



Projet de recherche présenté au
Programme de Convergence
Régionale Guadeloupe 2008-2013

QUALITE DES PRODUITS VEGETAUX

RAPPORT D'ACTIVITE 2008-2009



1. Introduction et Objectifs

La culture bananière des Antilles françaises évolue dans un contexte économique (forte concurrence de la banane dollar). L'avenir de la production des bananes antillaises passe par d'une différenciation des produits sur les marchés d'exportation traditionnels, notamment par le développement de nouvelles variétés à fortes valeurs ajoutées permettant une segmentation des marchés. La qualité organoleptique et nutritionnelle du fruit constitue entre autre un des aspects à partir duquel peut se différencier la production antillaise. Ceci d'autant plus que l'aspect qualité répondrait également aux attentes des consommateurs de plus en plus sensibles aux aliments produits dans les conditions respectueuses de l'environnement, de la santé du producteur tout en garantissant les revenus de ce dernier. Deux approches peuvent conduire à l'obtention de ces variétés à fortes valeurs ajoutées :

- La création de nouvelles variétés hybrides, aux qualités améliorées, par croisement de variétés existantes (sauvages et/ou cultivées). Le CIRAD a disposé aujourd'hui d'une stratégie de croisement permettant de créer des variétés hybrides.
- L'amélioration des variétés existantes et/ou des hybrides prometteurs au moyen des traitements technologiques post-récoltes (condition de transport et de maturation).

La mise en œuvre de ces stratégies nécessite comme préalable de disposer d'une base variétale élargie en terme de parents potentiellement utilisables dans les croisements, et caractérisée par rapport au(x) critère(s) à améliorer. Et pour cause, le parthénocarpisme et la stérilité généralement observés chez les variétés de banane les plus consommées interdisent une amélioration par simple introgression de caractères d'intérêt. Par ailleurs, l'amélioration post-récolte de la qualité des fruits nécessite de disposer des outils de mesure objectifs et fiables associés à ces critères de qualité. Ces outils permettraient d'une part une traçabilité des critères de qualité lors des traitements technologiques. De plus utilisés comme filtres, ces outils de nature moléculaires (marqueurs moléculaires) permettraient de tris précoces (sélection assistée par marqueur) des variétés d'intérêt lors des processus de croisement et réduiraient considérablement les délais d'obtention des hybrides. La mise en place de tels outils passe par une meilleure connaissance des mécanismes physiologiques impliqués dans l'élaboration de ces paramètres de qualité ; mécanismes aujourd'hui peu connus chez la banane.

Le projet scientifique proposé sur la qualité des fruits tropicaux a pour objectif global :

- de contribuer à la caractérisation de la variabilité qualitative des différentes variétés de banane présentes en Guadeloupe (**thème 1**).
- de comprendre les mécanismes physiologiques qui gouvernent les critères de qualité majeur afin d'en identifier des marqueurs moléculaires associés et utilisables comme filtres précoces dans les schémas de croisement (**thème 2**).

2. Etat d'avancement des travaux et Résultats obtenus

2.1. Thème 1: « Caractérisation et évaluation de variabilité qualitative des produits, et identification des critères les plus discriminants de celle-ci

2.1.1 *Actions prévues dans le cadre du projet*

Dans le cadre de ce projet, nos activités de recherche porteront essentiellement sur les fruits d'intérêt pour la Guadeloupe notamment la banane et la pomme surette. Elles consisteront à caractériser leur variabilité qualitative en tenant compte des facteurs intrinsèques et extrinsèques connus pour l'impacter.

Les descripteurs physiologiques génériques qui pour certains ont des attributs qualitatifs serviront de discriminants des stades physiologiques. Parmi ces descripteurs seront utilisés les paramètres physicochimiques (**éthylène, gaz carbonique, oxygène, couleur**), biochimiques (**brix et acidité titrable**), rhéologique (**fermeté**).

2.1.2 *Résultats obtenus*

Les travaux de caractérisation des productions végétales n'ont commencé qu'en fin 2009 pour cause de remise en l'état et d'équipement du laboratoire de caractérisation physicochimique. En effet, le laboratoire a été équipé d'un chromatographe en phase gazeuse (pour le dosage d'éthylène et de gaz carbonique, de l'achat d'un chromamètre et d'un analyseur automatique de l'acidité.

Banane :

Nous avons examiné l'incidence du stade de développement à la récolte et des conditions de d'induction de la maturation sur l'évolution de des descripteurs biochimiques associés à la qualité:

- oragnolpetique du fruit tel que le brix, des sucres solubles (saccharose, glucose, fructose), des acides organiques (acide maliques, citrique et axalique)
- fonctionnelle du fruit en l'occurrence le dégrain,
- et nutritionnelle (teneur en composés minéraux)

Deux stades de développement en vert 60 JAF (jours après floraison) et à maturité commerciale (90 JAF) et trois conditions d'induction de la maturation à 20°C (M1 : 1000 ppm d'acétylène/24h ; M2 : 10000 ppm d'acétylène/18 h ; M3 : 10000 ppm d'acétylène/24h) ont été considérés. Ce travail a fait l'objet d'un stage de MASTER réalisé au laboratoire par **Mr GILBERT PIRAL** d'Avril à Septembre 2008, étudiant Guadeloupéen inscrit à l'ENITA de Clermont-Ferrand.

Les résultats obtenus ont mis en évidence des différences qualitatives des fruits en fonction de leur stade de récolte et des conditions d'induction de leur maturation. Cependant, cet effet diffère en fonction du critère de qualité mesuré. En effet, les conditions d'induction de la maturation M2 (10000 ppm d'acétylène/18h/20°C) diminue la vitesse de maturation des fruits récoltés 60 JAF avec des répercussions sur tous les critères mesurés. En revanche, ceux induits en condition M3 induits la maturation avec des effets sur les sucres solubles mais pas sur la teneur en potassium.

Gilbert PIRAL. 2008. Effet de la date de récolte et des conditions de maturation sur l'évolution post-récolte de l'évolution des critères de qualité du fruit: étude des mécanismes associés. Diplôme d'ingénieur des techniques Agricoles, stage de fin d'étude, ENITA de Clermont-Ferrand. 30p

Pomme Surette (jujube):

Les travaux sur la pomme surette ont été initiés au laboratoire à la fin de l'année 2009 dans le cadre de la thèse de Doctorat de Mlle Suzie ZOZIO, étudiante inscrite à l'Université Antilles Guyane et financée par la région Guadeloupe.

Ces travaux s'inscrivent dans le cadre d'une meilleure prise en compte de la physiologie de ce fruit dans une perspective de sa valorisation compte tenue de sa richesse en composé d'intérêt

nutritionnelle (composés crédités de propriétés antioxydantes) et agroalimentaire (composés crédités de propriétés de panification) (Azam-Ali et al., 2006). La nature et la teneur de ces composés dans le fruit dépendent fortement de l'état physiologique du fruit à la récolte et les processus post récoltes auxquels ils sont soumis. Par conséquent, l'identification de ces composés et l'évaluation comparée et objective de leur teneurs au sein des différentes accessions de suretiers produits en Guadeloupe nécessite de prendre en compte l'état physiologique du fruit.

Les travaux ont consisté à identifier des descripteurs objectifs de l'état physiologique du fruit. Pour ce faire, l'évolution des paramètres physicochimiques (**éthylène, couleur**), biochimiques (**brix et acidité titrable**) et rhéologique (**fermeté**) a été suivie au cours de la maturation des fruits issus de 4 arbres de pomme sureté de la région sud Basse-Terre.

Les résultats obtenus indiquent que :

- la maturation sur pied de la pomme surette se caractérise par une induction transitoire, de manière plus ou moins concomitante, de la production d'éthylène, d'acidité titrable et de brix.
- Sur la base de l'évolution de ces critères, le développement du fruit sur pied a été divisé en 5 stades. Les stades 3-4 correspondant au le pic d'éthylénique dont la teneur est comprise entre 65-95 $\mu\text{l.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Au-delà des résultats obtenus, les travaux sur la pomme surette ont permis de tester la fonctionnalité du laboratoire en terme de fiabilité des équipements, de reproductibilité et répétabilité des protocoles. Ces acquis seront mis à profit dans les travaux de caractérisation des différentes variétés de banane en terme de physicochimie (**éthylène, couleur**), biochimiques (**brix et acidité titrable**) et rhéologique (**fermeté**). Ces travaux sont actuellement en cours.

2.2. Thème 2 : « Déterminisme des discriminants de la qualité sur le plan génétique et sur le plan moléculaire »

2.2.1. Actions prévues dans le cadre du projet

Trois actions ont été prévues dans le cadre de ce projet : l'obtention des ressources génomiques, la compréhension des mécanismes physiologiques et l'identification (la dérivation) des marqueurs moléculaires à partir de gènes candidats.

Ces actions ont été ciblées sur 3 mécanismes physiologiques : la sensibilité à l'éthylène et l'initiation de la maturation, le métabolisme du saccharose et le dégrain.

2.2.2. Résultats obtenus depuis 2008 sur l'obtention des ressources génomiques et la compréhension des mécanismes

- **Dégrain :**

- **11 ressources génomiques de nature génique ont été générées. Ces gènes codent tous pour des protéines associées au métabolisme des parois.**
- **Elles ont permis de mieux appréhender une partie des étapes physiologiques qui contrôlent le phénomène du dégrain chez la banane en terme de chronologie des événements et des gènes majeurs (gènes candidats) impliqués.**
- **L'ensemble des travaux a fait l'objet d'une communication dans un congrès international et d'une publication dans une revue internationale à comité de lecture.**

Mbégué-A-Mbégué D., et al. 2009. Journal of Experimental Botany 60 (7): 2021-2034.

Mbégué-A-Mbégué D., et al., 2009. Poster. The 6th International Postharvest Symposium. Antalya, April 8-12, Turkey.

Les données obtenues n'ont permis que d'aborder un aspect des mécanismes physiologiques du dégrain, qui sont complexe. Il convient maintenant d'examiner d'autres voies métaboliques plus en amont et régulatrices du dégrain, notamment la relation entre le phénomène du dégrain et l'éthylène. Dès lors l'isolement d'autres ressources génomiques est nécessaire.

- **Métabolisme du sucre :**

- **11 ressources génomiques de natures géniques ont générées tous codant pour des invertases acides dont 7 séquences génomiques codant pour la forme pariétale et 3 codant pour la forme vacuolaire. Ces travaux ont été conduits en partenariat avec les collègues du CIRAD Montpellier.**

- **Les travaux visant à examiner la relation entre l'expression de ces gènes et la teneur du fruit en saccharose, de même que la dérivation des marqueurs moléculaires associés sont actuellement en cours.**

- **Depuis 2008, des efforts ont été porté sur la valorisation des résultats antérieurs sur ce thème. Deux valorisations par voies d'affiche ont été réalisées en 2008 et une publication est en préparation pour de soumission dans une revue internationale à comité de lecture.**

Fils-Lycaon B., et al., 2008. Poster. International Conference on Banana and Plantains in Africa: Harnessing International partnership to increase research impact. Mombassa, October 5-9, Kenya.

Julianus P., et al., 2008. Poster. International Conference on Banana and plantains in Africa: Harnessing International partnership to increase research impact. Mombassa, October 5-9, Kenya.

- **Sensibilité des fruits à l'éthylène et initiation de la maturation**

- **Les efforts d'isolement des séquences génomiques codant pour les protéines MaEIL1, 2 et 3 se sont soldées par un échec de même que l'obtention des anticorps correspondants. En revanche ils ont permis d'identifier un gène MaEIL supplémentaire. (MaEIL6).**

- **L'isolement des gènes MaCTR1 et MaERF sont actuellement en cours.**

2.2.3. Résultats obtenus depuis 2008 en terme d'identification des marqueurs moléculaires

Depuis 2008, nous nous sommes attachés à identifier des marqueurs moléculaires à partir des différentes ressources génomiques et au moyens de l'outil bioinformatique.

Au total **6 marqueurs moléculaire de type microsatellite** ont été identifiés à partir des gènes isolés chez la banane et potentiellement associés à la qualité du fruit (voir tableau ci-dessous). Ces marqueurs ne peuvent pour l'instant pas être considérés comme marqueurs de la qualité dans la mesure leur lien directe avec le critère de qualité n'est pour l'instant pas établi. Cependant, certains d'entre eux ont été utilisés de manière concluante dans les travaux de cartographie du bananier. Cecs travaux ont fait l'objet d'une publication dans une revue à comité de lecture.

Hippolyte H., Bakry F., Seguin M., Gardes L., Rivallan R., Risterucci A.-M., Jenny C., Perrier X., Carreel F., Argout X., Piffanelli P., Imtiaz A Khan I. A. , Robert NG Miller R. N. G., Pappas G. J. , Mbégué-A-Mbégué D., Matsumoto T., De Bernardinis V., Huttner E., Kilian A., Baurens F.-C., D'Hont A., Cote F. X., Courtois B.; Glaszmann J.-C. 2009. A saturated SSR/DArT linkage map of Musa acuminata addressing genome rearrangements among bananas. BMC Plant Biology. 10:65

Locus/primer	ID library	SSR	Blast
mMECIR0491	pCav6	(AT)6	hypothetical protein [Oryza sativa (japonica cu.
mMECIR0492	pCav13_cDNA_complet	(TCT)5nnn(GA)8	UDP-glucose:protein transglucosylase-like protein...
mMECIR0493	pCav21	(AAG)5	At2g01275 [Arabidopsis thaliana]
mMECIR0494	pCav22	(TG)6c(GT)12	calmodulin-like protein [Musa acuminata]
mMECIR0499	SSH didier cl14	(AG)8	class III acidic chitinase [Musa acuminata]
mMECIR0500	SSH didier cl3	(AG)9	Metalothionein like



Projet de recherche présenté au
Programme de Convergence
Régionale Guadeloupe 2007-2013

QUALITE DES PRODUITS VEGETAUX

Justification de la demande de subvention



1. Poste de dépense "Frais de fonctionnement de laboratoire"

Ce projet n'ayant jamais reçu de notification d'agrément lors qu'il a été présenté par le CIRAD aussi bien en temps que membre de l'UMR QUALITROP (2007-2009) que partenaire de cette UMR (depuis 2010), le CIRAD a choisi de démarrer le projet avec prudence et de commencer par une mise en place nécessitant peu de dépense (préparation des essais, récolte et préparation des échantillon de fruits). Le poste de dépense "frais de laboratoire" affichés en 2008, 2009 correspondent aux montants réalisés.

L'augmentation substantielle des dépenses en 2010 s'explique par:

- l'absolue nécessité d'entreprendre les travaux relatifs au corps du projet notamment les essai de terrain et les travaux de génomique fonctionnelle et les prestations laboratoires externe (séquençage) qui ne pouvaient plus attendre. En effet repousser ces actions aurait fait courir le risque de perdre les acquis des travaux de mises en place (perte des échantillons, épuisement des parcelles, dégradation des composé d'intérêt pour cause de conservation longue durée des échantillons).
- Le surcoût d'activité "Physico-chimique et terrain" lié à l'accueil par le laboratoire de deux étudiantes en thèse inscrites à l'université Antilles Guyane et dont les activités porteront sur l'évaluation de la variabilité qualitative de deux fruits produits en guadeloupe (la banane et la pomme surette). Au delà de l'intérêt scientifique, cette action permet de valider "la transférabilité" sur d'autres productions fruitières, des méthodes d'analyse mises au point chez la banane (fruit modèle) au laboratoire de caractérisation physico-chimique de la qualité. Cette validation méthodologique permettrait alors de positionner ce laboratoire entièrement rénové comme une plate forme technique mutualisée susceptible d'accueillir les partenaires d'autres institut de la région et la caraïbe travaillant sur la qualité des fruits. Ce qui contribuerait à accroître le rayonnement international de la recherche guadeloupéenne.

2. Poste de dépenses "Déplacement / missions"

Si-dessous les dépenses engagées sur la période 2008-2009 et les dépenses prévisionnelle 2011 et 2012.

*Dépenses prévisionnelles : décomposition par postes de dépenses**

	2008	2009	2010	2011	total	
<u>Principaux postes de dépenses Eligibles</u>	HT	HT	HT	HT	HT	
Personnel	75600	80000	125000	126000	406 600	65%
Fonctionnement	49000	37000	62000	62000	210 000	34%
<i>Physicochimie et terrain</i>	10325	8542	10000	10000		
<i>Génomique fonctionnelle</i>	25629	20911	30 000	30000		
<i>Entretien laboratoire</i>	4500	5000	5 000	5 000		
<i>Prestation laboratoires externes</i>			7 000	7000		
<i>Missions</i>	8546	2547	11 000	9 000	31 093	
Investissement			8804		8 804	1%
	124	117	195	188		
TOTAL	600	000	804	000	625 404	

Physicochimie et terrain inclus des frais de déplacements locaux pour récolter les fruits, locations de véhicules, achat de carburants, matériel de ramassage et conservation des fruits, achats des échantillons de fruits, etc....

Génomique fonctionnelle : Meilleures connaissance du Génome, et de son expression, frais de laboratoire, de fonctionnement et de consommables de laboratoires, verreries, produits chimiques, gaz rare, achats d'amorce ADN etc....

Entretien laboratoire : Frais d'entretien du matériel du laboratoire pour le projet, contrats de prestation d'entretien et de contrôle du matériel de mesures, certification du matériel de mesure, petit matériel d'entretien etc.....

Prestation laboratoires externes : Séquençage de l'ADN par des prestataires de services externes.

Missions et déplacements prévus :

2011

- 2 missions à MPL pour olivier HUBERT et Didier MBEGUIE-A-MBEGUIE (échange avec d'autre labo dans une perspective de transfert méthodologique)
- 1 participation à un congrès
- 1 déplacement pour la thésarde (congrès ou manip à MPL)

2010

- Congrès Post arvest à Tilton USA
- Echanges scientifiques des thésards entre UMR Qualisud, universités et le CIRAD

2009

- Congrès Utilisation Ethylène pour la maturation des fruits à Ithaca USA
- Congrès fruits tropicaux d'intérêt pour la caraïbe à San Jose Costa Rica
- Membre du jury d'une Thèse sur les maladies post récolte de la banane Gembloux Belgique
- Echanges scientifiques Thésard C Bonnet UMR QUALISUD (Mpl France)

2008

- 1 Participation congrès Internationales Banane plantain Nairobi Kenya

3. Devis

La remarque du précomité a été prise en compte et le devis correspondant à la dépense d'équipement a été ajouté au dossier.

Cet équipement est un générateur d'hydrogène utilisé comme combustible indispensable au fonctionnement de la chromatographie en phase gazeuse. Cet appareil sert à mesurer la quantité d'éthylène (hormone de la maturation) émise par le fruit et généralement utilisé comme descripteur physiologique du stade de développement lors de la phase d'échantillonnage. Cette étape d'échantillonnage est primordiale dans une perspective d'évaluation comparée de la qualité des fruits.

4. Dossier concernant les critères d'éco-conditionnalité

Le projet ne faisant pas appel à de grands travaux, seul la partie "effet du projet" du dossier d'écoconditionnalité a été remplie.

Le projet a été conçu afin de réduire au maximum les impacts sur l'environnement liés à l'activité. En effet, le projet ne prévoit aucun agrandissement de bâtiment et se réalisera donc à espace constant. Par ailleurs l'unique équipement prévu dans le cadre de ce projet est un générateur d'hydrogène. Le choix s'est porté sur un appareil pionnier mis sur le marché depuis plus de 7 ans caractérisé par sa faible consommation en eau.