

## L'AMÉLIORATION DES CULTURES DÉDIÉES À LA PRODUCTION DE BIOCARBURANTS DE SECONDE GÉNÉRATION ET À LA CHIMIE VERTE

par Herman Höfte<sup>1</sup>

Le développement de nouvelles sources d'énergie renouvelable constituera un défi majeur pour le 21<sup>ème</sup> siècle. Les biocarburants de seconde génération à partir de la biomasse lignocellulosique occuperont très probablement une partie importante dans le bouquet de solutions. Trois sources de biomasse peuvent être distinguées : des déchets (agricoles, sylvicoles, industriels et municipaux), la biomasse forestière et des cultures dédiées, avec une contribution majeure de ces dernières. Ceci nécessitera le développement de nouvelles cultures optimisées pour le rendement en biomasse dans des conditions de faible apport d'intrants, l'adéquation de la biomasse au processus de conversion et éventuellement la présence de co-produits à haute valeur ajoutée. Les propriétés recherchées dépendent de la méthode de conversion de la biomasse avec des contraintes plus importantes pour la conversion biologique que thermochimique.

Différents types de cultures sont actuellement préconisés selon les conditions environnementales : des ligneux, comme le saule ou le peuplier, cultivés dans des conditions agronomiques sous forme de taillis à courte (TCR, rotation de 7 - 10 ans) ou à très courte rotation (TTCR, rotation de 2 - 3 ans) et des graminées C4, annuelles (ex. le maïs ou le sorgho) ou pérennes (ex. canne à sucre, miscanthus ou switchgrass). L'amélioration de ces espèces s'appuiera largement sur la sélection assistée par marqueurs (SAM) et la biotechnologie. Je focaliserai cette présentation sur l'amélioration des critères « technologiques » de la biomasse lignocellulosique.

La biomasse est constituée de 3 types de polymères pariétaux: la cellulose, les hémicelluloses et la lignine dans des rapports différents selon les espèces. La conversion biologique de la biomasse en carburants liquides consiste en deux étapes : la conversion enzymatique des polysaccharides pariétaux en sucres fermentescibles (la saccharification) et la fermentation. Contrairement à l'amidon pour lequel la saccharification et la fermentation en éthanol sont très efficaces, la cellulose est, en partie à cause de sa structure cristalline extrêmement stable et la présence de la matrice lignifiée, plus difficile à convertir.

**La lignine**, un polymère complexe de phénylpropanoïdes (voir la séance de l'Académie d'Agriculture du 17/2/2010, [http://www.academie-agriculture.fr/detail-seance\\_220.html](http://www.academie-agriculture.fr/detail-seance_220.html)), est indiscutablement le facteur limitant. La teneur en lignine est inversement corrélée avec la fractionnabilité et la dégradabilité de la biomasse. Des prétraitements alcalins ou acides ou par explosion à la vapeur permettent de libérer la lignine et d'augmenter l'efficacité de la saccharification. En revanche, la présence de composants phénoliques solubles inhibe la fermentation des sucres. Il faut souligner que la lignine n'est pas forcément indésirable dans le contexte de la bioraffinerie, elle est source d'énergie (avec un pouvoir calorifique de 27-29 kJ/g comparé à 14kJ/g pour la cellulose), de molécules pour la chimie verte et de matériaux. L'enjeu est

---

<sup>1</sup> Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech, INRA, Centre de Versailles-Grignon.

donc de faciliter le fractionnement des lignines plutôt que de les éliminer. Des résultats prometteurs ont été obtenus en modifiant la quantité et qualité de la lignine par SAM ou par voie biotechnologique. Par exemple, la réduction du niveau d'expression de différentes enzymes de biosynthèse des monolignols chez le peuplier ou la luzerne (Chen *et al.* 2007), améliore la fractionnabilité et la saccharification. Ces études ont révélé aussi la remarquable plasticité des lignines. En effet, dans certains mutants, on observe l'incorporation de précurseurs des monolignols inhabituels dans le polymère. En revanche, la lignine a un rôle biologique important, elle renforce la paroi, imperméabilise des tissus conducteurs et constitue une barrière aux agents pathogènes. Néanmoins, des essais en champ sur des peupliers transgéniques montrent qu'il existe une marge de manœuvre pour la manipulation de la lignine tout en préservant les performances agronomiques (Pilate *et al.* 2002).

**La cellulose** est constituée de polymères de glucose, associés en grand nombre en microfibrilles cristallines. Cette structure cristalline est responsable de la résistance à la traction et forme, avec la matrice, un matériau composite extrêmement résistant. Selon les types de parois, la cristallinité des microfibrilles est variable. Des microfibrilles de faible cristallinité sont *a priori* plus accessibles aux cellulases. La cellulose est synthétisée par un complexe protéique membranaire. La stœchiométrie des protéines au sein du complexe est très finement régulée à travers la régulation de leur trafic intracellulaire. Des résultats récents montrent que la modification du rapport entre certains constituants du complexe peut induire des changements de la cristallinité (Takahashi *et al.* 2009). Il reste à évaluer l'impact de ces changements sur la saccharification.

**La fraction hémicellulosique** correspond essentiellement à un ensemble hétérogène de polymères de pentoses (arabino-xylanes) et d'hexoses (gluco-(galacto)-mannanes).

La composition en hémicelluloses est importante non seulement parce que les pentoses ne sont pas fermentescibles par les levures utilisées actuellement, mais aussi parce qu'elles conditionnent la structure et l'extractibilité de la lignine. Par exemple, dans le bois des conifères, on trouve des lignines linéaires et riches en liaisons  $\beta$ -O-4, associées avec les glucomannanes et des lignines plus ramifiées et riches en liaisons biphenyles associées avec les xylanes (Lawoko *et al.* 2005). Finalement, les hémicelluloses constituent une source importante de synthons et de polymères.

### **De nouvelles pistes pour la modification de la composition de la biomasse.**

Il existe une grande variété dans la composition pariétale selon les espèces, les types cellulaires et les conditions environnementales. Par exemple, les hémicelluloses sont riches en arabinoxylanes ou glucomannanes respectivement chez les Angiospermes et les Gymnospermes. La teneur en cellulose peut varier entre 95% dans les fibres de coton ou les fibres phloemiennes du lin, et quelques % dans l'albumen du blé. Le bois de tension du peuplier peut contenir jusqu'à 90% de cellulose par rapport aux 30% présents dans le bois normal. Il existe donc une large variabilité dans la nature pour la composition des parois ce qui suggère une marge de manœuvre pour l'amélioration génétique de la biomasse.

Comme la lignine, il est envisageable de manipuler les voies de biosynthèse des polysaccharides. Quelques exemples de modifications possibles sont l'augmentation du rapport glucomannanes-xylanes ou la modification du degré de féruloylation des arabinoxylanes chez les graminées, sachant que l'acide férulique contribue à la réticulation des xylanes et peut constituer un site de nucléation de la lignification (Buanafina *et al.* 2008). Ces approches nécessitent en revanche une meilleure compréhension des voies de biosynthèse des polymères et l'identification des enzymes clés.

Une autre approche envisagée par certains laboratoires américains (ex. <http://www.jbei.org>) est de manipuler les voies de biosynthèse des composants phénoliques afin d'introduire des liaisons plus facilement hydrolysables (amides, esters) dans la lignine.

L'anatomie des organes est également un facteur clé de la composition de la biomasse. Par exemple, le rapport faisceaux-fibres vasculaires, corrélé avec la teneur en lignine, montre une grande variation intra-espèce comme chez le maïs ou la graminée modèle *Brachypodium*. Des facteurs de transcription régissant le dépôt de la paroi secondaire dans des cellules spécialisées ont été identifiés. Leur expression ectopique a permis de transposer la composition des parois d'une architecture particulière à d'autres cellules (Demura *et al.* 2007). Dans ce contexte, une meilleure compréhension du contrôle transcriptionnel du bois de tension ou du dépôt de la paroi dans des fibres devrait permettre de produire des parois riches en cellulose dans d'autres types cellulaires. Il est bien sûr indispensable de tenir compte des contraintes mécaniques de l'organe, ce qui nécessite le développement de modèles mathématiques afin de prédire l'impact des modifications dans l'anatomie des organes.

### **La production *in planta* d'enzymes hydrolytiques**

Comme expliqué dans la présentation de Jean Tayeb dans cette session, la production à grande échelle des enzymes hydrolytiques constitue actuellement un coût majeur dans le processus de la conversion biologique de la biomasse. Une piste activement recherchée est de produire ces enzymes *in planta*. Plusieurs études visent à produire des combinaisons d'enzymes fongiques et/ou bactériennes dans différents organes ou compartiments cellulaires et d'évaluer leur impact sur la conversion de la biomasse (Ambramson *et al.* 2010).

### **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- (1) AMBRAMSON M., SHOSEYOV O. and SHANI Z., 2010. – Plant cell wall reconstruction toward improved lignocellulosic production and processability. *Plant Science* **178**, 61-72.
- (2) BUANAFINA M. M., LANGDON T., HAUCK B., DALTON S. and MORRIS P., 2008. – Expression of a fungal ferulic acid esterase increases cell wall digestibility of tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Plant Biotechnol J.*, **6**, 3, 264-80.
- (3) CHEN F. and DIXON R. A., 2007. – Lignin modification improves fermentable sugar yields for biofuel production. *Nat Biotechnol* **25**, 7, 759-61.
- (4) DEMURA T. and FUKUDA H., 2007. – Transcriptional regulation in wood formation. *Trends Plant Sci.* **12**, 2, 64-70.
- (5) LAWOKO M., HENRIKSSON G. and GELLERSTEDT G., 2005. – Structural differences between the lignin-carbohydrate complexes present in wood and in chemical pulps." *Biomacromolecules*, **6**, 6, 3467-73.
- (6) TAKAHASHI J., RUDSANDER U. J., HEDENSTROM M., BANASIAK A., HARHOLT J., AMELOT N., IMMERZEEL P., Ryden P., ENDO S., IBATULLIN F. M., BRUMER H., DEL CAMPILLO E., MASTER E. R., SCHELLER H. V., SUNDBERG B., TEERI T. T. and MELLEROWICZ E. J., 2009. – KORRIGAN1 and its aspen homolog PttCel9A1 decrease cellulose crystallinity in *Arabidopsis* stems. *Plant Cell Physiol.*, **50**, 6, 1099-115.