



TOGETHER
for a sustainable future

OCCASION

This publication has been made available to the public on the occasion of the 50th anniversary of the United Nations Industrial Development Organisation.



TOGETHER
for a sustainable future

DISCLAIMER

This document has been produced without formal United Nations editing. The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the Secretariat of the United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries, or its economic system or degree of development. Designations such as “developed”, “industrialized” and “developing” are intended for statistical convenience and do not necessarily express a judgment about the stage reached by a particular country or area in the development process. Mention of firm names or commercial products does not constitute an endorsement by UNIDO.

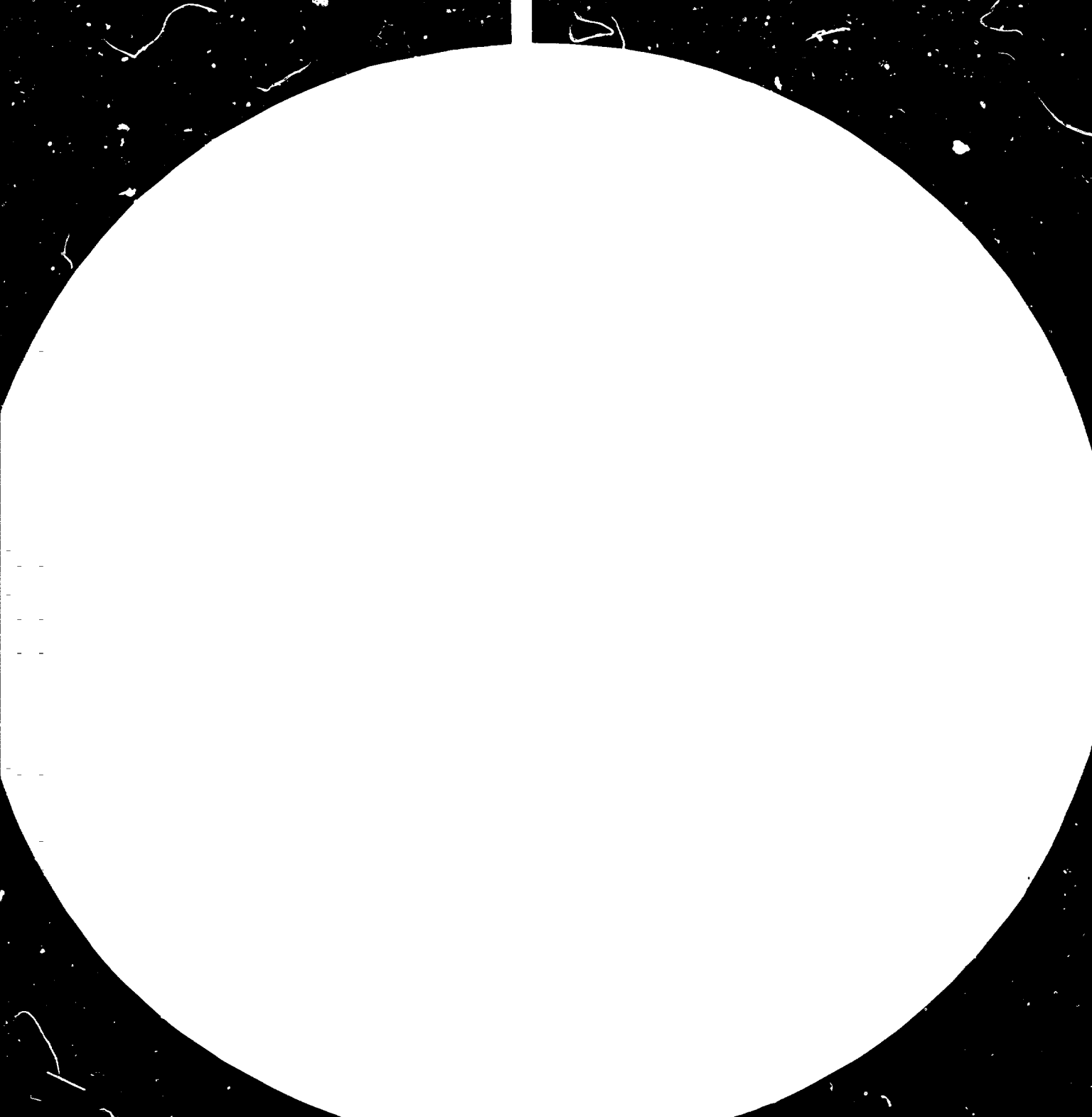
FAIR USE POLICY

Any part of this publication may be quoted and referenced for educational and research purposes without additional permission from UNIDO. However, those who make use of quoting and referencing this publication are requested to follow the Fair Use Policy of giving due credit to UNIDO.

CONTACT

Please contact publications@unido.org for further information concerning UNIDO publications.

For more information about UNIDO, please visit us at www.unido.org





11733-F



Distr. LIMITEE

ID/WG.382/2/Ann.5
20 septembre 1982

Organisation des Nations Unies pour le développement industriel

FRANCAIS
Original: ANGLAIS

Réunion de haut niveau sur l'établissement
d'un Centre international pour le génie
génétique et la biotechnologie

Belgrade (Yougoslavie), 13 - 17 décembre 1982

AMELIORATION DES PRODUITS AGRICOLES ET ALIMENTAIRES

PAR LE

GENIE GENETIQUE ET LA BIOTECHNOLOGIE*

Préparé par

David McConnell**

* Les opinions exprimées dans le présent document sont celles de l'auteur et ne reflètent pas nécessairement celles du Secrétariat de l'ONUDI. Traduction d'un document n'ayant pas fait l'objet d'une mise au point rédactionnelle.

** Chargé de cours, Université de Dublin, Département de génétique, Trinity College, Dublin 2, Irlande.

Table des matières

	<u>Page</u>
A. CONTEXTE ET JUSTIFICATIF	1 - 10
Introduction	1
Nouvelles méthodes de reproduction des plantes	1 - 3
Manipulations génétiques des plantes au moyen de l'ADN recombinant	3 - 4
Nouveaux pesticides biologiques obtenus par le génie génétique	5
Fixation de l'azote, photosynthèse et autres processus végétaux complexes	5 - 6
Génie génétique et conditionnement des produits alimentaires	6 - 10
B. ACTIVITES	10 - 13
Composantes de recherche et de développement	10 - 12
Application de l'ADN recombinant à la reproduction des plantes	12 - 13
C. PLAN DE TRAVAIL	13 - 15
D. COLLABORATION AVEC D'AUTRES INSTITUTIONS	15
E. CONDITIONS PREALABLES	16
F. BESOINS FINANCIERS	16 - 18
Le génie génétique des plantes	16
L'application du génie génétique au conditionnement alimentaire	16 - 17
Budget quinquennal	18
ANNEXE I	
Besoins en équipement	19 - 20
Installations centralisées	19
Equipements spéciaux pour cultures tissulaires, régénération et croissance des plantes	19
Equipement essentiel	19 - 20

A. CONTEXTE ET JUSTIFICATIF

Introduction

La technologie du génie génétique est aujourd'hui appliquée à toute une série de problèmes propres aux industries agricoles et alimentaires. Il est possible, notamment, de développer de nouvelles familles de plantes au profit de l'agriculture et de l'industrie forestière en combinant la technologie du génie génétique et la culture des cellules de plantes et des tissus protoplastes, d'utiliser, à plus grande échelle et selon des méthodes différentes, les insecticides "naturels", et de mettre au point de nouvelles techniques de conditionnement des aliments utilisant des matières premières alimentaires de substitution, la cellulose par exemple, et offrant de nouvelles applications pour les matières alimentaires traditionnelles comme le sucre. La production de vaccins plus efficaces pour le bétail constituera un autre progrès majeur pour l'agriculture et l'industrie alimentaire réalisé grâce au génie génétique.^{1/}

Nouvelles méthodes de reproduction des plantes

Les programmes de reproduction de certaines espèces et familles de plantes essentielles pour l'agriculture et l'industrie forestière ont été bouleversés par l'introduction de la culture de tissus de plantes et de la régénération de plantes entières au départ de cultures de tissus. La technologie a déjà permis d'accélérer le rythme du clonage ou de la propagation végétative des plantes, à savoir la production de plantes qui sont génétiquement identiques à un parent unique. Pour de nombreuses plantes, ce processus ne se produit pas, ou rarement et très lentement, par des méthodes plus ou moins naturelles.

Dans d'autres cas, il a été très difficile de produire des plantes en grandes quantités selon des méthodes naturelles. La méthodologie de la culture des tissus ouvre de nouveaux horizons remarquables affectant, notamment, la production par clonage de plantes aussi diverses que les palmiers, les conifères, les

^{1/} Voir Application du génie génétique et de la biotechnologie à la production de vaccins améliorés pour l'homme et les animaux, notamment en ce qui concerne les maladies tropicales, ID/WG.382/2/Add.4.

orchidées, les citrons et les asperges, pour n'en citer que quelques unes. On comprend mieux l'impact de cette technologie si l'on sait par exemple que "les arbres (sapins de Douglas) qui peuvent être cultivés en trois mois à partir de cellules contenues dans 100 litres de milieu de culture sont en nombre suffisant pour reboiser environ 48.000 hectares, un arbre étant planté tous les 3,5 mètres". Il est donc possible, en principe, de choisir un seul arbre forestier supérieur, ou un palmier à huile, un dattier, etc., et d'utiliser des cultures tissulaires de cet arbre pour produire, dans un laps de temps restreint, une lignée génétiquement identique et nombreuse. Cette technique présente également l'avantage de permettre la production de familles sans virus. Elle présente par contre le risque de l'établissement de monocultures génétiquement homogènes, risque qui, lorsqu'il a été identifié, peut cependant être éliminé.

Les cultures tissulaires offrent, outre la possibilité de réaliser la reproduction par clonage à grande échelle, de multiples opportunités en matière de production végétale.

- a) Des cellules de plantes résistantes aux toxines et à d'autres agents peuvent être sélectionnées dans les cultures tissulaires. Les plantes régénérées grâce à ces cultures peuvent alors être résistantes, comme dans le cas, par exemple, du maïs régénéré au départ de cellules sélectionnées pour leur résistance aux mycotoxines de l'Helminthosporium maydis.
- b) Des hybrides intra- et inter-spécifiques peuvent être produits par fusion de protoplastes dérivés de tissus de plantes différentes, et, ensuite, régénération de plantes hybrides provenant des protoplastes hybrides. Cette technologie n'a pas encore donné les résultats escomptés; en général, elle ne produit en effet des hybrides viables que dans des systèmes où deux parents présentent une hybridation naturelle. Elle offre cependant un potentiel important comme outil de reproduction, même au sein d'espèces, par l'introduction, par exemple, de gènes résistant à certaines maladies dans des variétés établies. Des travaux considérables ont été entrepris dans ce domaine

et l'on considère généralement que cette approche, grâce à l'expérience croissante acquise dans la manipulation des protoplastes, permettra d'obtenir de nouveaux hybrides intéressants.

Manipulations génétiques de plantes au moyen de l'ADN recombinant

La technologie de l'ADN recombinant, ou génie génétique, fut mise au point pour des bactéries, et plus particulièrement avec l'Escherichia coli; son application commence maintenant à être étendue aux plantes à l'aide des techniques de cultures tissulaires, de préparation des protoplastes et de régénération au départ de cultures tissulaires. L'ensemble combiné de ces méthodes permettra vraisemblablement d'accomplir des progrès remarquables quant à la reproduction des plantes.

L'objectif technique principal consiste à transférer des gènes sous la forme d'ADN purifié provenant de souches et d'espèces différentes dans des cellules réceptrices ou des protoplastes pour qu'ils soient incorporés aux cellules de façon stable, copiés avec les gènes endogènes et exprimés dans les cellules en modifiant le caractère de ces dernières et des plantes régénérées à partir des cellules. Les premières phases de ce programme ont déjà été réalisées dans plusieurs systèmes. Le plasmide Ti d'Agrobacterium tumefaciens est un vecteur présentant un excellent potentiel; de l'ADN exogène peut y être incorporé et il est lui-même intégré à l'ADN des cellules réceptrices. Des virus de l'ADN des plantes, et notamment le CaMV sont également mis au point comme vecteurs. Des études sont en cours pour la transformation de cellules de plantes par une série de gènes: ovalbumine, leghaemoglobine, sucrose-synthétase, zéine, phaeoline, résistance à la gentamycine G148, résistance à la méthotroxate, etc. Ces gènes sont testés par incorporation dans des vecteurs basés sur le plasmide Ti.

Un grand nombre de ces projets en sont maintenant au stade du perfectionnement de la construction des molécules de l'ADN recombinant en plasmides pour obtenir l'expression des gènes exogènes dans les cellules des plantes.

Ce secteur de la recherche est extrêmement actif et l'on a toutes raisons de croire qu'il offre un potentiel exceptionnel de progression rapide dans son application à la manipulation de systèmes génétiques simples. Il s'agirait notamment de coder les gènes pour la résistance aux herbicides, aux insectes et aux mycotoxines. On a ainsi assemblé un système génétique bactérien qui code pour la résistance à 2,4,5 T. Si ce système était incorporé, par exemple, à une céréale, 2,4,5 T pourrait être utilisé comme herbicide avec cette céréale. Le système génétique codant pour la résistance à une mycotoxine Helminthosporium myadis du maïs a été identifié comme faisant partie de l'ADN mitochondrial. Il peut donc être purifié aisément et constituer un pas important dans la progression du programme de manipulation génétique pour l'introduction de ce système dans diverses variétés.

La manipulation génétique des plantes par l'ADN recombinant impliquant le transfert de l'expression de systèmes génétiques à modèle simple dans des plantes régénérées à partir de cultures tissulaires sera probablement réalisée d'ici quelques années pour de nombreux systèmes. L'application ultérieure de cette technologie à des systèmes à impact économique important dépendra de la rapidité avec laquelle toute une série d'objectifs de recherche seront atteints. Il faut développer toute une gamme de vecteurs d'expression, particulièrement pour l'utilisations dans les monocotylédons, et des méthodes reproductibles pour la préparation et la transformation des protoplastes provenant de plantes à impact commercial, et pour la régénération de plantes entières à partir de ces dernières. Il faudra, à l'origine, concentrer les efforts sur les caractéristiques économiquement importantes qui sont contrôlées par des gènes uniques, et mettre au point les techniques biochimiques et immunologiques nécessaires pour la purification de ces gènes. Certains codes génétiques pour la résistance aux maladies dans diverses espèces pourraient être analysés de cette façon en guise de préparation à l'introduction utilisant l'ADN recombinant, et certains gènes sont déjà disponibles, notamment des gènes bactériens qui spécifient des toxines qui sont pesticides. Cet aspect est envisagé à la section ci-dessous.

Nouveaux pesticides biologiques obtenus par le génie génétique

Le génie génétique aura un impact considérable sur les produits et l'utilisation des pesticides du type protéique comme les protéines des spores pesticides de variétés du Bacillus thuringiensis employées comme pesticides commercialisés et actifs contre toute une série de parasites des produits agricoles. On a également remarqué que certaines souches de bacilles produisent des toxines actives contre les vecteurs de la fièvre jaune, de la filiariose, de la malaria et de la cécité des rivières; la portée de ce gène n'est donc pas limitée à l'agriculture. De nombreuses autres espèces de bactéries et de champignons présentent un potentiel d'utilisation comme insecticides et le génie génétique peut contribuer à l'amélioration de leur valeur. Le code génétique pour la toxine d'une variété de B. thuringiensis a été isolé et transféré à une autre espèce bactérienne où il a été exprimé. Il sera possible de le transférer dans des plantes et de vérifier s'il peut être rendu directement toxique pour les insectes qui s'en nourrissent.

Fixation de l'azote, photosynthèse et autres processus végétaux complexes

On prétend souvent que le génie génétique pourra être appliqué valablement à la production de nouvelles souches végétales qui fixent l'azote ou ont un processus de photosynthèse plus efficace. Il est possible que l'un ou l'autre, ou l'ensemble, de ces objectifs soient atteints mais on estime généralement qu'ils seront vraisemblablement difficiles à réaliser et que cette réalisation nécessitera probablement de nombreuses années de travail. Il ne fait cependant aucun doute que le génie génétique a déjà permis des progrès remarquables quant à la compréhension de ces deux processus, surtout en matière de fixation de l'azote, qui constituent des traits génétiques complexes contrôlés par un grand nombre de gènes différents; certains projets en ce domaine semblent être plus prometteurs parce qu'ils sont orientés vers la manipulation de gènes uniques. Plusieurs projets de ce type sont repris dans le programme de travail pour la production d'engrais utilisant des systèmes biologiques. Ainsi, on peut tenter, avec une certaine chance de succès, de manipuler les gènes de bactéries existantes qui fixent l'azote pour les amener

à adhérer aux racines de plantes importantes qui absorbent l'azote fixé du sol. La concentration d'azote fixé doit, en principe, augmenter dans les environs immédiats des racines.

Il est essentiel que les pays en développement prennent pleinement conscience de l'importance des études de génie génétique réalisées actuellement en matière de fixation de l'azote. Les programmes de génie génétique végétal et concernant les engrais qui seront entrepris au CIGGB constitueront une source d'informations précieuses dans ce domaine.

Génie génétique et conditionnement des produits alimentaires

L'apparition du génie génétique est à l'origine d'une intervention de plus en plus importante de la biotechnologie dans l'industrie alimentaire. Elle est utilisée de manières multiples et très diverses parmi lesquelles l'application des enzymes au conditionnement des aliments représente probablement l'élément qui a la portée la plus intéressante. L'utilisation des enzymes relève d'une tradition longue et bien établie dans de nombreuses sociétés; l'utilisation de chymosine (caille-lait) pour la fabrication du fromage constitue un exemple évident. En outre, les activités enzymatiques sont essentielles à la fabrication du pain, de la bière, et à la distillation, et font partie de toute une série de processus alimentaires anciens et répandus. Avec l'augmentation du nombre des enzymes disponibles sous forme partiellement purifiée et en grandes quantités, leur utilisation est aujourd'hui devenue plus complexe et diversifiée. Actuellement, environ 20 enzymes sont utilisés à échelle industrielle: amylases, protéases, amyloglucosidase, chymosine, lipases, oxydase de glucose, pectinase, isomérase de glucose, etc. L'ensemble du marché de ces enzymes représente environ 300 millions de dollars et le secteur est en rapide expansion. Ils sont utilisés pour améliorer certaines qualités des aliments, par exemple pour accroître les propriétés de stockage comme dans la transformation de lait en fromage ou de fruits en jus de fruit ou en vin, ou encore pour accroître la valeur nutritive comme dans la conversion de cellulose en glucose. Certains enzymes sont devenus extrêmement importants pour la fabrication de nouveaux aliments ou d'additifs alimentaires. L'exemple le plus

connu de ce type d'utilisation est constitué par une série d'activités enzymatiques, particulièrement l'isomérase de glucose, pour produire à partir du maïs un sirop à haute teneur en fructose. Ce nouvel édulcorant représente aujourd'hui environ la moitié du marché américain des édulcorants; il a dépassé le sucre de canne et de betterave et affecte considérablement la production américaine et étrangère de sucre. D'autres possibilités importantes d'innovations de ce type pourraient avoir des conséquences très sérieuses pour les pays en développement qui sont essentiellement des producteurs. Les pays en développement peuvent par contre utiliser la même approche globale pour innover à des fins qui leur sont spécifiques. On peut citer à cet égard le recours à toute une série d'enzymes pour convertir la cellulose en glucose à l'aide d'herbe, d'algues marines, d'algues, de paille et d'autres déchets végétaux tels les résidus de tournesol et de coton comme éléments de base. Un grand nombre d'enzymes d'une grande valeur pour le conditionnement alimentaire de ce type et convertissant l'amidon, la cellulose et l'hémicellulose en glucose ou en xylose - β -amylases, amyloglucosidase, pullulanase, β -glucanases, exlanase et ligninases - constitueront également des éléments importants pour le développement des carburants biologiques.

Le génie génétique affectera l'industrie alimentaire en mettant à sa disposition, à plus grande échelle et à meilleur marché, une gamme beaucoup plus vaste d'enzymes. Il affectera également la production d'un grand nombre d'additifs alimentaires du type protéique, comme par exemple les édulcorants du type thaumatococine et monelline. Ces protéines ont un pouvoir sucrant mille fois supérieur à celui du sucre mais, comme ce sont des protéines, leur valeur calorifique est plus faible que celle du sucre. Elles sont produites dans des fruits d'une région de l'Afrique occidentale en quantités relativement faibles. Les gènes pour ces protéines pourraient être transférés à des bactéries afin de commander la synthèse d'édulcorants protéiniques dans le cadre de fermentations à grande échelle. Si le goût de ces protéines les rend impropres à la consommation comme produits de substitution pour le sucre, ou si les propriétés physiques ne permettent pas leur incorporation dans certains aliments, des mutagénèses spécifiques in situ peuvent être utilisées pour créer un certain nombre de dérivés présentant les caractéristiques

souhaitées. Les édulcorants du type protéique, comme la minuscule protéine synthétique Aspartame, sont utilisés de plus en plus fréquemment: si les protéines sont de grande taille (supérieure à celle d'une trentaine d'acides-amino, comme la thaumatococcus et la monelline, par exemple) il est probablement plus rentable de les produire par les techniques du génie génétique que par synthèse chimique. Les implications de cette caractéristique pour les pays en développement sont très claires: la nouvelle technologie du génie génétique permettra aux pays industrialisés de produire des matières alimentaires qui étaient jadis l'apanage des tropiques.

Dans les pays industrialisés, le génie génétique a été appliqué de multiples façons à de nouveaux systèmes agricoles et à des méthodes novatrices de production et de conditionnement des aliments. L'impact peut être très important, comme par exemple dans le cas du passage du sucre de canne et de betterave aux sirops à haute teneur en sucre dû à la mise au point d'un nouveau procédé biotechnologique utilisant des enzymes. Le programme "gasohol" aux Etats-Unis et des programmes du même type dans d'autres pays pourront avoir des conséquences encore plus considérables lorsque la consommation de l'amidon, sous la forme de maïs ou de manioc, et de sucre de canne et de betterave passera du secteur alimentaire à celui de l'énergie. Le coût économique des matières alimentaires de base sera en réalité affecté par le prix du pétrole. Si l'on met au point des procédés efficaces de conversion de la cellulose en glucose, et en alcool, le prix de la cellulose sous forme de bois, paille, algues, herbe, etc., sera également affecté par le prix du pétrole. Il est impossible, à ce stade, d'envisager toutes les ramifications de ces nouvelles biotechnologies mais il ne fait aucun doute qu'elles sont déjà considérables; de nouvelles pressions économiques s'exercent avec force pour canaliser les excédents alimentaires, et particulièrement le maïs, vers le secteur des carburants utilisant la biotechnologie.

La nouvelle biotechnologie peut, dans un même temps, être mise à profit par les pays en développement à des fins qui leur sont spécifiques, notamment, comme c'est le cas au Brésil, pour leurs programmes de carburants biologiques. En réponse à la chute des prix mondiaux du sucre, les producteurs peuvent instaurer leurs propres programmes de fabrication de sirops à haute teneur en fructose à partir de sucre de canne ou de betterave. Si la cellulose devient

une source importante de bio-carburant, elle peut également le devenir pour le glucose, produit intermédiaire dans la production de ces carburants.

On comprend donc aisément la portée de l'impact que le génie génétique et la biotechnologie auront sur les pays en développement. Cette section du programme de recherche du CIGGB a pour objectif d'entreprendre des projets de recherche qui aideront les pays en développement à s'adapter et à appliquer la nouvelle technologie aux domaines agricoles, forestiers et alimentaires appropriés. Il s'agira de mettre l'accent sur la recherche sur les plantes, et sur le conditionnement et la préservation des produits alimentaires qui sont importants et pour lesquels ces techniques ne sont pas appliquées dans les pays en développement. Certaines recherches s'attacheront plus particulièrement à de nouvelles méthodes de reproduction des plantes et notamment à la propagation par clonage à partir de cultures tissulaires et à l'aide du génie génétique utilisant l'ADN recombinant. D'autres recherches seront orientées vers les applications du génie génétique pour la production d'enzymes destinées à l'industrie alimentaire; ceci entraînera la création de systèmes de clonage pour les levures et le Bacillus subtilis. Ceux-ci sont essentiels à la production de matières utilisables par l'industrie alimentaire (parce que généralement considérés comme acceptables par les réglementations portant sur les aliments qui par contre interdisent les systèmes à base d'*Escherichia coli*) mais ne sont pas disponibles actuellement en raison de problèmes de brevets.

Le CIGGB doit définir toute une série d'espèces végétales qui sont importantes pour les pays en développement et déterminer des objectifs de reproduction pour les plantes qui ne sont pas susceptibles d'être envisagées dans les pays industrialisés; ces objectifs doivent également pouvoir être atteints avec un maximum d'efficacité par le recours combiné aux cultures tissulaires et au génie génétique. Les plantes sélectionnées doivent comprendre des monocotylédons et des dicotylédons. Actuellement, ces techniques sont surtout au point pour ce qui concerne les dicotylédons mais il est indispensable que le CIGGB prenne une part active au développement d'une nouvelle technologie pour les monocotylédons: les céréales principales appartiennent en effet à ce groupe.

Le programme mettra essentiellement l'accent sur les plantes alimentaires de base mais l'industrie forestière devra également faire l'objet d'une attention particulière poursuivant le même objectif général: appliquer la nouvelle technologie du génie génétique pour obtenir de nouvelles souches rapidement et à grande échelle afin de contribuer au reboisement destiné à protéger les sols, de fournir du bois de construction pour répondre aux besoins locaux et d'exportation, et de s'insérer dans le cadre des programmes agricoles énergétiques.

Le programme du CIGGB pour le conditionnement alimentaire se concentrera sur la production d'enzymes, et plus particulièrement ceux qui catalysent l'hydrolyse des amidons de polysaccharides, de la cellulose, de l'hémicellulose et de la pectine, ainsi que sur l'hydrolyse des protéines et de la lignine. Il faudra développer toute une série de vecteurs de clonage pour exprimer les gènes exogènes dans les levures et le B. subtilis. De tels vecteurs ne sont pas disponibles, en partie en raison de leur grande importance industrielle pour les pays développés, mais ils sont essentiels, non seulement aux programmes de recherche du CIGGB, mais aussi aux programmes nationaux de recherche dans les pays en développement. Le but premier de cette section du programme est de développer des vecteurs pour les levures et le B. subtilis et de les appliquer à la production d'un petit nombre d'enzymes destinés au conditionnement alimentaire. Ces enzymes seront choisis selon des critères de convergence d'intérêts entre les programmes de carburant biologique et de conditionnement des aliments.

B. ACTIVITES

Composantes de recherche et de développement

La recherche dans ce domaine sera menée par deux équipes, l'une responsable de l'application du génie génétique à la reproduction des plantes, et l'autre de son application à l'enzymologie du conditionnement alimentaire.

L'équipe de génie génétique des plantes développera des vecteurs ADN qui doivent être utilisés dans les plantes à impact économique pour les pays en développement; ces vecteurs serviront

à l'introduction de gènes exogènes dans ces plantes par préparation et transformation des protoplastes, et régénération de plantes entières à partir de ceux-ci, par exemple. Des gènes exogènes uniques pourront être sélectionnés parce qu'ils confèrent un caractère de résistance aux parasites ou aux maladies, parce qu'ils améliorent les propriétés nutritionnelles, confèrent une résistance aux herbicides ou spécifient d'autres caractéristiques de valeur. Un dialogue actif sera instauré avec l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Institut international de recherche sur le riz (IRRI) et d'autres agences internationales afin de coordonner ce programme et d'assurer le choix le plus judicieux possible des espèces et des gènes exogènes. Le cas échéant, des projets seront choisis en association avec les programmes nationaux de recherche dans les pays en développement. Ce groupe s'attachera essentiellement au développement et à l'utilisation de vecteurs ADN de plantes, basés sur les plasmides et les virus de l'ADN des plantes; il travaillera également à l'isolation et au génie génétique de gènes uniques présentant une importance économique potentielle. Il se concentrera partiellement sur la mise au point de la nouvelle technologie pour les monocotylédons en raison de l'appartenance des céréales à ce groupe et de leur importance économique, et parce que les vecteurs Ti disponibles actuellement ne semblent pas être efficaces pour ce groupe de plantes.

L'équipe travaillant au conditionnement des aliments élaborera des systèmes de vecteurs d'expression pour le B. subtilis et les levures. Ils seront utilisés pour réaliser l'expression de gènes exogènes codant pour toute une série d'enzymes intervenant dans le conditionnement alimentaire. Il s'agit dans chaque cas de réaliser des souches de B. subtilis ou de levures afin de surproduire ces enzymes, à l'échelle du laboratoire, dans un premier stade, et ensuite à l'échelle d'une usine pilote en conjonction avec le Groupe de biotechnologie avancée au CIGGB. Les enzymes seront choisis en accord avec les producteurs ou les utilisateurs d'enzymes dans les pays en développement, et avec le Groupe bio-carburant au CIGGB. Une attention toute particulière doit être accordée à l'enzymologie de la dégradation de la ligno-cellulose par les insectes tropicaux, la flore intestinale, les bactéries et les champignons tropicaux.

Le groupe participera à un atelier annuel sur la technologie du génie génétique. Il assumera des responsabilités particulières en matière de formation à la conception et à l'utilisation des vecteurs. Il organisera une série de réunions du groupe d'experts pour faciliter l'application du génie génétique aux problèmes de reproduction des plantes et de conditionnement des aliments dans les pays en développement. Ces réunions couvriront notamment des sujets divers tels les vecteurs de plantes, les effets économiques et la biochimie des gènes les plus importants dans les plantes, l'enzymologie de la tolérance saline, la biochimie et la génétique de la fixation de l'azote, les pesticides polypeptidiques, mettant tous l'accent sur des aspects spécifiques aux pays en développement.

Le groupe entretiendra et mettra à disposition des collections de plantes, de vecteurs de levures et de B. subtilis, de bactéries et de cultures tissulaires de plantes. Ces collections seront adéquatement cataloguées et publiées afin que les scientifiques des pays en développement puissent y accéder aisément. Le groupe réalisera des manuels de protocoles expérimentaux qui seront mis à la disposition des scientifiques des pays en développement; il pourra être consulté et collaborera à des projets entrepris dans ces pays.

Le programme de travail devrait permettre d'obtenir les résultats suivants:

Application de l'ADN recombinant à la reproduction des plantes

- Vecteurs ADN de plantes qui peuvent être utilisés pour introduire des gènes exogènes dans les plantes qui sont importantes pour les pays en développement, et plus particulièrement les plantes alimentaires, y compris les monocotylédons et les arbres forestiers, afin que ces gènes soient exprimés. Les vecteurs doivent être distribués aux scientifiques et aux instituts des pays en développement;
- Nouvelles souches de plantes qui ont été propagées végétativement par culture tissulaire et manipulées génétiquement à l'aide de l'ADN recombinant. Les méthodes et les souches doivent être distribuées aux scientifiques et aux instituts des pays en développement;

- scientifiques et techniciens formés dans ce secteur de la recherche;
- Manuels de procédures expérimentales;
- Travaux des conférences et ateliers.

Application de l'ADN recombinant au conditionnement alimentaire

Vecteurs ADN permettant l'expression à haut niveau de gènes clonés dans le B. subtilis et les levures. Les vecteurs et les méthodes doivent être distribués aux scientifiques, aux industries et aux instituts des pays en développement;

- Souches de B. subtilis et de levures qui surproduisent des enzymes dégradant les polysaccharides comme la cellulose d'amidon, l'hémicellulose et la pectine, et les composants de lignine de la lignocellulose. Les méthodes et les souches doivent être mises à la disposition des scientifiques, des industries et des instituts des pays en développement;
- scientifiques et techniciens formés dans ce secteur de la recherche;
- Manuels de procédures expérimentales;
- Travaux des conférences et ateliers.

C. PLAN DE TRAVAIL

Génie génétique des plantes et des systèmes de conditionnement alimentaire

lère année:

- Etablissement des priorités en matière de recherche par le Conseil des conseillers scientifiques;

- Etablissement de cultures tissulaires et de systèmes de régénération pour les espèces de plantes sélectionnées;
- Etablissement d'une "technologie actuelle" de systèmes de clonage pour les plantes, les levures et le B. subtilis.

2ème année:

- Etudes biochimiques des systèmes génétiques où des gènes uniques codent pour des caractères essentiels des plantes;
- Isolation par clonage de gènes qui codent pour des caractères essentiels des plantes;
- Etudes biochimiques d'enzymes qui hydrolysent les polysaccharides et la lignocellulose;
- Isolation par clonage de gènes qui codent pour ces enzymes,
- Développement de vecteurs de clonage pour permettre l'expression stable de gènes exogènes dans les plantes, monocotylédons y compris;
- Développement de vecteurs de clonage permettant l'expression inductible de haut niveau de gènes exogènes dans le B. subtilis et les levures;
- Etudes complémentaires des cultures tissulaires et de régénération des plantes.

3ème année:

- Introduction de gènes exogènes essentiels et analyse de l'expression de ces gènes dans les cellules de plantes en cultures tissulaires;
- Production de souches de levures et de B. subtilis qui expriment des gènes codant pour la dégradation des polysaccharides et de la lignocellulose, à haut niveau;

- Poursuite des études biochimiques des enzymes qui dégradent les polysaccharides et la lignocellulose;
- Poursuite des études biochimiques de gènes uniques codant pour des caractéristiques majeures des plantes;
- Poursuite des études des cultures tissulaires et de la régénération des plantes.

4ème année:

- Régénération de plantes à partir de cultures tissulaires dans lesquelles des gènes exogènes ont été clonés et exprimés;
- Essais pilotes de souches de levures et de B. subtilis;
- Application de la technologie à d'autres systèmes génétiques pour la production de plantes et l'enzymologie du conditionnement alimentaire.

5ème année:

- Application de la technologie à d'autres systèmes;
- Essais sur le terrain de nouvelles souches de plantes;
- Essais pilotes des souches de levures et de B. subtilis.

D. COLLABORATION AVEC D'AUTRES INSTITUTIONS

- Coordination avec l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Institut international de recherche sur le riz (IRRI), le PNUD et l'UNESCO;
- Coordination avec les programmes nationaux de recherche dans les pays en développement.

E. CONDITIONS PREALABLES

Le caractère adéquat des qualifications universitaires des stagiaires des pays en développement constitue une condition préalable majeure. Ces stagiaires doivent avoir une excellente formation en microbiologie, en physiologie et en génétique des plantes, accompagnée d'une connaissance très approfondie des techniques analytiques.

F. BESOINS FINANCIERS

Les recherches des deux équipes ci-dessous seront réalisées sous la direction d'un scientifique confirmé:

Le génie génétique des plantes

Il y aura, au nombre des quatre scientifiques travaillant dans ce domaine, un expert en cultures tissulaires des plantes et un expert en vecteurs ADN des plantes, ainsi que deux autres experts ayant une expérience complémentaire adéquate dans des domaines tels que la biochimie des gènes majeurs des plantes affectant des caractères à impact économique, les polypeptides, les pesticides, les cultures tissulaires et la régénération des monocotylédons, les cultures tissulaires et la régénération des arbres forestiers et d'autres espèces ayant une importance économique pour les pays en développement. L'équipe doit comprendre deux scientifiques au niveau du post-doctorat, quatre techniciens et six stagiaires.

L'application du génie génétique au conditionnement alimentaire

On trouvera, parmi les quatre scientifiques travaillant dans ce secteur, un expert en biochimie et enzymologie du conditionnement des aliments, et un expert en génétique moléculaire du B. subtilis (ou des levures). L'équipe comprendra deux autres scientifiques, l'un expert en génétique moléculaire des levures (ou du B. subtilis) et l'autre, expert en biochimie de l'enzymologie de la dégradation des polysaccharides. L'un d'entre eux doit être expérimenté en

clonage de l'ADN; un autre scientifique doit avoir travaillé dans le domaine de la dégradation de la lignocellulose. L'équipe comprendra également un scientifique au niveau du post-doctorat, deux techniciens et quatre stagiaires.

Budget quinquennal

<u>Personnel</u>		(en milliers de dollars E.U.)
(première année 40 %, deuxième année 60 % du fonctionnement total)		
Scientifique confirmé	8 hommes/année	300
Scientifique	32 hommes/année	1.440
Scientifique, post-doctorat	12 hommes/année	288
Techniciens	18 hommes/année	408
Sous-total		<u>2.436</u>
Gestion du centre et personnel auxiliaire		570
Total personnel		<u>3.006</u>
<u>Activités de fonctionnement</u>		
Scientifiques visiteurs	40 hommes/mois	320
Réunions groupes d'experts	4	100
Services conseils	30 hommes/mois	300
Formation	40 hommes/mois	900
Matériel d'information	30	30
Achats produits chimiques, etc.	76 unités-hommes/année	760
Associations		150
Divers (voyages, téléphone)		84
Total activités de fonctionnement		<u>2.644</u>
Total programme de travail		5.650

ANNEXE I

Besoins en équipement

Installations centralisées

Le groupe devra avoir accès aux installations centralisées comprenant;

4 ultracentrifugeuses
2 compteurs de scintillations
1 microscope électronique
installations de préparation de milieux
lave-vaisselle
équipement de stérilisation
équipement de synthèse des oligonucléotides
équipement de séquençement de l'ADN
équipement de préparation des anticorps monoclonaux
laboratoires de contention

Equipements spéciaux pour cultures tissulaires, régénération et croissance des plantes

Salles de cultures tissulaires;
Meuble pour cultures tissulaires avec températures contrôlées et système d'éclairage;
Hottes à débit laminaire;
Equipement de culture des plantes, avec systèmes de contrôle de l'éclairage et de la température;
Il est difficile d'évaluer les coûts. Prévoir 150.000 \$ pour frais divers.

Equipement essentiel

4 centrifugeuses à vitesse moyenne, Sorvall RCSB, par exemple
15 centrifugeuses du type Eppendorf
1 machine à glace
2 spectrophotomètres
2 chambres froides à 4°C

- 10 incubateurs orbitaux
- 10 bains-marie
- 20 alimentations
- Equipement d'électrophorèse
- 4 collecteurs de fractionnement
- 2 fours à vide
- 8 incubateurs
- 2 microbalances
- 2 balances à chargement par le haut
- 2 pH mètres
- 5 microscopes
- 8 congélateurs à -20°C
- 4 congélateurs à -70°C
- 10 réfrigérateurs du type domestique à fermeture horizontale
- Equipement d'autoradiographie
- Appareil photo Polaroid
- Boîtes à lumière U.V.

Le coût total de l'équipement essentiel s'élèvera à environ
250.000 \$.

