder un génome à ADN simple brin ce qui sera intéressant pour le séquençage par exemple, après infection, un brin complémentaire est synthétisé, il se comporte

donc comme un plasmide à l'intérieur de la bactérie et pourra être manipulé comme tel. * Remarque : N'oublions pas que les recombinaisons in vitro utilisent les propriétés des nucléases de restriction, le substrat est donc de l'ADN bicaténaire.

- Le bactériophage lambda possède une grande région de son génome non essentielle à sa reproduction, elle pourra être éliminée et remplacée par un ADN passager de l'ordre de kilopaires de bases alors qu'un plasmide n'en tolère qu'une quinzaine.
- Les cosmides combinent les avantages de clonage des plasmides et augmentent la taille d'insertion possible dans les phages lambda jusqu'à, une quarantaine de kilo paires de bases.
- Les BAC ou chromosomes bactériens artificiels (Bacterial Artificial Chromosomes) sont dérivés du facteur F de conjugaison (voir le chapitre "Régulation de l'expression des gènes"). Ils possèdent donc une origine de réplication et peuvent, naturellement, intégrer des fragments d'ADN bactérien allant jusqu'à 300kpb. Utilisés comme vecteurs, ils permettent de cloner des fragments de 100-150 kpb et présentent tous les avantages des vecteurs plasmidiques.
- Les YAC ou chromosomes de levure artificiels (Yeast Artificial Chromosomes) sont complétement differents des prézcédents car dérivés d'éléments eucaryotiques et seront hébergés et reproduits par des cellules de levure. La construction repose sur des séquences centromériques et télomériques et une origine de réplication de levure. Un site de clonage permet d'insérer des fragments d'ADN étranger allant jusqu'à 2Mpb. Ces éléments sont dupliqués et ségrègent à la mitose comme des chromosomes. Ils représentent les seuls vecteurs capables de réaliser des ensembles de clones chevauchant pouvant couvrir l'ensemble d'un génome Eucaryote complexe.

Il faut donc choisir le vecteur en fonction des cribles dont on disposera pour repérer le clone intéressant et en fonction de la nature de l'ADN cloné c'est à dire du "passager".

III. 2.3. Construction de "banques de gènes"

Le vecteur étant choisi, la première étape est celle de la préparation de l'ADN à insérer. On va distinguer deux procédures, l'une conduisant à la réalisation de banques génomiques l'autre à des banques d'ADN complémentaire.

- cas de la construction d'une banque génomique

L'ADN est préparé à partir du tissu le mieux adapté, puis découpé d'une façon la plus aléatoire possible (par cassures mécaniques ou par digestion incomplète par une nucléase de restriction). La construction d'une banque génomique implique le clonage de la totalité du génome, le seul moyen d'y parvenir est de partir de fragments chevauchants. Tous les fragments de taille admissible par le vecteur choisi auront la possibilité d'être clonés, tout le génome pourra être représenté. Le nombre minimum de clones nécessaires pour qu'une séquence quelconque, appartenant à un génome de taille donnée soit présent dans la banque (qui, théoriquement, contient l'ensemble des séquences d'ADN de l'espèce considérée) peut se calculer par :

N= ln (1-P)/ L-X/ ln 1- M.

N : nombre de clones constituant la banque (ou bibliothèque) P : probabilité pour qu'une séquence donnée soit présente dans la banque (une valeur de 0,99 est acceptable) L : taille moyenne des fragments insérés, X : taille de la séquence souhaitée,

M : taille du génome

Quelle que soit la prétention de cette formule, ceci veut dire qu'une banque génomique réalisée dans un vecteur dérivé du phage lambda devra comprendre environ 40 000 clones différents pour un génome de drosophile et 800 000 pour celui du maïs ou de l'homme. Ces banques sont donc très lourdes et dans bien des cas on constitue un autre type de banque.

- Cas de la construction d'une banque d'ADN complémentaires

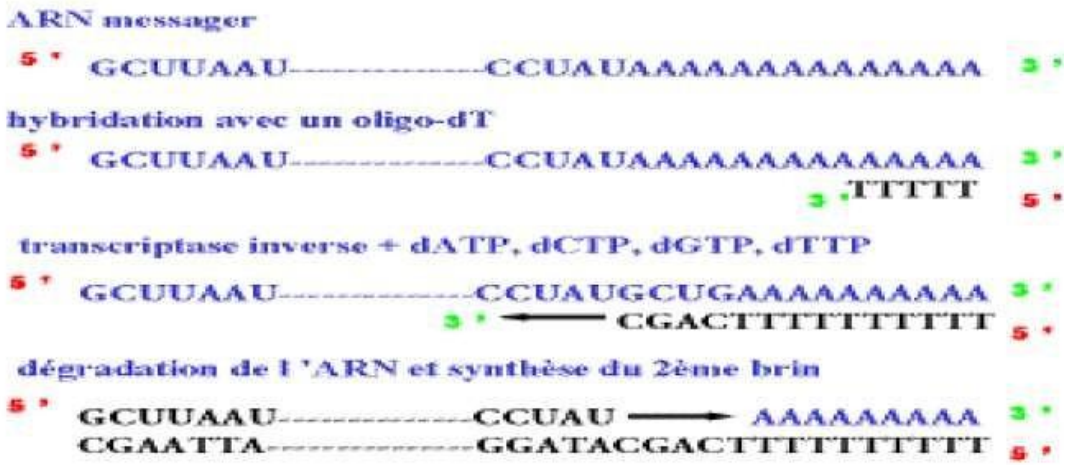

Figure 12 Construction d'une banque d'ADN complémentaires

Elles reposent sur une découverte qui a bouleversé le dogme central de la biologie moléculaire : pour certains virus dont le matériel génétique est de l'ARN, il existe un flux d'information de l'ARN vers l'ADN. Cette étape obligatoire pour leur reproduction est assurée par une enzyme particulière : la transcriptase réverse. Elle permet une synthèse d'ADN double brin (c'est donc une ADN polymérase) à partir d'une molécule d'ARN. Elle représente également un outil très utilisé en génétique moléculaire. On peut en effet synthétiser in vitro des molécules d'ADN dont l'un des brins a une séquence parfaitement complémentaire de celle d'un ARN donné, appelé ADNc.

NB : in vitro, l'activité ribonucléique de la transcriptase réverse est difficile à maîtriser et l'on utilise souvent d'autres stratégies enzymatiques pour synthétiser le deuxième brin d'ADN.

Les banques dites d'ADN complémentaire présentent les avantages suivants :

- sachant que dans toute cellule, une très faible partie du génome est transcrit en ARN, quel que soit la catégorie cellulaire qui va servir de point de départ, la banque nécessitera beaucoup moins de clones et l'enrichissement en clones recherchés pourra être considérable si l'on choisit bien un organe, son stade de développement...
- on ne collectionne que des séquences codantes (sans introns) qui pourront s'exprimer dans un hôte procaryote même si elles sont d'origine eucaryote.

- elles sont obligatoires pour cloner les gènes des virus à ARN (la majorité des virus des végétaux).

III 2.4. Préparation des vecteurs recombinés

Dans les deux cas : découpage mécanique d'ADN génomique ou synthèse d'ADN complémentaire, l'étape suivante est l'insertion dans un vecteur.

L'utilisation de nucléases de restriction produisant des extrémités cohésives simplifie cette étape mais le découpage mécanique et la synthèse d'ADNc ne procurent pas de molécules à extrémités cohésives.

Pour pallier cet inconvénient, une technique encore largement utilisée consiste à greffer des "queues" homopolymériques sur le vecteur et leurs complémentaires sur les fragments d'ADN. On utilise un site Pst I du vecteur car elle laisse des extrémités 3' débordantes, ces extrémités vont être allongées par un oligo dG grâce à la transférase terminale (enzyme qui polymérise, de façon non spécifique, des nucléotides à une extrémité 3' libre, elle n'utilise pas de modèle comme l'ADN polymérase). De la même manière, on greffe une queue oligo dC aux extrémités 3' de l'ADN à insérer. Après hybridation et ligation partielle, les cellules hôtes sont transformées, elles opèrent elles-mêmes une réparation et la ligation recréant du même coup deux sites Pst I qui pourront être utilisés, après amplification, pour récupérer l'ADN cible à partir des clones transformés.

Une autre méthode consiste à greffer, à l'aide d'une ligase, des oligonucléotides (4 ou 6 paires de nucléotides) représentant des sites de reconnaissance pour une nucléase de restriction aux extrémités franches des fragments d'ADN à cloner. Après ligation de ces petites molécules adaptatrices, la digestion par l'enzyme appropriée va créer des extrémités cohésives. On aura la précaution d'avoir protégé au préalable d'éventuels sites internes de reconnaissance (par méthylation par exemple).

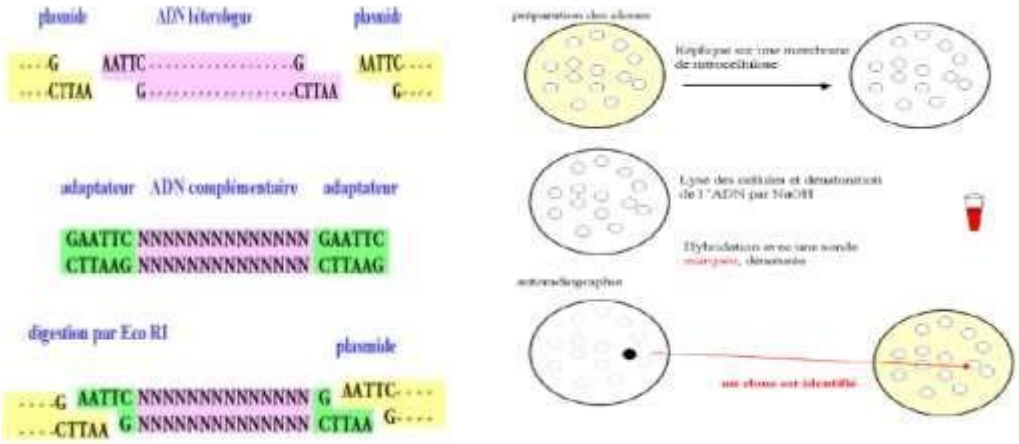

Figure 13 Les étapes de préparation d'un clone

III. 2.5 Exploitation des banques

Plusieurs techniques éprouvées permettent de construire des banques. Il reste à les exploiter, même avec une banque d'ADNc, le nombre de clones est important et le tri représente la partie la plus délicate des expériences de clonage, il existe de nombreuses stratégies mais aucune n'est universelle.

 Remarque:

Les termes de cribler et de sélectionner n'ont pas la même signification : lors de la sélection, on élimine tous les clones non intéressants, le criblage permet de repérer le clone intéressant.

Le tri peut se faire par sélection lorsque le gène intéressant confère un phénotype particulier à l'hôte tel qu'une résistance à un antibiotique particulier auxquels les cellules sauvages sont sensibles : la culture sur un milieu contenant cet antibiotique ne fera apparaître que les clones transformés contenant ce gène précis. Le tri par criblage reste le plus courant.

La détection immunologique du produit du gène représente un crible intéressant si le gène recherché est exprimé dans la cellule transgénique ce qui n'est pas toujours le cas.

Le criblage par hybridation de l'ADN des clones transformés avec une sonde spécifique constitue une méthode de choix. L'hybridation peut se faire in situ : on effectue des répliques de clones bactériens cultivés en boîte de Pétri sur des disques de nitrocellulose, après un temps de culture suffisant, les bactéries de ces répliques sont ensuite lysées par la soude qui, en même temps, dénature l'ADN, les molécules simple brin correspondantes se trouvent immobilisées à l'emplacement de chaque clone. Après hybridation, avec la sonde radioactive, l'autoradiographie révélera les clones positifs.

Le problème est déplacé vers celui de l'obtention de la sonde spécifique, correspondant au gène recherché.

- s'il s'agit d'un gène peu évolué, on peut utiliser une sonde "hétérologue" (en fait une séquence homologue mais provenant d'un autre organisme) en comptant sur une homologie de séquence suffisante pour s'hybrider dans des conditions qui ne donnent pas de faux positifs.
- lorsqu'une lignée cellulaire synthétise, à un moment donné du développement, un messager majoritaire, on peut tenter sa purification et réaliser un ADN complémentaire qui, une fois cloné servira de sonde pour une banque génomique.
- si l'on connaît très bien le produit du gène, c'est à dire la séquence, même partielle, en acides aminés, on pourra construire des oligonucléotides selon les codes possibles et "partir à la pèche" avec ces sondes artificielles.
- Dans les cas désespérés, c'est à dire lorsque l'on ne possède pas de sonde et que l'on n'a aucune idée du produit du gène, connu uniquement par la manifestation phénotypique d'un allèle muté, il reste d'autres solutions, par exemple, la "marche sur chromosome" (chromosome walking) : Par des méthodes faisant appel à des croisements traditionnels et à l'analyse mendélienne, on va essayer d'associer des marqueurs RFLP au locus considéré. L'idéal étant d'encadrer le locus par des marqueurs distants de moins d'un centimorgan. Le premier marqueur constitue une sonde pour identifier un clone (parmi une banque génomique) qui servira de départ. La cartographie de restriction nous permettra d'identifier un segment situé à une extrémité qui sera, à son tour utilisé comme sonde pour cribler un clone chevauchant et ainsi de suite jusqu'à un second marqueur connu. La séquence recherchée se trouve obligatoirement parmi les clones

identifiés. Si l'un d'entre eux peut complémenter un mutant (par transgénèse restituant le phénotype sauvage par exemple), c'est qu'il s'agit de la séquence recherchée.

- Le clonage biologique à l'aide d'un vecteur approprié est applicable à n'importe quelle séquence d'ADN (naturelle ou synthétique) et représente un outil d'amplification de molécules homogènes très puissant mais il ne s'agit que d'un outil. Les technologies de l'ADN recombiné in vitro sont à la base de la génétique moderne.

IV. 1. Introduction

Les biotechnologies ont évolué avec la progression des connaissances en biologie (génie génétique, biochimie des protéines, enzymologie...) et avec la progression des techniques industrielles. Deux étapes majeures ont marqué l'histoire de la biologie végétale :

- la progression de la génomique, à la base de technologies telles que la sélection par marqueurs, la transgénèse, la génétique d'association…
- la découverte de la totipotence des cellules végétales, à la base des multiples technologies de culture in vitro : culture de méristèmes, culture d'embryons, fusion de protoplastes, haplodiploïdisation, multiplication in vitro, sauvetage d'embryons.

IV.2. Définition

Les principales techniques de culture in vitro, permettant d'exploiter la diversité et de faciliter les croisements interspécifiques, de diminuer la durée de création des variétés et d'obtenir du matériel végétal sain. La technique in vitro est un mode de multiplication végétative artificielle des plantes. Il s'agit un ensemble de méthodes faisant intervenir d'une part l'asepsie (stérilisation du matériel, désinfection des explants).

La multiplication végétative est un processus spécifique des plantes. Chaque cellule possède en effet les potentialités nécessaires et suffisantes pour se multiplier et surtout pour s'organiser en tissus différenciés permettant de reconstruire une plante avec son ADN : c'est la totipotence des cellules végétales.

La découverte des hormones végétales a permis la multiplication des plantes en conditions aseptiques, c'est-à dire in vitro, mais sa complète maîtrise est encore loin d'être atteinte dans la majorité des cas.

Trois méthodes de multiplication in vitro peuvent être envisagées :

- la culture de méristèmes ou d'apex de tige, qui demeure la plus généralisable et la plus sûre pour assurer la reproduction de copies conformes ; de plus elle peut associer la lutte phytosanitaire à la multiplication ;
- la reconstitution de plantes par néoformation de bourgeons et de racines sur un cal ;
- l'embryogenèse somatique, qui permet l'obtention d'embryons et la régénération de plantes à partir de cellules somatiques.

IV.3. Différentes méthodes de culture in vitro

Les différentes techniques de culture in vitro végétales utilisées aux laboratoires des biotechnologies sont :

- la micro propagation,
- la culture de méristèmes,
- l'embryogenèse somatique,
- l'haplodiploïdisation par androgenèse ou gynogenèse,
- la création de variants,
- le sauvetage d'embryons immatures issus de croisements interspécifiques par exemple.

IV.3.1. La micro propagation in vitro ou le clonage végétal

IV.3.1.1. Définition et technique

La micro propagation appelée également micro bouturage, est une technique très utilisée à travers le monde pour multiplier des plantes dont la reproduction est difficile, comme les orchidées et autres. Elle permet la création d'un grand nombre de clones, parfaitement sains. L'explant utilisé est par exemple un fragment de tige.

Les plantes se reproduisent par la voie sexuée via les graines, mais elles utilisent pour certaines aussi une autre voie, celle de la multiplication végétative. La particularité de cette reproduction est que les plantes filles qui en sont issues sont identiques génétiquement à la plante mère : c'est le clonage végétal ou multiplication conforme qui est exploitée depuis des siècles par les horticulteurs et jardiniers : bouturage, marcottage, greffage etc.

La micro propagation in vitro dérive de ce phénomène naturel. On cultive des explants végétaux stérilement, sur un milieu artificiel et dans un environnement contrôlé. Suite aux subcultures successives on obtient alors des plantes identiques à la plante de départ et que l'on peut multiplier à l'infini. On exploite ainsi la propriété de totipotence des cellules végétales.

Figure 14 le micro bouturage du rosier à partir d'un seul fragment de rosier

L'objectif de la technique est de produire en grande quantité des cultivars d'intérêt horticole, sylvicole, ou agronomique qui viennent d'être créés ou découverts ou qui ont toujours un intérêt. Il peut s'agir également de plantes difficiles à reproduire naturellement.

IV.3.1.2. Avantages

Les plantes obtenues sont génétiquement identiques à la plante ou variété de départ. La puissance de multiplication du clonage in vitro permet une production d'un grand nombre de plantes génétiquement

homogènes en un laps de temps court. En 1 an, on peut produire en théorie plus de 4 millions de plants d'œillets à partir d'un seul apex, ou encore 50 000 plants de framboisiers alors que traditionnellement on en obtient 50.

Les plantes obtenues sont de qualité car en très bon état sanitaire, avec un enracinement régulier, des ramifications nombreuses, donc une vigueur accrue. Le volume de plantes nécessaire à la mise sur le marché des nouvelles variétés est plus rapidement atteint. La production de plantes in vitro permet de s'affranchir des saisons. Les cultures peuvent être ainsi programmées afin d'utiliser rationnellement les surfaces de serres. La réduction du nombre de pieds mères nécessaire à la production de boutures permet un gain de place dans les serres d'où une économie d'énergie.

Pour les espèces fruitières ou ornementales, en multipliant in vitro, il est possible de s'affranchir des portegreffes. Ainsi les arbres ou arbustes obtenus ne présenteront pas de problème de rejet de "sauvageon".

Le microbouturage permet de multiplier des espèces difficiles à reproduire naturellement telles les orchidées d'où une diminution du coût de production. En faisant germer les graines d'orchidées in vitro , la présence des champignons symbiotiques est inutile. La culture in vitro permet de multiplier des plantes stériles

Il est possible de conserver des variétés anciennes à l'abri des parasites et pathogènes, dans un espace réduit dû à la miniaturisation des vitroplants : plus de 1 000 plants/m2.

On peut reboiser très rapidement des plantations qui pourraient être ravagées par des parasites ou des catastrophes naturelles. Les vitro plants sont très facilement transportables d'un pays à l'autre sans risques sanitaires.

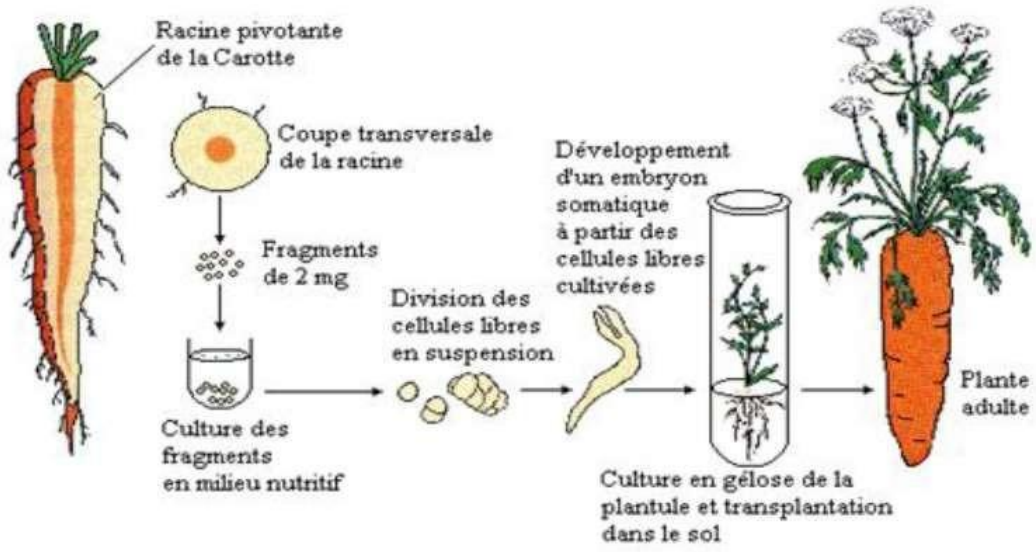

Figure 15 Exemple d'une culture in vitro par de microbouture

IV.3.1.3. Inconvénients

Le coût du plant in vitro est plus élevé que celui d'une bouture obtenue classiquement, il demande une main-d'œuvre spécialisée qui représente environ 60% à 70 % du prix de revient car l'automatisation est limitée.

IV.3.1.4. Applications

Des centaines de millions de plantes issues de microbouturage sont produites annuellement dans le monde, dans un nombre toujours grandissant d'espèces. Plus de 300 espèces seraient concernées par la multiplication in vitro à l'échelle industrielle.

IV.3.1.5. Les différents types de la multiplication in vitro

Il existe trois types de la multiplication in vitro :

- Multiplication par bourgeonnement axillaire exemple : le séquoia (Sequoiadendron giganteum (Lindl.) Buchholz.)

Le point de départ est un bourgeon terminal ou axillaire. Cette technique de micropropagation ne fait qu'accélérer in vitro le fonctionnement normal des bourgeons déjà formés sur une plante.

- Multiplication par bourgeonnement adventif : exemple : le saintpaulia (Saintpaulia ionantha Wendl.).
- Le terme "adventif" s'applique à la formation d'organes en un site inhabituel.
- Multiplication par embryogenèse somatique. Dans une graine, on trouve la future plante sous forme d'embryon (embryon zygotique) qui résulte de la reproduction sexuée. L'embryogenèse somatique consiste à provoquer l'apparition d'embryons à partir de tissus végétaux mis en culture in vitro. Elle apparaît le plus souvent dans les suspensions cellulaires, occasionnellement dans les cals, plus rarement directement sur les organes.

IV.3.2. La culture de méristèmes ou l'élimination

IV.3.2.1. Définition

Les méristèmes sont des zones de cellules à divisions intenses, situés au coeur des bourgeons et des extrémités de racines et à l'origine des tiges feuillées ou du système racinaire. En 1950, les travaux de Limasset et Cornuet ont montré que les méristèmes étaient indemnes de virus.

La culture de méristème est une culture aseptique sur milieu artificiel du dôme apical sans ébauche foliaire. Il mesure 0,2 à 0,3 mm de côté et la dissection se fait sous loupe binoculaire. La technique peut être associée à de la thermothérapie : culture à température élevée, pour favoriser l'élimination des virus. C'est la seule façon d'obtenir des plantes saines indemnes de virus.

IV.3.2.2. Avantages

La culture de méristèmes permet le sauvetage des variétés menacées de disparition car très virosées. Elle concerne essentiellement les plantes à reproduction par voie végétative : bouturage, marcottage, etc. tels le Pelargonium, le dahlia, le chrysanthème, la pomme de terre, l'artichaut, le fraisier, framboisier, etc. car cette voie favorise la transmission des virus à la descendance. Les plantes produites sont saines : sans virus, champignons et bactéries et répondent aux normes phytosanitaires d'échanges internationaux de plus en plus draconiennes.

Les plantes assainies ont une vigueur accrue, et des qualités de floraison et de fructification restaurées. On obtient des variétés conformes à la variété d'origine et que l'on peut multiplier en grande quantité, la production est homogène.

Les plantes obtenues sont indemnes de virus mais ne sont pas devenues résistantes aux virus. Elles peuvent être recontaminées via des insectes si des mesures de prophylaxie ne sont pas prises. Pour certaines variétés qui présentent des chimères : plantes panachées de Petunia ou de Pelargonium par exemple, par culture de méristèmes il est possible de ne pas retrouver à la régénération ce caractère horticole.

IV.3.2.3. Applications

De nombreuses variétés de diverses espèces ont été sauvegardées grâce à cette technique : pomme de terre
(Belle de Fontenay en 1954), dahlias, fraisiers, vigne, iris, framboisiers etc, banane, patate douce, manioc. La Violette de Toulouse a été sauvée du déclin grâce à la culture de méristèmes qui a permis de régénérer des plantes sans virus.

Beaucoup de plantes horticoles de grande diffusion telle le Pelargonium, le chrysanthème etc. sont produites à partir de pieds mères qui ont été assainis par culture de méristèmes. Il en est de même pour des espèces maraîchères tel l'artichaut ou encore le fraisier.

IV.3.3. L'embryogénèse somatique

IV.3.3.1. Définition

L'embryogenèse somatique est une forme de multiplication végétative qui permet d'obtenir une multitude de plantules identiques génétiquement à la plante donneuse d'explants. C'est l'obtention d'embryons à partir de cellules somatiques, c'est à dire non sexuelles.

De nombreuses divisions cellulaires sont rapidement provoquées à partir des tissus cultivés grâce à l'apport d'une forte dose d'auxine. Une cal est alors obtenue, c'est à dire un amas de cellules indifférenciées, rejuvénilisées et qui pourront donner naissance à des embryons bipolaires qui vont se comporter comme des embryons zygotiques, (issus de la fécondation entre une cellule sexuelle femelle et une cellule sexuelle mâle).

IV.3.3.2. Applications

L'embryogenèse somatique est une technique qui s'adapte bien à la production industrielle. Les embryons somatiques peuvent être initiés dans des bioréacteurs, afin soit de produire des semences artificielles en les encapsulant dans un gel nutritif, ou encore pour la synthèse de métabolites secondaires utilisés dans des médicaments, colorants, etc. C'est peut-être également un moyen de cloner des ligneux. Un litre de milieu de culture contenu dans un fermenteur peut produire des milliers, voire des millions d'embryons somatiques.

C'est une technique qui s'applique bien au fenouil, au caféier, au citronnier, à la luzerne, à la carotte, au pétunia, à l'aubergine, au cacaoyer, à l'hévéa, au palmier à huile, etc.

IV.3.3.3. Avantages

Cette technique de multiplication s'adapte à l'automatisation, ce qui permet de réduire les coûts de production. Le rendement en plantes produites est très élevé. Les embryons obtenus sont d'origine unicellulaire, il n'y a donc pas de problème de chimères

L'embryogenèse somatique permet la rejuvénation des tissus ainsi qu'un accès aux transformations génétiques. C'est un bon moyen pour produire des clones d'individus élites chez les ligneux.

Le passage par cal peut amener des risques de dérive génétique, c'est à dire d'obtention de variants qui seraient différents de la plante de départ.

IV.3.4. L'haplo-diploïdisation ou la création de lignées pures

Les plantes haploïdes sont issues d'une cellule sexuelle mâle ou d'une cellule sexuelle femelle sans fécondation. Les plantes obtenues n'ont qu'un seul lot de chromosomes au lieu de 2 normalement, qui est doublé naturellement ou artificiellement afin qu'elles deviennent fertiles. Cette méthode permet la création de lignées pures, qui portent exactement la même information sur chaque chromosome d'une paire. Elles peuvent être obtenues par androgenèse, par gynogenèse, par fécondation avec du pollen irradié ou par croisements interspécifiques

Il existe dans la nature à des pourcentages très faibles des plantes haploïdes, non issues de fécondation normale.

IV.3.4. 1. L'androgenèse ou les plantes "sans mère"

Définition

C'est la régénération de plantes entières à partir de culture de cellules sexuelles mâles : des grains de pollen immatures, soit par culture de pollen isolé, soit par culture d'anthères. Son objectif est d'obtenir des plantes haploïdes doublées, (après doublement spontané ou artificiel par colchicine). Ainsi des lignées pures sont produites en quelques mois au lieu de 8 à 10 ans par technique classique d'autofécondations. L'obtention de lignées pures est une étape presque toujours nécessaire des programmes d'amélioration des plantes.

Applications

C'est une technique utilisée chez le blé, le riz, la pomme de terre, le tabac, le maïs, l'asperge, le piment, etc. et en routine chez le colza, l'orge et l'aubergine.

Le blé Florin a été la première variété issue d'androgenèse inscrite au catalogue français. Ce fut une première mondiale initiée par le laboratoire d'Amélioration des Plantes d'Orsay. Aujourd'hui de nombreux cultivars de diverses espèces et issus de ces techniques d'haplodiploïdisation sont déposés chaque année.

Avantages

Cette technique amène un important gain de temps, ce qui permet de mettre plus rapidement sur le marché de nouvelles variétés présentant des avantages pour l'agriculteur, l'industriel ou le consommateur. En effet une plante homozygote est directement obtenue, ce qui évite de faire une dizaine de générations d'autofécondations pour obtenir une lignée pure, état nécessaire aux programmes de sélection végétale.

Les plantes obtenues par cette technique sont totalement homozygotes, cela permet de dévoiler des caractères intéressants par l'expression des allèles récessifs habituellement cachés. Ces gènes pouvant être exploités éventuellement. Des recombinants intéressants peuvent ainsi être détectés et exploités, une résistance à une maladie par exemple.

Le rendement, (nombre de plantes viables/100 anthères cultivées) est souvent dépendant du cultivar. Certaines variétés de céréales produisent un grand nombre de plantes albinos, donc non viables. Prenant comme exemple : les étapes de l'androgenèse du blé tendre (triticum aestivum) :

IV.3.4. 2. La Gynogenèse ou les plantes "sans père"

Définition

On cultive des ovules ou des ovaires non fécondés, le plus souvent immatures, sur un milieu artificiel. On obtient des plantules ayant un seul stock de chromosomes.

L'objectif de la gynogenèse est le même que pour l'androgenèse. Mais la gynogenèse est souvent utilisée chez les espèces qui sont récalcitrantes à l'androgenèse

Avantages

Par rapport à l'androgenèse, les risques d'obtention de plantes albinos sont fortement diminués voire nuls. C'est une technique utilisée chez la betterave sucrière, le gerbéra, le riz, la laitue, la pastèque, le pommier, le triticale, le tournesol, etc.

Les autres techniques de gynogenèse

- **Les croisements interspécifiques**

En fécondant un ovule avec du pollen d'une autre espèce, souvent sauvage et proche, il y a développement d'un embryon mais élimination des chromosomes de l'espèce sauvage. La plantule qui se développe est haploïde. C'est une technique largement utilisée chez l'orge, (*Hordeum vulgare* X *Hordeum bulbosum*), mais également chez le blé et la pomme de terre (*Solanum tuberosum* X *Solanum phureja*).

- **Pollinisation avec du pollen irradié**

Irradier du pollen le rend inactif mais néanmoins capable d'initier des divisions cellulaires de l'ovule. Ceci permet l'obtention d'une plantule sans fécondation donc également avec le seul lot de chromosomes maternels.

Les fruits qui se développent, par parthénogenèse, n'ont pas de graines ou de pépins. Ce qui est intéressant pour le melon ou la pastèque par exemple. Cette technique est utilisée chez le melon, le pétunia, l'asperge, l'oignon, la pastèque.

IV.3.5. Création de la variabilité (Mutagénèse)

IV.3.5.1. Introduction

Les mutations conduisent à la création d'un nombre croissant de nouvelles variétés : plus de 2 000 variétés ont été créées à partir de mutations naturelles ou induites. Beaucoup de mutations apparaissent naturellement, si certaines sont létales, d'autres peuvent être mises à profit par l'obtenteur ou le producteur et de nouveaux types apparaissent : nectarine, cerisier auto-fertile, chou-fleur, betterave monogerme (évitant le démariage), colza sans acide érucique (huile ainsi non toxique), fruit de pamplemousse sans pépin ou à pulpe rose, etc. En amélioration des espèces florales, fruitières ou maraîchères notamment, on peut avoir recours à la mutation induite par le biais de diverses techniques pour en augmenter la fréquence

IV.3.5.2. Techniques de la mutagénèse

- **Les radiations ionisantes**

C'est la source principale de création de mutants. Ces mutants ne donnent pas toujours directement de nouvelles variétés, mais les plantes obtenues peuvent être des géniteurs qui entrent dans un programme de croisements.

- **La mutagenèse chimique**

Des produits mutagènes inclus dans les milieux de culture peuvent induire des mutations intéressantes au niveau horticole ou agronomique.

- **La variation somaclonale ou les vitrovariants**

Le passage par cal ou le nombre de cycles de culture in vitro sont des facteurs qui peuvent induire des variants, c'est à dire des plantes dont le génome est sensiblement différent de celui de la plante de départ. Il est possible de créer de la variabilité via les cultures cellulaires également, cette voie est explorée chez l'asperge par exemple. Pour cela on introduit des pressions de sélection tels le froid, des toxines, de la salinité et au moment de la régénération on peut obtenir des plantes nouvelles qui peuvent être résistantes au sel, à la sécheresse, à des maladies, etc., et que l'on n'aurait pas pu obtenir par une autre façon. Ces variants peuvent entrer dans des programmes de sélection, le Pelargonium "Velvet Rose" a été obtenu ainsi.

IV.3.5.3. Applications

Des mutants ont été créés par exemple chez les céréales. On a pu créer par mutagenèse un colza avec une meilleure résistance à l'alternaria, (une maladie fongique). Pour de nombreuses espèces cultivées : tabac, tomate, céleri, canne à sucre, fenouil, laitue, etc. des variations somaclonales ont amené de nouveaux caractères intéressants : résistance aux maladies, précocité de floraison, couleur et forme des fleurs, accroissement de vigueur. Les mutations naturelles peuvent également être exploitées pour créer de nouvelles variétés. Les modifications apparaissent aléatoirement sur les chromosomes et la proportion de mutants présentant un intérêt horticole ou agronomique est faible.

IV.3.6. Le sauvetage des embryons

Les embryons obtenus après la fécondation peuvent être prélevés, mis en culture in vitro et donner un nouvel individu. Le sauvetage d'embryons consiste à prélever un embryon précocement, à le cultiver

in vitro, soit pour accélérer les cycles végétatifs, soit parce qu'il ne pourrait pas se développer dans les tissus maternels, par exemple lorsqu'il résulte d'un croisement interspécifique.

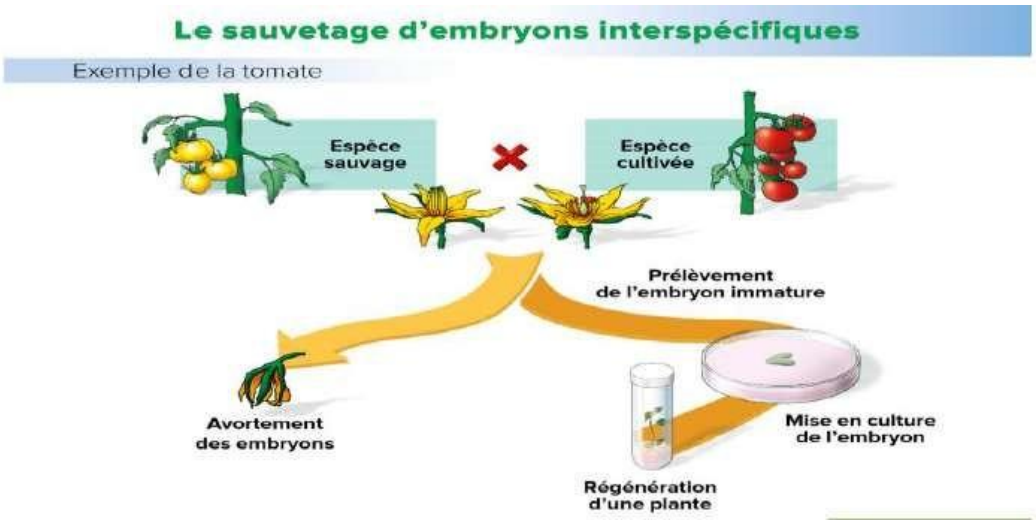

Figure 16 Sauvetage d'embryons interspécifiques

IV.4. Autres techniques

D'autres techniques existent : la culture de cellules et la production de métabolites secondaires, la bioencapsulation et la production de semences artificielles, la cryoconservation à -196°C, la culture de protoplastes et la fusion somatique, la transformation génétique

IV.4. 1. Obtention de protoplastes et fusion des protoplasmes

Les protoplastes sont des cellules débarrassées de la paroi pectocellulosique par hydrolyse enzymatique. Ils peuvent être obtenus à partir de différents tissus d'une plante, de préférence des limbes de jeunes feuilles. Limités seulement par la membrane cytoplasmique, les protoplastes peuvent fusionner ce qui permet de créer de nouvelles variétés, d'introduire des caractères à hérédité cytoplasmique. Lors de la fusion, tous les échanges sont possibles entre deux protoplastes. à des degrés très variables soit des homo-fusion ou hétéro- fusion résultant par fusion des noyaux et des cytoplasmes ou Fusion unique des cytoplasmes, ce qu'on appele les cybrides Des plantes transgéniques peuvent être obtenues à partir de protoplastes transformés par électroporation. Cette méthode permet d'introduire de l'ADN nu (construction génique) dans les protoplastes par l'utilisation d'un champ électrique de haut voltage qui rend perméable leur membrane cytoplasmique.

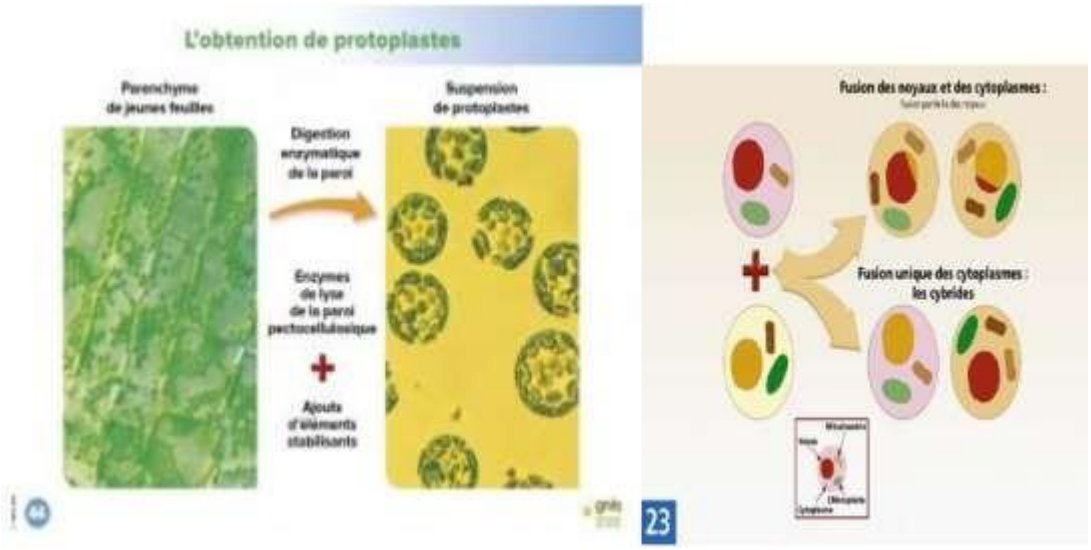

Figure 17 l'obtention de protoplastes et leur fusion

IV.4.2. Transformation génétique

- La génomique est composée de trois volets complémentaires : la génomique structurale, la génomique fonctionnelle et la protéomique.
- La génomique structurale analyse la structure des gènes et autres parties du génome. Elle contribue à l'annotation des génomes et à l'identification des séquences informatives (les gènes avec ou sans introns codant des protéines ou des ARN fonctionnels, les séquences régulatrices, les séquences répétées, les éléments transposables, ...).
- La génomique fonctionnelle analyse la fonction des gènes et autres parties du génome. Elle inclue l'analyse du transcriptome (ARN messagers) ou transcriptomique. Elle contribue aussi très largement à l'annotation des génomes et à l'identification des séquences informatives.
- La protéomique est l'analyse du protéome (protéines). Elle contribue aussi à l'annotation des génomes et à l'identification des séquences informatives.

La génomique structurale, la génomique fonctionnelle, la transcriptomique et la protéomique sont des approches complémentaires.

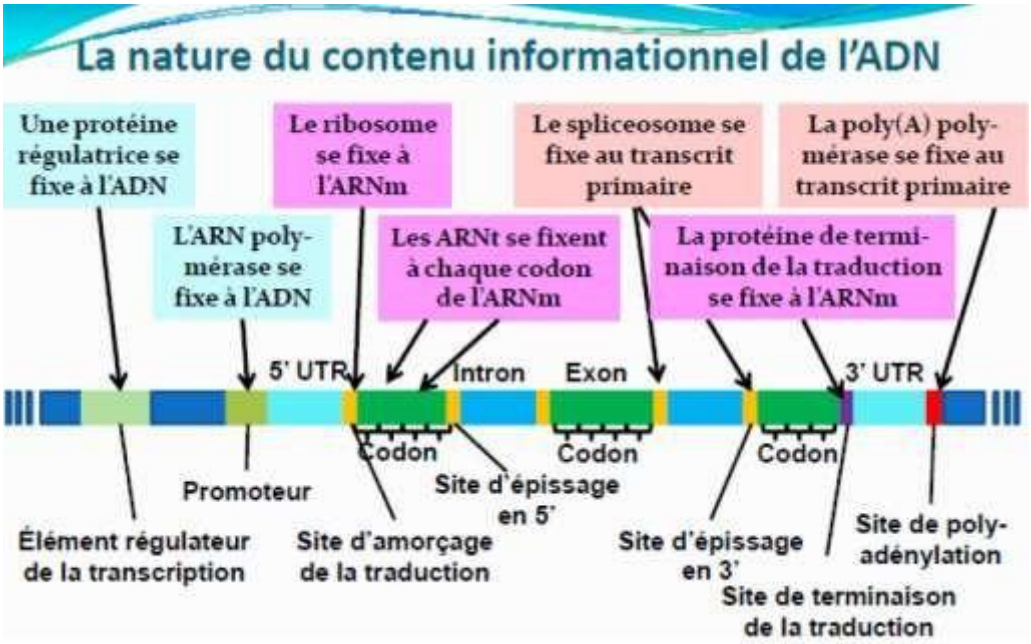

Figure 18 la nature du contenu informationnel d'ADN

IV.5. Les avantages de la culture in vitro

La culture in vitro permet :

- l'obtention de clones sélectionnés pour leur vigueur, leurs caractères intéressants (Chrysanthème, Fraisier, Bananier), leur rareté (Orchidées) ;
- l'assainissement des végétaux (plantes sans virus) : la Pomme de terre ;
- la production rapide et en masse, à n'importe quel moment de l'année ;
- le raccourcissement des cycles de développement ;
- la diminution des coûts de production (peu de personnel) et des dépenses Énergétiques (réduction des surfaces de culture et éclairement réduit)
- la facilité de stockage et conservation (au froid) de millions de plantes sur de très petites surfaces, à l'état sain et à l'abri des contaminations ;
- le rajeunissement d'un végétal ;
- la production de substances biochimiques intéressantes pour l'industrie, les secteurs

Cette technique de multiplication des végétaux est menée à plusieurs fins :

- reproduire à l'identique, en masse et rapidement une plante d'intérêt horticole ou agronomique, tout en réduisant les coûts de production : la culture in vitro mobilise en effet peu de personnel, se déroule dans un espace réduit et consomme moins d'énergie que les productions classiques ; □ accélérer la création de nouvelles variétés ;

- conserver des espèces rares ou anciennes ; assurer la production de plantes saines, indemnes de virus : cette méthode a ainsi permis de sauver certaines variétés, comme la pomme de terre Belle de Fontenay.

IV.6. Quelques Exemples historiques de la mise au point de la multiplication végétative in vitro

- 1939 : Gautheret réalise une culture indéfinie de cambium.
- 1952 : Morel et Martin réalisent le premier assainissement par culture de méristème de dahlia.
- 1958 : Reinert et Stewart obtiennent les premiers embryons somatiques de carotte.
- 1960 : Morel réalise la première multiplication végétative in vitro de lřorchidée.
- En 1988, plus de 450 espèces pouvaient être micro-propagées.

Bref historique de la mutagénèse artificielle

Découverte des radiations ionisantes au début du 20esiècle.

- 1927 : les altérations (mutations) provoquées par les radiations sont héritables.
- Diversification des agents mutagènes : physiques (Rayons gama, Rayons X, Ultraviolets), chimiques (EMS...), variations induites par des cultures de cellules in vitro.
- Exploitation des mutants artificiels : 2 252 variétés recensées par la FAO/IAEA en 2000.

Exemples :

Pamplemousse, aspermie (1970), couleur rouge de la pulpe (1984) Riz, qualité du grain (1970) Tournesol riche en acide oléique (1976) (toutes les variétés riches en acide oléique inscrites en France et aux USA) Cerisier, autofertilité (1985) Forsythia, port compact (1985) OEillet, variations de couleur Colza riche en acide oléique et colza à teneur réduite en acide linoléique Orge à brasserie, semi-nanisme (plus de 150 variétés)

Quelques applications de la fusion de

- Création de nouvelles espèces :

1978, la tomate2002, porte-greffes de Citrus : Poncirus trifoliata x Citrus reticulata.

Introgression de caractères par fusion asymétrique :

Résistance au virus de l'enroulement introduite dans la pomme de terre à partir de *S. brevidens* Résistance au mildiou à partir de S. bulbocastanum.

- Manipulation des caractères cytoplasmiques (cybrides) :

Création de géniteurs pour la production de variétés hybrides chez les Brassica, le riz et l'endive.

Evolution des méthodes et techniques de la sélection depuis 200 ans

- Sélection de descendances homogènes, qui remplace la sélection massale (mélange de différents génotypes pratiqués dès l'origine de l'agriculture) (1850)
- Hybridation entre lignées ou espèces et la sélection dans la descendance (1880)

- Doublement chromosomique à la colchicine, mutagénèse (1935)
- Méthodes biométriques (1950)
- Cytogénétique : identification et accès aux chromosomes (1950)
- Culture in vitro, haploïdie, hybridation cellulaire, multiplication végétative, éradication des viroses (1950-1980)
- Identification de marqueurs moléculaires des caractères (1980)
- Transgénèse (1984)
- Identification des gènes, de leurs séquences et de leurs fonctions (génomique) (depuis 1990)
- Sélection de mutants avec modification précise du gène cible (Tilling) (2000) - Génétique d'association (2010).

Chapitre V : Métabolisme des plantes (Primaire)

V.1.Introduction

Le métabolisme est l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent au sein d'un être vivant pour lui permettre notamment de se maintenir en vie, de se reproduire, de se développer et de répondre aux stimuli de son environnement. Certaines de ces réactions chimiques se déroulent en dehors des cellules de l'organisme, comme la digestion ou le transport de substances entre cellules. Cependant, la plupart de ces réactions ont lieu dans les cellules elles-mêmes et constituent le métabolisme intermédiaire.

Certaines de ces enzymes sont soumises à une régulation par des métabolites cellulaires ou par des signaux extracellulaires. Ces facteurs de régulation modifient la cinétique enzymatique, accélérant ou ralentissant certaines réactions déterminantes, et aboutissant à l'autorégulation du système par l'ouverture et la fermeture des différentes voies métaboliques selon les circonstances .Dans l'ensemble des réactions constituant le métabolisme, on distingue d'une part l'anabolisme, qui représente l'ensemble des voies de biosynthèse des constituants cellulaires, et d'autre part le catabolisme, qui représente l'ensemble des voies de dégradation de ces constituants cellulaires en petites molécules pour en libérer l'énergie par oxydation ou pour rebâtir d'autres constituants cellulaires. Les réactions de l'anabolisme et du catabolisme sont interconnectées à travers des molécules spécialisées jouant le rôle de cofacteurs enzymatiques. C'est par exemple le cas de l'adénosine triphosphate (ATP), dont l'hydrolyse en adénosine diphosphate (ADP) et phosphate inorganique (Pi) est souvent couplée aux réactions d'anabolisme pour les rendre thermodynamiquement favorables.

Le métabolisme d'un être vivant définit les types de substances chimiques qui sont des nutriments pour cet organisme et lesquels sont au contraire des poisons : ainsi, le sulfure d'hydrogène H_2S est indispensable au développement de certains procaryotes alors que ce gaz est toxique pour les animaux1. L'intensité du métabolisme de base détermine également la quantité de nourriture nécessaire à l'organisme.

Il est frappant d'observer la similitude des voies métaboliques fondamentales et des composés biochimiques à travers les organismes les plus divers2. Ainsi, les acides carboxyliques constituant les intermédiaires du cycle de Krebs se retrouvent chez tous les êtres vivants connus, allant d'un procaryote tel qu'E. coli jusqu'à un métazoaire tel que l'éléphant. Ces similitudes remarquables sont très certainement dues à l'apparition précoce de ces voies métaboliques au cours l'évolution des formes de vie sur Terre et à leur conservation en raison de leur efficacité.

V.2. Les différents Métabolites Primaires

Un métabolite primaire est un type de métabolite qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ce composé a généralement une fonction physiologique dans cet organisme, c'est-à dire une fonction intrinsèque. Les métabolites primaires rassemblent les acides aminés, les lipides, les carbohydrates et les acides nucléiques.

Inversement, un métabolite secondaire n'est pas directement impliqué dans ces processus physiologiques fondamentaux (indispensables) d'un organisme, mais possède typiquement une fonction écologique importante (c'est-à-dire une fonction relationnelle).

Les animaux, les plantes et les microbes sont formés de trois grandes familles de molécules :

1. les peptides, qui jouent un rôle déterminant à la fois dans la structure des organismes (protéines), leur biochimie (enzymes) et d'intégration physiologique entre les organes (hormones peptidiques) ;
2. les lipides, qui jouent un rôle à la fois de réserve d'énergie, de constituant principal des membranes de leurs cellules, et de communication entre cellules par des mécanismes de signalisation lipidique ;
3. les glucides, qui servent à la fois à stocker de l'énergie, à stabiliser certaines protéines et à favoriser l'adhérence des cellules entre elles, par exemple dans les mécanismes de reconnaissance du système immunitaire à travers les lectines.

V.2. 1. Acides aminés et protéines

Les protéines sont constituées d'acides α-aminés liés entre eux par une liaison peptidique pour former une chaîne linéaire. De nombreuses protéines sont des enzymes qui catalysent des réactions chimiques du métabolisme. D'autres protéines ont un rôle structurel ou mécanique, comme celles du cytosquelette, qui maintient la forme générale de la cellule6. Les protéines jouent également un rôle clé dans la signalisation cellulaire, comme anticorps du système immunitaire, l'adhérence cellulaire, le transport actif à travers les membranes et le cycle cellulaire. Les acides aminés contribuent également à fournir de l'énergie au métabolisme cellulaire en alimentant le cycle de Krebs7, en particulier lorsque les principales sources d'énergie, telles que le glucose, font défaut, ou lorsque la cellule.

Les protéines jouent également un rôle structural et participent au renouvellement des tissus végétaux. En industries agroalimentaires, les protéines végétales occupent une place de choix tant par leur valeur et propriété nutritionnelle par rapport la source animale.

Les protéinoplastes (parfois appelés protéoplastes, ou aleuronaplastes) sont des organites spécialisés et spécifiques des cellules végétales. Ils contiennent des corps cristallins de protéines dont certaines peuvent être des enzymes. Les protéinoplastes sont présents dans de nombreuses graines.

Tableau 3 ***Teneur en protéines des principaux aliments végétaux***

Types des plantes	Type d'aliment	Teneur en protéines pour 100 g
Les céréales	Avoine	13
	Seigle	11
	Orge	11
	Blé	12
	Mais	9
	Riz	7
	Pates	12
Les legumes	Soja	40 a 50
	Légumineuses (pois, haricots, lentilles..)	23
	Graines , feuilles et tubercules (pomme de terre)	2

V.2. 1.1 Différents types des protéines végétales

Les protéines végétales sont essentiellement : Albumines, Globulines, Prolamines, Glutélines et Scléroprotéines avec des degrés très variables selon le type d'aliment.

1. Albumines

Les albumines (du latin albus, blanc) sont des protéines solubles dans l'eau pure, moins dans l'eau salée. Elles se composent de deux chaînes polypeptidiques (α 4 kDa et β 9 kDa), obtenues par clivage à partir d'une seule protéine, les 2 chaines reliées par deux ponts disulfure.

2. Globulines

Les globulines sont solubles dans les solutions salines. Ces protéines globulaires, présentes majoritairement chez les dicotylédones, comprennent deux groupes : les 7S et les 11S. La masse moléculaire 40190 kDa.

3. Prolamines

La prolamine est une protéine "de réserve" présente dans les graines. Elle est soluble dans l'alcool et donne une propriété d'élasticité. La prolamine présente dans le blé se nom "gliadine". Elles servent de réserve d'azote, de carbone et de soufre pour les plantes au moment de la germination. Le poids moléculaires (entre 30 kDa et 80 kDa).

4. Glutélines

Les gluténines sont insolubles dans l'eau mais solubles dans des solutions acides ou basiques. Ces molécules polymériques sont caractérisées par des masses moléculaires importantes 500 kDa à 10000 kDa. Les protéines foliaires sont localisées dans le cytoplasme, le stroma et les thylacoïdes du chloroplaste. La teneur en protéines foliaires des végétaux est très variable.

Tableau 4 ***La teneur en protéines foliaires de certains végétaux***

Type de végétal	Protéine brute en % par rapport à la matière sèche
Coriandre	60.8
Ricin	36.9 - 41.3
Patate douce	26.7
Épinards	20 – 25
Bananier	19.3 - 20.9
Luzerne	15 – 20
Plantes aquatiques	5

V.2. 1.2. Applications des protéines végétales

En raison de leur grande richesse en protéines (90 % sur matière sèche) les isolats protéiques "blancs" sont très utilisés pour la nourriture du bétail mais aussi en alimentation humaine.

La luzerne représente, avec les tourteaux oléagineux et les graines de légumineuses, la source végétale la plus utilisée pour l'obtention industrielle de protéines.

V.2. 2. Lipides

Les lipides sont le groupe de composés biochimiques le plus diversifié. Leur fonction structurelle principale est celle de constituant des membranes cellulaires, notamment de la membrane plasmique et du système endomembranaire des cellules eucaryotes, ainsi que de celles d'organites telles que les mitochondries et les chloroplastes, voire de sous-organites tels que les thylakoïdes. Ils sont également utilisés comme sources d'énergie. On les définit généralement comme des molécules biologiques hydrophobes et amphiphiles solubles dans les solvants organiques tels que le benzène et le chloroforme. Les graisses sont, parmi les lipides, un grand groupe de composés solides essentiellement constitués d'acides gras et de glycérol. Une molécule formée de trois résidus d'acides gras estérifiant les trois hydroxyles d'un résidu de glycérol est appelée triglycéride.

Les lipides ou corps gras sont réservés dans les fruits et dans les feuilles, plus rarement dans les tiges et encore dans le mésocarpe du fruit (olive, palmier à huile); comme les plantes dites oléagineuses. Les teneurs en matières grasses sont sujettes à variation, étant influencées par les facteurs saisonniers et géographiques, d'une part, et par les facteurs génétiques, d'autre part.

Les oléoplastes sont des organites spécifiques des cellules végétales spécialisés dans le stockage des lipides, essentiellement sous forme de plastoglobules (gouttelettes lipidiques sphériques).

Les galactolipides et les phospholipides entrent ordinairement dans la constitution des membranes, surtout des organites cellulaires. Ils peuvent être abondants dans les réserves lipidiques des graines.

Les triacylglycérides (triesters du glycérol et acides gras) représentent les réserves habituelles des plantes. Cinq acides gras prédominent. Ce sont les acides insaturés, oléique (C18 :1), linoléique (C18:2), linolénique (C18:3), ou saturés, palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0).

Il existe d'autres acides gras chez les végétaux : acides caproïque (C6), caprilique (C8), caprique (C10) présents dans l'huile de palme et de coprah (plante de la noix de coco), acide laurique (C12), l'acide ricinoléique (C18) de l'huile de ricin ; l'acide arachidique (C20) de l'huile d'arachide et l'acide érucique (C22). Ces quelques exemples montrent la grande diversité de composition des matières grasses des plantes oléagineuses.

V.2. 3. Glucides

Les glucides sont des aldéhydes ou des cétones ayant plusieurs groupes hydroxyle. Ces molécules peuvent exister sous forme linéaire ou cyclique. Ce sont les molécules biologiques les plus abondantes. Elles remplissent un grand nombre de fonctions, comme substances de stockage et le transport de l'énergie (amidon, glycogène) ou comme composants structurels (cellulose chez les plantes, chitine chez les animaux). Les monomères glucidiques sont appelés oses : ce sont par exemple le galactose, le fructose, et surtout le glucose. Ils peuvent polymériser en donnant des polysaccarides avec une variété de structures quasiment infinité. Parmi Les différents carbohydrates végétales, La cellulose et l'amidon.

V.2. 3.1. La cellulose

La cellulose est un glucide constitué d'une chaîne linéaire de molécules de D-Glucose (entre 15 et 15 000) et principal constituant des végétaux et en particulier de la paroi de leurs cellules. C'est le principal constituant du bois. La cellulose constitue la matière organique la plus abondante sur la Terre (plus de 50 % de la biomasse). La quantité synthétisée par les végétaux est estimée à 50-100 milliards de tonnes par an.

Les monomères de glucose sont liés par des liaisons β-(1→4), conduisant à des polymères linéaires. Ces polymères s'associent par des liaisons intermoléculaires de type liaisons hydrogène, conférant ainsi une structure fibreuse à la cellulose. L'association de 6 chaines de cellulose forme une microfibrille de cellulose. L'association de 6 microfibrilles de cellulose forme une macrofibrille et un agencement de plusieurs macrofibrilles forme ce qui est généralement appelé une fibre de cellulose.

- **Propriétés de cellulose**

Elle n'est pas digérée par l'homme, mais est cependant utile au bon fonctionnement des intestins sous forme de fibres végétales. Les animaux herbivores utilisent en général des enzymes d'origine exogène, c'est-à-dire produites par certaines bactéries de la flore intestinale pour digérer la cellulose.

La cellulose ainsi dissoute est libérée dans l'eau acidifiée : c'est une manière de produire de la rayonne (Fibre textile artificielle produite à partir de la cellulose).

Les applications de cellulose

Ne possédant pas de cellulase (cytase), l'homme n'utilise pas la cellulose pour son alimentation contrairement aux micro-organismes (les fibres alimentaires, dont la cellulose, peuvent être dégradées partiellement par les enzymes bactériennes dans le côlon).

Les termites possèdent des bactéries capables de transformer "de manière efficace et économique les déchets de bois en sucres pour la production d'éthanol". Les enzymes trouvées dans le tube digestif des termites et produites par ces bactéries symbiotiques sont en effet capables de convertir le bois en sucre en 24 heures.

La cellulose isolée à partir des tissus végétaux, elle a pourtant toujours joué un rôle important sous forme de textiles (rayonnes-viscose) ou de papiers ou même en tant qu'explosifs et matières plastiques (nitrocellulose). Le tableau montre l'utilisation de certains dérivés de la cellulose dans le domaine industriel (alimentaire essentiellement et autre).

La cellulose et ses dérivés sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire. En tant qu'additifs alimentaires, ils portent les codes d'E460 à E466 :

- E460(i) : Cellulose microcristalline
- E460(ii) : Poudre de cellulose
- E461 : Méthylcellulose
- E462 : Éthylcellulose
- E463 : Hydroxypropylcellulose
- E464 : Hydroxypropylméthylcellulose
- E465 : Éthylméthylcellulose
- E466 : Carboxyméthylcellulose

Tableau 5 ***L'utilisation de certains dérivés de la cellulose dans le domaine industriel (alimentaire essentiellement et autre)***

Dérivés	Caractéristiques	Utilisations
CMC carboxyl méthyl cellulose de sodium	Bonne solubilité dans l'eau	Agent de dispersion dans les jus de fruits, améliorateur de structure des crèmes glacées, conservation des farines, lutte contre la dyspepsie au lait (trouble de la digestion).
HPC hydroxyl propyl cellulose	Précipite lorsque l'eau atteint 40 - 50 °C	Dans les produits de boulangerie (ajuster la consistance des pâtes, améliorer la rétention d'eau, prolonger la durée de consommation de certains gâteaux en diminuant la vitesse de rassissement); pour leur effet gélifiant à chaud (confection des beignets,
MHPC méthyl-hydroxy propyl cellulose	Solubles dans l'eau chaude et gélifient à une température de l'eau d'environ 50 à 90 °C	
MC(méthyl cellulose		

		produits panés, produits reconstitués)
AC (acétate de cellulose).		Films, bandes magnétiques, membranes de dialyse

V.2. 3.2. L'amidon

L'amidon (du latin amylum) est un glucide complexe (polysaccharide) composé de chaînes de molécules de Dglucose. Il s'agit d'une molécule de réserve pour les végétaux supérieurs et un constituant essentiel de l'alimentation humaine.

L'amidon est un mélange de deux homopolymères, l'amylose (600 à 1 000 unités macromolécule linéaire) et l'amylopectine (10 000 à 100 000 unités macromolécule ramifiée) composés d'unités Danhydroglucopyranose (AGU) qui appartiennent à la famille des polysaccharides (ou polyosides) de formule chimique générale (C6H10O5) n. Les unités sont liées entre elles par des liaisons α (1-4), en général caractéristiques des polyosides de réserve et des liaisons α (1-6) qui sont à l'origine de ramifications dans la structure de la molécule.

L'amidon se trouve dans les organes de réserves de nombreuses plantes :

- les graines (en particulier les céréales; maïs,…).
- les racines, les tubercules et rhizomes (pomme de terre, patate douce,…, etc.)dans ce cas il est appelé fécule.
- les fruits comme la banane.

Pour le végétal, l'amidon est une réserve d'énergie et de nutriment, nécessaire pour survivre à la mauvaise saison (sèche ou froide). Il permet de stocker des nutriments glucidiques dans les cellules. les amyloplastes sont les cellules spécialisés dans le stockage d'amidon.

Applications d'amidon

Il constitue une source énergétique indispensable à l'alimentation de Lhomme en particulier. La source potentielle d'amidon la plus importante est représentée par les graines de céréales (40 à 90% de leur poids sec), les graines de légumineuses (30 à 70% de leur poids sec) et les tubercules (65 à 85% de leur poids sec).

- L'hydrolyse industrielle de l'amidon et l'utilisation des enzymes amylolytiques se fait en 3 étapes: i) dextrinisation (production de maltodextrines), ii) saccharification et iii) l'isomérisation (production du fructose).
- production de métabolites en utilisant le glucose issu de l'amidon dans les milieux de culture et de fermentation.
- l'industrie chimique utilise l'amidon dans les procédés de fermentation pour la production de bioéthanol.

- Amidon est utilisé dans l'encapsulation de produits pharmaceutiques, les cosmétiques, la papeterie, les matières plastiques biodégradables, textile et les colles
- L'amidon et ses dérivés sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire, en tant qu'additifs alimentaires, ils portent les codes de E1401 à E1451 dans le système international de numérotation des additifs alimentaires. Par exemple E1414: Phosphate de diamidon acétylé.

V.2. 4. Nucléotides

Les deux acides nucléiques,

- l'acide ribonucléique (ARN) et
- l'acide désoxyribonucléique (ADN), sont des polymères de nucléotides, ou polynucléotides.

Chaque nucléotide est constitué d'un groupe phosphate, d'un résidu de ribose (dans l'ARN) ou de désoxyribose (dans l'ADN), et d'une base azotée. Les acides nucléiques permettent le codage et l'expression de l'information génétique ainsi que son décodage à travers le processus de transcription et de synthèse des protéines. Cette information est préservée par un mécanisme de réparation de l'ADN et transmise à travers le processus de réplication de l'ADN. De nombreux virus, dits virus à ARN, ont un génome constitué d'ARN et non d'ADN, c'est par exemple le cas du virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

Les vitamines sont des composés organiques indispensables en petite quantité au fonctionnement des cellules mais que ces dernières ne peuvent pas produire elles-mêmes. Chez l'homme, la plupart des vitamines deviennent des coenzymes après quelques transformations dans les cellules. Ainsi, les vitamines hydrosolubles (vitamines B) sont phosphorylées ou couplées à des nucléotides lorsqu'elles sont utilisées dans les cellules. Par exemple, la niacine (acide nicotinique) entre dans la composition du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD+) et du nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP+), qui sont des coenzymes importantes impliquées dans les réactions d'oxydoréduction comme accepteurs d'hydrogène. Il existe des centaines de déshydrogénases, qui soustraient des électrons de leur substrat et réduisent le NAD+ en NADH et H+. Cette forme réduite de la coenzyme peut alors être utilisée par une réductase16. Le couple NAD+ / NADH intervient davantage dans les réactions cataboliques tandis que le couple NADP+ / NADPH est spécifique à l'anabolisme.

Sels minéraux

Les sels minéraux jouent un rôle déterminant dans le métabolisme. Certains sont abondants, comme le sodium et le potassium, tandis que d'autres ne sont actifs qu'à faible concentration. Environ 99 % de la masse des mammifères est constituée des éléments carbone, azote, calcium, sodium, sodium, chlore, potassium, hydrogène, phosphore, oxygène et soufre17. Les composés organiques (protéines, lipides et glucides) contiennent l'essentiel du carbone et de l'azote, tandis que l'essentiel de l'oxygène et de l'hydrogène sont présents sous forme d'eau.

V.3. Catabolisme

Le catabolisme est l'ensemble des processus métaboliques de dégradation des biomolécules. Cela comprend par exemple la dégradation et l'oxydation des nutriments. Le catabolisme a pour fonction de fournir l'énergie et les constituants élémentaires indispensables au métabolisme de la cellule. La nature exacte de ces réactions dépend de chaque organisme. Les êtres vivants peuvent être classés en fonction de leurs sources d'énergie et de carbone, ce qu'on appelle leur type trophique :

Tableau 6 ***Classification des êtres vivants d'après leur métabolisme***

Source d'énergie	Lumière solaire	Photo-			-trophe
	Composes chimique	Chimio-			
Donneur d'électrons	Composés organiques		Organo-		
	Composés inorganiques		Litho-		
Source de carbone	Composés organiques			auto-	
	Composés inorganiques			hétéro-	

Les principaux groupes de réactions cataboliques chez les animaux peuvent être classés en trois étapes principales. Dans la première, les grandes molécules organiques telles que les protéines, les polysaccharides ou les lipides sont digérés en leurs composants élémentaires à l'extérieur des cellules. Puis ces composants élémentaires sont absorbés par les cellules et convertis en métabolites encore plus petits, le plus souvent en acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA), avec libération d'un peu d'énergie. Enfin, le résidu acétyle de l'acétyl-CoA est oxydé en eau et dioxyde de carbone par le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire, cette dernière permettant de libérer l'énergie des électrons à haut potentiel transférés au NADH au cours du cycle de Krebs.

V. 3.1. Digestion

Les macromolécules telles que l'amidon, la cellulose et les protéines, qui sont des biopolymères, ne peuvent être absorbées facilement par les cellules et doivent être clivées en oligomères, voire en monomères, afin de pouvoir être métabolisées. C'est ce qu'on appelle la digestion. Plusieurs classes d'enzymes communes réalisent ces transformations, par exemple les peptidases, qui clivent les protéines en oligopeptides et en acides aminés, ou encore les glycosides hydrolases (ou glycosidases), qui clivent les polysaccharides en oligosaccharides et en oses.

Les microorganismes sécrètent leurs enzymes digestives dans leur voisinage alors que les animaux sécrètent ces enzymes uniquement à partir de cellules spécialisées situées dans leur appareil digestif. Les acides aminés et les oses libérés par ces enzymes extracellulaires sont ensuite absorbées à travers la membrane plasmique des cellules par des protéines membranaires de transport actif.

V. 3.2. Libération de l'énergie des composés organiques

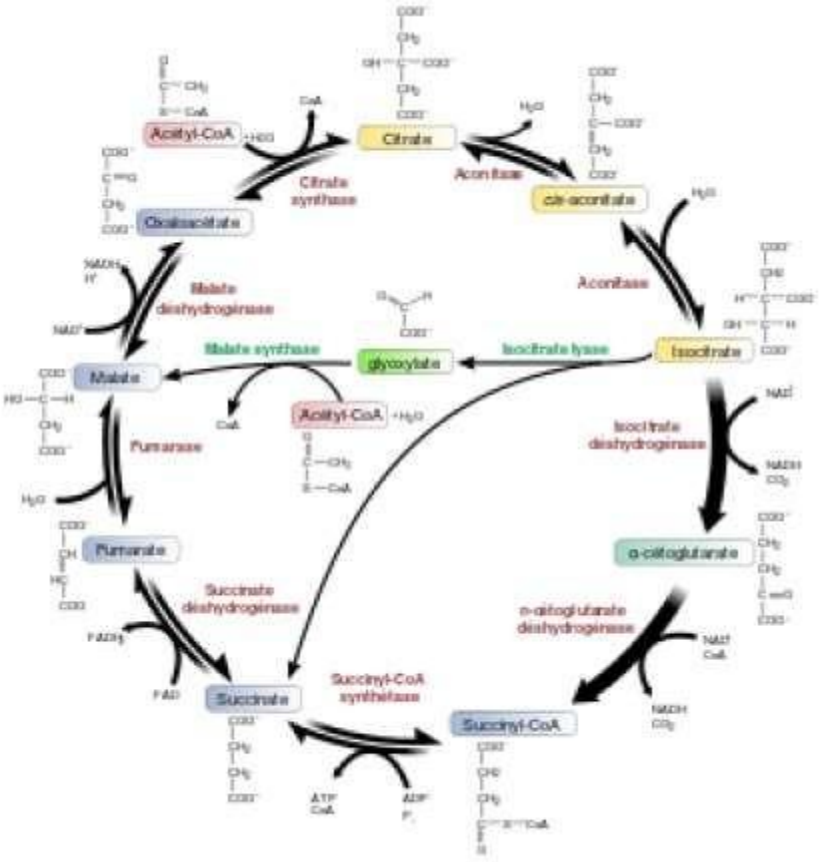

Figure 19 Cycle de Crebs

Cycle de Krebs et cycle du glyoxylate avec leurs métabolites (acétyl-CoA, citrate, cis-aconitate, isocitrate, αcétoglutarate, succinyl-CoA, succinate, fumarate, malate, oxaloacétate et glyoxylate) et leurs enzymes (citrate synthase, aconitase, isocitrate déshydrogénase, complexe alpha-cétoglutarate déshydrogénase, succinyl-CoA synthétase, succinate déshydrogénase, fumarase, malate déshydrogénase, isocitrate lyase et malate synthase).

V. 4. Énergie et métabolisme

V. 4. 1. Phosphorylation oxydative

Au cours de la phosphorylation oxydative ŕ qu'il faudrait appeler plus correctement en français oxydation phosphorylante ŕ les électrons à haut potentiel, issus des réactions d'oxydation du métabolisme, sont transférés à de l'oxygène avec libération d'énergie, cette énergie étant récupérée pour synthétiser de l'ATP. Ceci est réalisé par les eucaryotes à travers une série de protéinesmembranaires des mitochondries formant la chaîne respiratoire. Chez les procaryotes, ces protéines se trouvent dans la membrane interne34. Ces protéines membranaires utilisent l'énergie libérée par la circulation des électrons depuis les coenzymes réduites telles que le NADH et le FADH2

vers l'oxygène pour pomper des protons à travers la membrane mitochondriale interne (chez les eucaryotes) ou la membrane plasmique (chez les procaryotes).

V. 4.2. Libération de l'énergie des composés inorganiques

La chimiolithotrophie (en) est un type trophique définissant les procaryotes qui tirent leur énergie de composés inorganiques. Ces organismes peuvent utiliser l'hydrogène37, les composés réduits du soufre1 ŕ sulfure S2Ŕ, sulfure d'hydrogène H2S, thiosulfate S2O32− ŕ le fer ferreux (Fe2+) et l'ammoniac (NH3) comme donneurs d'électrons qu'ils transfèrent à des accepteurs tels que l'oxygène O2 ou l'anion nitrite (NO2Ŕ). Ces processus microbiens sont importants du point des vues des cycles biogéochimiques planétaires tels que le cycle de l'azote, la nitrification et la dénitrification, et sont déterminants pour la fertilité des sols

V. 4. 3. Absorption de l'énergie lumineuse

L'énergie lumineuse est absorbée par les plantes, les cyanobactéries, les bactéries pourpres, les bactéries sulfureuses vertes et certains protistes. Ce processus est souvent couplé à la conversion du dioxyde de carbone en composés organiques dans le cadre de la photosynthèse. Ces deux processus ŕ absorption de l'énergie lumineuse et biosynthèse de composés organiques ŕ peuvent néanmoins fonctionner séparément chez les procaryotes. Ainsi, les bactéries pourpres et les bactéries sulfureuses vertes peuvent utiliser la lumière du soleil comme source d'énergie et en même temps mettre en oeuvre ou bien un processus de fixation du carbone ou bien un processus de fermentation des composés organiques.

Chez les plantes, les algues et les cyanobactéries, le photosystème II transfère l'énergie lumineuse à deux électrons d'une molécule d'eau qui sont captés par le complexe cytochrome b6f tandis que de l'oxygène O2 est libéré. L'énergie des électrons à haut potentiel transférés au complexe cytochrome b6f est utilisée pour pomper des protons à travers les membranes des thylakoïdes dans les chloroplastes, protons dont le retour dans le lumen s'accompagne de la phosphorylation d'ADP en ATP par une ATP synthase, comme dans le cas de la phosphorylation oxydative. Les électrons passent ensuite à travers le photosystème I et peuvent réduire une coenzyme NADP+ en NADPH en vue de son utilisation par le cycle de Calvin, ou bien être utilisés pour produire encore davantage d'ATP.

V. 5. Anabolisme

L'anabolisme comprend l'ensemble des voies métaboliques qui utilisent l'énergie (ATP) et le pouvoir réducteur (NADH) produits par le catabolisme pour synthétiser des biomolécules complexes. De manière générale, les molécules complexes qui contribuent aux structures cellulaires sont construites étape par étape à partir de précurseurs bien plus petits et plus simples.

L'anabolisme comprend trois étapes principales :

1. tout d'abord la production de précurseurs tels que les acides aminés, les oses, les isoprénoïdes et les nucléotides ;
2. puis leur activation sous une forme réactive du point de vue biochimique en utilisant l'énergie de l'ATP ;
3. enfin l'assemblage de ces précurseurs activés pour construire des molécules complexes telles que les protéines, les polysaccharides, les lipides et les acides nucléiques.

La photosynthèse est la biosynthèse de glucides à partir d'eau et de dioxyde de carbone en utilisation la lumière du soleil. Chez les plantes, les algues et les cyanobactéries, la molécule d'eau H2O est scindée en oxygène O2 et en électrons à haut potentiel dont l'énergie est utilisée pour phosphoryler de l'ADP en ATP et pour former du NADPH utilisé pour réduire le dioxyde de carbone en 3-phosphoglycérate, lui-même précurseur du glucose. Cette réaction de fixation du carbone est réalisée par la RuBisCO, une enzyme essentielle du cycle de Calvin47. Il existe trois types différents de photosynthèse chez les plantes : la fixation du carbone en C3, la fixation du carbone en C4 et le métabolisme acide crassulacéen (CAM). Ces types de réactions diffèrent par la voie empruntée par le dioxyde de carbone pour entrer dans le cycle de Calvin : les plantes en C3 le fixent directement tandis que les plantes en C4 et à photosynthèse CAM fixent le CO2 préalablement sur un autre composé comme adaptation aux températures élevées et aux conditions arides.

Chez les procaryotes photosynthétiques, les mécanismes de fixation du carbone sont plus diversifiés. Ce processus peut être réalisé par le cycle de Calvin, mais aussi par un cycle de Krebs inverse ou par carboxylation de l'acétyl-CoA. Les organismes chimioautotrophes procaryotiques fixent également le carbone du CO2 en utilisant le cycle de Calvin mais avec de l'énergie provenant de l'oxydation de composés inorganiques.

V. 5.1. Glucides et glycanes néoglucogenèse, cycle du glyoxylate, glycogénogenèse et glycosylation.

Au cours de l'anabolisme des glucides, des acides organiques simples peuvent être convertis en oses tels que le glucose puis être polymérisés en polysaccharides tels que l'amidon. La biosynthèse du glucose à partir de composés tels que le pyruvate, le lactate, glycérol, 3-phosphoglycérate et acides aminés est appelée néoglucogenèse. La néoglucogenèse convertit le pyruvate en glucose-6-phosphate en passant par une série de métabolites dont de nombreux sont également des intermédiaires de la glycolyse Cependant, cette voie métabolique ne doit pas être vue comme la glycolyse prise en sens inverse car plusieurs de ses étapes sont catalysées par des enzymes différentes de la glycolyse. Ce point est important car il permet de réguler la biosynthèse et la dégradation du glucose de façon distincte l'une de l'autre et donc d'empêcher de voir ces deux processus fonctionner en même temps, l'un détruisant l'autre en pure perte acides gras sont synthétisés par l'acide gras synthase (FAS), un ensemble d'enzymes qui catalyse la condensation de Claisen d'unités malonyl-CoA sur une amorce d'acétyl-CoA. Les chaînes acyle sont allongées par une séquence de quatre réactions qui se reproduisent en boucle à l'occasion de chaque condensation d'une nouvelle unité malonylCoA. Chez les animaux et les mycètes (champignons), ces réactions sont réalisées par un complexe enzymatique multifonctionnel appelé FAS I, tandis que chez les plantes et les bactéries ces réactions sont catalysées par un ensemble d'enzyme distinctes appelé FAS II dont chaque enzyme est monofonctionnelle

V. 5.2. Protéines

Les organismes possèdent des capacités très variables à synthétiser les 22 acides aminés protéinogènes. La plupart des bactéries et des plantes peuvent tous ceux dont ils ont besoin, mais les mammifères ne peuvent synthétiser eux-mêmes que douze acides aminés, dits non essentiels, ce qui signifie que leur

alimentation doit leur en apporter neuf autres : histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine ŕ ils n'utilisent pas la pyrrolysine, spécifique aux archées méthanogènes.

V. 6. Régulation et contrôle du métabolisme

Les êtres vivants étant soumis à de constants changements de leur environnement, leur métabolisme doit être continuellement adapté pour maintenir leurs constantes physiologiques comme la température et la concentration intracellulaire des différentes espèces chimiques ŕ dans un intervalle de valeurs normales, ce qu'on appelle l'homéostasie86,87. La régulation du métabolisme permet également aux êtres vivants de répondre aux stimuli et d'interagir avec leur environnement. Deux mécanismes apparentés sont particulièrement importants pour comprendre les modes de contrôle du métabolisme cellulaire : d'une part la régulation d'une enzyme est la modulation de la cinétique réactionnelle de cette enzyme, c'est-à-dire l'accroissement ou la réduction de son activité en réponse à divers signaux chimiques, et d'autre part le contrôle exercé par une enzyme est l'effet de ses variations d'activité sur l'activité globale d'une voie métabolique, représentée par le flux de métabolites qui empruntent cette voie89. En effet, une enzyme peut être fortement régulée, et ainsi montrer d'importantes variations d'activité, tout en n'ayant pas d'incidence sur le flux global de métabolites à travers une voie dans laquelle elle intervient, de sorte qu'une telle enzyme n'exerce pas de contrôle sur cette voie métabolique. Il existe plusieurs niveaux de régulation du métabolisme. La régulation intrinsèque est l'autorégulation d'une voie métabolique en réponse aux changements des concentrations des substrats ou des produits. Ainsi, la baisse de la concentration du produit d'une voie métabolique peut accroître le flux de métabolites à travers cette voie pour compenser la raréfaction de ce composé dans la cellule89. Ce type de régulation repose souvent sur la régulation allostérique de plusieurs enzymes de la voie métabolique91. Le contrôle extrinsèque concerne les cellules d'organismes multicellulaires répondant aux signaux d'autres cellules.

Un exemple de contrôle extrinsèque très bien compris est la régulation du métabolisme du glucose par l’insuline. L'insuline est produite en réponse à l'augmentation de la glycémie, c'est-à-dire du taux de glucose dans le sang. La liaison de cette hormone à ses récepteurs cellulaires active une cascade de protéine kinases qui conduisent les cellules à absorber du glucose et à le convertir en molécules de stockage telles que des acides gras et du glycogène. Le métabolisme du glycogène est contrôlé par l'activité de la glycogène phosphorylase, qui dégrade le glycogène, et de la glycogène synthase, qui le produit.

Les grandes voies métaboliques évoquées plus haut, telles que la glycolyse et le cycle de Krebs, sont présentes chez les organismes appartenant aux trois domaines du vivant : bactéries, eucaryotes et archées.

V. 7. Thermodynamique du métabolisme

Le métabolisme est soumis aux principes de la thermodynamique, qui régissent les échanges de chaleur et de travail. Trois modes de productions principaux d’énergie :

- métabolisme anaérobie alactique : il fournit une grande quantité d’énergie sur une courte durée, par dégradation des faibles réserves d'ATP en donnant de l'ADP ;
- métabolisme anaérobie lactique : l'ATP est créé sans dioxygène au prix d'une fermentation lactique donnant un poison cellulaire, l'acide lactique ;

- métabolisme aérobie : avec un apport en dioxygène normal, on observe une respiration cellulaire classique.

V. 8. Métabolisme et température

Chez les organismes fongiques, bactériens, végétaux ou animaux à sang chaud ou froid, divers processus font interagir la température interne, externe et le métabolisme, avec des boucles de rétroactions plus ou moins complexes, variant selon les espèces, les individus, leur forme et taille et leur masse corporelle et les milieux.

Chapitre VI : Métabolisme secondaire

VI.1. Introduction

Généralement, la plante est confrontée à de nombreux prédateurs : herbivores, insectes phytophages, champignons pathogènes, etc. Or, la plante est immobile, elle ne peut fuir. Elle a donc mis en place différentes stratégies de défenses.

Tout d'abord, il est important de discerner le métabolisme primaire du métabolisme secondaire.

Le premier correspond à l'énergie dépensée par la plante pour croître et se développer alors que le second correspond à la synthèse de molécules uniquement utiles dans la défense de la plante.

Longtemps, l'intérêt de ces molécules était inconnu et donc considérées comme inutiles à la plante. Aujourd'hui, on connaît mieux leurs fonctions.

VI.2. Les métabolites secondaires (ou produits naturels des plantes)

Des nombreuses plantes médicinales, tinctoriales ou aromatiques contiennent des métabolites qui leur sont très spécifiques et à des teneurs parfois extrêmement élevées. Pour des raisons économiques, l'étude biochimique de ces composés a fait l'objet d'intenses efforts, contribuant au développement de plusieurs pans entiers de la phytochimie ayant des rapports étroits avec la pharmacie et l'industrie des colorants. Devant la quantité et la diversité des molécules caractérisées s'est rapidement posée la question de leur rôle biologique éventuel. Dans la mesure où ces molécules ne sont retrouvées que chez quelques espèces uniquement, on a d'abord pensé qu'elles ne pouvaient avoir aucun rôle réellement important en comparaison des métabolites universellement représentés comme les glucides, les protéines, les lipides ou les acides nucléiques et dont les fonctions biologiques commençaient déjà à être solidement établies. Une opposition s'est ainsi dessinée entre:

- coté le métabolisme primaire, désignant un métabolisme à la fois universel et participant aux fonctions cellulaires, qui ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal. Ils se retrouvent dans toutes les espèces.
- et de l'autre le métabolisme secondaire, désignant un métabolisme dont la distribution taxonomique serait restreinte et dont la contribution au fonctionnement cellulaire ou au développement des plantes serait insignifiante, ce qui a conduit à tout une série dřexcellents développements dans le cadre de ce qu'on a appelé la « chimiotaxonomie ».
- Donc, les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. Ils sont différents dans les différentes espèces.

VI.3. Fonctions des métabolites secondaires

L'étude et la connaissance de ces composés trouvent en effet des applications évidement dans le domaine médical, et les perspectives de retour sur investissement ont largement contribué à leurs développements. Mais au-delà de ces applications, il faut avoir conscience que beaucoup de métabolites secondaires sont réellement au cœur de bien d'autres problématiques très concrètes : agroalimentaire (arômes, parfums, toxines, composés antinutritionnels), horticulture (pigments floraux), foresterie (problèmes de qualité du bois), écologie (allélopathie, résistances aux bio

agresseurs). De très nombreux professionnels de ces filières utilisent quotidiennement tel ou tel métabolite secondaire comme critère de qualité (répression des fraudes…), comme objectif de production (exemple du latex) ou de sélection variétale.

- Donc nous pouvons tirez que les métabolistes secondaires ont des fonctions très différents, exemples :
- Protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores (menthe par exemple).
- Attraction des pollinisateurs.
- Ils participent à des réponses allélopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance).
- Ils sont des molécules qui sont aussi très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues etc.

VI.4. Réponses allélopathiques

L'allélopathie est l'ensemble des interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives, d'une plante sur une autre (microorganismes inclus) au moyen de métabolites secondaires tels les acides phénoliques, les flavonoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes.

- Les plantes compètent les unes avec les autres pour obtenir le soleil et les substances nutritives.
- Elles ont évolué des mécanismes pour conquérir son propre espace.
- Les composés allélopathiques sont libérés dans l'air ou dans le sol.

Exemples

• *Acacia pruinocarpa* produit des composés allélopathiques qui empêchent la croissance des autres plantes compétitrices. Quand une graine germe, il peut libérer des substances qui inhibent la germination des autres plantes de la même espèce

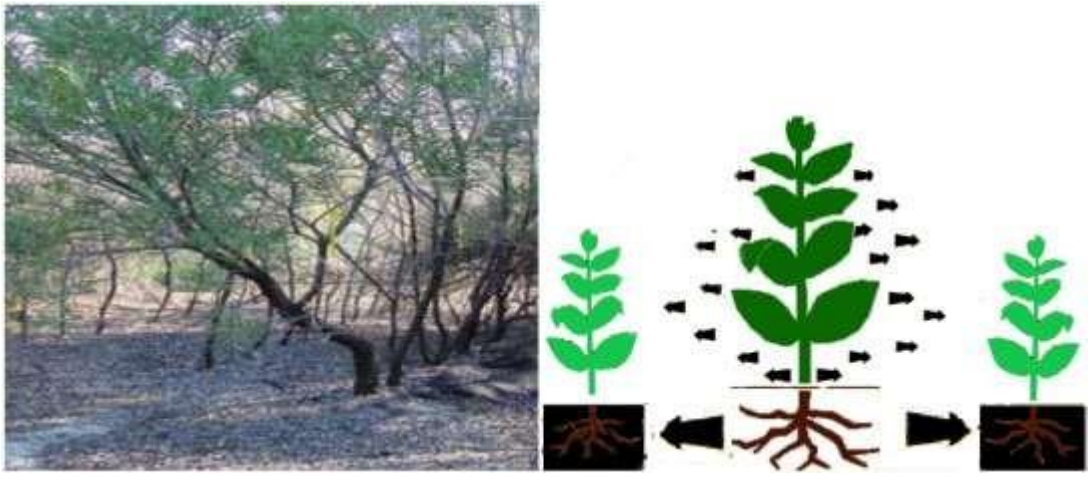

Figure 20 Réponses allélopathiques

Des recherches envisagent l'utilisation des composés allélopathiques comme herbicides ou pesticides naturels.

VI.5. Principes généraux de classification des métabolites secondaires

On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

- ❖ Les alcaloïdes et composés azotés
- ❖ Les composés phénoliques
- ❖ Les composés terpéniques

Auxquelles on ajoute classiquement

- la catégorie des hétérosides, constituée de dérivés glycosylés de composés terpéniques, phénoliques et plus rarement d'alcaloïdes. Ces glycosylations affectent largement leurs propriétés biochimiques (dont l'extractibilité dans différents solvants) mais également leurs effets biologiques (toxicité, propriétés pharmacologiques).
- les molécules désignées sous le terme de « composés mixtes » ou « composés d'origine mixte », qui correspondent à des condensations de molécules provenant des catégories citées plus haut. Mais souvent, les composés mixtes peuvent être rattachés à l'une des catégories précédentes.

On distingue enfin d'autres familles de métabolites secondaires plus restreintes en termes de nombre de composés et de nombre d'espèces végétales concernées (désignée parfois comme la catégorie des « miscellanous compounds », il s'agit bien souvent de donner un intitulé à un chapitre « fourre-tout »). On peut citer par exemple les composés dérivés du soufre présents dans les Alliacées, mais également chez certaines algues et plantes maritimes.

Dans chacune de ces grandes catégories, on distingue quantité de catégories inférieures. Les classifications sont généralement basées sur

- La nature biochimique des molécules, leurs propriétés et effets biologiques (dans le cas des alcaloïdes)
- et/ou de leur origine biosynthétique

Tableau 7 ***Type et origine des métabolites secondaires***

On peut identifier trois types de métabolites secondaires

Terpénoïdes	l'ipp(isopentenyl diphosphate)une molecule de 5C	25000
Alcaloïdes	acides aminés	12000
Molécules	Voie de l'acide shikimique et acétate/malonate	8000

VI.5.1. Les terpénoïdes

Ils sont formés par la polymérisation des unités à 5 atomes de carbone. Le nom a origine historique car les premiers membres du groupe ont été isolés de la térébenthine (terpentin).

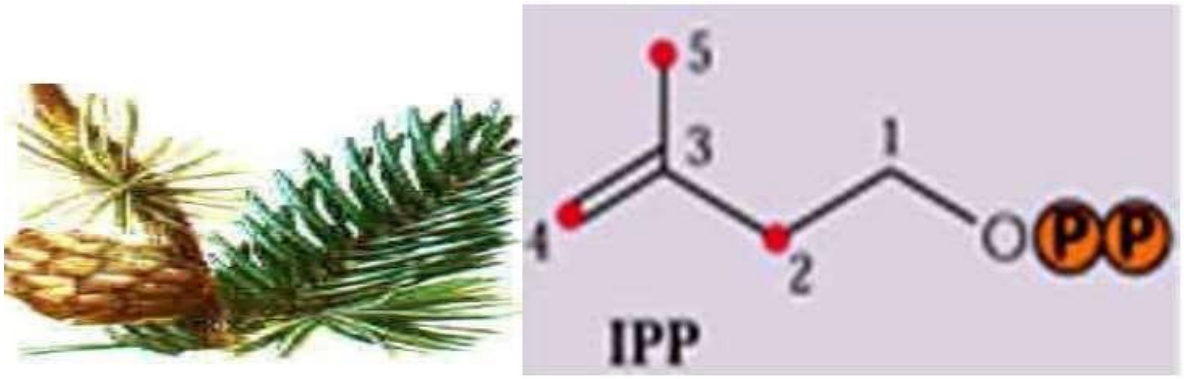

Figure 21 Précurseur : isopentenyl diphosphate

Ils sont appelés aussi isoprénoïdes car leur

1- dégradation thermique libère le gaz isoprène.

Mais l'isoprène n'est pas le vrai précurseur des isoprénoïdes est isopentenyl diphosphate

Biosynthèse terpénoïdes est La synthèse a quatre parties :

1. Synthèse du IPP
2- Condensation des unités de IPP
3- Elaborations du squelette
4- Modifications secondaires

Beaucoup de composés secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des cellules spéciales, vésicules spécifiques ou dans la vacuole.

La synthèse a lieu dans le cytosol/ER : Sesqui (C15), Tri (C30), poly ou les plastes : Isoprène, mono (C10), di (C20), tétra (C40).

VI.5.2. Les Alcaloïdes

La définition originale de « alcaloïde » est la suivante : produits d'origine végétale, basiques, contenants azote et pharmacologiquement actifs

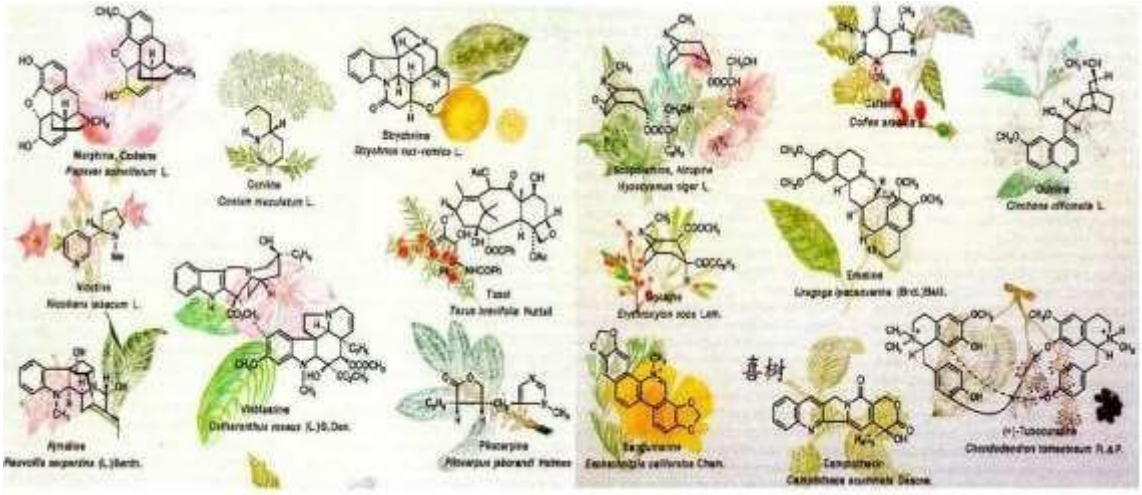

Figure 22 Les Alcaloïdes

En réalité plusieurs alcaloïdes ne sont pas ni alcalines, ni pharmacologiquement actifs pour les mammifères. Les alcaloïdes sont connus depuis des milliers d'années. Ils ont été et sont utilisés comme :

- ❖ Drogues : (morphine et codéine) sont contenues dans le latex du pavot (opium).
- ❖ Médical : L'atropine est utilisée par ex. pour dilater les pupilles

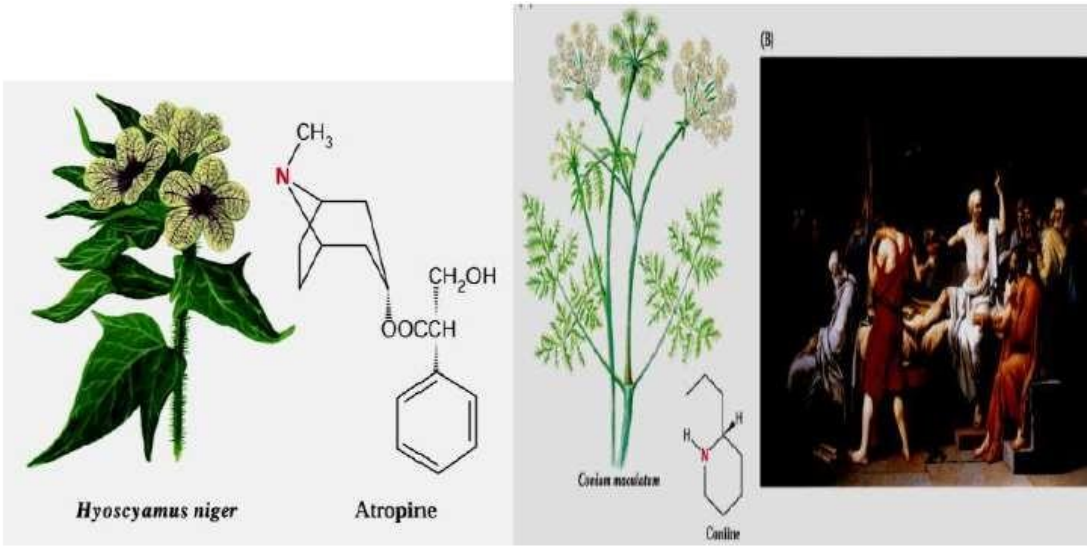

Figure 23 Utilisation des alcaloïdes (drogues et poisons)

Les difficultés de la recherche sur les alcaloïdes

- Les molécules et les intermédiaires des voies synthétiques sont souvent très complexes. (du 1828 au 1904 pour la structure de la nicotine, du 1802 au 1952 pour la structure de la morphine).
- Les alcaloïdes s'accumulent sans être utilisés donc leur débit de synthèse peut être très faible et la concentration des enzymes encore plus.

- Les fortes quantités de phénols qui s'accumulent dans la plupart des plantes inactivent les enzymes pendant leur extraction des tissus.

VI.5.2.1. Quelques solutions

1. Utiliser des cultures cellulaires comme matériel de départ (les tissus non-différentiés produisent peu de phénols et, souvent, plus alcaloïdes).
2. Trouver un système d'induction spécifique de la voie biosynthétique (ex. un éliciteur).

VI.5.2.2. Les difficultés des cultures cellulaires

Plusieurs alcaloïdes ne sont pas synthétisés en quantité significative en culture (es. vincristine,vinblastine, pilocarpine, morphine et codéine) Probablement l'expression des gènes codant les enzymes de la voie biosynthétique sont exprimés de façon tissue-spécifique et/ou induits par le stress biotique/abiotiques. Anticancéreux utilisé.

VI.5.3. Les Molécules Phénoliques

Les molécules phénoliques sont des composés qui contiennent un groupe phénol (anneau aromatique avec un groupe hydroxyle). Ils peuvent avoir plusieurs différents substituants.

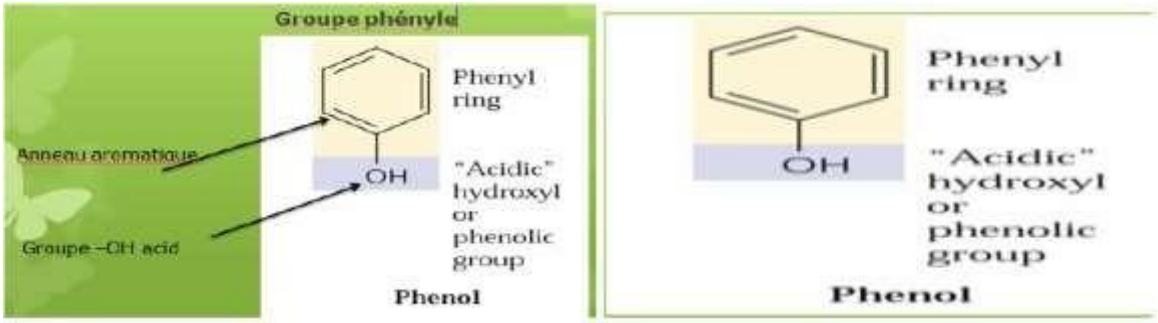

Figure 24 Le groupe phénol chez les Molécules Phénoliques

Les molécules phénoliques sont des composés qui contiennent un groupe phénol (anneau aromatique avec un groupe hydroxyle). Ils peuvent avoir plusieurs différents substituants.

Les molécules phénoliques sont des composés qui contiennent un groupe phénol (anneau aromatique avec un groupe hydroxyle). Ils peuvent avoir plusieurs différents substituants.

Dans l'air ces groupes sont facilement oxydés. Ils peuvent former des complexes avec les protéines et donner beaucoup des problèmes dans les extractions des protéines ou de l'ADN.

Ils sont typiques des plantes vasculaires, qui ont colonisées l'environnement aérien : le contenu en composés phénoliques est minimale chez les algues

Ils ont beaucoup des fonctions différentes dans les différentes espèces :

- Défense contre les pathogènes

- Molécules de dissuasion alimentaire
- Attraction des pollinisateurs
- Protections des rayonnements UV
- Molécules qui donnent couleur, arômes, parfums aux plantes - Rôle structurel (ex. lignine, constituante du bois).

VI.5.3.1. Quelques classes de molécules phénoliques

- Lignines: Rôle structurel
- Lignanes: Défense des pathogènes, antioxydants
- Flavonoïdes : Pigments, produits de défense, molécules signal.

- Biosynthèse

Comme les autres métabolites secondaires, chaque espèce produit un groupe spécifique de molécules. Donc les voies biochimiques sont aussi en partie espèce spécifiques. La plus grande partie des molécules dérive de la voie des phénylpropanoïdes.

Cette voie se départ de la tyrosine et la phénylalanine

- Lignine

Rôle structurel dans les parois cellulaires. Elle est accumulée dans les structures de conduction et soutien structurel.

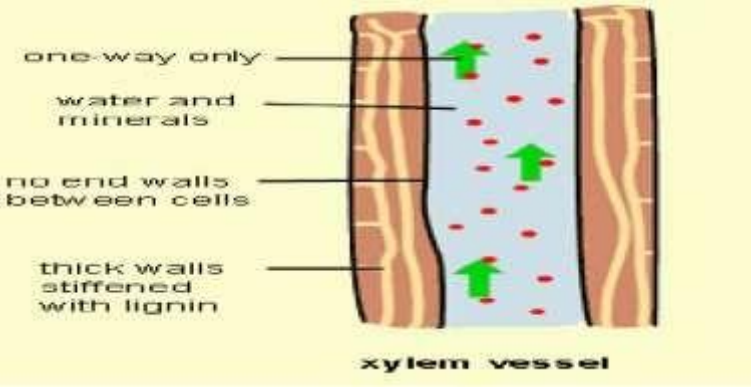

Figure 25 Lignine des parois végétales

La rigidité permet la croissance verticale des plantes et le transport de l'eau par capillarité à toutes les cellules. Elle a aussi en rôle de protection parce qu'elle est très difficile à digérer par les herbivores.

- Flavonoïdes

Il y a au moins 4500 types de flavonoïdes. Ils sont divisés dans différentes classes :

- ❖ Anthocyanes
- ❖ Tannins
- ❖ Isoflavonoïdes

Ils ont des fonctions différentes : interaction plantes-animaux (ex. attractions des pollinisateurs par la couleur des fleurs et transporteurs des grains dans les fruits ; déterrent). Ils sont déterminés par des anthocyanes dans la vacuole

-protection du rayonnement UV

- Flavonoïdes - Anthocyanes

Ils sont responsables de la plus grande partie des couleurs rouge, violet ou bleu en nature.

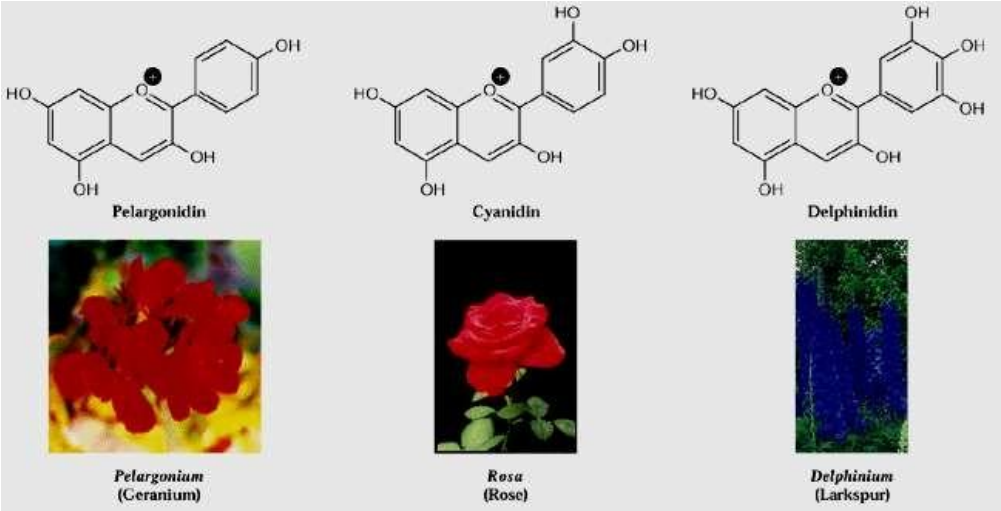

Figure 26 structure de flavonoides

Protection du rayonnement UV

Plante contrôle Plante sous forte lumière

Figure 27 Protection du rayonnement UV

- **Molécules phénoliques et biotechnologie**

Il y a beaucoup des molécules avec action pharmacologique Médiateurs de la réponse inflammatoire.

- ❖ Antivirales

- Hépato-protecteurs

Ces molécules ont aussi en intérêt économique On peut faire produire des molécules utiles en plus ou éliminer des molécules non favorables. On peut penser de les modifier avec les biotechnologies

Exemples :

- Augmenter la résistance au pathogènes
- Augmenter la qualité du bois ou des fibres
- Production des molécules avec action pharmacologique
- Production de pigments ou arômes

VI.6. La phytothérapie

VI.6.1. Historique

L'homme a toujours cherché dans la nature les moyens de se soigner et de bien-être. Comme l'indique son étymologie. La phytothérapie est l'utilisation de plantes dans le traitement des maladies. Cette médecine douce est utilisée depuis très longtemps. Toutes les civilisations antiques y ont eu recours. Par exemple, un recueil datant de 3000 avant JC a été retrouvé, dans lequel étaient expliqués les bienfaits du thym et de la sauge. Par ailleurs, un ouvrage datant de 1500 avant JC et comptant plus de 100 pages, listait le mode d'utilisation de plusieurs dizaines de plantes. L'organisation Mondiale de la Santé a, de son côté, répertorié plus de 22000 plantes médicinales. Elle affirme que malgré le progrès de la médecine moderne, 80% de la population mondiale sont revenues à la pharmacopée traditionnelle pour résoudre les problèmes de la santé de nos jours (Farnsworth et al, 1986). Ce sont des démarches empiriques, puis la recherche, qui ont prouvé leurs effets. L'utilisation de ces plantes est donc règlementée. En 1941, le gouvernement de Vichy a malheureusement supprimé le diplôme de phytothérapeute, et ce n'est que depuis une vingtaine d'années que les recherches ont réellement redémarrée dans ce domaine. Actuellement, nos médicaments et produits de soins sont composés essentiellement des principes actifs des végétaux (Hans, 2007)

VI.6.2. Définition de la phytothérapie :

C'est le traitement ou la prévention des maladies par l'usage des plantes. La phytothérapie fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces. Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». Il s'agit d'une pratique millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations. Aujourd'hui, la phytothérapie s'appuie à la fois sur cette sagesse traditionnelle et sur les découvertes de la médecine moderne. La rencontre relativement récente de ces deux mondes et le peu de normes qui régissent le domaine fait en sorte que la pratique et la formation sont encore très disparates. Dans le domaine du soin par les plantes, on remarque deux tendances majeures. Certains intervenants mettent surtout l'accent sur les connaissances empiriques des plantes et sur leurs effets reconnus depuis la nuit des temps. Préconisant une approche holistique, ils s'intéressent aux effets de la plante dans sa globalité, sur tout l'individu. D'autres se basent davantage sur les connaissances biochimiques et se préoccupent plutôt des symptômes des maladies et de l'action des principes actifs des plantes

VI.6.3. Définition des plantes médicinales :

On désigne par l'expression « plante médicinale » toute plante utilisée pour prévenir, soigner, soulager ou réduire les maux (Farnsworth et al, 1986). Aujourd'hui, environ 35000 espèces de plantes utilisées à travers le monde pour des fins médicinales qui ne cessent pas de répondre aux différents besoins du système sanitaire moderne (Elqaj et al, 2007).

VI.6.4. Différents types de la Phytothérapie :

- Aromathérapie : est une thérapeutique qui utilise les substances aromatiques telles que des essences des plantes, ou huiles essentielles.
- Gemmothérapie : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicelles.
- Herboristerie : est le type de phytothérapie le plus classique où la plante est utilisée fraiche ou séchée, entièrement ou partiellement (une partie de la plante : tiges, les feuilles, les fleurs…etc.) en infusion, macération, ou décoction.
- Phytothérapie pharmaceutique : le principe actif est extrait de la plante mère par certains solvants, puis les extraits obtenus sont suffisamment dosés pour avoir un effet rapide. Ensuite, ils sont introduits sous forme de sirops, gouttes, gélules…etc. (Strang, 2006).

VI.6.5. Avantages de la phytothérapie :

La phytothérapie fournit à la médecine actuelle malgré son progrès remarquable, des remèdes et des soins efficaces non seulement contre les maladies bénignes comme le rhume et la toux, mais aussi contre des maladies plus sérieuses, la tuberculose et la malaria par exemple. La médecine moderne ne peut plus néglige son besoin aux traitements à base de plantes car l'efficacité des antibiotiques décroit à cause de l'adaptation et puis la résistance des virus et des bactéries à ces médicaments. Les remèdes naturels offerts par la phytothérapie sont bien acceptés par l'organisme ; pour cela, elle connait son retour en occident afin de traiter les maladies chroniques notamment l'asthme ou l'arthrite (Iserin et al, 2001).

Chapitre VII : Produits végétaux (alimentaires et agricoles)

VII.1. Introduction

La constitution de la FAO (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture : connue sous les sigles ONUAA ou, plus couramment, FAO soit en anglais Food and Agriculture Organization of the United Nations)) confère à l'organisation le mandat de réunir, analyser, Interpréter et diffuser tous renseignements relatifs à la nutrition, l'alimentation et l'agriculture. L'importance de cette tâche vient d'être soulignée par la Revue des objectifs et des programmes de la FAO, qui cite l'information parmi les trois fonctions prioritaires de l'organisation.

La Division des statistiques (ESS) de la FAO s'acquitte de ce mandat constitutionnel en réalisant principalement les cinq activités suivantes :

a) **La récolte** des données nationales sur les statistiques agricoles, notamment à partir des questionnaires soumis par les pays membres et à partir d'autres publications nationales ; à partir de publications internationales et des rapports publiés par les commissions et les associations compétentes. La Division complète cette information par échange de correspondance avec les gouvernements et en consultant ses fonctionnaires régionaux et ses experts sur le terrain.

b) **La sélection** de l'information, après examen minutieux et critique des données récoltées.

Comme les données que reçoit la FAO sont d'origine variée - et qu'elles proposent quelquefois des chiffres contradictoires, le tri sélectif est d'une importance capitale. En général, les données reçues doivent subir un contrôle systématique de leur qualité et de leur cohérence et sont donc vérifiées par recoupement. c) **En comblant les lacunes**, si nécessaire.

d) **Le traitement et le stockage** des données récoltées.

e) **La diffusion de l'information** à travers les annuaires, les recensements, les bulletins et autres publications ainsi que par les supports électroniques comme le site Web sur Internet, le FAOSTAT, les disques souples pour ordinateurs personnels et les cédéroms, que ce soit sous forme brute ou sous forme d'indicateurs statistiques de tendances ou d'indices

Comparatifs divers, comme dans les bilans alimentaires, les nombres indices, les comptes économiques de l'agriculture, etc…

L'assemblage et la tabulation de cette masse énorme de données sous une forme favorable aux comparaisons internationales soulève de nombreux problèmes dus aux différences entre les données nationales sur les concepts, les définitions, la couverture et les classifications. La comparabilité internationale des données sera d'un niveau d'autant plus élevé que l'on aura mieux résolu ces différences.

Depuis le début des années soixante, ces problèmes ne cessent de soulever l'attention lors des réunions et des séminaires internationaux et régionaux, comme ceux qu'organise ESS avec la collaboration des Commissions économiques des Nations Unies, de l'institut inter-américain des statistiques, de la Conférence des statisticiens européens, du Comité consultatif FAO d'experts en statistique, etc… Le

texte qui suit traduit fidèlement les avis, suggestions et recommandations émanant de ces réunions et séminaires, sur les problèmes de définitions et de classification des produits et des groupes de produits.

VII.2. Les produits végétaux primaires

Les produits végétaux primaires proviennent directement du champ de culture, sans avoir subi d'autre transformation que le nettoyage. Ils conservent toutes les qualités biologiques qu'ils possédaient sur la plante d'origine.

On peut regrouper certains produits primaires par addition du poids réel de chacun, en totaux qui permettront d'obtenir des chiffres de surface, de rendement, de production et d'utilisation valables pour l'ensemble regroupé. C'est le cas des céréales, des racines et tubercules, des noix, des légumes et des fruits. D'autres végétaux primaires ne peuvent être regroupés que par référence à l'un ou l'autre composant qui leur est commun. Par exemple, les produits primaires du groupe des oléagineux peuvent être regroupés en termes d'équivalent en huile ou en tourteau.

Les produits végétaux primaires proviennent de cultures temporaires ou de cultures Permanentes.

Les cultures temporaires sont semées et récoltées au cours d'une même année agricole, parfois plus d'une fois. Les cultures permanentes sont semées ou plantées une seule fois, occupent le sol durant plusieurs années et ne doivent pas être replantées après chaque récolte annuelle.

VII.3.Les produits primaires des cultures temporaires: concepts, couverture et recommandations générales

VII.3.1. Le concept de superficie.

La superficie d'une production végétale est la surface du terrain sur lequel une plante est cultivée. D'une manière générale, les superficies mesurées pour le cadastre comprennent, en dehors des surfaces effectivement cultivées, des tournières, fossés et autres surfaces non cultivées. Cette superficie peut être appelée superficie brute par opposition à la superficie nette qui ne représente que la partie effectivement cultivée. Il peut arriver que, pour diverses raisons - calamités naturelles ou facteurs économiques, par exemple - certaines superficies plantées ou semées ne soient pas récoltées, ou qu'elles soient récoltées prématurément, d'où la nécessité d'établir une distinction entre les superficies plantées ou semées et les superficies récoltées.

Il est recommandé que les pays indiquent la superficie nette semée et la superficie nette récoltée. Les pays qui ne fournissent habituellement pas de données sur les superficies récoltées sont invités à fournir ces données, en tout cas à les indiquer quand elles diffèrent sensiblement de la superficie indiquée généralement. Il peut se faire que la superficie semée et la superficie récoltée soient pratiquement identiques, selon la date de saisie des données. Il faut disposer de données sur la superficie semée, pour estimer les quantités utilisées dans les semis. Il faut disposer de données sur la superficie récoltée, pour dégager des informations exactes et fiables sur le rendement et la production.

VII.3.2. La superficie couverte.

Dans certains pays, l'unité statistique est l'exploitation ; dans d'autres, c'est l'entité administrative, la commune, le village, par exemple. Dans le premier cas, on fixe généralement comme critère de prise en compte une taille minimale, par exemple une superficie minimale ou, alors, on se fonde sur des critères économiques. En pareils cas, on s'expose à négliger la superficie des très petites exploitations. Ce risque se vérifie surtout à propos des cultures horticoles faites en dehors des exploitations agricoles, notamment dans les jardins potagers et autres petites parcelles.

Il est recommandé que les données relatives aux superficies se rapportent à l'ensemble des surfaces consacrées à chaque culture et comprennent, le cas échéant, des estimations des petites parcelles non couvertes dans les enquêtes annuelles de routine. Cette évaluation des superficies des petites cultures hors exploitation pourrait se faire périodiquement au moyen d'enquêtes spécifiques.

VII.3.3. Les cultures associées ou cultures mixtes.

Ce sont des cultures pratiquées en mélange avec d'autres cultures temporaires ou permanentes, - haricot et maïs, par exemple. Cette pratique culturale est d'usage courant dans de nombreux pays d'Afrique, surtout pour les cultures vivrières. Il peut arriver que les pays indiquent pour les cultures associées la superficie totale, comme s'il s'agissait d'une culture pure. En ce cas, la superficie totale de la parcelle peut être attribuée à chacune des plantes cultivées en association.

Sinon, il est recommandé d'estimer la superficie de chacune des plantes associées de telle façon que les chiffres se rapportent à la surface particulière que chaque plante aurait occupé en culture pure. Les critères applicables à l'allocation de la surface de chaque élément d'une culture mixte comprennent, entre autres, les quantités de semences utilisées, la densité de la plantation, le rendement obtenu et les estimations faites à l'œil. Si ce mode d'allocation n'est pas praticable, - a-t-il été suggéré -, les pays pourraient faire des rapports distincts sur les cultures pures et sur les cultures associées.

VII.3.4. Les cultures successives.

Les cultures successives ou cultures dérobées sont semées et récoltées sur une terre préalablement occupée par la culture d'une autre plante ou même par une culture identique, au cours de la même année agricole. Il est recommandé de tenir compte de cette deuxième récolte dans le décompte de la superficie cultivée totale et d'effectuer, si nécessaire, des enquêtes spécifiques à cet égard.

VII.3.5. Les cultures itinérantes.

Il s'agit d'une pratique culturale singulière que l'on retrouve dans les zones éloignées et difficilement accessibles de certains pays d'Afrique. On cultive une parcelle pendant quelques années et puis, dès que la productivité diminue, il devient plus commode d'ouvrir une nouvelle parcelle et d'abandonner celle qui est épuisée. Bien évidemment, les produits végétaux cultivés selon ce type d'agriculture itinérante ont toutes les chances de se trouver exclus des enquêtes agricoles ordinaires. Lorsque ce type de culture est significatif à l'échelle nationale, on peut élaborer des estimations approximatives.

VII.3.6. Les cultures en serre ou sous abri.

Les données relatives à la superficie occupée par les plantes cultivées selon ces méthodes doivent figurer dans les rapports de tous les pays, de préférence séparément des cultures en plein champ et des cultures potagères.

VII.3.7. Les concepts de rendement et de production.

Dans certains pays, la production est estimée en multipliant la récolte moyenne obtenue par unité de surface, par la superficie récoltée. D'autres pays estiment la production sur la base d'informations recueillies à diverses sources, comme les déclarations des producteurs, les livraisons aux offices de commercialisation, les rapports administratifs, etc… Dans le premier cas, les chiffres de production sont dérivés du rendement et de la surface ; dans le second, les rendements sont dérivés des chiffres de production et de surface.

Les pays appliquent trois concepts différents de production et de rendement : La production biologique se réfère à la production sur pied. La production effectivement récoltée exclut les pertes à la récolte et la production non récoltée pour l'une ou l'autre raison. En troisième lieu, la production commercialisée ou production offerte à la vente exclut aussi les produits réservés à la consommation des producteurs eux-mêmes et, le cas échéant, certaines pertes après récolte.

Il est recommandé que les pays fournissent de préférence les chiffres de la production récoltée et, lorsque cela n'est pas possible, qu'ils indiquent clairement le concept adopté.

VII.3.8. La couverture du rendement et de la production.

Il est recommandé que la couverture des statistiques de rendement et de production soit totale et complète, comme pour les données de surface Ces données devront donc couvrir les cultures de plein champ et de jardin, les cultures principales, secondaires ou dérobées, les cultures pures et les cultures associées, les cultures à l'air libre et les cultures de serre. Elles devront couvrir les produits à vendre et les produits utilisés par les agriculteurs pour leur propre consommation, l'alimentation du bétail, les semences, etc...

VII.4. Définition et classification des produits primaires des cultures temporaires et recommandations spécifiques

VII.4.1. Les céréales

Elles représentent, de loin, le groupe de produits végétaux le plus important. Les hydrates de carbone essentiellement l'amidon Ŕ constituent l'élément nutritionnel principal des céréales. Elles contiennent aussi de modestes quantités de protéines et un peu de matières grasses. Leur teneur en eau est faible.

VII.4.1.1. *Définition*

Les céréales sont des plantes annuelles, appartenant presque toutes à la famille des graminées. On les récolte pour obtenir des grains qui serviront à l'alimentation humaine ou animale, comme semence et pour des usages industriels comme l'éthanol. Les céréales ne comprennent pas les légumineuses, mais bien le riz, le sarrasin, l'alpiste et le triticale. Il est recommandé de réserver le terme de 'céréales' aux plantes moissonnées pour le grain sec seulement et d'exclure les plantes récoltées vertes pour lřobtention de fourrages ou d'ensilages, ainsi que le maïs récolté vert pour être consommé en légume.

VII.4.1.2. Classification

Les céréales devraient être classées individuellement selon le genre auquel elles appartiennent. Toutefois, quand des céréales appartenant à deux ou plusieurs genres différents seront semées et moissonnées ensemble, il faudra les classer comme 'mélanges de céréales' et les faire figurer sous cette rubrique unique.

VII.4.1.3. Recommandations. Il est recommandé que les pays fournissent leurs chiffres de

Production en poids de grains propres et secs, c'est-à-dire sous la forme dans laquelle les céréales sont habituellement commercialisées. La seule exception est le riz, dont la production doit être exprimée en paddy, bien que certains aient suggéré que les pays l'expriment également, si possible, en riz décortiqué et en riz blanchi. Il est suggéré que les pays ajoutent aux chiffres de production la teneur en eau.

Selon une autre recommandation, les pays devraient, dans la mesure du possible, fournir des données distinctes pour le blé dur et autres blés de force, pour le maïs hybride et pour le sorgho hybride, en plus des données sur le total du blé, du maïs et du sorgho ; de même pour les récoltes d'hiver et de printemps.

VII.4.2. Les légumes secs

Ces produits végétaux n'ont plus autant d'importance que naguère en alimentation humaine. En plus de leur valeur comme denrées alimentaires et comme provende, les légumes secs sont également importants dans les assolements en raison de leur capacité à produire de l'azote et augmenter ainsi la fertilité des sols.

VII.4.2. 1. Définition.

Les plantes produisant ce qu'on appelle les légumes secs sont des légumineuses annuelles qui fournissent des grains et des semences utilisés dans l'alimentation humaine et animale et dans les semis.

La dénomination de légumes sèches doit être réservée aux plantes récoltées seulement pour le grain sec ; elle ne s'applique donc pas aux plantes récoltées en vert comme fourrage, utilisées pour les pâturages et l'engrais vert, ni aux plantes récoltées en vert pour servir d'aliment (haricots verts, petits pois, etc…) et que l'on considère alors comme légumes.

Elle ne s'applique pas non plus aux légumes secs qui servent surtout à la production d'huile, comme le soja. On exclura également de ce groupe les légumineuses dont la graine est utilisée exclusivement comme semence : luzerne et trèfle, par exemple.

VII.4.2. 2. Classification.

Bien que la classification botanique des légumes sèches fasse l'objet de controverses, il est suggéré que les pays réunissent et fournissent des données séparées au moins pour les légumes secs des genres suivants :

- Phaseolus spp. (haricot),
- Vicia faba (fève),
- Lens esculenta (lentille),
- Cicer arietinum (pois chiche),

- Pisum spp. (pois),
- Cajanus spp. (pois cajan),

- Vigna sinensis (pois à vache),
- Vicia sativa (vesce commune),
- Lupinus spp. (lupin),
- Vigna spp. (black gram, green gram, haricot mung, etc…)

VII.4.3. Les racines et les tubercules

Ces produits végétaux contiennent surtout de l'amidon et leur teneur en eau est très élevée.

VII.4.3.1. Définition

Il s'agit de plantes généralement annuelles fournissant des racines, tubercules, rhizomes, bulbes et tiges utilisées surtout pour l'alimentation humaine, telles quelles ou après transformation et aussi pour l'alimentation animale ainsi que pour la fabrication d'amidon et d'alcool dans certains pays.

La dénomination Racines et tubercules exclut donc les racines et tubercules cultivés essentiellement pour l'alimentation animale (betteraves fourragères, rutabaga) ou pour l'extraction de sucre (betteraves sucrières) ou qui sont habituellement classés parmi les légumes à racines, bulbes et tubercules (oignons, betteraves). Elle comprend en revanche la moelle amylacée et la farine que l'on en retire, et qui sont issues du stipe du sagoutier et de la tige du bananier d'Abyssinie (Musa ensete).

La reproduction des plantes-racines se fait de diverses manières, selon la plante. Dans le cas de la pomme de terre, par exemple, on plante un tubercule germé ou une semence, l'année suivante. Pour l'igname, un morceau de tubercule germé suffit et pour le manioc, des sections de tige, mais pas la racine.

VII.4.3.2. Classification

Les racines et les tubercules sont classés par genre. Les pommes de terre cultivées spécialement pour la reproduction ou à des fins industrielles non-alimentaires sont indiquées séparément lorsque les quantités sont importantes. En outre, il est conseillé aux pays de réserver une rubrique distincte aux pommes de terre nouvelles ou précoces.

VII.4.3.3. Recommandations

Les chiffres de production et de rendement des plantes à racines se rapportent au poids nettoyé, c'est-à-dire au poids de produit débarrassé de terre et de boue. Il convient d'accorder une attention spéciale à la couverture de l'information - qui doit être totale -, et au concept de production - qui concerne la récolte.

VII.4.4. Les plantes saccharifères.

Contrairement aux céréales, aux légumineuses et aux racines et tubercules qui contiennent surtout de l'amidon, les plantes saccharifères contiennent surtout des monosaccharides comme le glucose et le

fructose et particulièrement des disaccharides comme le sucrose ou saccharose. Leur teneur en protéines ainsi qu'en matières grasses est négligeable.

VII.4.4.1. Définition

Les plantes sacharifères sont cultivées principalement pour l'obtention de sucre, mais aussi pour la production d'alcool - alimentaire ou non- et d'éthanol. Il y a deux plantes sacharifères principales, la betterave sucrière et la canne à sucre. La canne à sucre est une graminée vivace dont on replante périodiquement des portions de tige. La betterave sucrière est une plante annuelle dont on assure la reproduction par les graines des fleurs. Dans certains pays, la canne à sucre est consommée crue en grandes quantités. Tant la canne à sucre que la betterave sucrière servent aussi à l'alimentation animale. En Amérique du Nord, on extrait également du sucre et du sirop de la sève de certaines essences d'érable et, dans quelques pays, du maïs et du sorgho, qui sont essentiellement des cultures céréalières, à l'exception du sorgho à sucre cultivé spécialement pour faire du sirop.

VII.4.4.2. Classification.

Les betteraves sucrières cultivées spécifiquement pour le fourrage et la betterave rouge ou betterave potagère cultivée comme légume et classée parmi les légumes échappent à l'appellation de plantes sacharifères, de même que la canne à sucre et les betteraves sucrières cultivées en vue de la production d'alcool ou d'éthanol.

VII.4.4.4. Recommandations.

Les chiffres de production de betteraves sucrières et de canne à sucre devraient correspondre au stade où les plantes sont envoyées à la raffinerie, c'est-à-dire aux produits relativement propres, sans terre et sans fanes ni collets.

VII.4.5. Les plantes oléifères (des cultures temporaires exclusivement)

VII.4.5. 1. Définition

Les plantes oléifères des cultures temporaires sont généralement appelées oléagineux. Ce sont des plantes annuelles dont les graines sont utilisées surtout pour la fabrication huiles alimentaires ou industrielles, les huiles essentielles étant exclues. On peut aussi consommer ces graines sous forme brute. Certains oléagineux sont riches en protéines, notamment le soja, mais quand ils sont traités pour l'extraction d'huile, leurs protéines restent dans le tourteau qui passera à l'alimentation des animaux.

Comme dans le cas des céréales et des légumes secs, le terme 'oléagineux' devrait être réservé aux plantes récoltées pour la graine sèche seulement, - les quantités récoltées en vert pour l'alimentation humaine ou animale, et utilisées pour le pâturage, comme engrais vert ou encore à des fins industrielles étant classées ailleurs.

La teneur en huile des oléagineux diffère beaucoup d'une plante à l'autre et peut aller de 17 pour cent pour la fève de soja à 50 pour cent pour la graine de sésame.

VII.4.5.2. Classification.

Les oléagineux sont classés par genre. Bien que le colza et la moutarde appartiennent au même genre, il est conseillé de les traiter comme deux plantes oléifères différentes.

Certains oléagineux sont également des plantes à fibres, c'est-à-dire que les graines et les fibres sont toutes deux récoltées et utilisées à des fins industrielles. Ces plantes sont : le coton, toujours cultivé

pour ses graines et ses fibres, le lin et le chanvre, cultivés dans certains pays pour leurs graines seulement et dans d'autres pour leurs graines et leurs fibres ; ainsi que certaines plantes cultivées principalement pour leurs fibres ou principalement pour leurs graines. La majeure partie des graines de lin produites proviennent de plantes cultivées seulement pour leurs graines.

Les superficies cultivées de plantes qui fournissent à la fois des graines et des fibres peuvent être classées soit parmi les cultures d'oléagineux, soit parmi les cultures de plantes à fibres. Lorsqu'elles sont incluses dans chacun des groupes, il faudra éviter soigneusement de les compter deux fois.

Pour le lin et le chanvre, une distinction précise est toujours établie entre la production de fibres et la production de graines. Quant au coton, certains pays font rapport séparément sur les quantités de fibres et de graines produites tandis que d'autres n'indiquent qu'un seul nombre pour les fibres et les graines, regroupées sous l'appellation de coton en graine ou de coton non égrené.

La FAO considère les graines et les fibres, mais pas le coton non égrené, comme des produits primaires et les classe dans le groupe des oléagineux et dans celui des fibres.

En effet, le coton en graine est un mélange de produit alimentaire (la graine) et de produit non alimentaire (la fibre).

VII.4.5. 3. Recommandations.

La production d'oléagineux devrait toujours être exprimée en quantités effectivement récoltées, quelle que soit l'utilisation des produits après la récolte. Pour les arachides, on indiquera le poids d'arachides en coque, tandis que les autres oléagineux seront exprimés en poids de graines.

VII.4.6. Les plantes à fibres (des cultures temporaires exclusivement)

VII.4.6.1. Définition.

Les plantes à fibres sont des cultures annuelles à fibres douces pour la plupart, utilisées dans l'industrie textile pour la production de fil et de filé servant à la fabrication de toutes sortes de tissus et d'objets manufacturés. Les principales plantes à fibres sont le coton, le jute et le lin.

VII.4.6.2. Classification.

Comme indiqué en 5.2, les plantes à fibres produisent aussi des graines utilisées comme semences et dont on peut extraire de l'huile et des tourteaux (coton, lin).

VII.4.6.3. Recommandations.

Pour toutes les plantes à fibres, les données relatives aux superficies devraient correspondre à l'ensemble des surfaces sur lesquelles des fibres ont été récoltées. Les plantes à fibres posent des problèmes spécifiques, que l'on devra résoudre comme suit :

- Le rendement et la production de coton seront indiqués en équivalent coton en graine ou coton non égrené et/ou en équivalent fibres de coton, les bourres et les déchets étant exclus. Les bourres sont de courtes fibres attachées à la graine après égrenage ; elles sont utilisées comme rembourrage et comme source de cellulose.

Le rendement et la production du chanvre et du lin seront indiqués en équivalent paille séchée, fibre rouie et/ou (de préférence) en équivalent fibres teillées ou peignées, étoupe comprise. Le chanvre cultivé à d'autres fins, comme la fabrication de papier par exemple, devrait être exclu.

Le rendement et la production du jute et des fibres analogues seront exprimés de préférence en équivalent de fibres sèches, puisque c'est sous cette forme que le produit est commercialisé, et/ou en équivalent de tiges sèches.

VII.4.7. Les légumes.

Les légumes contiennent principalement de l'eau, à raison de 70 à 95 pour cent de leur poids. Ainsi sont-ils très pauvres en matières sèches, donc en nutriments. Les légumes contiennent aussi des minéraux et des vitamines, dont une partie est perdue à la cuisson et à la transformation. En outre, les 'chutes', à savoir les morceaux que l'on enlève avant consommation ou transformation, forment une part significative de la plupart des Légumes, qui peut atteindre 50 pour cent du poids récolté s'il s'agit de légumineuses, d'artichauts ou de pastèques.

Les chutes comprennent les bouts, les tiges, les graines, L'écorce et la pelure, les cosses, les feuilles abîmées ou flétries et les parties riches en Cellulose. En raison de leur caractère très périssable, les légumes peuvent aussi subir des pertes en grandes quantités.

VII.4.7.1. Définition.

Les légumes sont des plantes cultivées dans les champs et les jardins en plein air ou sous serre.

Certaines graminées et certaines légumineuses que l'on classe parmi les céréales et parmi les légumineuses respectivement quand elles sont cultivées pour leurs graines sèches, sont rangées dans le groupe des légumes quand on les récolte en vert pour leurs graines vertes et/ou pour leurs cosses vertes, comme le maïs vert, les pois frais, les haricots verts, etc...

En outre, seuls les légumes destinés essentiellement à la consommation humaine appartiennent à ce groupe. Ainsi, on exclura les légumes cultivés essentiellement pour l'alimentation animale ainsi que ceux cultivés pour les graines seulement.

Ce groupe comprend également les melons et les pastèques que certains pays classent parmi les fruits. Les melons et les pastèques sont analogues aux légumes car ils sont produits en cultures temporaires, alors que les cultures fruitières sont presque toujours permanentes.

VII.4.7.2. Classification :

Les légumes sont classés selon leurs caractéristiques botaniques : légumes feuillus ou à tige (ex.: choux), légumes cultivés pour le fruit (ex.: melons), légumes à fleurs (ex.: chou-fleur), racines, bulbes et tubercules (ex.: oignons), légumineuses (ex.: pois frais), autres légumes (ex.: maïs vert et champignons).

De nombreux pays cultivant une part de plus en plus importante de leurs légumes sous abri, il est souhaitable de relever et d'indiquer les superficies, les rendements et la production séparément pour les légumes cultivés sous abri et les légumes de plein champ.

VII.4.7.3. Recommandations.

Pour les cultures horticoles représentant une part minime de la superficie et de la production totales de légumes moins de 1 pour cent de l'une et de l'autre par exemple Ŕ on donnera un seul chiffre global.

Les pays doivent indiquer la superficie totale plantée en légumes et la production totale de chaque culture horticole. Dans toute la mesure du possible, ils devraient indiquer dans des rubriques séparées leurs estimations concernant les légumes destinés principalement à la vente et celles qui concernent les légumes destinés essentiellement à l'autoconsommation.

Les recommandations générales relatives soit aux cultures mixtes et aux cultures successives, soit à la couverture des données de superficie et de production s'appliquent particulièrement bien aux légumes.

VII.4.8. Le tabac.

VII.4.8.1. Définition.

Il s'agit de tous les types de plantes du genre *Nicotiana* cultivées pour leurs feuilles, qui sont destinées principalement à être fumées et, dans une moindre mesure, chiquées ou prisées. Le *N. tabacum* en est, de loin, l'espèce la plus importante. Le principe actif le plus important de la feuille de tabac est la nicotine, un alcaloïde hautement toxique.

VII.4.8.2. Classification.

Bien que les pays classent leurs cultures de tabac par variété et/ou selon le mode de séchage et de préparation des feuilles, ils pourraient indiquer des chiffres séparés pour le *N. tabacum* et pour les autres espèces de tabac de qualité inférieure, le cas échéant.

VII.4.8.3. Recommandations particulières.

Les chiffres de rendement et de production seront exprimés en poids des quantités vendues par les exploitations, c'est-à-dire en poids des feuilles quittant les exploitations pour les fabriques de tabac. A ce stade, les feuilles sont habituellement moins humides qu'à la récolte, mais elles ne sont pas complètement sèches.

VII.4.9. Les plantes fourragères (temporaires et permanentes).

Ce sont les plantes cultivées délibérément ou essentiellement pour l'alimentation animale. Par extension, les prairies naturelles et les pâturages sont inclus dans cette catégorie, qu'ils soient cultivés ou non.

Les plantes fourragères peuvent être classées sous les cultures temporaires ou permanentes.

Les cultures fourragères temporaires sont pratiquées et récoltées comme n'importe quelle autre culture. Les cultures fourragères permanentes correspondent à des terres occupées en permanence, c'est-à-dire

pendant cinq ans ou plus, par des plantes fourragères herbacées, qu'elles soient cultivées ou qu'elles soient sauvages comme les prairies sauvages ou terres de pacage. Elles peuvent comprendre certaines parties de terres forestières si elles sont utilisées comme pâturages.

Les cultures temporaires sont normalement pratiquées de manière intensive avec plusieurs coupes par an. Du point de vue des fourrages produits, ces cultures comprennent trois groupes principaux :

- les graminées, y compris les céréales récoltées vertes;
- les légumineuses, y compris celles récoltées vertes; et - les racines qui sont cultivées pour l'affouragement.

Ces trois types de plantes fourragères sont données aux animaux soit comme fourrage vert, soit comme foin lorsque les plantes sont récoltées sèches ou qu'elles sont séchées après la récolte, soit sous forme de produits d'ensilage. L'ensilage consiste à conserver par fermentation, sans séchage, des fourrages verts, de sorte que la pourriture est retardée.

VII.5. les produits primaires des cultures permanentes : concepts, couverture et recommandations générales

La plupart des choses dites à propos des produits primaires des cultures temporaires au Titre III s'appliquent aussi aux produits primaires des cultures permanentes. Leurs particularités sont mises en lumière dans les paragraphes qui suivent.

VII.5.1. Le concept de superficie.

Pour les cultures permanentes, la plupart des pays indiquent en plus ou à la place de la superficie plantée, le nombre d'arbres ou de plantes, en particulier ceux qui ne sont pas plantés en blocs compacts, qui sont plantés au milieu d'autres cultures ou qui sont disséminés. Les superficies et le nombre d'arbres sont également ventilés en superficies ou arbres productifs, fructifères et en superficies ou arbres non productifs, non fructifères. Dans la plupart des cas, les arbres 'non productifs' sont les arbres jeunes non encore fructifères.

Il est recommandé que les pays indiquent en priorité la superficie ou le nombre d'arbres effectivement récoltés ou bien la superficie ou le nombre d'arbres productifs effectivement récoltés et, accessoirement, la superficie plantée totale ou le nombre total d'arbres. Les pays adoptant une méthode différente devraient préciser le concept auquel se réfèrent les chiffres qu'ils publient.

VII.5.2. La superficie couverte.

Comme dans le cas des cultures temporaires, les chiffres doivent se rapporter à l'ensemble de la superficie cultivée ou au nombre total d'arbres existants. Le cas échéant, on évaluera les petites surfaces et/ou le nombre d'arbres disséminés omis des recensements annuels de superficies.

Il est recommandé que les pays qui ne relèvent que les superficies exploitées à des fins commerciales effectuent, à intervalles appropriés, des enquêtes sur la superficie des petites parcelles et des jardins familiaux et le nombre d'arbres qui s'y trouvent et sur le nombre d'arbres disséminés.

VII.5.3. Les cultures mêlées et les arbres disséminés.

Il est recommandé que l'équivalent, en hectares de plantation pure, des cultures permanentes plantées avec d'autres cultures ou disséminées soit additionné à la superficie des plantations compactes. Si cet

équivalent ne peut être estimé, les pays fourniront des données séparées pour les plantations compactes et pour les cultures mêlées et indiqueront le nombre d'arbres disséminés.

VII.6. Les produits primaires des cultures permanentes :

définition, classification, recommandations particulières

VII.6.1. Les fruits et les baies

VII.6.1. 1. Définition.

Les cultures fruitières produisent des fruits et des baies, généralement Caractérisés par leur goût sucré et leur teneur élevée en acide organique et en pectine.

Exception faite du fraisier, il s'agit pour l'essentiel de fruits qui se développent sur des arbres, des arbustes ou des buissons et aussi sur des plantes grimpantes et des palmiers. En général, les fruits et les soit séparément, soit en bouquets ou en grappes, comme les grappes de raisin ou les régimes de banane.

Les cultures fruitières de rente sont faites dans des vergers bien ordonnés et des plantations compactes, mais des quantités importantes de fruits sont également cueillies sur des plantes isolées qui peuvent être cultivées ou pousser spontanément. La FAO classe les bananes, les plantains, les raisins, les dattes et les caroubes parmi les fruits, mais pas les noix, les olives, les noix de coco, les melons ni les pastèques.

VII.6.1. 2. Classification.

On distingue généralement les fruits tropicaux et subtropicaux des fruits des régions tempérées. Ceux-ci sont quelquefois classés, soit parmi les fruits à pommes dont les graines ou les pépins sont enclos dans un endocarpe assez fin, comme c'est le cas des pommes et des poires, par exemple, soit parmi les fruits à noyau, dont la graine ou l'amande est enclose dans une coque ligneuse dure entourée de pulpe ou mésocarpe, comme c'est le cas des pêches et des prunes, par exemple. Les raisins, les dattes, les figues et quelques autres fruits ne trouvent place dans aucun sous-groupe, tandis que les baies et les agrumes forment des groupes qui leur sont propres. Les fruits doivent, en principe, être classés selon le genre et l'espèce auxquels ils appartiennent et les données qui les concernent doivent être indiquées séparément pour chacun. Dans certains cas, une décomposition plus poussée encore peut s'avérer fort utile, par variétés de la même espèce.

VII.6.1. 3. Recommandations.

Il est particulièrement important pour les cultures fruitières d'indiquer séparément les superficies des plantations compactes ou des vergers exploités à des fins commerciales, celle des cultures mêlées et le nombre d'arbres disséminés, lorsqu'on ne peut fournir un chiffre unique exprimé en équivalent de plantation pure.

Il est également recommandé d'adjoindre systématiquement aux statistiques courantes le relevé des superficies et du nombre des arbres des nouvelles plantations. Il est souhaitable que les pays indiquent

la densité ou l'espacement de plantation dans les vergers commerciaux. Il est également suggéré de classer les plantations fruitières selon les variétés.

Il faut rappeler que, beaucoup plus souvent que d'autres cultures, les fruits sont cultivés en dehors d'exploitations agricoles et de vergers commerciaux. Il est donc nécessaire d'évaluer périodiquement la part des cultures non commerciales dans la production totale.

Quant aux bananes en particulier, leur production doit être exprimée en poids et non en nombre de régimes. Ce poids doit correspondre au poids des bananes détachées ou à celui des mains de bananes et donc ne pas comprendre le poids de la tige centrale des régimes.

Enfin, il serait souhaitable d'indiquer séparément la récolte de fruits sauvages et la production de fruits et baies cultivés.

VII.6.2. Les fruits à coque

VII.6.2.1. Définition.

Les fruits à coque sont des fruits secs ou des amandes qui poussent sur des arbres, des arbustes ou des buissons. Ils ont pour caractéristique d'être entourés de coquilles ligneuses ou d'enveloppes dures généralement couvertes, à leur tour, d'une enveloppe extérieure épaisse, charnue/fibreuse, qui est enlevée au moment de la récolte. Le poids des coquilles ou des enveloppes peut aller de 20 pour cent du poids total des fruits non décortiqués pour les châtaignes, jusqu'à 70 pour cent pour les noix d'acajou.

VII.6.2.2. Classification.

La FAO ne classe dans ce groupe que les fruits utilisés principalement en dessert ou comme coques de table. Les fruits à coque utilisés principalement pour aromatiser les boissons sont exclus, de même que les fruits à coque stimulants et à mâcher et les fruits à coque utilisés essentiellement pour l'extraction d'huile ou de beurre. Sont également exclues les noix d'arec ou de bétel, les noix de kola, les noix d'illipe, les noix de karité, les noix de coco, les noix de tung, les noix de palme, etc…

VII.6.2.3. Recommandations.

Les données de production doivent se référer au poids des fruits à coque non décortiqués ou dans leur enveloppe dure, mais sans compter le poids de l'enveloppe extérieure.

Il serait souhaitable d'indiquer séparément la récolte de fruits sauvages : châtaignes, noix et noisettes notamment et la production des fruits à coque cultivés.

VII.6.3. Les plantes oléifères (permanentes exclusivement)

VII.6.3.1. Définition.

Les plantes oléifères permanentes sont des plantes vivaces dont les graines (kapok), les fruits ou le mésocarpe (olive) et les fruits à coque (noix de coco) sont exploités surtout pour l'extraction d'huiles et de graisses alimentaires et industrielles. Par conséquent, les fruits à coque de dessert et de table, comme les noix, sont exclus malgré leur haute teneur en huile, parce qu'ils ne sont pas utilisés principalement pour l'extraction d'huile.

VII.6.3.2. Classification.

Le palmier à huile produit des régimes qui contiennent un grand nombre de fruits dont le mésocarpe charnu ou pulpe renferme une amande enveloppée dans une coquille dure. Pour ce qui est du cocotier, le produit principal est la noix de coco, fruit à coque qui comprend une coquille ligneuse, la chair et l'eau ou le lait, mais dont on exclut l'enveloppe extérieure fibreuse, le coir ou coco, qui représente le tiers à peu près du poids total de la noix de coco mûre non décortiquée.

VII.6.3.3. Recommandations.

La production des plantes oléifères permanentes devrait toujours être exprimée en termes de produits secs et mûrs, tels qu'ils sont habituellement commercialisés.

Pour la noix de coco, voir le paragraphe ci-dessus. Quant aux olives, elles devront être classées en olives à huile ou en olives de table, selon l'usage principal qui leur est réservé.

VII.6.4. Les épices, condiments et plantes aromatiques.

Les plantes à épices contiennent en l'une ou l'autre de leurs parties (rhizome, écorce, fruit, baie, graine, etc…) des substances aromatiques ou piquantes. Elles sont donc principalement utilisées comme condiments. La plupart des épices sont des plantes vivaces.

Les épices sont riches en huiles essentielles qui sont utilisées dans l'industrie alimentaire et qui servent aussi à la fabrication de préparations cosmétiques et médicinales. Les épices n'ont qu'une valeur nutritionnelle insignifiante, mais elles ont une grande valeur commerciale.

Les chiffres de production des épices se rapportent aux produits mûrs, séchés ou en poudre, de manière à permettre des comparaisons approximatives avec les chiffres de commercialisation. Une liste partielle des épices principales comprend : poivre, piment, vanille, cannelle, girofle, muscade, macis, cardamome, gingembre, anis, badiane et fenouil.

VII.6.5.Les autres cultures permanentes

VII.6.5.1. Le caféier.

Il s'agit d'un arbuste ou petit arbre tropical produisant des fruits ou cerises à grains doubles qui sont traités de manière à débarrasser les grains ou 'fèves' de la pulpe du fruit, puis du mucilage et de la pellicule argentée qui recouvre les fèves.

En poids, les cerises mûres mais encore fraîches se composent de 45 à 55 pour cent de pulpe, de mucilage et de pellicule, et de 45 à 55 pour cent de fèves. Les fèves séchées, nettoyées et traitées sont généralement appelées 'café vert' ou 'café nettoyé'. A ce stade, le café est considéré comme un 'produit primaire'. Il contient très peu de principes nutritifs, à part un peu de matières grasses. C'est pourquoi le café est classé parmi les produits comestibles, mais 'non alimentaires'. Comme le café contient un alcaloïde, la caféine, il est aussi classé parmi les produits stimulants.

Lorsqu'il est encore revêtu du mucilage et de la pellicule, le café est dit 'en parches'.

VII.6.5.2. Le cacaoyer.

Le cacaoyer est un arbre de la forêt tropicale humide cultivé pour ses fèves contenues en grand nombre dans des cabosses ovoïdes qui sont attachées directement sur le tronc et sur les branches principales.

Les fèves et le mucilage blanc ou pulpe qui les entoure représentent environ un tiers du poids total des cabosses. Les fèves et le mucilage sont ôtés des cabosses et fermentés. Les fèves fermentées et séchées sont considérées comme un produit primaire dont on tire différents produits transformés, notamment les fèves torréfiées encore en coques et les graines cassées ou fragments de fèves torréfiées, décortiquées et écrasées. Les fragments sont broyés pour donner la pâte de cacao, dont on extrait par pression la graisse ou beurre de cacao. La masse dégraissée est alors pulvérisée en poudre de cacao. Les fèves de cacao contiennent des glucides, des protéines et en particulier des matières grasses. Elles sont donc considérées comme un produit alimentaire ; mais comme elles contiennent aussi des alcaloïdes, caféine et théobromine, les fèves de cacao sont également considérées comme un produit stimulant.

VII.6.5.3. Le thé. Arbrisseau ou arbuste de la famille des camélias, cultivé en régions subtropicales et tropicales, surtout en Extrême-Orient et en Chine, pour ses feuilles tendres que différents procédés transforment en ' thé prêt à l'emploi '. Les deux variétés principales sont assamica et sinensis. Le produit primaire, dans l'acception de la FAO, se compose des feuilles tendres, qui peuvent être flétries, roulées, fermentées et séchées : c'est le thé noir. A la différence du thé noir, le thé vert n'est pas fermenté.

Comme les feuilles de thé ne contiennent pas de nutriments, mais bien divers alcaloïdes, dont la caféine et la théine ou théophylline, elles sont classées parmi les produits 'non alimentaires' et 'stimulants'.

Le thé vert peut être consommé frais en légume. On peut extraire une huile des graines de thé.

VII.6.5.4. Le caoutchouc naturel.

L'hévéa est originaire du Brésil, mais actuellement cet arbre est surtout cultivé en Extrême-Orient. Le caoutchouc naturel est un latex liquide et laiteux qui exsude des incisions faites le long du tronc de l'hévéa et qui coagule au contact de l'air. Le latex séché est traité au soufre à haute température en un procédé, connu sous le nom de vulcanisation, qui permet d'augmenter les caractéristiques les plus recherchées du produit final, telles que l'élasticité, la solidité et la stabilité.

Pour la FAO, le 'produit primaire' est le latex concentré, stabilisé et séché.

VII.6.5.5. Le houblon.

C'est une plante grimpante vivace cultivée pour ses inflorescences femelles non fécondées, appelées 'cônes' de houblon. Les cônes mûrs et séchés, qui sont utilisés en brasserie pour donner de l'amertume au malt, constituent le 'produit primaire'.

VII.6.5.6. Le sisal. Agave sisalana.

La famille des agaves comprend de nombreuses plantes à feuilles fibreuses, charnues, épineuses et persistantes, attachées à une souche rhizomateuse qui ne fleurit qu'une seule fois. La feuille de sisal produit une fibre dure.

VII.6.5.7. Abaca, chanvre de Manille.

La fibre est tirée du pédoncule de certains bananiers cultivés surtout aux Philippines.

Chapitre VIII : Protection des plantes

VIII.1. Introduction

Les services régionaux de la protection des végétaux (SRPV) des directions régionales de l'agriculture et du foret interviennent pour lutter contre les parasites des espèces végétales, protéger les consommateurs et les milieux en naturel pour une agriculture durable et plus respectueuse de l'environnement.

Les dégâts occasionnés aux plants cultivés et aux récoltes stockées ont pour origine différents causes, cellesci peuvent être classées en trois catégories

- Ennemis de cultures : Ils sont représentés par les animaux nuisibles, les champignons et les bactéries parasites ; les virus ; les plantes parasites et les mauvaises herbes
- Phénomènes et éléments naturels : les conditions atmosphériques défavorables et les éléments naturels insuffisant ou en excès, ou intervenant sous diverses formes, c'est le cas des gelées, de la foudre, de l'eau (Y compris la neige et la grêle) ainsi que la chaleur, la lumière, l'air, la nature de sol, les accidents de végétation et les maladies physiologique.
- Accidents : les blessures causées lors des travaux culturaux, la pollution atmosphérique et l'action parfois nocive de certains engrais et pesticides.

VIII.2. les ennemis des cultures

Des bio agresseurs, appelés aussi « ennemis » des cultures sont organismes vivants qui attaquent les plantes cultivées et sont susceptibles de causer des pertes économiques. Cette notion, qui correspond à celle de test en langue anglaise, s'oppose à celle d'auxiliaire des cultures, organismes vivants qui contribuent à limiter l'action des bios agresseurs.

Ces organismes nuisibles aux végétaux comprennent l'ensemble des ennemis des cultures et se répartissent en trois grades familles :

- les agents pathogènes (champignons, bactérie et virus principalement) cause des maladies des plants,
- les ravageurs animaux (prédateurs ou parasites des plantes) et
- les adventices (« mauvaises herbes ») qui concurrencent les plantes cultivées.

VIII. 3. Méthodes alternatives en protection des plantes

VIII. 3.1. Produits phytosanitaires

Les produits phytosanitaires sont utilisés pour protéger les plantes contre les organismes nuisibles. Ils sont employés dans l'agriculture mais aussi en dehors de l'agriculture. Il existe différents moyens de protéger les plantes cultivées. On distingue principalement les mesures préventives telles que le respect d'un assolement équilibré et le choix de variétés résistantes aux organismes nuisibles, des mesures de lutte directe, qui regroupent toute une série de méthodes faisant appel à des moyens ou des produits

biologique, biotechnologique, physique ou chimique. En effet, les produits phytosanitaires contribuent notablement à garantir le rendement et la qualité des récoltes.

Les produits des protection des plantes préconise aussi les bonnes pratiques phytopharmaceutique, ainsi que les différents méthodes alternatives reposant sur la lutte biologique par micro-organismes ou macro-organisme , l'approche sémio chimique à partir des phéromones et d'extraits botaniques.

VIII. 3.2. Protection des plantes contre le froid

Elles peuvent être protégées par un simple paillage végétal tel que des écorces, du paillis de lin, un tapis de feuilles morte, quelques centimètres de compost ou de fumier. En protégeant ainsi vos plantes vivaces mais aussi vos jeunes arbustes, vous leur assurez une protection des racines contre le gel.

Figure 28 Protection des plantes contre le froid

VIII. 3.3. Protection des plantes contre les oiseaux

Les oiseaux s'habituent à tous les artifices ; variez les systèmes pour une meilleure efficacité et mettez-les en place au moment opportun, par exemple lorsque les fruits commencent à mûrir. Voici quelques exemples :

- Installer des effaroucheurs visuels ;
- Accrocher sur quelques branches d'arbres fruitiers des bandes de papier aluminium.
- Poser sur plusieurs bronches des cd.
- Poser un filet de protection.

VIII. 3.4. Protection des plantes contre les insectes

Lorsque le jardinier se veut dans une démarche respectueuse de l'environnement, il renonce aux produits chimiques pour traiter les plantes de son jardin. Ces produits sont réputés efficaces par leur persistance, ils agissent donc durablement, mais polluent également l'environnement parce qu'il est plus difficile de les faire disparaître.

- Une autre solution s'offre au jardinier : les traitements biologiques. Il s'agit de produits ne contenant pas de produits chimiques de synthèse, qui sont donc autorisés en agriculture biologique. Nature a développé des solutions pour répondre à ce besoin de traitements respectueux de la nature tout en restant efficaces.

Figure 29 Protection des plantes contre les insectes

Figure 30 Différents pièges (pièges colorés, à phéromones et autres pièges à appât, etc.)

Tableau 8 Quelques exemples de la protection des plantes contre les insectes

insectes	Comment les reconnaitre?	Solution efficace
	Les fourmis assurent nourriture; protection des œufs et les incitent à produire un miellat dont elles se nourrissent	Anti-fourmis boites appâts 2 x 10 G Naturen
	Le ver du poireau creuse de nombreuses galeries dans les feuilles. Les poireaux deviennent inconsommables.	Insecticide ver du poireau naturen
	Les chenilles grimpent le long du tronc jusque dans les branches. Elles y tissent des nids soyeux, et se nourrissent des bourgeons, des fruit… mettant à mal l'arbre et menaçant sa vie.	Piège à chenille processionnaire du pin Naturen

VIII. 3.5. Protection des plantes contre les maladies

Il s'agit de maladies cryptogamiques c'est-à-dire causées par des champignons. Ceux-ci se développent quand le temps est humide et chaud, par exemple lors des pluies d'été. Les maladies les plus courantes sont facilement identifiables : vous observer des taches jaune orange et noire ? Crest la rouille. Les feuilles sont recouvertes d'un voile blanc ? C'est de l'oïdium. Vous n'aurez pas beaucoup de difficulté à diagnostiquer les maladies dont souffre votre plante.

Tableau 9 Quelques exemples de la protection des plantes contre les maladies

maladies	Comment les reconnaitre?	Solution efficace
	Maladie cryptogamique touchant les pommes de terre, tomates, les laitues et la vigne… des taches apparaissent sue les feuilles les tubercules de pomme de terre se colorent de brun rougeâtre.	Anti mildiou 100 G
	Les feuilles se recroquevillent, jaunissent et tombent prématurément. Les fruits n'arrivent pas à maturité, ils sont déformés et marqués de crevasses.	Bouille bordelaise Naturen
	Sur le rosier les feuilles se couvrent de taches noires et jaunes. Les tiges sont aussi atteintes à long terme.	Anti- maladies polyvalent 350 ML

VIII. 4. Protection Intégrée : Concept et définitions

Au cours des 50 dernières années, la protection intégrée s'est imposée, dans le monde entier, comme la principale stratégie holistique de protection des plantes. Depuis son apparition dans les années 60, la protection intégrée se fonde sur l'écologie et le concept des écosystèmes et se donne pour objectif de maintenir les fonctions des écosystèmes.

La protection intégrée repose sur l'idée que la première et la principale ligne de défense contre les ravageurs et les maladies en agriculture est un écosystème agricole en bonne santé, où les processus biologiques qui sont à la base de la production sont protégés, encouragés et améliorés. L'amélioration de ces processus peut en effet accroître les rendements et la durabilité, tout en réduisant le coût des intrants. Dans les systèmes de production intensive, les facteurs environnementaux suivants, liés à la production, affectent les possibilités de protection efficace contre les ravageurs :

Il existe plusieurs définitions de la Protection Intégrée. La majorité de ces définitions intègrent les concepts définis par l'OILB :

L'utilisation de méthodes justifiables sur le plan économique, écologique et toxicologique pour maintenir les organismes nuisibles en dessous du seuil de tolérance économique tout en exploitant et en mettant à profit les facteurs de contrôle naturel

Définition du concept de Protection Intégrée selon ENDURE :

La Protection Intégrée est une approche durable qui consiste à lutter contre les ennemis des cultures au travers de pratiques culturales et d'outils biologiques et chimiques de façon à minimiser l'impact économique et environnemental, et les risques pour la santé humaine.

La Protection Intégrée est un processus continu qui intègre des solutions innovantes, mises en œuvre de façon à être adaptées aux conditions locales afin de réduire la dépendance aux pesticides des systèmes agricoles.

VIII. 5. Stratégies de Protection Intégrée

Les différentes stratégies suivies sont les Méthodes de Protection Indirecte des Cultures, les Outils de surveillance et de prévision et les Méthodes de Protection Directe et qui se présentent dans les directives suivantes selon la loi :

1. Optimisation des ressources naturelles avant la plantation (techniques agronomiques, plantes résistantes)
2. Favoriser les pratiques culturales sans impact négatif sur l'agroécosystème (techniques agronomiques, moyens mécaniques)
3. Protection et développement des ennemis naturels (lutte biologique, infrastructures écologiques par Outils d'aide à la décision pour la mise en œuvre de mesures de lutte directe et Outils de surveillance et de prévision
4. Utilisation de méthodes de lutte sélectives (technique d'élevage de mâles stériles, lutte biologique et microbiologique, lutte éthologique (phéromones).

VIII. 6. Les principes généraux à respecter pour insérer la protection intégrée dans les programmes d'intensification durable.

1. Utiliser une approche éco systémique pour anticiper les problèmes que pourraient causer les ravageurs en production intensive.
2. Planifier les interventions, pour être prêts lorsqu'arriveront des preuves crédibles annonçant une grave menace d'infestation de ravageurs.
3. Analyser la nature des causes qui sont à l'origine des infestations de ravageurs, lors de l'apparition de problèmes et élaborer des stratégies pour y remédier.
4. Déterminer la part de la production qui est menacée afin de lancer des campagnes et des activités de lutte d'une ampleur appropriée contre les ravageurs.
5. Assurer la surveillance pour déterminer les tendances des infestations de ravageurs en temps réel et ajuster, sur cette base, les interventions.

VIII. 7. Les méthodes de protection des plantes

Les organismes nuisibles des plantes peuvent être combattus par différentes méthodes :

- la veille sanitaire (ancien avertissements agricoles...),
- la surveillance sanitaire de terrain,
- des méthodes indirectes (prévention, lutte intégrée) ; □ des méthodes directes :

1. lutte physique ou mécanique (ex : désinsectiseur électrique) ;o
2. lutte chimique à l'aide de produits phytopharmaceutiques dans le domaine de la protection des cultures; ou produits biocides, insecticides vétérinaires ;
3. lutte biologique, qui demande de bien comprendre les mécanismes écologiques ou agroécologiques expliquant la pullulation d'une espèce ainsi que ses facteurs naturels de régulation (Ex : L'introduction de la myxomatose chez les lapins a eu des résultats qui ont dépassé les prévisions en Europe, mais non en

Australie).

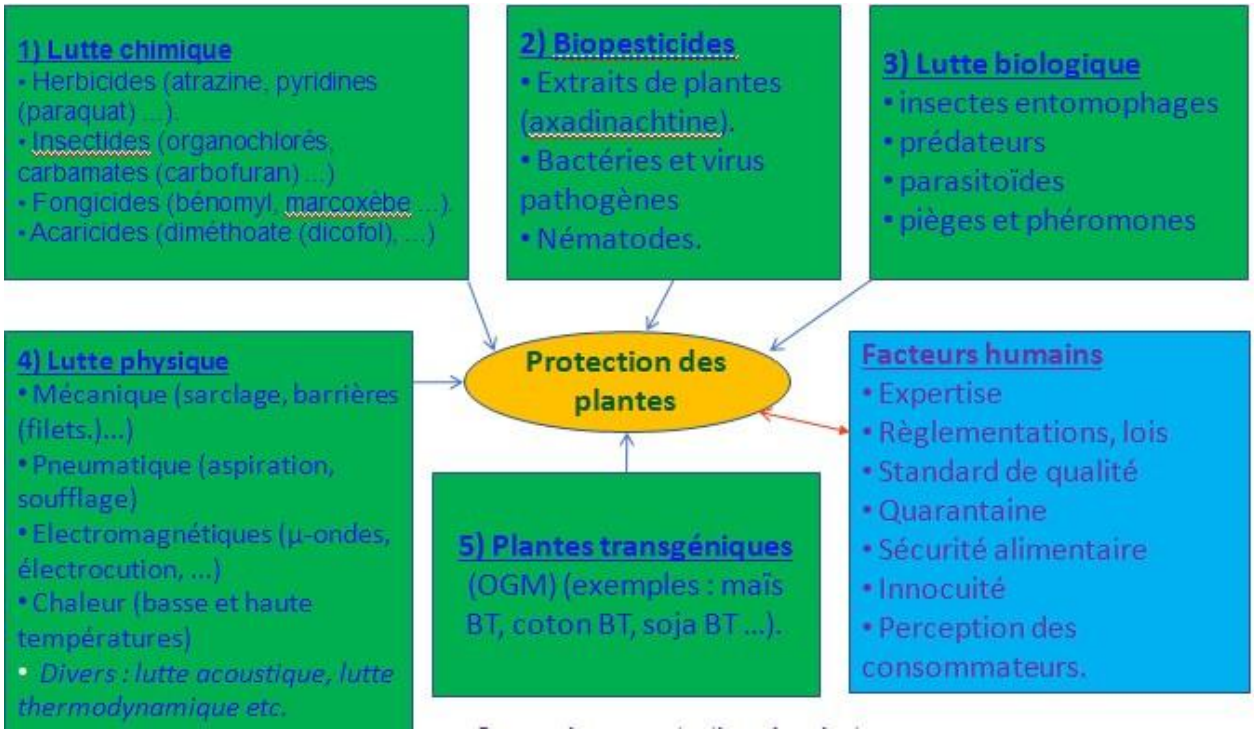

Figure 31 Les différentes méthodes de lutte contre les ennemis naturels

VIII. 8.Protection internationale des plantes

L'exportation des végétaux, produits végétaux ou autres objets doit selon la réglementation du pays destinataire s'accompagner d'un certificat phytosanitaire attestant du statut phytosanitaire de l'envoi. Ce constat s'établit en fonction du statut phytosanitaire de la France vis à vis des organismes nuisibles réglementés dans le pays importateur.

Le certificat phytosanitaire est délivré par le service régional de l'alimentation (SRAL) de la région dont dépend administrativement votre entreprise. C'est un modèle unique établit en application de la convention internationale de la protection des végétaux (CIPV). Il atteste que les végétaux, produits végétaux ou autres objets ont été inspectés et déclarés conformes à la réglementation phytosanitaire du pays importateur suivant des procédures adaptées prévues par le pays importateur le cas échéant.

Certains pays exigent d'obtenir préalablement une autorisation d'importation ou permis d'importation.

Il importe de connaître la réglementation du pays importateur soit en prenant contact auprès du SRAL de votre région, soit en consultant les autorités de la maison d'agriculture.

Toute entreprise souhaitant obtenir un certificat phytosanitaire doit en faire la demande auprès du SRAL ou contacter ce service pour plus de renseignements à l'aide du formulaire de demande d'exportation ci-dessous ou le formulaire de demande de certificat de réexport si les marchandises ne sont pas originaires du pays.

VIII. 9. Mise sur le marché et échanges intracommunautaires

La présente directive soumet certains végétaux et produits végétaux à une inspection phytosanitaire. Cette inspection doit avoir lieu au moins une fois par an sur le lieu de production durant la période la plus appropriée, c'est-à-dire pendant la période de croissance ou juste après la moisson. Elle porte sur les végétaux et produits végétaux présents sur le site de production, ainsi que sur leur environnement de croissance.

Les producteurs doivent être inscrits dans un registre officiel tenu par l'organisme national responsable.

Des exemptions peuvent être accordées pour les produits destinés à la circulation locale lorsqu'il n'y a pas de risque de propagation d'organisme nuisible.

Lorsque le contrôle est satisfaisant, l'organisme national responsable délivre un passeport phytosanitaire qui atteste le respect des règles phytosanitaires communautaires. Ce passeport se présente en principe sous la forme d'une étiquette normalisée qui doit être attachée au produit, à son emballage ou, éventuellement, au véhicule qui en assure le transport. Le passeport peut être remplacé dans certains cas (changement de statut phytosanitaire, division en lots, etc.) et sous certaines conditions.

Lorsque le contrôle n'est pas satisfaisant, les végétaux, produits végétaux et milieux concernés peuvent faire l'objet de diverses mesures comme le traitement (suivi de la délivrance du passeport si ce traitement est fructueux), la circulation sous contrôle ou la destruction. Par ailleurs, les États membres doivent notifier à la Commission et aux autres États membres la présence des organismes nuisibles ou le risque d'introduction ou de diffusion d'organismes nuisibles sur leur territoire.

Outre cette inspection phytosanitaire, les États membres organisent des contrôles occasionnels, que ce soit sur les lieux où les végétaux ou produits végétaux sont cultivés, produits, entreposés, mis en vente ou déplacés, ou bien à l'occasion d'autres contrôles de documents pour des raisons autres que phytosanitaires.

VIII. 10. Importations en provenance d'États tiers

La présente directive soumet certains végétaux et produits végétaux provenant de pays tiers à un contrôle lors de leur entrée sur le territoire de l'UE. Ce contrôle comprend notamment un contrôle documentaire, un contrôle d'identité et un contrôle phytosanitaire.

Le contrôle documentaire consiste en une vérification des certificats et documents qui accompagnent l'envoi ou le lot, en particulier le certificat phytosanitaire. Ce certificat est émis par l'autorité

compétente du pays d'origine ou de réexportation, conformément à l'un des modèles établis par la Commission. Il doit certifier que les produits ont fait l'objet d'inspections adéquates et satisfaisantes.

Le contrôle d'identité consiste en une vérification de la correspondance entre l'envoi et les végétaux ou produits végétaux déclarés dans le certificat.

Le contrôle phytosanitaire consiste à vérifier, sur la base d'un examen complet ou de l'examen d'échantillons, que les végétaux ou produits végétaux ne présentent pas de signes de contamination par des organismes nuisibles et qu'ils respectent les exigences spécifiques définies dans la présente directive.

La directive prévoit un allègement des contrôles d'identité et phytosanitaires lorsque certaines garanties sont apportées.

Elle prévoit également des exemptions lorsqu'il n'y a pas de risque de dissémination d'organismes nuisibles.

Partie Travaux Pratiques et diriges (TP, TD)

- Préparation des milieux de culture de la CIV
- Les préparations des explants en CIV

Références Bibliographiques

- Baan Munim Twaij, Zena H. Jazar1, and Md. Nazmul Hasan (2020). Trends in the use of tissue culture, applications and future aspects, International Journal of Plant biology, https://doi.org/10.4081/pb.2020.8385
- Claudia A. Espinosa_Leal · César A. Puente_Garza · Silverio García_Lara (2018). In vitro plant tissue culture:
  means for production of biological active compounds, Planta (2018) 248:1–18, https://doi.org/10.1007/s00425018-2910-1
- Aneta Gerszberg (2018). Tissue culture and genetic transformation of cabbage (Brassica oleracea var. capitata): an overview, Planta (2018) 248:1037–1048, https://doi.org/10.1007/s00425-018-2961-3
- Alison M.R. Ferrie, Karen L. Caswell, (2016). Applications of Doubled Haploidy for Improving Industrial Oilseeds, http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-893997-98-1.00013-0
- IyyakkannuSivanesanandSeWonPark (2014). TheroleofsiliconinplanttissueculturE, FrontiersinPlantScience | Plant Nutrition, V. 5 | Article 571, https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00571
- Mohsen Hesami , Austin Baiton, Milad Alizadeh , Marco Pepe , Davoud Torkamaneh and Andrew Maxwell Phineas Jones, (2021). Advances and Perspectives in Tissue Culture and Genetic Engineering of Cannabis. Int.
  J. Mol. Sci., 22, 5671. https://doi.org/10.3390/ijms22115671
- Bednarek, P.T.; Pachota, K.A.; Dynkowska,W.M.; Machczy´ nska, J.; Orłowska, R. (2021) Understanding In Vitro Tissue Culture-Induced Variation Phenomenon in Microspore System. Int. J. Mol. Sci., 22, 7546. https://doi.org/10.3390/ijms22147546
- DattéY.,Fellous M., Ricroch A. Les Biotechnologies Végétales. Environnement Alimentaire. Santé Ed Vuibert AFBV266p.
- Gallais A 2013. De la domestication à la transgénése : Evolution des outils pour l'amélioration des plantes. Ed Quae.
- Kneen Brewster, Les Aliments trafiqués. Les dessous de la biotechnologie, Montréal, Ecossociété, 2000.
- Flipo Fabrice, Le développement durable, Paris, Bréal, 2007.
- Augée R., Beauchesne G., Boccon-Gibod J., Decourtye L., Digat B., Jalouzot R., Minier R., Morand J.C.L., Reynoird J.P., Strullu D.G., Vidalie H., 1995. In vitro culture and its applications in Horticulture. New Hampshire, Science Publishers, Inc., 231 p.
- Morot-Gaudry Jean-François.
  Biologie végétale croissance et développement. Dunod, 2009. 241p Morot_
  Gaudry Jean-François. Biologie végétale nutrition et métabolisme. Dunod, 2009. 216p.
- Demarly Y et Sibi M (1989) Amélioration des plantes et biotechnologie. John Libbey Eurotext Montrouge. ISBN 0-86196-221-4.
- Kahn A (1996). Les plantes transgéniques en agriculture. Dix ans dřexpérience de la Commission du Génie Biomoléculaire John Libbey Eurotext Montrouge. ISBN 2-7420-0149-2

- Sasson A (1988). " Biotechnologies and development ", UNESCO. Paris. ISBN 92-3-102426-4
- Sebillotte M (1996) Les mondes de l'agriculture Une recherche pour demain. INRA Editions Paris. ISBN.
- Semal J, Lepoivre P (1992). Biotechnologie et agriculture : impact et perspectives. Cahiers Agric. 1, 153-162.
- Lewis, W.J., van Lenteren, J.C., Phatak, S.C. et Tumlinson, III, J.H. 1997. A total system approach to sustainable pest management. Proc. Natl. Acad. Sci., 94(1997): 12243-12248.
- HO Mae-Wam, Genetic Engineering: Dreams or Nightmares? New Delhi, Research Foundation for science, echnology and Ecology/Third World Network, 1998.

Sites Internet

- INRA. Institut National de la Recherche Agronomique. [En ligne]. Disponible sur : http://www.inra.fr/internet/Directions/DIC/presinra/SAQfiches/invitro.htm
- Technivit Laboratoire. Les Culture in vitro végétales. [en ligne]. Diponible sur: http://technivit.pagespersoorange.fr/civ.htm.
- D. Cornu - M. Boulay. La multiplication végétative techniques horticoles et Culture in vitro. [En ligne]. http://documents.irevues.inist.fr/bitstream/handle/2042/25750/RFF_1986_S_60.pdf?sequence=1.
- http://pdf.usaid.ov/pdf-docs/pnacn153.pdf
- http://pdf.semanticsholar.org/664b/d7a053069c4e2903a915f03ffade01f30b.pdf
- http://archive.unu.edu/unupress/sapmle-chapters/médical boîte chromo gy.pdf
- http://www.wtec.org/…/IWGN.Research.directions/chapter08.pdf
- http://www.eolss.net/sample-chapters/C17/E6-58-05-00.pdf
- http://scs.illinois.edu/-zhaogrp/puplications/HZ8.pdf
- http://libary.umac.mo/ebooks/b28045907.pdf
- http://scs.illinois.edu/-zhaogrp/puplications/HZ8.pdf
- http://libary.umac.mo/ebooks/b28045907.pdf
- Jttp://www2.hcmuaf.edu.vn/data/quoctuan/Envirenmenal%20Biotechnology%20Furlong.pdf
- ENDURE est le Réseau Européen pour l'Exploitation Durable et la Protection des Cultures. http://www.endurenetwork.eu/
- Directive pour la Production Intégrée. Principes et Directives Techniques, 3ème édition
- Bulletin de l'OILB/WPRS 2004 (http://www.iobc-wprs.org/ ip_ipm/index.html) Protection intégrée des plantes dans le cadre d'une agriculture durable OILB/wprs Bulletin 21(1): 19-22. 1998.
- Rana, S. 2010. Global agrochemical market back in growth mode in 2010. Agrow (www.agrow.com).

- Lutte biologique. Que retirer de l'expérience des producteurs de légumes de serre ? André CARRIER, agronome, M. Sc., Conseiller régional en horticulture, Direction régionale de la Chaudière-Appalaches (Canada), Janvier 2008.
- http://www.inra.fr/opie-insectes/luttebio.htm
- La lutte biologique contre les espèces introduites envahissantes : solution miracle ou méthode risquée, J.-Y. MEYER, Délégation à la Recherche, http://www.lian.fr/jyves/Meyer_2002_Fiche_Technique_Lutte_Biologique.pdf
- Cours : La lutte biologique, Liliane Krespi & Anne-Marie Cortesero, Université de Rennes, http://perso.univrennes1.fr/anne-marie.cortesero/L3/cours12009.pdf