

Présentation du cours,

Il est convenu d'entendre par « lignification », le phénomène de dépôt de lignines dans les parois des cellules végétales; ce phénomène est caractéristique des végétaux vasculaires, dits « supérieurs » en terme d'évolution.

Le terme lignification désigne autant l'état, la structure physico-chimique, que le processus biosynthétique de mise en place des lignines dans la trame polyosidique des diverses parois végétales.

L'étude de la lignification est importante au plan pratique parce que la présence de lignines est étroitement corrélée à de multiples qualités d'usage des bois et de leurs produits dérivés. Elle est aussi très intéressante au plan fondamental, parce que la lignification progressive de ces parois végétales met en jeu des mécanismes enzymatiques de synthèse des monomères de lignines ainsi que des réactions non enzymatiques, d'organisation supramoléculaire de macromolécules végétales.

Alors que la variabilité naturelle de la lignification n'a été reconnue et étudiée que depuis quelques décades dans le cas de mutants et d'écotypes, les premières manipulations génétiques de la lignification de bois datent de moins de dix ans. L'étude de leurs effets sur l'organisation supramoléculaire et les propriétés des bois ne débute donc qu'actuellement. Dans ces deux domaines d'applications de la biologie moléculaire et surtout de la biochimie structurale, encore peu étudiée, des progrès spectaculaires sont espérés. Pour ces mêmes raisons, il en ira sûrement de même pour la connaissance des humus qui, en tant que fraction polyphénolique de 'la' matière organique des sols, résultent de processus biotiques et abiotiques de dégradation des lignines.

Encore faudra-t-il que tous ces progrès, pour que ils soient utilisables, satisfassent aussi les contraintes socio-écologiques ... (et non pas seulement – 'économiques') dont l'importance commence à être aussi reconnue actuellement.

Pour ces raisons ce cours concerne donc :

- 1 :des données socio-économiques,
- 2 :les structures anatomiques, moléculaires et macromoléculaires,
- 3 :quelques exemples de qualités des bois et produits dérivés :

mécanique des bois

production des pâtes à papier

capacité calorifique

fabrication de barriques

Tous ces exemples tendent à illustrer une simple évidence : l'importance et la nécessité absolue de conduire d'abord des recherches de connaissances, afin de pouvoir à des développements techniques durables et, globalement acceptables qui sont eux même source de nouvelles recherches de concepts plus précis et donc de connaissances plus exactes,

à Grignon : décembre 2005.

LA LIGNIFICATION

UV Biologie et conduite de l'arbre

: RAPPELS SOCIAUX - ECONOMIQUES:	1 à 4
: FABRICATION DES PATES ET PAPIERS:	
Un exemple : l'usine d'Alizay	(3 transp.)
La fabrication des pâtes et papiers	p1 à p10
: STRUCTURE ANATOMIQUE	5 à 10
: STRUCTURE MOLECULAIRE	11 à 16
: STRUCTURE MACROMOLECULAIRE	17 à 21
: BIOSYNTHESE :	
6a : Exemples de modifications génétiques	
6b : problème de la maîtrise des régulations	
: QUALITES D'USAGE DES PRODUITS LIGNEUX :	
(Bois de réaction, de chauffage et de barriques ...)	
:RAPPELS BOTANIQUE :	
'Variabilité biologique de la lignification'	(6 transp.)

Présentation du cours,

Il est convenu d'entendre par « lignification », le phénomène de dépôt de lignines dans les parois des cellules végétales; ce phénomène est caractéristique des végétaux vasculaires, dits « supérieurs » en terme d'évolution.

Le terme lignification désigne autant l'état physico-chimique que le processus biosynthétique, de mise en place des lignines dans la trame polyosidique des diverses parois végétales.

L'étude de la lignification est importante au plan pratique parce que la présence de lignines est étroitement corrélée à de multiples qualités d'usage des bois et de leurs produits dérivés. Elle est aussi très intéressante au plan fondamental, parce que la lignification progressive de ces parois végétales met en jeu des mécanismes enzymatiques de synthèse des monomères de lignines ainsi que des réactions non enzymatiques, d'organisation supramoléculaire de macromolécules végétales.

Alors que la variabilité naturelle de la lignification n'a été reconnue et étudiée que depuis quelques décades dans le cas de mutants et d'écotypes, les premières manipulations génétiques de la lignification de bois datent de ~~quelques~~ dix ans. L'étude de leurs effets sur l'organisation supramoléculaire et les propriétés des bois ne débute que actuellement. Dans ces deux domaines d'applications de la biologie moléculaire et surtout de la biochimie structurale, encore peu étudiée, des progrès spectaculaires sont espérés.

Encore faudra t-il que tous ces progrès, pour que ils soient utilisables, satisfassent aussi les contraintes socio-écologiques dont l'importance commence seulement à être aussi reconnue, actuellement.

Pour ces raisons ce cours concerne donc :

- 1 : des données socio-économiques,
- 2 : les structures anatomiques, moléculaires et macromoléculaires des bois,
- 3 : quelques exemples de qualités des bois et produits dérivés :

mécanique des bois de réaction,

production des pâtes à papier,

capacité calorifique,

fabrication de barriques....

réduit 2003.

Tous ces exemples tendent à illustrer une simple évidence : l'importance et la nécessité absolue de conduire d'abord des recherche de connaissances, si l'on veut aboutir à des développements techniques durables et, globalement acceptables.

rappels sociaux économiques,

USAGE DES PLANTES A FIBRES EN EUROPE

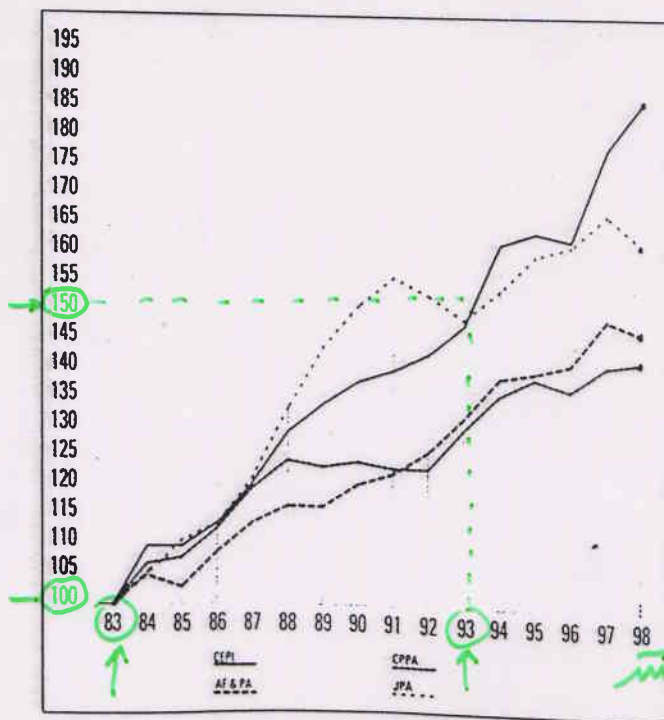
(1994 ,C.E. : DG XII , doc:EUR 16101)

DOMAINES D'INTERET

- | | |
|--|----------------------------|
| 1 : MATERIAUX COMPOSITES
fibres (structurée) dans diverses matrices (amorphe)
matrice organique : polymères de synthèse
matrice inorganique : ciment,platre,... | : MC
: PMC
: IMC (+) |
| 2 : TEXTILES
tissés : vêtements et revêtements techniques, | : TE (+ +) |
| 3 : PATES et PAPIERS
impression, écriture, emballages et supports : cartons | : PP (+ + +) |
| ~ : <i>pour mémoire</i> :
filtres, membranes,...
et
(bio)-dégradation ultime : | : Energie |

Croissance mondiale indexée de la production de papier -carton (production de la C.E. en 1993 : 42 millions de tonnes)

Base 100 = 1983. Pour 1998, résultats du premier semestre.



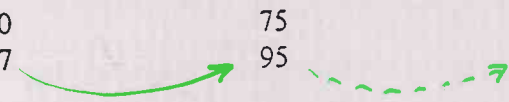
La Papeterie n° 223 Novembre 1998

**FILIERE BOIS MATERIAUX ET PATE-PAPIER DE L'UNION EUROPEENNE
A 12 ET A 15: INCLUANT FINLANDE, SUEDE ET AUTRICHE.**

#

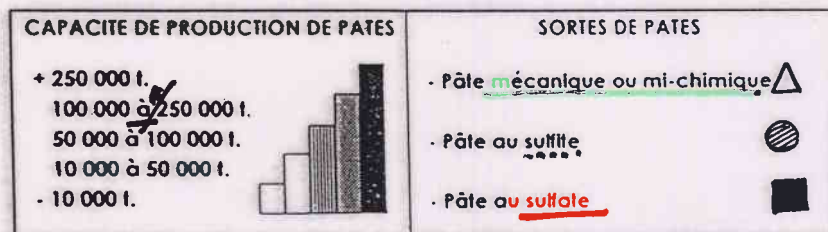
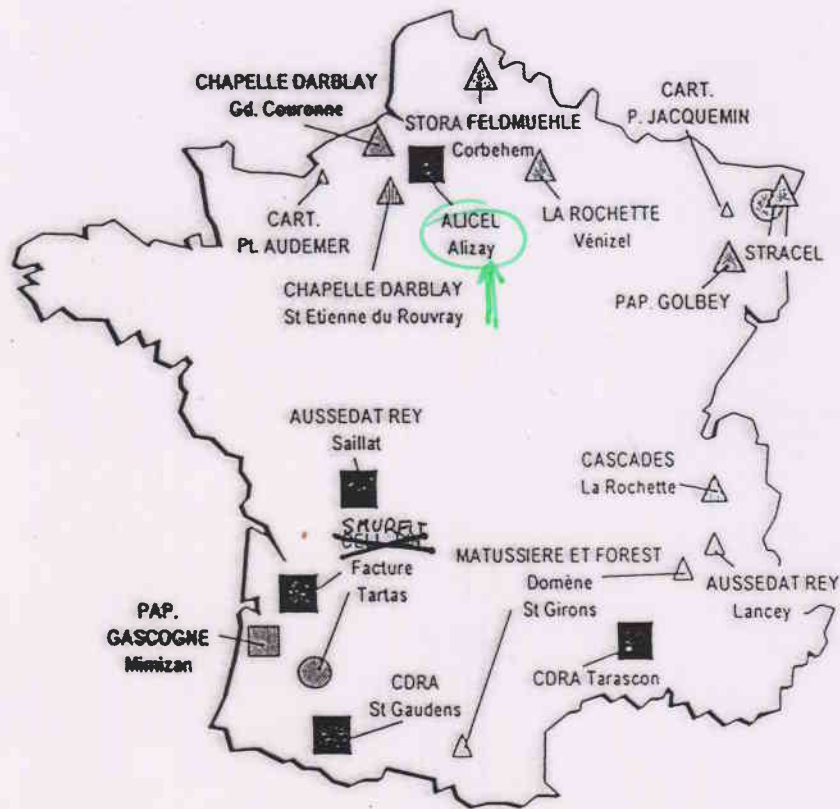
Union Européenne	à 12	à 15
x Surface (10 ⁶ Ha)	45	90
x Autosuffisance:		
. production bois	40	75
. papiers cartons	67	95
x Production		
. Bois (10 ⁶ m ³)	120	220
. Papiers carton (10 ⁶ T)	41	63

à 25



Données « Europe Environnement » n° 452 (1995) d'après
A.S.I.F. et CEPI, pour l'année 1993.

LA FABRICATION DES PATES



d'après NEMENTO AFOCEL - 1994

$150.000 \text{ T/ann} \text{ sur } 300 \text{ j/ann} \leftrightarrow (500 \text{ T/j}) \equiv (20 \text{ T/heure})$

FABRICATION DES PATES ET PAPIERS:

Un exemple : l'usine d'Alizay

(3 transp.)



DU BOIS A LA PATE.



Copeaux



Pâte non blanchie



Pâte en fin de blanchiment

Alicel a une capacité de production annuelle de 300 000 tonnes de pâte à papier. La pâte Alicel est utilisée, pour moitié, dans les unités papetières du Groupe en France. La partie restante, commercialisée, représente 10 % du marché français et 3 % du marché européen.



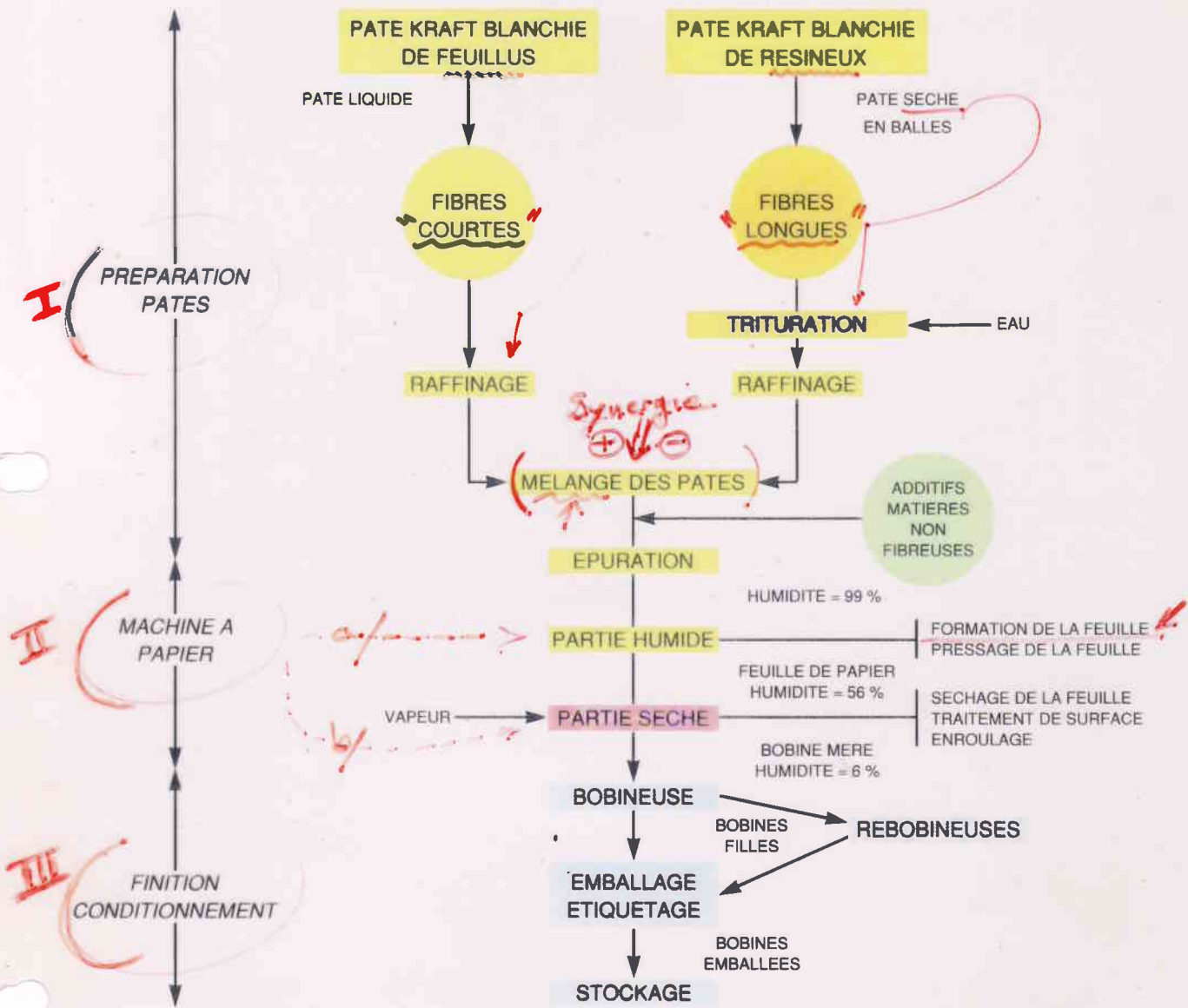
L'approvisionnement en bois s'effectue dans une zone d'environ 250 kilomètres autour du site et concerne principalement les essences de feuillus donnant des fibres courtes : chêne, bouleau, charme et hêtre dont la feuille est devenue son emblème. Le bois utilisé provient de coupes d'éclaircies ou d'élagages. MoDo Paper Alizay participe ainsi au renouvellement et à l'entretien de la forêt environnante.

Matière première :

Hêtre : 30%
Chêne : 25%
Bouleau - Charme : 25%
Résidus de scierie : 20%

Consommation totale annuelle : 1 200 000 tonnes

CYCLE DE PRODUCTION DU PAPIER



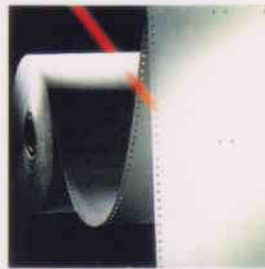
MoDo Paper
Alizay



Alipap

EXCELLENCE DES PRODUITS.

La qualité des ~~sortes~~ papiers produites par Alipap répond pleinement aux plus grandes exigences manifestées dans le domaine de l'impression-écriture.



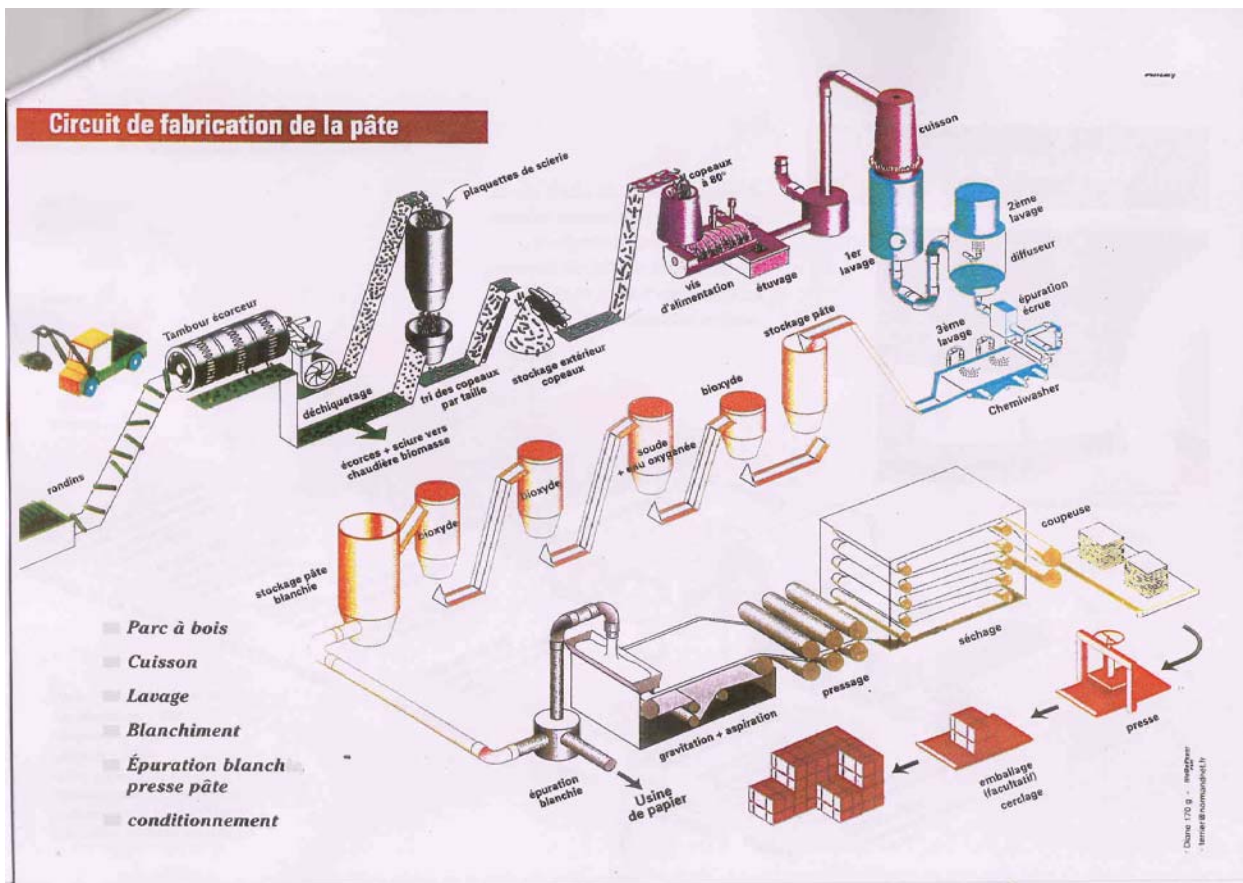
"sans bois" = sous "file mécanique lignifiée"

Produits	Caractéristiques	Grammages	Conditionnement
MoDo Form	Non couché sans bois, utilisé pour l'impression des formulaires en continu dans les imprimantes à impact rapide	60, 70, 80, 90 g/m ²	Bobine
MoDo Laser	Non couché sans bois, utilisé pour toute impression des formulaires en continu y compris en imprimante laser	70, 80, 90 g/m ²	Bobine
MoDo Offset	Non couché sans bois, utilisé pour l'édition et pour tous travaux d'impression offset	50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100, 120 g/m ²	Format et bobine
MoDo Class	Non couché sans bois d'une qualité plus lissée, utilisé pour la fabrication des cahiers, blocs et fournitures scolaires	56, 60, 64, 70, 75, 80, 90 g/m ²	Bobine



*{ L# 10m
N# 100 m... max*





Contribuer au renouvellement et au développement de la forêt.

En utilisant les seuls bois d'éclaircie, les branches et les sous-produits du sciage, la fabrication du papier devient une chance pour la forêt. L'enlèvement des petits bois permet d'effectuer dans les jeunes plantations, les travaux qui favorisent le bon développement de la forêt. En 200 ans, la forêt française a doublé de surface et depuis 1945, elle s'est encore accrue de 35% pour couvrir désormais 26% du territoire national.



Pâte Kraft de feuillus mélangés



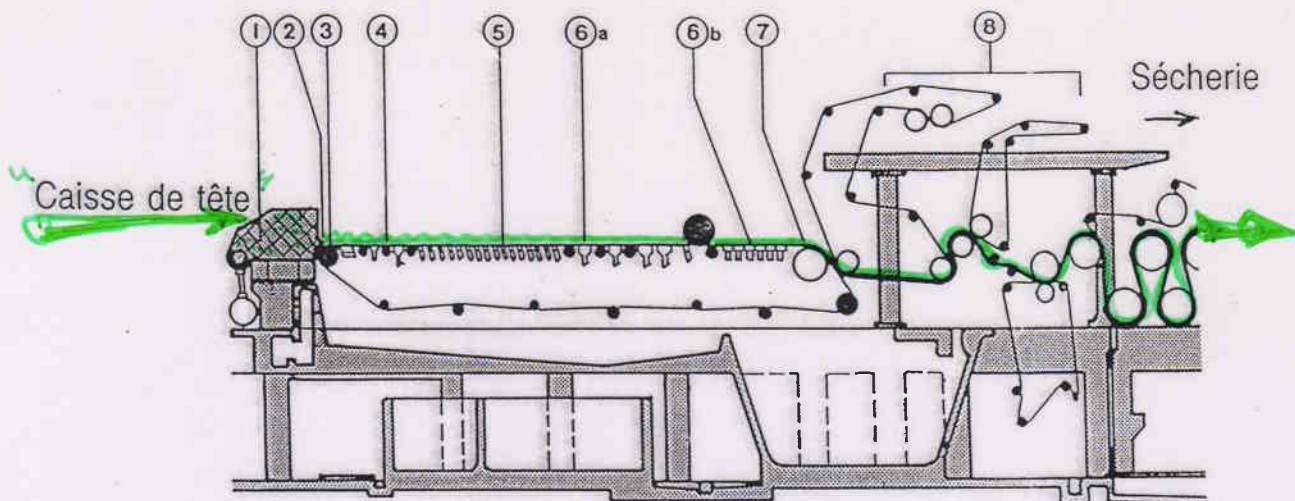
Le site MoDo Paper Alizay produit une pâte à fibres courtes (feuillus exclusivement) appelée pâte kraft blanchie de feuillus mélangés. Depuis 1994, le blanchiment de la pâte se fait sans chlore et porte donc le symbole ECF (Elemental Chlorine Free).

fabrication des (pâtes à) papiers

LA FABRICATION DU PAPIER

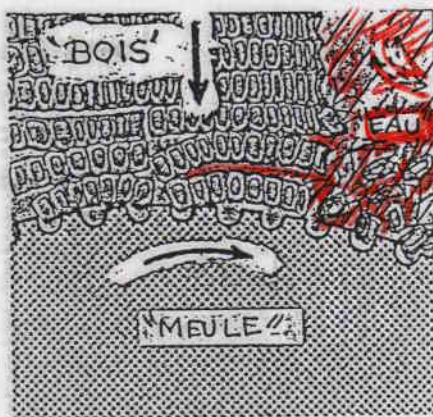
LA MACHINE A PAPIER (Doc. CTP)

LES CAUSES DE LA SOLIDITE DU MATELAS FIBREUX



- | | |
|--------------------|------------------------|
| 1. Caisse de tête | 6a. Caisnes humides |
| 2. Lèvres | 6b. Caisnes aspirantes |
| 3. Rouleau de tête | 7. Cylindre aspirant |
| 4. Pontuseaux | 8. Section des presses |
| 5. Foils | 9. Sécherie |

LA FABRICATION DES PÂTES



→ La fabrication des pâtes consiste à diviser le bois en fibres primaires tout en dégradant le moins possible les fibres.

Cette division peut être obtenue soit par des moyens mécaniques, soit par action de réactifs chimiques.

Les principales pâtes fabriquées industriellement peuvent être classées suivant leur rendement comme suit :

- rendement supérieur à 90 % : pâtes mécaniques, thermomécaniques et chimicothermomécaniques ;
- rendement compris entre 80 et 90 % : pâtes chimicomécaniques ou mécano-chimiques ;
- rendement compris entre 70 et 80 % : pâtes mi-chimiques ;
- rendement compris entre 45 et 55 % : pâtes chimiques.

→ Pour obtenir une pâte, il faut donc depenser de l'énergie sous forme mécanique, chimique et calorifique.

Si l'on n'utilise pas de réactifs chimiques, on consomme des kWh (pâtes mécaniques, thermomécaniques et chimicothermomécaniques).

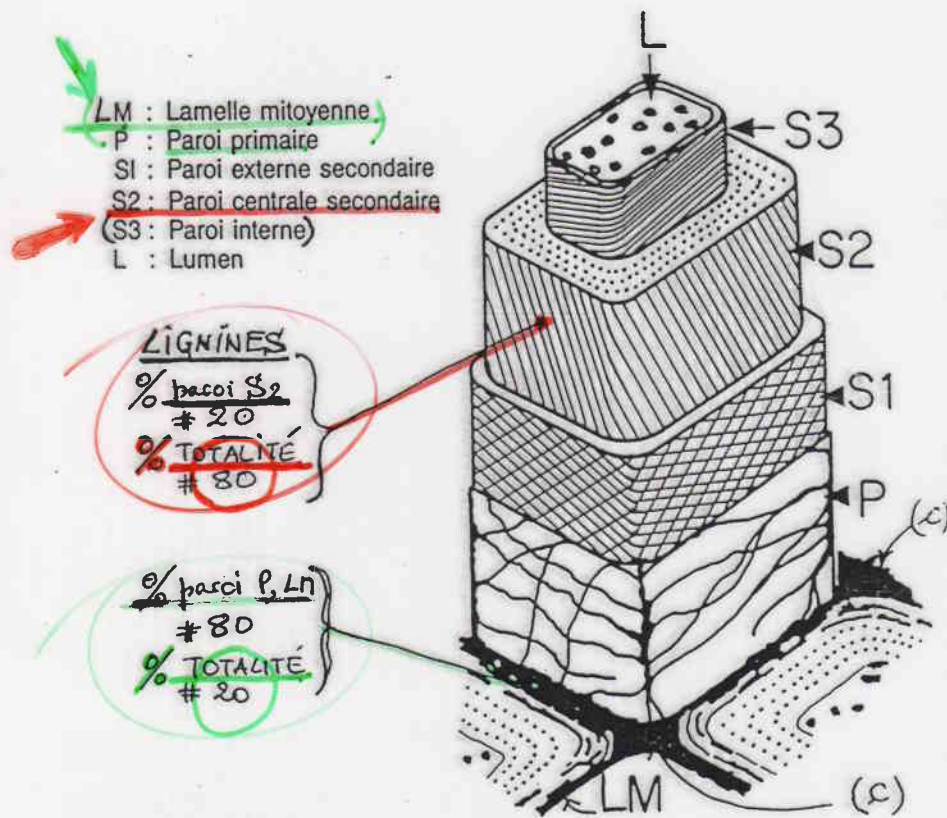
Un traitement chimique suffisant supprime presque totalement l'énergie mécanique (pâtes chimiques).

Un traitement chimique ménagé exige, en contrepartie, une énergie mécanique pour désolidariser totalement les fibres (pâtes mécano-chimiques et mi-chimiques).

d'après de CHOUDENS et al 1992, édition C.T.P.,
"Le bois, La pâte, le papier", 1994

LA FABRICATION DES PATES

Représentation schématique des différentes parois d'une fibre et des lignines du bois



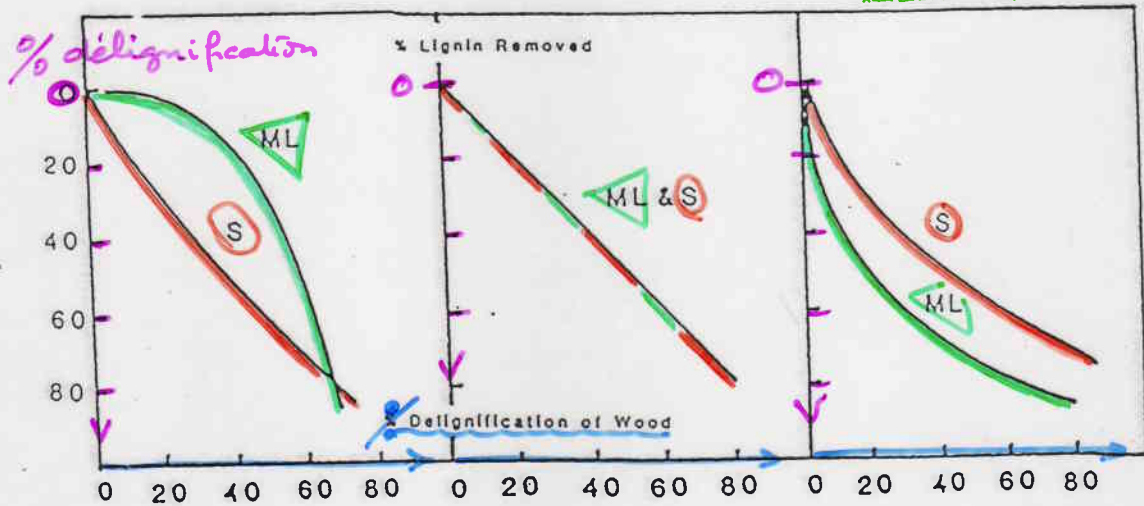
LA FABRICATION DES PATES

Représentation schématique des différentes parois d'une fibre

T° ALCAZINS
(KRAFT)

T° "Javel"
(ACID CHLORITE)

T° SOLVANTS AC/AC
(ORGANOSOLV)
Alkali Earth Metal Salt Catalyzed Pulping



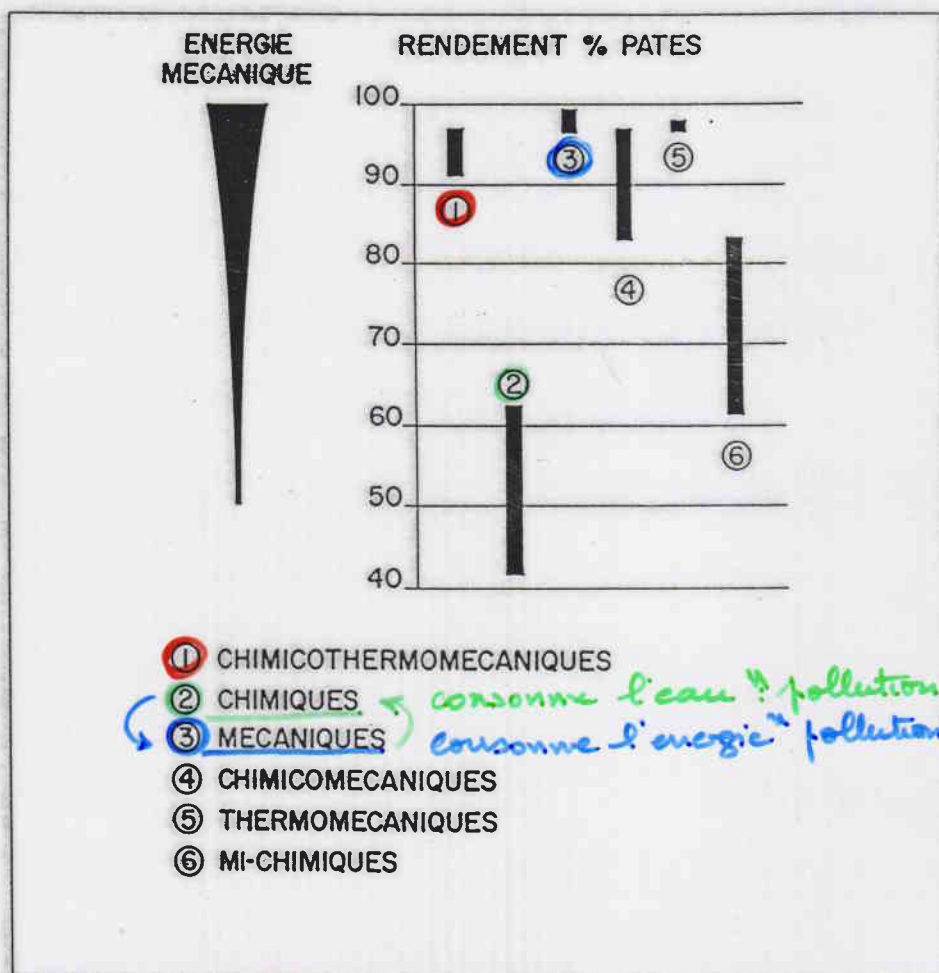
Topochemistry of Softwood Delignification

L. Passner and N.C. Debers Holzforchung 33 (1967) 159-164

% durée relative
" temps "

LA FABRICATION DES PATES

Demande en énergie mécanique et rendement pour différentes pâtes.



Source: Olle Alshom, Brita Swan - PPI / V. 26 n° 11 / p. 48 / nov. 84

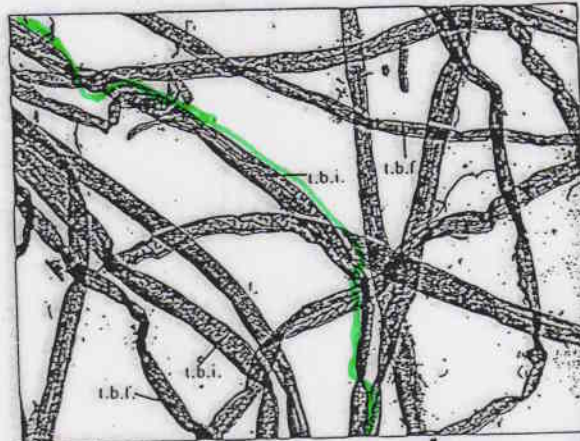
d'après AITKEN et al - 1988 edit CTP-EFP
 Constituants fibreux des pâtes papiers et cartons

LA FABRICATION DES PATES

Sapin épicéa

Vue générale. Gx100. Trachéides de bois initial (nombreuses) (t.b.i.) et final (t.b.f.)

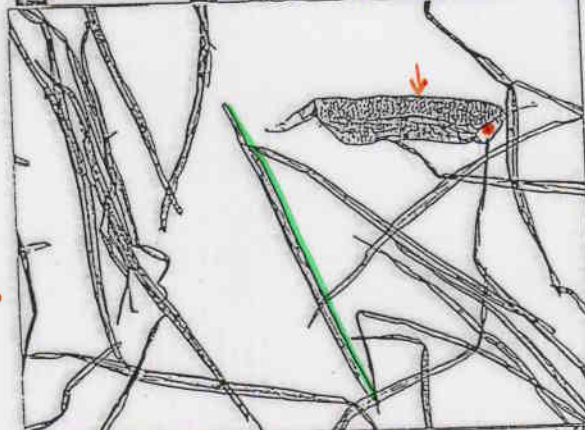
"fibre longue"



Peuplier tremble

Vue générale. Gx100. Fibres, vaisseau

"fibre courte"



Paille de blé :

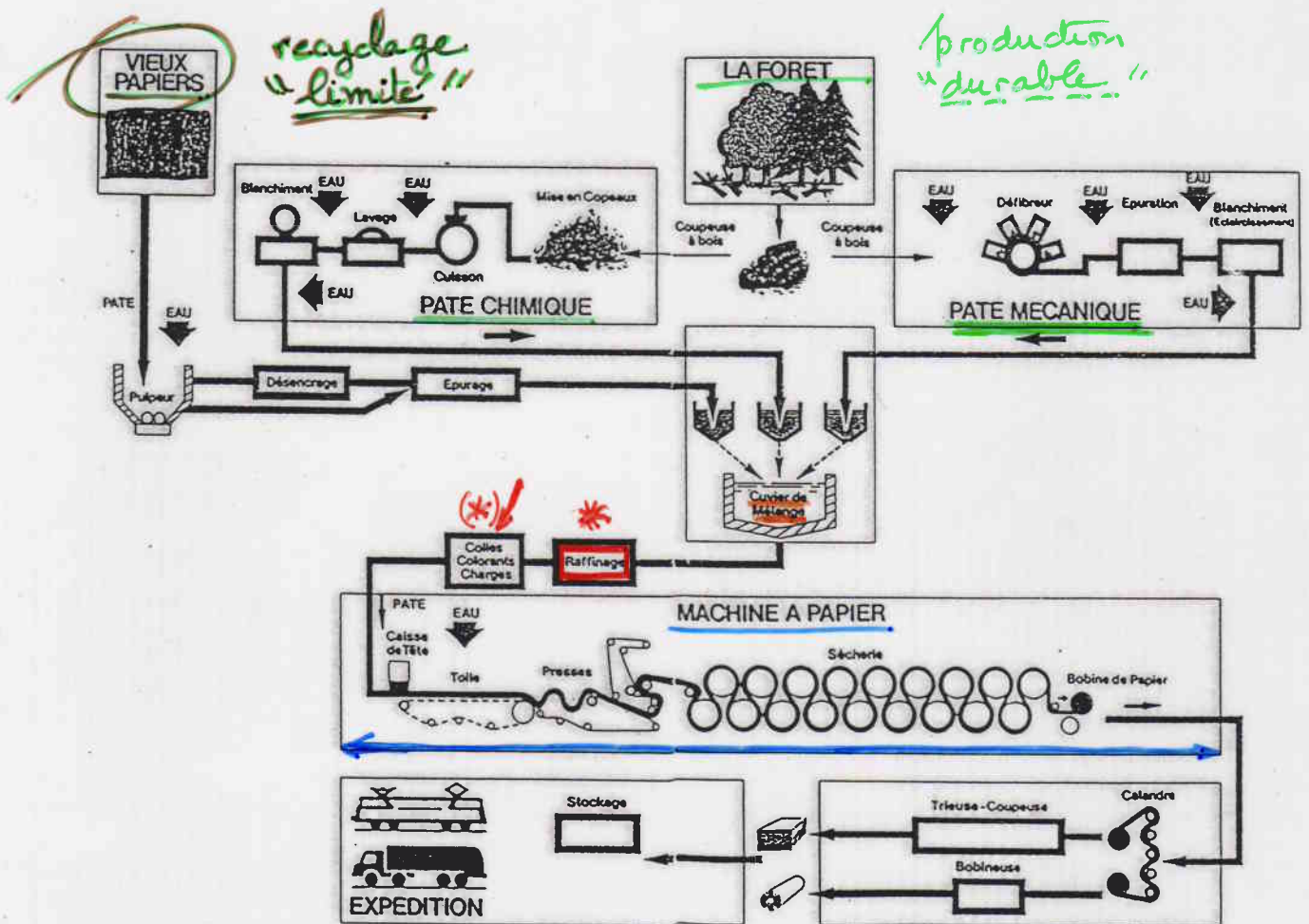
Vue générale. G x 100. Fibres (f.). Cellules scléreuses en bâtonnets (c.s.) Peignes (p) Tonneaux (t)

"fibre spécifique..."
[f, c]



d'après AITKEN et al 1988 - édité CTP- EFP
"Les constituants fibreux des pâtes, papiers cartons"

LA FABRICATION DU PAPIER



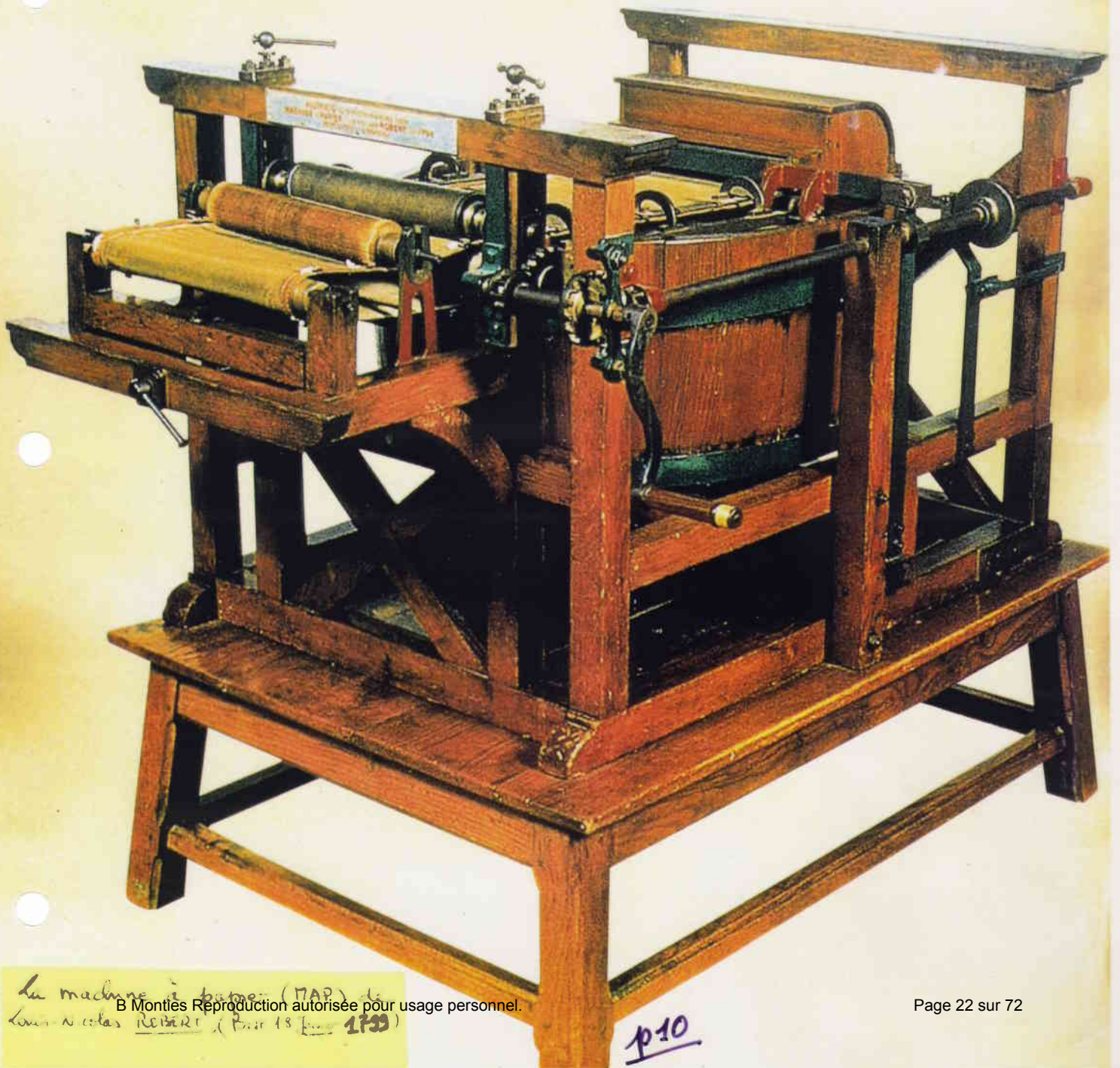
d'après FLANDROY - 1991 - Biofutur - p 21, 35 (Source COPACEC)

la P apeterie

depuis 1878

FABRICATION ■ TRANSFORMATION ■ DISTRIBUTION

La MAP célèbre son bicentenaire

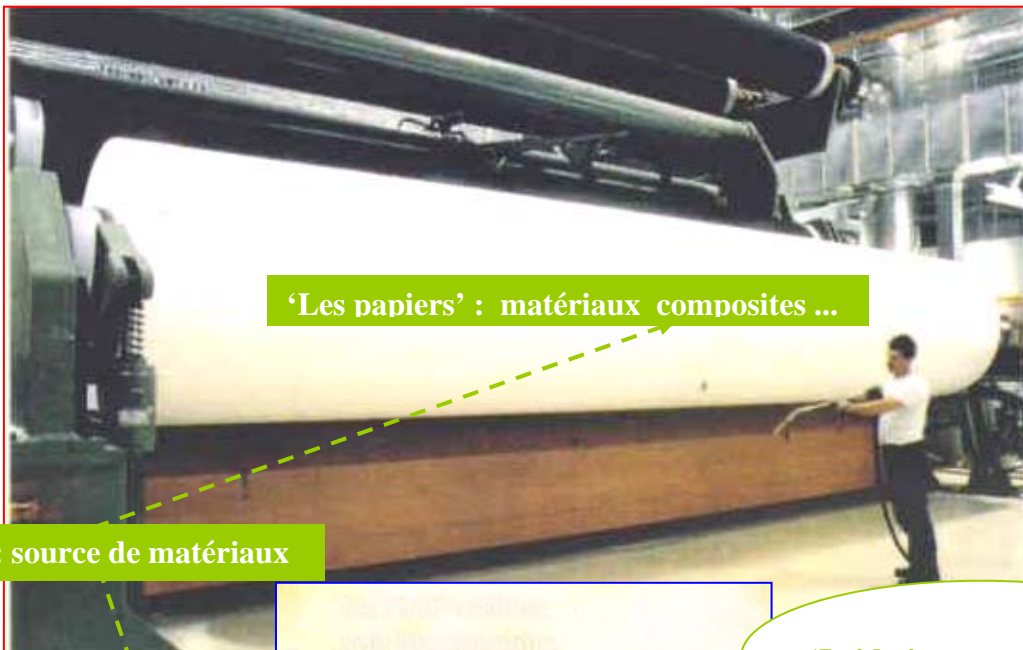


© MAP 99
la machine à papier (MAP) de
Louis Nicolas ROBERT (Paris 18^e [1799])

p10

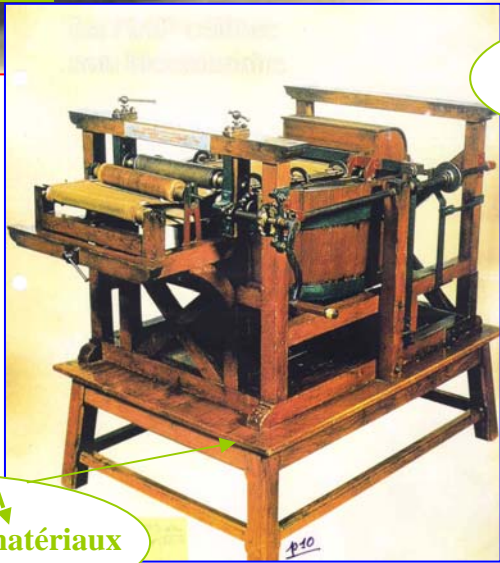
LA FABRICATION DES PAPIERS

Entre ces 'machines à bois': deux cent ans de 'nouveaux produits' ...



'Les papiers' : matériaux composites ...

'La fibre' : source de matériaux



'Le' bois :source de fibres
' ... le papier, '

'Le bois': source de matériaux
' ... la poutre, '

1 bis :RAPPELS BOTANIQUE :
'Variabilité biologique de la lignification'

(U.V. INA P.-G. Biologie et conduite de l'arbre)

VARIABILITE BIOLOGIQUE DE LA LIGNIFICATION

AND COMPORTEMENT MECANIQUE DES PLANTES

2nd ESWM : Stockholm, May 2003

B. Monties, INRA-INA PG, France

2: BIOLOGICAL VARIABILITY OF LIGNIN: EXPERIMENTAL EVIDENCES OF LIGNIN INHOMOGENEITY

2-2: lignin structure in ROSE flower peduncle

(*courbure de la 'tige', pédoncule, de cultivars, Chabbert et al. 1993*)



2: VARIABILITE BIOLOGIQUE DES LIGNINES:

EVIDENCES EXPERIMENTALES D'INHOMOGENEITE DES LIGNINES

2-2: lignin structure in ROSE flower peduncle

(courbure de la tige , pédoncule of de cultivars, Chabbert et al. 1993)

Position, cltv.	Xylem (wood core)		Phloem (bark)	
(μMol. g KL.)	S / G	S + G	S / G	S + G
Upper strong	2.18	846	2.64	91
	0.78	171	0.78	25
Basal strong	1.70	1170	1.66	405
	1.48	759	1.75	146

5 : PLASTICITE PHENOTYPE / GENOTYPE :

ADAPTABILITY AND VARIABILITY OF WOODY PLANTS

Croissance atypique d'une hemi-epiphyte: *Ficus carica L.*, Pouzzole, Italie, Monties 2003

croissance 'ageotropique' en direction du sol



but...

reaction phototrope 'normale' des branches,

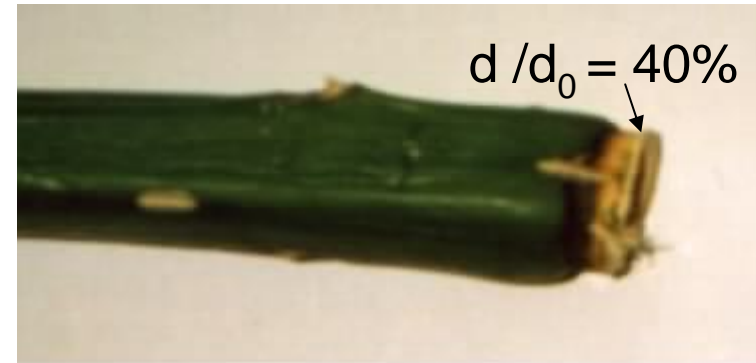


5 : PHENOTYPE / GENOTYPE PLASTICITY :

ADAPTABILITY AND VARIABILITY OF WOODY PLANTS

Faux cernes annuels du bois 'anomal' de *Phytolacca dioicca* L., Beaulieu/Mer, Fr. (Monties,2003)

One year old 'secondary' stem



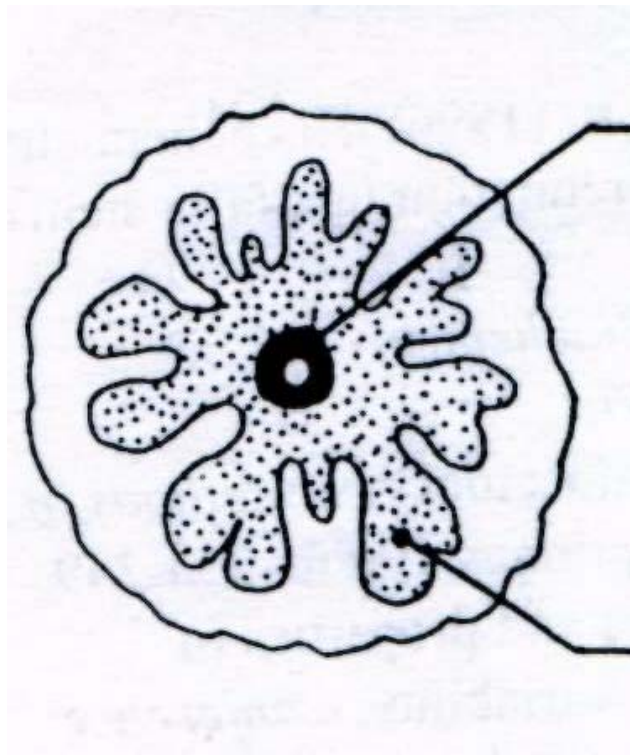
Reversible shrinkage of 'wood' parenchyma



5 : phenotype / genotype plasticity

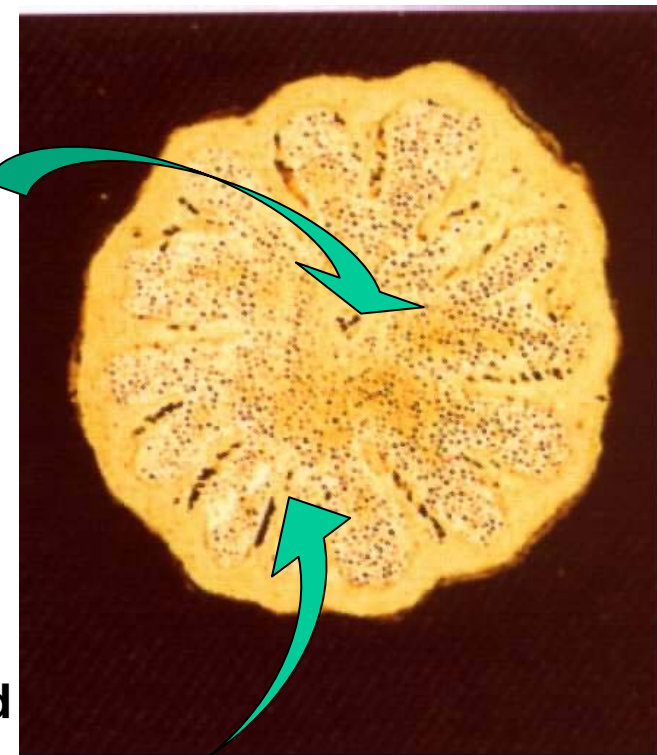
lignification and form adaptation in woody plants

LIGNIN HETEROGENEITY IN WOODS OF LIANA *Condylocarpum guainensis*,
(ac. Chabbert et al. 1997) .



Self- supporting
growth phase :
bending stiff wood

Non- self- supporting
growth phase :
bending flexible wood

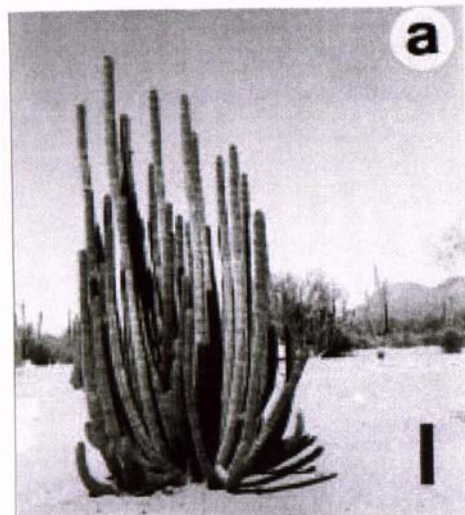


5 : PHENOTYPE / GENOTYPE PLASTICITY:

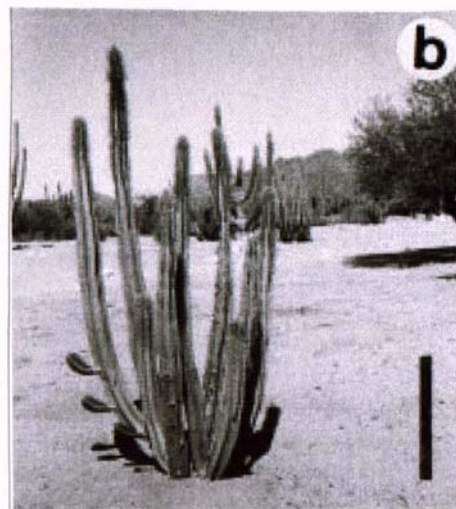
ADAPTABILITY AND VARIABILITY OF 'WOODY' PLANTS:

Cactus stems as hydrostatically pressurised lignocellulosic self supporting structures :
role of epiderm, 'external-water-storage' tissues and ' wood' in habit and stem size,

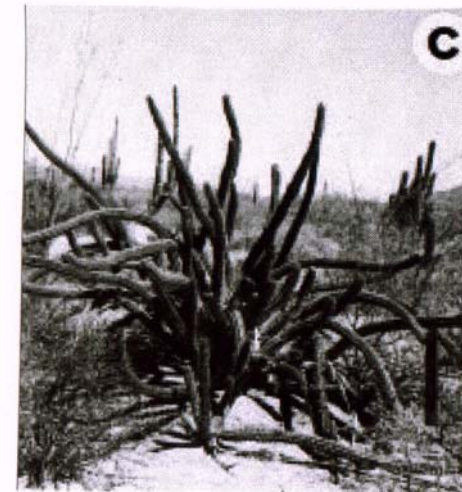
(ac. Niklas et al. 1998)



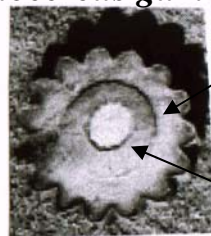
Stenocereus gummosus



Stenocereus thurberi

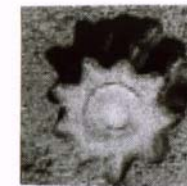


Lophocereus schottii



e-w-s
tissue

wood'



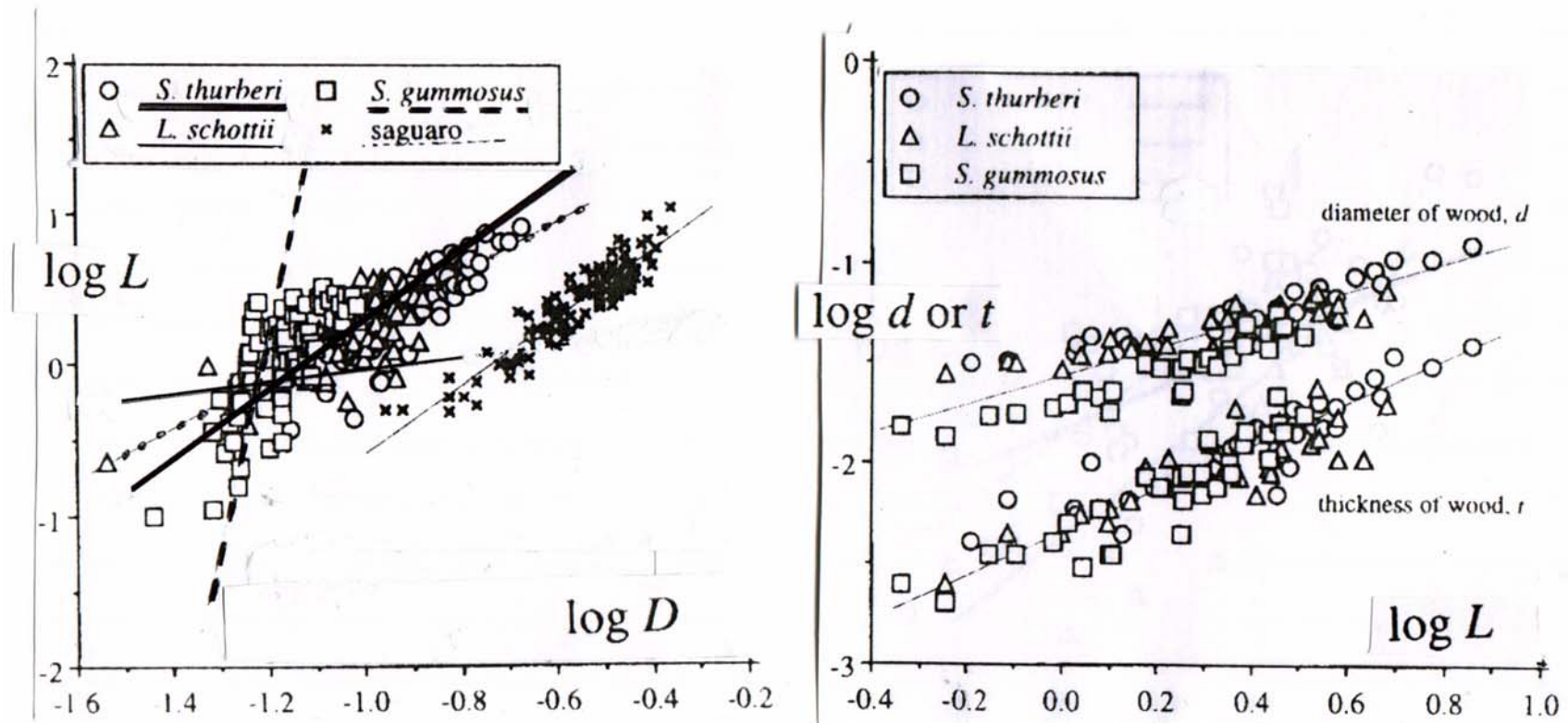
5 : PHENOTYPE / GENOTYPE PLASTICITY:

ADAPTABILITY AND VARIABILITY OF 'WOODY' PLANTS:

Cactus stems as hydrostatically pressurised lignocellulosic self supporting structures :

correlations between stem size(L)and diameter(D) and 'wood' external diameter (d) and thickness

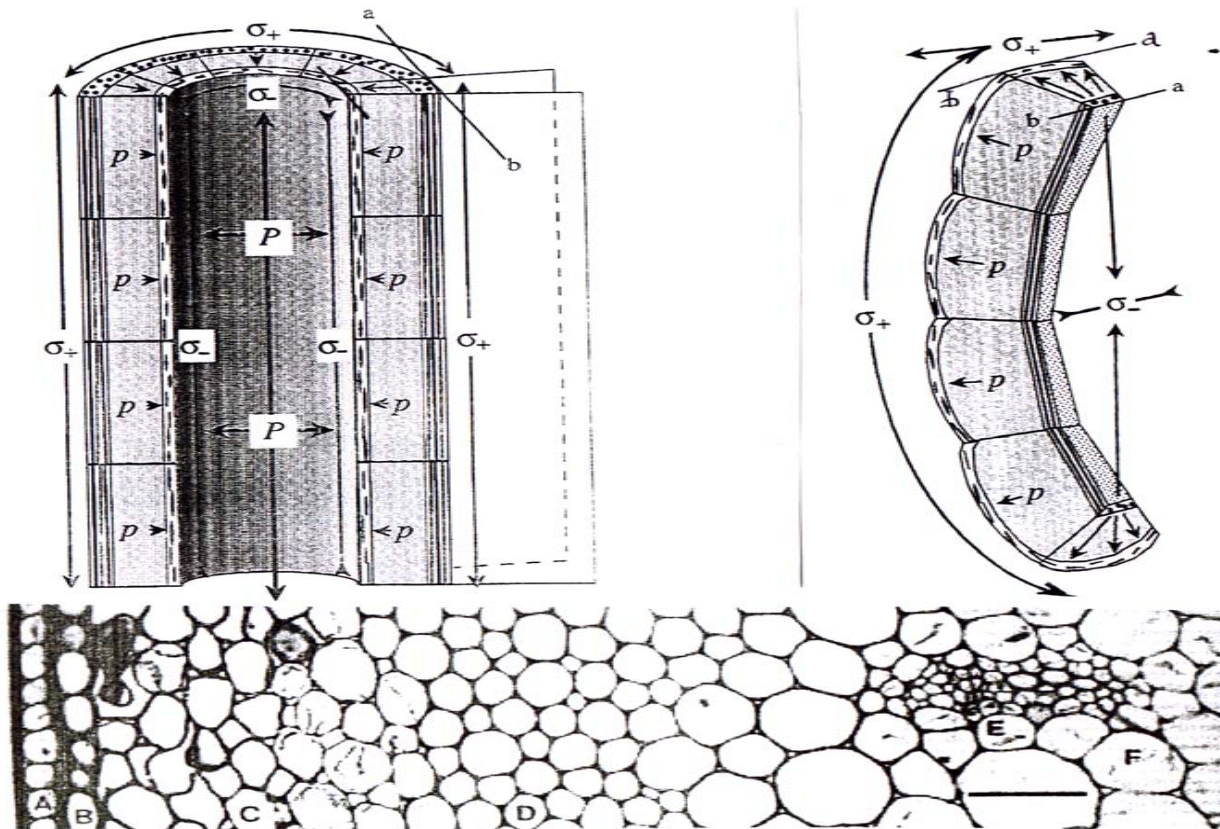
(ac. Niklas et al. 1998)



5 : PHENOTYPE / GENOTYPE PLASTICITY: ADAPTABILITY AND VARIABILITY OF 'WOODY' PLANTS:

Tulipa stem as hydrostatically pressurised lignocellulosic structure:
role of epiderm and collenchyma as supporting external tissues,

(ac. Niklas et al. 1997)

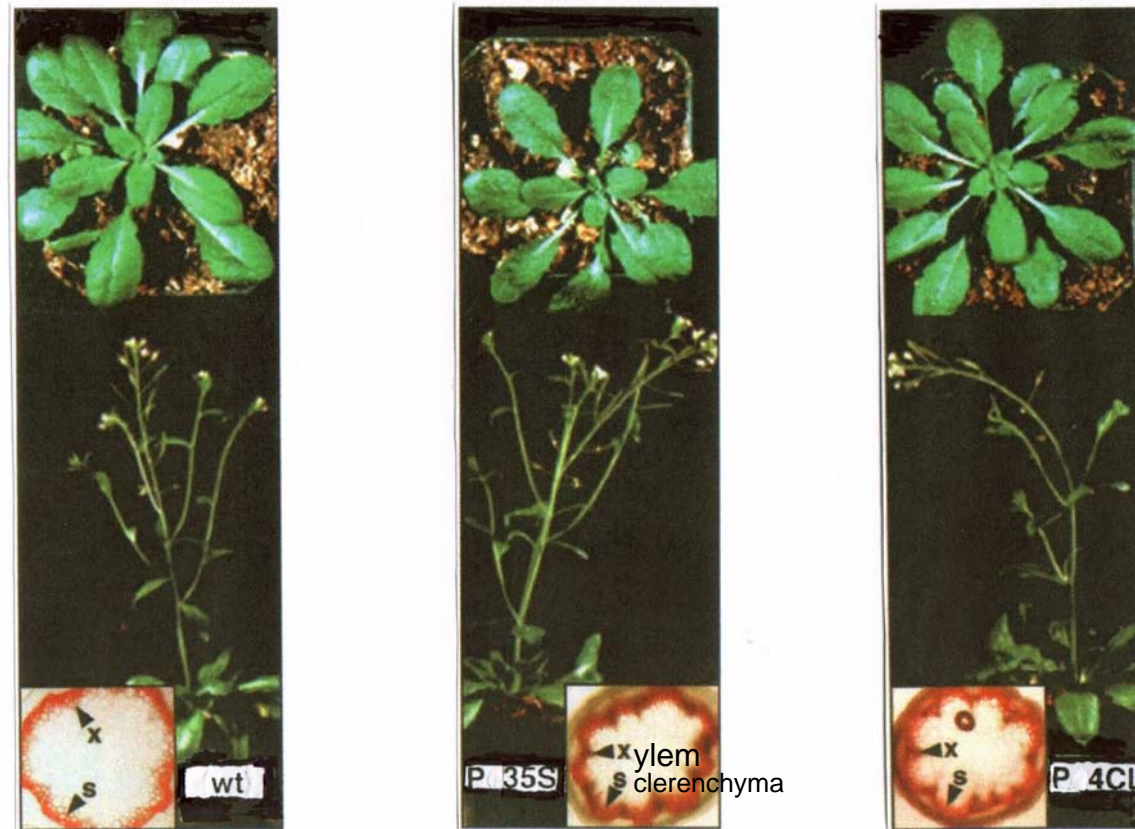


5 : phenotype / genotype plasticity :

lignification and form adaptation in 'woody' xylem plants:

Antisense modification of lignin biosynthesis and... phenotype of *Arabidopsis thaliana* :

(ac. Lee et al. 1997, Plant Cell ,9, 1985).

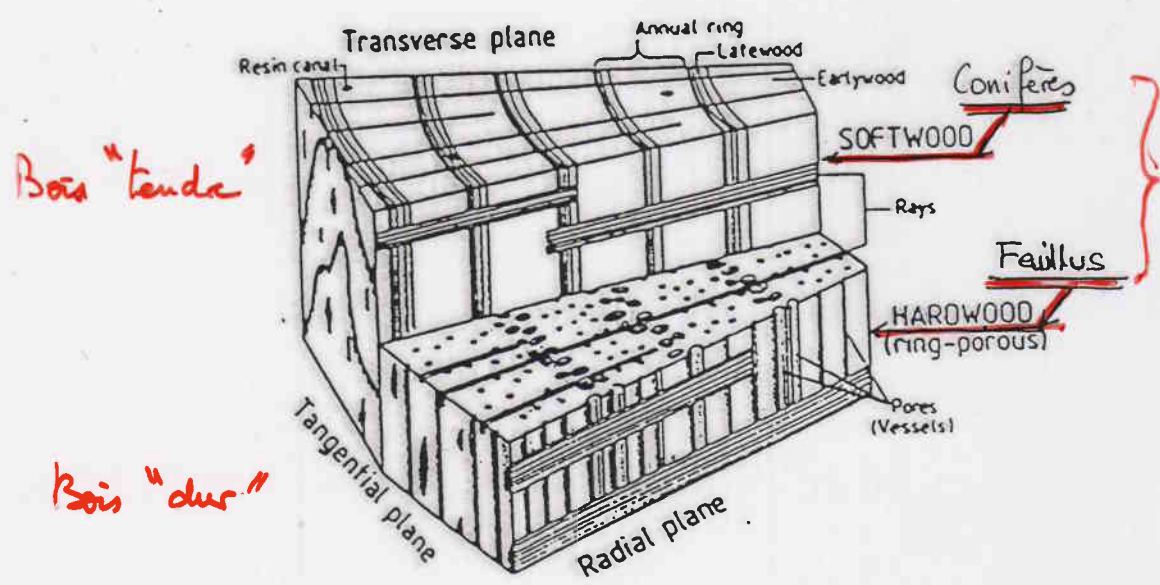
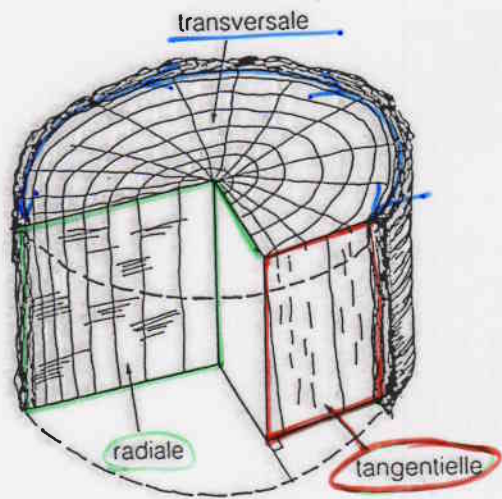


Arabidopsis without 'normal' or 'anomal' cambium as lignification 'case' or 'model' ?

structure anatomique

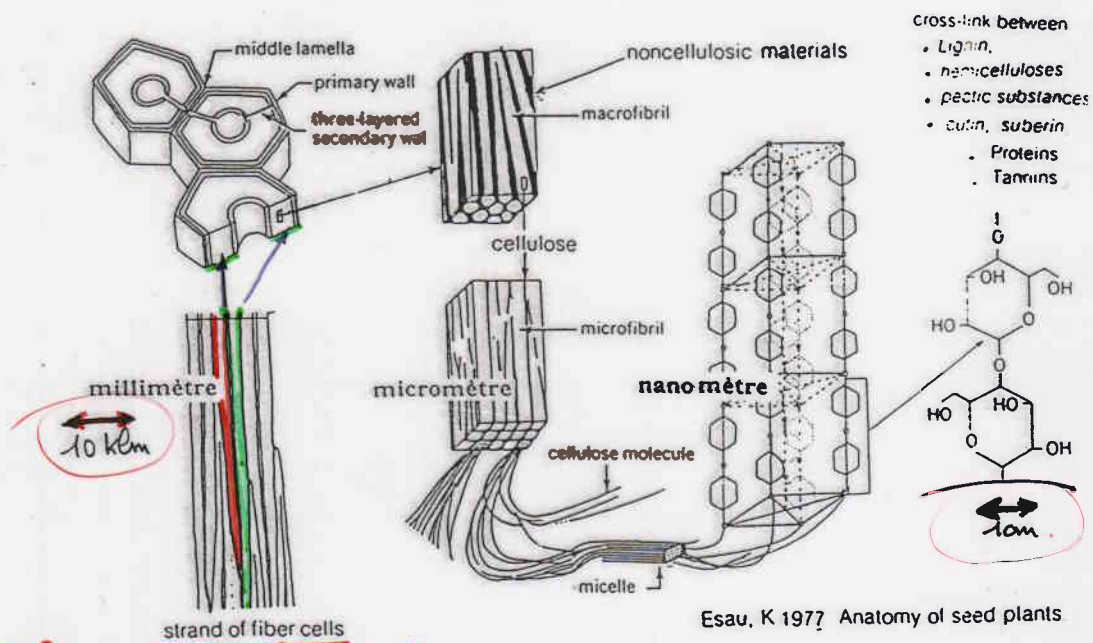
des bois et lignocelluloses,

structure des bois: les trois plans de coupe



NIVEAUX D'ORGANISATION ET DE COMPLEMENTE DES PAROIS VEGETALES

MACROMOLECULAR COMPONENTS AND THEIR ORGANIZATION IN THE WALL



"faisceau de fibres"

les questions : les déterminismes génétique et écophysiosique existent,
 don études de génétique moléculaire / chimie structurale),
 don identifier les pr (enzymatiques / ~~non~~ enzymatiques),
 donc "régulations".

VARIABILITE DE LA LIGNOCELLULOSE

(A) COMPOSITION CELLULAIRE DES BOIS

TYPES DE BOIS	TYPES de CELLULES (fonction)	Nombre (%) d'éléments anatomiques
<u>BOIS CONIFERES</u> { Epicéa, Sapin,	1/ <u>TRACHEIDES</u> = (conduction, support)	: 90-95
	2/ <u>RAYONS LIGNEUX</u> = (dont c. résineux)	: 5-10
<u>BOIS FEUILLUS</u> (Chêne, ... Peuplier,	1/ <u>FIBRES</u> = (support)	: 40-60
	2/ <u>VAISSEAUX</u> = (conduction)	: 10-30
	3/ <u>RAYONS LIGNEUX</u> = (dont parenchymes réserves, ...)	: 10-40

↳ : Les éléments constitutifs des bois de feuillus sont beaucoup plus hétérogènes que ceux de "conifères", d'où des produits et des transformations à adapter.

↔ : Plus grande variabilité spécifique des lignocelluloses de graminées et céréales. (appl: papier, composites)

VARIABILITÉ DE LA LIGNOCELLULOSE

(B) ANATOMIE DES FIBRES DE FEUILLUS.
Longueur des fibres (L) et Epaisseur de la paroi (E)

	CHÊNE		CHARME	
	L (mm)	E (μ m)	L (mm)	E (μ m)
<u>* AGE DU BOIS</u>				
. 3-4 ans	0,70	3,9	1,05	4,7
. 10-12 ans	0,84	4,7	1,15	5,0
. Adulte	1,25	6,1	1,34	5,8
<u>* ORIGINE DU BOIS</u>				
. Tronc	1,25	6,1	1,34	5,8
. Branche	0,66	5,2	1,19	5,4

d'après AITKEN et al. Constituants des Pâtes, Papyro Carbon
valeurs C.T.P.

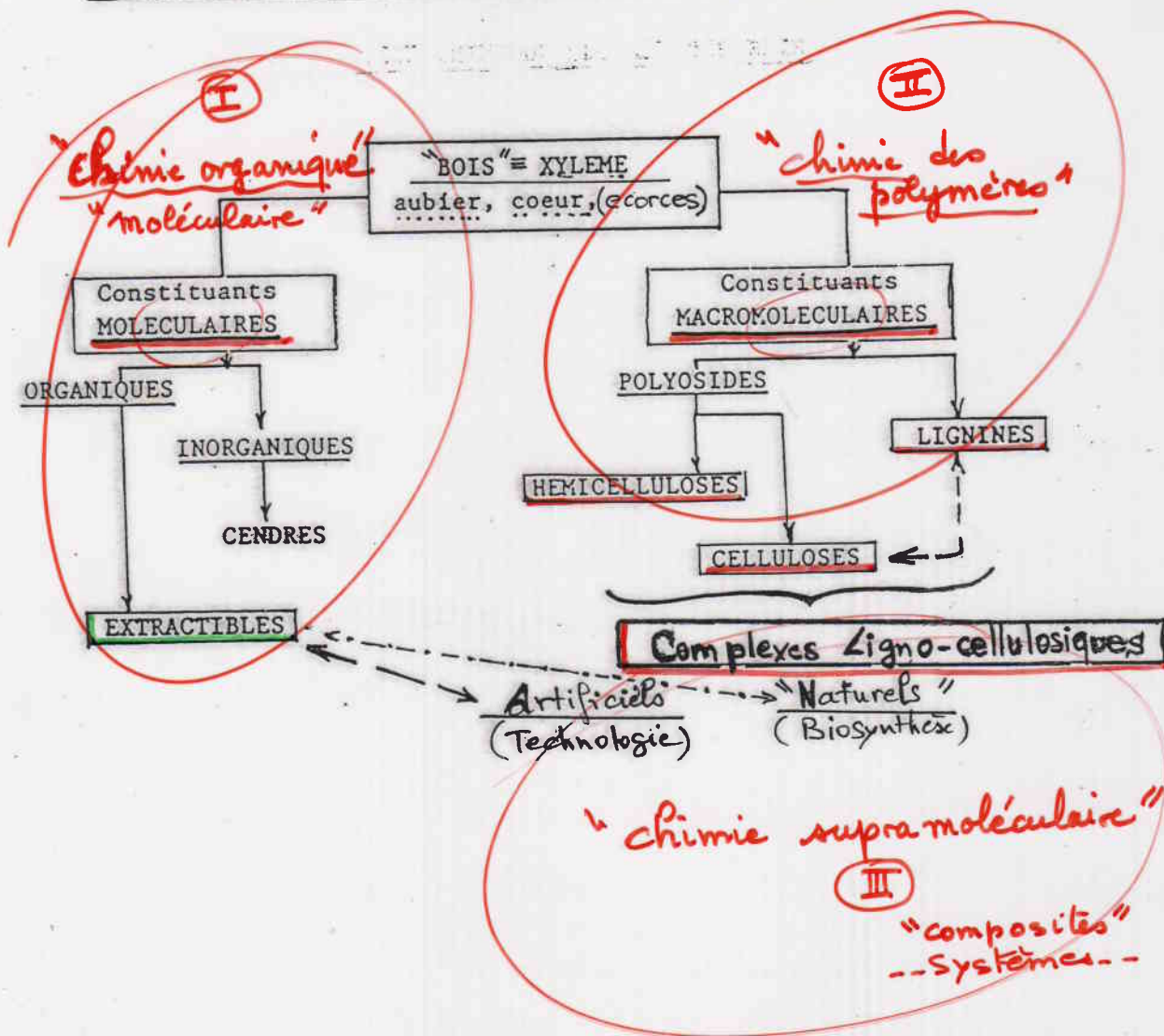
VARIABILITE DE LA LIGNOCELLULOSE

© COMPOSITION CHIMIQUE GLOBALE (% m.s Bois)

Composant	BOIS		PAILLES (CÉRÉALES) BLE	FIBRES (LIGN)
	RESINEUX	FEUILLUS		
CELLULOSES	40-45	45-50	35-45	60-70
HEMICELLULOSES	25-30	20-40	30-35	10-25
LIGNINES	25-30	20-25	15-20	1-5
MINÉRAUX	<1	<1	5-10	<1
EXTRACTIBLES	1-10	<2	<5	<1

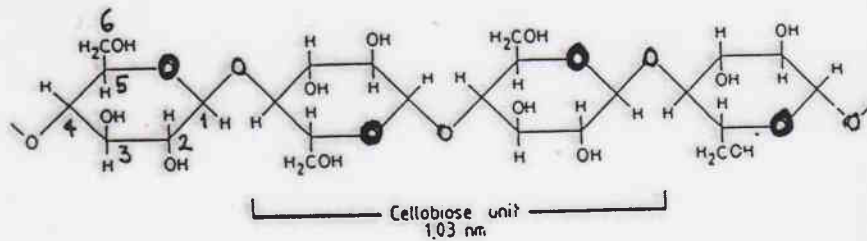
**structure moléculaire
des constituants des parois végétales,**

COMPOSANTES MOLECULAIRES DES BOIS :

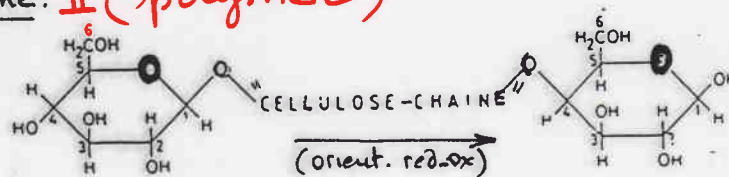


ORGANISATION MOLÉCULAIRE ET SUPRAMOLÉCULAIRE DE "LA" CELLULOSE :

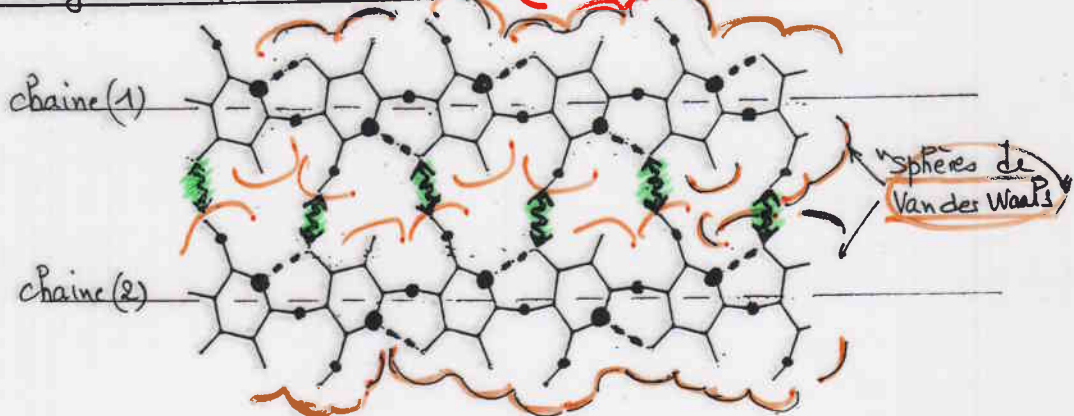
1 x Le monomère: **I (moléculaire)**



2 x La chaîne: **II (polymère)**



3 x L'organisation structurale: **III (composite)**



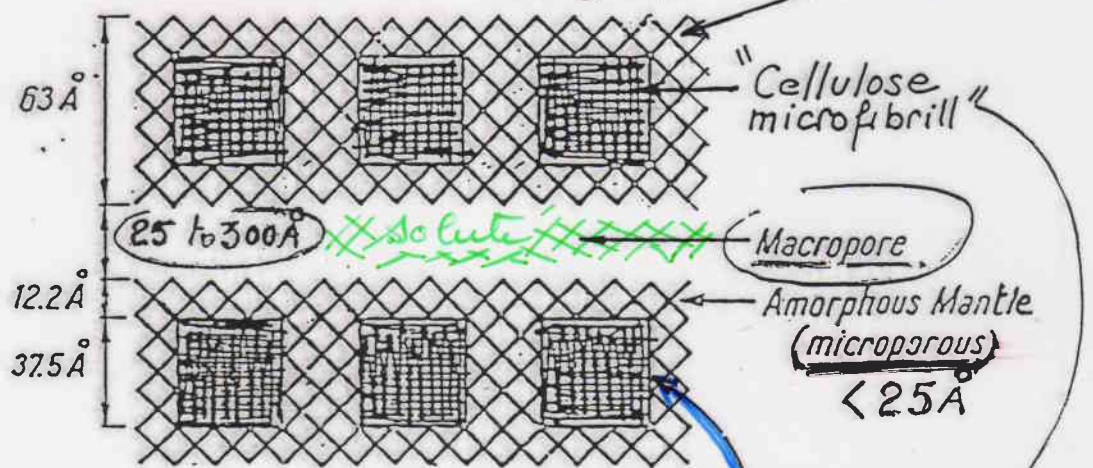
4 x Le rôle de l'eau de "solvatation":

(pour mémoire)
effets physico-chimico-mécaniques.
→ Sorption, désorption de molécules
(eau solvants plastifiant)

PHYSIQUE ET CHIMIE STRUCTURALE DES BOIS: POROSITÉ :

Sorption
solide "poreux"

"Amorphous" hemicellulosic
Lignified "mantle"

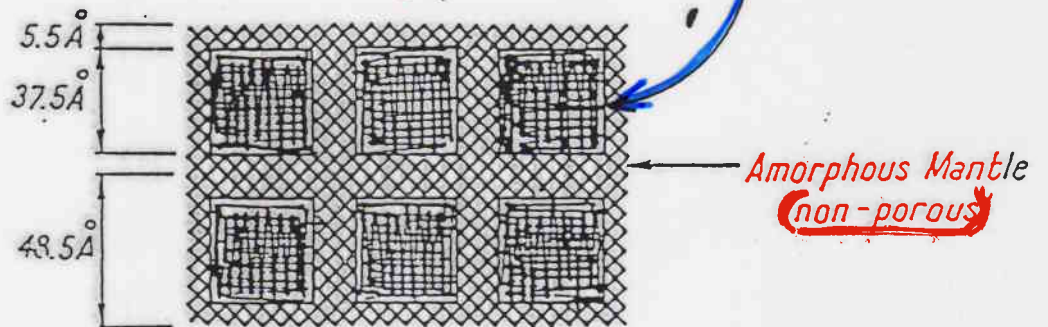


Désorption
solide "dense"

SECHAGE
(DRYING)

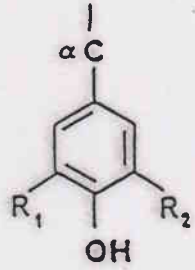
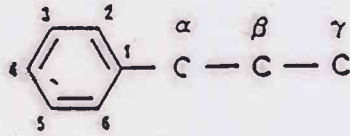
RETRAIT
(SHRINKAGE)

"Ordered Core"



d'après Stone et Scallan: Cellulose Chem. Technol., 2, 143-158 (1968)

**composition et structure macromoléculaire
des lignines,**

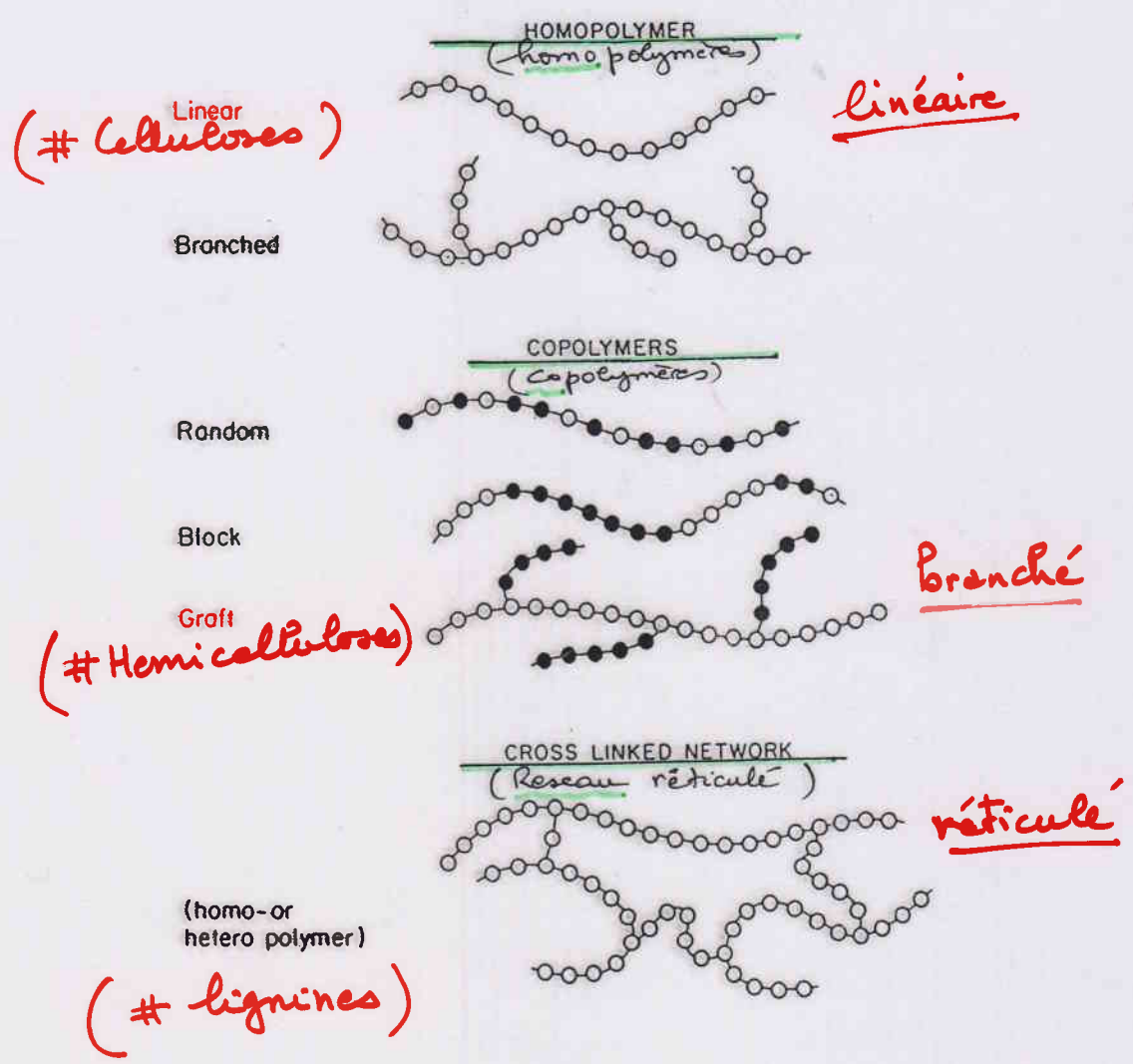


- $R_1 = H$ $R_2 = H$: H
- $R_1 = H$ $R_2 = OCH_3$: G
- $(R_1 = OH$ $R_2 = OCH_3$: HG ←.....*)
- $R_1 = OCH_3$ $R_2 = OCH_3$: S

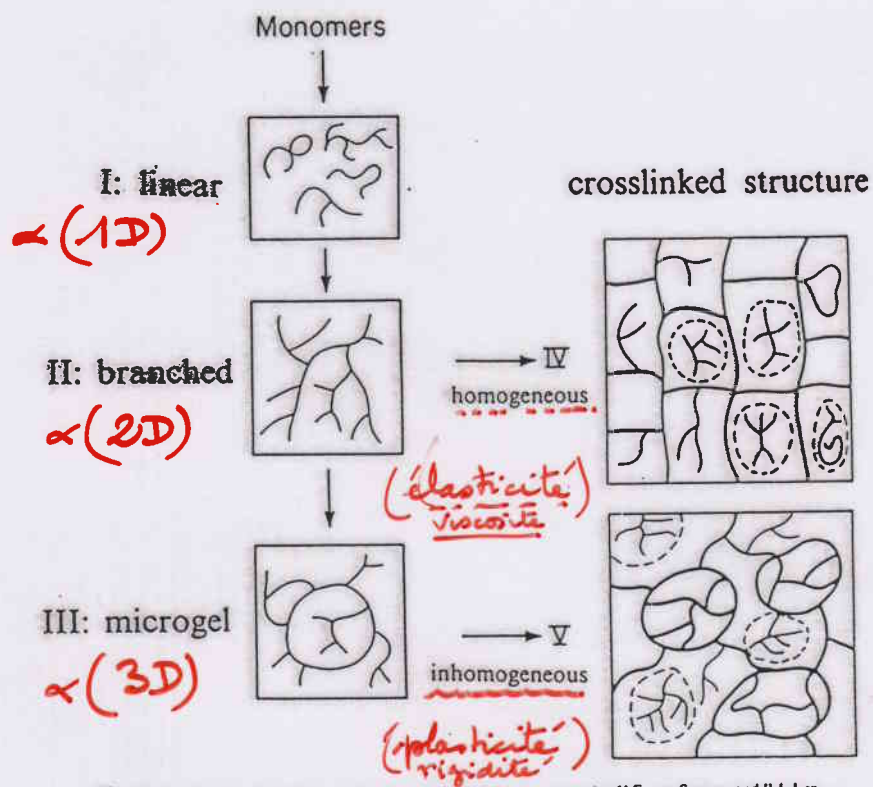
Nom du cycle	<u>Hydroxy-benzoyle (H)</u>	<u>gaiacyle (G)</u>	<u>syringyle (S)</u>
Substitution du cycle (<u>phénol</u>)			
C_7 acide: α -COOH	p-hydroxy-benzoïque	vanillique	syringique
C_7 aldéhyde: α -CHO	<u>hydroxybenzaldéhyde (B)</u>	<u>vanilline (V)</u>	<u>syringaldehyde (S)</u>
C_9 alcool: γ -CH ₂ OH	coumarylique	coniférylique	sinapylique
C_9 acide: γ -COOH	p-coumarique (PC)	férulique (FE)	sinapique (SI)

* rare : mutants graminées mais, surtout pour induits par transgénèse "partout!"

MACROMOLECULAR INHOMOGENEITY IN LIGNIN



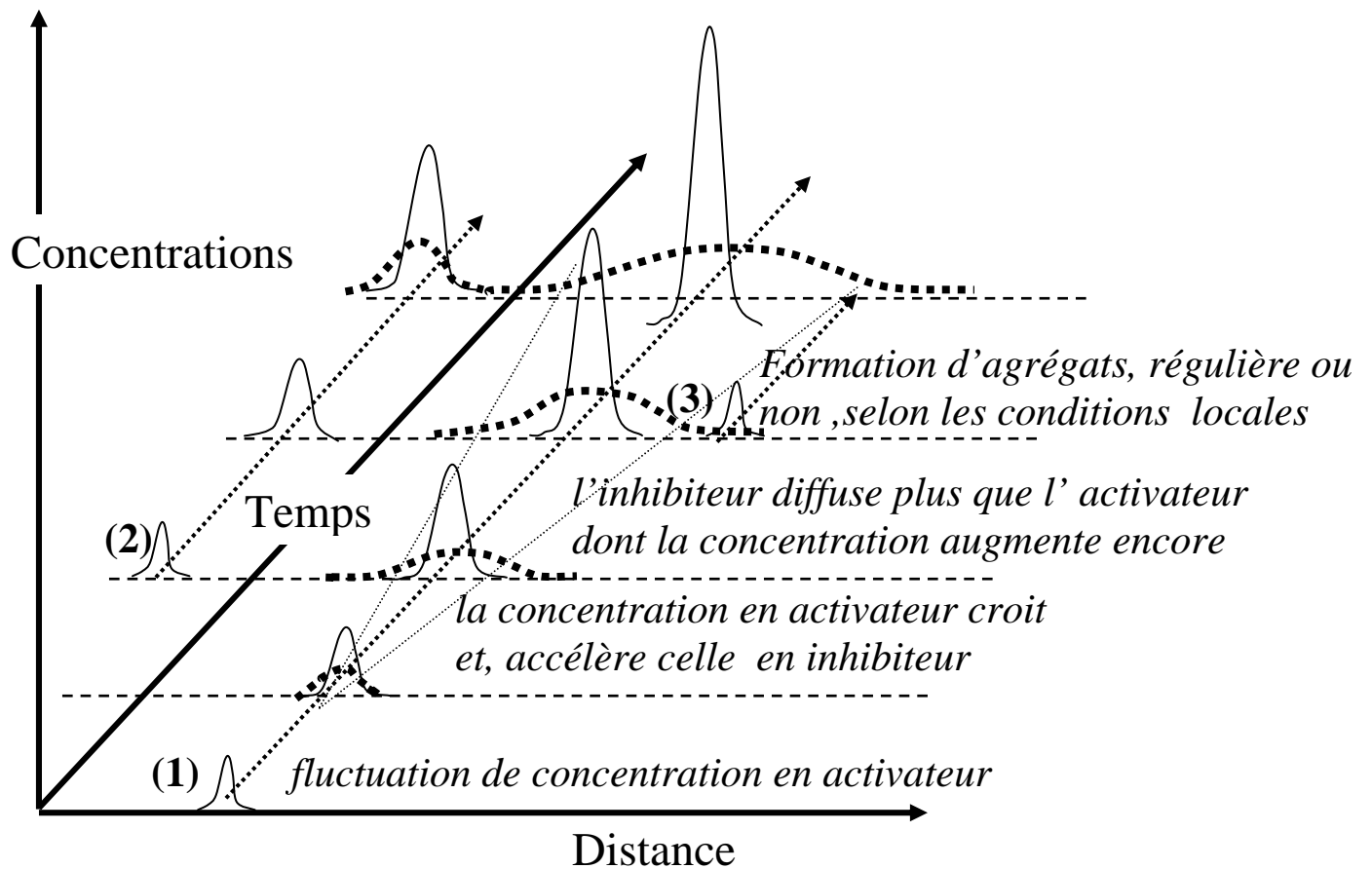
MACROMOLECULAR INHOMOGENEITY IN LIGNIN



d'après Monties, B., 1985. Recent advances on lignin inhomogeneity. In: C.F. van Sumere and P.J. Lea
The Biochemistry of Plant Phenolics. Annu. Proc. Phytochem. Soc. Eur., Vol. 25, p. 161-183.

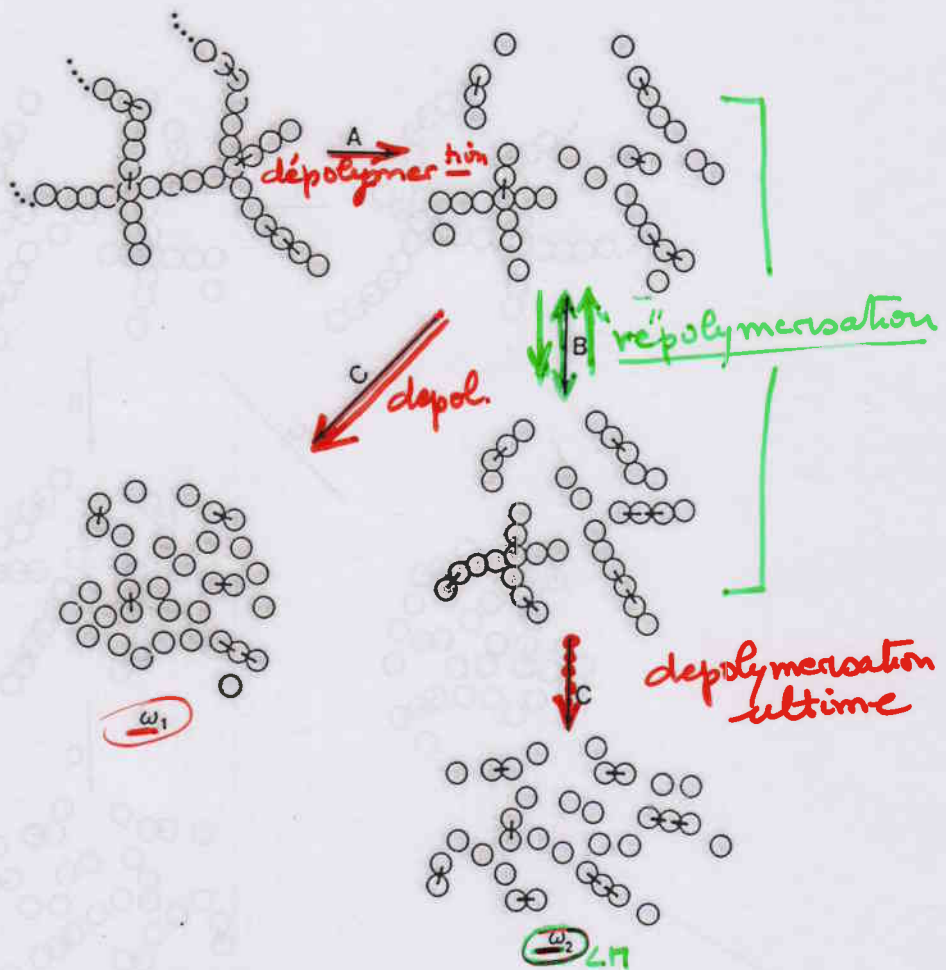
MACROMOLECULAR INHOMOGENEITY IN LIGNIN

Formation 'spontanée' de structures spatiales hétérogènes par combinaison d'effets physiques ou chimiques antagonistes d'activation et inhibition sur la polymérisation oxydative autocatalysée des monomères en phase hétérogène (parois polyosidiques hydratées).



D'après B. Monties, 2005, Cell. Chem. Technol (sous presse)

Lignin Depolymerization by Bond Cleavage Reactions



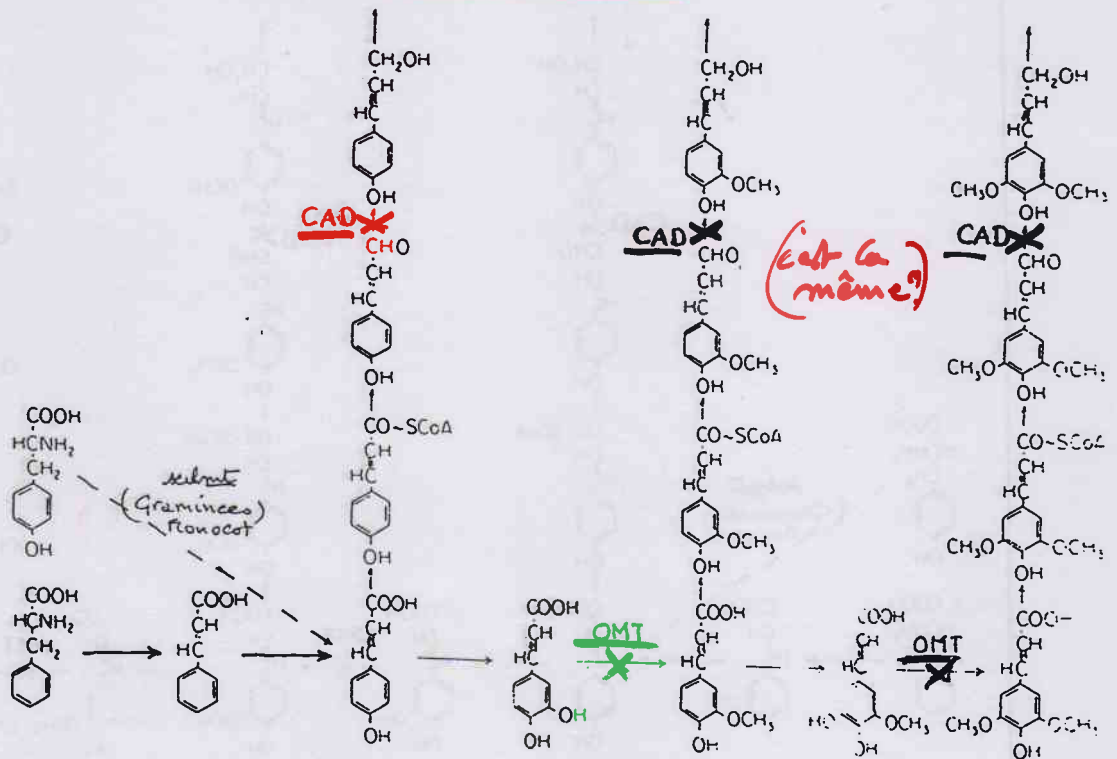
d'après Yan, J. F. *Macromolecules* 1981, 14, 1438 et 1984, 17, 2137

⇒ Cinétiques de "déliquification globale"
différentes selon les types de lignines : p6
 LH S

**biosynthèse et exemples
de
transformations génétiques,**

SCHEMA DE PRINCIPE DE TRANSFORMATION DES LIGNINES

1/ OMT = Oxygen Methyl Transferase
 2/ CAD = Cinnamyl Alcool Dehydrogenase

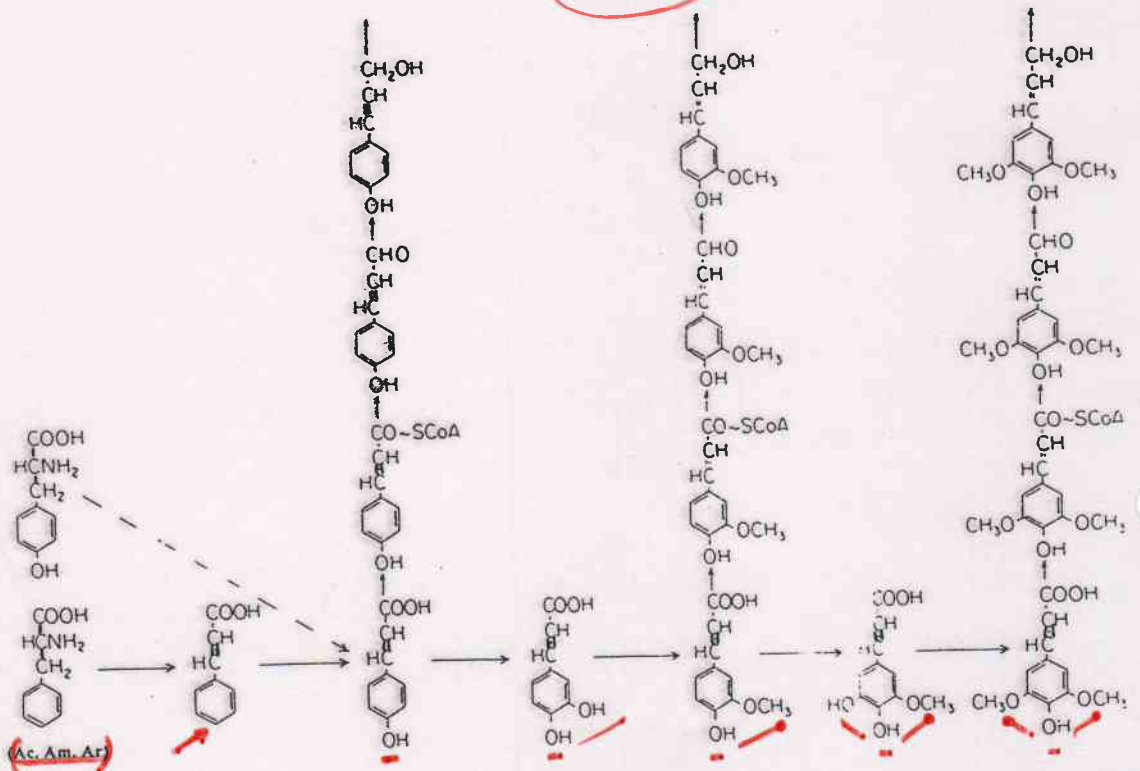


Prog. Européen "Optimisation de la Lignification : OPCIGÉ - 1990/1995
 coord A. BOUBET (CNRS, Toulouse) et Université
 9 équipes Industrielles, Centre Techniques, I. Rech.

évolution des idées et des modèles
 (70/75) → (90/95) → (2001/5)

SCHEMA DE PRINCIPE DE BIOSYNTHESE DES LIGNINES

POLYMERISATION NON ENZYMATIQUE AMORCEE OXYDATIVEMENT
 Lignines = Co Polymère II, G, S



ORIGINAUTE MAJEURE :

formation enzymatique de monomères polymerisés non enzymatiquement

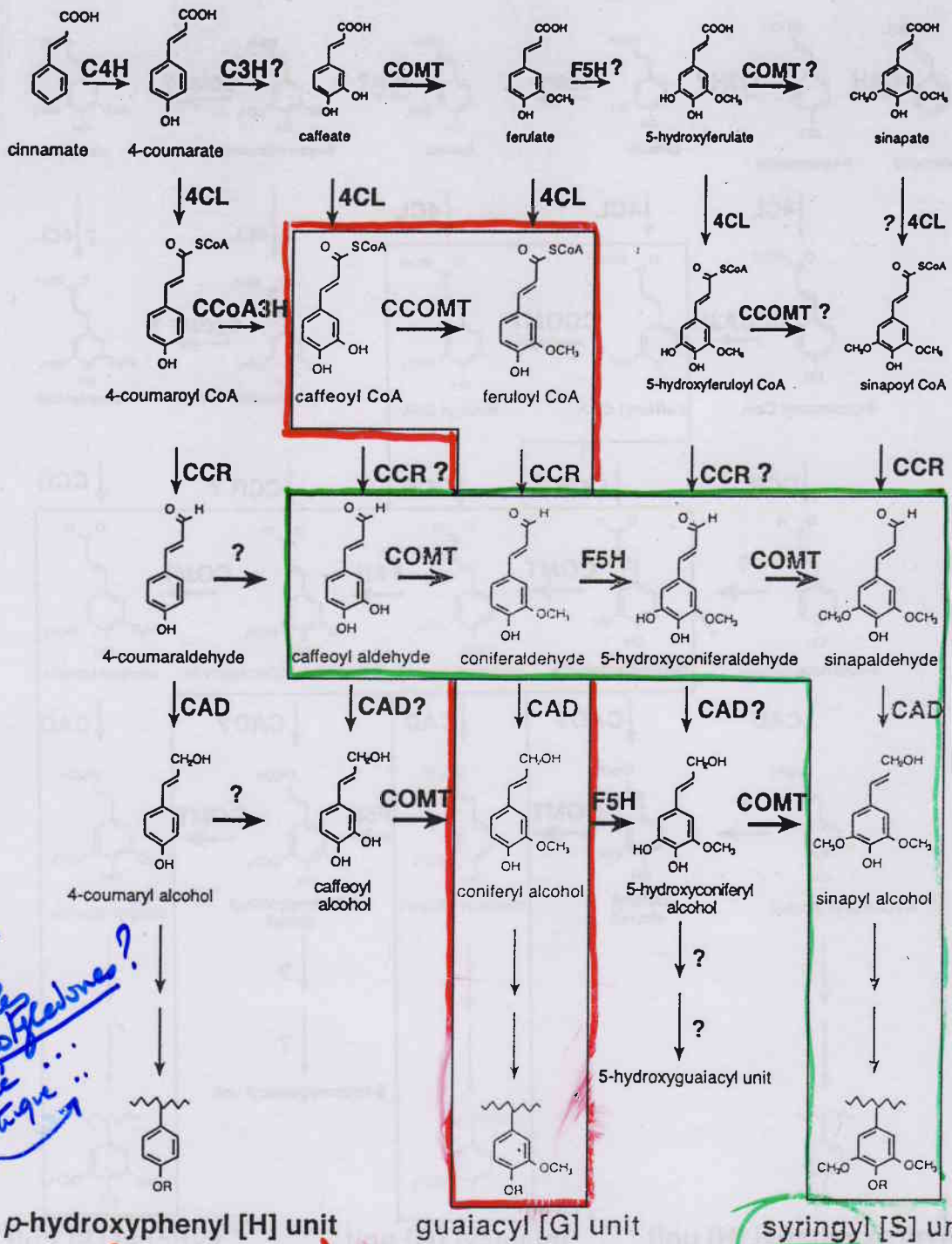
(Génétique moléculaire)
 Biosynthèse...

(Chimie structurale)
 Auto-organisation...

① modèle "standard" (1970)

SCHEMA DE PRINCIPE DE BIOSYNTHESE DES LIGNINES

(réseau métabolique) SYNTHESE DES MONOMERES



*et les monosylabes?
- Ré
- Pénique ...*

p-hydroxyphenyl [H] unit guaiacyl [G] unit syringyl [S] unit

*(Gymnospermes) Gymnospermes et Angiosp.
L. Re. Angiosp.*

R.A. Dixon et al. / Phytochemistry 57 (2001) 1069-1084

idée à venir: "Reactions biologiques en "place" hétérogène"

3 questions en suspens", depuis 1930.....

ASPECTS BIOLOGIQUES DE LA LIGNIFICATION

les TROIS phases successives de la biosynthèse des lignines

Enzymatique (réseau métabolique) :

- ① - SYNTHÈSE DES MONOMÈRES,

Enzymatique (non spécifique des substrats) :

- ② - FORMATION OXYDASIQUE DE RADICAUX

Non enzymatique :

- ③ - POLYMERISATION RADICALEIRE, # .

(Autocatalyse, str. dissipative
et autoorganisation
spatio-temporelle

questions en suspens :

la maîtrise des régulations.

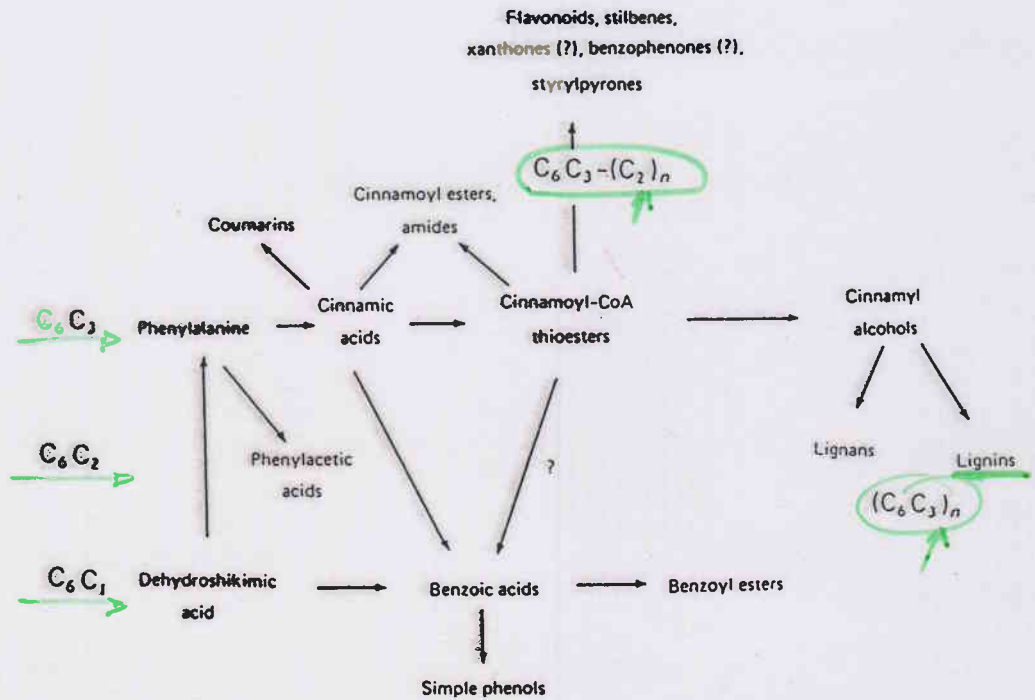
les 3 principaux types de questions
↑

① Régulation "intra" voie métabolique
 (métabolisme "secondaire")
 "spécifique" : phénol

Lignin biosynthesis

Metabolic grid of major biosynthetic pathways involving phenolic acids

Modified after Kindl, H. (1971). *Naturwissenschaften* 58, 554-563.



② Regulation "inter" voies metaboliques (metabolisme "primaire") "general": commun

Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees

Wen-Jing Hu^{1,4}, Scott A. Harding¹, Jihau Lung¹, Jacqu line L. Popko¹, John Ralph², Douglas D. Stokke³, Chung-Jui Tsai¹, and Vincent L. Chiang^{1*}

¹Plant Biotechnology Research Center, School of Forestry and Wood Products, Michigan Technological University, Houghton, MI 49931. ²US Dairy Forage Research Center, USDA-Agricultural Research Service and Department of Forestry, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 53706. ³Department of Forestry, Iowa State University, Ames, IA 50011. ⁴Current address: Department of Pediatrics, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030. *Corresponding author (e-mail: vchiang@mtu.edu).

Received 2 December 1998; accepted 3 May 1999

Because lignin limits the use of wood for fiber, chemical, and energy production, strategies for its downregulation are of considerable interest. We have produced transgenic aspen (*Populus tremuloides* Michx.) trees in which expression of a lignin biosynthetic pathway gene *Pt4CL1* encoding 4-coumarate:coenzyme A ligase (4CL) has been downregulated by antisense inhibition. Trees with suppressed *Pt4CL1* expression exhibited up to a 45% reduction of lignin, but this was compensated for by a 15% increase in cellulose. As a result, the total lignin-cellulose mass remained essentially unchanged. Leaf, root, and stem growth were substantially enhanced, and structural integrity was maintained both at the cellular and whole-plant levels in the transgenic lines. Our results indicate that lignin and cellulose deposition could be regulated in a compensatory fashion, which may contribute to metabolic flexibility and a growth advantage to sustain the long-term structural integrity of woody perennials.

Keywords: plant genetic engineering, lignin biosynthesis, 4CL, transgenic, *Populus tremuloides*

Many of society's fiber, chemical, and energy demands are met through the costly industrial-scale processing of wood. Secondary xylem (wood) of trees, from which pulp is derived, is composed of cellulose (β -1,4-glucan) and lignin.

ing 4CL¹²⁻¹⁴ or ei-

2:
sti
ity
bec
ing
che.
long
ligni
S
unde
of lig
ceous
down
namyl
the lig
ulating
ther en:
in plant
phenyla
step to l
Suppress

Discussion

In this study, we found that lignin content in a tree species can be reduced without the negative side effects on growth and structural integrity reported in herbaceous systems^{10,12,15}. Two interrelated phenomena, conserved lignin structure and increased cellulose content, may account for the preservation of plant structural integrity we observed in the transgenic aspen trees. (p 810)

Along with the cellulose increase, the enhanced growth of transgenic trees was a surprising observation not reported in transgenic tobacco or *Arabidopsis* with downregulated lignin pathway enzymes^{4-15,21}. (p 811)

... biosynthesis. Over all phenylpropanoid biosynthesis, resulting in a wide range of abnormal growth phenotypes as well as reduced thioglycolate-extractable lignin. Reduced lignin content was also achieved in transgenic tobacco and *Arabidopsis* by downregulat-

Results

Characterization of transgenic aspen. Twenty-five transgenic aspen lines were obtained through *Agrobacterium*-mediated transformation under the selection of hygromycin. The presence of T-DNA in the genome of transgenic plants was confirmed by PCR and Southern

¹⁵, but collapsed cell with the most severe herbaceous systems possible drawbacks of ity in plants. Thus, nology is whether ompromising the

tionally distinct eins catalyze the activated pheno- While *Pt4CL2* thought to be voted to lignin e downregula- terated trans- lignin at sub- nsated for by cate that the in trees may

... not collapsed—in fact, growth was substantially enhanced.

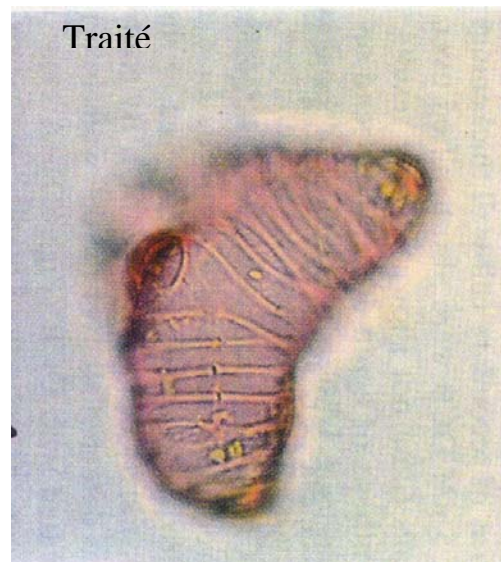
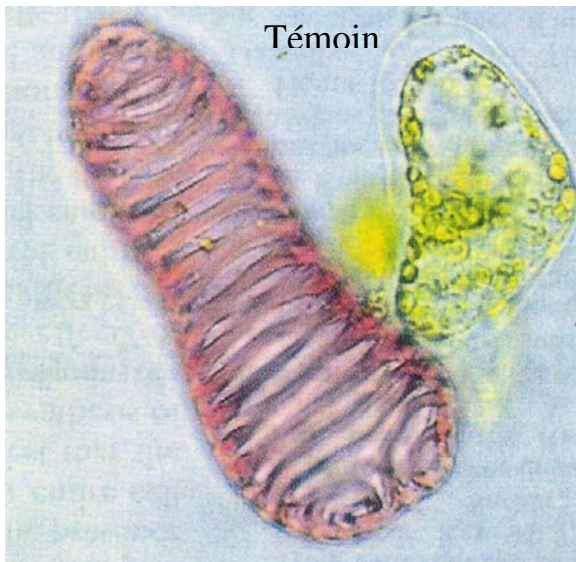
ASPECTS BIOLOGIQUES DE LA LIGNIFICATION

Correlations entre lignification et dépôt de celluloses

Effet de médiateurs de la biosynthèse de cellulose sur le dépôt de lignines lors de culture in vitro de cellules, trachéides, végétales (*Zinia élégans*).

résultats concordants d'après : 1992 - Taylor JG et al. *The Plant J.* **2**, p 959 ;
: 1992 – Susuki K. et al. *Physiol. Plantarum*, **86**, p 43.

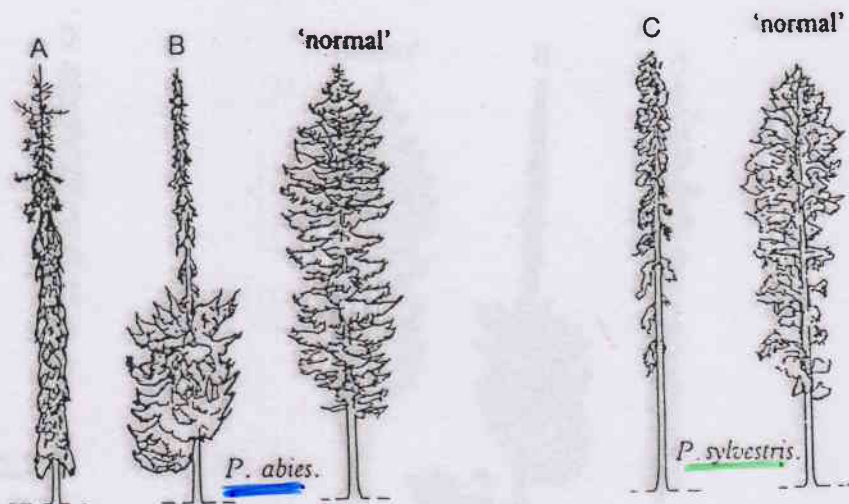
‘ Les lignines, révélées par coloration en rose, sont principalement fixées sur les éléments fibreux cellulosiques des trachéides du Témoin non traité et dispersées à teneur totale sensiblement inchangée sur toute la surface cellulaire du trachéide Traité.



③ Regulation par "effet en retour"
 Rétro régulation
 ici métabolisme hormonal

TREES AS CROP PLANTS

INHERITANCE OF CROWN FORM



A. Pendulous *P. abies*, found at Mäntsälä (an ideotype), described by Saarnijoki (1954) (*P. abies* f. *pendula*). Two open-pollinated progeny tests (16 and 33 years old) and a controlled cross all show about 50:50 segregation of pendulous:non-pendulous crown forms.

B. A dichotomous *P. abies* (both broad and narrow-crowned on the same tree) found in southern Finland.

C. The very narrow-crowned *P. sylvestris*, tree E1101, growing at Punkaharju (an ideotype). This tree is about 100 years old, 32 m tall and 44 cm in diameter at breast height. Progeny tests indicate about 50:50 segregation of 'normal':E1101-type crown forms.

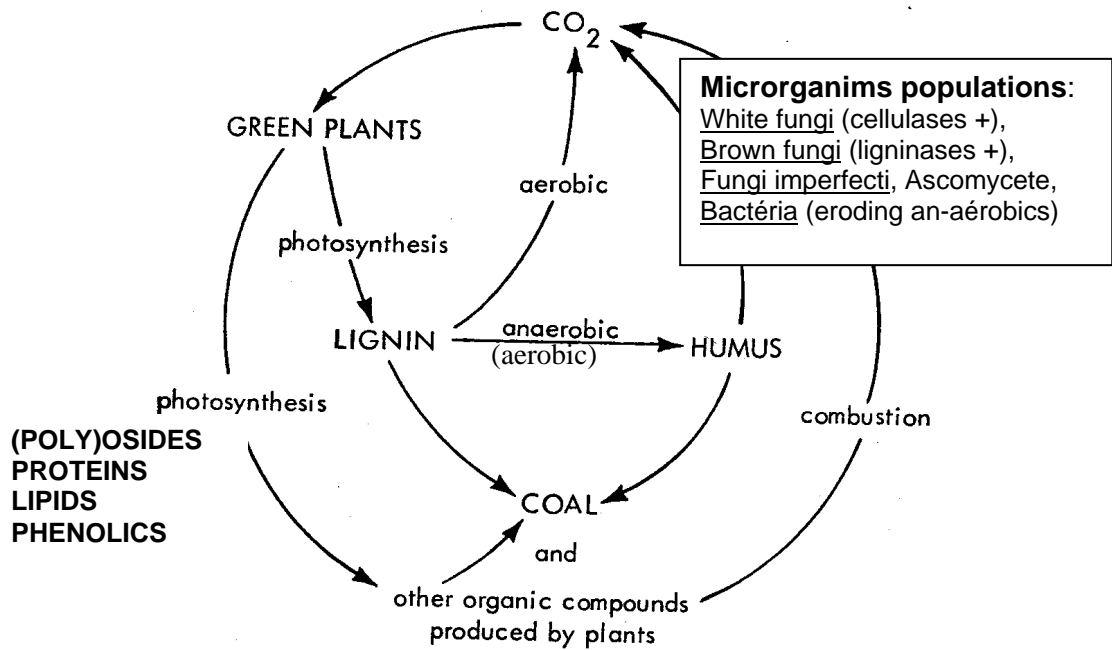
d'après L. Kärki & P. M. A. Tigerstedt, 1983 - Forest tree ideotypes in Finland, in "Attributes of trees as crop plants", NERC Copyright

ASPECTS BIOLOGIQUES DE LA LIGNIFICATION

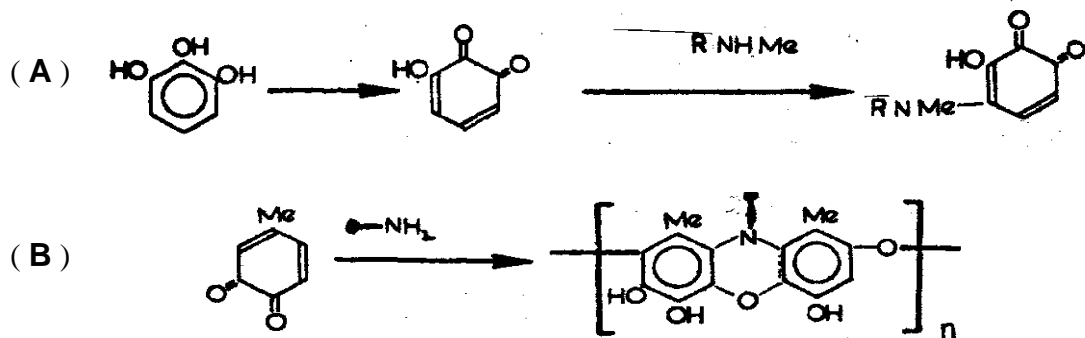
Correlations entre lignification et humification

d'après Christman et al. *Microbiological degradation and the formation of humus*,
in 'Lignins : occurrence, ...' Sarkanen et Ludwig edit.(1971).

(Cycle naturel probable des lignines et humus)



(Incorporation de composés azotés en : amine tertiaire (A) et hétérocyclique (B))

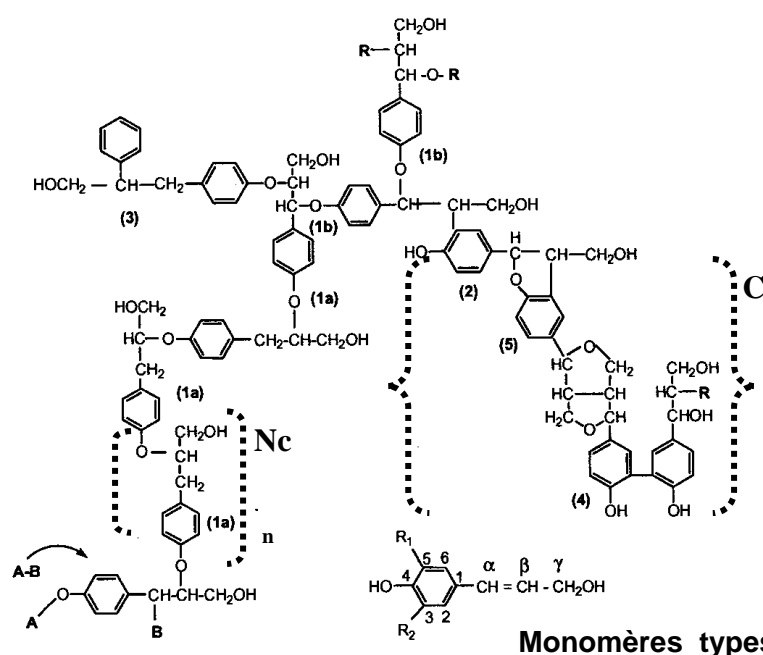


ASPECTS BIOLOGIQUES DE LA LIGNIFICATION

Correlations entre lignification et humification

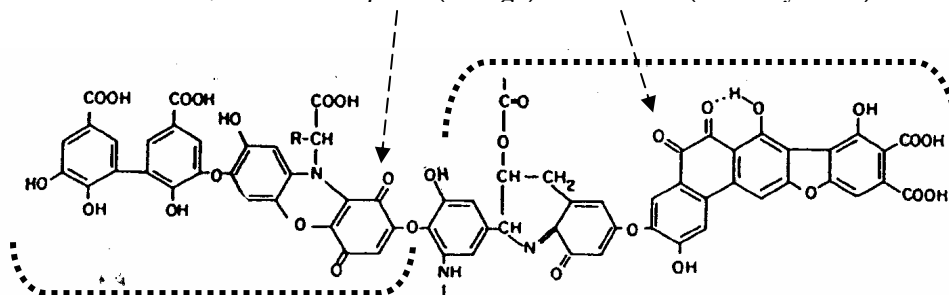
Schémes structuraux : liaisons intermonomères types

LIGNINES : deux types extrêmes en 'bloc' condensé { C }, en 'chaîne' non condensé [Nc]



HUMUS : modèle 'statistique', en blocs condensés aux dérivés osidiques et azotés
d'après Stevenson (1994)

Quinones : -*para* (clivage) et -*ortho* (déméthylation)

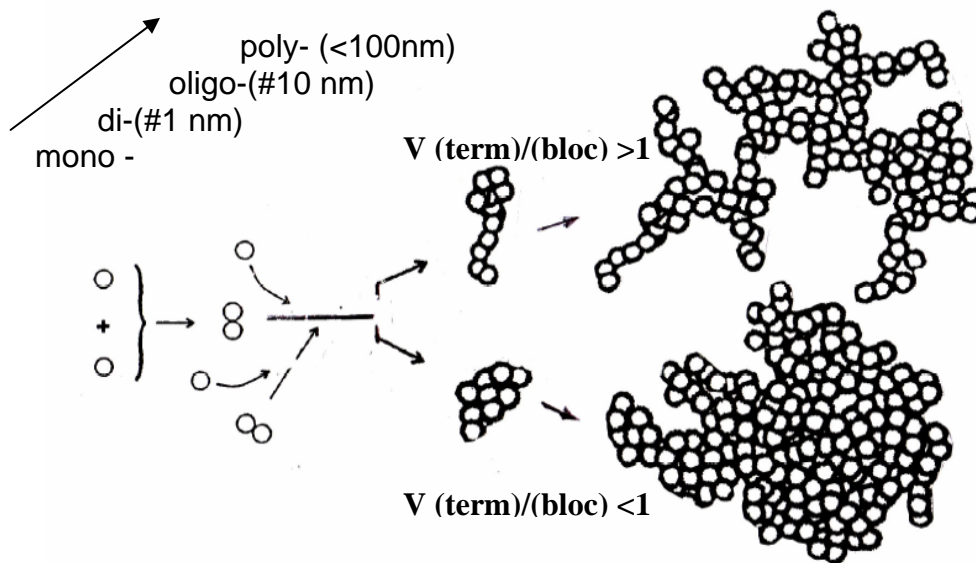


ASPECTS BIOLOGIQUES DE LA LIGNIFICATION

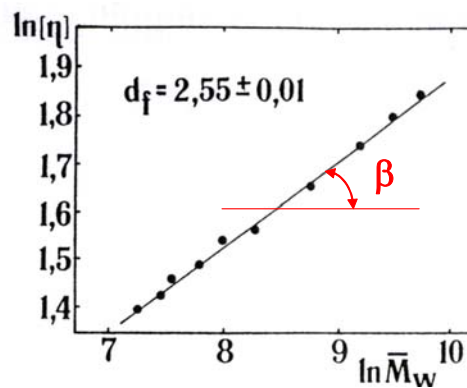
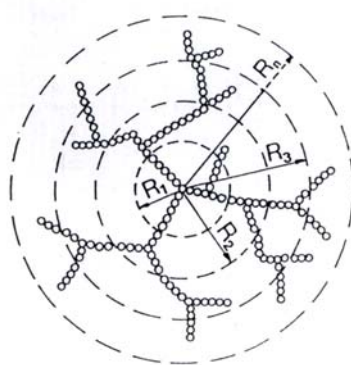
Correlations entre lignification et humification

Organisation spatiale : agrégats macromoléculaires

Types de polymérisation : formation d'agrégats (supra) – moléculaires'



Caractérisation des agrégats et dimensions fractales (β).

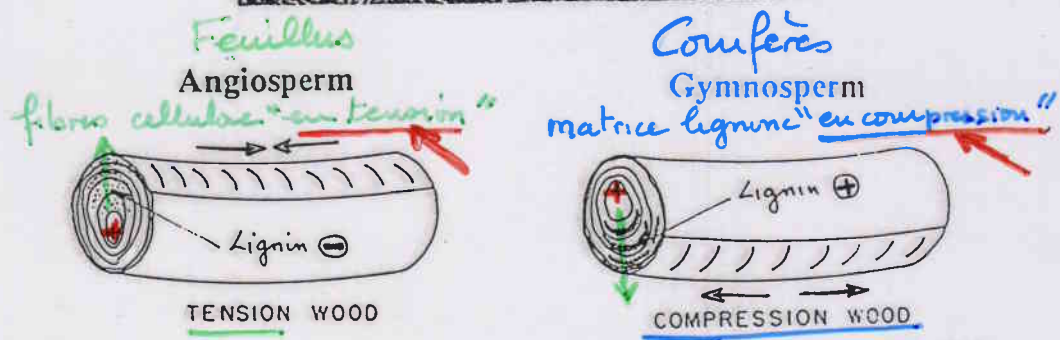
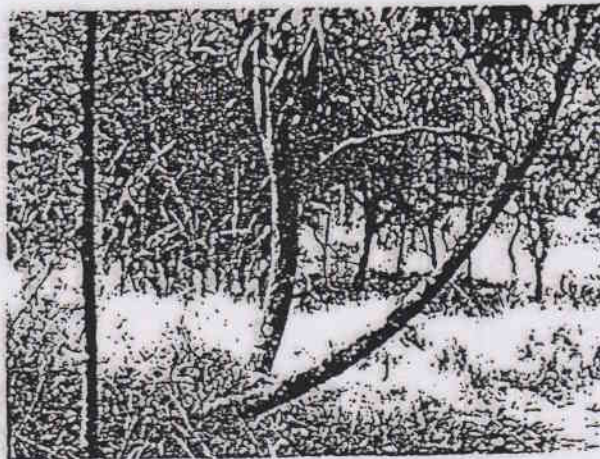


Agrégations de préparations de lignines (Gravitis et al. 1986) ou d'humus (Senesi et al 2001) soit 'fractales' : β compris entre # 1,5 et 3,5 soit 'euclidienne' : β entier.

Propriétés fonctionnelles et techniques:

- 1 : bois de réaction : propriétés mécaniques,
- [2 : fabrication des pâtes et papiers],
- 3 : chauffage : capacités calorifiques,
- [4 : humification et fertilité des sols]
- 4 : ‘ébénisterie’ : fabrication des barriques

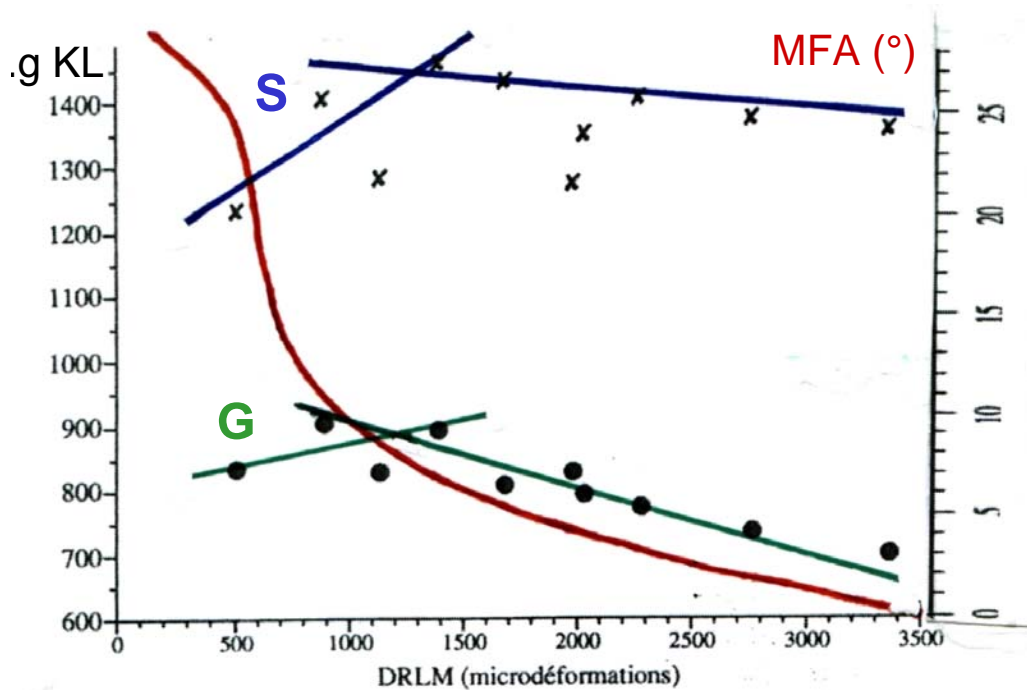
Reaction Wood: Biological Solutions to Mechanical Problems



d'après SCURFIELD - 1973 - Science - 179 - 647.

2: BIOLOGICAL VARIABILITY OF LIGNIN: EXPERIMENTAL EVIDENCES OF LIGNIN INHOMOGENEITY

2-2: lignin structure in EUCALYPTUS reaction wood (leaning stem with large eccentricity at upper side, Baillères et al., 1997)

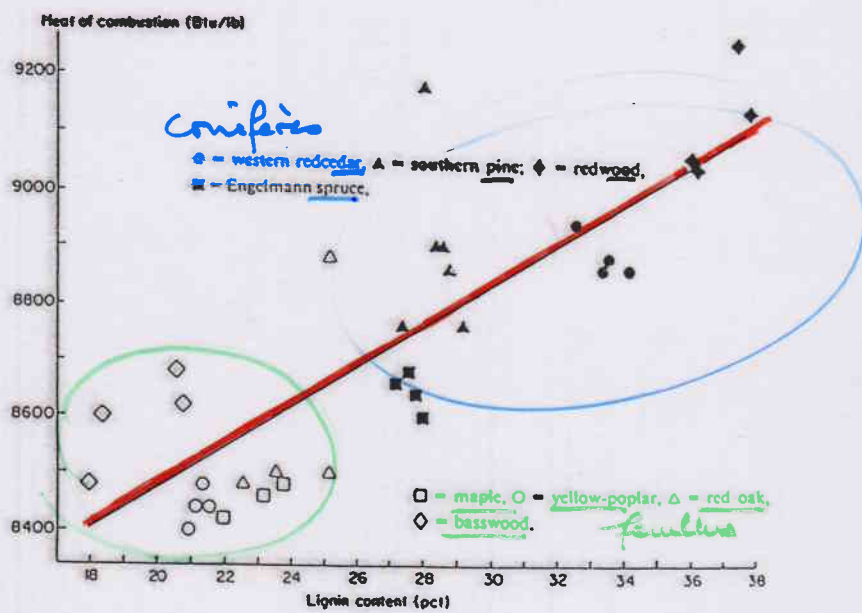


2-2: lignin structure in BUXUS reaction wood (leaning stem with large eccentricity at lower side, Baillères et al., 1997)

Sample (side)	Gr. strain $\mu\text{m. m}^{-1}$	Kl. Lignin % c.w.r.	Monomeric units	
			T.yield	H/G/S %
1 (upper)	- 741	27.8	1491	tr / 66 / 34
2	- 159	27.0	1484	tr / 65 / 36
4	+ 616	27.3	1398	tr / 67 / 33
6	+ 2018	29.0	1226	3 / 71 / 26
7(lower)	+ 2782	31.0	947	3 / 71 / 26

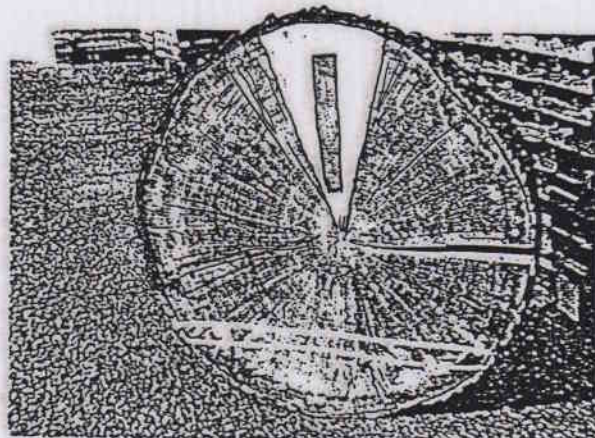
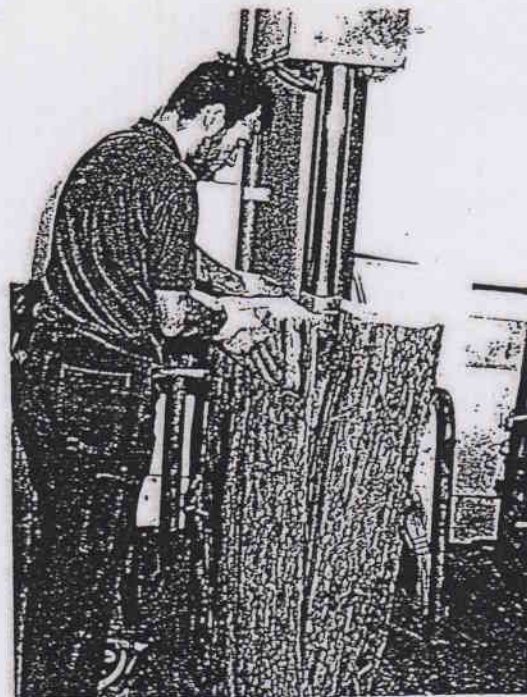
EFFECT OF LIGNIN CONTENT AND EXTRACTIVES ON THE HIGHER HEATING VALUE OF WOOD

Higher heating values of virgin wood versus percent lignin content.



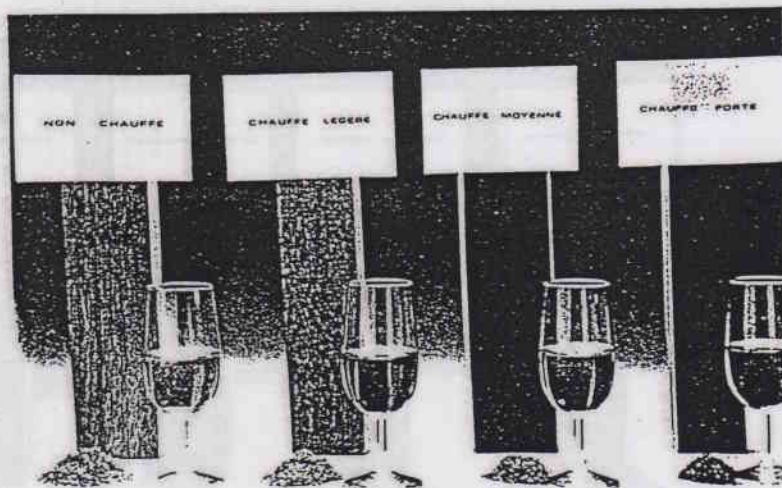
Watr - WOOD AND FIBER SCIENCE, OCTOBER 1987, V. 19, 446, 452

FABRICATION DES BARRIQUES



B. CORDIER. Société Seguin Moreau 16103 Cognac (France)

FABRICATION DES BARRIQUES



B. CORDIER, Societe Seguin Moreau 16103 Cognac (France)

CONCLUSION, PERSPECTIVES



*Qualité des bois,
des plantes
et
'lignification'*

*Les menhirs, de Bourgogne ...
l'alignement de Couches au soleil levant*

Lignifiés et donc bon combustible et résistant mécaniquement, les Arbres furent très tôt récoltés comme sources d'énergie et d'outils puis de matériaux et de fibres. D'autres plantes ligneuses, cultivées ensuite, furent et sont encore utilisées actuellement, de par le monde, à ces mêmes fins.

Lignifiés, mais cependant biodégradable à moyen terme, tous ces végétaux sont aussi et 'depuis toujours ...' , par leurs lignines et composés polyphénoliques, l'une des sources des humus et matières organiques du sol, de sa fertilité et donc finalement du caractère durable de l'agriculture, de son environnement et donc finalement de la pérennité de communautés humaines et du passage des savoirs et civilisations.

Témoignages de leurs savoirs, ces alignements : des outils en bois, furent utilisés très vraisemblablement pour ériger et graver ces mégalithes, il y a près de 5.000 ans, pour cultiver des plantes, travailler les sols et maintenir empiriquement leur fertilité. Ce n'est guère que depuis 200ans que 'observations finalisées' d'abord, 'recherches empiriques puis raisonnées' ensuite et enfin des 'découvertes toujours encore imprévisibles' ont permis d'en identifier les bases moléculaires, chimiques, physiques, biologiques, qui révèlent le rôle de la lignification, essentiel et encore bien peu reconnu encore, dans la pérennité de ces aventures.

CLONE 1-45 9
DRM: 434 µdef (31 mai)



ZA = E 8



• BX + RAD 95 / 11



7



11

CLONE 2.3 10
DRM: 1204 µdef (215 mai)



ZA = E 9



Falco...
+ clon... (F)
L... CAD

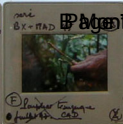


12

CLONE 1-45 12
DRM: 3192 µdef (31 mai)



ZA = E 11



(F) L... CAD
• f... CAD (8)



6



13

Patentes Reproduction autorisée p



de coupe
de bois
forme d'un
petit
à l'observateur

PAS

Pois de résine alypica
à Anguipoma (Aplous, bois)



*[CAD]ao
collection
spécialité

Modification de la lignification
de Sapin 1961. 26/03/62 1079



Pati à partir
blanche / blanche



Pati papier
noir / mécanique

Apocalypse
de la
de la



Pati tissu à
et support simple

de la
de la



Intégrité anti-polluante

Apocalypse
de la
de la



Pati tissu et support
des produits plus légers