

Biotechnologie et connaissance des plantes

- 9h20 Introduction générale sur les biotechnologies végétales**
Bernard Kurek, *INRA Reims*
- 9h30 Apport des biotechnologies sur la compréhension des mécanismes de la formation du bois** - Deborah Goffner, *CNRS Toulouse*
- 10h00 Biotechnologie et maturation des fibres de lin**
Simon Hawkins, *Université de Lille*
- 10h30 Biotechnologie et qualité du bois à finalité papetière et matériau**
Gilles Pilate, *INRA Orléans*
- 11h00 *Pause***
- 11h30 Discussion débat**
- 12h30 *Déjeuner***

Applications

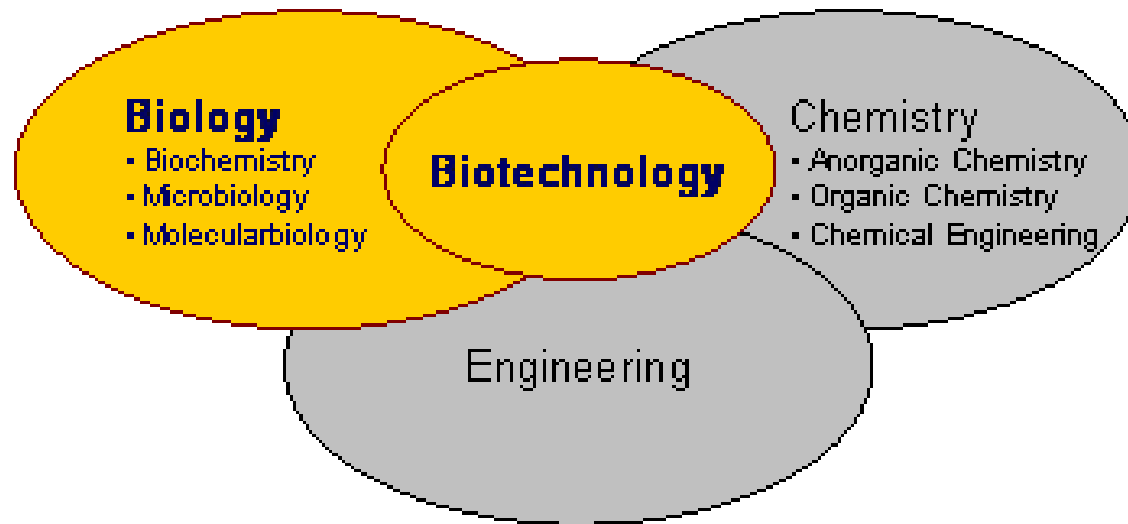
- 14h00 Apport des biotechnologies enzymatiques en papeterie**
Michel Petit-Conil, *Centre Technique du Papier*
- 14h30 Biotechnologies appliquées au textile**
Philippe Mesnage, *IFTH Lille*
- 15h00 Biotechnologie et valorisation de la plante entière**
Michaël O'Donohue, *INRA Reims*
- 15h30 Discussion débat**
- 16h30 Conclusion**
Bernard Kurek, *INRA Reims*

Les biotechnologies appliquées aux fibres végétales



Biotechnology

Applied and Interdisciplinary Science



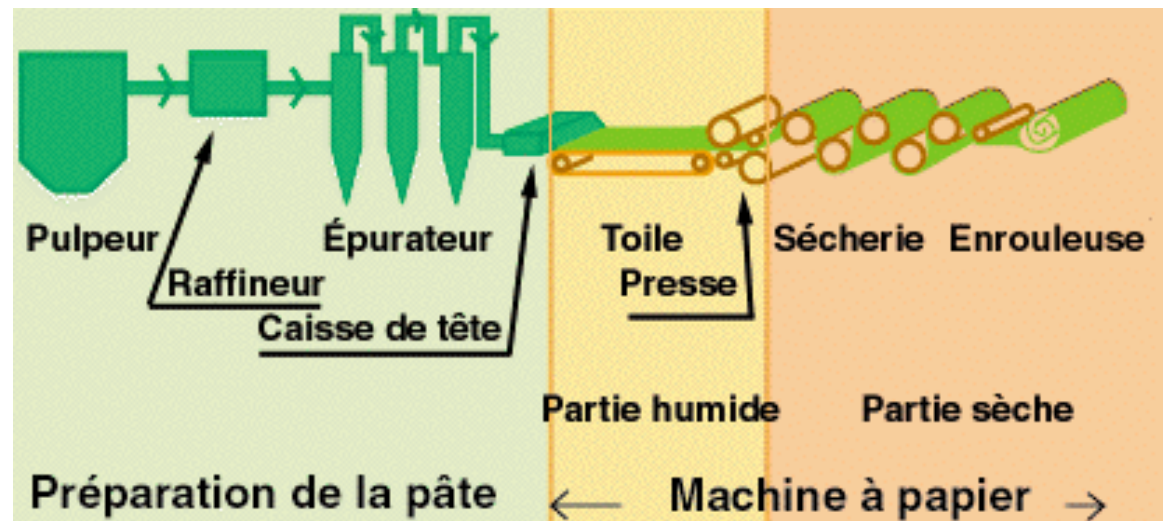
Une définition.....

Activité intégrant les **sciences du vivant** et de l'**ingénierie** pour l'utilisation de d'organismes, de micro-organismes, de cellules, de leurs constituants ou de leurs analogues, à des fins de **produits** et de **services**.

PLANTE



PROCEDE



Biotechnologies et Plantes

Biologie du Développement et Physiologie Intégrative

génomique

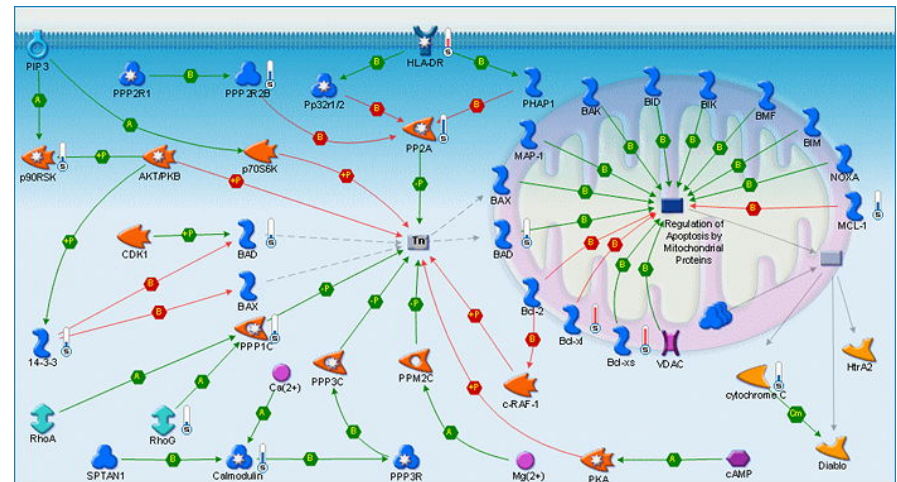
transcriptomique

protéomique

métabolomique

interactomique

(..., protéasome, régulome,
spliceosome, prédictome,
réactome,)

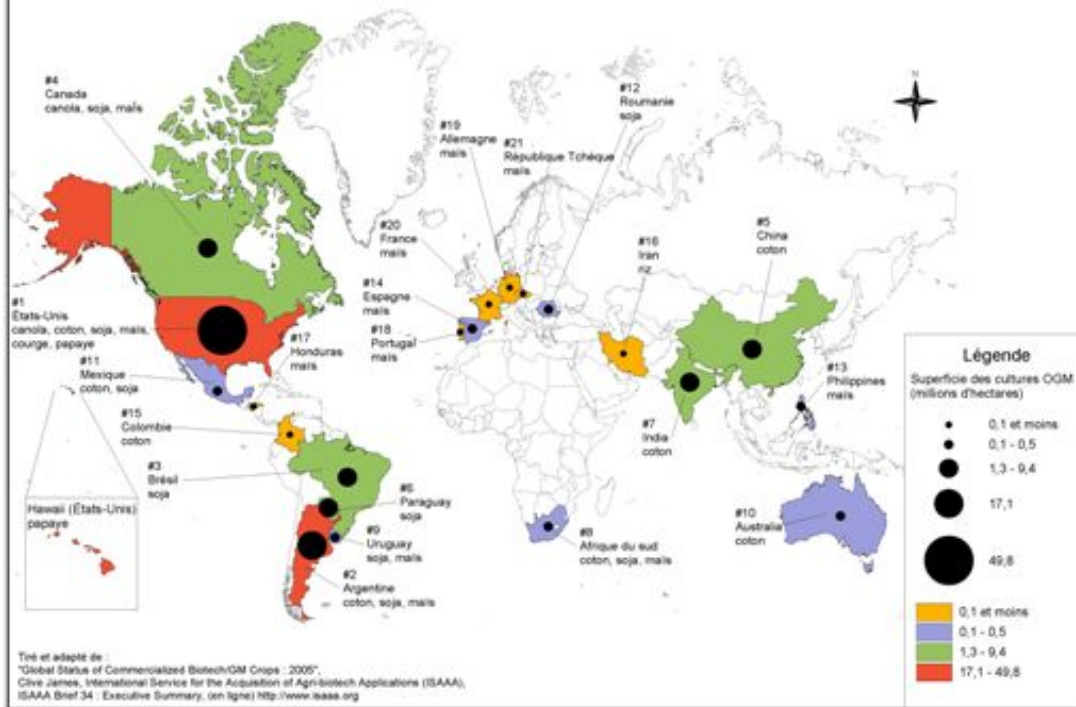


<http://www.genego.com/>



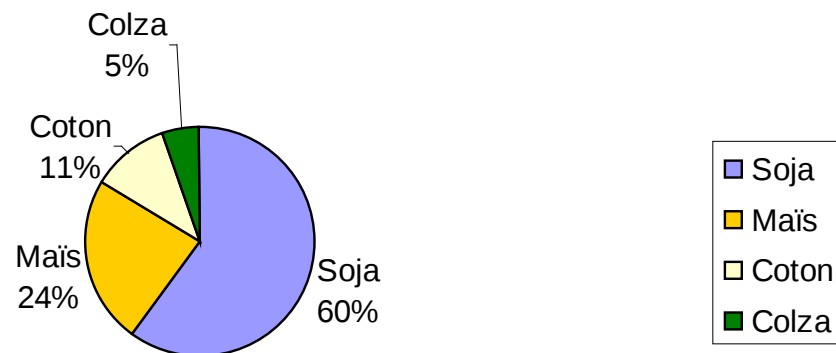
Sélection / OGM / Biodiversité

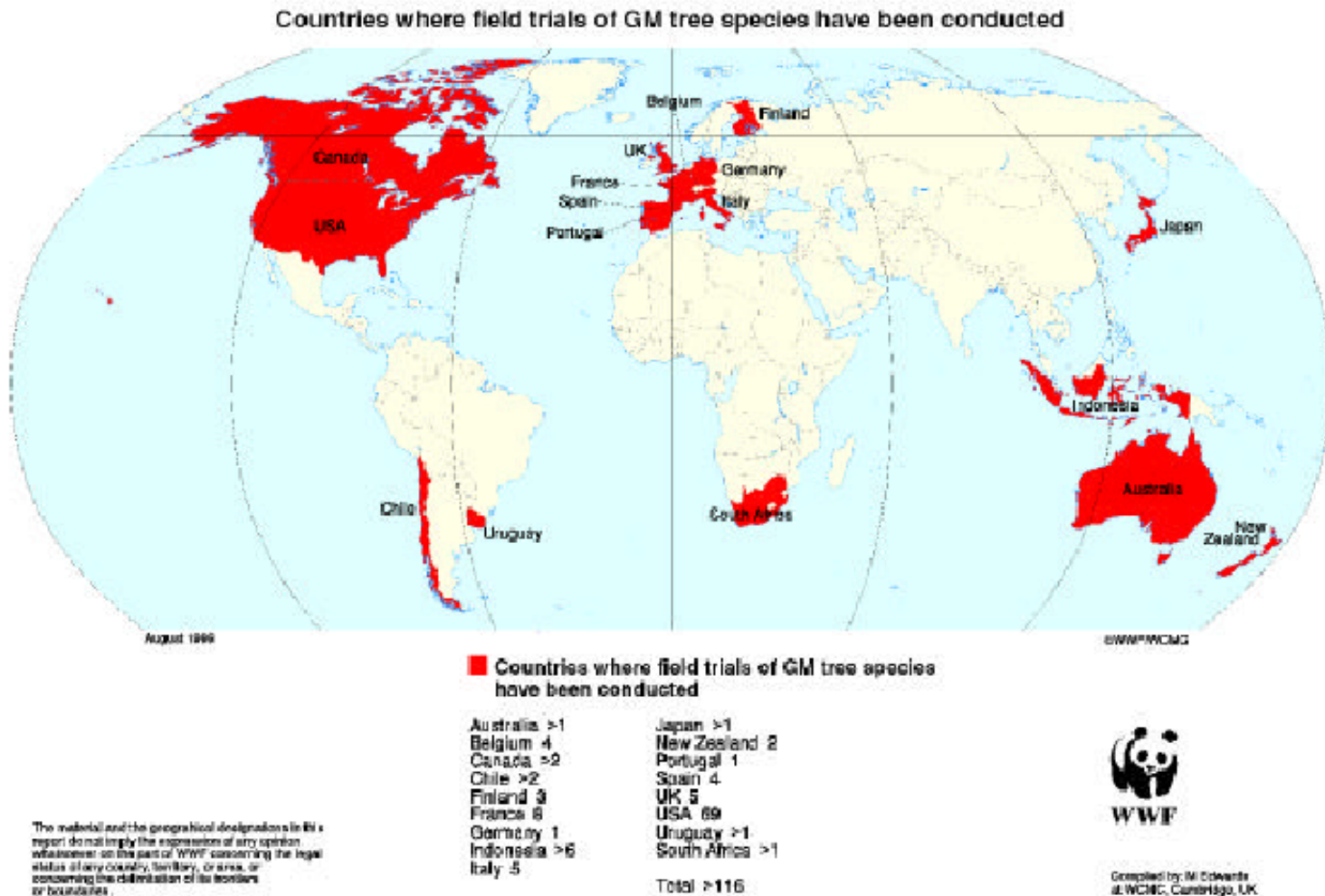
Pays producteurs de cultures OGM en 2005

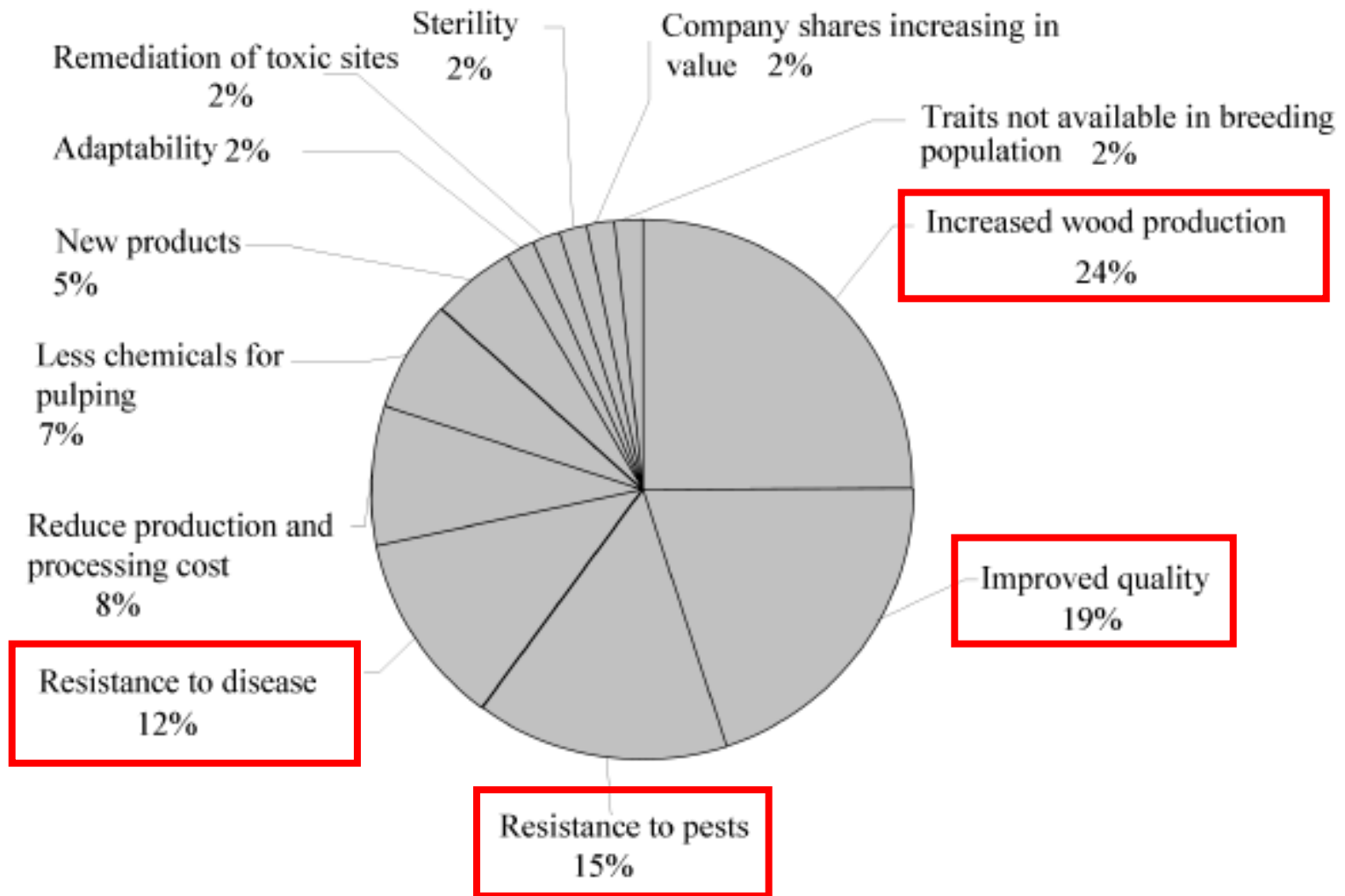


http://www.ogm.gouv.qc.ca/ogm_producteurs.html

des principales espèces culturales
transgéniques en 2004







Biotechnologies et Procédés

Detergent Enzymes

Starch Processing Enzymes

Dairy Enzymes

Textile Enzymes

Juice and Beverage Enzymes

Baking Enzymes

Pulp and Paper Enzymes

Animal Feed Enzymes

Diagnostic and Pharmaceutical
Commercial Enzymes

Environmental and Enzymatic
Bioremediation Enzymes



Boehringer
Ingelheim

3,6 M USD en 2000
30% enzymes = 90% marché

Textile

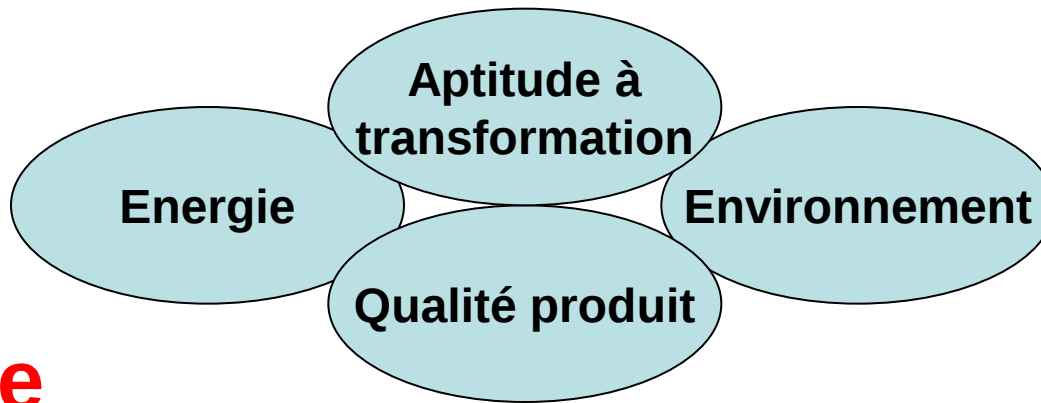
Désencollage du coton

Rouissage du lin

Transformation du peroxyde d'hydrogène

Biodé lavage à la pierre et biopolissage

Détergents



Papeterie

Méthode biologique de réduction en pâte

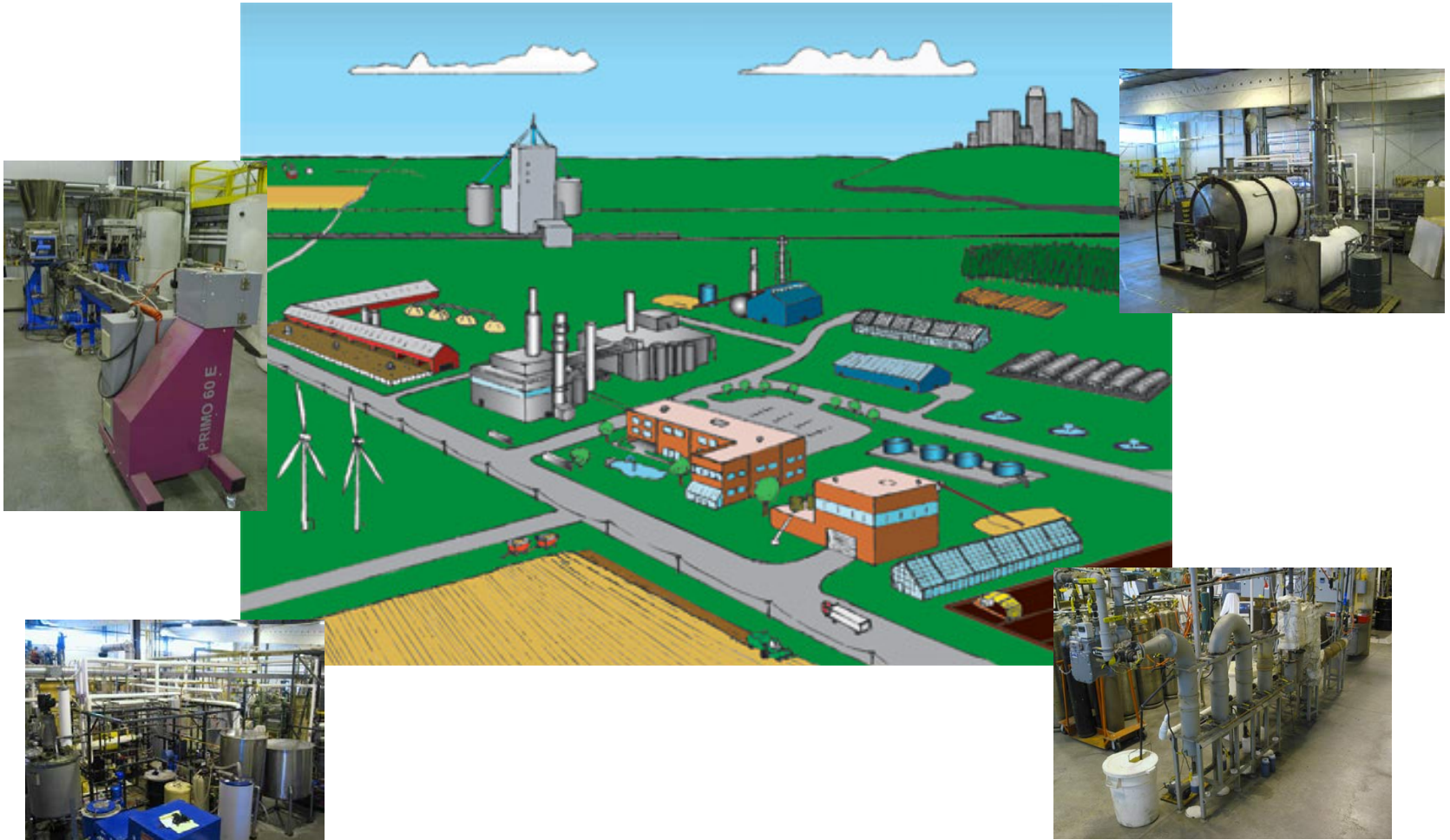
Évacuation des eaux

Blanchiment additionnel

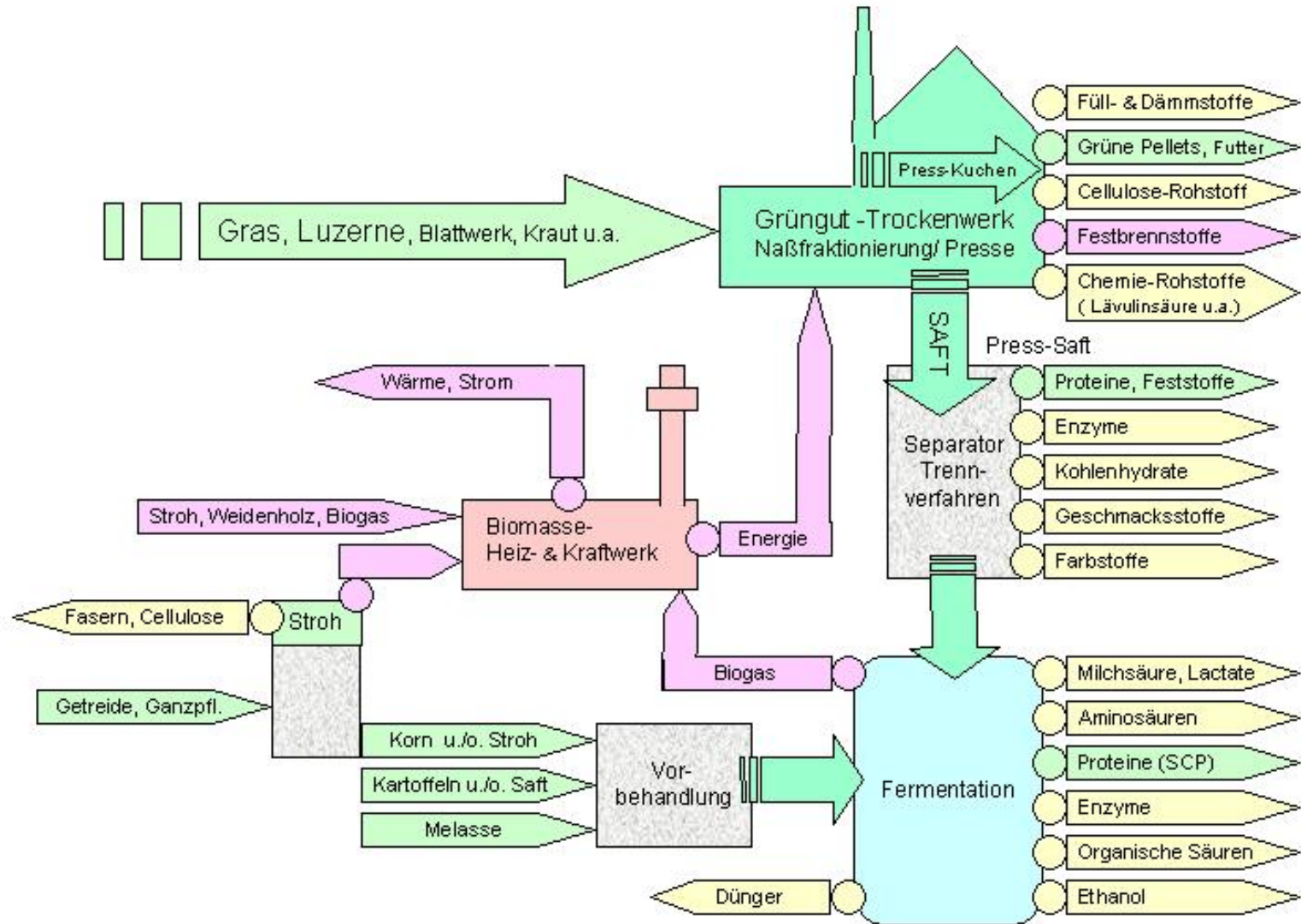
Désencrage

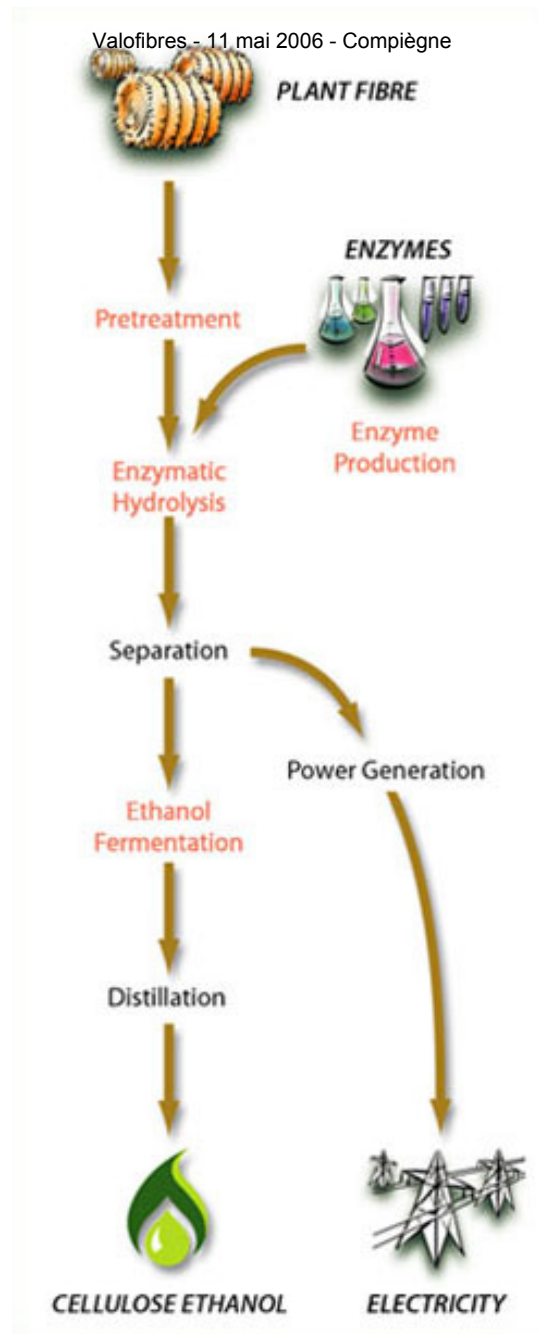
Raffinage / Polissage

Biotechnologies et Bioraffinerie



Biotechnologies et Bioraffinerie



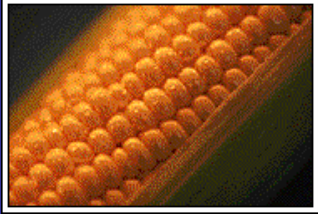


Biotechnologie et connaissance des plantes

- 9h20** **Introduction générale sur les biotechnologies végétales**
Bernard Kurek, *INRA Reims*
- 9h30** **Apport des biotechnologies sur la compréhension des mécanismes de la formation du bois** - Deborah Goffner, *CNRS Toulouse*
- 10h00** **Biotechnologie et maturation des fibres de lin**
Simon Hawkins, *Université de Lille*
- 10h30** **Biotechnologie et qualité du bois à finalité papetière et matériau**
Gilles Pilate, *INRA Orléans*
- 11h00** ***Pause***
- 11h30** **Discussion débat**
- 12h30** ***Déjeuner***

Applications

- 14h00** **Apport des biotechnologies enzymatiques en papeterie**
Michel Petit-Conil, *Centre Technique du Papier*
- 14h30** **Biotechnologies appliquées au textile**
Philippe Mesnage, *IFTH Lille*
- 15h00** **Biotechnologie et valorisation de la plante entière**
Michaël O'Donohue, *INRA Reims*
- 15h30** **Discussion débat**
- 16h30** **Conclusion**
Bernard Kurek, *INRA Reims*



Zea mays



Arabidopsis thaliana

Mise en oeuvre des stratégies pour améliorer la biomasse végétale

Deborah Goffner

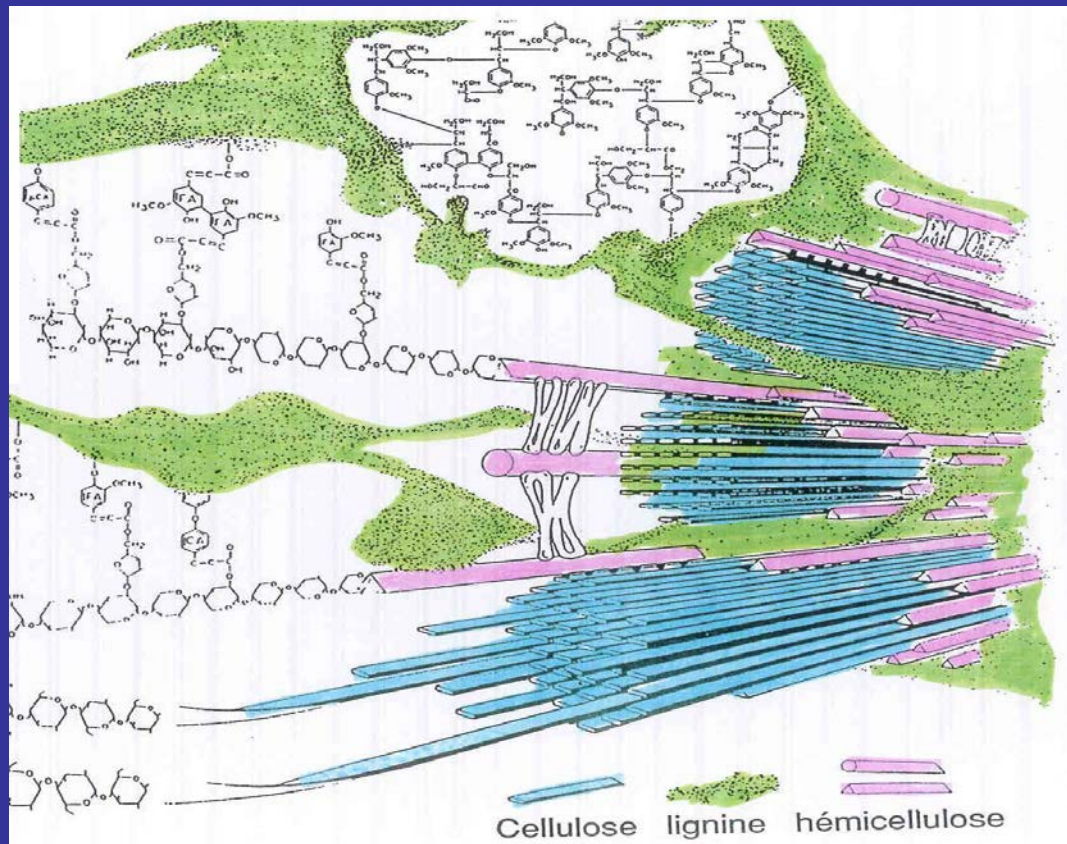
UMR 5546 « Surfaces Cellulaires et Signalisation chez les Végétaux »
Pôle de Biotechnologie Végétale
Castanet Tolosan FRANCE



Zinnia elegans



More than 10 billion tons of carbon are fixed by plants each year
Cell wall is the major sink



Major components

50% cellulose

20-30% hemicellulose

20-30% lignin

- proteins, too

Structure and chemical composition of secondary cell walls

Main uses of lignocellulosic biomass

- ↓ Wood for building and furniture
- ↓ Wood and other lignocellulosics for the pulp industry
- ↓ Wood for energy
- ↓ Textiles
- ↓ Forage for livestock

Lignin = major obstacle for use !!

Targeted approach : Genetic engineering

Caffeic acid o-methyltransferase (COMT)
down-regulation in maize



Gene discovery

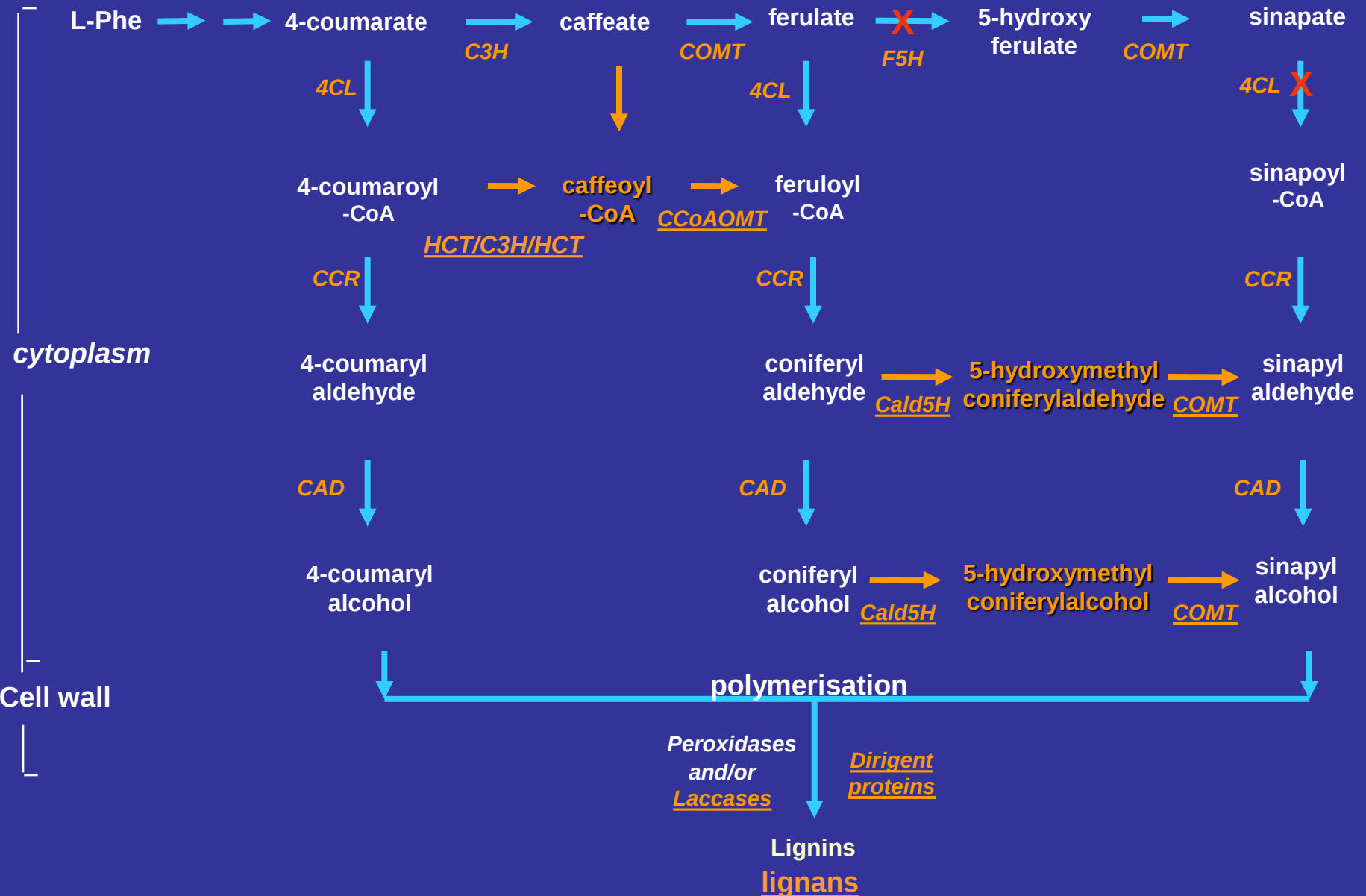
- ☞ Large-scale EST sequencing of wall-related tissues/cell types
 - Zinnia in vitro* xylogenic cultures
- ☞ Arabidopsis mutants
- ☞ Maize cell wall genomics

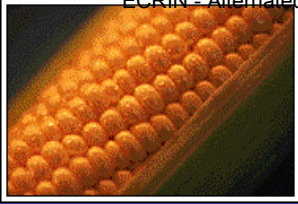
Genetic engineering : a key to re-writing a more correct lignin biosynthetic pathway

ECRIN - Alternat'ech - Europol'Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois





Why genetic engineering of lignification in maize ?

Some facts

- ✓ Silage maize- important energy source for ruminant nutrition - 3,7 M ha cultivated in Europe



Difficulties

- ✓ Few data on lignification in monocot species
- ✓ Few data available on promoter efficiency and expression in monocots

Use of a well-suited promoter to modify lignification in maize

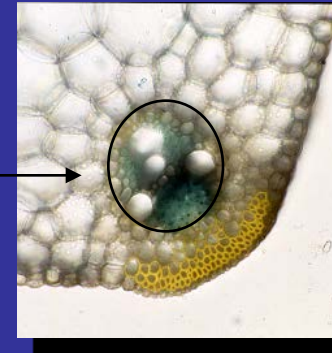


Maize alcohol dehydrogenase: GUS reporter gene expression



nodes

Vascular bundle



leaf

Expression of pADH1-GUS is in the vascular system (lignifying cells)

Down-regulation of COMT in maize using RNA antisense technology - phenotypic alterations

ECRIN - Alternattech - Europol'Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

☞ Brownish-orange coloration of leaf midrib

☞ Modified lignin content and composition

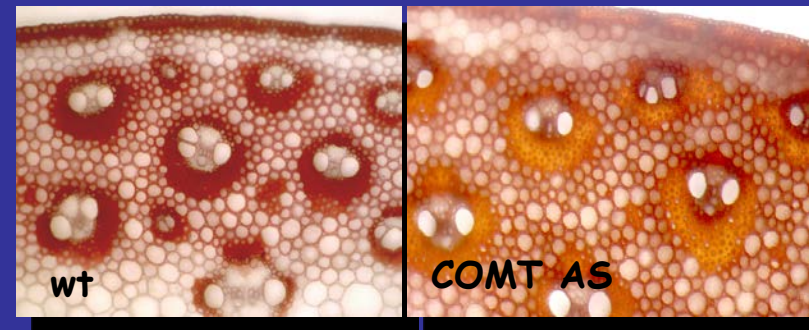
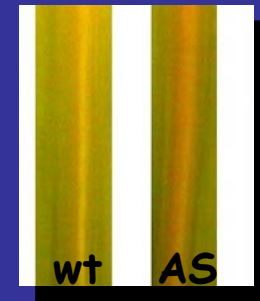
Less lignin (25-30 %)

Qualitative changes:
Less syringyl units

☞ Enhanced digestibility



First demonstrated modification of lignin in maize by genetic engineering



Lignin staining of internodes

COMT-



Wt



COMT-



Wt



Basal internodes at anthesis



Enhanced digestibility in field trials

Gene discovery in model systems and maize

Shuttling back and forth between model and agronomically important species

 **Zinnia genomics**
(*in vitro* secondary wall formation)



Maize



Arabidopsis

Integral part of Cell Wall Database
Transcriptome profiling (development, mutants..)

Mutant characterization



Identification of molecular determinants of forage digestibility

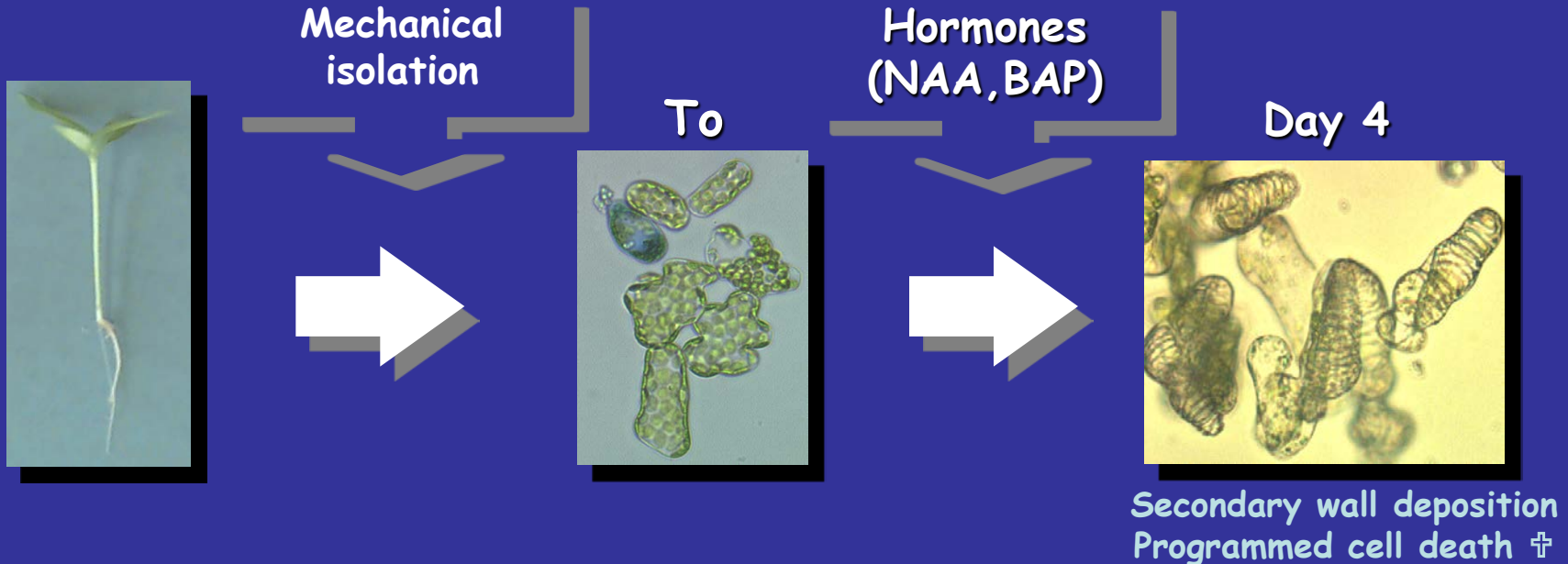
Zinnia elegans in vitro xylogenesis: a search engine for secondary wall gene discovery

ECRIN Alternat'Agro

Valenciennes

11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parcs



Advantages

- ☺ Hormonal control.
- ☺ High efficiency of tracheary element (TE) differentiation (30- 50%).
- ☺ Morphological events are semi-synchronous over time.

Disadvantage

- ☹ No stable transformation

The late xylogenesis library : facts and figures

ECRIN - Alternattech - Europol'Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

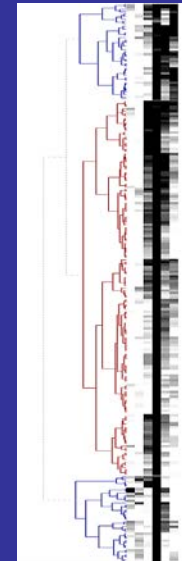
800 cDNA clones obtained

- ◆ *Insert size : 200 - 1300pb*
- ◆ *Large majority contain 5 ' or 3 ' UTRs*



80% novel sequences as compared to other genomic approaches in Zinnia

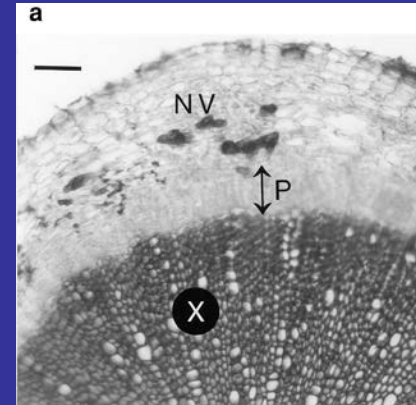
Macroarray experiments indicated 4 major temporal expression clusters and differences in gene expression in response to auxin and cytokinin



Zinnia to Arabidopsis - bridging the gap between two model systems



Zinnia



8 week-old root/hypocotyl section

Arabidopsis

Functional analysis of Zinnia genes

Strategy:

Search for :

- ☞ closest Arabidopsis gene for each Zinnia EST
- ☞ corresponding T-DNA tagged mutants (Génoplante program)

The challenge of phenotyping mutants

ECRIN - Alternattech - Eurocol'Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois



*GUS activity in vascular system
in cotyledons*

● 'Medium throughput' analyses:

- ↗ growth characteristics under different conditions (*in vitro*/growth chamber/greenhouse; *in vitro* light/dark)
- ↗ root morphology *in vitro*
- ↗ microscopy of vascular system of floral stems/cotyledons/leaves
- ↗ β -glucuronidase (GUS) activity
- ↗ enzyme-mediated cell wall degradation in stems (Lusignan)
- ↗ resistance to *Ralstonia*, a vascular bacterial pathogen

● On selected candidates, cell wall-related analyses:

- FTIR (Versailles)
- Hemicelluloses (Nantes)
- Lignins/phenolic compounds (Grignon)

What does the annotation and sequence tell us?

ECRII - Alternatich - Eurocol Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

Mutant # 1 : "Homolog to MtNod21"

Predicted integral membrane protein



'drug metabolite transporter' family (Aramemnon database)

≈30 MtNod21 gene members in the Arabidopsis genome

What does gene expression data tell us?



Zinnia - a redundant sequence in public database



Arabidopsis microarray data -Genevestigator

Highly expressed in stems



IN TREES,

in pine, many xylem-related ESTs, auxin induced

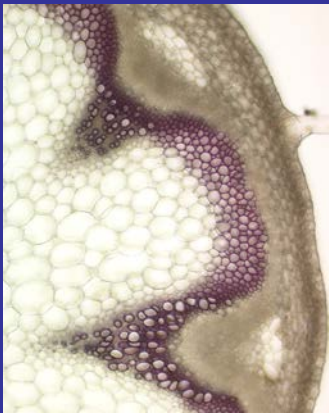
in poplar, very abundant ESTs in fiber cell death library

Macroscopic phenotype of *Atnod21*⁻

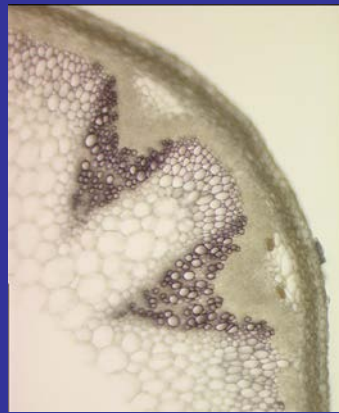
- ☑ Mutant floral stem stunted and very brittle
- ☑ Terminal portion has tendency to lodge



Atnod21⁻ wt

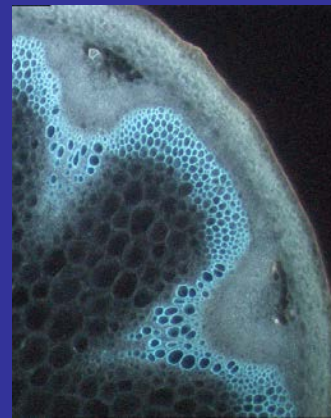


wt

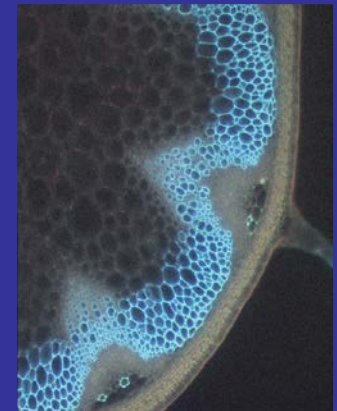


Atnod21⁻

Phloroglucinol



wt

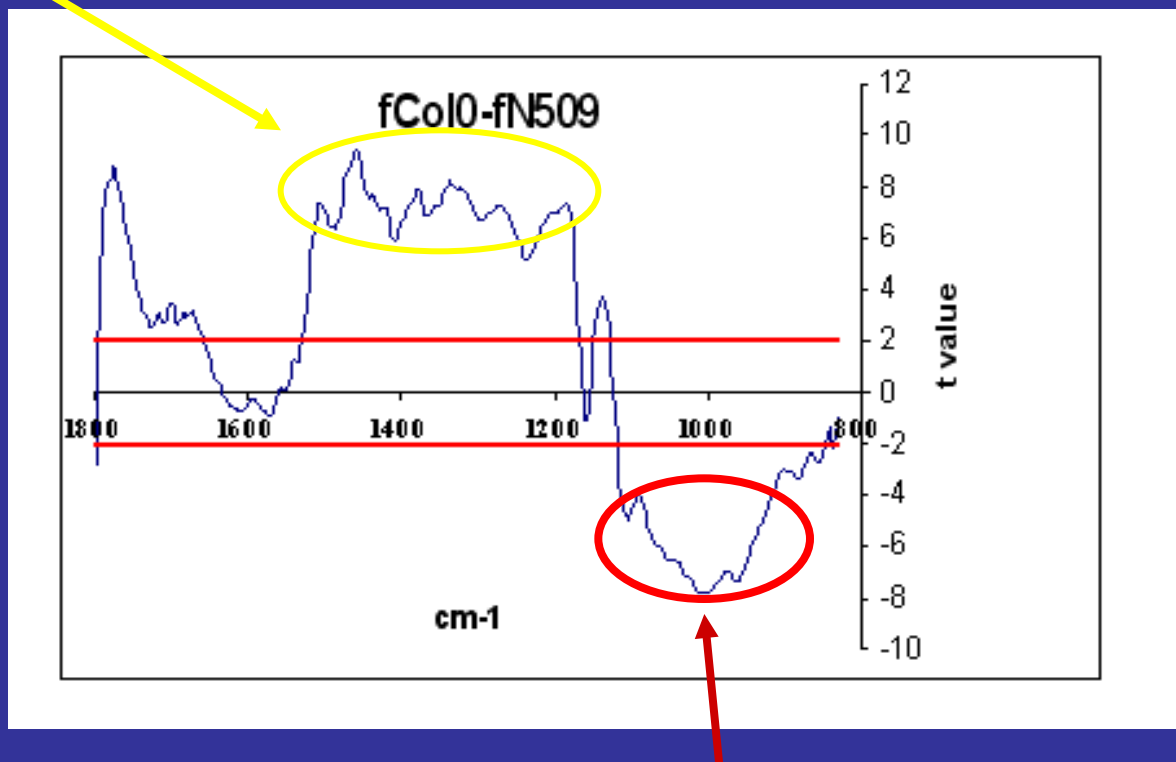


Atnod21⁻

autofluorescence

FT IR spectra of interfascicular fibers in *Atnod21* vs wt

Less lignin in mutant

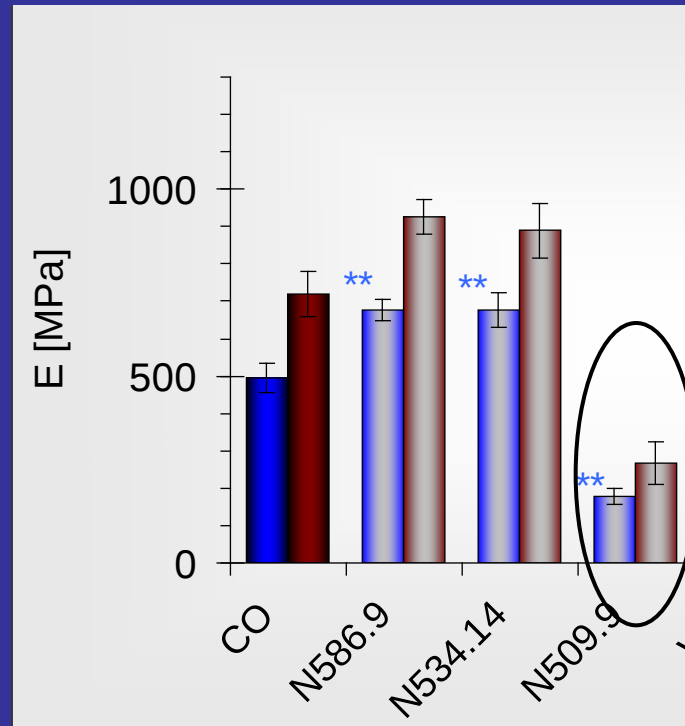


More polysaccharides in mutant

“ fibers of mutant strongly resemble parenchyma cells”

Grégory Mouille, Versailles

Altered mechanical properties in stems of N509.9



Modulus of elasticity

Maize cell wall genomics

Diversity and complex spatial organization of lignified cell types in maize

EURIN - AlternatEch - EuroPop Agro

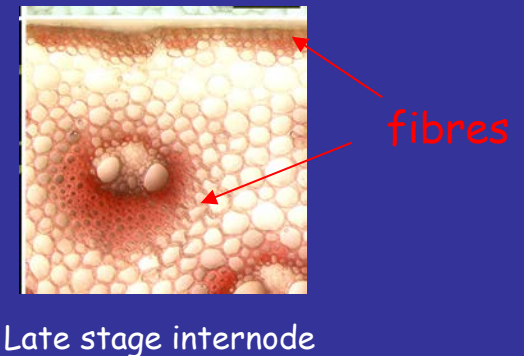
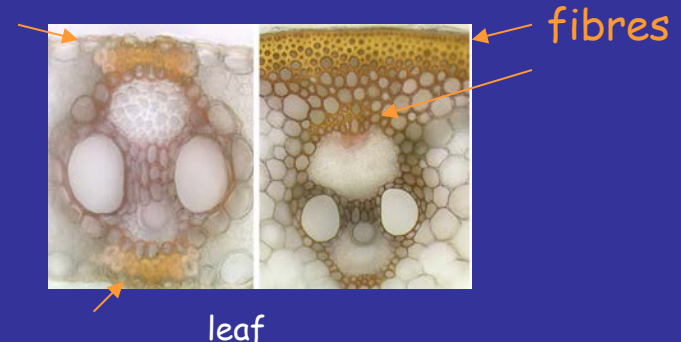
Val de l'Yonne - mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

Lignin composition
(Syringyl/ Guaiacyl)

Histochemistry/Maule staining
(Vascular bundles)

4-5 leaf stage	leaf	.32
	root	2.05
Internode development	young internode	.40
	mid-stage internode	.70
	Late stage internode	1.02



Leaf - G rich fibres,
late stage internode - S rich fibres

Objective: Identify genes underlying these differences



MAIZEWALL a maize cell wall database

[Home Page](#)

[Project](#)

[Gene catalogue](#)

[Expression data](#)

[General information](#)

[Search](#)
(keywords, blast, accession number....)



Maize god 3 Yum kaax- Robert Elliot

**MAIZEWALL : a complete
bioinformatic analysis and
gene expression data
repertory of cell wall
biosynthesis and assembly
in maize**

Coordinators: Deborah Goffner, Magalie Pichon, Yves Barrière

[contact](#)

**Latest update :
May 2, 2006**

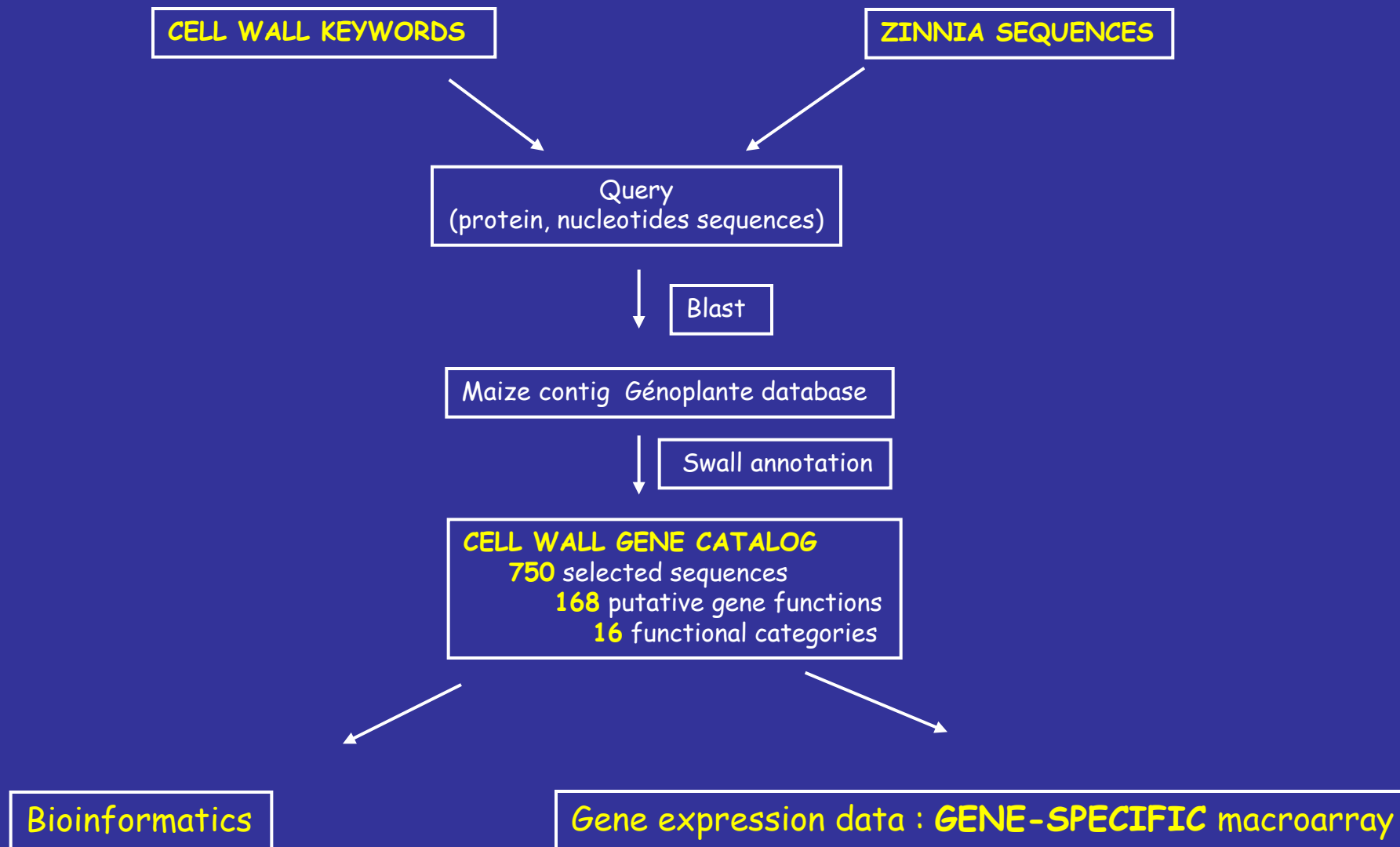
UMR 5546
*Surfaces Cellulaires et Signalisation
chez les Végétaux*

MAIZEWALL database : how was it built and what does it contain?

ECRIN - Alternatich - Europol Agro

Valoflores - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

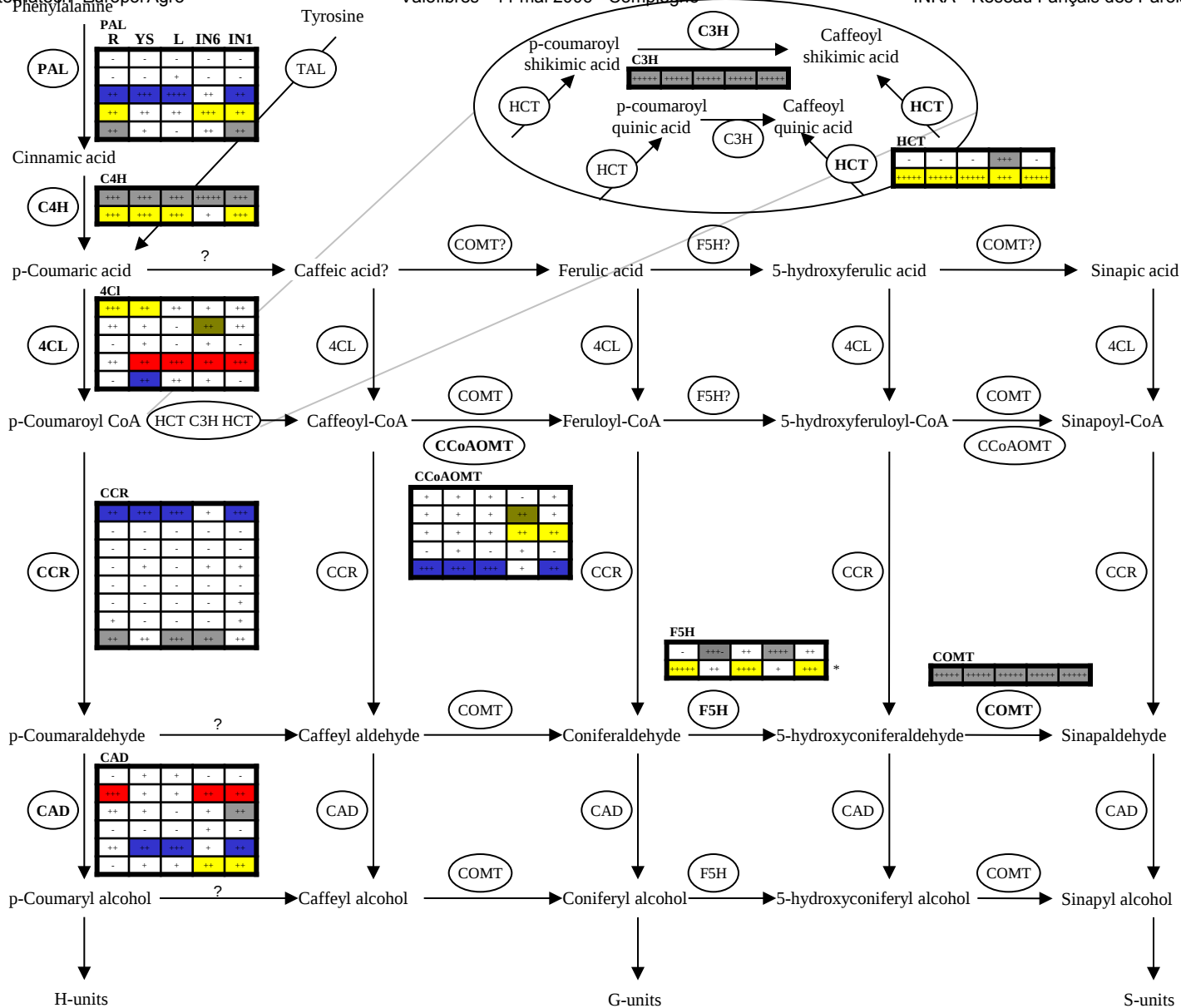


Putative preferred routes of lignin synthesis in maize

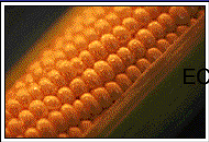
ECORIN - Alternattech- Europol'Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

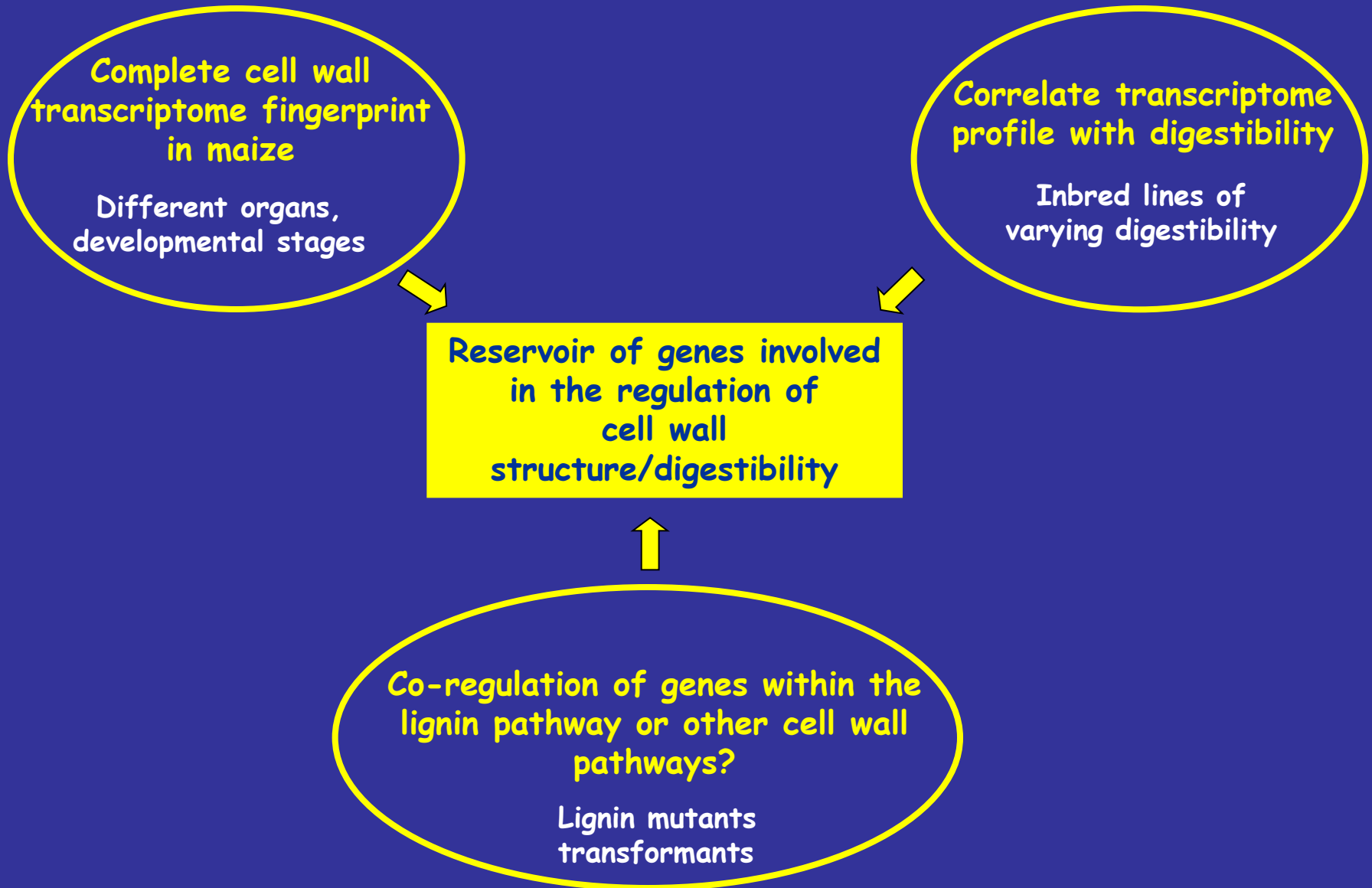
INRA - Réseau Français des Parois



Submitted to Plant Cell



Objectives of the maize cell wall macroarray



Conclusions and Perspectives

- Shuttling back and forth between species is a viable approach for identifying genes in cell wall formation
- It is now possible to produce tailor-made biomass from a wide range of species with varying physical and chemical properties suitable for different applications
- Identifying subtle phenotypes/wall properties (perhaps the most interesting) requires sophisticated technologies (spectroscopy, metabolic profiling....)
- Efficient communication between upstream raw material producers and downstream end-users is needed in order to fully exploit the potential of bio-based products for the future



Barbier Odile



Guillaumie Sabine



Digonnet Catherine



Freydier Amandine



Ranocha Philippe



Goffner Deborah



Pesquet Edouard



Pichon Magalie

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

And special thanks to:

J. Piquemal
S. Chamayou

Y. Barrière, INRA Lusignan
M. Beckert, INRA Cl-Ferrand

L. Jouanin, INRA Versailles

C. Lapierre, INA-PG

J.P. Martinant -Biogemma

CNRS

INRA

Génoplane programme

Biotechnologie et connaissance des plantes

- 9h20 Introduction générale sur les biotechnologies végétales**
Bernard Kurek, *INRA Reims*
- 9h30 Apport des biotechnologies sur la compréhension des mécanismes de la formation du bois** - Deborah Goffner, *CNRS Toulouse*
- 10h00 Biotechnologie et maturation des fibres de lin**
Simon Hawkins, *Université de Lille*
- 10h30 Biotechnologie et qualité du bois à finalité papetière et matériau**
Gilles Pilate, *INRA Orléans*
- 11h00 *Pause***
- 11h30 Discussion débat**
- 12h30 *Déjeuner***

Applications

- 14h00 Apport des biotechnologies enzymatiques en papeterie**
Michel Petit-Conil, *Centre Technique du Papier*
- 14h30 Biotechnologies appliquées au textile**
Philippe Mesnage, *IFTH Lille*
- 15h00 Biotechnologie et valorisation de la plante entière**
Michaël O'Donohue, *INRA Reims*
- 15h30 Discussion débat**
- 16h30 Conclusion**
Bernard Kurek, *INRA Reims*

BIOTECHNOLOGIES ET MATURATION DES FIBRES DE LIN

Simon Hawkins

Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés

UMR USTL-INRA N°1281

Université des Sciences et Technologies de Lille

Le Lin (*Linum usitatissimum*)

ECRIN - AlternatEch - EuroPopl'Agro

Val de fibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois



Principale plante à **fibres** cultivée en France : (76 500 ha en 2003)

Balance commerciale excédentaire : 150 millions € en 2002

La France : 1^{er} producteur mondial en terme de qualité

3^{ème} producteur mondial en terme de volume

Le Lin (*Linum usitatissimum*)

ECRIN - AlternatEch - EuroPopulAgro

Val de fibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois



Fibres longues → Textiles, « agro-matériaux »

Fibres courtes, anas → « Agro-matériaux »

Huile → Lipochimie, santé

Biotechnologies et maturation des fibres de lin

« Biotechnologies » → amélioration de la « qualité » de fibres
(et/ou de la plante)

« Qualité » = ?

« Qualité » = l'ensemble des propriétés physico-chimiques
nécessaires pour une utilisation donnée



Amélioration de qualité

- Amélioration des propriétés physico-chimiques.
- Sélection de variétés nouvelles / améliorées de lin.

Biotechnologies et maturation des fibres de lin

« Biotechnologies » → amélioration de la « qualité » de fibres
(et/ou de la plante)

« Qualité » = ?

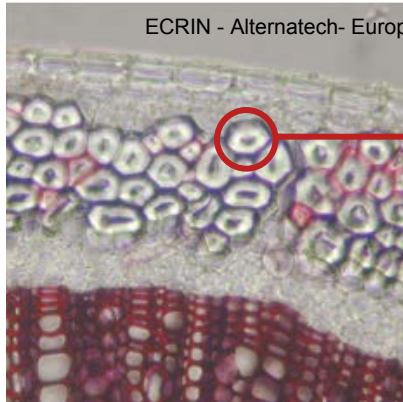
« Qualité » = l'ensemble des propriétés physico-chimiques
nécessaires pour une utilisation donnée



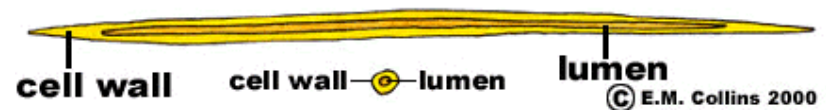
Amélioration de qualité

- Amélioration des propriétés physico-chimiques.
- Sélection de variétés nouvelles / améliorées de lin.

Les propriétés physico-chimiques ?



Fibre
élémentaire



Une seule cellule
végétale

La paroi

Anatomy of the Plant Cell

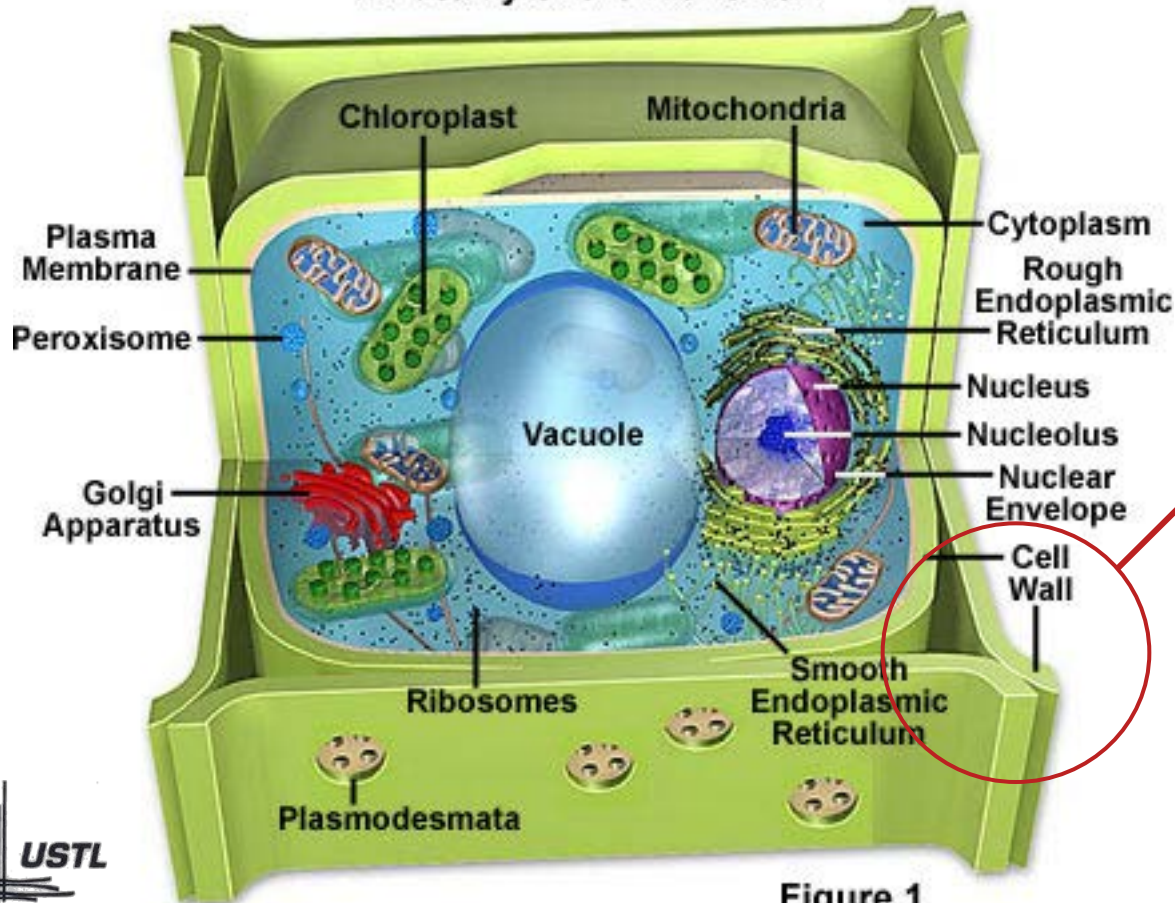
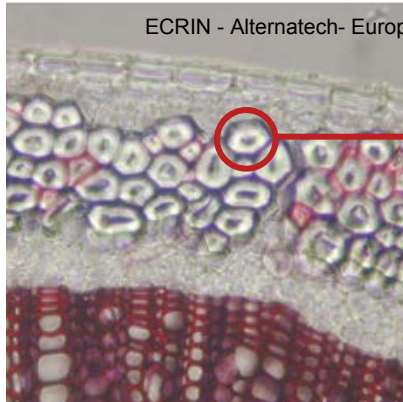
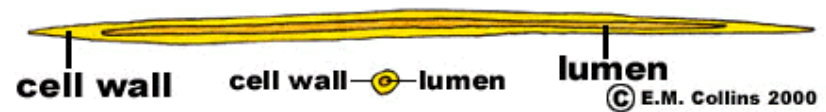


Figure 1



Fibre
élémentaire



Anatomy of the Plant Cell

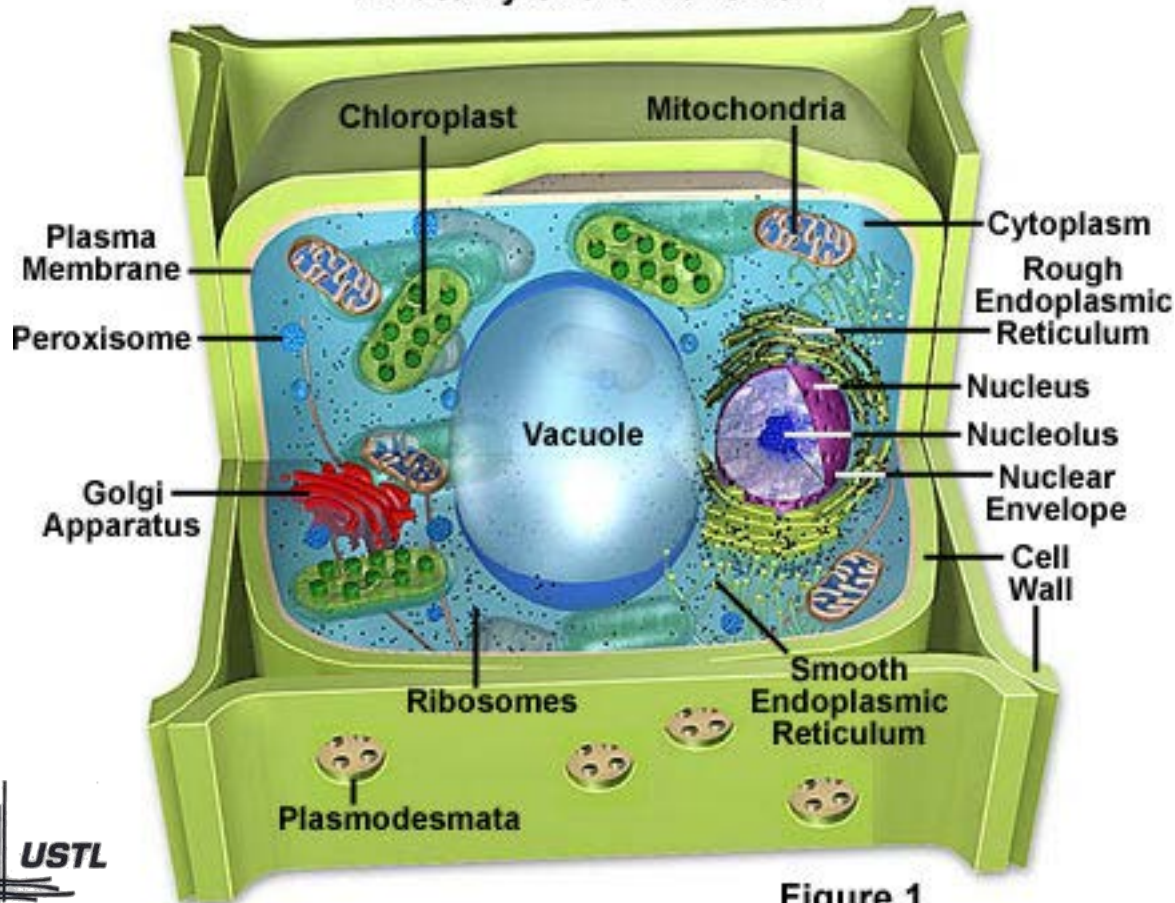


Figure 1

Les propriétés
physico-chimiques
(qualité)
des fibres
dépendent
la structure
de la PAROI

Biotechnologies et maturation des fibres de lin

« Qualité » = l'ensemble des propriétés physico-chimiques

« Propriétés physico-chimiques » dépendent la structure /
architecture 3-D de la paroi

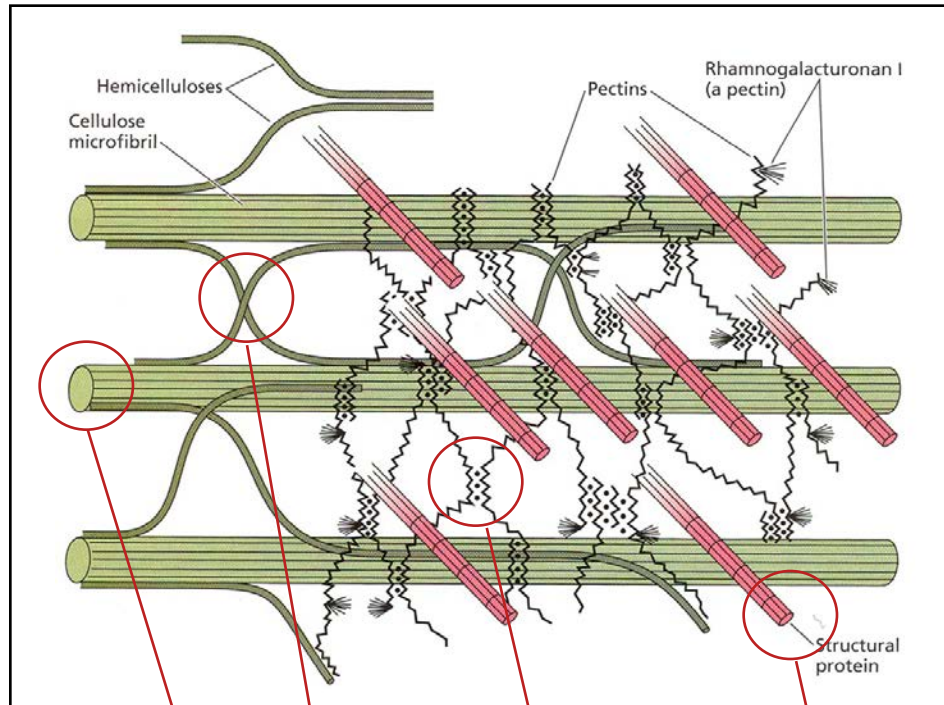


Amélioration de qualité

Des connaissances approfondies de la formation et du
développement de la paroi des fibres de lin

(Informations transférables aux autres espèces fibres ?)

Des connaissances approfondies de la formation et du développement de la paroi des fibres de lin



Cellulose

Hémicelluloses

Pectines

Protéines

1) Contribution de chaque polymère à l'architecture 3-D ?

2) Régulation moléculaire (gènes) de la mise en place et du développement ?

3) Effet de l'environnement / pratiques culturelles ?

1) Contribution de chaque polymère à l'architecture 3-D ?

A) Modification de l'architecture pariétale (USTL, UMR SADV)

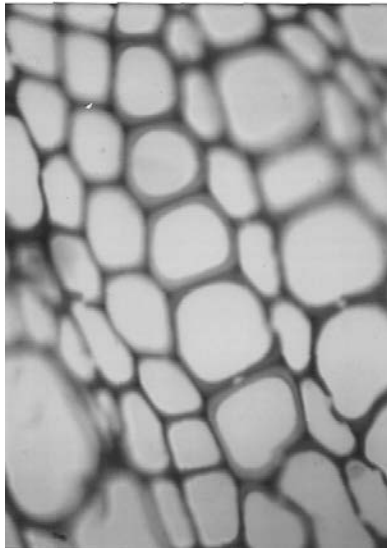
- CCoAOMT, facteurs MYB (lignine)
- XTHs (hémicelluloses)
- β -xylosidase (hémicelluloses, pectines)

B) Analyses des parois modifiées (INRA Reims, UMR FARE)

- Caractérisation chimique (teneur et composition)
- Distribution de polymères *in situ*
- Propriétés physico-chimiques

1) Contribution de chaque polymère à l'architecture 3-D ?

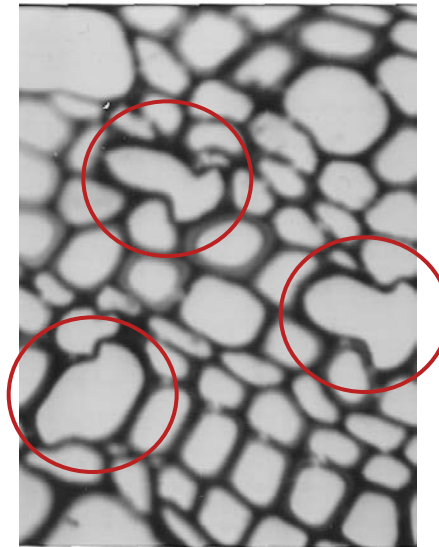
Approches de génomique fonctionnelle (sur- / sous-expression de « gènes parois ») pour perturber l'architecture 3-D



sauvage



Modifications
« lignine »



CCoAOMT antisens

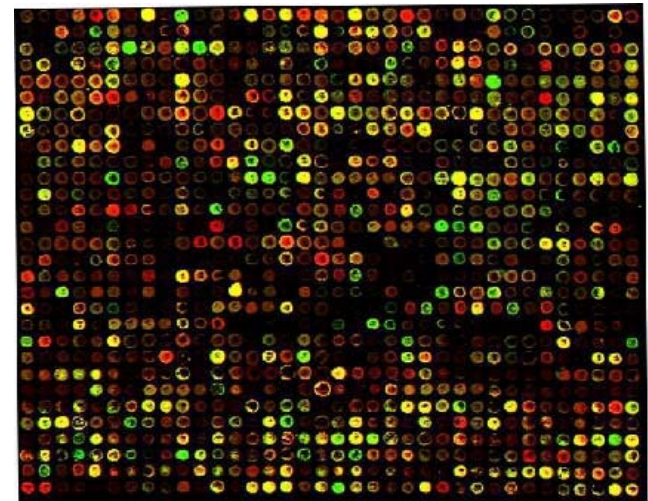
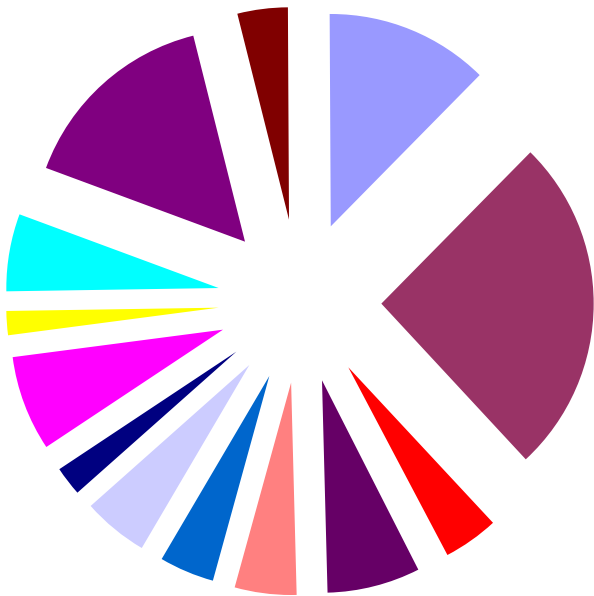
Modifications quantité/qualité de lignine → modifications structurales (épaisseur paroi, rigidité, taille de cellules...)

2) Régulation moléculaire (gènes) de la mise en place et du développement ?

Approches de génomique globale (identification de « gènes parois » :

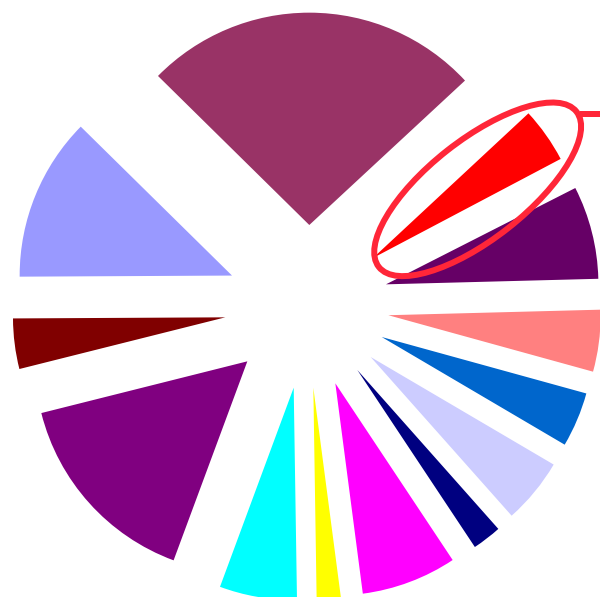
ESTs (3 500) des tissus externes
(riches en fibres) de tiges*

Puces à ADN Lin
(Projet GENOLIN 2006)



* Day et al. (2005a)
Plant Biol.

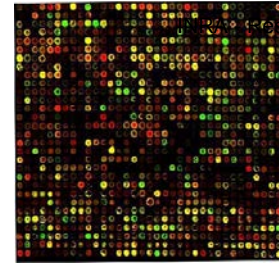
Classification Fonctionnelle de 927 ESTs :



ESTs « paroi » (4,4 %)

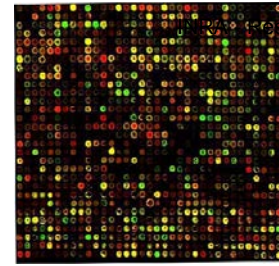
- 15 x β -xylosidase (1 gène)
- 8 x peroxidase
- 4 x β -galactosidase
- 3 x cellulose synthase (2 gènes)
- 3 x xyloglucan endotransglucosylase / hydrolase (XTH) (3 gènes)
- 2 x glucan synthase
- 2 x cell wall proteins
- 1 x α -expansin
- 1 x pectin acetylerase
- 2 x « lignification » enzymes

Puces à ADN Lin « GENOLIN » (Projet Génoplante 2006, projet Pôle IAR)



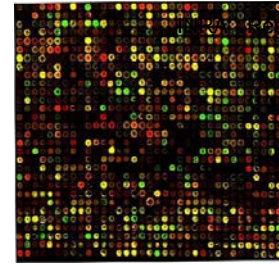
- Equipes universitaires (UMRs INRA, CNRS) de:
Amiens, Compiègne et Lille
- INRA de Reims
- LINEA, Laboulet semences, ITL
- Biogemma

Puces à ADN Lin « GENOLIN » (Projet Génoplante 2006, projet Pôle IAR)



- production de 3 banques (graines, tiges, autres tissus) d'ADNc
- génération d'environ 10 000 ESTs par banque
- production d'un jeu « Unigen » et synthèse de 15 000 oligos
- production de puces oligos lin
- validations initiales

Puces à ADN Lin « GENOLIN » (Projet Génoplante 2006, projet Pôle IAR)



- identification de gènes associés à:
- la formation / remplissage de **graines** (huile, protéines...)
- la formation / maturation de **fibres**
- la croissance / développement / résistance aux stress / maladies

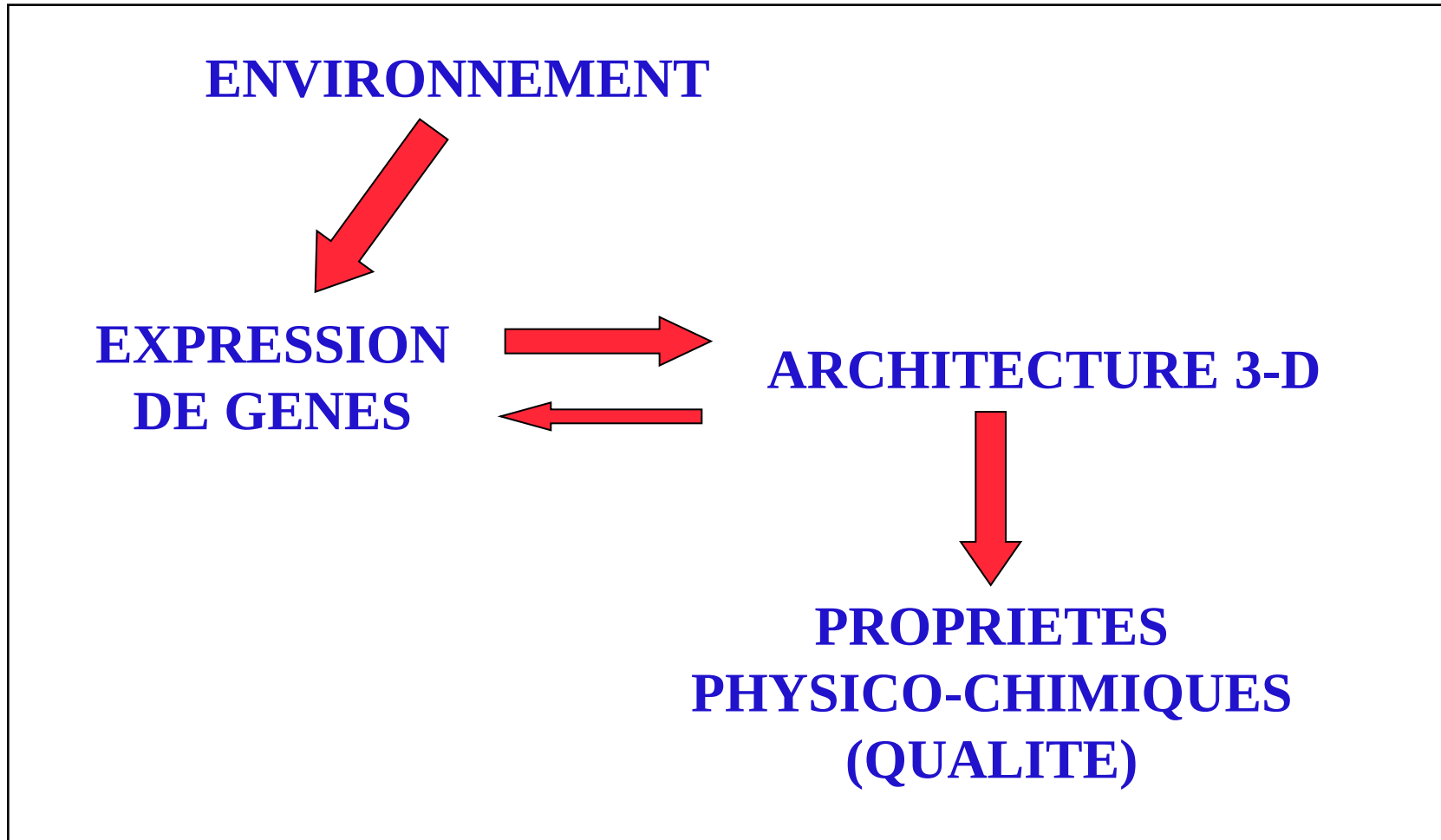


Amélioration / Création variétale

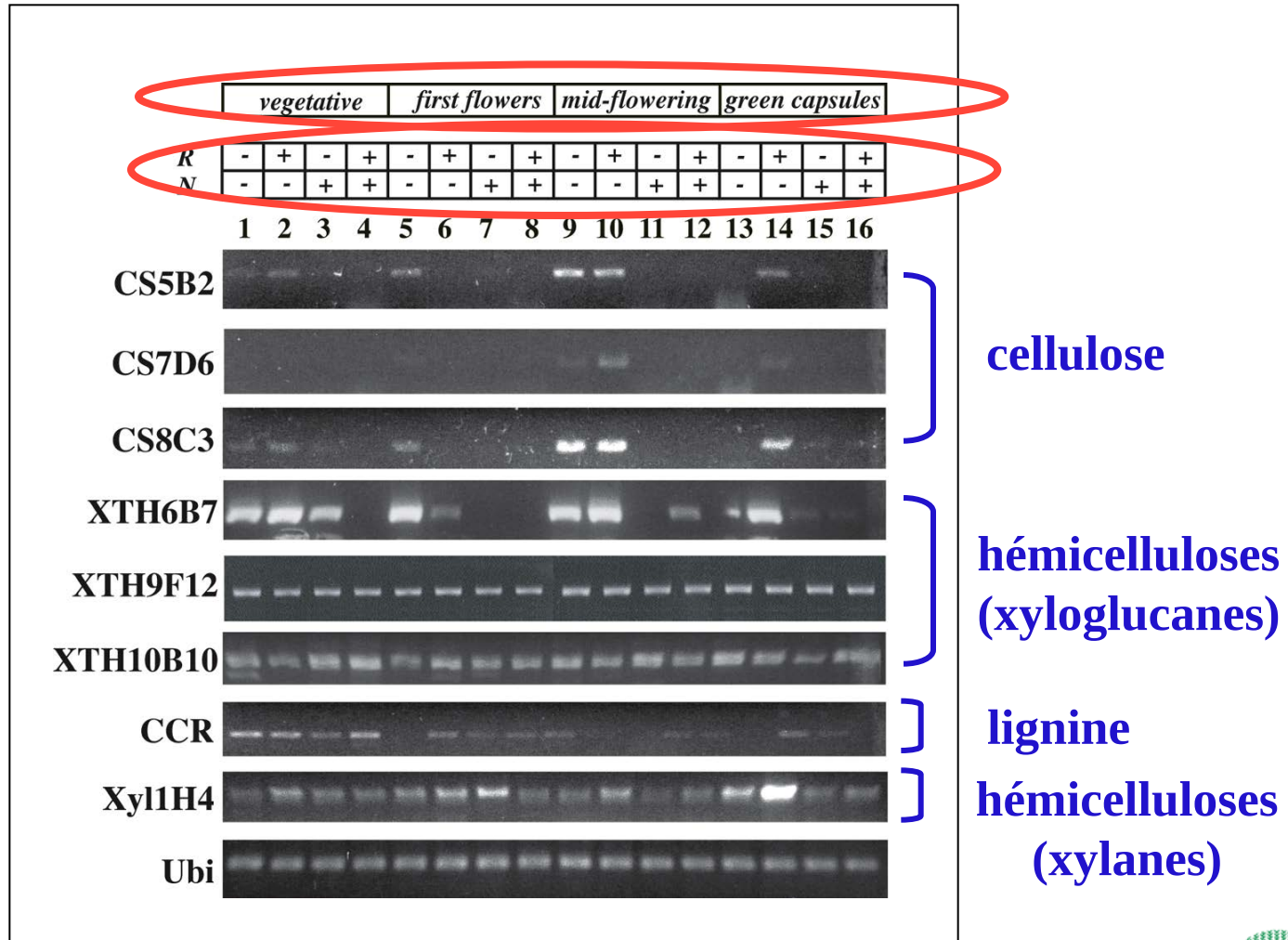
3) Effet de l'environnement / pratiques culturelles ?

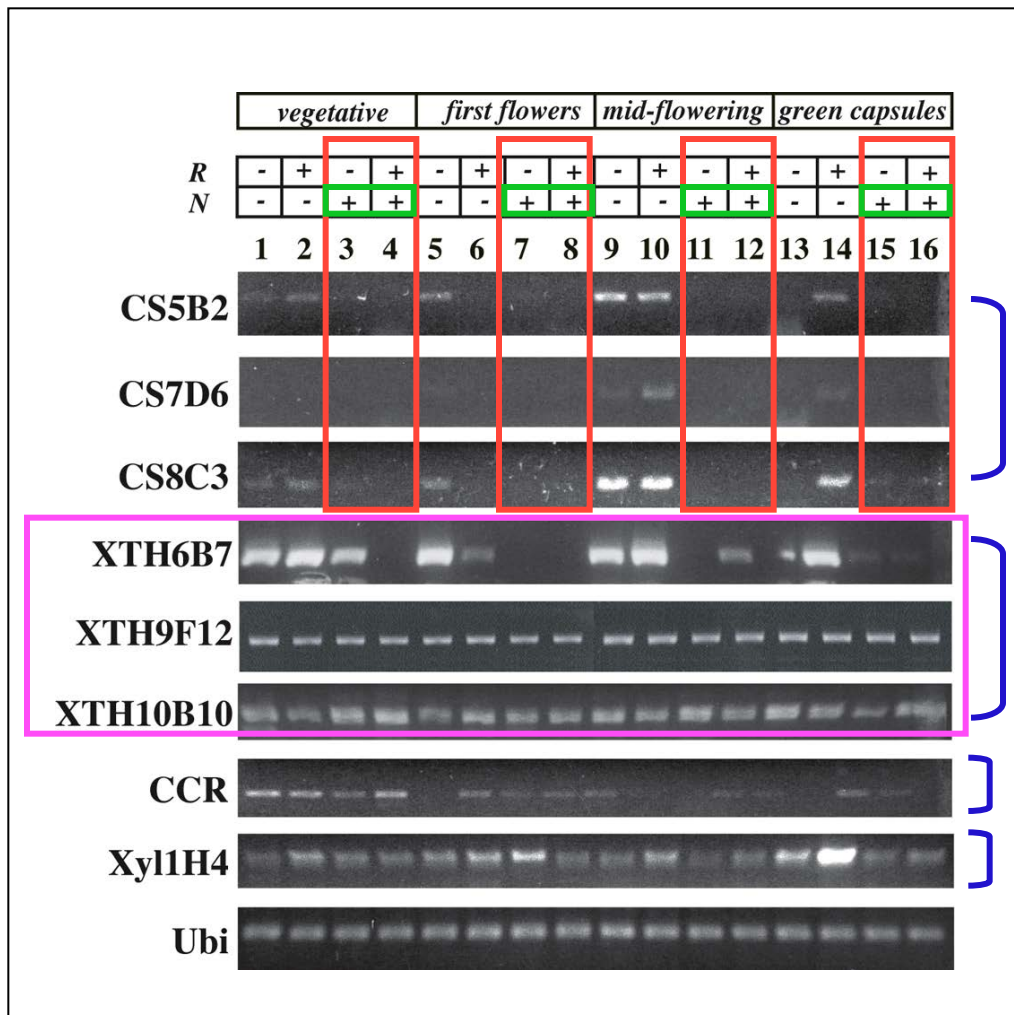


3) Effet de l'environnement / pratiques culturelles ?



Analyses (RT-PCR semi-quantitative) de l'expression de « gènes pariétaux » en fonction de conditions de culture /stade de développement





cellulose

hémicelluloses
(xyloglucanes)

lignine

hémicelluloses
(xylanes)

Adaptation et Transformations VANA de fibres de lin :

- une approche intégrée

Adaptation

Interactions
Génétique / Milieu

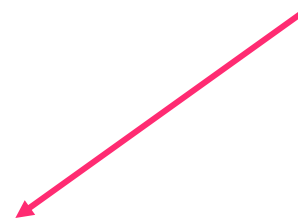


Transformations

Production Fibres /
Matériaux



Environnement
Impacts de Co-
produits /Déchets /
biodégradabilité



Possibilité d'élaborer de cahiers de charge « Qualité » selon l'utilisation / produit ?

Adaptation

Interactions
Génétique / Milieu

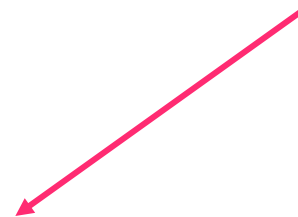


Transformations

Production Fibres /
Matériaux



Environnement
Impacts de Co-
produits /Déchets /
biodégradabilité



Projets « Biotechnologies: fibres de lin »

2002-06: Projets CPER (« Métabolisme pariétale »)

2006: « GENOLIN »: projet Pôle IAR / projet Génoplante

2006: Projet ANR OGM

2006: « Lin Industriel » projet Pôle IAR

2007 - 13: Projets CPER (Déterminants de la qualité)

2007 :Nouvelle action COST (N°868 Biotechnical functionalisation of renewable polymeric materials)

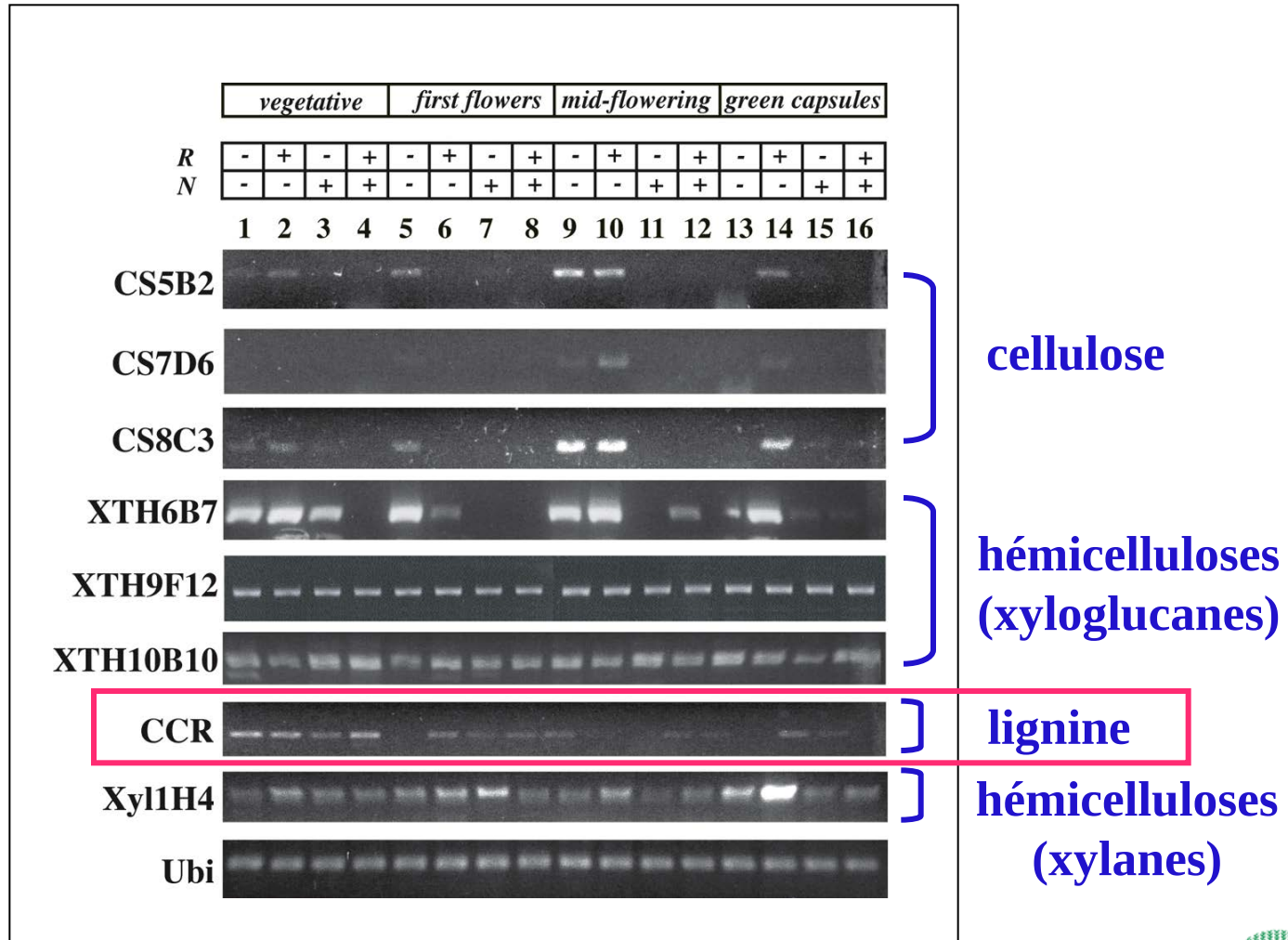
2007 + Projet européen (qualité de fibres) ?

ECRIN - Alternattech- Europol'Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

Analyses (RT-PCR semi-quantitative) de l'expression de « gènes pariétaux » en fonction de conditions de culture /stade de développement



LA TRANSFORMATION AGRO-INDUSTRIELLE



Arrachage

Rouissage

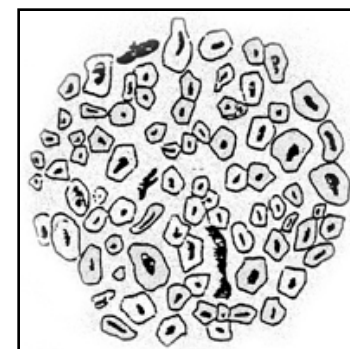
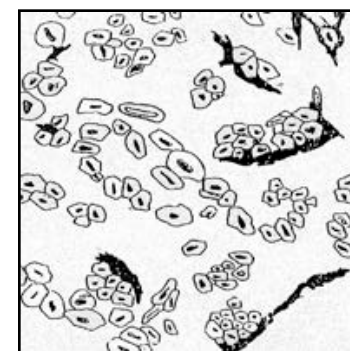
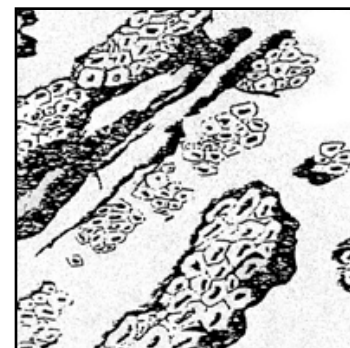
Séparation bois - fibres

Teillage

Extraction des faisceaux fibreux

Peignage

Filage



Tige

$\varnothing \sim 2 - 3 \text{ mm}$

Amas

de faisceaux fibreux

~ 1 faisceau fibreux

$\varnothing \sim 50 - 100 \mu\text{m}$

~ 1 fibre élémentaire

$\varnothing \sim 10 - 20 \mu\text{m}$



LA TRANSFORMATION AGRO-INDUSTRIELLE

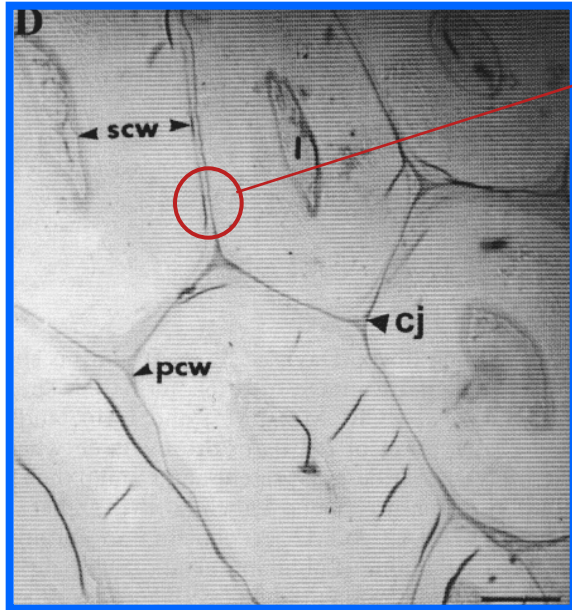
La **QUALITE** du fil (textile) dépend:

- Les propriétés physico-chimiques de la paroi de la fibre
- La **FINESSE** du fil

La **FINESSE** du fil dépend la **séparation** des fibres élémentaires

La **SEPARATION** des fibres élémentaires dépend la **cohésion** intercellulaire

La **COHESION** intercellulaire dépend la **composition chimique**
de la **lamelle moyenne** (et la paroi primaire)



La lamelle moyenne

Cellules sans paroi II = pectines

Cellules avec paroi II lignifiée
= pectines + lignine

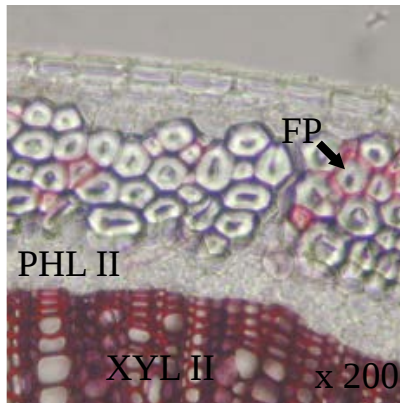
Cellules avec paroi II faiblement lignifiée
= pectines + « composés phénoliques »

Fibres de lin*

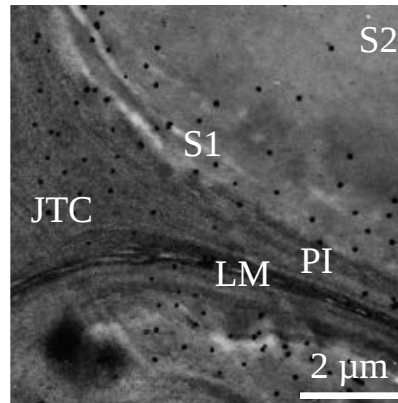
Leur nature exacte ?

Thèse Arnaud Day (2004)

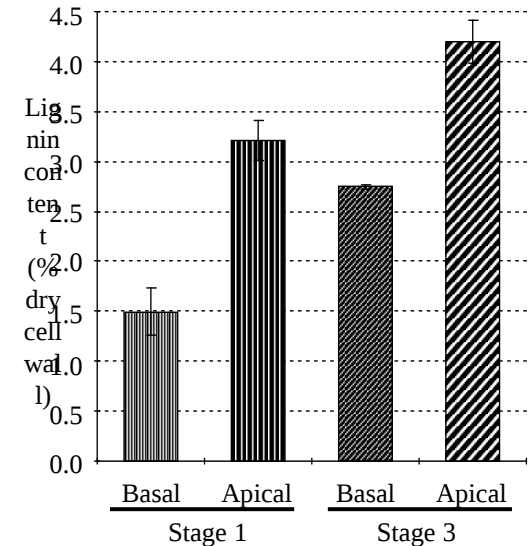
Histochimie



Immunocytochimie



Analyses chimiques



Lignine présente en faibles quantités

Lignine riche en unités G (rapport S/G < 0,4)

Lignine condensée (faibles quantités de produits de dégradation)

Lignine riche en unités H (≤ 25 % unités monomériques)

Confirmation de la présence de lignine

- ➔ Etudes moléculaires de la régulation de la lignification dans les fibres
- ➔ Amélioration de la qualité de fibres ?
- ➔ Etudes de la lignification du bois (valorisation de co-produits ?)

Biotechnologie et connaissance des plantes

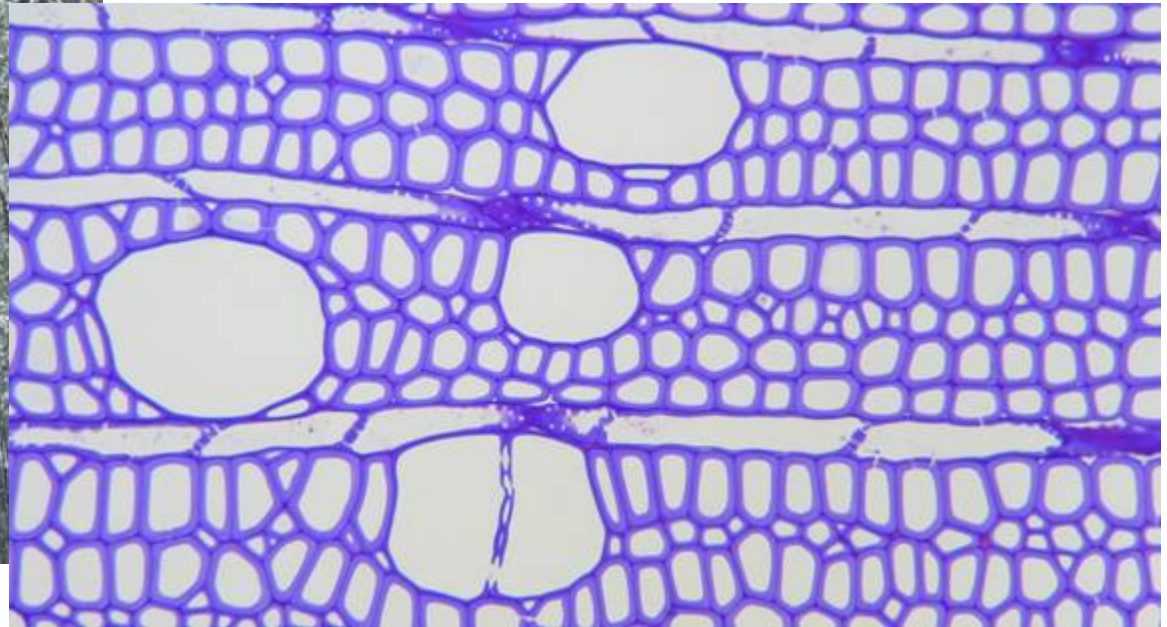
- 9h20** **Introduction générale sur les biotechnologies végétales**
Bernard Kurek, *INRA Reims*
- 9h30** **Apport des biotechnologies sur la compréhension des mécanismes de la formation du bois** - Deborah Goffner, *CNRS Toulouse*
- 10h00** **Biotechnologie et maturation des fibres de lin**
Simon Hawkins, *Université de Lille*
- 10h30** **Biotechnologie et qualité du bois à finalité papetière et matériau**
Gilles Pilate, *INRA Orléans*
- 11h00** ***Pause***
- 11h30** **Discussion débat**
- 12h30** ***Déjeuner***

Applications

- 14h00** **Apport des biotechnologies enzymatiques en papeterie**
Michel Petit-Conil, *Centre Technique du Papier*
- 14h30** **Biotechnologies appliquées au textile**
Philippe Mesnage, *IFTH Lille*
- 15h00** **Biotechnologie et valorisation de la plante entière**
Michaël O'Donohue, *INRA Reims*
- 15h30** **Discussion débat**
- 16h30** **Conclusion**
Bernard Kurek, *INRA Reims*

Université de Technologie de Compiègne
Compiègne, Jeudi 11 Mai, 2006

Biotechnologies et qualité du bois
à finalité papetière et biomatériaux

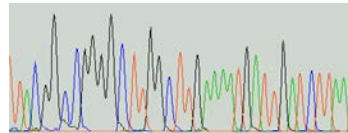


Equipe Formation des Parois des Cellules lignifiées

Unité Amélioration Génétique & Physiologie Forestières - Centre INRA-Orléans

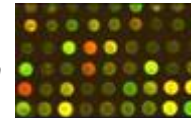
Quels sont les déterminants moléculaires des propriétés du bois ?

Génomique fonctionnelle de la formation du bois

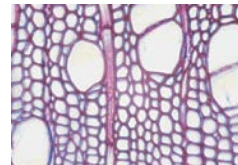


Identification

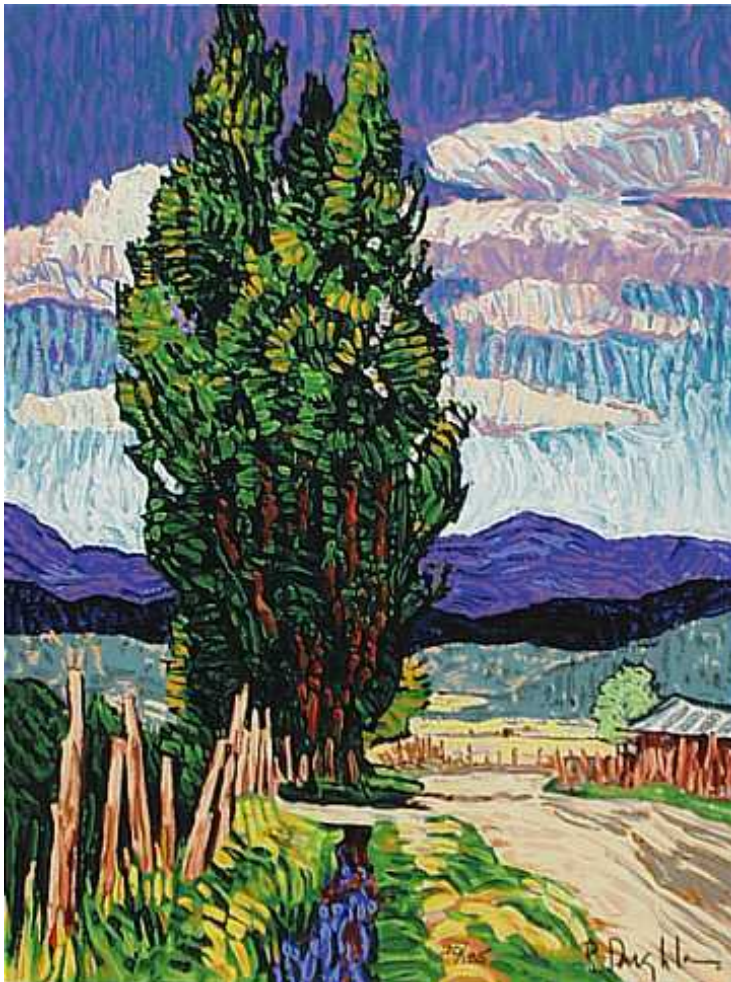
Expression



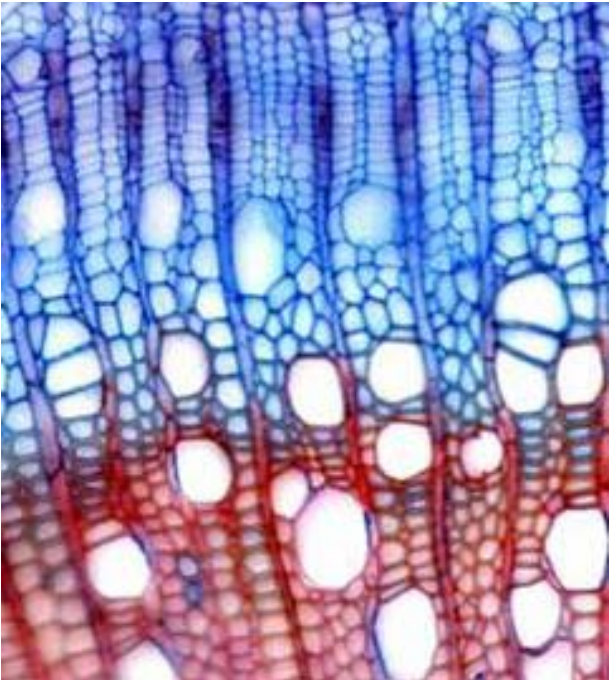
Localisation



Fonction



La formation du bois : un processus complexe

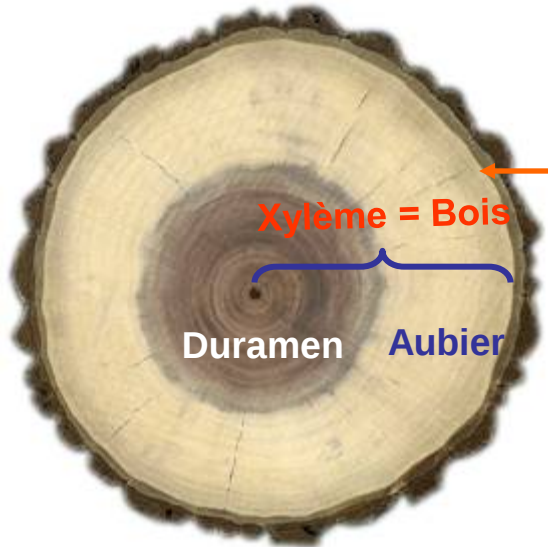


Zone cambiale

Xylème en voie de différenciation

Xylème lignifié

Coupe transversale de tige de peuplier
coloration safranine / bleu astra



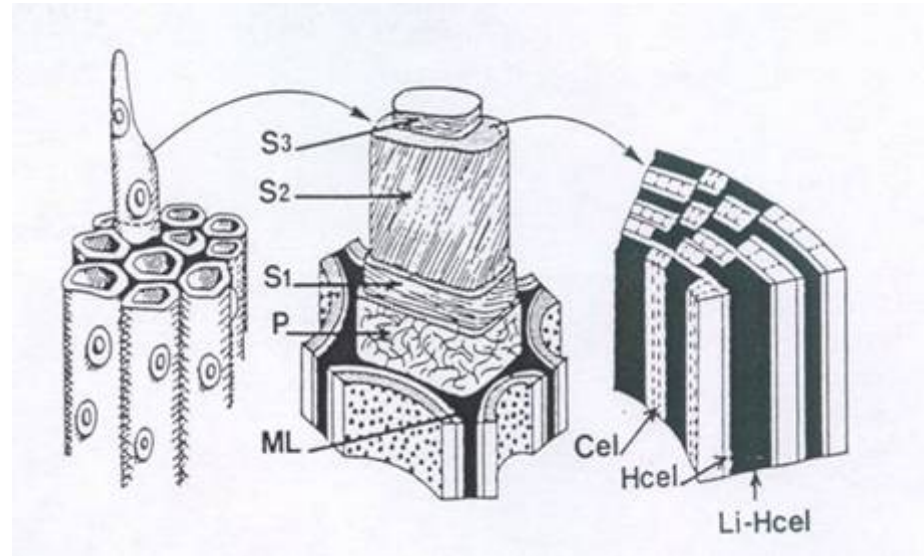
Cambium

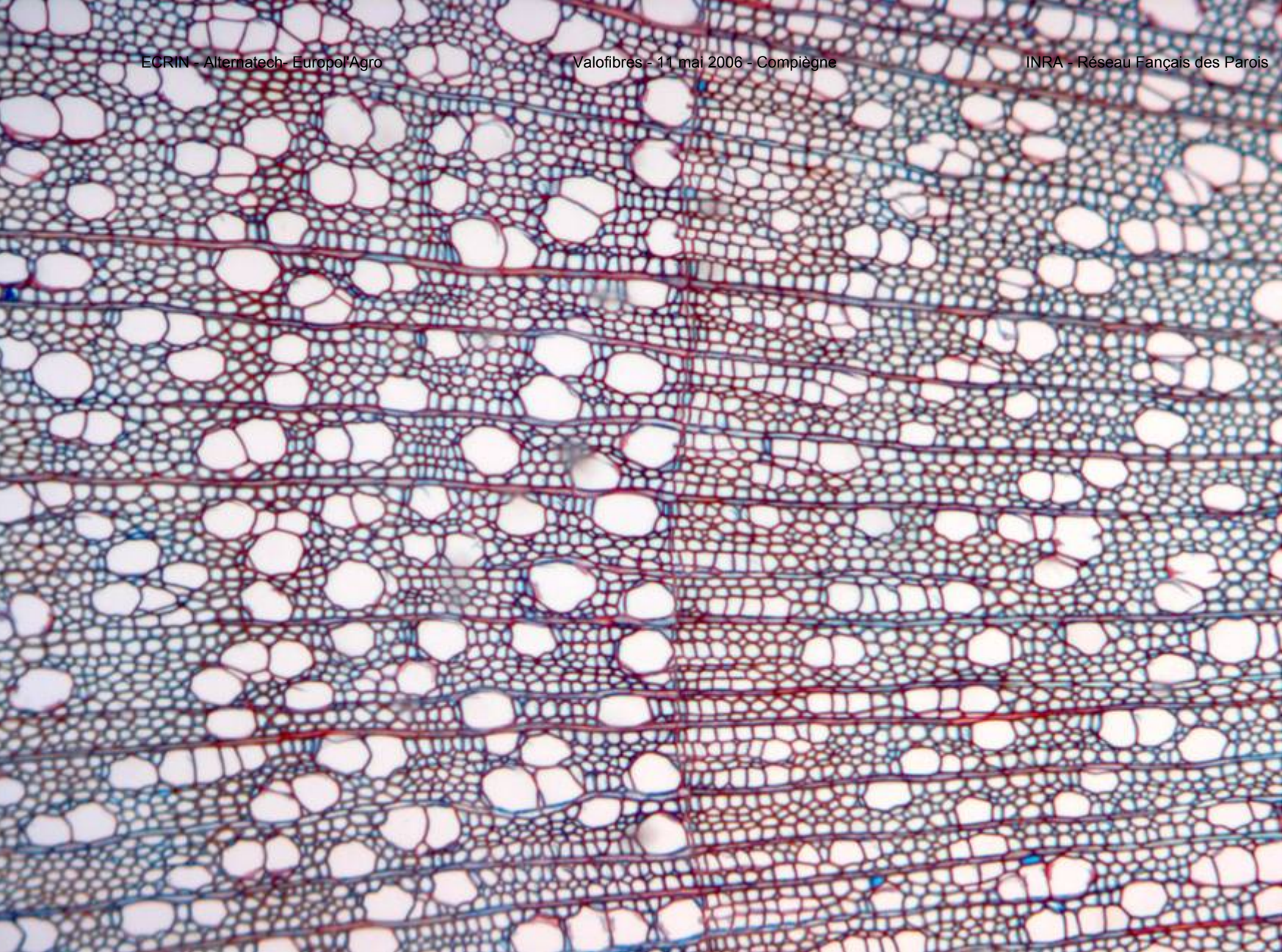
Xylème = Bois

Duramen

Aubier

C'est pendant ces étapes de différenciation que la plupart des propriétés du bois sont déterminées





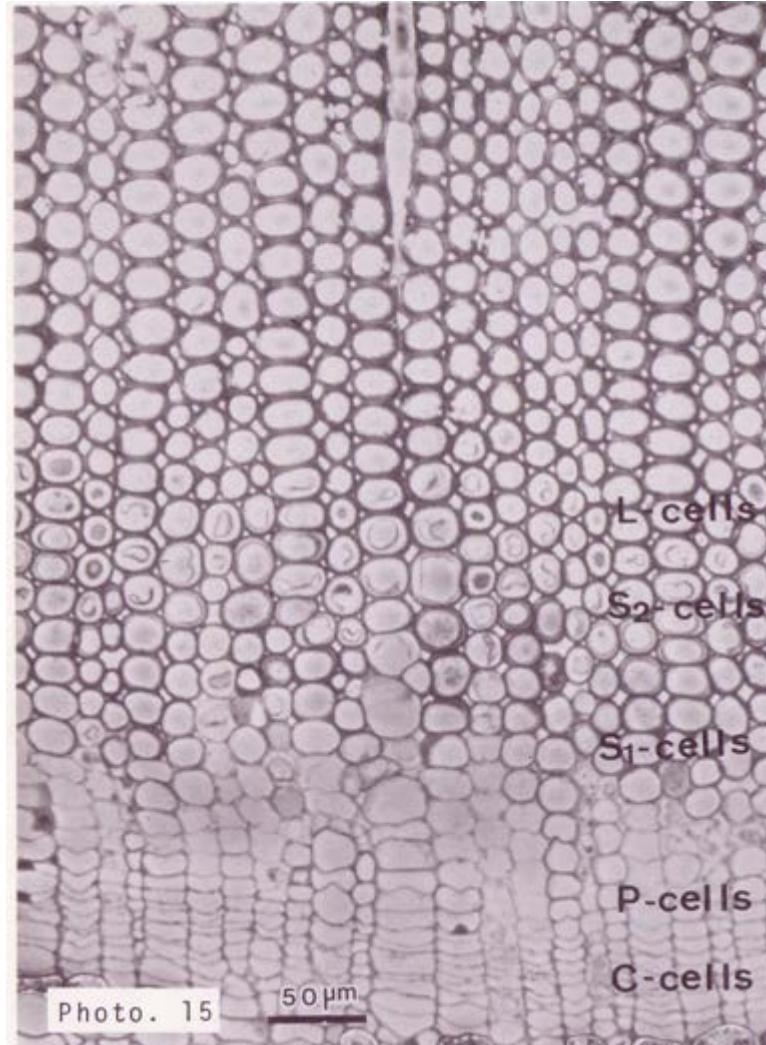
Variations résultant des conditions environnementales : différences entre bois de printemps et bois d'été



Variations résultant des conditions environnementales : effet d'un léger stress hydrique sur la formation du bois

Diminution de la surface en fibres, augmentation du nombre de vaisseau et diminution de leur taille

Chez les Conifères, le bois est homoxylé car constitué en majeure partie de fibres trachéides



Trachéides : double fonction de conduction et de soutien

Cellules cambiales et trachéides de bois de compression en différenciation
 contraste de phase, (Fujita, 1981)

Peupliers transgéniques à teneurs élevées en gibbérellines (Moritz et al., 2001)

Effets multiples des gibbérellines sur la croissance et le développement

Transformation avec un gène de biosynthèse des gibbérellines (GA20 oxydase)

Les peupliers transgéniques présentent :

- une **augmentation de la hauteur et du diamètre** des tiges
- une augmentation de la production de biomasse
- une **augmentation de la longueur des fibres**

Peupliers transgéniques surexprimant la glutamine synthetase (Jing et al., 2004)

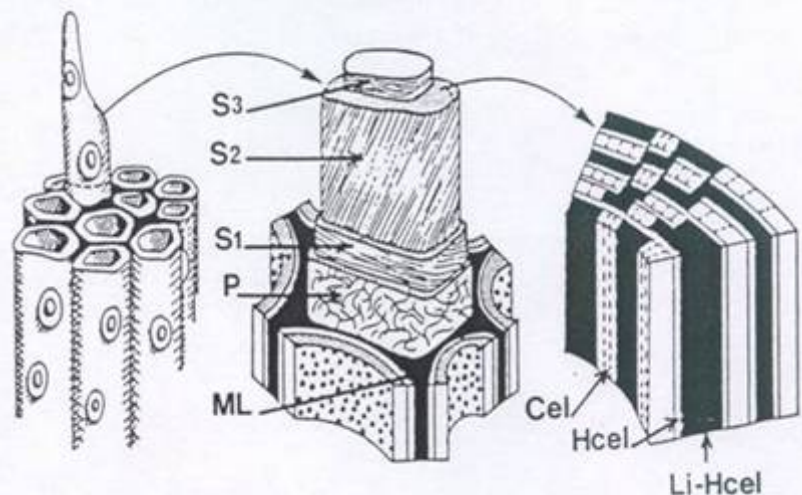
Evaluation en champ pendant 3 ans

Transformation avec un gène de biosynthèse des gibbérellines (GA20 oxydase)

Les peupliers transgéniques présentent :

- **une augmentation de 20 à 40% de la hauteur et du diamètre** du tronc
- pas de différence pour la composition en lignines et en cellulose
- **augmentation des réserves d'azote** dans la tige

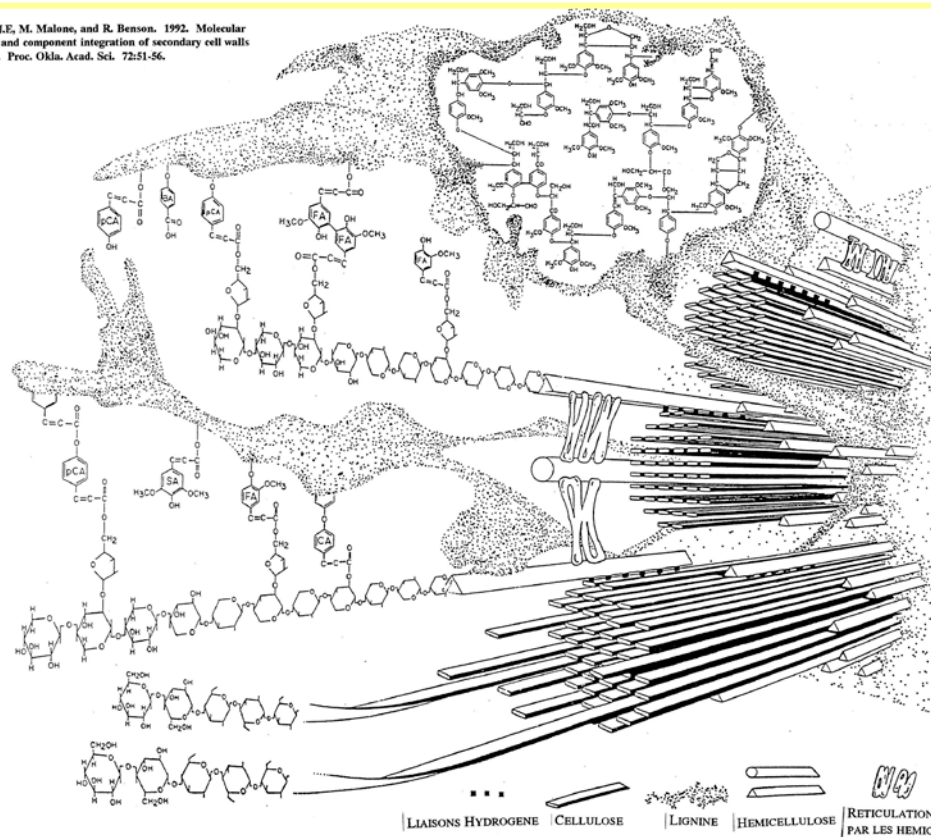
La formation du bois : un processus complexe

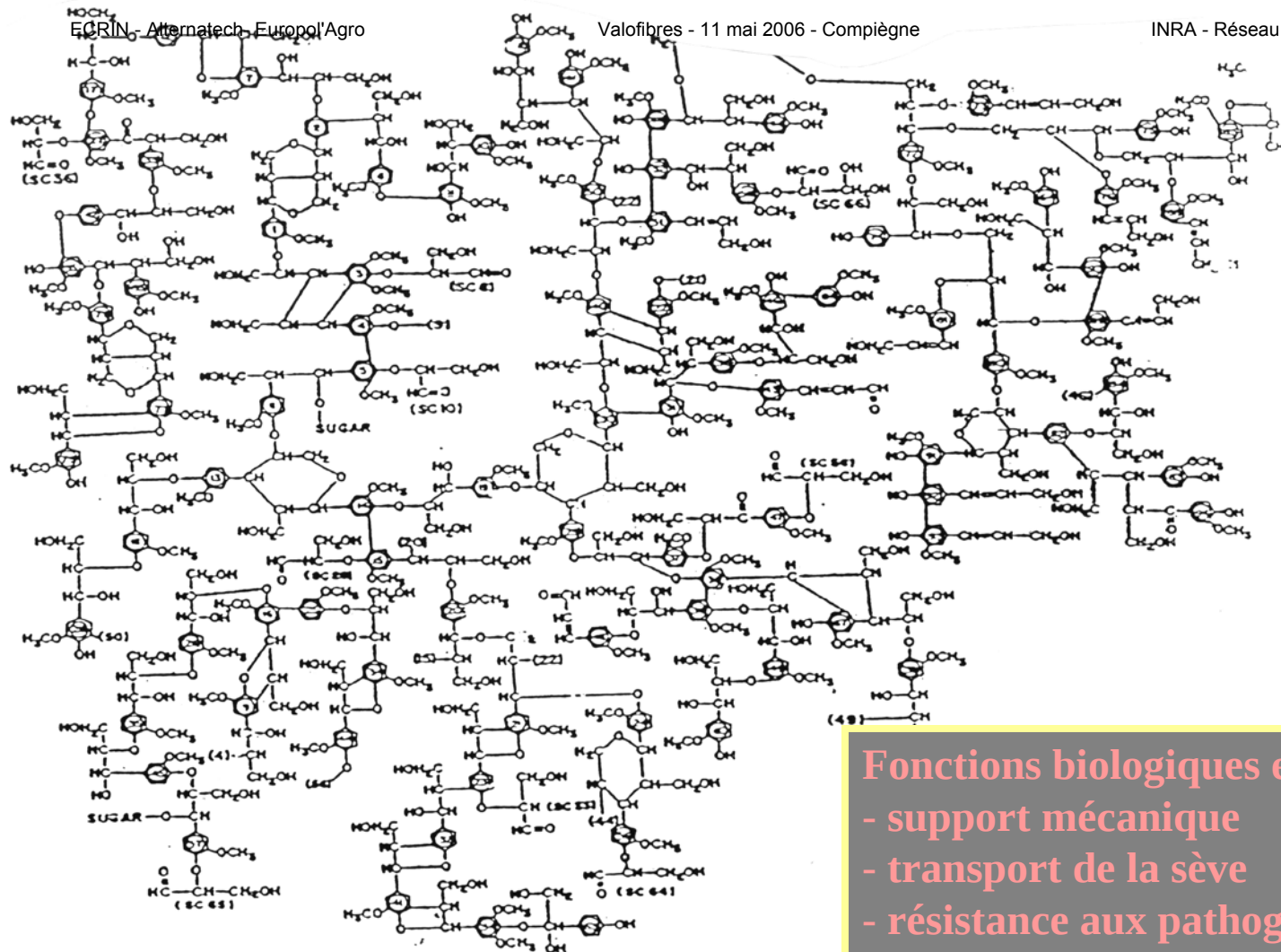


Les modifications des composants de la parois entraînent des modifications dans son organisation et en conséquence des changements dans les propriétés du bois

Les parois des cellules de bois sont principalement composées de microfibrilles de cellulose cimentées ensemble dans une matrice d'hémicelluloses et de lignines

Bidlack, J.E., M. Malone, and R. Benson. 1992. Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. *Proc. Okla. Acad. Sci.* 72:51-56.



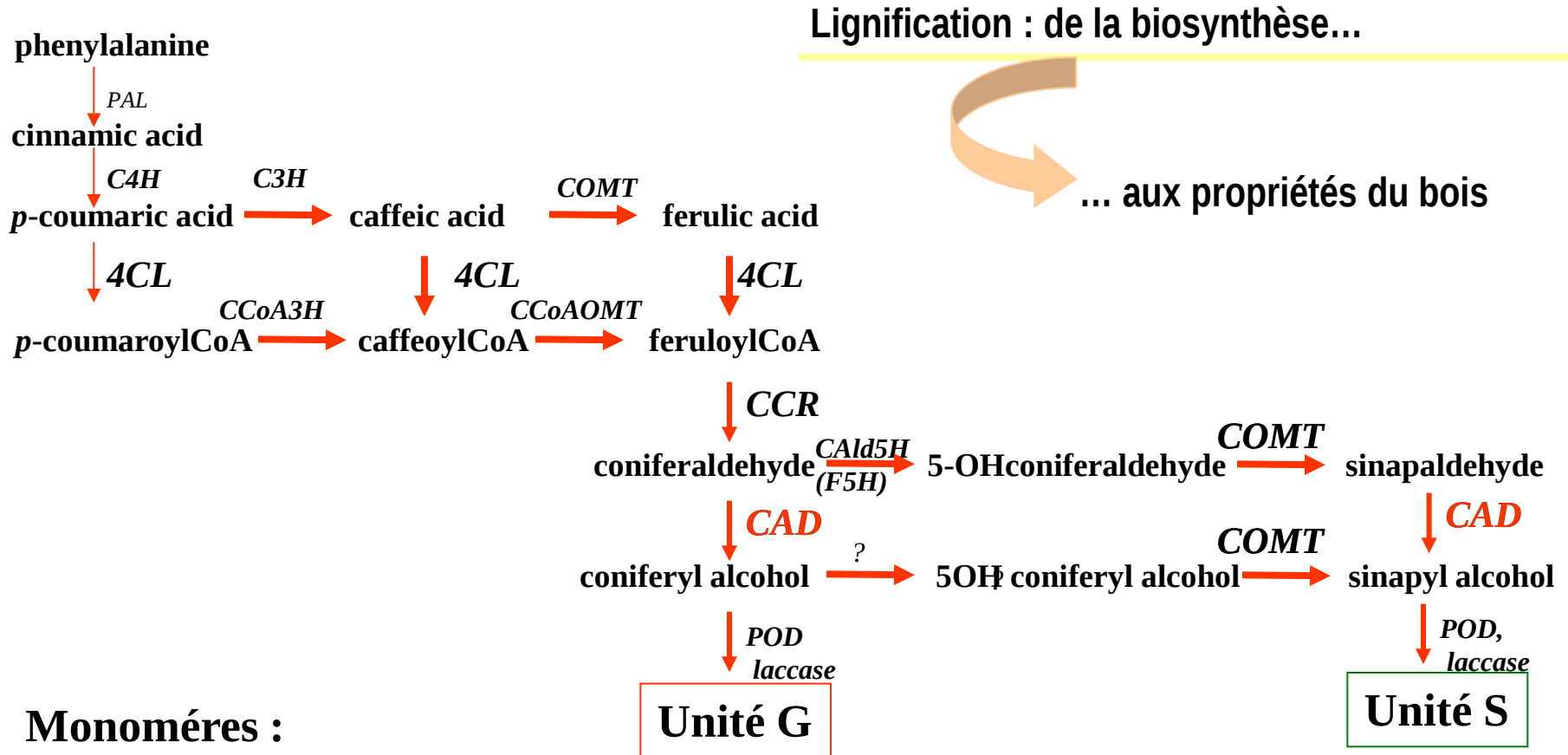


Fonctions biologiques essentielles :

- support mécanique
- transport de la sève
- résistance aux pathogènes.

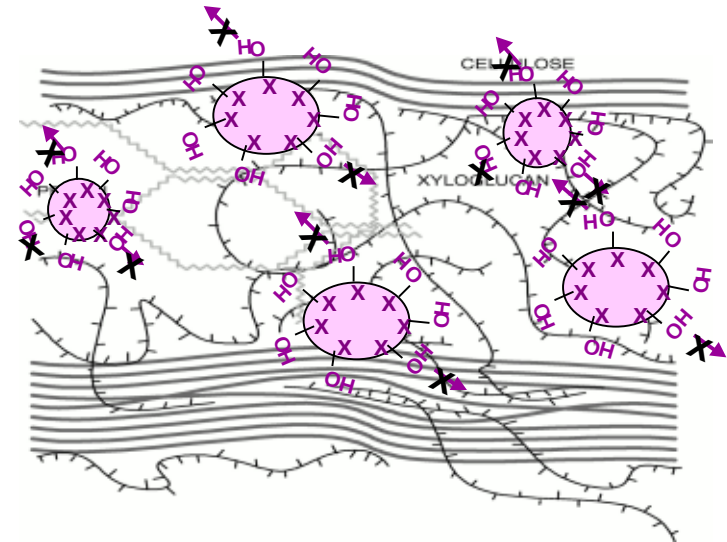
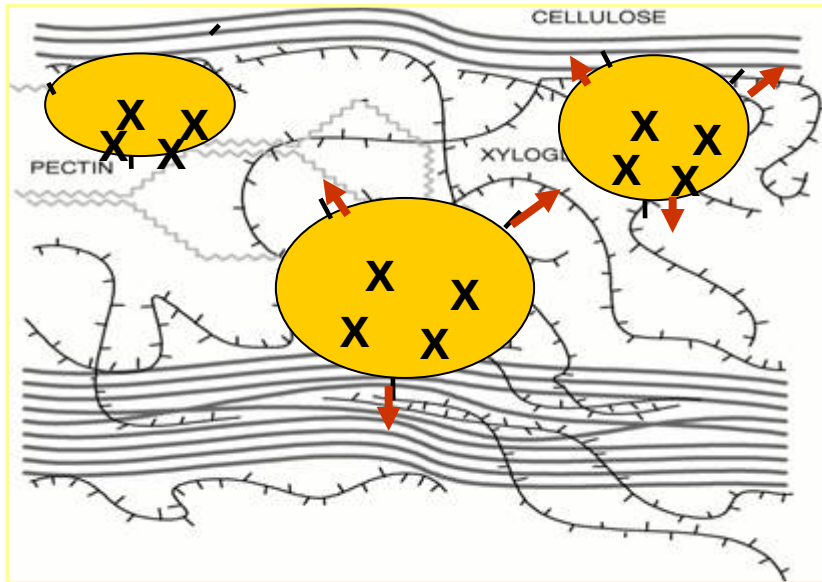
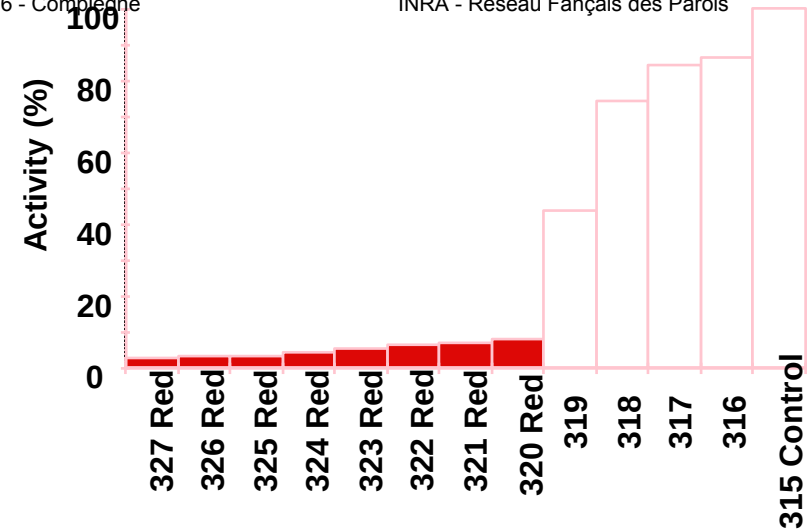
Un polymère
complexe de formule
C₄₁ H₃₂ O₆, dont les propriétés
dépendent des proportions entre les
différents types de monomères

Dans l'industrie papetière,
nuisent à la qualité du papier



Tous les gènes de la biosynthèse des lignines ont été identifiés
Des plantes transgéniques modifiées pour chacun de ces gènes ont été produites

Peupliers génétiquement mododifiés avec une faible activité de l'enzyme CAD



La croissance du polymère de lignines dans les parois serait gênée par l'incorporation d'unités inhabituelles moins réactives vis à vis de l'oxydation peroxydasique pendant la polymérisation d'où un réseau ligneux plus fragmenté et un changement dans les propriétés des parois des fibres de bois

Performances en champ des peupliers transgéniques à lignines modifiées

Objectifs :

- Evaluer les performances agronomiques de peupliers transgéniques à lignines modifiées pendant plusieurs années
- Evaluer la stabilité des modifications des lignines conférées par le transgène au cours du développement de l'arbre en conditions naturelles

Ardon (France)



Bracknell (UK)

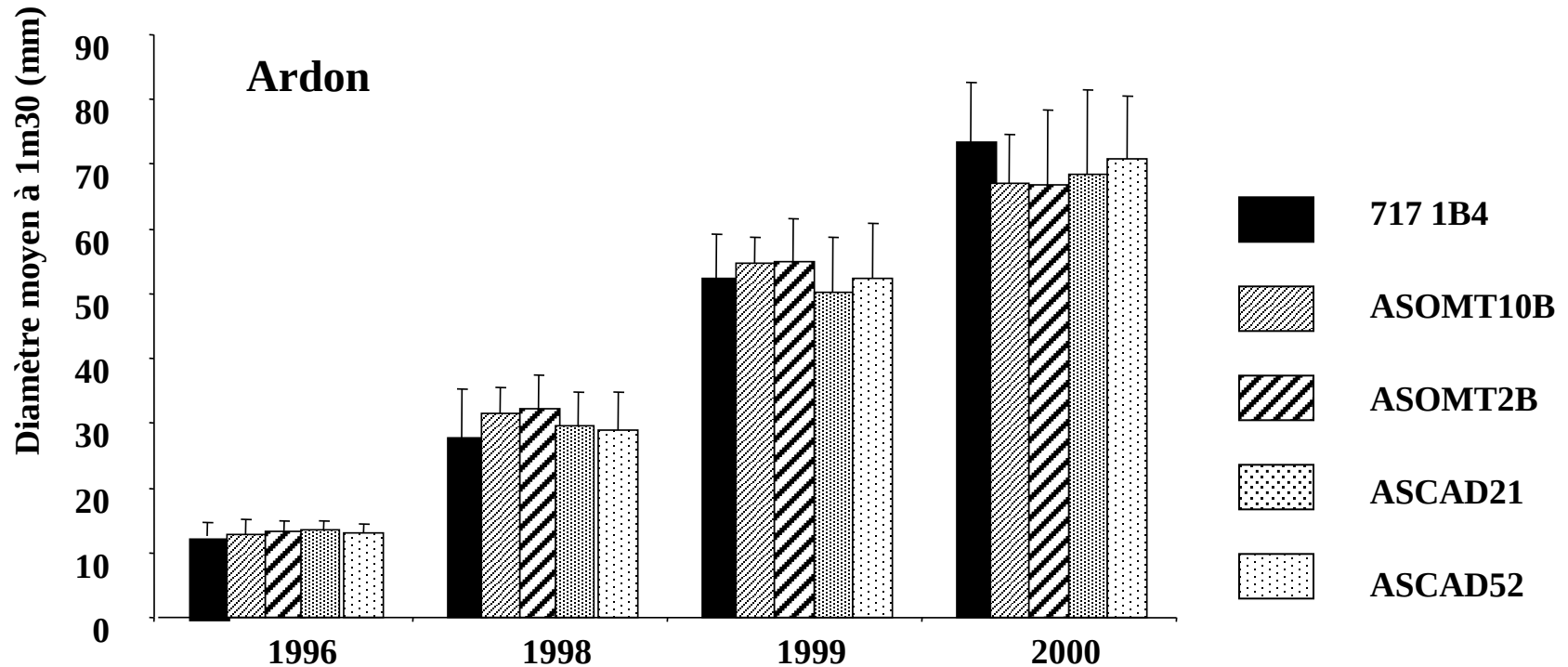


Pilate et al., Nature Biotech., 2002, 20, 607-612/

**Plantation en 1995 après autorisation de la
Commission du Génie Biomoléculaire**

EU FAIR-TIMBER CT95-0424 (DGXII)

Performances des peupliers transgéniques à lignines modifiées



- Mesures du diamètre moyen des arbres
- Mesures de la taille moyenne des arbres
- Mesures de débourrement
- Evaluation des dégâts foliaires (insectes)
- Evaluation des attaques fongiques

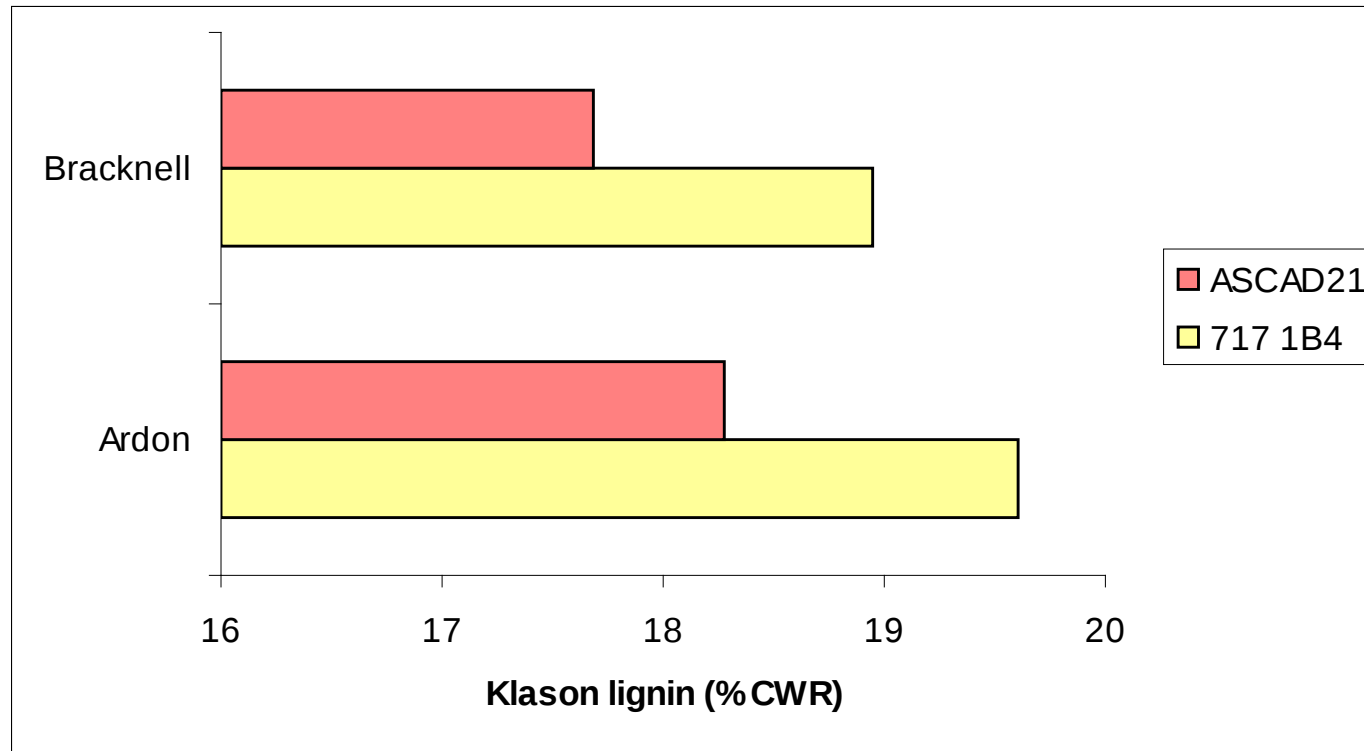
Pas de différences évidentes entre peupliers témoins et peupliers à lignines modifiées

Echantillonnage pour des évaluations moléculaires, biochimiques et technologiques

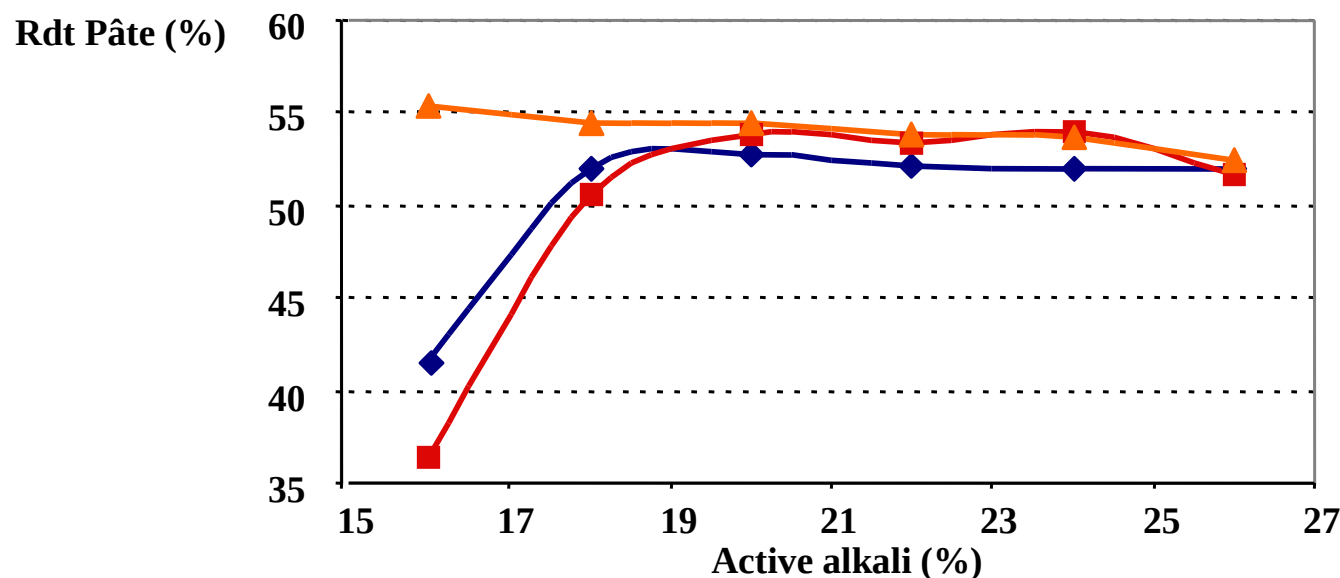
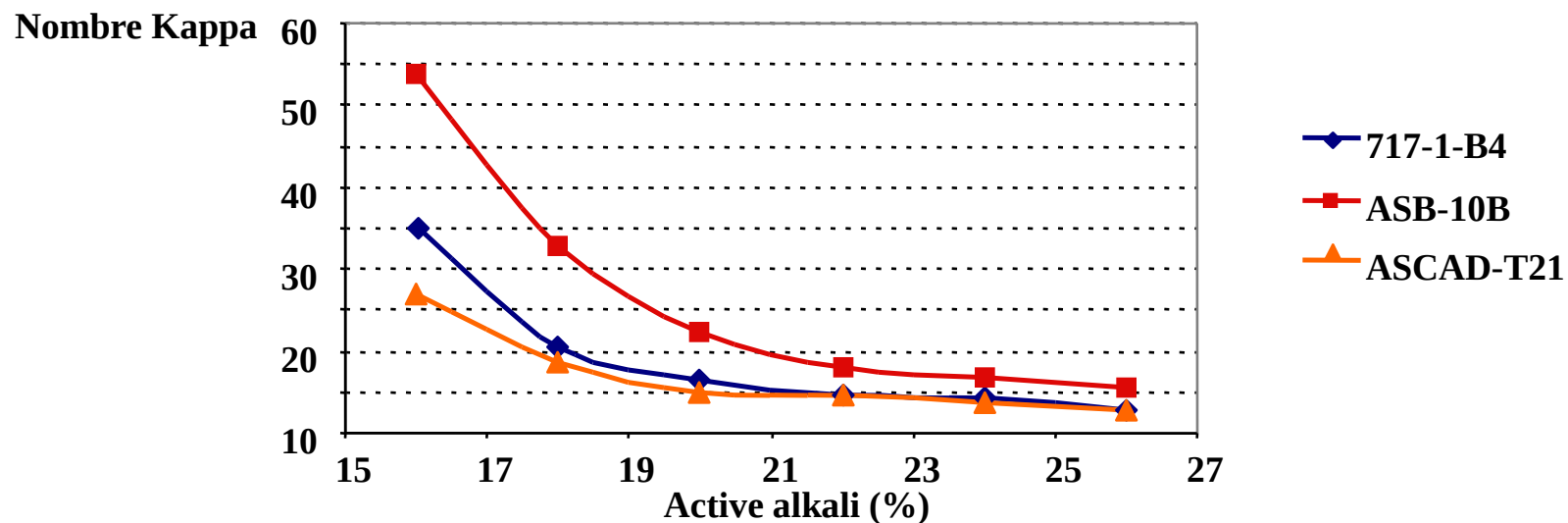


La lignée ASCAD21 a un bois contenant moins de lignines

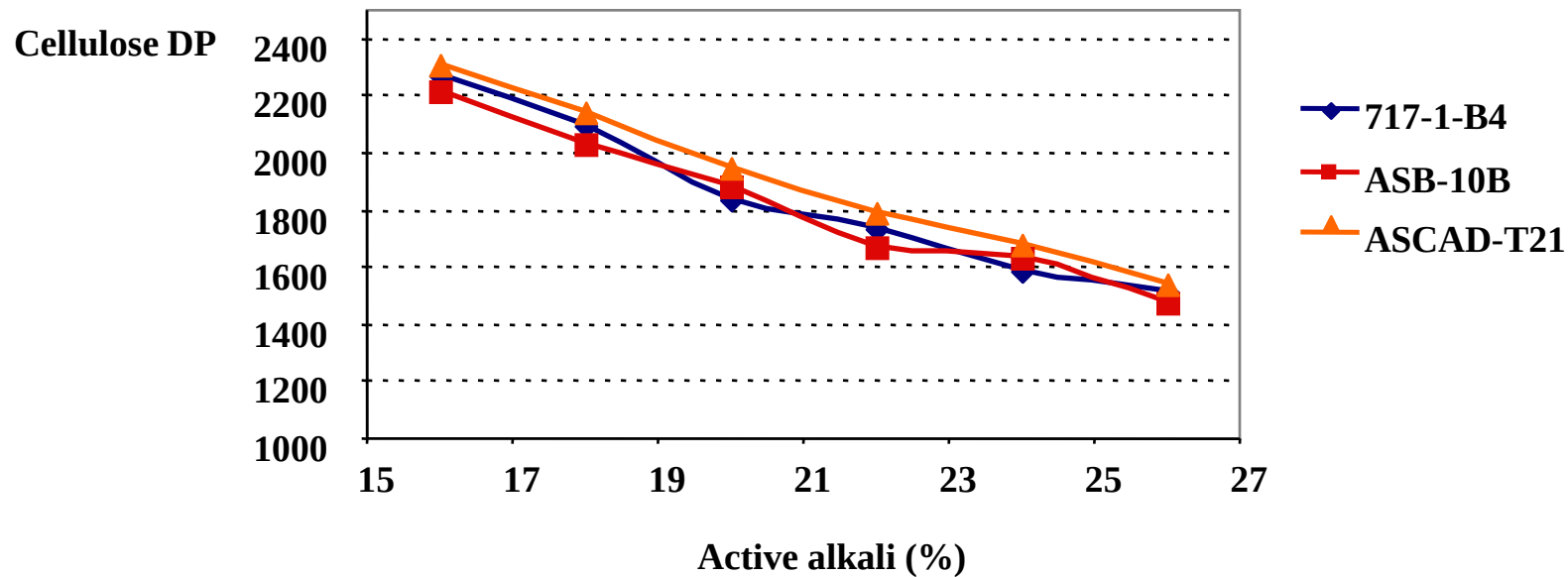
La structure des lignines est modifiée



Analyse réalisée à l'INA-PG
(C. Lapierre)



Analyse réalisée au CTP
(M. Petitconil)



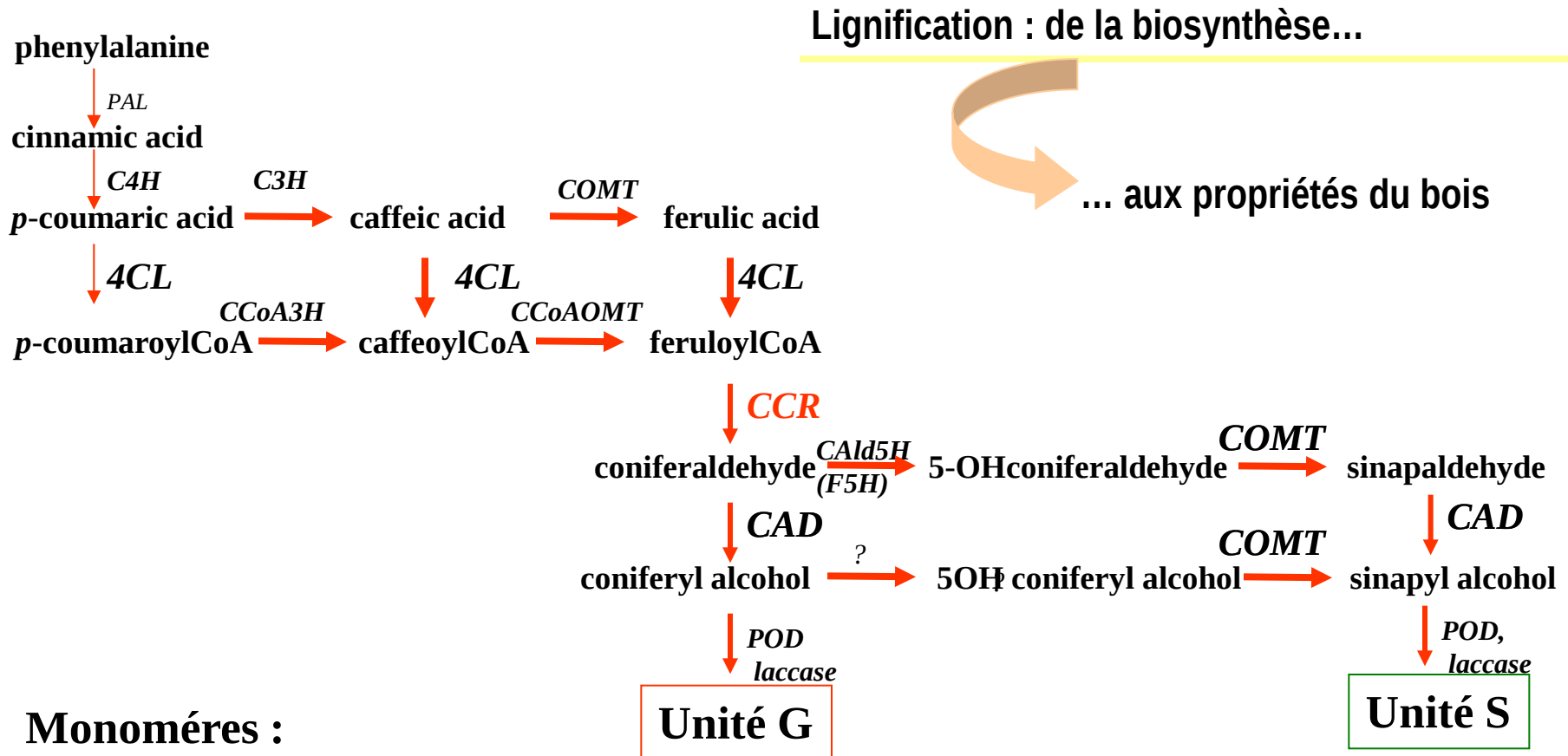
Si l'activité CAD est trop réduite, la modification des lignines affecte le développement de l'arbre



ASCAD34.2 Témoin
Plants de 4 mois



ASCAD34.2 **Témoin**
Plants de 1,5 ans



Peupliers transgéniques à faible activité CCR

P70

antisense *ccr*

T-CaMV

P-nos

hpt

T-nos

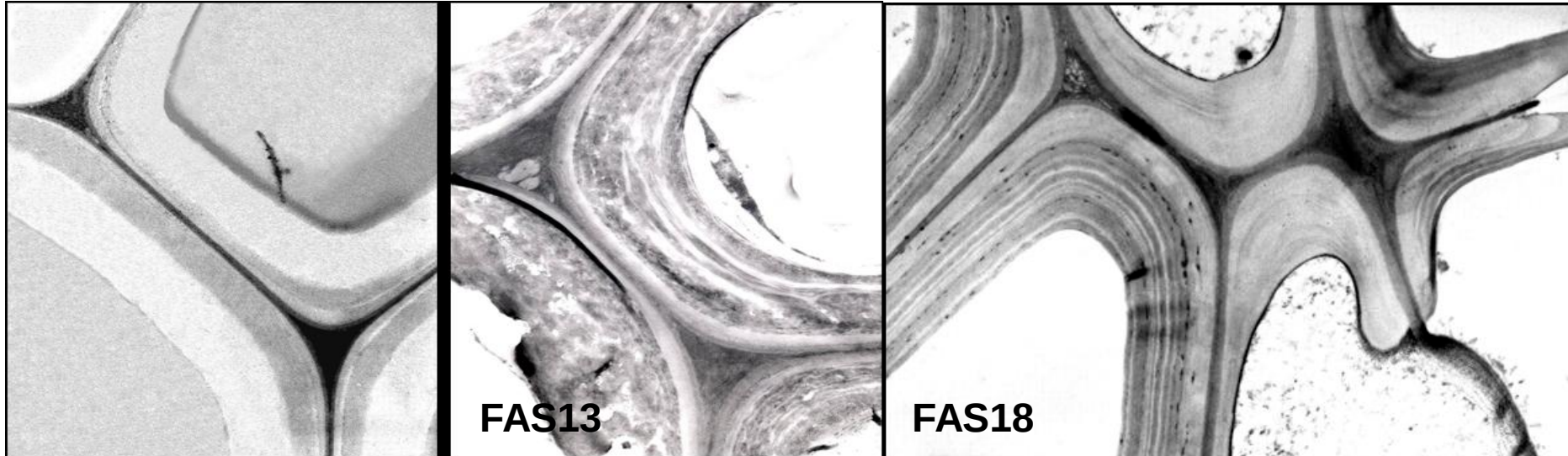
Deux lignées de peupliers transgéniques avec une activité CCR réduite de 80%

Observation
d'une coloration
brun-orange du
xylème en
activité



	Two-year-old field-grown	
<i>Line</i>	<i>WT</i>	<i>FS3</i>
Sample	Whitish xylem	Orange brown xylem
%Kl	19.33±0.39	10.18±0.56
S+G	2636±85	2162±131
S/G	2.12±0.07	2.38±0.08
G-CHR-CHR ₂	2.24±0.02	20.67±3.04
<u>Ferulic acid</u>	tr	6.43±0.54

Coloration au PATAg



WT

Antisense ccr plants

Relâchement ou apparition de sous couches dans la couche S2 des fibres

Essais en champ avec des peupliers

ECRIN - Alternat'ech - Europol'Agro

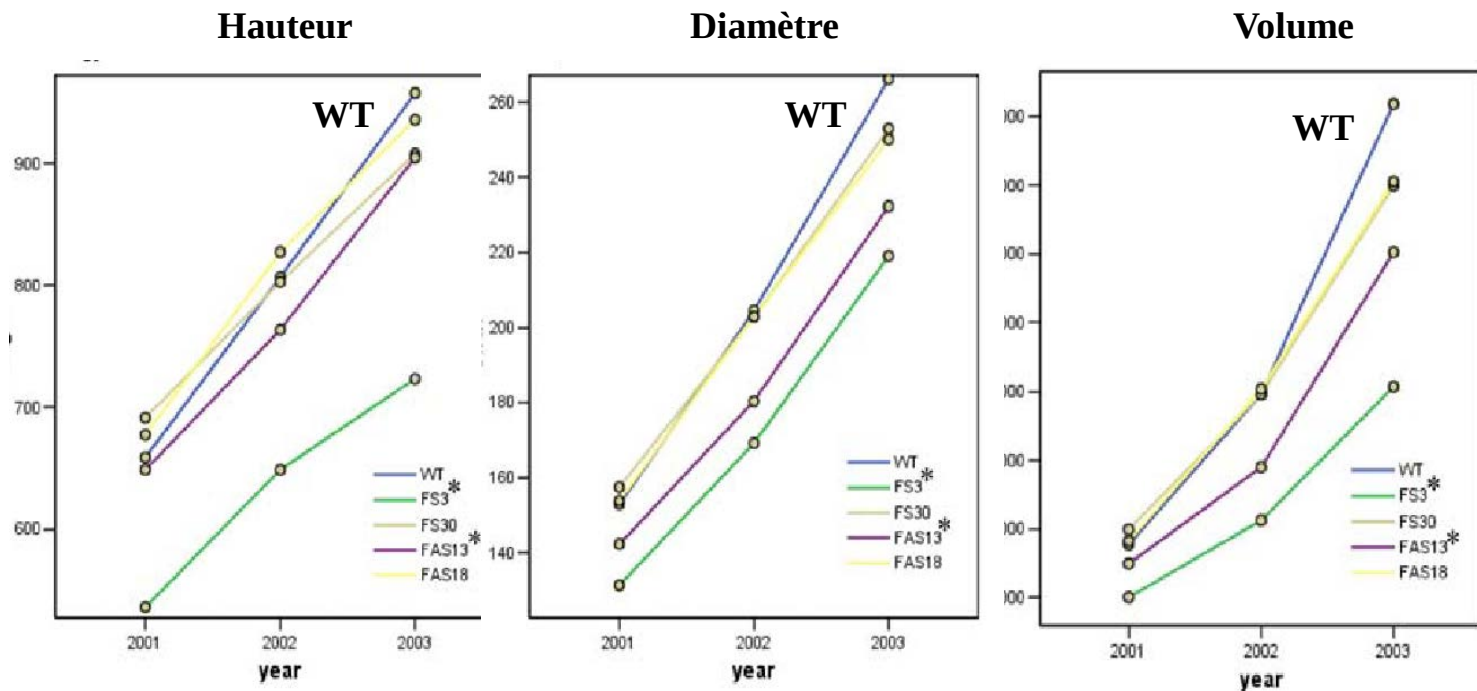
Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

à faible activité CCR

(installé en 1999 à Ardon, France)

- stabilité sur plusieurs années de la modification génétique
- tests papetiers en 2004 (M. Petitconil, CTP, Grenoble) : résultats comparables aux peupliers à faible activité CAD
- les meilleures lignées ont une croissance diminuée en hauteur, en diamètre et en volume



phenylalanine↓ *PAL*
cinnamic acid↓ *C4H*
p-coumaric acid → *C3H* → **caffeic acid** → *COMT* → **ferulic acid**↓ *4CL*
p-coumaroylCoA → *CCoA3H* → **caffeoylCoA** → *CCoAOMT* → **feruloylCoA**

↓ *CCR*
coniferaldehyde → *CAld5H (F5H)* → **5-OHconiferaldehyde** → *COMT* → **sinapaldehyde**
 ↓ *CAD*
coniferyl alcohol → *?* → **5OH coniferyl alcohol** → *COMT* → **sinapyl alcohol**
 ↓ *POD, laccase*
Unité G

↓ *CAD*
sinapyl alcohol → *POD, laccase* → **Unité S**

Monomères :**Unité G****Unité S**

... aux propriétés du bois

A

EORIN - Alternattech- Europol'Agro

EORIN - Alternattech- Europol'Agro

EORIN - Alternattech- Europol'Agro

EORIN - Alternattech- Europol'Agro

EORIN - Alternattech- Europol'Agro

Les peupliers transgéniques avec une activité 4CL réduite

(Hu et al., Nat. Biotech., 1999)

- une augmentation de la production de biomasse (tige et racines)
- moins de lignines et plus de cellulose
- résultats obtenus sur des plants en serre
- pas d'analyse technologique



Les peupliers transgéniques sur-exprimant la F5H (Huntley et al., 2003)

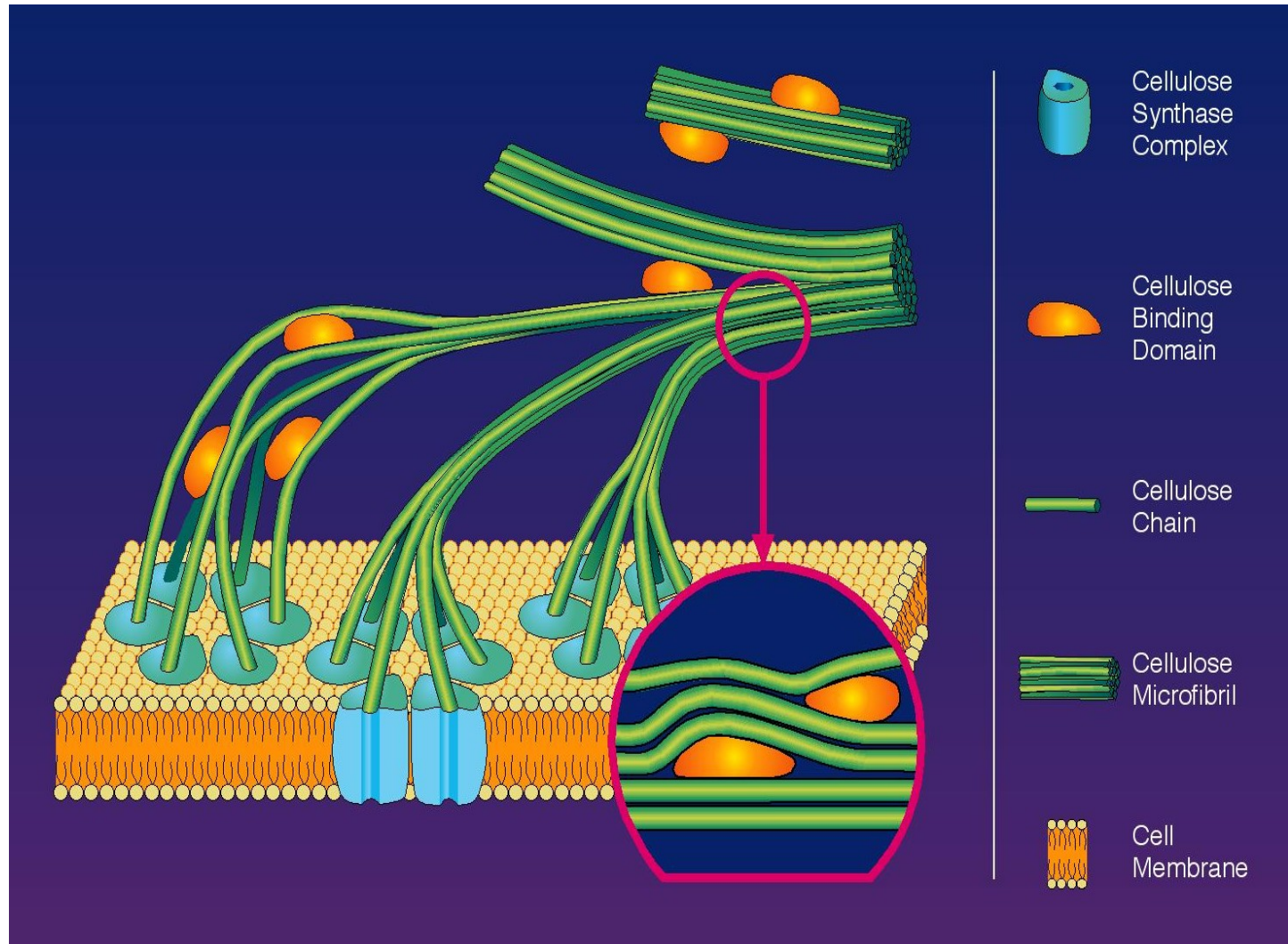
- une augmentation du ratio S/G mais même quantité de lignines
- une augmentation de l'efficacité du traitement Kraft : nombre Kappa plus faible, augmentation de la brillance
- pas d'effets visibles sur la croissance et le développement
- résultats obtenus sur des plants en serre

Expansion cellulaire : relâchement des parois cellulaires + biosynthèse de cellulose

Rôle important des cellulases

CBD : Cellulose Binding Domains

(Levy et al., 2002 *Biomol. Eng.*)



Peupliers transgéniques exprimant des CBD (Levy et al., 2002)

Les CBD augmentent la biosynthèse de cellulose

Les peupliers transgéniques présentent:

- une augmentation de la production de **biomasse**
- des modifications dans les propriétés du bois
 - . **fibres plus longues**
 - . **degré de polymérisation de la cellulose plus élevé**
 - . **angle des microfibrilles plus faible**
- Une augmentation des **qualités mécaniques du papier**

Peupliers transgéniques exprimant une endo-1,4- β -glucanase (Shani et al., 2004)

Cet enzyme coupe les liaisons entre microfibrilles de cellulose

Les peupliers transgéniques présentent:

- une **augmentation de la hauteur et du diamètre** des tiges
- une augmentation de la taille des feuilles
- une **augmentation de des proportions en cellulose et hémicelluloses**

Peupliers transgéniques exprimant une xyloglucanase (Park et al., 2004)

Cet enzyme coupe les liaisons entre microfibrilles de cellulose

Les peupliers transgéniques présentent:

- une **augmentation de la hauteur** des tiges
- une **augmentation du contenu en cellulose**
- des **modifications dans les propriétés mécaniques** du bois

*2004 : publication de la séquence du
génom (International Populus
Genomic Consortium)*

*Espèce modèle pour la génomique
chez les arbres*

Plus de 40 000 modèles de gènes

Identification de gènes important pour la propriétés du bois?



Le bois de tension



C'est pendant les étapes de différenciation du bois que se mettent en place les contraintes responsables des propriétés mécaniques remarquables du bois de tension

Le bois de tension correspond à un mécanisme remarquable d'adaptation des arbres aux contraintes de l'environnement

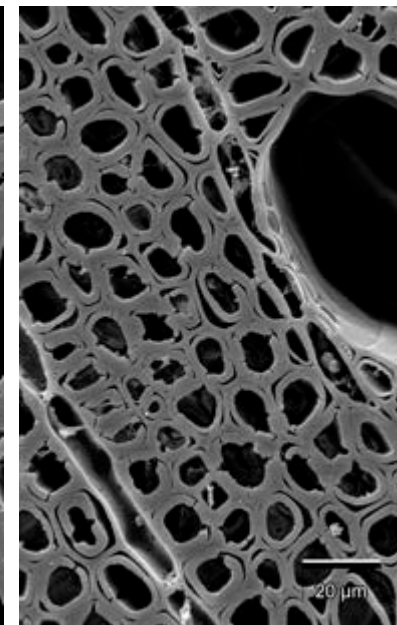
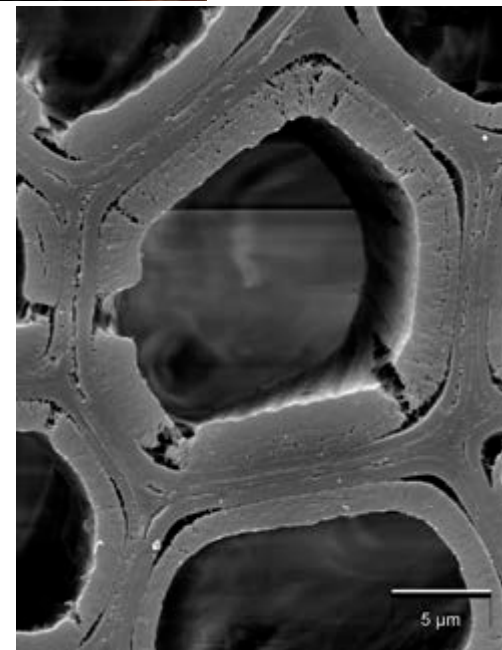
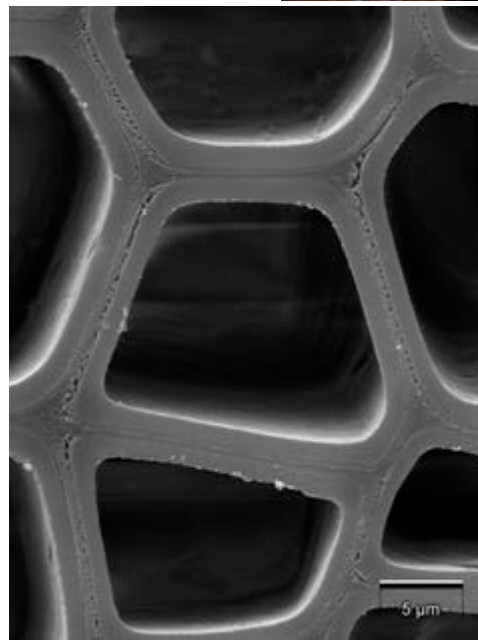
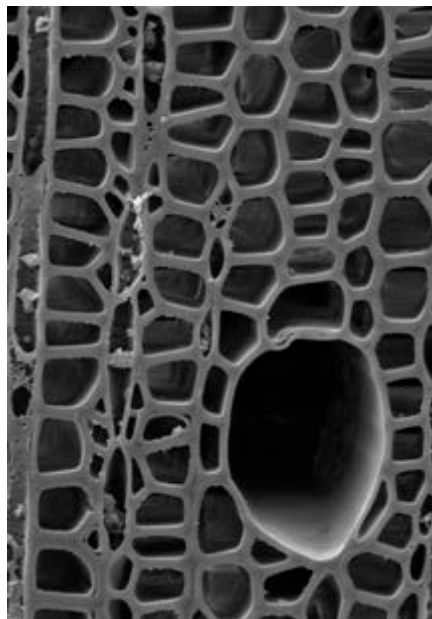
Bois de tension





Bois opposé

Bois de tension



Photos Françoise Laurans

Fibres plus longues à parois épaisses
Plus de cellulose, moins de lignines
Présence d'une sous-couche additionnelle
la couche G

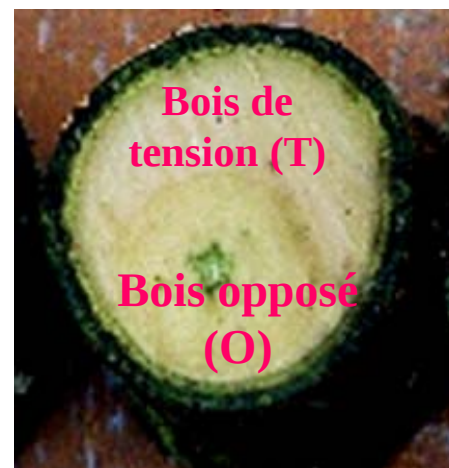
Le modèle « bois de tension »

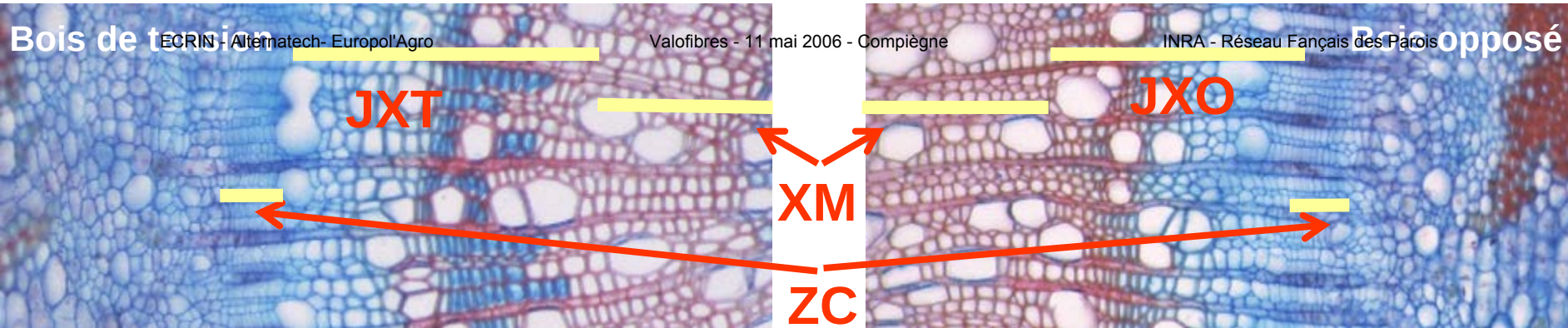


Populus tremula x Populus alba
clone INRA 717-1B4

Induction

***aisée
rapide
forte***





Identification de gènes : production de 10 000 EST (projet Lignome)

Séquençage systématique des gènes exprimés dans différents types de bois prélevés sur 3 arbres penchés

2820 EST dans le jeune xylème en différenciation de bois de tension (JXT)

2570 EST dans le jeune xylème en différenciation de bois opposé (JXO)

2100 EST dans la zone cambiale de bois de tension et opposé (ZC)

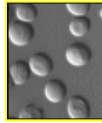
2374 EST dans le xylème mature de bois de tension et opposé (XM)

L'ensemble des 10 000 séquences correspond à 4970 gènes environ

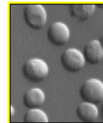
Etude de la distribution de ces gènes dans les différents types de bois
(Déjardin et al., 2004, Plant Biology, 6, 55-64)

Analyse globale d'expression
Lames avec 30 000 dépôts

Echantillon 1



Echantillon 2



Extraction
des ARN



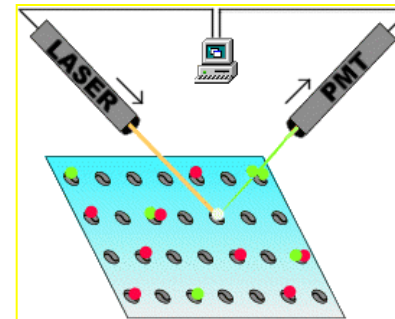
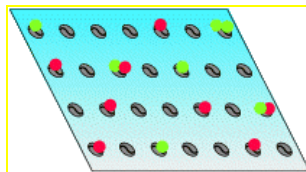
Préparation des cibles

Marquage
fluorescent



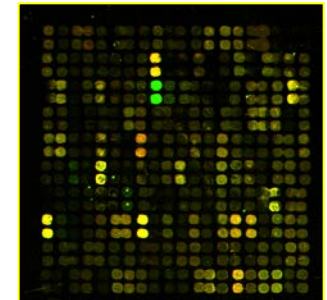
Dépôt

Hybridation



Analyse de la fluorescence

Analyse des
résultats



Acquisition de l'image

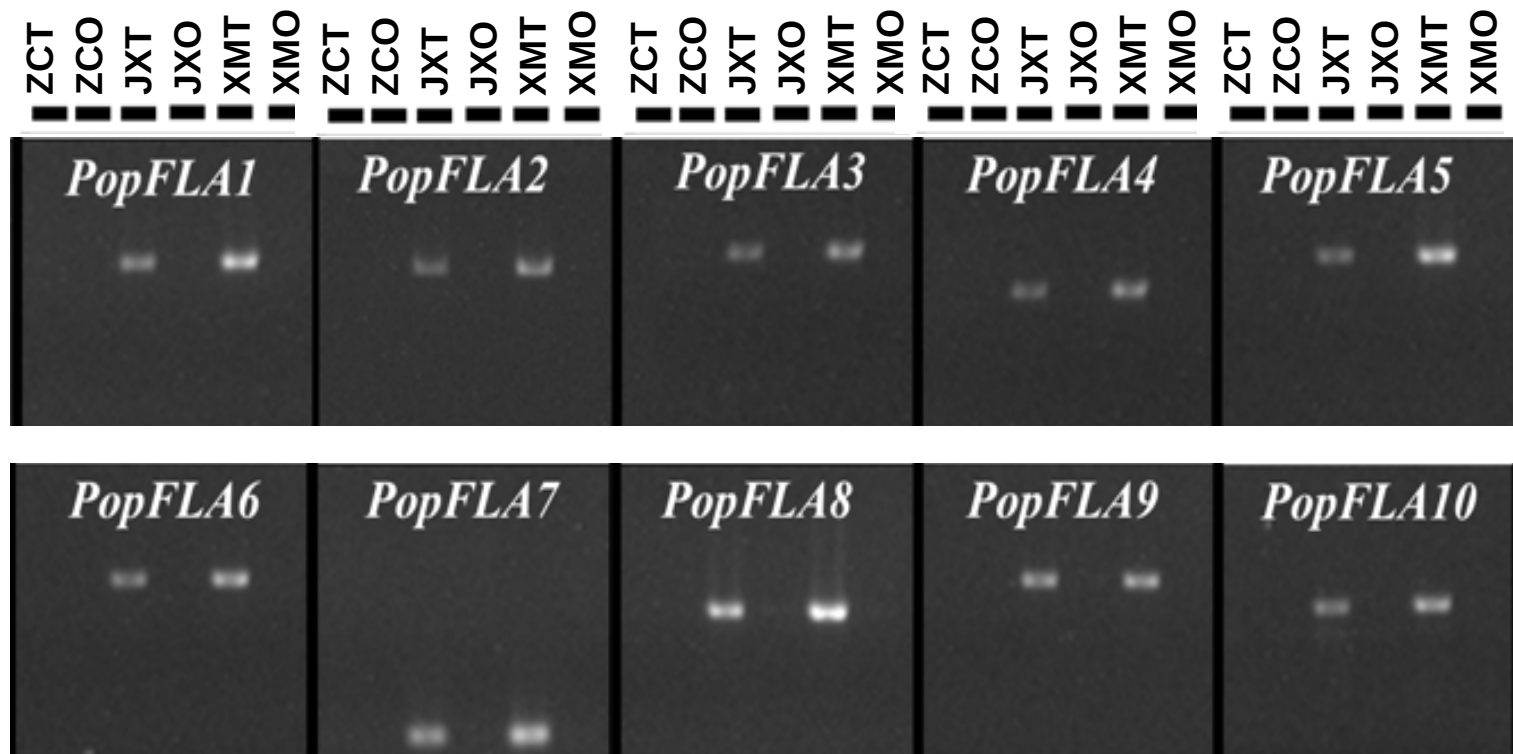
Les 20 gènes les plus exprimés dans le bois opposé

Gène ID	Bois de tension	Bois opposé
S-adenosylmethionine synthetase	31396	44077
<i>S-adenosylmethionine synthetase</i>	23593	41084
Unknown	4530	40086
Sucrose synthase	48298	38106
<i>Metallothionein-like protein</i>	10885	37631
<i>Plant lipid transfer containing domain protein</i>	2180	37468
Succinyl-CoA ligase	25438	36774
<i>Isoflavone reductase homolog</i>	18076	36491
Caffeic acid 3-O-methyltransferase	28393	35023
Shaggy-related protein kinase	38538	33029
Tubulin alpha chain	41161	32457
<i>S-adenosylmethionine synthetase</i>	22040	31974
Blue copper protein	23847	29951
<i>Isoflavone reductase homolog</i>	11283	29074
Adenosylhomocysteinase	27189	28875
Unknown	26523	28608
Thioredoxin H-type	16669	27924
No hits found	20113	27738
5-MTHPteroyltryglutamate-Hcysteine S-methyltransferase	27095	27518
Tubulin alpha chain	26931	26654

Les 20 gènes les plus exprimés dans le bois de tension

Gène ID	Bois de tension	Bois opposé
<i>PopFLA3</i>	226759	119
<i>PopFLA2</i>	224100	102
<i>PopFLA5</i>	205983	217
<i>PopFLA6</i>	202317	82
<i>PopFLA8</i>	191812	242
<i>PopFLA4</i>	189767	188
<i>RabGAP/TBC domain-containing protein</i>	149843	246
<i>PopFLA7</i>	131052	128
<i>PopFLA1</i>	112057	250
<i>PopFLA7</i>	105504	307
<i>Uroporphyrinogen decarboxylase</i>	102972	234
<i>PopFLA10-2</i>	77063	305
<i>Unknown (extensin related protein)</i>	62878	300
<i>PopFLA9</i>	62485	85
<i>Sucrose synthase</i>	48298	38106
<i>No hit</i>	47621	17123
<i>No hit</i>	46903	4459
<i>No hit</i>	43686	4403
<i>Vacuolar-type inorganic pyrophosphatase</i>	42039	7991
<i>Tubulin alpha chain</i>	41161	32457

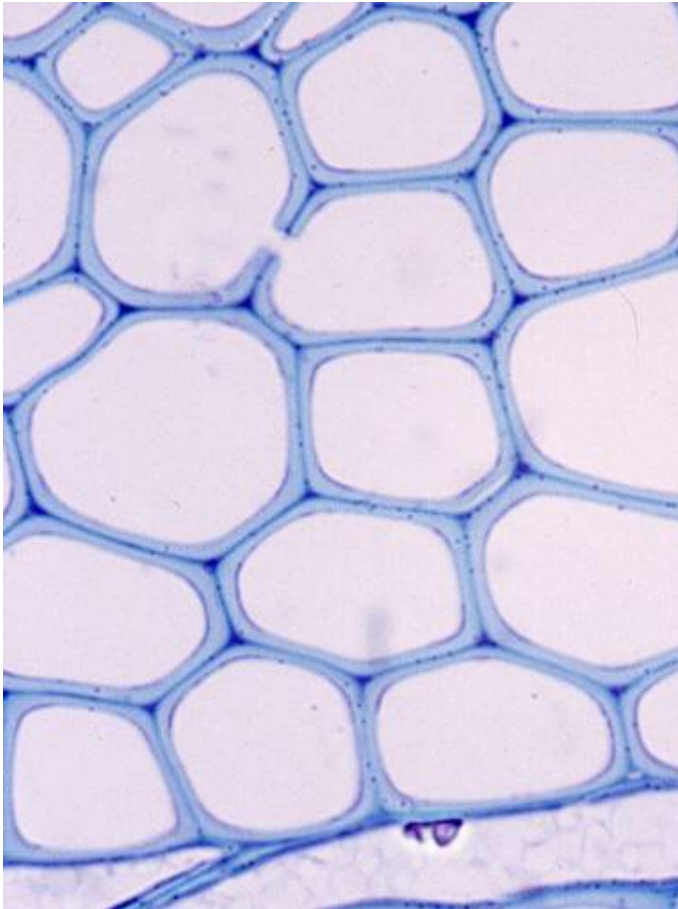
Vérification par RT-PCR semi-quantitative de l'expression différentielle des 10 gènes PopFLA entre bois tendu et bois opposé



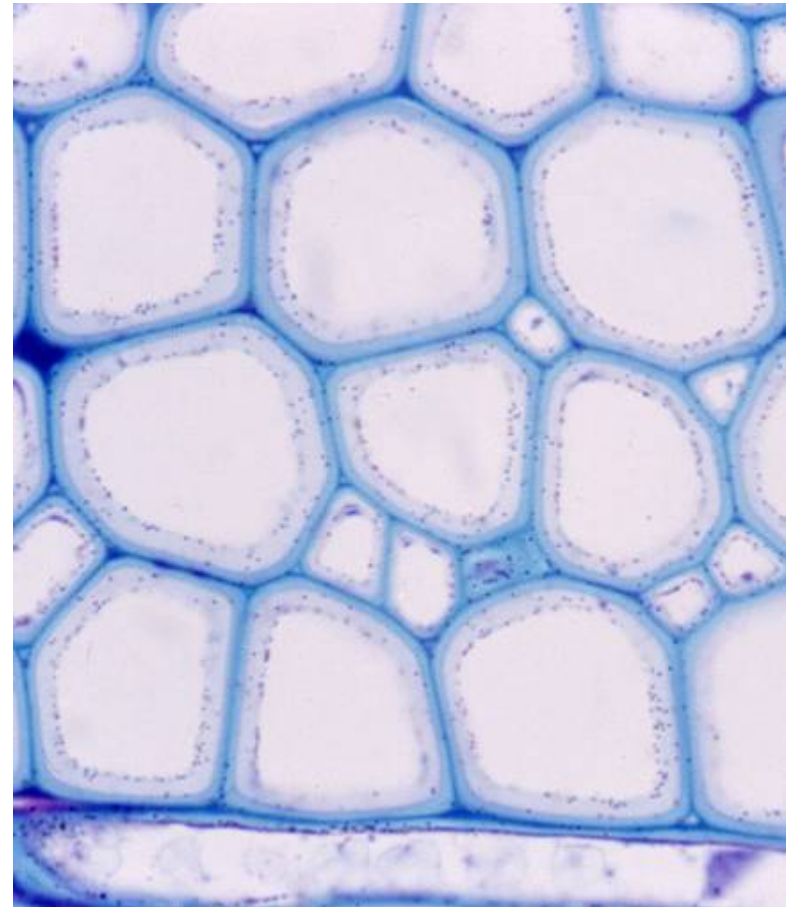
Zone Cambiale (ZC)
Jeune Xylème (JX)
Xylème Mature (XM)

Bois de Tension (T)
Bois Opposé (O)

Bois opposé



Bois de tension



Anticorps monoclonal JIM 14
Révélation or amplifié à l'argent

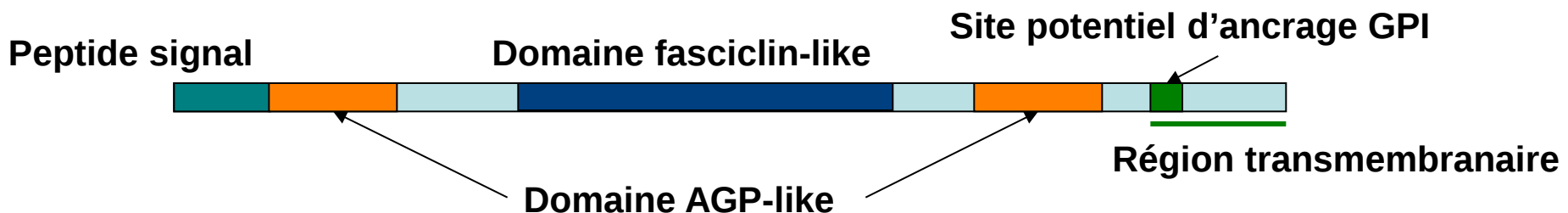
Lafarguette et al., New Phytologist, 2004

PopFLAs = Fasciclin-Like Arabinogalactan proteins de peuplier

- Fortement glycosylées (98% du PM du proteoglycane)
- Dans la paroi cellulaire, la membrane plasmique, l'espace intercellulaire

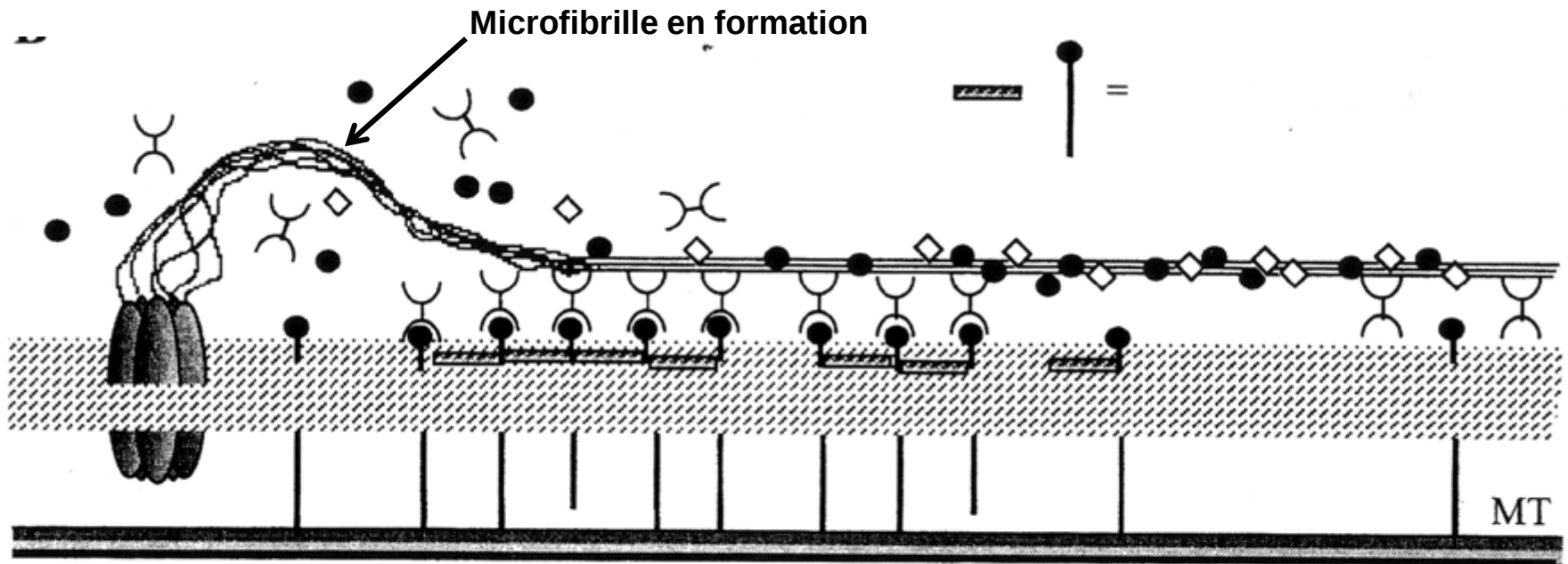
Fonctions?

- Croissance et développement des plantes (embryogenèse, différenciation cellulaire, germination du pollen,)
- Transduction de signaux de cellule à cellule
- Adhésion, interaction de la membrane plasmique avec la matrice extracellulaire
- Chaperones pour guider des constituants de la paroi, de leur excrétion jusqu'à leur intégration dans la paroi



La fonction des différentes PopFLAs si fortement exprimées dans le bois de tension reste à déterminer...

Hypothèse : Les PopFLAs seraient impliquées dans les **interactions entre matrice extracellulaire et cytosquelette**



Lien avec l'orientation des microfibrilles de cellulose?

Production de **peupliers transgéniques** modifiés pour l'expression de PopFLAs



Evaluation au champ de peupliers modifiés génétiquement pour le métabolisme des lignines plantés depuis 1995. Bientôt, analyse technologique du bois pour d'autres applications : biomatériaux (déroulage, ...), bioénergie...

Vers quelles applications ?

Gène candidat intéressant

1) Plantations en TCR ou en TTCR de **peupliers transgéniques** modifiés pour l'expression de ce gène candidat ?

- Pas de floraison,
- Retour plus rapide sur investissement
- Fort problème d'acceptabilité du public
- NB Stratégie envisagée dans d'autres parties du monde





Applications ?

Gène candidat intéressant

2) Recherche d'allèles intéressants pour ce gène dans les populations naturelles.
Recherche de corrélations avec des QTL de qualité du bois. Incorporation dans les populations d'amélioration

- Facteur temps
- Allèle soumis à la sélection naturelle
- Meilleure acceptabilité

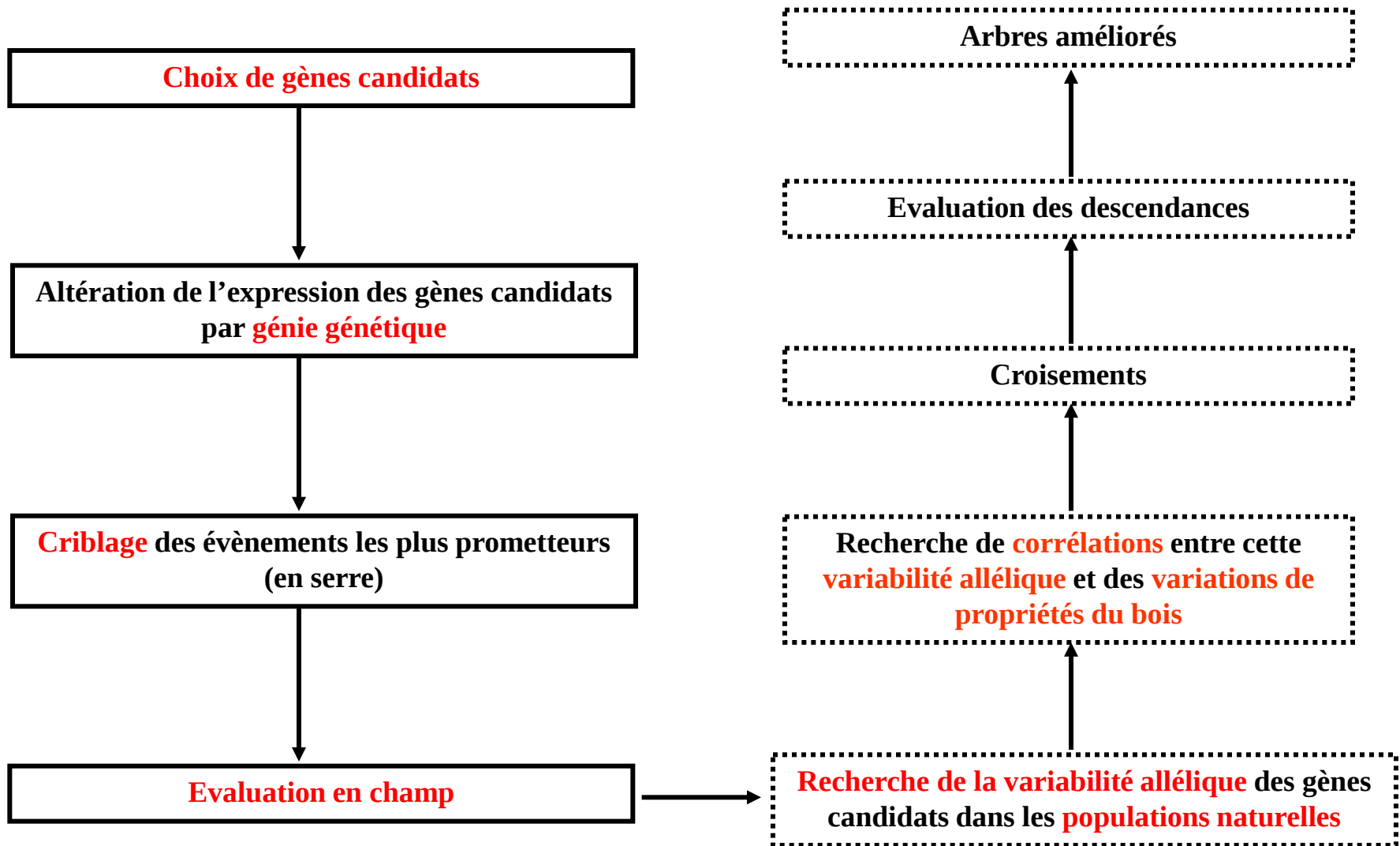
270	280	290	300	310
GTCTCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGGG*CTGCGC				
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGGG*CTGCGC				
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGGG*CTGCGC				
GTCTCCATCCTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGACTGCGC				
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGGG*CTGCGC				
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGCTGCGC				
GTCTCCATCCTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGACTGCGC				
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGG***GCGC				
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGG***GCGC				
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGGG*CTGCGC				
GTCTCCATCCTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGACTG 'GC				
GTCAACCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGCTGCGC				
GTCTCCATCCTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGACTGCGC				
GTCTCCATCCTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGGACTGCGC				
GTCAACCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGGG*CTGCGC				
GTCAACCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCTGGGG*CTGCGC				
GTGCGCCATCACTTAGAGTATTGAGAGTTCCTGATTGTGCT*GGG*CTGCGC				

Amélioration des arbres par SAM, à partir du savoir acquis chez les plantes transgéniques

ECRIN - Alteratech - EuroPol'Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois



Ex Peupliers transgéniques à faible activité CAD et le mutant naturel cad null chez le Pin taeda, tous avec meilleures qualités papetières (Pilate et al., 2002; Gill et al., 2003)

En conclusion,

Démonstration des apports des biotechnologies pour améliorer les propriétés du bois, pour quelques gènes et pour une application, la pâte à papier.

Maîtrise de la mise en place et du suivi d'essais en champ avec des arbres transgéniques.

Nombreux autres gènes candidats potentiels.

Localisation aisée de ces gènes sur les cartes génétiques du peuplier.

Nous avons donc certainement en main de nombreuses possibilités pour optimiser les caractéristiques du bois afin de produire des matériaux aux propriétés améliorées pour une utilisation traditionnelle ou nouvelle...

matériaux composites bois



OSB



MDF



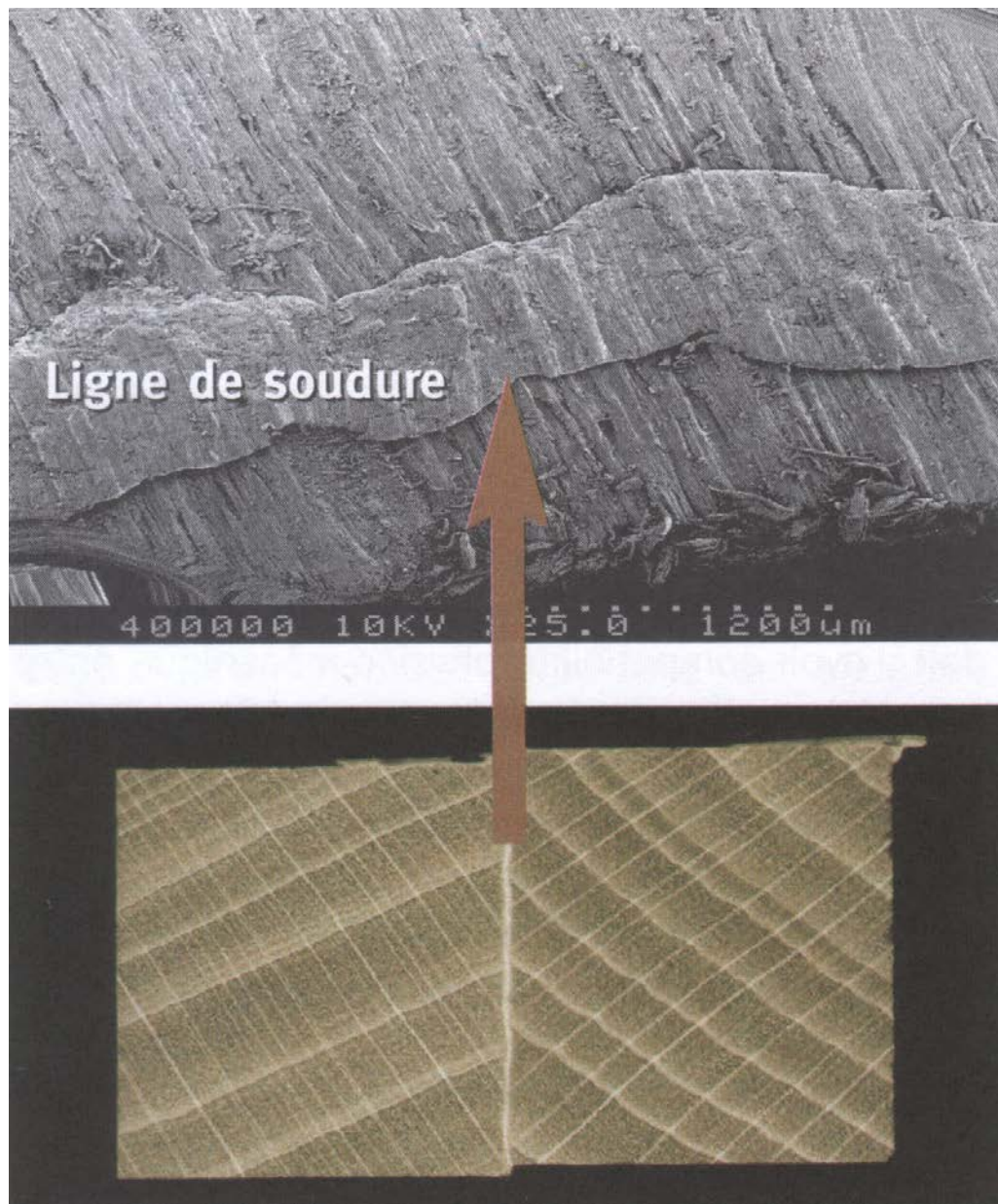
aggloméré



faible densité

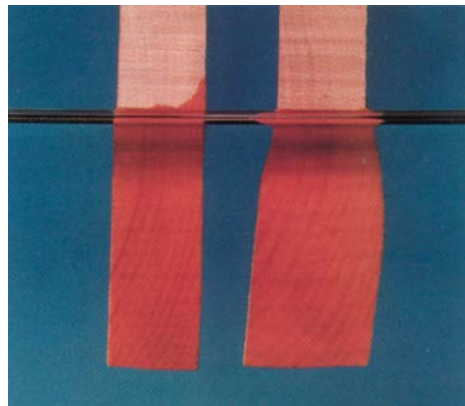
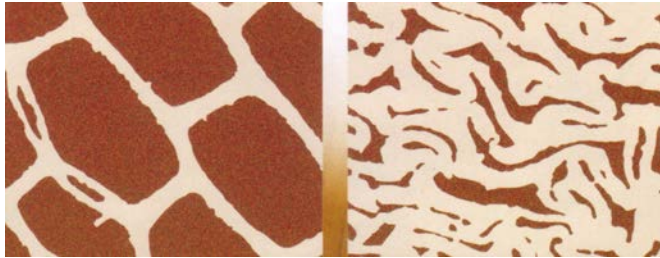
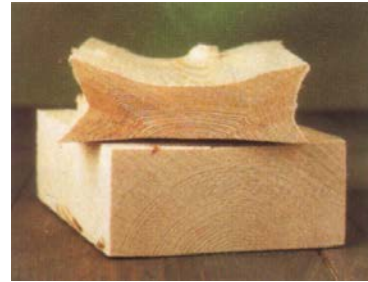


le "bois" moulé / extrudé



Le bois soudé





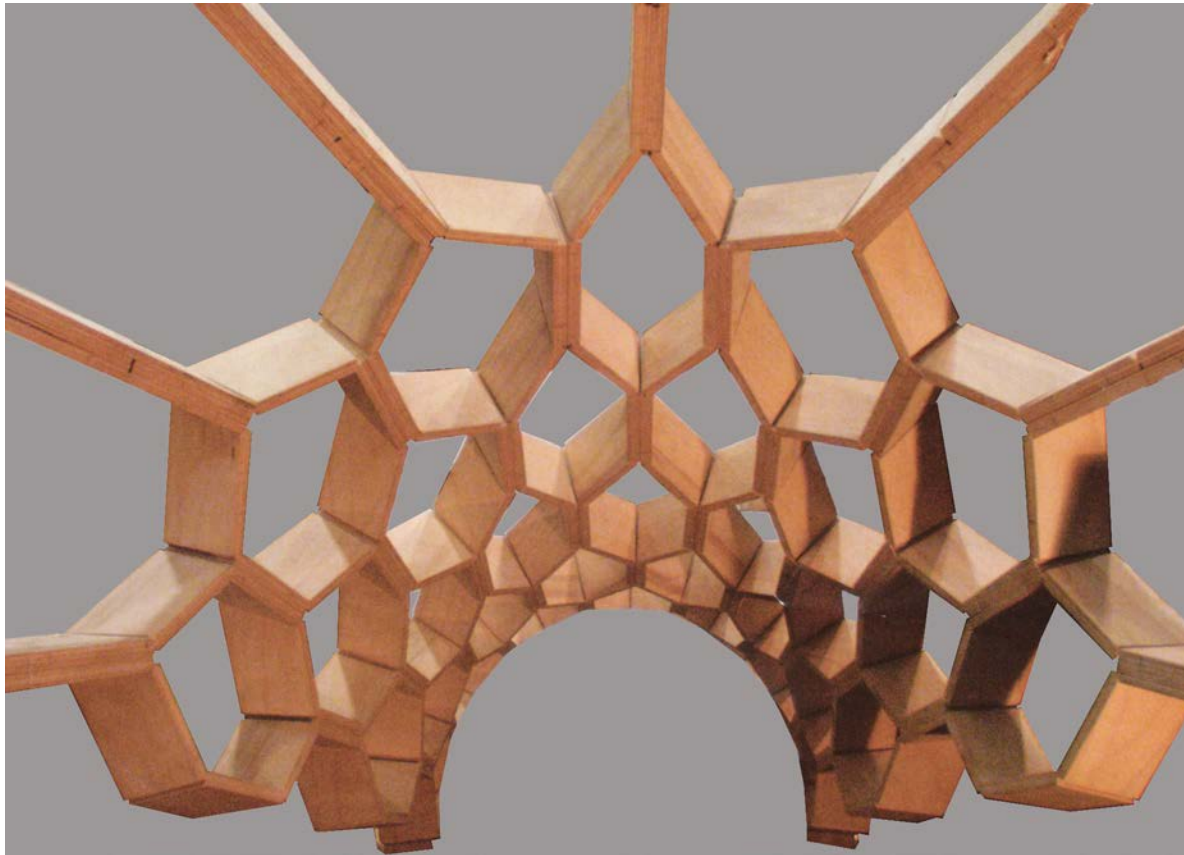
CaLignum

produits semi-finis de construction bois



KMH
KaufmannMassifHolz

formes libres : le bois et le textile



Leitner/Führer

Equipe

Annabelle Déjardin
Jean - Charles Leplé
Marie - Claude Descauses
Régis Fichot
Françoise Laurans
Dominique Arnaud
Alain Moreau
Nadège Millet
Gilles Pilate
Miyuki Takeuchi
&
Catherine Bastien
Véronique Jorge

Collaborations

Puces à ADN

URGV-Evry

Marie-Laure Martin-Magnette

Arbres à lignines modifiées

VIB Gent

Wout Boerjan

CTP

Michel Petitconil

INA-PG

Catherine Lapierre

CERMAV

Katia Ruel

UPSC

Björn Sundberg

UMR-FARE

Brigitte Chabbert

Kyoto Univ

Arata Yoshinaga

UMR-PIAF

Catherine Coutand

Hartmut Hering

conseiller construction bois

Arbocentre

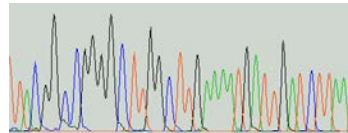
ECRIN - Alternitech- Europol'Agro

Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois

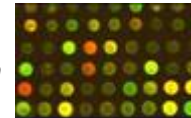
Etudes des déterminants moléculaires des propriétés du bois pour différentes applications bois matériaux

Génomique fonctionnelle de la formation du bois

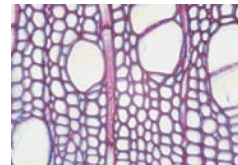


Identification

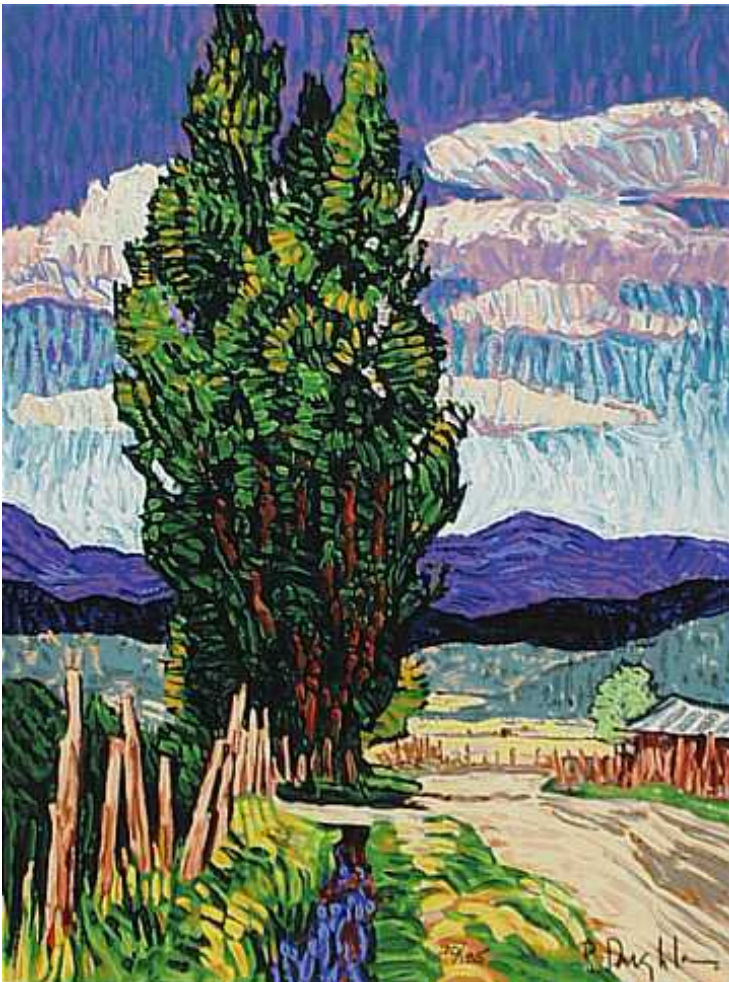
Expression



Localisation



Fonction



Nécessité d'une approche multidisciplinaire
(biomécanique, structure des polymères de parois,...) afin de caractériser les propriétés du bois potentiellement modifiées dans les arbres transgéniques

Collaborations

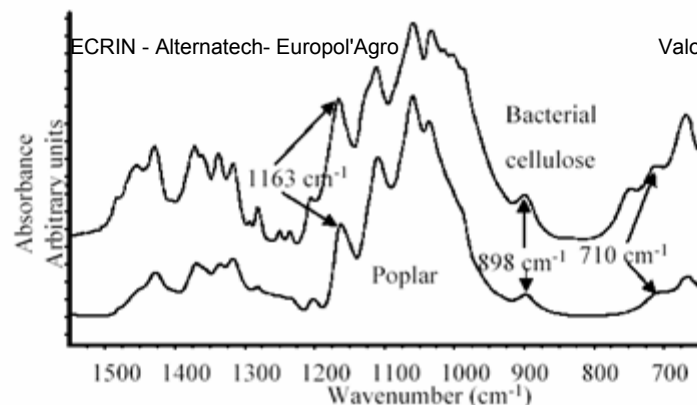


Fig.3. FTIR spectrum of poplar treated sections compared to bacterial cellulose spectrum.

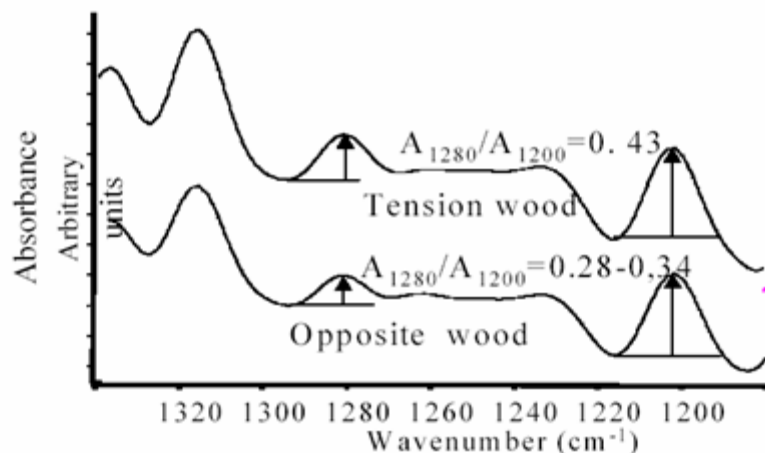
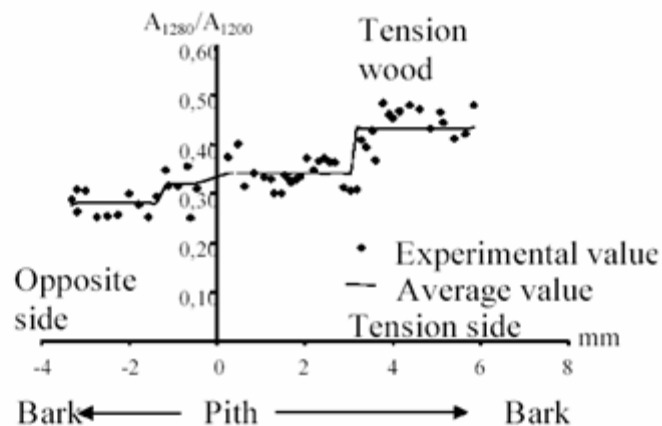


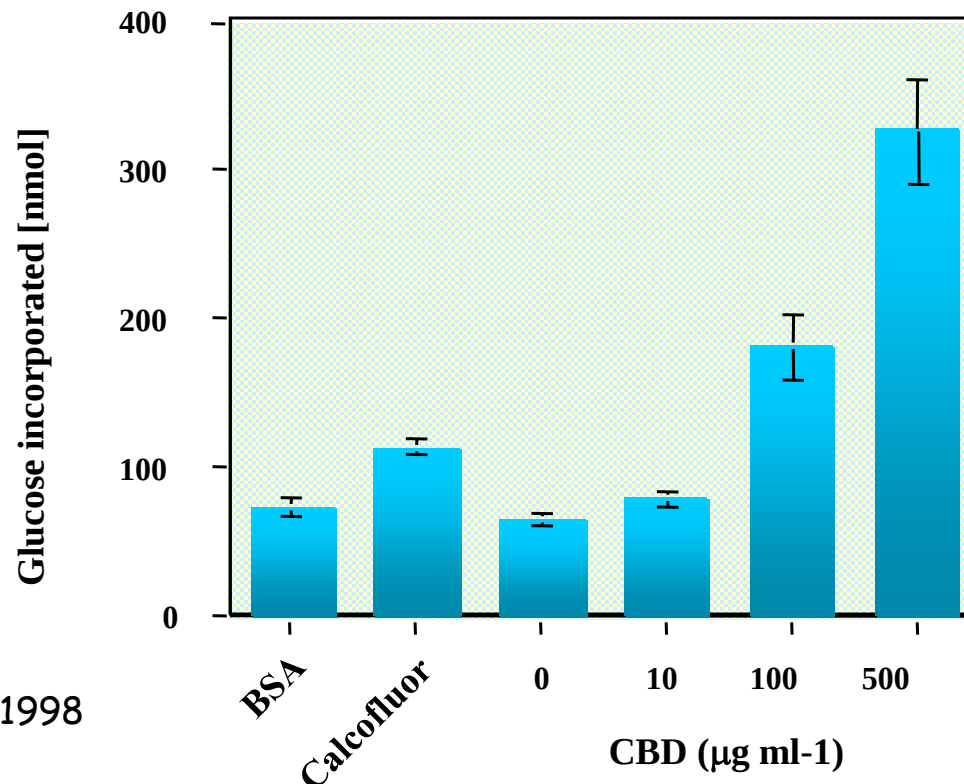
Fig. 4. Determination of the ratio A_{1280}/A_{1200} on deconvoluted spectra of wood section.



UMR-PIAF (Clermont Ferrand)



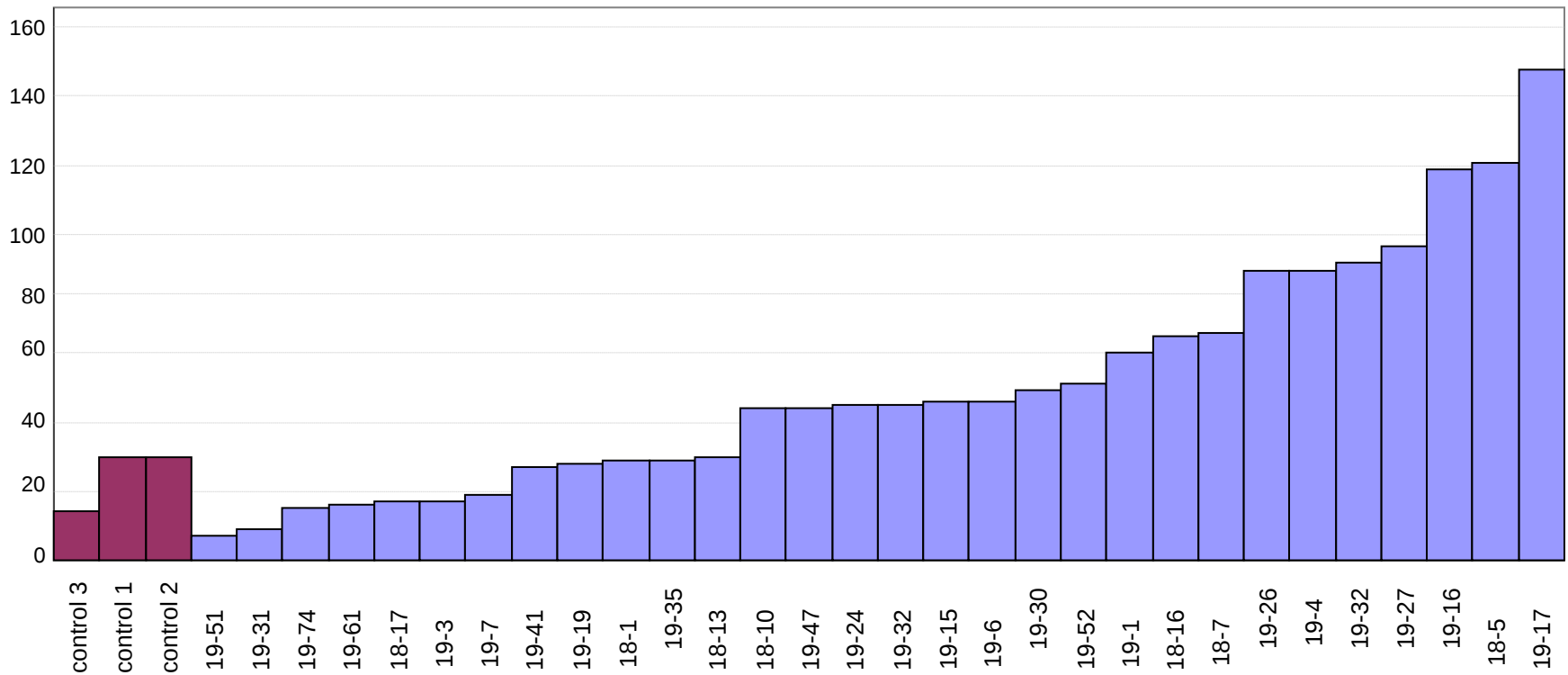
CBD augmente l'activité de biosynthèse de la cellulose chez une bactérie, *Acetobacter xylinum*



Shpigel et al Plant Physiol 1998

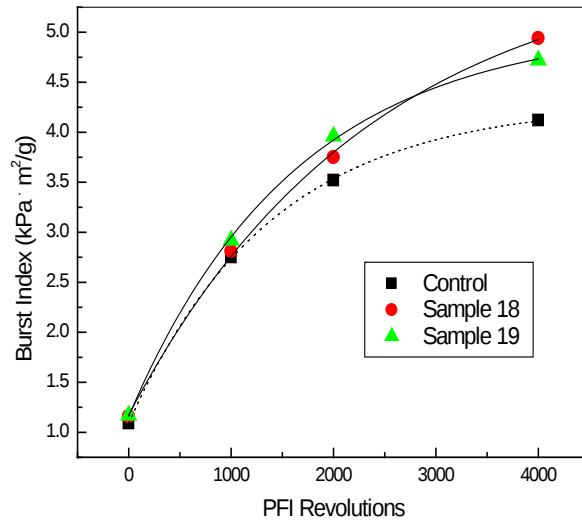
Glucose incorporation in the presence of increasing concentrations of CBD, 100 μg/ml BSA (neg. control), or 1 mM calcofluor (pos. control).

Production de biomasse chez des peupliers transgéniques exprimant des CBD (après deux ans en champ)



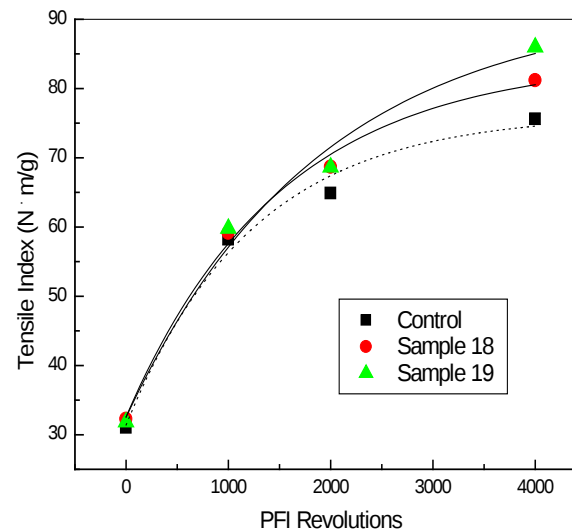
(Shoseiov et al., unpublished)

Burst



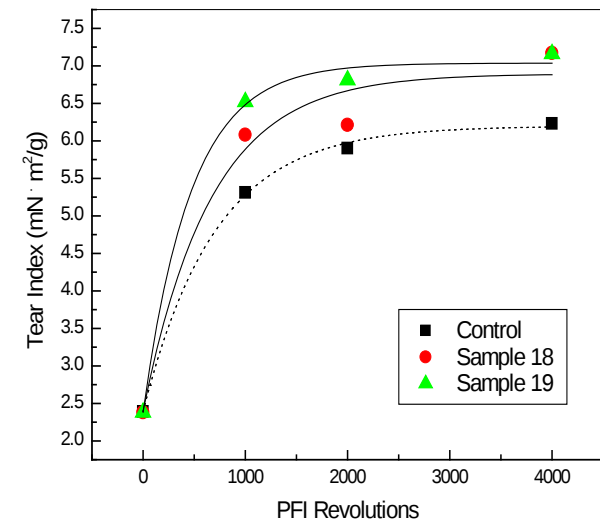
Burst Index vs. PFI refining of modified and control pulp samples

Tensile



Tensile Index vs. PFI refining of modified and control pulp samples

Tear



Tear Index (4-ply tear) vs. PFI refining of modified and control pulp samples

(Shoseiov et al., unpublished)

Conclusions de l'évaluation des peupliers à faible activité CAD

Les modifications de propriétés du bois sont maintenues dans les arbres élevés en champ pendant 4 ans.

Mêmes tendances observées en France et en Angleterre

Pas d'effets apparents des modifications des lignines sur les performances agronomiques des arbres transgéniques en champ

Les lignines de la lignée ASCAD21 sont plus faciles à retirer du bois pendant le procédé Kraft

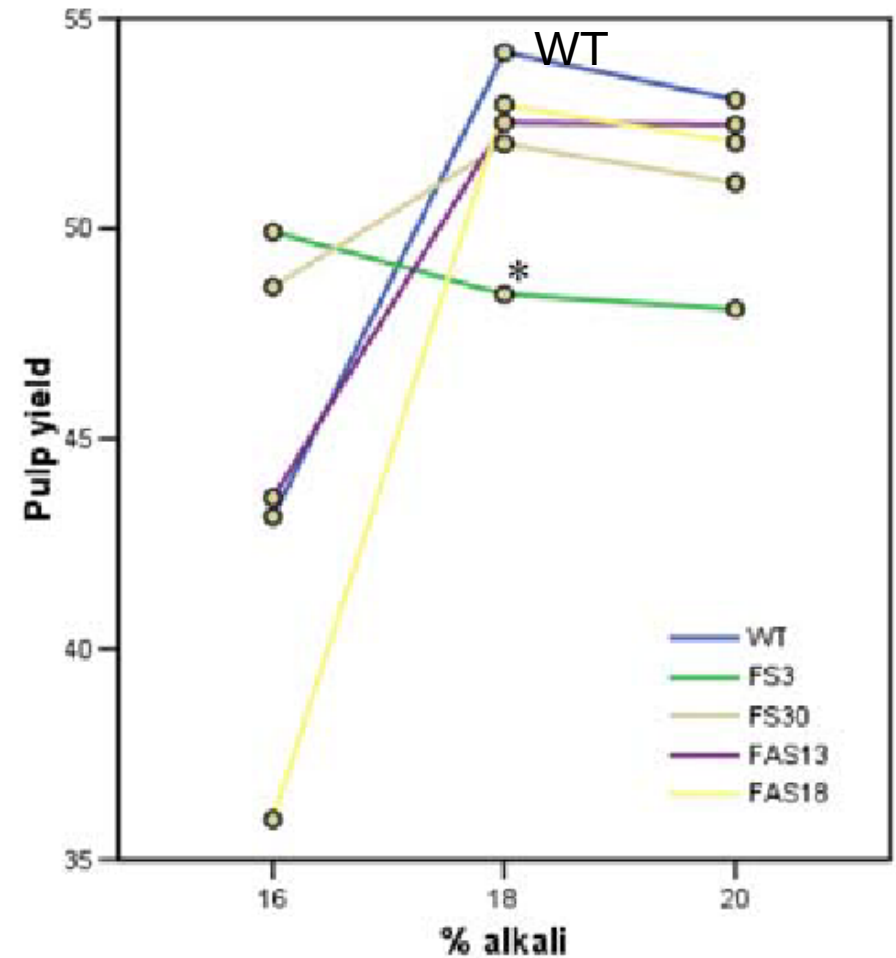
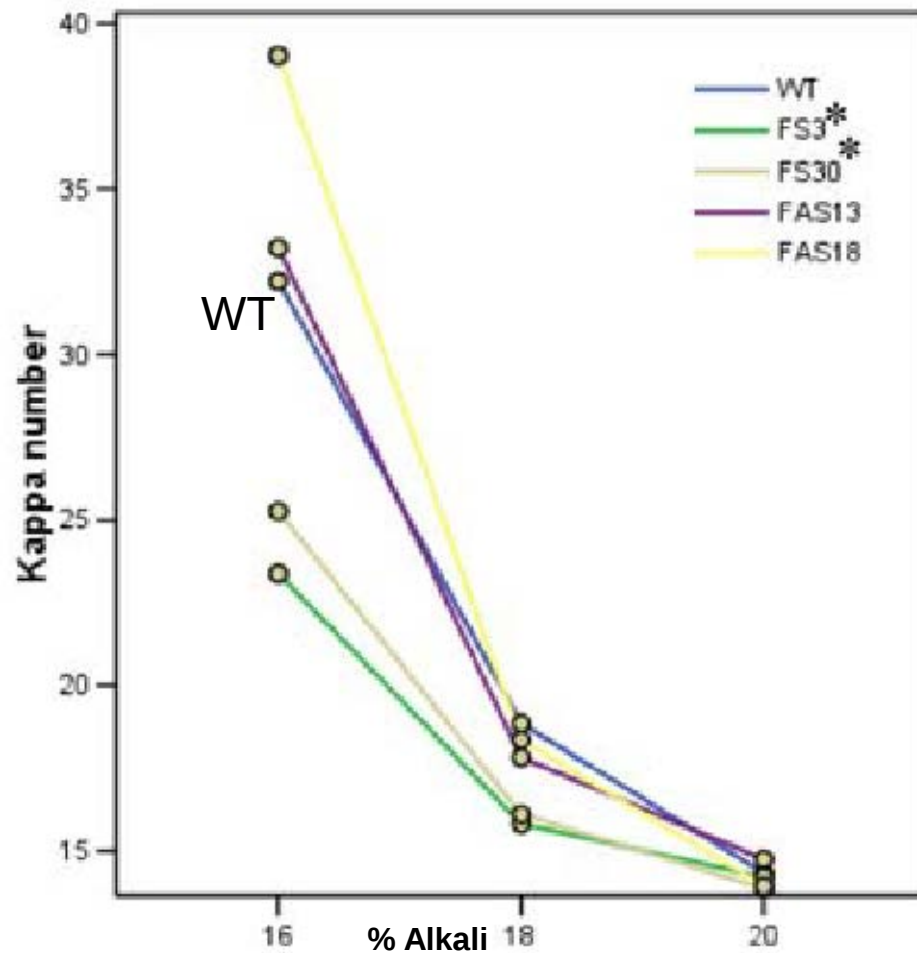
Faisabilité de produire par génie génétique un bois aux propriétés améliorées pour l'homme

Caractéristiques papetières du bois des peupliers à faible activité CCR

ECB* Alternattech, Eurocol'Agro

Val'Fibres 11 mai 2006 Compiègne

INRA Réseau Français des Parois



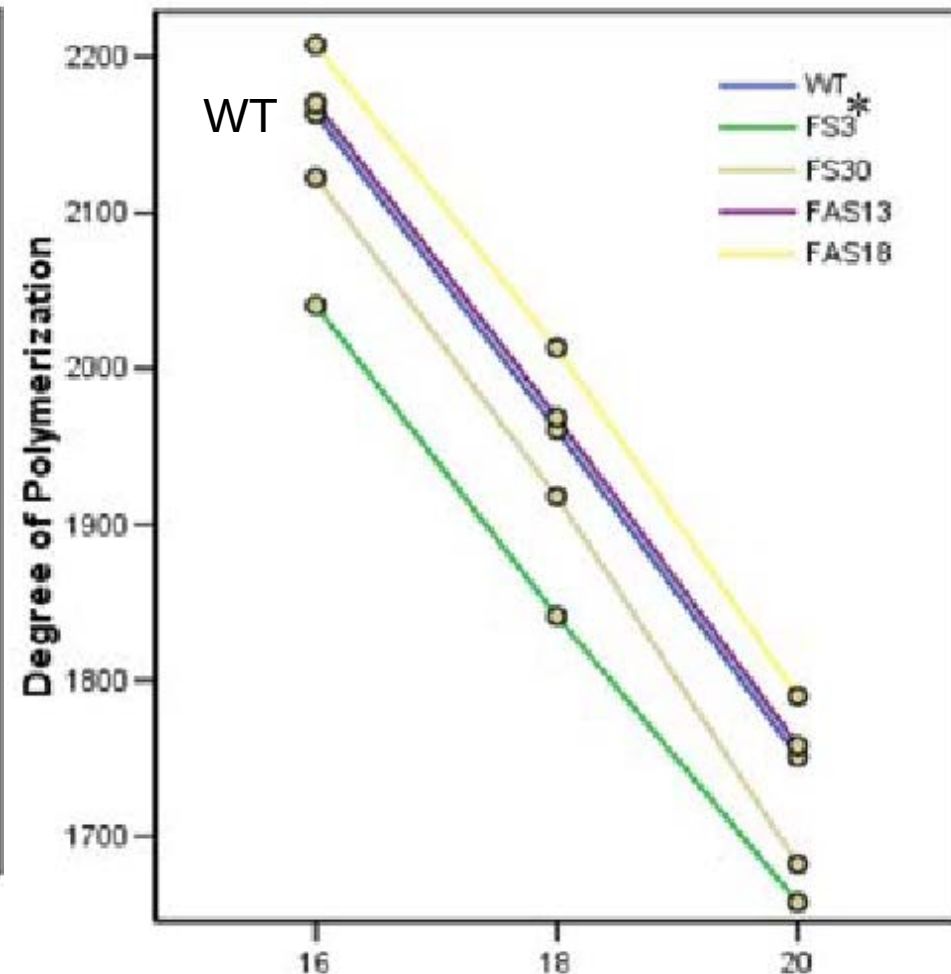
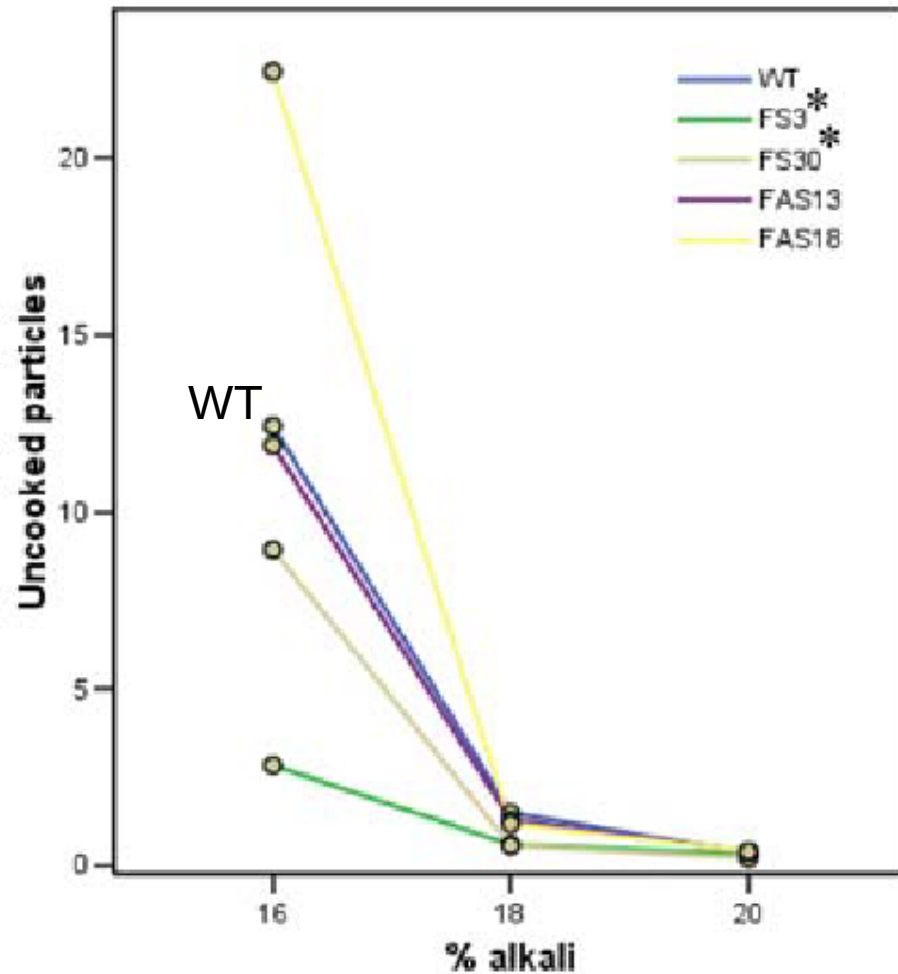
(M. Petitconil, CTP, Grenoble)

Caractéristiques papetières du bois des peupliers à faible activité CCR

FCRN - Alternattech - Eurocol'Agro

Vald'Isère - 11 mai 2006 - Comptéone

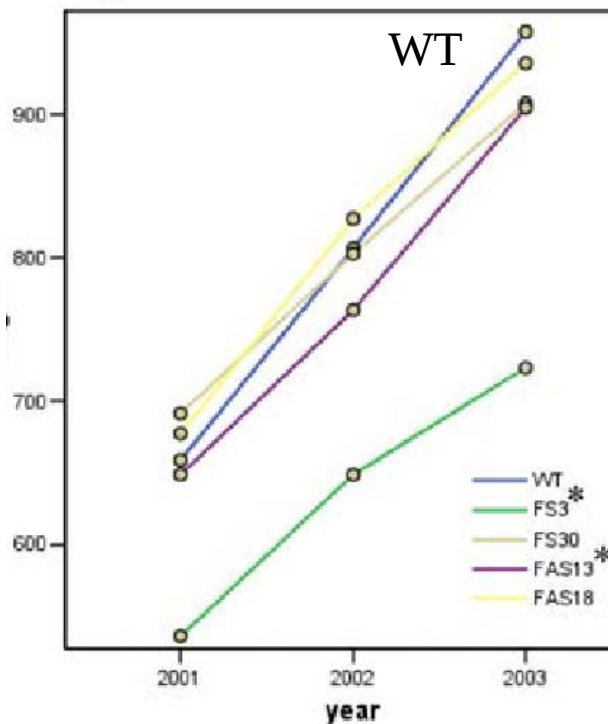
INRA - Zénon Ponsard - Les Paroiss



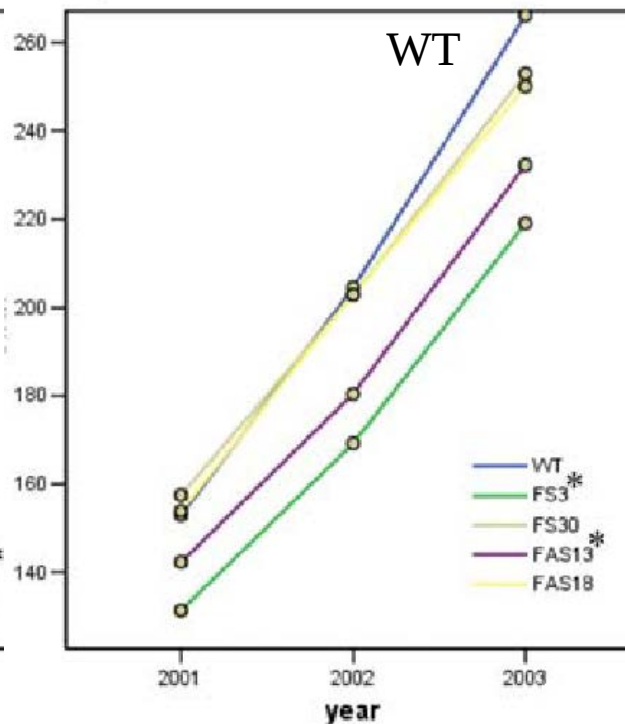
(M. Petitconil, CTP, Grenoble)

Performance agronomique des peupliers à faible activité CCR

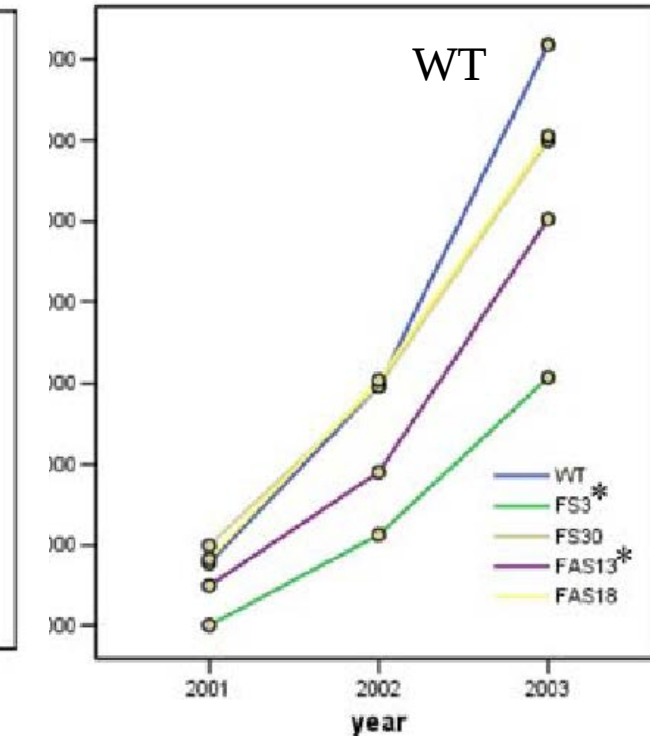
Hauteur



Diamètre

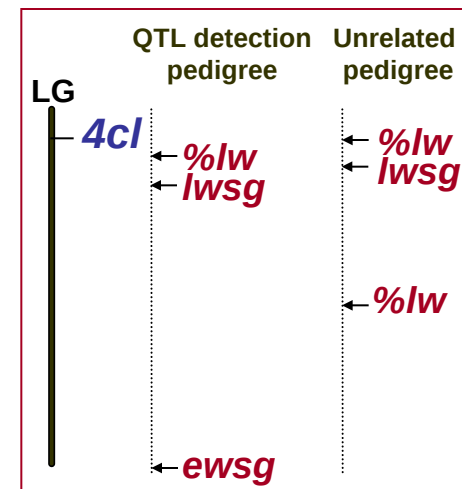
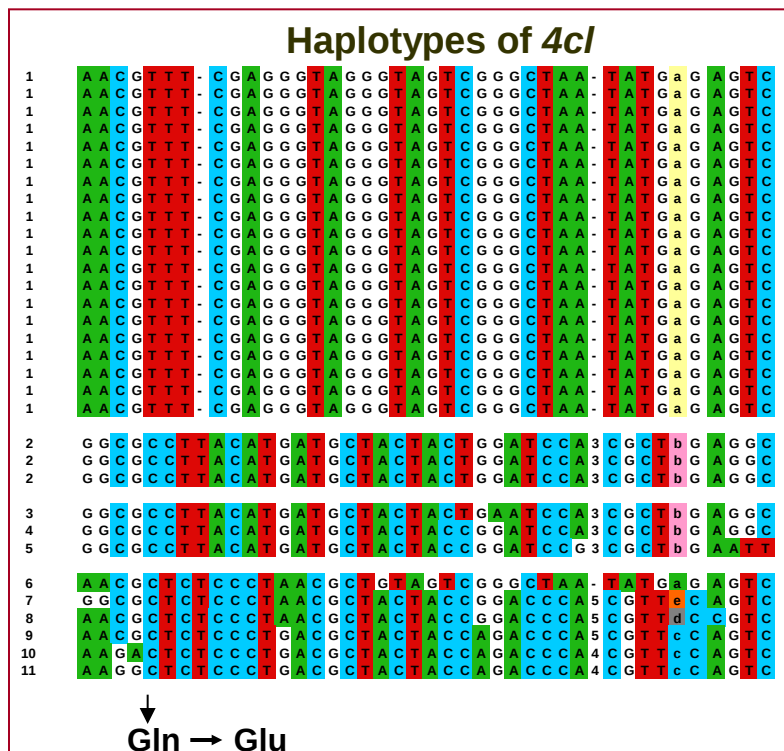


Volume



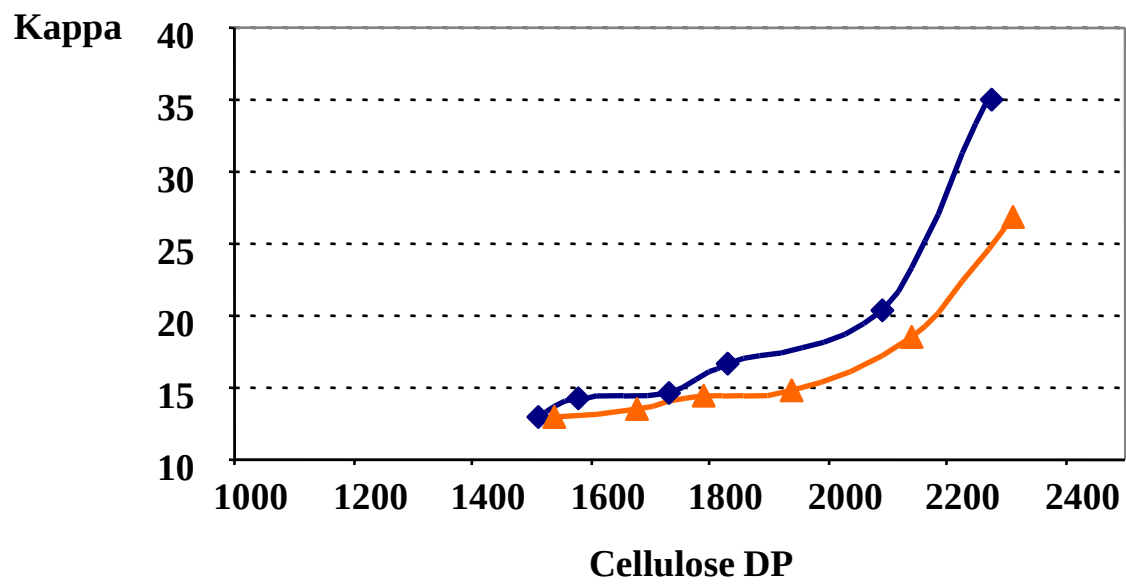
Effets important de la modification génétique sur la croissance des arbres en champ

- Exemple d'étude d'association pour un caractère de qualité du bois (Brown et al., 2003)



Trait	Rings Genotype	Mean	F	Pr>F
%latewood(3-5)	cc	0.121	6.16	0.014
	gc	-2.318		
%latewood(11-15)	cc	0.165	9.72	0.002
	gc	-4.852		

Il reste à réunir les compétences nécessaires à l'évaluation de l'importance de gènes candidats pour d'autres utilisations du bois...

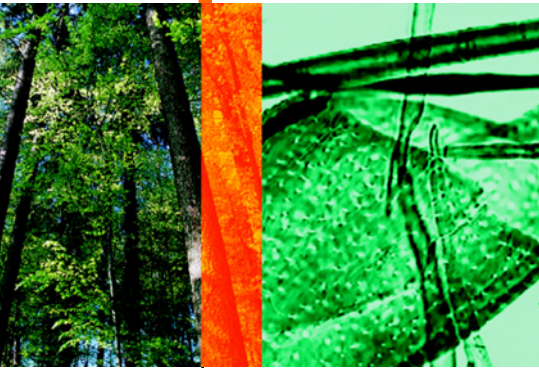


Biotechnologie et connaissance des plantes

- 9h20** **Introduction générale sur les biotechnologies végétales**
Bernard Kurek, *INRA Reims*
- 9h30** **Apport des biotechnologies sur la compréhension des mécanismes de la formation du bois** - Deborah Goffner, *CNRS Toulouse*
- 10h00** **Biotechnologie et maturation des fibres de lin**
Simon Hawkins, *Université de Lille*
- 10h30** **Biotechnologie et qualité du bois à finalité papetière et matériau**
Gilles Pilate, *INRA Orléans*
- 11h00** ***Pause***
- 11h30** **Discussion débat**
- 12h30** ***Déjeuner***

Applications

- 14h00** **Apport des biotechnologies enzymatiques en papeterie**
Michel Petit-Conil, *Centre Technique du Papier*
- 14h30** **Biotechnologies appliquées au textile**
Philippe Mesnage, *IFTH Lille*
- 15h00** **Biotechnologie et valorisation de la plante entière**
Michaël O'Donohue, *INRA Reims*
- 15h30** **Discussion débat**
- 16h30** **Conclusion**
Bernard Kurek, *INRA Reims*



Apport des biotechnologies enzymatiques en papeterie

Michel Petit-Conil

ValoFibres: Les biotechnologies appliquées aux fibres végétales
Compiègne, le 11 mai 2006



- ▶ Dans le milieu naturel, les micro-organismes sont capables d'attaquer, de modifier ou de dégrader les différents composés des matériaux lignocellulosiques (lignine, polysaccharides, pectines, extractibles).
- ▶ Les enzymes en combinaison ou non avec des produits chimiques naturels sont les catalyseurs naturels de réactions se produisant avec les substances dont elles assurent la transformation chimique.
- ▶ Si certaines enzymes participent à la formation des composés chimiques de la fibre, certaines sont capables d'induire des effets contraires.
- ▶ Le développement des biotechnologies enzymatiques en papeterie consiste en la reproduction de réactions naturelles à plus grande vitesse facilitant la préparation des fibres.

- ▶ Les enzymes ont été utilisées pour la première fois dans les procédés papetiers en 1959 sur des pâtes chimiques blanchies de bois pour faciliter la libération des microfibrilles de cellulose lors du raffinage (amélioration des propriétés mécaniques de la feuille de papier).
 - ▶ Mais le développement des biotechnologies enzymatiques dans l'industrie papetière n'est devenu une réalité que dans les années 70, du fait de la production des biocatalyseurs en quantité suffisante pour des applications industrielles.
 - ▶ De nombreuses enzymes ont été isolées et produites:
 - Cellulases, hémicellulases,
 - Laccases, peroxydases,
 - Pectinases, lipases.
- pour des applications différentes:
- Préparation de la matière première
 - Blanchiment des pâtes à papier
 - Désencrage
 - Modification des fibres
 - Traitement des effluents

Préparation de la matière première

- ▶ Rouissage du lin, du chanvre et du jute (cellulases/hemicellulases)
- ▶ Élimination des matières extractibles (lipases), des pectines (pectinases) ou des tannins (tannases) de certains bois ou plantes annuelles avant mise en pâte chimique:
 - Élimination des problèmes de poix provenant des matières extractibles du bois
 - Réduction de la consommation en produits chimiques lors de la cuisson
- ▶ Traitement des copeaux par un cocktail cellulases, hémicellulases et pectinases avant mise en pâte chimique (1997):
 - Amélioration de la délignification et diminution de la consommation en produits chimiques de blanchiment
- ▶ Traitement des copeaux de bois pour faciliter la mise en pâte mécanique (économie d'énergie électrique):
 - Laccases de *Pycnoporus cinnabarinus*: environ 10-15% d'économie (travaux CTP 1999)
 - Xylanases appliquées sur des copeaux de bois feuillus: environ 25 à 30% d'économie (brevet logen Corporation/CTP 2005)
 - Pectinases appliquées sur des copeaux de résineux: 20% économie (Stora Enso 2001).

Blanchiment des pâtes chimiques

- ▶ Pour faciliter la délignification et le blanchiment des pâtes chimiques permettant une réduction de la consommation en produits chlorés.
- ▶ Dès 1983, différentes enzymes ont été étudiées: lignine peroxydase (1983), xylanases (2986), laccases associées à un médiateur (LMS 1993) et manganèse-peroxydases (1993). Des combinaisons sont possibles.
- ▶ Actuellement, seules les xylanases sont utilisées industriellement, permettant un gain de blancheur et des économies en ClO_2 de 8 à 15%.
- ▶ Les modifications génétiques ont permis de produire des xylanases résistantes à des pH allant jusqu'à 8.5 et des températures de 70°C.

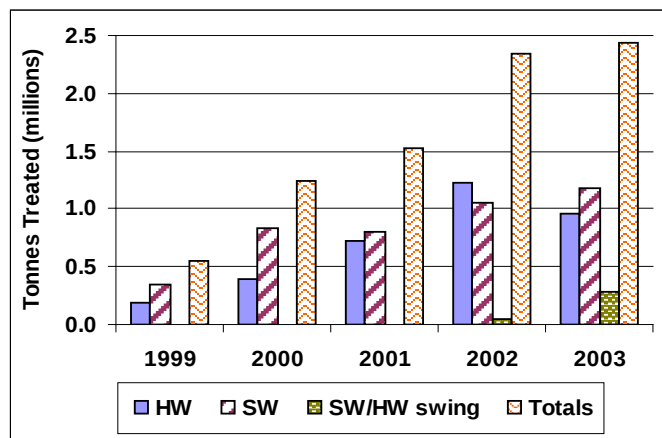


Figure 1: Annual North American pulp volumes treated with xylanases

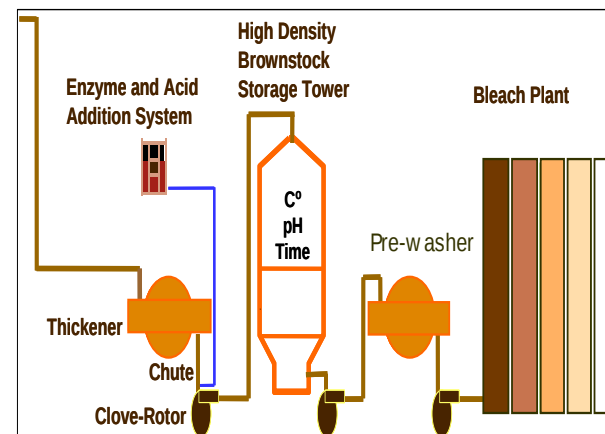


Figure 3: Typical brownstock application

Désencrage des papiers récupérés

- ▶ Pour faciliter le décrochage de l'encre dans les opérations de désencrage des papiers récupérés et limiter la perte en matériaux fibreux.
- ▶ Les premiers essais ont été faits avec des cellulases associées à un agent non-ionique.
- ▶ Les applications industrielles actuelles sont basées sur un cocktail d'enzymes (cellulases, lipases, hémicellulases) adapté à la matière première entrant dans le procédé.
 - Amélioration de la blancheur des pâtes désencrées
 - Élimination des stickies (particules collantes)
 - Amélioration des résistances mécaniques de la feuille de papier
 - Procédé largement utilisé en Europe, en Amérique du Nord et en Asie

Modification des fibres

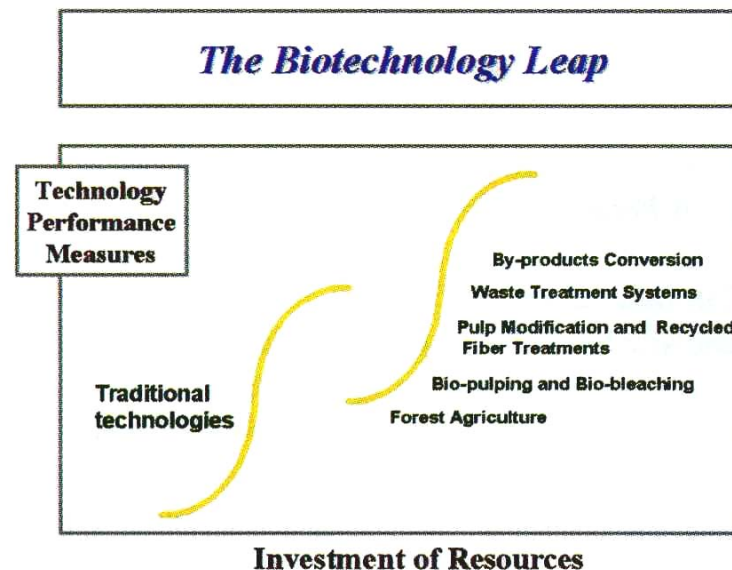
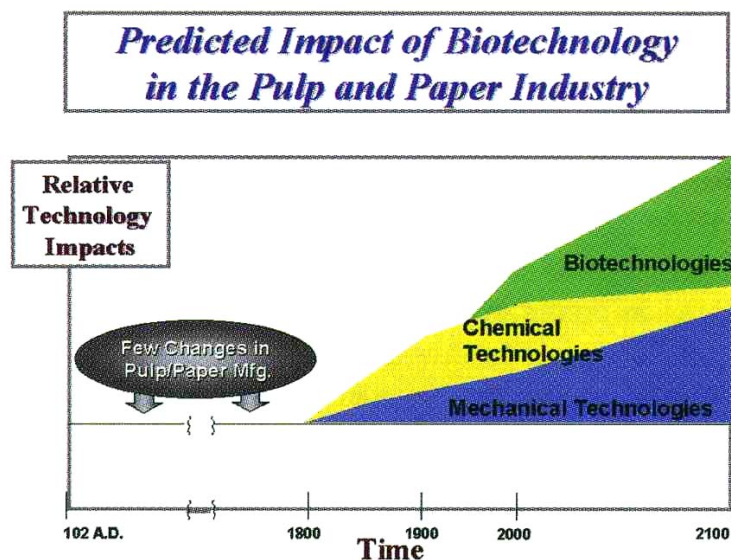
- ▶ Amélioration des propriétés des fibres: flexibilité, fibrillation, adsorption d'eau, propriétés mécaniques
- ▶ Amélioration des procédés de préparation de la pâte: aide au raffinage et à l'égouttage (endoglucanases, cellulases, hemicellulases, Mn-peroxydases):
 - Diminution de la consommation d'énergie électrique
 - Augmentation de la vitesse de la machine à papier
 - Amélioration de la formation de la feuille de papier
- ▶ Traitement des refus de classage de la pâte mécanique (cellobiose dehydrogenase I) pour diminuer la consommation énergétique du raffineur de refus
- ▶ Formation de nouveaux dérivés pour de nouvelles applications (peroxydases, laccases):
 - Greffage de nouvelles fonctions sur les fibres
 - Polymérisation de composés acryliques
 - Fabrication de panneaux de particules

Traitement des eaux de process

- ▶ Elimination des substances colloïdales et dissoutes des effluents pour faciliter leur ré-utilisation et la fermeture des circuits (estérases, mannanases, pectinases et enzymes oxydantes):
 - Diminution de la consommation en eaux fraîches dans les papeteries
 - Diminution de la consommation en produits chimiques ajoutés à la pâte pour améliorer la rétention et la formation de la feuille
- ▶ Elimination des dépôts intervenant sur la machine à papier (polymères formés à partir des polysaccharides dissous de la pâte et des protéines):
 - Utilisation d'amylase et de protéase
- ▶ Filtration des effluents: bio-filtre basé sur l'utilisation de *Trametes versicolor* dont les lipases et les laccases sont les matières actives.
 - Fermeture des circuits d'eaux
 - Procédé proche de l'utilisation industrielle
- ▶ Décoloration des effluents à la sortie de la station d'épuration et avant rejet dans le milieu récepteur.

- ▶ De nombreuses applications ont été mises en évidence pour l'industrie papetière.
- ▶ Les applications industrielles sont peu nombreuses: essentiellement utilisation de xylanases pour le blanchiment des pâtes chimiques et utilisation de cocktails d'enzymes pour le désencrage des papiers de récupération.
- ▶ Le développement d'enzymes pour d'autres applications industrielles favorise la disponibilité d'enzymes spécifiques pour des utilisations en papeterie.
- ▶ Une implémentation réussie des biotechnologies en papeterie nécessite une bonne connaissance des mécanismes réactionnels et la combinaison optimale des traitements biologiques, mécaniques et/ou chimiques.
- ▶ Les biotechnologies sont considérées comme le futur saut technologique de la révolution industrielle.

- ▶ Moran (1998) considèrait que les biotechnologies seraient le principal agent de changement technologique de l'industrie papetière et la 5^e vague d'évolution technologique depuis la Révolution Industrielle
- ▶ L'industrie papetière doit attraper cette vague et démontrer sa capacité d'évolution et d'adaptation aux nouvelles technologies.



Biotechnologie et connaissance des plantes

- 9h20** **Introduction générale sur les biotechnologies végétales**
Bernard Kurek, *INRA Reims*
- 9h30** **Apport des biotechnologies sur la compréhension des mécanismes de la formation du bois** - Deborah Goffner, *CNRS Toulouse*
- 10h00** **Biotechnologie et maturation des fibres de lin**
Simon Hawkins, *Université de Lille*
- 10h30** **Biotechnologie et qualité du bois à finalité papetière et matériau**
Gilles Pilate, *INRA Orléans*
- 11h00** ***Pause***
- 11h30** **Discussion débat**
- 12h30** ***Déjeuner***

Applications

- 14h00** **Apport des biotechnologies enzymatiques en papeterie**
Michel Petit-Conil, *Centre Technique du Papier*
- 14h30** **Biotechnologies appliquées au textile**
Philippe Mesnage, *IFTH Lille*
- 15h00** **Biotechnologie et valorisation de la plante entière**
Michaël O'Donohue, *INRA Reims*
- 15h30** **Discussion débat**
- 16h30** **Conclusion**
Bernard Kurek, *INRA Reims*

ECRIN - Alternattech- Europol'Agro
De l'idée...



Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne
ifth
Activateur de projets



INRA - Réseau Français des Parois
... au produit



BIOTECHNOLOGIES APPLIQUEES AU TEXTILE

*Par Philippe MESNAGE IFTH Lille
Valofibres du 11 Mai 2006*



BIOTECHNOLOGIES APPLIQUEES AU TEXTILE

- 1) La biotechnologie des enzymes dans le textile.
- 2) Recherches et applications dans le domaine des biotechnologies textiles.
- 3) Exemple de recherches menées à l'IFTH dans le domaine des biotechnologies appliquées aux fibres cellulosiques.



La Biotechnologie des enzymes dans le textile

Grâce à la biotechnologie, des **enzymes** sont utilisées pour **traiter et modifier les fibres** durant la fabrication, les traitements et l'entretien des textiles.

Certaines applications incluent : le désencollage du coton, le biopolissage, l'utilisation de détergents,...



La Biotechnologie des enzymes dans le textile

Le désencollage du coton:

L'**amylase** est une enzyme très utilisée dans le désencollage car elle n'affaiblit pas ou n'affecte pas les fibres de coton et ne présente aucun danger pour l'environnement.

Le biopolissage (jeans) :

Des enzymes (**cellulases**) peuvent être utilisées pour donner aux tissus l'effet de délavage à la pierre et les polir sans endommager les fibres avec l'utilisation de produits abrasifs.



La Biotechnologie des enzymes dans le textile

Les détergents:

Les enzymes permettent aux détergents de nettoyer efficacement les vêtements et d'enlever les taches.

Leur utilisation permet de diminuer les températures de lavage et de diminuer l'action mécanique.

Actuellement, seules des **protéases** et des **amylases** sont incorporées aux détergents; les lipases se décomposent trop facilement dans les machines à laver pour être utiles dans les détergents.



Recherches et applications dans le domaine des biotechnologies textiles

Fibres nouvelles:

Certaines fibres synthétiques fabriquées à partir de ressources renouvelables commencent à faire leur apparition sur le marché.

Un exemple de fibre synthétique provenant de la biomasse est l'acide polylactique (PLA) , qui est obtenu en fermentant de la fécula de maïs ou du glucose en acide lactique, et en la transformant chimiquement en fibre par polymérisation ou polycondensation.



Recherches et applications dans le domaine des biotechnologies textiles

Fibres biologiques naturelles:

Certaines fibres biologiques naturelles proviennent de matériaux de base que l'on trouve dans la nature; quelques exemples :

- La **chitine** : polymère glucidique que l'on trouve dans les crustacés.
- Le **collagène**: protéine que l'on trouve dans les tissus conjonctifs des animaux.
- L'**alginate**: polymère glucidique que l'on trouve dans les algues marines.



Recherches et applications dans le domaine des biotechnologies textiles

Textiles pour applications médicales:

Ces fibres synthétiques biodégradables (PLA) ou biologiques naturelles peuvent être utilisées pour fabriquer des textiles destinés à des applications médicales.

De tels textiles peuvent être utilisé lors de premiers soins, les pratiques cliniques et dans le domaine de l'hygiène.

Ci après quelques exemples d'applications:



Recherches et applications dans le domaine des biotechnologies textiles

Textiles pour applications médicales:

Polymère	Utilisation
PLA	Sutures, produits résorbables de sutures, épingles absorbables utilisées en orthopédie et les dispositifs de fixation,...
Chitine	Incorporation dans les pansements.
Collagène	Utilisation dans le génie des structures des cellules, comme dans le cas de peau artificielle, ou comme fil de chirurgie.
Alginate	Protection et interaction avec les blessures.



Exemples de recherches menées à l'IFTH dans le domaine des biotechnologies appliquées aux fibres cellulosiques.

L'IFTH était le coordinateur d'un projet européen nommé **BIOLOSE** dans lequel les objectifs étaient de valoriser des matières cellulosiques déclassées telles que :

- Les **lins sous-rouis**
- Les **cotons collants**

grâce à l'utilisation des biotechnologies (applications d'**enzymes** et/ou de **microorganismes**).

Les partenaires du projet étaient : **IFTH** (coordinateur) ; **LINIFICIO** (filateur de lin ; Italie) ; **THRAKIKI** (producteur et transformateur de coton ; Grèce) ; **LALLEMAND** (producteur de microorganismes ; France) ; **LYVEN** (producteur d'enzyme ; France).



Exemples de recherches menées à l'IFTH dans le domaine des biotechnologies appliquées aux fibres cellulosiques.

Les principaux résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont permis de :

- Mettre au point un nouveau traitement de **dégommage enzymatique** des mèches de lin sous-roui dans le procédé de filature au mouillé.
- Développer une nouvelle méthode de transformation capable de réduire le collage des cotons collants par **pulvérisation de micro-organismes** spécifiques.



Traitement des lins sous-rouis.

Effet du sous-rouissage:

- L'utilisation de lins sous-rouis engendre des **difficultés de transformation** lors de la préparation à la filature (mauvaise dissociation des fibres) ainsi qu'un **taux de casse élevé** sur le continu à filer.
- La **régularité et la qualité des fils** obtenus sont amoindries.



Traitement des lins sous-rouis.

Recherche:

1) Traitements plein bain:

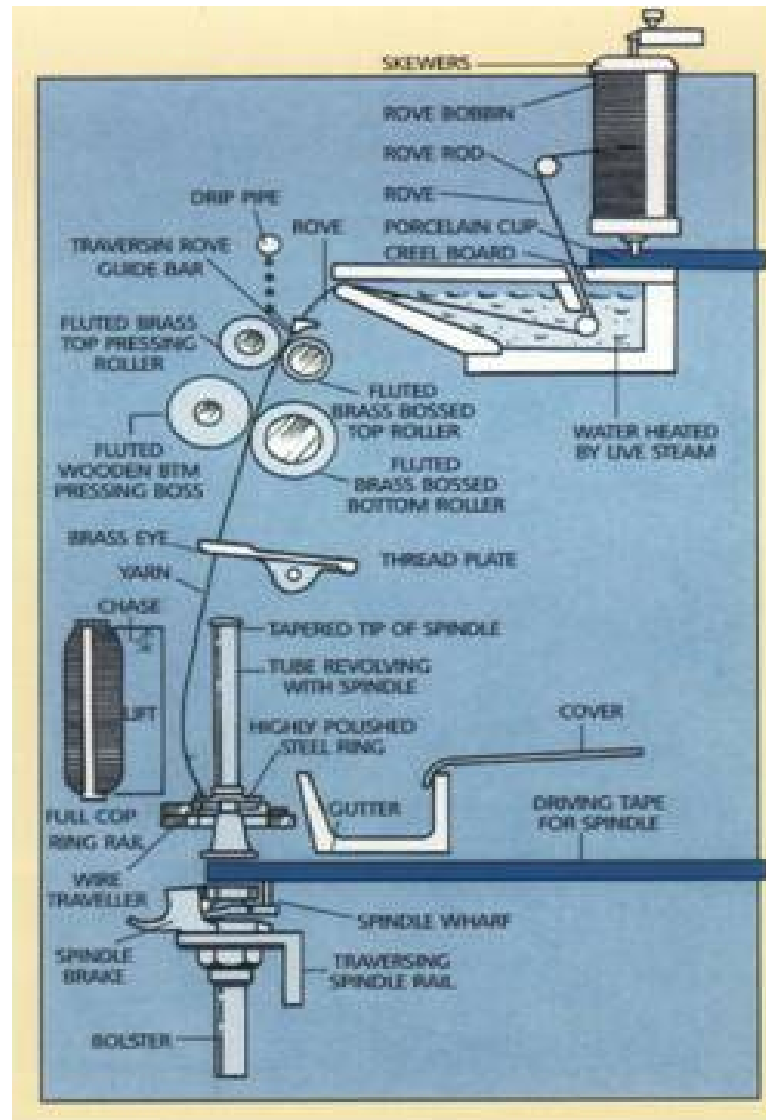
- Etudier l'effet de la substitution du dégomme chimique par un traitement enzymatique ciblé au stade des mèches de banc à broches dans le cadre de la filature au mouillé.

2) Traitement par pulvérisation:

- Etudier l'effet d'un traitement par pulvérisation d'enzymes et/ou de microorganismes sur lin teillé.
- Impacts en filature au mouillé.



Continu à filer lin au mouillé



Traitement des lins sous-rouis.

Recherche: Traitements plein bain

- Différentes enzymes, exemptes de celluloses développées par LYVEN (essentiellement à base de **polygalacturonase et pectinase**) ont été testées à des concentrations pouvant varier entre 5 et 15 g/l.
- Des essais de filature (26.5 Nm) ont montré que l'on pouvait obtenir à partir de certaines d'entre elles , des **niveaux de qualité** de fil comparable à ceux obtenus pour les **produits standards** de LINIFICIO, partenaire du projet.



Traitement des lins sous-rouis.

Recherche: Traitements par pulvérisation

- Différents traitements par pulvérisation d'enzymes à des concentrations comprises entre 2 et 5g/l (LYVEN) et/ou de microorganismes (LALLEMAND) ont été effectués sur lin teillé.
- Ces traitements n'ont montré que peu d'effets sur la divisibilité des fibres durant la préparation « mécanique ».
- Certains de ces traitements ont cependant révélé leur effet lors du dégommage chimique subséquent réalisé dans le cadre de la filature au mouillé et ont permis d'atteindre une **qualité comparable aux standards LINIFICIO**.



Traitement des cotons collants.

Origine du collage:

Lors de la phase de culture du coton, la fibre de coton peut être dans certaines zones géographiques sensibles, être exposée à des **dépôts de sucres**.

Ceux-ci proviennent des insectes présents sur la plante qui excrètent des miellats riches en sucres:

- Le **mélézitose** provoqué par le puceron du coton.
- Le **tréhalulose** provoqué par la mouche blanche.



Traitement des cotons collants.

Effets du collage:

- Impact important sur la transformation du coton.
- **Arrêts de machines** de nettoyage et de préparation.
- **Enroulements** au niveau des machines de transformation telles que le banc à broches ou des continus à filer, principalement au niveau de la zone d'étirage.



Traitement des cotons collants.

Recherche:

- La Société LALLEMAND a identifié une **souche de ferment lactique** très spécifique qui métabolise les sucres en cause.
- Des essais de filature ont été menés en laboratoire et à l'échelle pilote; les résultats ont montré:
 - Une **importante réduction du collage** des cotons traités en comparaison des cotons non traités.
 - Que la qualité des fils n'était pas affectée par le traitement.



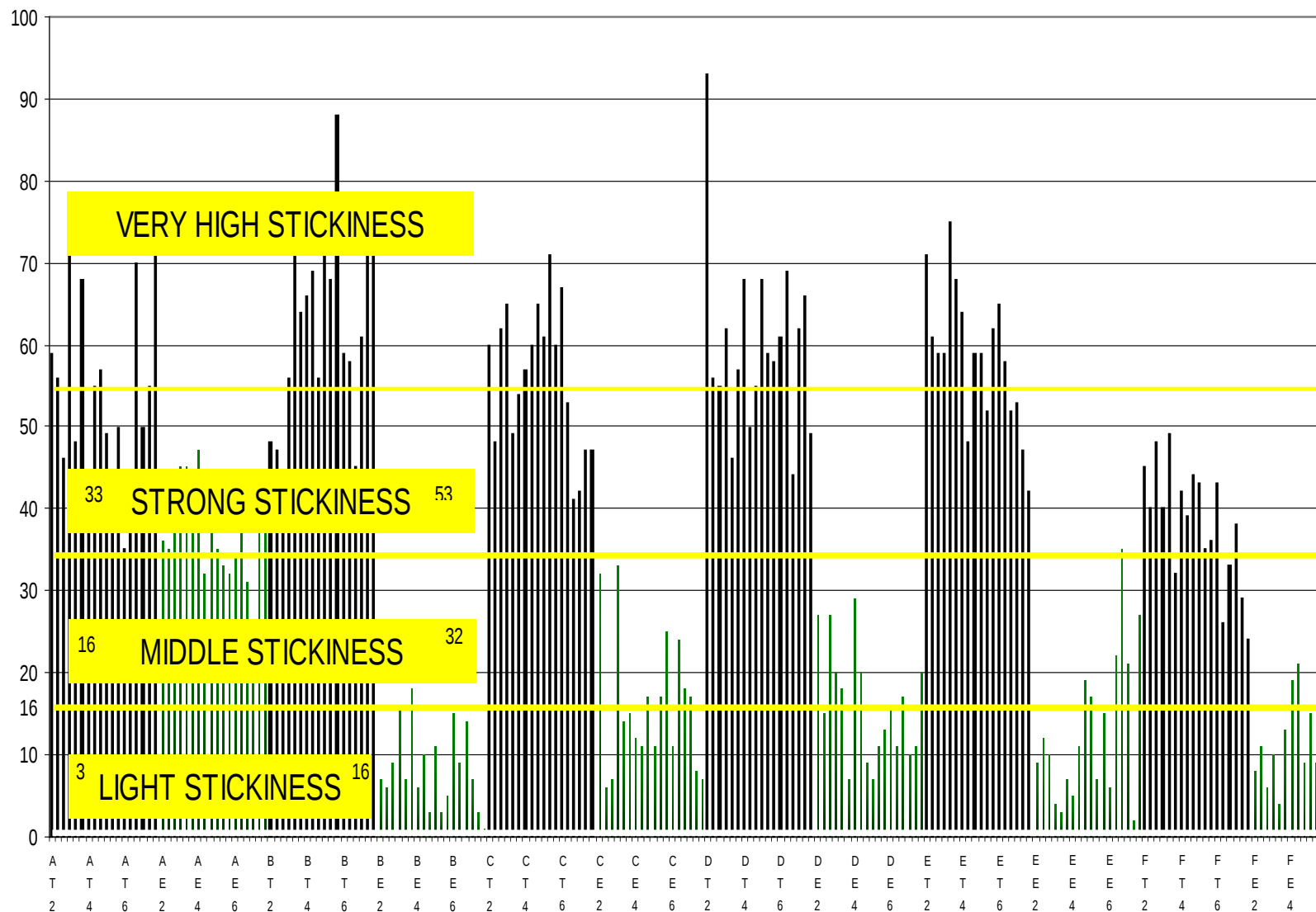
Traitement des cotons collants.



■ TEMOIN

CONTROL

■ LALSIL C



		BRIGHTNESS	YELLOWING	
CONTROL bale number	Resist (g/tex)	Rd 40 - 85	b 4 -18	Color Grade
7	33,5	81,5	6,8	M-WH
22	32,8	81,9	7,3	SM-WH
37	32,1	81,6	7,3	SM-WH
58	32,4	81,6	7,1	M-WH
73	32	81,3	7,4	SM-WH
89	31,5	82,3	7,3	SM-WH
Average	32,4	81,7	7,2	

		BRIGHTNESS	YELLOWING	
LALSIL bale number	Resist (g/tex)	Rd 40 - 85	b 4 -18	Color Grade
9	33,6	81,3	7,4	SM-WH
24	33,4	82,3	7,4	SM-WH
45	33,5	82,6	7,2	SM-WH
60	32	81,9	7,6	SM-WH
76	32,3	81,6	7,4	SM-WH
91	34,2	81,6	7	M-WH
Average	33,2	81,9	7,3	



Source : Laboratoire IFTH 2005



Traitement des cotons collants.

Mode d'application:

Le **LALSIL® Cotton** a été dissous dans l'eau et pulvérisé à hauteur de 2% de la masse sèche, afin que le taux de reprise des fibres de coton se situent en dessous de 8%(taux de reprise légal). Celui-ci a été appliqué à l'égrenage à l'aide d'une pompe péristaltique capable de pulvériser entre 1 et 10 % de la masse sèche .

20 grammes de produit sec suffisent à traiter 10 tonnes de coton.

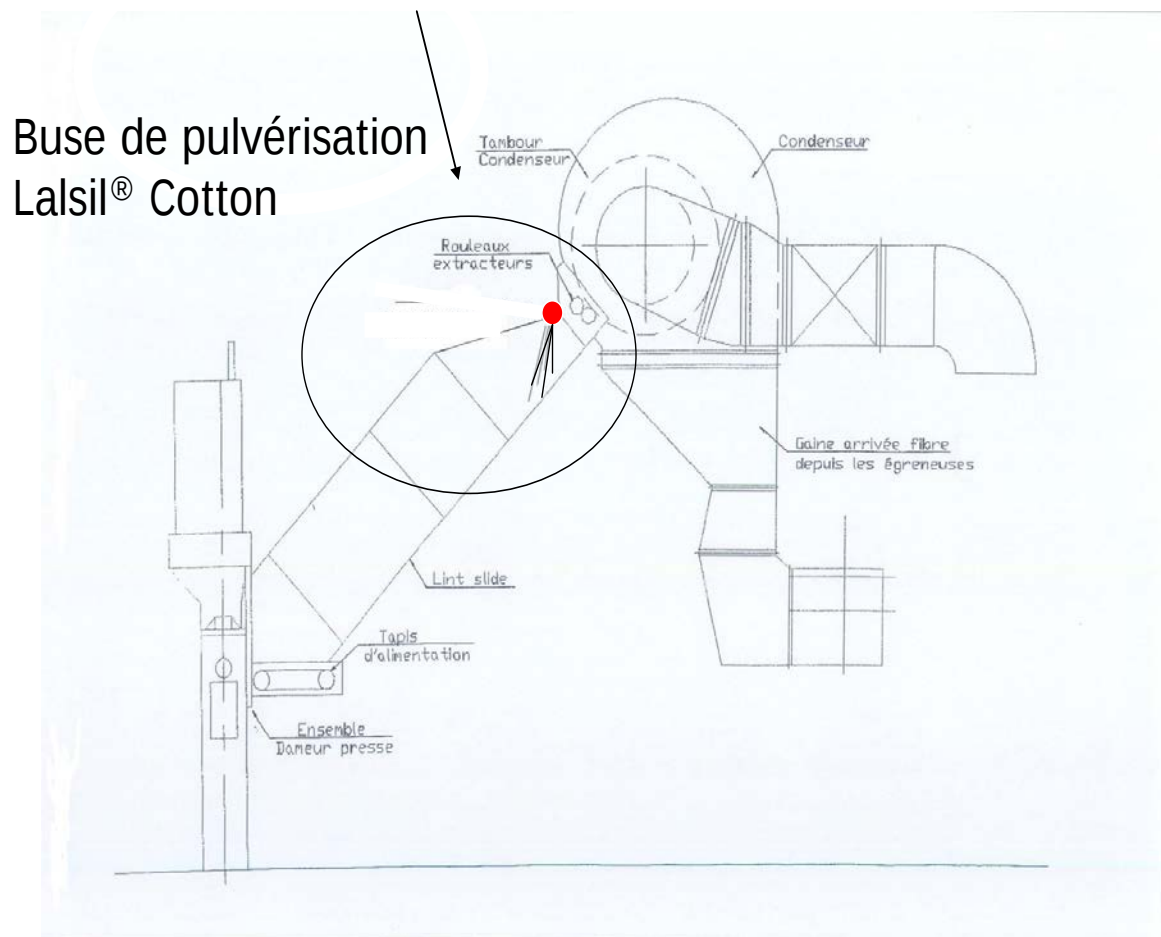


Traitement des cotons collants.



La cuve de 200 L et la **pompe** sont installées sous le condenseur avant la presse, au niveau du sol.

Traitement des cotons collants.



Traitement des cotons collants.



Traitement des cotons collants.

- **LALLEMAND** et l'**IFTH** ont breveté ce nouveau procédé tandis que LALLEMAND a créé la marque déposée : **LALSIL® Cotton**.
- L'ingrédient actif du **LALSIL® Cotton** est une **bactérie d'acide lactique** sélectionnée pour sa capacité à consommer les sucres responsables du collage du coton.
- Cette famille de bactéries est reconnue comme étant **sans danger** par les autorités et est fréquemment utilisée par l'industrie alimentaire.



Traitement des cotons collants.

LALSIL® Cotton peut être utilisé à toutes les étapes auxquelles le coton peut subir une pulvérisation, être mis en balle et stocké pendant plus d'une semaine.

Le coût du **LALSIL® Cotton** permet un retour sur investissement d'approximativement un sur dix si l'on traite le coton collant (par exemple pendant l'égrenage) et l'utilise ensuite comme coton non collant.



Biotechnologie et connaissance des plantes

- 9h20** **Introduction générale sur les biotechnologies végétales**
Bernard Kurek, *INRA Reims*
- 9h30** **Apport des biotechnologies sur la compréhension des mécanismes de la formation du bois** - Deborah Goffner, *CNRS Toulouse*
- 10h00** **Biotechnologie et maturation des fibres de lin**
Simon Hawkins, *Université de Lille*
- 10h30** **Biotechnologie et qualité du bois à finalité papetière et matériau**
Gilles Pilate, *INRA Orléans*
- 11h00** ***Pause***
- 11h30** **Discussion débat**
- 12h30** ***Déjeuner***

Applications

- 14h00** **Apport des biotechnologies enzymatiques en papeterie**
Michel Petit-Conil, *Centre Technique du Papier*
- 14h30** **Biotechnologies appliquées au textile**
Philippe Mesnage, *IFTH Lille*
- 15h00** **Biotechnologie et valorisation de la plante entière**
Michaël O'Donohue, *INRA Reims*
- 15h30** **Discussion débat**
- 16h30** **Conclusion**
Bernard Kurek, *INRA Reims*

Biotechnologie et valorisation de la plante entière

Michael J. O'Donohue



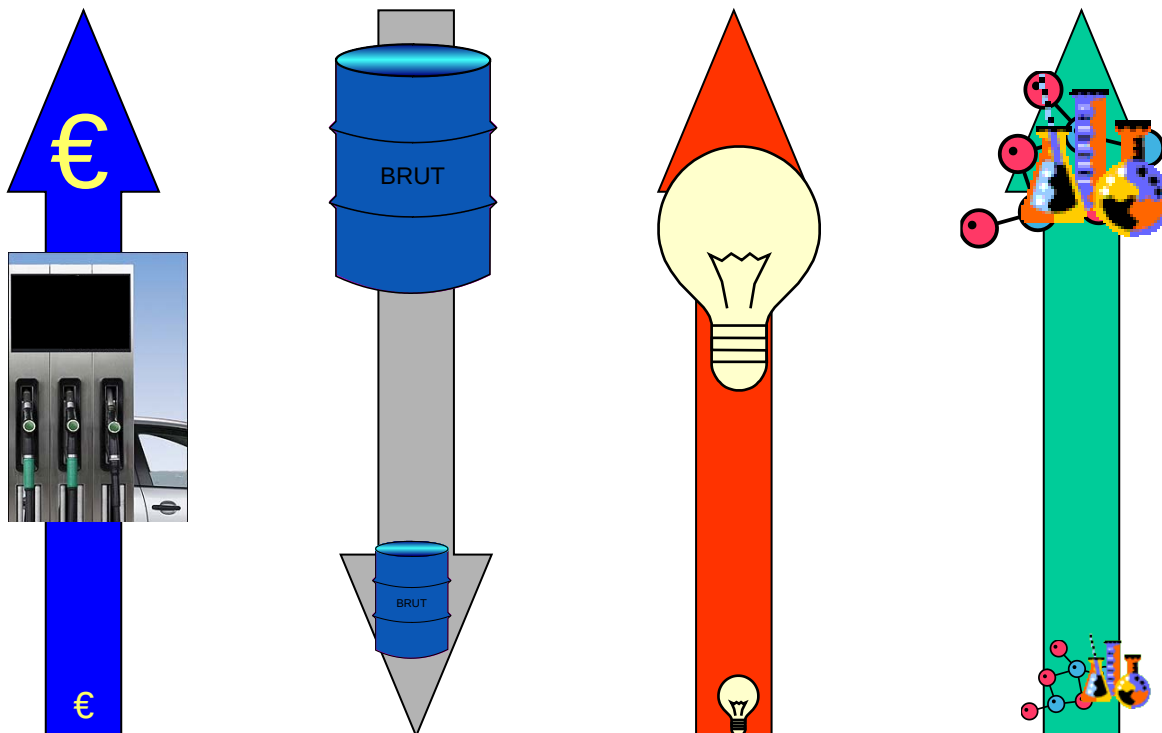
ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



Valoriser la plante entière

- Pourquoi faire?
- La biotechnologie, que peut-elle contribuer?
 - Quel est l'existant?
 - Que reste-t-il à développer?

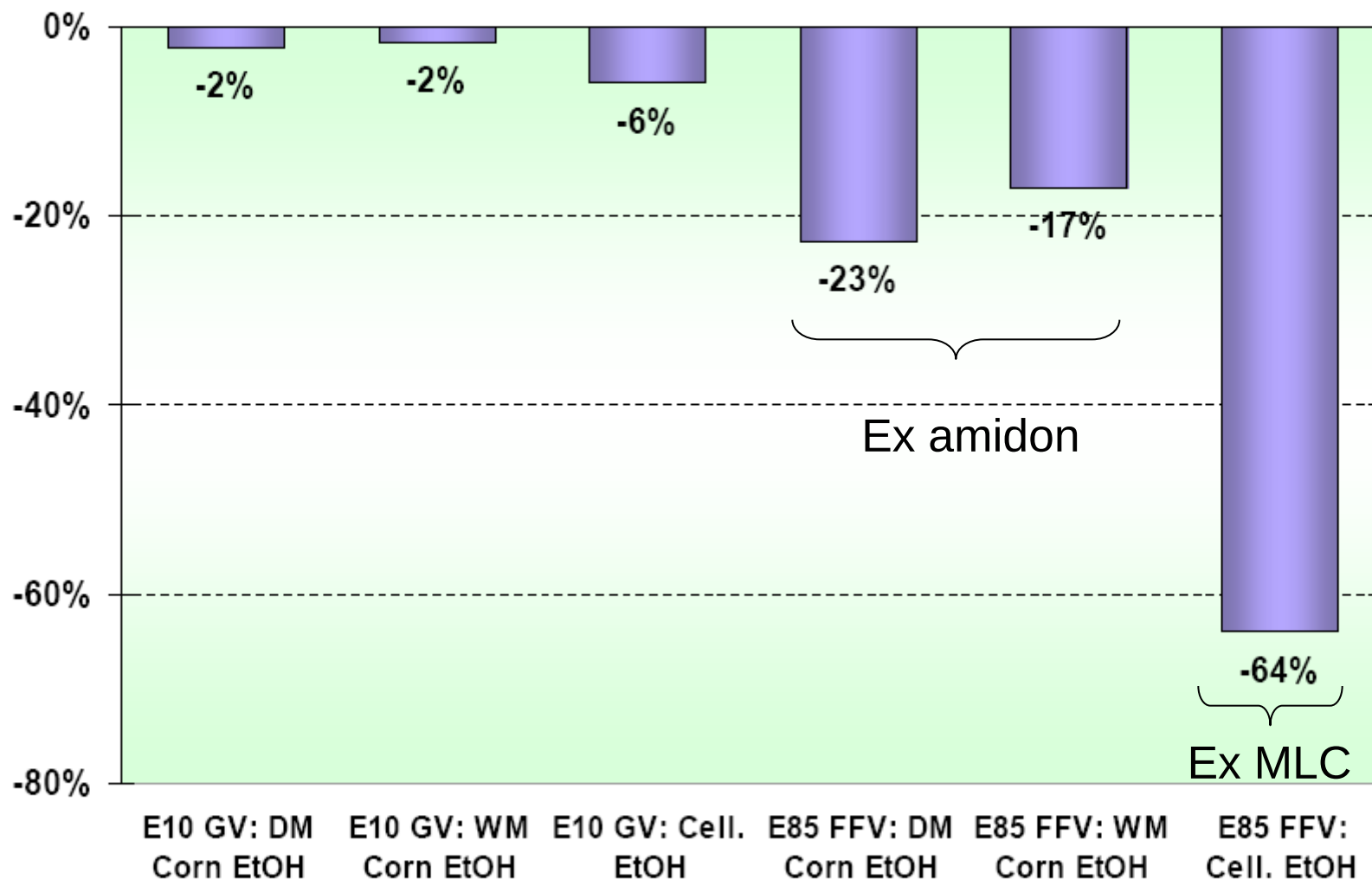
Une nécessité



ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Une question d'environnement



Reductions in Per-Mile GHG Emissions by Ethanol Blend to Displace Gasoline

Une question d'économie

- Amidon (diverses origines) 200 à 300 €/t
- Paille (blé) 35 à 45 €/t



La valorisation de la plante entière constitue un enjeu majeur pour la future stabilité des économies modernes



0,5 t grain



1 t blé



0,5 t paille

Production mondiale = 650 Mt

325 Mt grain



65 Mt son

162 Mt ← 325 Mt paille

Usages traditionnels



162 Mt

ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT



La bioraffinerie

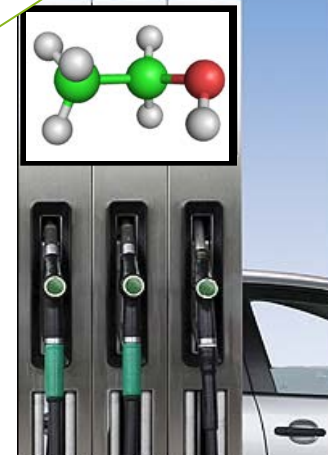
Utilisations alimentaires et traditionnelles



Commodités

Spécialités

Nutraceutiques, pharmaceutiques et cosmétiques

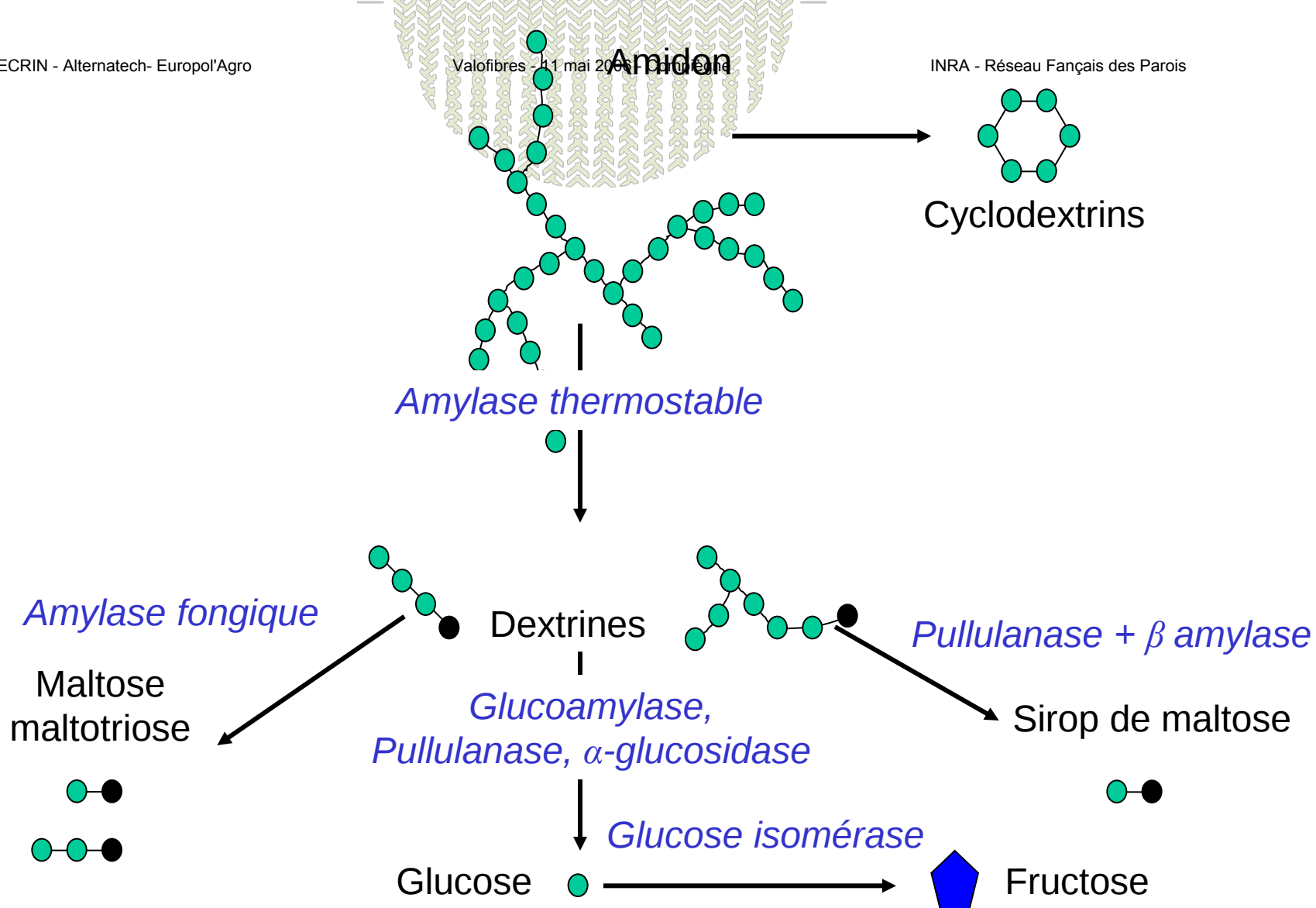


Valoriser la plante entière

- Pourquoi faire?
- La biotechnologie, que peut-elle contribuer?
 - Quel est l'existant?
 - Que reste-t-il à développer?

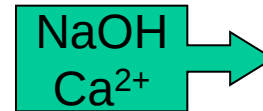
Liquéfaction

Saccharification



Améliorations du schéma actuel

R&D d'amylases nécessitant moins de Ca^{2+} , plus thermostables



Trempeage

pH 4.0-4.5, 50 °C
24-48 h

Liquéfaction

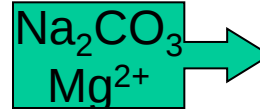
pH 5.8-6.2
105 °C 0.1 h
95 °C 1-2 h

HCl

R&D de pullulanases et de glucoamylases efficaces et thermostables travaillant à pH acide

Saccharification

pH 4.0-4.5, 60 °C
30-60 h



Isomérisation

pH 7.8, 60 °C
0.3-3 h

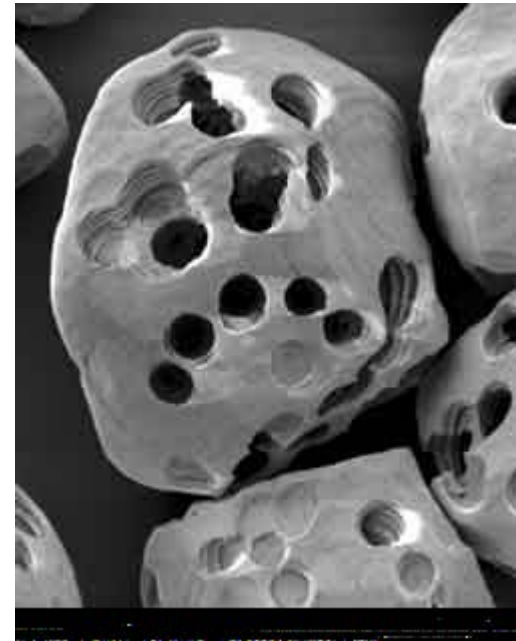
R&D visant la production de GI efficaces, ne nécessitant pas de co-facteurs indésirables
Immobilisation de GI

Développement d'un nouveau schéma

L'hydrolyse à froid

Développement d'enzymes capables de dégrader des granules d'amidon (“**raw starch hydrolyzing enzymes**”)

Recherche de nouvelles enzymes et création d'enzymes fusionnées avec des modules de fixation d'amidon brut (“**raw starch binding domains**”)



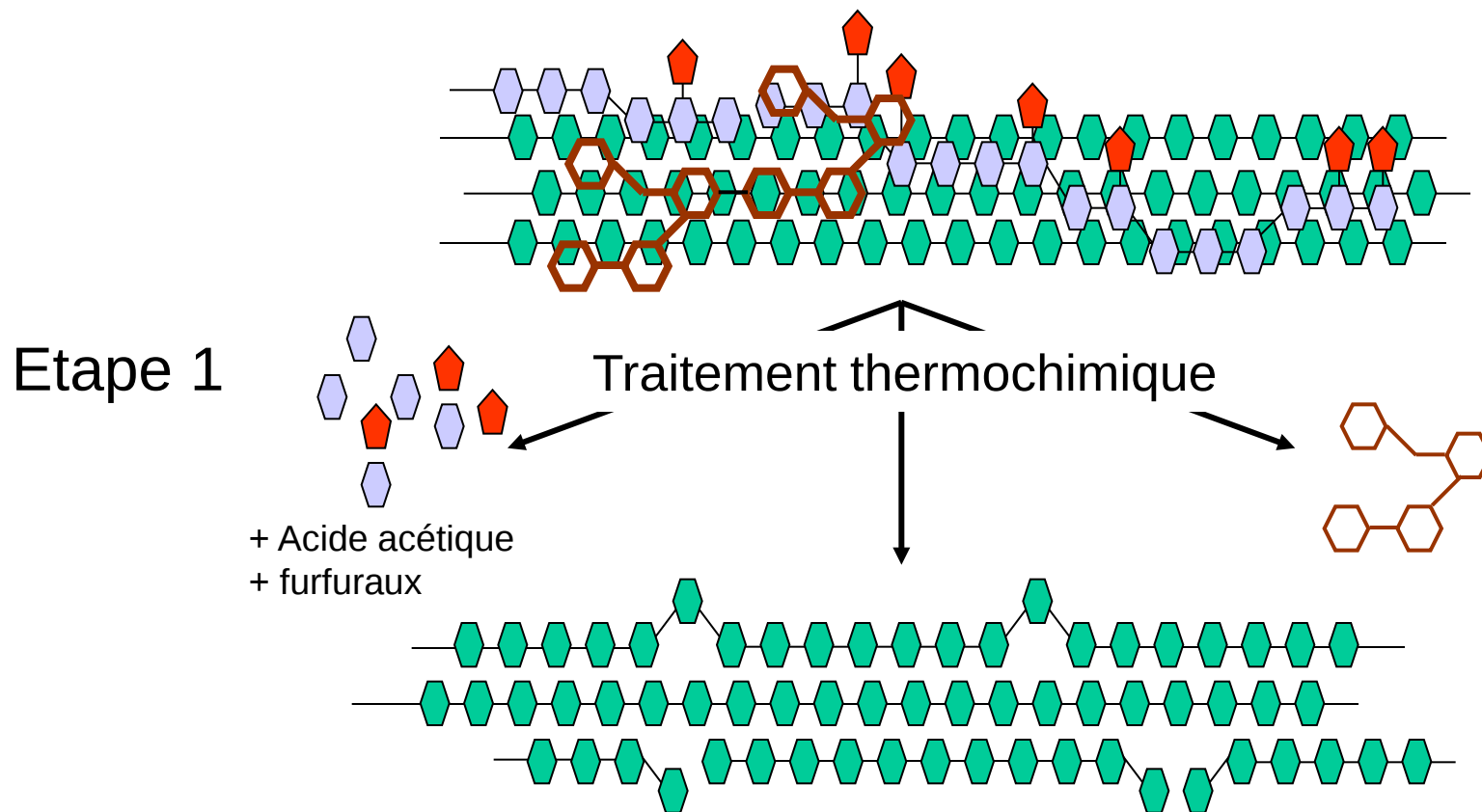
Valoriser la plante entière

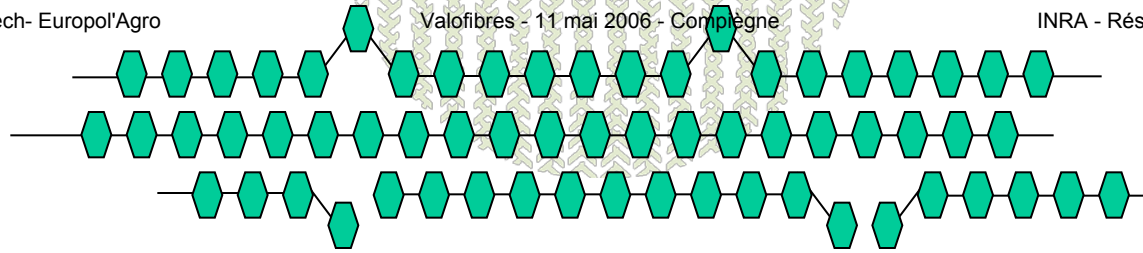
- Pourquoi faire?
- La biotechnologie, que peut-elle contribuer?
 - Quel est l'existant?
 - Que reste-t-il à développer?

La transformation des lignocelluloses

- La voie chimique a été déjà largement étudiée
 - De Henri Braconnot à la deuxième guerre mondiale!
- La voie chimique-biologique est aujourd'hui généralement préférée

La conversion en deux étapes des lignocelluloses en éthanol-carburant

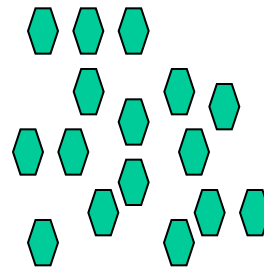




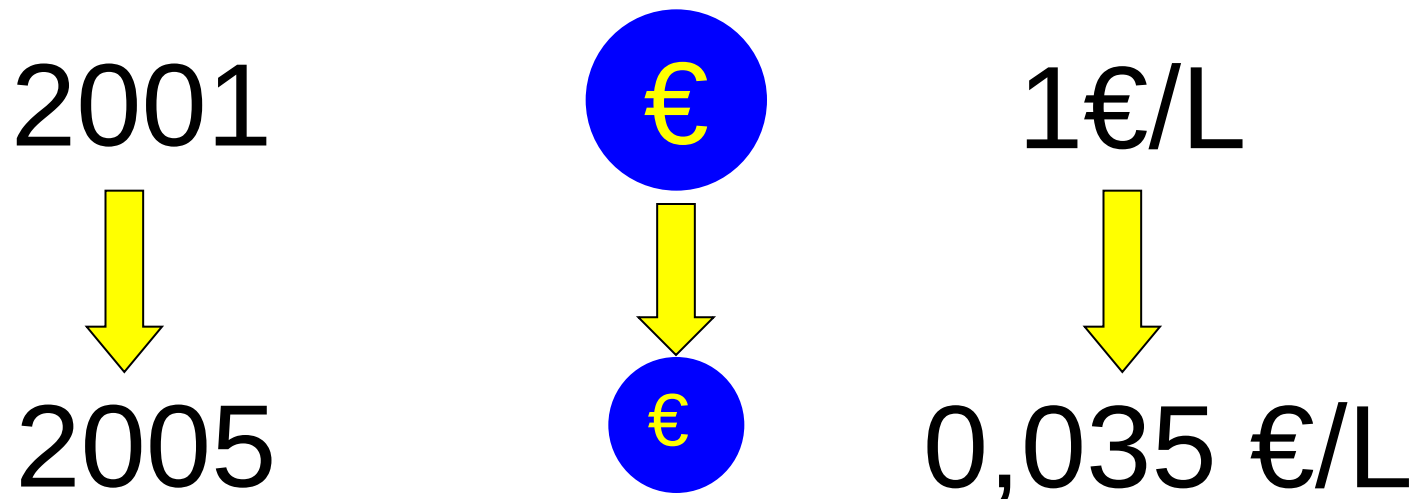
Endoglucanases + cellobiohydrolases + glucosidases



Etape 2



Développement de nouvelles enzymes lignocellulolytiques



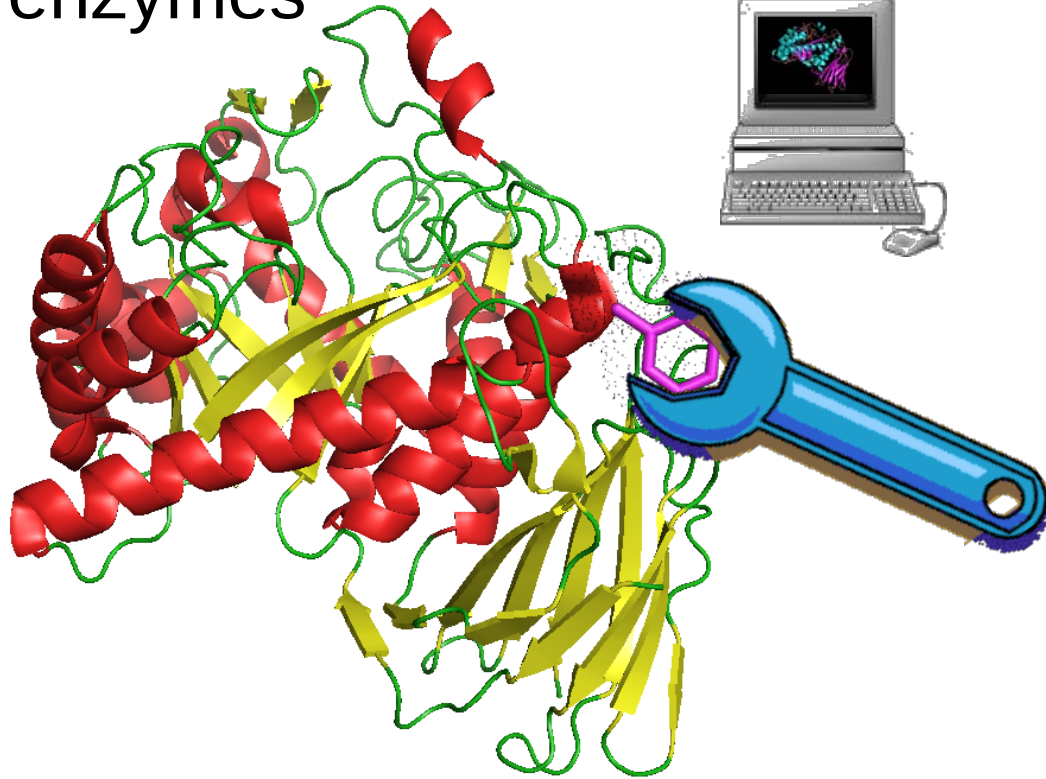
Comment ?

Amélioration des mélanges cellulolytiques

- Augmentation de la production
 - Expression dans des souches industrielles ex. *Trichoderma*, *Aspergillus*.....
- Diminution de l'inhibition par le produit
 - Création d'enzymes mutées
- Augmentation de la stabilité des catalyseurs
 - Ingénierie et isolement de nouvelles enzymes robustes
- Optimisation des mélanges enzymatiques

Quelles technologies ?

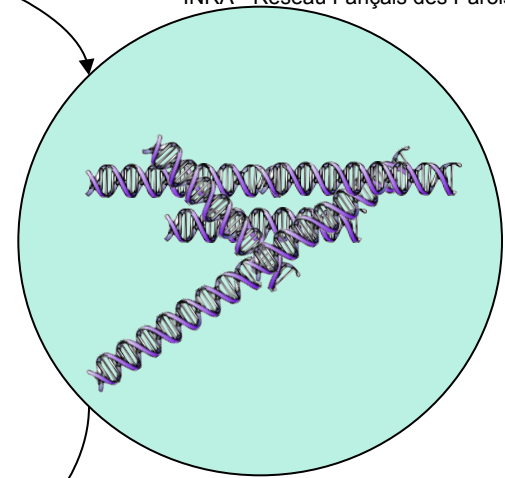
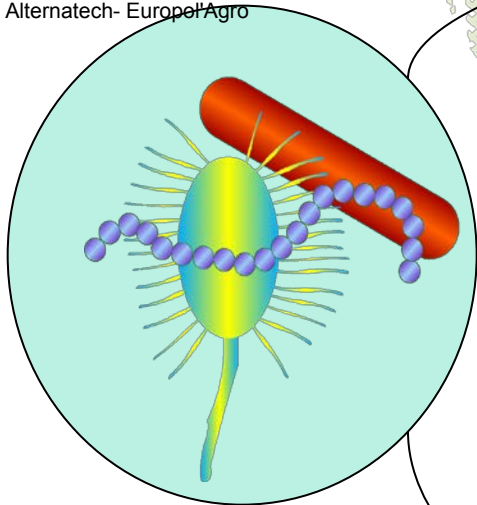
Ingénierie des enzymes



ECRIN - Alternattech- EuropeAgro

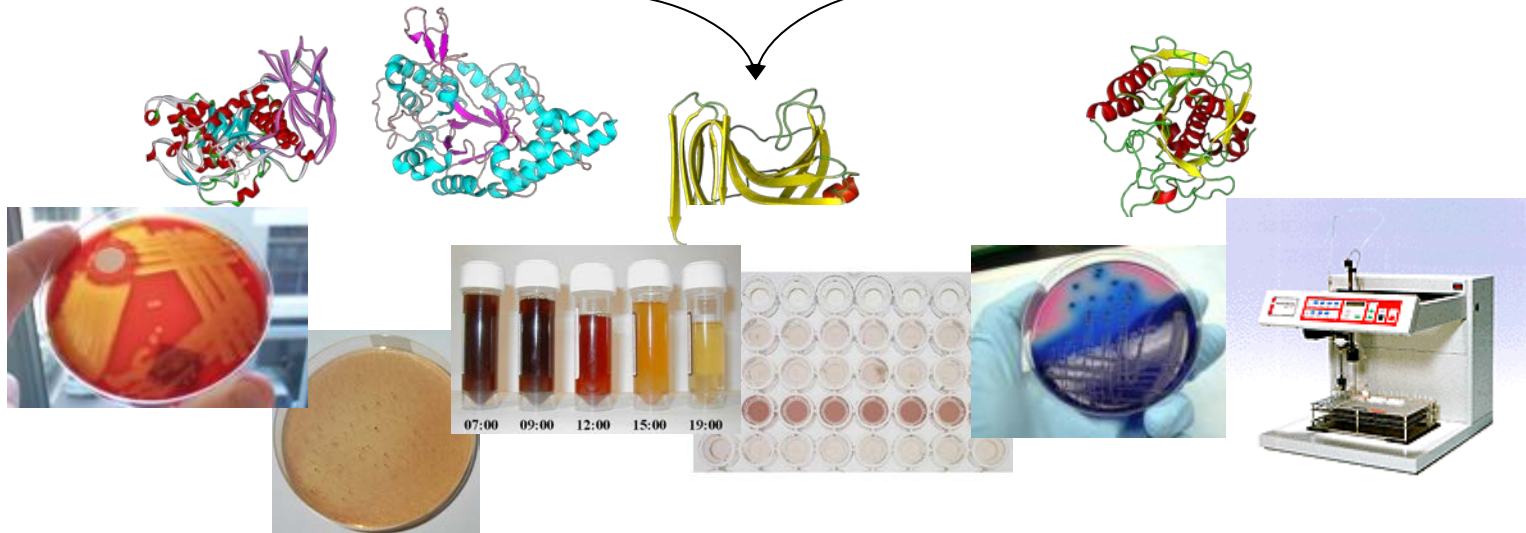
Valofibres - 11 mai 2006 - Compiègne

INRA - Réseau Français des Parois



Biodiversité

Métagénomiques



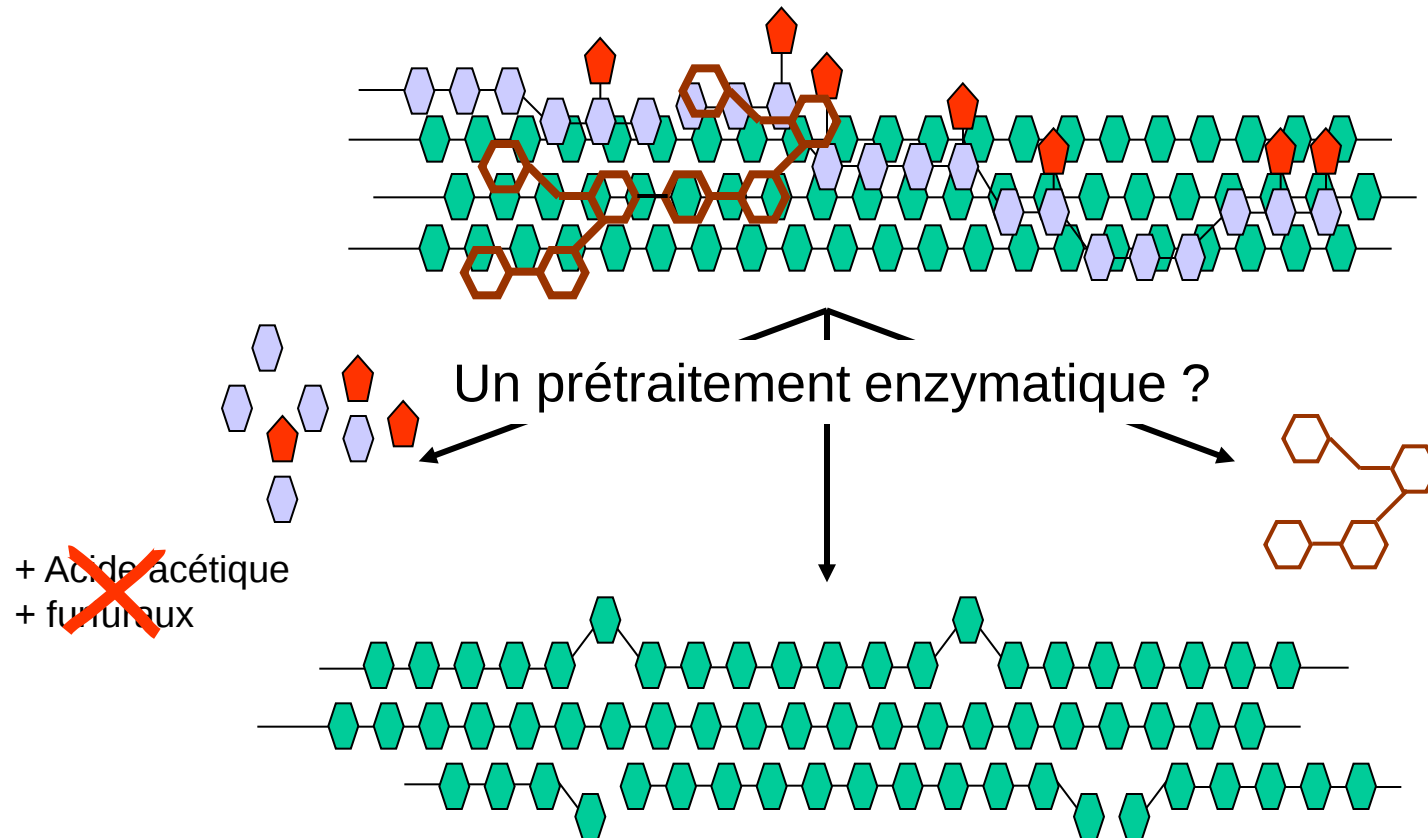
ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

INRA

Les défis actuels

- Le prétraitement
 - Coûteux
 - Perte de matière
 - Génération de produits de dégradation
- La fermentation
 - *S. cerevisiae* et *Z. mobilis* ne fermentent pas le xylose

Solutions biotechnologiques ?



Extraction enzymatique des hémicelluloses

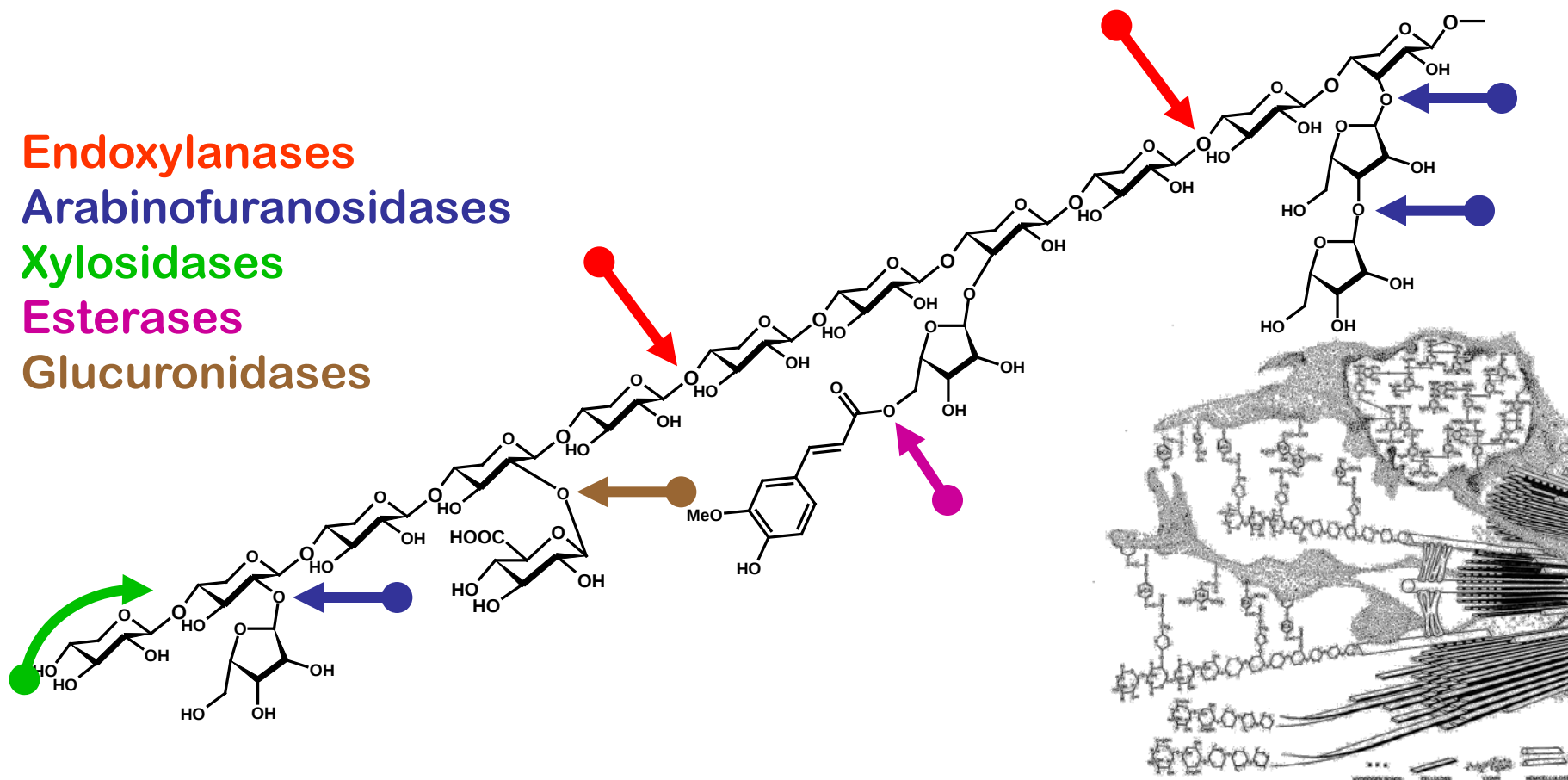
Endoxylanases

Arabinofuranosidases

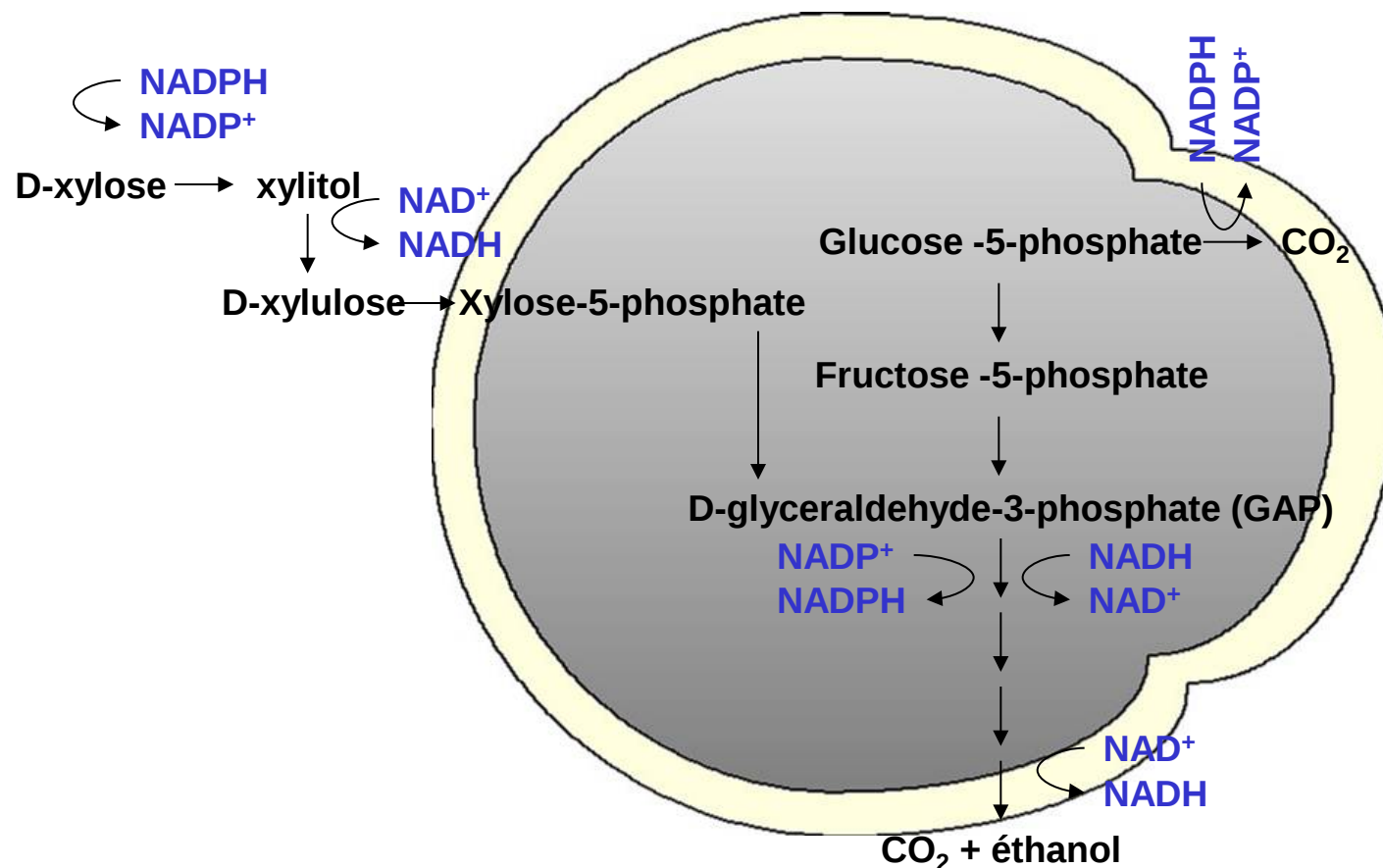
Xylosidases

Esterases

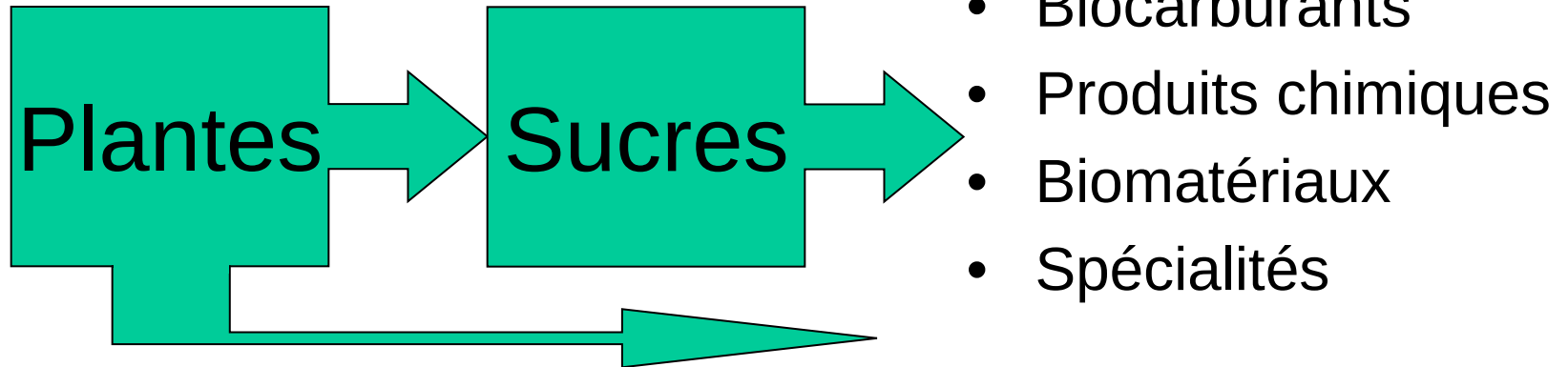
Glucuronidases



La co-fermentation des hexoses et des pentoses



Le dernier mot....



Bioprocédés/biotechnologie blanche

Suschem « La biotechnologie industrielle constitue une technologie clef pour permettre la transition d'une économie fondée sur l'emploi de ressources fossiles à une fondée sur l'utilisation de matières renouvelables »